

763835

TC.
OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
HEMATOLOJİ BİLİM DALI

**KRONİK MİYELOPROLİFERATİF
HASTALIKLARDA TROMBOSİT
FONKSİYONLARI VE UYGULANAN TEDAVİ
REJİMLERİNİN ETKİSİ**

HEMATOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Olga Meltem AKAY

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Zafer GÜLBAŞ

ESKİŞEHİR – 2005

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KISALTMALAR.....	3
GİRİŞ VE AMAÇ.....	4
GENEL BİLGİLER.....	5
GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
BULGULAR.....	40
TARTIŞMA.....	51
SONUÇLAR.....	60
ÖZET.....	63
KAYNAKLAR.....	64

KISALTMALAR

A	agregasyon
AA	araşidonik asit
ABL	abelson leukemia virus
ADP	adenosine difosfat
AMM	agnojenik miyeloid lösemi
ASA	asetil salisilik asit
ATP	adenosine trifosfat
BCR	breakpoint cluster region
BFU-E	burst forming units erythroid
CFU-E	colony forming units erythroid
EPO	eritropoietin
ET	esansiyel trombositoz
FISH	fluoresan in situ hibridizasyon
HLA	human leucocyte antigen
KMPH	kronik miyeloproliferatif hastalık
LAP	lökosit alkalen fosfotaz
LDH	laktat dehidrogenaz
nm	nanomol
NSAID	non steroid antiinflamatuvar ilaç
PCR	polisitemia rubra vera
PDGF	platelet drived growth factor
Ph	philadelphia kromozomu
Rist	ristosetin
RT-PCR	transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu
S	sekresyon
TPO	trombopoietin
TXA2	tromboxan A2
vWF	von Willebrand faktör

GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik miyeloproliferatif hastalıklar (KMPH), pluripotent hematopoetik kök hücredeki bozukluk nedeni ile gelişen hastalıklardır. Hematopoetik hücre dizilerinden birinde veya birkaçında tümünde aşırı çoğalma özelliği ve kanda artışı vardır. KMPH grubunda polisitemia rubra vera (PCRVR), kronik miyelositer lösemi (KML), esansiyel trombositoz (ET) ve agnojenik myeloid metaplazi (AMM) (idiopatik myelofibrozis) yer alır (1).

Kanama ve tromboz kronik miyeloproliferatif hastalıklarda morbidite ve mortaliteden sorumlu faktörlerdir. Kalitatif trombosit bozuklukları sıklıkla görülmektedir; defektif invitro trombosit agregasyonu ile karakterize trombosit hipofonksiyonu, edinsel depo havuz hastalığı ve/veya trombosit membran defektlerine ek olarak artmış trombosit agregasyonu, artmış plazma beta tromboglobulin düzeyleri veya kısalmış trombosit ömrü gibi çeşitli anormallikler bildirilmiştir (2).

Kronik miyeloproliferatif hastalıklardaki tromboz ve kanama riskini belirlemede trombosit fonksiyon çalışmaları önerilmektedir (3). Çalışmamızda kronik miyeloproliferatif hastalığı olan olgularda trombosit fonksiyon anormalliklerinin araştırılması, bu anormalliklerin saptanmasında kullanılan optik ve luminesans agregasyon yöntemlerinin karşılaştırılması ve uygulanan tedavi rejimlerinin trombosit fonksiyonlarında oluşturduğu değişikliklerin saptanması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

1. KRONİK MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLAR

1.1. KRONİK MİYELOSİTER LÖSEMİ

Etyoloji

Yüksek doz iyonize radyasyona maruz kalma KML insidansını artırmaktadır. Nagasaki ve Hiroshima'da atom bombasından kurtulan Japonlarda, radyasyon tedavisi uygulanan ankilozan spondilitli İngiliz hastalarda ve uterin servikal karsinomu olup radyasyon tedavisi ihtiyacı olan kadınlarda KML sıklığı, radyasyona maruz kalmayan gruplarla karşılaştırıldığında belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Ortalama latent periyod 4-11 yıl arasında değişmektedir (4-7).

Benzen ve alkilleyici ajanlar gibi kimyasal lökomojenlerin KML'ye yol açtığı henüz tanımlanmamıştır (8).

Patogenez

Kronik myelositer lösemi, Philadelphia kromozomu (Ph) olarak bilinen ve 9. kromozomun uzun kolu ile 22. kromozomun uzun kolu arasında meydana gelen resiprokal bir translokasyon, t(9;22) sonucu oluşur. Bu translokasyon 9. kromozomda yer alan ABL (Abelson Leukemia Virus) geni ile 22. kromozomda bulunan BCR (breakpoint cluster region) geninin bir araya gelerek yeni bir füzyon geni

oluşturmasına sebep olur. BCR/ABL adı verilen bu füzyon geni p210 adlı bir füzyon proteinini kodlar.

Normal abl geninin bir tirozin kinazı kodladığı bilinmektedir. Translokasyon sonucu oluşan BCR/ABL p210 füzyon proteini normal abl proteininden daha güçlü bir tirozin kinazdır ve bir onkogen gibi davranır (9).

Epidemiyoloji

KML, erişkinlerde tüm lösemilerin yaklaşık %15'ini, çocuklarda ise %3'ünü oluşturmaktadır. Her yaşta görülmekle birlikte özellikle ileri yaş grubu hastalığıdır. Erkeklerde sıklığı biraz daha fazladır (1,5:1) (1).

Klinik Özellikler

Tanı sırasında olguların yaklaşık %30'u asemptomatiktir; rutin inceleme esnasında tesadüfen saptanmaktadır. Semptomatik hastalar halsizlik, yorgunluk, subfebril ateş ve kilo kaybından yakınabilirler. Splenomegaliye bağlı sol üst kadranda ağrısı, erken doyumluk hissi olabilir (10).

Daha seyrek semptomlar hipermetabolizma ile ilişkilidir. Hipertroidizmi taklit eden gece terlemesi, ısı intoleransı, kilo kaybı gibi bulgular, hiperürisemiye bağlı gut artriti, lökosit sayısının yüksek olduğu durumlarda lökositoya bağlı priapizm, kulak çınlaması veya stupor, splenik infarkta bağlı sol üst kadranda ve sol omuz ağrısı, histamin salınımına bağlı diabetes insipidus ve ürtiker gelişebilir (11, 12).

Fizik incelemede solukluk, splenomegali ve sternal hassasiyet görülür (10).

KML'nin klasik olarak üç evresi vardır: kronik evre, akselere (hızlanmış) evre ve blastik kriz (1).

Laboratuvar

Kan

Hemoglobin konsantrasyonu tanı sırasında olguların çoğunda düşüktür (1).

Lökosit sayısı artmıştır ve genellikle 25000/ μ l üzerindedir. Olguların yarısında >100.000/ μ l olabilir. Blasttan parçalı nötrofillere kadar granülositer seri olgunlaşmasının tüm evrelerinin görülebileceği bir granülositoz durumu tabloya hakimdir. Genellikle myelosit-parçalı nötrofil arasındaki evrelere ait hücreler daha baskın olarak bulunur (10).

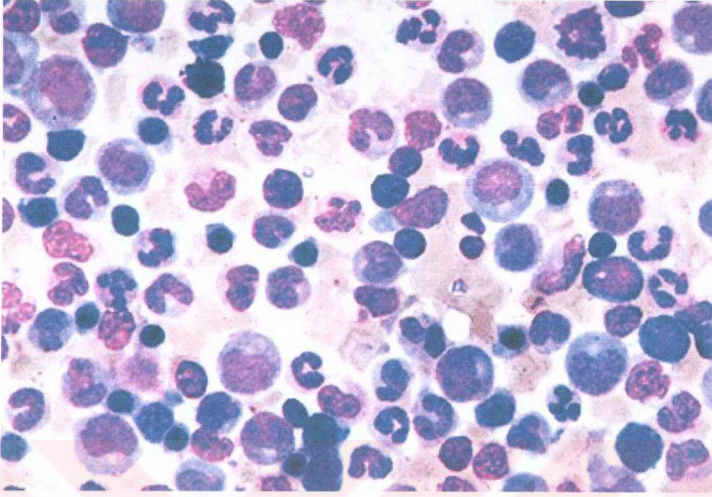
Bazofiller her zaman sayıca artmış olarak bulunur. Eozinofiller de sıklıkla artmıştır.

Trombosit sayısı tanı sırasında normal veya artmıştır ancak kronik fazın seyri sırasında daha fazla artabilir ve bazı hastalarda >1.000.000/ μ l olabilir (1).

Lökosit alkalin fosfataz (LAP) skoru, KML'de karakteristik olarak düşüktür. Diagnostik yerini, günümüzde sitogenetik ve moleküler testlere bırakmıştır (13).

Kemik iliği

KML'de kemik iliği hipersellülerdir ve myeloid eritroid hücre oranı myeloid dizi lehine artmıştır (10-30:1). Megakaryositler sıklıkla sayıca artmıştır ve karakteristik olarak çok sayıda küçük megakaryosit görülür. Fokal nadiren ciddi oranda kemik iliği fibrozisi tabloya eşlik eder (1).



Resim 1. Kronik miyeloid lösemili bir hastaya ait kemik iliği aspiratı-miyeloid seride hiperplazi

Sitogenetik

Standart sitogenetik yöntemlerle hastaların %90'ında Philadelphia kromozomu tespit edilir (14). Olguların geri kalan kısmında ise bir varyant sitogenetik anomali gösterilebilir (15). Nadiren standart sitogenetik yöntemler ile Philadelphia kromozomu dahil herhangi bir sitogenetik bozukluk saptanamayabilir, bu durumda floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile t(9;22) veya molekuler yöntemler ile BCR/ABL füzyon genini göstermek mümkün olabilir (1).

Moleküler testler

FISH yöntemi ile ABL ve BCR lokusları için probler kullanılarak t(9;22) translokasyonu saptanabilir (16). Ayrıca, BCR/ABL füzyon geni revers transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile gösterilebilir. Bu testler özellikle Philadelphia kromozomunun standart sitogenetik yöntemler ile tespit edilemediği durumlarda tanıya yardımcıdır. Tedavi veya transplantasyon sonrası reziduel hastalığı izlemek içinde yine molekuler yöntemlerden yararlanır (17).

Kimyasal anormallikler

Hiperürisemi ve hiperürikozüri sıktır.

Serum laktik dehidrogenaz düzeyi yüksektir.

Serum vitamin B12 bağlayıcı protein ve serum B12 düzeyleri total lökosit sayısı ile orantılı olarak artmıştır.

Granulositlerden potasyum salınımı sonucu psödohiperkalemi, analiz esnasında hücresel tüketim sonucu hipoksemi ve hipoglisemi görülebilir (1).

Tedavi

1. Klasik sitotoksik kemoterapi : Lökosit sayısını ve sistemik semptomları kontrol altına almak için kullanılan seçkin ilaç hidroksiüredir. Lökosit sayısına göre 1-6 gr/gün dozunda başlanır; lökosit sayısı azalınca doz azaltılır ve 20.000/ μ l'ye ulaştığında 1-2 gr/gün dozunda verilir. Gerektiğinde lökosit sayısı 5-10.000/ μ l olacak şekilde idame dozu ayarlanır. Tüm hastalarda kan sayım takibi yapılmalıdır ve lökosit sayısı 5.000/ μ l ve altına düştüğünde ilaç kesilmelidir (1, 18).

Hidroksiürenin yan etkisi, sıklıkla megaloblastik eritropoiezis ile birlikte hematopoiezisin baskılanmasıdır (1).

2. İmatinib mesilat : İmatinib mesilat (STI-571, glivec) PDGF reseptör tirozin kinaza karşı geliştirilen bir küçük molekül tirozin kinaz inhibitörüdür (22). İki ayrı tirozin kinaza, Abl ve c-kit, karşı da potent inhibitör aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir ve KML ile gastrointestinal stromal tümörlerde klinik uygunluğun primer hedefi olmuştur (19).

Oral imatinib mesilat ile yapılan faz I klinik çalışmalar, interferon- α ile standart tedaviye yanıtız olup, allojeneik transplantasyon adayı olmayan kronik faz KML hastaları ile sınırlandırılmıştır. 300 mg/kg/gün ilaç dozu ile %95 hematolojik yanıt, %31 majör sitogenetik yanıt elde edilmiştir. Toksikite profili mükemmeldir; en sık görülen yan etkiler hafif bulantı, miyalji, ödem ve diaredir (23).

Bu sonuçlar faz II çalışmanın temelini oluşturmuştur. İnterferon- α yanıtız veya intoleransı olan kronik fazdaki 454 KML hastasında 400 mg/kg/gün imatinib mesilat kullanılmıştır. 24 aylık takipte, hematolojik yanıt oranı %95 ve majör sitogenetik yanıt oranı %64'tür (24).

Yeni tanı almış KML'li hastalarda imatinib mesilatı, interferon- α ve sitozin arabinosid kombinasyonu ile karşılaştıran randomize bir çalışmaya ait veriler de, imatinib mesilatın birinci basamak tedavide üstünlüğünü kanıtlamıştır (25).

3. İnterferon- α : İmatinib mesilat tedavisi öncesi, allojeneik kemik iliği nakli adayı olmayan KML hastaları için interferon- α standart tedavi yöntemi idi. Bu ajan hastaların çoğunda kan değerlerini normale döndürür ve %20'sinde sitogenetik yanıt sağlar (19).

İnterferon- α tedavisine bağlı olarak başlangıçta grip benzeri belirtiler, artralji, miyalji, impotans, kilo kaybı, baş ağrısı ve ateş gözlenebilir. Yaşlı hastalarda hafıza kaybı ve depresyon belirtileri görülebilir. İmmün trombositopeni, hemoliz, lupus ve hipotiroidi gibi otoimmün olaylar gelişebilir. Hastaların yaklaşık %25'i tedaviyi bu yan etkilere bağlı bırakmak zorunda kalmaktadır (9).

İnterferon- α ile sitogenetik yanıt elde edilen hastaların bazılarında bu yanıt uzun yıllar korunabilmektedir (9).

Sitogenetik yanıt hızını artırmak için interferon- α diğer tedavi rejimleri ile kombine edilebilir. En başarılı kombinasyon sitozin arabinosid ile yapılandır (20).

İnterferon- α KML'ye karşı aktif bir ajan olarak bilinmekle birlikte etki mekanizması net olarak bilinmemektedir. Öne sürülen mekanizmalar; tümör hücresine ait HLA class 1 antijen ekspresyonunu modüle edebileceği, antijen sunan dendritik hücreleri arttırabileceği, integrin fonksiyonunu restore ederek kemik iliği stromasına KML hücre adezyonunu engelleyeceği ve son olarak BCR-ABL eksprese eden hücelere karşı artmış toksisite gösterdiği şeklindedir (21).

4. Allojeneik kemik iliği nakli : Allojeneik kemik iliği nakli KML'de şifa sağladığı bilinen tek tedavi yöntemidir (19).

1.2. POLİSTEMİ RUBRA VERA

Patofizyoloji

Polistemi rubra vera (PCRV) eritrosit kütlesinde artış ile karakterize klonal bir hematopoietik kök hücre hastalığıdır.

Tek bir multipotent hematopoietik hücrenin onkojenik transformasyonu sonucu gelişir.

PCRV'li hastalardan elde edilen erken eritroid öncüllerin (BFU-E ve CFU-E) kültür ortamlarında eritropoietin olmaksızın (eritropoietinden bağımsız endojen eritroid koloni büyümesi) çoğalabildikleri gösterilmiştir (26).

Hastaların %25'i tanı sırasında çeşitli karyotip anormalliğine sahiptirler. Hastalığın seyri sırasında yeni gelişen karyotip anormallikleri idiyopatik myelofibrozu veya myeloid lösemiye dönüşüm açısından anlamlı olabilir (27).

Familiyal insidans rapore edilmiştir. (28).

Epidemiyoloji

Yıllık insidansı 100.000 de 0.5-2 kadardır. Doğu Avrupa yahudilerinde sık görülür. Ortalama tanı yaşı 60'tır ve erkeklerde biraz daha fazladır (29).

Klinik özellikler

Hastalık çoğu olguda rutin yapılan analizler sırasında tesadüfen bulunan hemoglobin yüksekliği sonucu saptanır. PCRV semptomları artmış kan viskozitesine, splenomegaliye, kanama ve hipermetabolik olaylara bağlı olabilir.

- **Artmış kan viskozitesi** : Artan eritrosit kütlesi kan viskozitesinin yükselmesine sebep olur. Baş ağrısı, baş dönmesi, kulak çınlaması,

görme bozuklukları (bulanık görme), bayılma atakları, parmak uçlarında uyuşma ve hissizlik, efor dispnesi ve halsizlik artan viskoziteye bağlı gözlenebilecek belirti ve bulgulardır. Hastalar bazen serebrovasküler olaylarla da başvurabilirler.

- **Splenomegali** : Olguların yaklaşık %70'inde görülür ve sol üst kadranda hassasiyet, ağrı ve erken doygunluk, şişkinlik gibi belirtiler verebilir.
- **Kanama** : PCRV'li hastalarda siktir. Daha çok cilt, mukoz membranlar ve gastrointestinal sistemde görülür.
- **Hipermetabolizma** : Hiperürisemi sıkça görülür; hastalarda buna bağlı olarak gut ve böbrek taşları ortaya çıkabilir. Hipermetabolizma ayrıca gece terlemeleri ve kilo kaybı gibi sistemik semptomlara da yol açabilir.
- **Diğer belirtiler** : Kilo kaybı, kaşıntı ve eritromelalji (parmak uçlarında ağrılı, kızarıklık şişlikler) PCRV'de rastlanan diğer belirtilerdir. Banyo sonrası ortaya çıkan kaşıntı PCRV'nin klasik belirtisidir (29).

Laboratuvar

Tam kan sayımında eritrosit sayısında yükseklik dikkati çeker. Gastrointestinal kan kaybı olan veya flebotomi tedavisi alan hastalarda eritrosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit düzeyinden bağımsız olarak artabilir ve hipokromi, mikrositoz ve diğer demir eksikliği bulguları eşlik edebilir.

Eritrosit kütlesi genellikle hematokrit artışına paralel olarak artmıştır. Çekirdekli eritrositler hastalığın erken döneminde kanda mevcut değildir. Retikülosit yüzdesi hafif artmış bulunabilir (29).

Hastaların yarısında lökositlerde de (ön planda myelosit ve metamyelositlerin artması şeklinde) bir artış gözlenir. Bazofiller hafif artmış bulunabilir (30).

Orta dereceli bir trombositoz hastaların %80'inde tabloya eşlik edebilir (30).

Serum ürik asit ve LDH seviyesi yüksek bulunur. Serum vitamin B12 düzeyleri yüksek olabilir (29).

Radyoaktif krom ile işaretlenerek saptanan eritrosit kütle indeksi belirgin olarak artmış; plazma hacmi normal veya azalmıştır (9).

Ayırıcı tanıda yardımcı bir diğer laboratuvar testi serum eritropoietin (EPO) seviyesinin ölçülmesidir. Serum EPO seviyesi PCRV'li hastaların %80'inde düşük bulunur, sekonder polistemi olgularında ise EPO normal veya yüksektir (29).

Kemik iliği

Kemik iliği hipersellülerdir. Eritroid dizide daha belirgin olmak üzere tüm hücre dizilerinde artış gözlenir (29).

Sitogenetik

PCRV'de bilinen karakteristik sitogenetik anomali yoktur. Kromozom analiz sonuçları genellikle normaldir (9).

Tablo 1. Polisitemi Rubra Vera Klinik ve Laboratuvar Tanı Kriterleri*

- 1.** Artmış eritrosit kütlesi (beklenen değer ortalamasının $> \%25$ 'i)
- 2.** Normal arteryel oksijen saturasyonu ($\geq \%92$)
- 3.** Splenomegali
- 4.** Trombositoz ($\geq 400.000/\mu\text{l}$) ve lökositoz ($12.000/\mu\text{l}$)
- 5.** Kemik iliği hipersellüleritesi (küme yapmış, matür, hiperlobule nukleus içeren megakaryositler), boyanabilir demir gösterilememesi
- 6.** Azalmış serum EPO düzeyi
- 7.** Eritroid koloni oluşumu ile gösterilen anormal kemik iliği proliferatif kapasitesi
- 8.** Hematopoietik hücre klonalitesi
- 9.** Trombosit Mpl ekspresyon kaybı
- 10.** Granulosit PRV-1 mRNA ekspresyonunda artma

* 1. kriter ve diğer kriterlerden herhangi 3'ü PCRV için tanısaldır.

Tedavi

Filebotomi : Filebotomi PCRV'nin primer tedavisidir. Filebotomilerle yaratılan demir eksikliği sonucu hematokrit kontrol altında tutulur. Her 2-3 günde bir 250-500 ml kan alınarak hematokrit seviyesini %42-45 düzeylerine çekilmelidir. Daha sonra hematokriti bu sınırdaki korumak için gerektiğinde filebotomilerle tedaviye devam edilir. 50 yaş altı ve önceye ait tromboz öyküsü olmayan hastaların sadece filebotomi ile tedavi edilebileceği önerilmektedir (29).

Hidroksiüre : PCRV'nin tedavisinde en sık kullanılan mielosupresif ajandır. Supresif etkisi kısa sürelidir. Kısa etkili olduğundan kullanımı güvenilirdir; kemik iliği fazla baskılandığında ilaç kesildikten birkaç gün veya hafta içinde kan tablosu düzelir. Alkilleyici ajan olmadığından diğer mielosupresif ajanlara göre lökemik transformasyon potansiyeli daha düşüktür (29).

Radyoaktif fosfor : Filebotomiyi tolere edemeyen veya refrakter olan yaşlı hastalarda oral yolla verilen radyoaktif fosfor tedavisi hematokrit düzeylerini kontrol altında tutmak için kullanılabilir. Bu tedavi ile AML'ye dönüşüm riskinde artış olduğu bildirilmiştir. Ancak bu risk 5-7 yıldan önce görülmez. Radyoaktif fosfor tedavisi genç hastalarda önerilmemektedir (31).

İnterferon- α : Rekombinant İnterferon- α 'nın haftada 3 kez 3 milyon ünite başlangıç dozunda kullanımı, PCRV'li hastaların %50 veya üzerinde teropotik yanıt sağlamaktadır. Eritrosit kütlesi, lökosit ve trombosit sayısında azalma sağlarken hastaların kaşıntı şikayetini geriletmektedir (32).

Anagrelid : Anagrelid seçici olarak trombosit üretimini inhibe eder ve hidroksiüre ve interferona dirençli hastalarda etkilidir. Günlük ortalama dozu 2,4 mg'dır. Bilinen yan etkileri baş ağrısı, çarpıntı, diyare ve sıvı retansiyonu olup, ilacı bırakmayı gerektirecek kadar ciddi olabilir (26).

Düşük doz aspirin : Düşük doz aspirin (yaklaşık 50 mg/ gün) trombozları önlemek için önerilmektedir. Daha yüksek dozlarda hemoraji riski artar (33).

1.2. ESANSİYEL TROMBOSİTOZ

Patofizyoloji

Esansiyel trombositoz diğer adıyla primer trombositoz trombosit sayısında belirgin artışla karakterize bir hematopoietik kök hücre hastalığıdır. Trombopoietin (TPO) veya reseptörü (c-Mpl) esansiyel trombositoz patogeneğinde rol oynamamaktadır. Benzer şekilde esansiyel trombositozda serum TPO düzeyleri normal veya hafif artmıştır ve kontrol popülasyon veya reaktif trombositoz olgularından belirgin bir fark göstermemektedir (33).

Epidemiyoloji

Esansiyel trombositozun tahmin edilen yıllık insidansı yaklaşık 100.000'de 1.5 veya 2.4'dür. Daha çok yaşlı hastalarda görülür; tanı esnasında ortalama yaş yaklaşık 50-60'dir. Ancak gençlerde de (20-50 yaş arası) önemli sayılabilecek bir insidansı vardır. Kadınlarda, özellikle de genç grupta yer alan kadınlarda daha sık gözlenir (34).

Klinik Özellikler

Hastaların çoğunda trombositoz bir belirti vermeksizin, tesadüfi olarak yapılan kan sayımında tespit edilir. Sık görülen klinik belirtiler aşağıda verilmiştir.

- **Mikrovasküler tıkanmalar:** Mikrovasküler tıkanmalar genellikle parmaklarda gelişir; ağrı, akrosiyanoz, nekroz ve parmak uçlarında gangren ile karakterizedir. Eritromelalji (aspirine yanıtı parmak uçlarında belirginleşen kırmızılık ve yanma hissi) sık rastlanılan bir bulgudur.

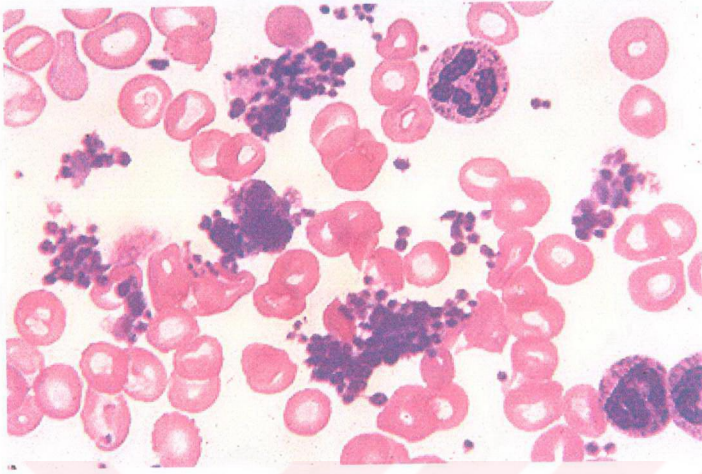
- **Büyük damar trombozları:** Büyük damar trombozları daha çok alt ekstremitelerde görülse de koroner arterler, renal, mezenterik veya karotid arterlerin tutulumu da nadir değildir. Hepatik ven (Budd-Chiari sendromu), splenik ve alt ekstremiten venleri de trombozların görüldüğü bölgelerdir.
- **Kanama:** Gastrointestinal kanama sıktır. Ayrıca idrar yolları, cilt, göz, dişeti ve eklem kanamaları gözlenebilir. Kanamalar nadiren büyük boyuttadır.
- **Nörolojik olaylar:** Başağrısı, pareteziler, geçici iskemik ataklar, görme bozuklukları ve konvülsiyonlar gözlenebilir (9).

Fizik Muayene

Esansiyel trombositoz da fizik muayenede genellikle bir özellik yoktur. Parmak uçlarında renk değişikliği veya gangren nadiren görülebilir. Hafif splenomegali hastaların % 40-50 sinde mevcuttur (33).

Laboratuvar

Tanım olarak trombosit sayısını $>600.000/\mu\text{l}$ olması gerekir; hastaların çoğunda trombositler $>1.000.000/\mu\text{l}$ 'dir. Hemoglobin genellikle normaldir, ancak hafif bir anemi görülebilir. Hafif lökositoz sıklıkla tabloya eşlik eder. Lökosit formülünde hafif sola kayma, eozinofili ve bazofili sıklıkla gözlenir. Dev ve garip görünümlü trombositler ve çekirdekli megakaryosit fragmanları dikkati çeker. Yaymada çok sayıda çekirdekli eritrositlerin ve gözyaşı hücrelerinin varlığı veya immatür granülosit öncüllerinin görülmesi primer trombositemi tanısından uzaklaştırıcı bir bilgidir. Biyokimyasal analizde LDH ve ürik asit yüksek bulunur. Belirgin trombositoz veya lökositozu olan olgularda psödohiperkalemi görülebilir (33,34)



Resim 2. Esansiyel trombositozlu bir hastaya ait periferik kan yayması-artmış trombosit sayısı ve anormal, büyük trombosit kümeleri

Kemik İliği

Kemik iliği hipersellülerdir. Belirgin megakaryosit artışı dikkat çekicidir. Aspiratlarda, artmış ploidiye sahip dev megakaryositler kümeleşmiş olarak görülür. Sıklıkla eritroid ve granülositer dizi hiperplazisi tabloya eşlik eder (33). Hafif düzeyde fibrozis gözlenebilir. Fibrozisin belirgin olması esansiyel trombositoz alehine olan bir bulgudur. Demir skoru yüksektir (34).

Sitogenetik

Esansiyel trombositoz da kemik iliği karyotipi karakteristik olarak normaldir. Philadelphia kromozomu veya BCR/ABL translokasyonunun negatif olması KML yi dışlamamızı sağlar. 170 olgunun analizinde belirgin bir kromozomal anormallik olguların % 5.3 ünde saptanmıştır. 1q⁻, 20q⁻, 21q⁻ veya 1q⁺ gibi marker kromozomal anormallikler rapore edilmiştir fakat esansiyel trombositozda özgü bir kromozomal bozukluk tanımlanmamıştır. Hastaların az bir kısmında anöploidi görülür (9,34).

Tablo 2. Esansiyel Trombositoz Tanı Kriterleri

1. Trombosit sayısı >600.000 μ /l
2. Reaktif trombositozu yol açabilecek altta yatan bir başka hastalık olmaması
3. Normal eritrosit kütle indeksi
4. Kemik iliğinde fibrozis görülmemesi
5. Philadelphia kromozomu veya BCR-ABL negatifliği
6. Splenomegali varlığı
7. Hipersellüler kemik iliği, multilobüle büyük megakaryosit kümeleri içeren megakaryositik hiperplazi
8. Demir eksikliği olmaması (kemik iliğinde yüksek demir skoru ve/veya normal serum ferritini)
9. Kadınlarda X kromozomu üzerinde bulunan genlerin restriksiyon fragman uzunluk polimorfizm analizi ile, klonal hemotopoezisin gösterilmesi
10. Anormal kemik iliği hematopoietik progenitör hücrelerin varlığı
11. Normal plazma C-reaktif protein ve IL-6 düzeyleri

Kriterlerden 1-5 veya 6-11 arasındakilerden ≥ 3 sağlanması ET için tanısaldır.

Tedavi

Asemptomatik hastalarda tedavi gerekmebilir. Semptomatik olanlar ve yüksek tromboz riski bulunanlar tedaviyi hak eder. Tedavide çeşitli ajanlar kullanılmaktadır.

- **Düşük doz aspirin:** Düşük doz aspirin, 100 mg/gün rekürren trombotik komplikasyonlar, özellikle digital veya serebrovasküler iskemi geçiren hastalarda efektif adjuvan tedavi şeklidir. Ancak kanama riski düşünülerek antiagregan ilaçlar dikkatli kullanılmalıdır (35).
- **Hidroksiüre:** Nonalkilleyici myelosupresif bir ajan olarak hidroksiüre, esansiyel trombositozun başlangıç tedavisinde oldukça efektiftir. Trombosit sayısını kontrol etmek için gerekli olan doz genellikle 10-30 mg/kg dır. Kullanılmaya başladıktan 2-6 hafta sonra trombosit seviyelerini düşürür. En önemli yan etkisi ilaca bağlı lökopenidir. İlaç kesildikten sonra düzelir. İdame dozu kan sayımlarına göre her hasta için bireyselleştirilmelidir(33).
- **Anagrelid:** Anagrelid seçici olarak trombositleri baskılar ve günümüzde birinci basamak tedavi için alternatif bir ajandır. Trombosit sayısını kemik iliği megakaryosit olgunlaşmasını inhibe ederek azaltır(33). Başlangıç dozu günde 2-4 kez ağız yoluyla alınan 0,5 mg anagrelid şeklinde önerilmektedir. Doz 0.5 mg/hafta artırılarak trombositemi kontrol edilir. Anagrelid genellikle iyi tolere edilebilen ve yan etkileri hafif ve kısa süreli olan bir ilaçtır. En sık karşılaşılan yan etki vazodilatasyona bağlı baş ağrısı, taşikardi diğer aritmiler, angina, sıvı tutulumu ve baş dönmesidir. Nadir de olsa miyokart infarktüsü ve konjestif kalp hastalığı geliştiğine dair yayınlar vardır. Rastlanılabilecek diğer komplikasyonlar arasında diyare, karın ağrısı, kusma, bulantı ve cilt döküntüleri sayılabilir (36).
- **Tromboferez:** Tromboferez trombosit sayısını hızla indirir. Ciddi trombositozu ve buna bağlı akut komplikasyonları olanlarda

önerilmektedir. Etkisi geçicidir, trombosit sayısında sıklıkla rebound artışa yol açar. Diğer tedavilerle mutlaka kombine edilmelidir (33).

- **İnterferon- α :** İnterferon- α anormal megakaryosit klon proliferasyonunu baskılar ve megakaryosit sayı ve ploidisinde azalma sağlar (33). Bireysel tolerans ve yanıtı göre doz düzenlenmesi önerilmekle birlikte, günlük 3.000.000 ünite (37). subkutan başlangıç dozu uygundur. Takiben haftada üç kez, düşük doz, subkutan interferon kullanılarak trombosit sayısı baskılanabilir.

AGNOJENİK MİYELOİD METAPLAZİ (İDİYOPATİK MİYELOFİBROZİS)

Patofizyoloji

Agnojenik miyeloid metaplazi (AMM), diğer adıyla idiyopatik miyelofibrozis lökoeritroblastik reaksiyon (çekirdekli eritrositler ve immatür granülositler), splenomegali ve kemik iliğinde fibrozis ile karakterize kronik miyeloproliferatif bir hastalıktır.

Diğer KMPH'ler gibi agnojenik miyeloid metaplazi de klonal bir hematopoietik kök hücre hastalığıdır. Kemik iliğinde fibrozise neden olan artmış kollajen neoplastik klonun bir parçası olmayan ancak malign megakaryositler ve monositler tarafından stimüle edilen fibroblastlar tarafından salgılanır. Tip I, III, IV ve V kollajen artar fakat tip III kollajen öncelikli olarak üniform artmıştır. Bu süreçte rol oynayan sitokinlerden başlıcaları transforming growth factor- β , platelet derived growth factor, epidermal growth factor, endotelial cell growth factor ve basic fibroblast growth factor'dür. Splenomegali dalakta meydana gelen ekstramedüller hematopoezis sonucu oluşur (38).

Epidemiyoloji

Agnojenik miyeloid metaplazi nadir görülen bir hastalıktır. Daha önce yayınlanmış raporların derleme sonuçlarına göre Avrupa, Avustralya ve Kuzey Amerika topluluklarına ait yıllık insidans yaklaşık 0.5-1.5/100.000 civarındadır. Sıklıkla ileri yaşta görülür. Tanıda ortalama yaş yaklaşık 65'tir. AMM'nin benzen ve diğer hidrokarbonlara maruz kalma ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. İyonize radyasyonun da İMF'ye yol açabileceği bilinmektedir (38).

Klinik Özellikler

Sıklıkla görünen belirtiler halsizlik, kaşeksi ,kilo kaybı, subfebril ateşler ve gece terlemeleridir.Belirgin splenomegali erken doygunluk hissine ve sol üst kadranda hassasiyete yol açabilir.Olguların % 25'inde herhangi bir belirti olmaksızın rutin yapılan kansayımı veya raslantı sonucu bulunan splenomegali sonrası tanı konur (9).

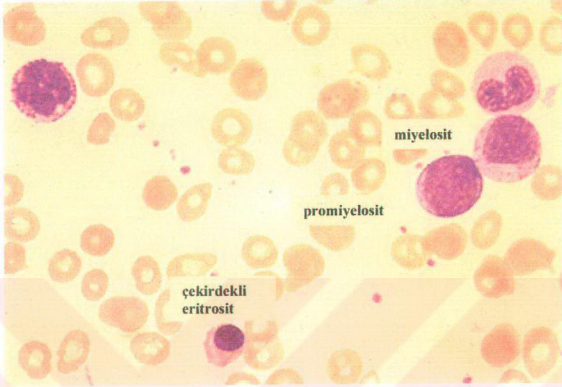
Fizik Muayene

Fizik muayenenin en ciddi bulgusu splenomegalidir. Çoğunlukla sert, karnın diğer tarafına geçen bazen inguinale kadar uzanan masif splenomegali dikkati çeker. Daha az rastlanmakla beraber hepatomegali de gözlenir. Peteşi, purpura ve portal hipertansiyon bulguları görülebilir (9).

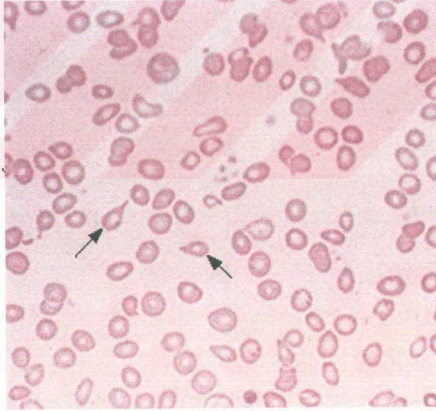
Laboratuvar

Tanı esnasında çoğu hastada anemi vardır. Olguların yarısında granülositoza bağlı lökositlerde yükseklik görülebilir ; ancak lökopeni de nadir değildir. Eozinofili ve bazofili mevcut olabilir. Trombosit sayısı yine hastaların yarısında artmış olarak bulunur. En can alıcı laboratuvar

bulguları periferik kan yaymasında gözlenir: çok sayıda gözyaşı hücreleri ,çekirdekli eritrositler, immatür granülositler ve dev trombositler tanı koydurucudur. Serum ürit asit, LDH, alkalen fosfataz ve bilirubin düzeyleri artmıştır (9, 38).



Resim 3. Lökoeitroblastik yayma-çekirdekli kırmızı küre ve immatür beyaz küreler içeren lökoeitroblastik periferik kan yayması



Resim 4. Gözyaşı hücreleri-kemik iliği fibrozisi olan bir hastaya ait periferik kan yaymasında çeşitli gözyaşı hücreleri

Kemik İliği

Kemik iliği genellikle aspire edilemez (dry tap/ kuru ilik). Biyopsi değişkendir; fibrozisin belirgin olmadığı hipersellüler bir ilikten, tamamıyla fibrotik hatta osteosklerotik (ilik dokusunun kemikle dolması) iliğe varan tablolar görülebilir. Megakaryositler tipik olarak sayıca artmıştır ve morfolojik değişiklikler gösterirler. Granüositler hiper- veya hipolobülasyon, edinsel Pelger-Huet anomalisi, nukleer bleb ve nukleositol plazmik asenkroni gösterebilirler. Karakteristik bir bulgu dilate sinüsler içinde immatür hücre gruplarının görülmesidir. İlk oluşan kollajen retikülindir; gümüş boyası ile gösterilir. Daha sonraları olgun kollajen yapılar ilikte yerini alır. Bu tip kollajen trikrom boyası ile saptanır (9,38).

Sitogenetik

Sitogenetik anomali olguların yarısında görülür ancak AMM'ye özgü bir kromozomal bozukluk yoktur. Anöploidi (mono- veya trizomi) veya psödodiploidi (parsiyel delesyon veya translokasyonlar) sıktır. Philadelphia kromozomu nadiren saptanabilir (9, 39).

Tablo 3. Agnojenik Miyeloid Metaplazi İtalyan Tanı Kriterleri

Gerekli kriterler

- A. Difüz kemik iliği fibrozisi
- B. Periferik kan hücrelerinde Philadelphia kromozomu veya BCR/ABL negatifliği

Opsiyonel kriterler

- A. Splenomegali
- B. Gözyaşı hücreleri ile anizopoikilositoz
- C. Periferik kanda dolaşan immatür miyeloid hücreler
- D. Periferik kanda dolaşan eritroblastlar
- E. Kemik iliğinde megakaryoblast kümeleri ve anormal megakaryositler
- F. Miyeloid metaplazi

- *Splenomegali var iken gerekli kriterlerin ikisi + herhangi iki opsiyonel kriter*
- *Splenomegali yok iken gerekli kriterlerin ikisi + herhangi dört opsiyonel kriter varlığı AMM için tanısaldır.*

Tedavi

AMM tedavisi temelde palyatiftir. Tek olası kür sağlayıcı tedavi yöntemi allojeik kemik iliği naklidir. Ancak hastaların çoğunun bu işlem için çok yaşlı olması pratik uygulanımını sınırlar.

Tedavi seçenekleri aşağıda sunulmuştur.

Transfüzyonlar: Semptomatik anemiyi düzeltmek için eritrosit süspansiyonları kullanılır (40).

Kortikosteroidler ve androjenler: Kortikosteroidler hemoliz varsa azaltır. Androjenler eritropoezi indükler ancak yanıtları genellikle kısmi ve geçicidir. Testosteron, oksimetalon ve fluksimesteron kullanılmıştır

ancak virilizan etkilerine ek olarak karaciğer hasarı ve diğer yan etki potansiyeli yüksektir. Danazol 600 mg/gün kullanılabilir (40).

Hidroksiüre : Hidroksiüre AMM'de görülen lökositoz ve trombositozu kontrol için kullanılan ilaçların başında gelir. Dalak ve karaciğer boyutunda küçülme, konstitusyonel semptomlarda azalma ve kan tablosunda düzelme yaratır (41).

Splenektomi: Splenektomi portal hipertansiyonu olan hastalarda portal veni dekompresyon için uygulanabilir. Splenektomi aynı zamanda masif splenomegaliye bağlı karın içi rahatsızlığı azaltmak ve dalağa göllenmeyi önleyerek hücre sayılarını arttırmak amacıyla da yapılabilir. Ancak perioperatif morbidite ve mortalite yükseltir (sırasıyla ~% 38 ve % 9) (9).

Radyoterapi : Dalak ışınlanması yüksek risk nedeniyle opere edilemeyecek splenektomi adaylarında uygulanabilir. Etkisi genelde kalıcı değildir; hastalarda ciddi pansitopeniye sebep olabilir. Asit, fokal kemik ağrı alanları ve ekstremitelerde fibrohematopoietik tümörlerde de uygulanabilir (42).

İnterferon- α : İnterferon- α nadir bazı olgularda etkili bulunmuştur. Trombositozu suprese etmede faydalıdır ve fibroblast proliferasyonundan sorumlu olan PDGF aktivitesini inhibe eder (40).

Talidomid: AMM de etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte pilot çalışmalar devam etmektedir (40).

Kemik iliği nakli: Allojeneik kemik iliği nakli uygun donorü olan adaylarda potansiyel küratif bir tedavi yöntemidir ve 60 yaş altındaki genç hastalar için ciddi şekilde değerlendirilmelidir. Nonmyeloablative transplantasyon yaşlı hastalar için de transplantasyon şansı sağlamaktadır (43,44).

2. MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA GÖRÜLEN TROMBOSİT BOZUKLUKLARI

2.1. Kronik Miyeloid Lösemi

Diğer miyeloproliferatif hastalıklarla karşılaştırıldığında kanama ve tromboz en az KML'li hastalarda görülür. Kanama diatezi olduğunda kalitatif trombosit bozukluğunun özelliklerini taşır. Bazı hastalarda kanama diatezine trombositopeni yol açar (54). Kronik fazdaki hastalarda bile cam boncuk kolonlarına azalmış trombosit retansiyonu sık görülen bir bulgudur (%66). Uzamış kanama zamanı prevalansı kronik faz ve blastik krizde benzerdir (%69) (51). ADP, epinefrin, kollajen ve trombine karşı bozulmuş agregasyon yanıtı bildirilmiştir. Bir çalışmada agregasyon anormallikleri blastik krizde, stabil fazdan daha sık bulunmuştur (51). Tariflenen diğer trombosit bozuklukları azalmış lipooksijenaz aktivitesi, trombin bağlanmanın olmaması ve kollajen veya trombin ile trombosit sitümülasyonuna yanıt olarak TxA_2 sentezinin azalmasıdır. β tromboglobulin düzeylerinin plazmada arttığı fakat trombositlerde azaldığı bildirilmiştir. Trombosit vWF'ün normal trombositlerle kıyaslandığında ET ve PCRV'de azalmasına rağmen KML'de arttığı bulunmuştur fakat yapılan bir çalışmada KML'li 14 hastanın 3'ünde düşük trombosit vWF ve fibrinojen düzeyleri gösterilmiştir (55). KML'deki trombosit disfonksiyonu lökositoz ve hastanın sürvisi ile korele gözükmemektedir. Trombosit yoğunluk dağılımı çalışmaları blastik krizdeki tüm, kronik fazdaki %50 hastada "hafif" trombositler göstermiştir. KML'deki megakaryositlerin yüksek poliploid hücre üretmediği gösterilmiştir.

KML'li hastalardan elde edilen plazma artmış ADP degradasyon yeteneğine sahip gözükmemektedir. Bu bulgunun önemi bilinmemektedir. İlginç olarak KML'de plazma faktör V eksikliği tanımlanmıştır ve faktör V'in trombosit veya diğer hücrelere adsorbsiyonuna bağlanmıştır. Bu anormallik sitoredüksiyon tedavisi veya kemik iliği transplantasyonu ile

düzeltilmiştir. KML'de von Willebrand hastalığının kazanılmış bir formu bildirilmiştir (56).

2.2. Polistemia Rubra Vera

PCR'V'de tromboembolik komplikasyonlar sık iken kanama diatezi daha nadirdir. PCR'V'si kontrolde olmayan ve majör cerrahiye giden hastalar yüksek tromboembolik komplikasyon riski altındadır (53). Bir çalışmada hastaların 2/3'ünde trombohemorajik komplikasyon gelişmiş ve tüm hastaların 1/3'ü ölmüştür (51). Bu olaylarda birkaç faktör rol oynar: hiperviskozite, staz, anormal pıhtı oluşumu, intravasküler koagülasyon ve trombositozla birlikte olan veya olmayan kalitatif trombosit defetleri. Hiperviskozite PCR'V'li hastalardaki trombozun patogeneğinde önemli rol oynar. Belirgin yüksek hematokriti (>%60) olanlar hematokriti daha düşük (%40-44) olanlara göre 38 kat artmış tromboembolik olay insidansına sahiptir. Artmış hematokrit düzeyleri artmış kan viskozitesi, serebral, retinal ve pulmoner dolaşımda bozuklukla ilişkilidir. PCR'V' ye ait klinik semptomların çoğu bu bozukluklar sonucu ortaya çıkar. Serebral kan akımı hem PCR'V hem rölatif eritrositozlu hastalarda artmış hematokrit veya kan viskozitesi ile ters orantılıdır (56).

Hemorreolojik değişikliklere ilave olarak diğer faktörlerin iştiraki da önemlidir. Sekonder polistemili hastalarda vasküler komplikasyonlar rölatif olarak azdır ve trombositoz PCR'V'nin özgün bir özelliği değildir. Bu nedenle PCR'V komplikasyonlarının bazılarında kazanılmış kalitatif trombosit bozuklukları rol oynar.

PCR'V'da trombosit agregasyonu çalışmaları ET'da tanımlananlara benzer anormallikler göstermiştir. En sık bulgu hastaların %50 sinde görülen epinefrinle agregasyon olmamasıdır. ADP (%45) ve kollagen (%40) ile indüklenen agregasyonda bozulma da bildirilmiştir (56). Fakat 20 hastalık bir çalışmada başlangıçta epinefrine yanıt hastaların sadece %25'inde azalmış, ADP, AA, trombin ve ristosetin ile trombosit agregasyon yanıtı normal olarak bildirilmiştir (2). Zaman içinde tekrarlayan çalışmalar bu hastaların trombositlerinin, olguların %50

sinde hiporesponsif ve %25 inde hiperresponsif hale geldiğini göstermiştir. Hipofonksiyone trombositli hastalarda hemorajik komplikasyonlar gözlenmiştir. Bazı çalışmalarda PCRV'de trombosit agregasyon bozuklukarı ve trombohemorajik komplikasyonlar arasında ilişki saptanmamıştır (56).

Cam boncuk kolonlarına azalmış trombosit adezyonu PCRV'li hastaların %18'inde özellikle en yüksek trombosit sayısı olanlarda bildirilmiştir. Kanama zamanında uzamada nadirdir. Azalmış trombosit alımı ve serotonin salınımı iki çalışmada bildirilmiştir (47, 50). Elektron mikroskobu ile PCRV'li hastaların %80'inde azalmış trombosit yoğunluğu bulunmuştur (50).

PCRV'li hastalarda trombosit ömründe hafif azalma, artmış protrombin ve fibrinojen katabolizması da gösterilmiştir. Bu anormallikler trombositozu ve tromboembolik olayları olan hastalarda en belirgindir ve bazı durumlarda miyelosupresif tedavi ile düzelmiştir. Daha önce uygulanan anormal trombosit ve fibrinojen kinetikleri ile birlikte düşük trombosit serotonin içeriği ve yüksek plazma β tromboglobulin düzeyleri PCRV'de invivo trombosit agregasyonu olduğunu destekler gözükmektedir. Normal hematokriti olan asemptomatik PCRV'li hastalarda kan koagülasyonunun aktive olduğu bulunmuştur. Trombosit aktivasyonu ve intravasküler koagülasyonun gözlenen özelliklerinin tromboembolik komplikasyonların nedeni mi yoksa etkisi mi olduğu net değildir (56).

PCRV'li hastalarda bildirilen diğer trombosit anormallikleri prostoglandin D2 reseptörleri, membran glikoproteinleri, lipooksijenaz ve siklooksijenazda defekt, düşük trombosit içi vWF ve fibrinojen düzeyleri ile depo havuz eksikliklerini içerir (56).

2.3.Esansiyel Trombositoz

Kanama diatezi ve tromboz siktir. Yüksek kanama insidansı nedeniyle önceleri hemorajik trombositozis olarak adlandırılırdı (45). Son dönemde yapılan çalışmalar klinik olarak trombozun daha baskın

olduğunu göstermektedir. ET'lu 61 hastada yapılan bir çalışmada başlangıçta tromboz insidansı %84 iken kanama insidansı sadece %13 olarak bulunmuştur (48). Trombositozun derecesi, artmış tromboz veya kanama insidansı ile ilişkili gözükmemektedir (49).

ET'da görülen en sık trombosit bozukluğu epinefrinle indüklenen agregasyonda belirgin azalmadır. Bu bozukluk trombositlerdeki α adrenerjik reseptör sayısındaki azalmaya bağlanmıştır. ET'lu hastalarda aynı zamanda ADP, kollajen, trombin ve platelet aktive edici faktöre yanıt olarak hipoagregasyon görülür. ET'da hipoagregasyon sık (%62) görülürken bazı hastalar değişik agonistler (epinefrin dışında) ile artmış reaktivite (hiperagregabilite) gösterirler. Ek olarak invitro spontan trombosit agregasyonu bazı hastalarda görülebilir. ET'daki trombosit bozukluklarını yoğun granül ve α granül içeriğinde eksiklikler, trombosit prostoglandinlerinin üretiminde anormallikler ve membran glikoproteinlerinde eksiklikler oluşturur. Trombosit granül, vWF, fibrinojen, PDGF, PF4 ve β tromboglobulinde azalma da bildirilmiştir. ET'da bildirilen diğer trombosit anomalileri artmış TxA₂ üretimi ile ilişkili lipooksijenaz eksiklikleri ve prostaglandin D2 reseptör sayısında azalmadır (56). İlginç olarak lipooksijenaz eksikliği olan hastalarda TxA₂ üretimindeki artışa rağmen tromboza eğilimden ziyade kanama görülür (52).

ET'daki bu çeşitli trombosit bozuklukları anormal megakaryosit klonu tarafından bozulmuş trombosit üretimine bağlı gözükmemektedir. Çünkü lipooksijenaz eksikliği ve PDGF eksikliği bazı hastalarda tedavi ile geri dönmüştür. β tromboglobulin ve PDGF düzeyleri plazmada artmış ancak ET trombositlerinde azalmıştır. Bu bulgu anormal megakaryositlerin bu proteinleri normal granüllerde depolamasında yetersizlik olduğunu düşündürür. ET'lu hastalarda cam boncuk retansiyon bozukluğu bildirilmiştir. Belirtilen trombosit anormalliklerine rağmen çoğu ET'lu hastada kanama zamanı ve kan viskozitesi normaldir (51).

Başka bir bulgu başlıca klinik kanamalı hastalarda bulunan azalmış trombosit prokoagülan aktivitesidir (46). Trombotik komplikasyonu olan

hastalarda PF3 aktivitesinde artış gözlenir. İlginç olarak ET'da trombosit Fc reseptör ekspresyonunda ve dolaşan immün komplekslerde artış bildirilmiştir. İmmün komplekslerin invivo trombositlere bağlanmasının trombositlerin hemostaz fonksiyonunu bozduğu ileri sürülmüştür (56).

2.4. Agnojenik Miyeloid Metaplazi

Trombosit sayısı yüksek olan AMM'li hastalar sıklıkla kanama komplikasyonu ile karşılaşır. Fakat hepatic ve portal ven trombozu bildirilmesine rağmen tromboembolik komplikasyonlar nadirdir (56). Kanama zamanında uzama ve azalmış trombosit cam boncuk retansiyonu AMM'de diğer miyeloproliferatif hastalıklardan daha siktir(51). AMM'de trombosit morfolojik anormallikleri, azalmış PF3 ve trombosit agregasyon bozuklukları tanımlanmıştır. Bir çalışmada AMM'li hastaların %68'inde epinefrin ile trombosit agregasyon bozukluğu bildirilmiştir. Depo havuz eksikliği de gözlenmiştir (56).

3. TROMBOSİT AGREGASYON TESTLERİ

Trombositlerin değişik ajanların varlığında ve çeşitli koşullarda agrege olduğu bilinmektedir. Trombosit agregasyonu; bir trombositin diğerine yapışmasını ifade etmek için kullanılan bir terimdir. Bu fenomen, trombositten zengin plasma (PRP) veya tam kana agrege edici ajanların eklenmesi ile indüklenir. Agregasyon kalsiyum, fibrinojen, bir veya birçok plazmatik faktör ve agrege edici ajanın varlığına bağlıdır (67).

Agrege edici ajanların seçimi teorik temellere bağlıdır. ADP ve epinefrin(adrenalin) trombositlerin depo granüllerinde bulunur ve primer hemostatik tıkaçın oluşumu sırasında salınarak trombosit kümeleşmesine katkıda bulunur. Bu ajanlara invitro trombosit yanıtı hastanın kanama bozukluğunun yapısını belirlemede yardımcıdır. Kollagen ise trombositler tarafından ihtiva edilmez, damar duvarında bulunur ve vaskuler travma sonrası trombositlerin karşılaştığı öncül agrege edici veya prokoagulan

faktör olarak kabul görür. Böylece kollagene invitro trombosit yanıt çalışması tanısal açıdan önemlidir (67).

En sık kullanılan agonistler trombin, kollagen, araşidonik asit, ristosetin, ADP ve epinefrindir.

Trombosit agregasyon testi; trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde günümüzde kullanılan en değerli invitro testlerden biridir. Kalıtsal ve edinsel trombosit disfonksiyon durumlarının tespiti ve uygun tedavi şeklinin seçiminde klinik öneme sahiptir.

Üç çeşit agregasyon testi mevcuttur:

1. PRP ile optik agregasyon
2. Tam kan ile impedans agregasyon
3. ATP salınımının ölçümü (luminesans)

Optik agregasyon

İnvitro trombosit agregasyonu ile trombositlerin invivo primer hemostatik tıkaç oluşturma yeteneği ortaya konulmaya çalışılır.

Antikoagüle kan örneğinden elde edilen plasma suspansiyonundaki plateletler düşük dozda santifüj edilerek PRP elde edilir. PRP'yi içeren küvete agonist eklenmesini takiben trombositler agregate olarak yanıt verdiğinde ışık transmisyonunda değişiklik olur ve bu değişiklik cihaz tarafından kaydedilir. Trombosit agregatı oluşturacak agonist ne kadar güçlü ise PRP içinden geçen ışık miktarı o kadar fazla olur (67).

İmpedans agregasyonu

İmpedans (veya elektriksel rezistans) agregasyon metodu optik bir yöntem değildir. Tam kanda çalışılır.

Test örneğini içeren küvet içine bir elektrod probu yerleştirilir. Prob temel olarak iki metal tel içerir. Prob dolaşımına milivolt aralığında alternatif akım voltajı tatbik edilir. Agregre edici agonist küvete eklenir ve trombositler daldırılan metal tel üzerinde kümeleşir. Bu kümeleşme dolaşımda elektriksel rezistans oluşturur. Oluşan rezistans değışikliği alet tarafından ölçölür ve ohms olarak değerlendirilir. Test, agonist eklendikten sonra 4-6 dakika içinde gerçekteştirilir (67).

Tam kanda impedans agregasyon testi, PRP'de optik agregasyon testi ile karşılaştırıldığında bir takım üstünlüklere sahiptir;

- Tam kan impedans agregasyonu ristosetinin agregre edici etkisine daha sensitiftir. Böylece vWD teşhisinde kanama zamanı ve vWF ölçümüne göre daha kıymetlidir.
- Kan örneğinin optik özelliklerinden etkilenmediğinden lipemik ve trombositopenik örneklerde daha güvenilir olarak kullanılabilir.
- Daha fizyolojiktir; trombositlerin doğal ortamında değışiklik yapılmadan fonksiyonları değerlendirilir.
- Santrifüj gerektirmediğii için trombosit manipülasyonu önlenmiş olur; özellikle megatrombosit sayısının arttığı durumlar için bu özellik faydalıdır (67).

ATP salınım ölçümü (Luminesans)

ATP salınımı PRP ve tam kanda ölçölür. Lumi-agregometrenin temel prensibi, extrasellüler ATP için sensitif luminesant (Iusiferin) ile ATP sekresyonu ve eş zamanlı olarak agregasyon ölçümüdür.

Luminesans ölçümü normal veya bozulmuş dense granül salınımını ortaya koyar, sekresyon defektleri ve depo havuz hastalığının teşhisi için en duyarlı testlerden biridir (67).

4. KRONİK MİYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA UYGULAN TEDAVİ REJİMLERİNİN TROMBOSİT FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ

4.1. Aspirin

ASA kullanan PCRV'li hastaların izlenimlerinde trombosit fonksiyon kontrolü için agregasyon testlerinin kullanımının uygun olmadığı belirtilmektedir. Birçok araştırmacı ASA kullanımı sonrası artmış plazma β TG ve PF4 düzeylerinin azaldığını ancak normalleşmediğini rapor etmişlerdir. Yüksek plazma β TG ve PF4 düzeylerinde benzer azalma tiklodipin alan PCRV'li hastalarda da belirtilmiştir. Ancak bozulmuş serotonin deposu değişmemiştir ve depo havuz hastalığının ASA tedavisi ile düzelmeyeceğini düşündürmektedir (57).

4.2. Sitoredüktif tedavi

Sitoredüktif tedavi, miyeloproliferatif hastalıklardaki trombosit defektleri üzerine kısmen olumlu etkiye sahip gibi gözükmektedir. Wehmeier ve arkadaşlarına ait 6 KML'li olguyu içeren bir çalışmada bisulfan ve hidroksiüre tedavisi sonrası beyaz küre ve trombosit sayısı normale dönmesine rağmen, plazma β TG ve PF 4 düzeylerine azalma ve trombosit agregasyonunda düzelme olmamıştır. Barbui ve arkadaşları ise bisulfan tedavisi sonrası spontan trombosit agregasyonunda normale dönme, kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonunda düzelmeyi rapore etmişlerdir ancak densgranul depo hastalığının devam ettiğini görmüşlerdir (57).

4.3. İnterferon-alfa

İnterferon alfa'nın klonal megakaryosit oluşumunu suprese ederek poliklonal hematopoezi sağlayarak, platelet fonksiyonları üzerine hafif olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir.

Rekombinant interferon alfa ile tedavi edilen 20 ET'li hastada trombosit içi ADP düzeylerinde parsiyel artış ancak normalleşmeme, platelet agregasyon bozukluklarında düzelme ve plazma β TG düzeylerine azalma rapore edilmiştir (57).

4.4. İmatinib mesilat

KML'li hastaların tedavisinde yeni bir dönem açan imatinib mesilatın uzun vadedeki yan etkileri tam olarak bilinmediği gibi, trombosit fonksiyonları üzerine olan etkisine ait de literatürde net bilgiler mevcut değildir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalında prospektif olarak yapılmıştır.

Çalışmaya yeni kronik miyeloproliferatif bozukluk tanısı konan, yaş ortalaması 54 ± 15 (28-79) olan 20'si kadın 16'sı erkek toplam 36 olgu (23 KML, 8 PCRV, 5 ET) alındı.

Olguların son 14 gün içerisinde aspirin, NSAID ve trombosit fonksiyonunu etkileyecek herhangi bir medikasyonu kullanmaması sağlandı. Bilinen sistemik (renal, hepatik veya endokrin) veya hemostatik bozukluğu olan olgular çalışmadan dışlandı.

İlk başvuru sırasında tam kan sayımı, PT, aPTT, fibrinojen, tam kanda luminesans ve PRP'de optik agregasyon yöntemi ile trombosit fonksiyonları ve ristosetin kofaktör (Rcof) ölçümü yapıldı. Agonist olarak ADP, AA, Ristosetin, Kollajen kullanıldı. Trombositler; en az bir agonist ile indüklenen trombosit agregasyon veya ATP salınım değeri referans aralığının altında ise hipoaktif, üstünde ise hiperaktif olarak değerlendirildi.

Spesifik tedavi rejimleri başlandıktan sonra takip edilen 17 olguda tam kan sayımı, koagülasyon testleri, trombosit agregasyon testleri ve Rcof ölçümü tekrarlandı.

Tam kan sayımı için kan örnekleri, Beckton Dickinson (BD) Vacutainer marka hazır antikoagulanlı tüplere alınmış ve Beckmann Coulter Gen-S SM, USA otomatik kan sayım aleti ile sayım yapılmıştır.

PT, aPTT ve fibrinojen için kan örneği venöz yoldan %3,2 sodyum sitrat içeren tüplere alındıktan sonra 2400 g devirde 20 dk santrifüj edilerek plasma örneği ayrılmıştır. Diagnostica Stago firmasının hazır kitleri kullanılarak aynı firmaya ait STA Compact cihazında tetkikler

çalışılmıştır. Tüm santrifüj işlemleri için Eppendorf 5810 R santrifüjü kullanılmıştır.

Trombosit agregasyon çalışmaları için gereken kan örneği sabah erken saatte alınmıştır. Hafif turnike eşliğinde 19 G iğneli plastik enjektörler kullanılarak alınan açlık kan örneği BD Vacutainer 4,5 ml %3,2 sitratlı (1/10) tüplere konulmuştur. Agregasyon testleri kan alındıktan sonra 2 saat içinde tamamlanmıştır.

Trombosit agregasyon ve ristosetin Co-factor çalışmaları Chronolog model 560 Ca agregometresi ile üretici firmanın kullanma talimatına göre çalışılmıştır.

Tam kan trombosit agregasyonu için kan örneğini içeren sitratlı tüpler 7-8 defa yavaşca alt üst edildikten sonra içinden 450 µL sitratlı tam kan alınıp; 450 µL serum fizyolojik içeren, disposabl silikonize stir bar yerleştirilmiş polistiren okuma küvetine (Chronolog kat. No: 367) konulmuştur. Küvetler cihazın inkubasyon çukurunda 37°C'ye kadar inkübe edilmiştir. En az 10 dakika inkubasyon süresinden sonra 100 µL lusiferin (Chronolog No: 395 Chrono Lume Reagent) okuma küvetine eklenmiş ve 5 dakika boyunca monitörden agregasyon ve sekresyon eğrilerinin stabilitesi gözlenmiştir. Eğrilerin stabilitesi sağlandıktan sonra elektrod küvete yerleştirilmiş ve örnek 2 dakika tekrar inkübe edilmiştir. Süre sonunda standart miktarda ADP (10 µL) eklenerek agregasyon ve sekresyon ölçümleri 6 dakika sonunda gerçekleştirilmiştir. Aynı işlem AA (15 µL), Ristosetin (10 µL) ve kollagen (5 µL) için sırasıyla tekrarlanmıştır.

Optik agregasyon için alınan kan örneği Eppendorf 5810 R santrifüjünde 930 RPM'de 15 dakika santrifüj edilip PRP elde edilmiştir. Kör olarakta 4000 RPM'de 20 dakika santrifüj elde edilerek elde edilen örneğin PPP'si kullanılmıştır. Teflon kaplı stir-bar yerleştirilmiş Chronolog Part 312 Pyrex tüplerin içine 250µl PRP konarak 37 C'ye gelen cihazın inkubasyon gözüne yerleştirilir ve 5 dakika inkübe edilir. 2 adet pyrex

tüpe 500 ml örneğin PPP'si konularak kör yuvalarına yerleştirilir. Bilgisayar monitörünün grafiği temizlendikten sonra aletin "set balance" düğmesini 1 saniye kadar basılıp bırakılır. Bu arada monitördeki grafik üzerinde mavi çizginin 0-100 arasında hareketi gözlenir. Bu işlemlerden sonra ekran temizlenip ilgili programdan seçilen agonistten uygun miktarda okuma tüpüne ilave edilir ve kapak kapatılır. Diğer agonistte ikinci kanaldaki okuma tüpüne ilave edilir. Reaksiyon 6 dakika izlenip süre sonunda agregasyon ölçümü yapılarak kaydedilir. Agonist olarak ADP, kollagen ve araşidonik asit kullanıldı.

Tüm platelet agregasyon çalışmalarında sağlıklı kontrol birlikte çalışılmıştır.

Ristosetin Co-Factor çalışması için sitratlı kan 100 g devirde 15 dakika santrifüj edilerek PRP elde edilmiştir. 100 µL PRP, 100 µL TBS ile dilue edilerek Start Reagent elde edilmiştir. Daha önceden RCof kalibrasyonu yapılmış cihazın monitöründen vWF-Co Factor programı seçilerek çalışmaya geçilmiştir. Teflon kaplı stir-bar konmuş pyrex okuma küvetine elimizde hazır bulunan Co-Factor kitinden 100 µL platelet konulup, üzerine 25 µL ristosetin ilave edilerek, küvet okuma yuvasına konulmuş ve inkübasyon başlatılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda 25 µL Start Reagent eklenerek 3. dakikada reaksiyon otomatik olarak sonlanmıştır.

Ajan	Konsantrasyon	Agregasyon (%)
Kollajen	2 µg/mL	50-80
Araşidonik asit	0.5 mM	64-90
ADP	5 µM	64-89
Epinefrin	5 µm	63-90
Ristosetin	1.0 mg/mL	61-98

Tablo 4 . Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Laboratuvarına ait Normal Optik Agregasyon (PRP) Referans Değerleri (Mean +/- SD) (26 sağlıklı kişide çalışılarak elde edilmiştir)

Ajan	Konsantrasyon	Agregasyon (%)	Sekresyon (ohm)
Kollajen	2 µg/mL	17-28	0.5-2.7
Araşidonik asit	0.5 mM	13-23	0.8-3.5
ADP	5 µM	8-21	0.4-2.9
Ristosetin	1.0 mg/mL	5-16	-

Tablo 5 . Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Laboratuvarına ait Normal Tam Kan Agregasyon ve Sekresyon Referans Değerleri (Mean +/- SD) (27 sağlıklı kişide çalışılarak elde edilmiştir)

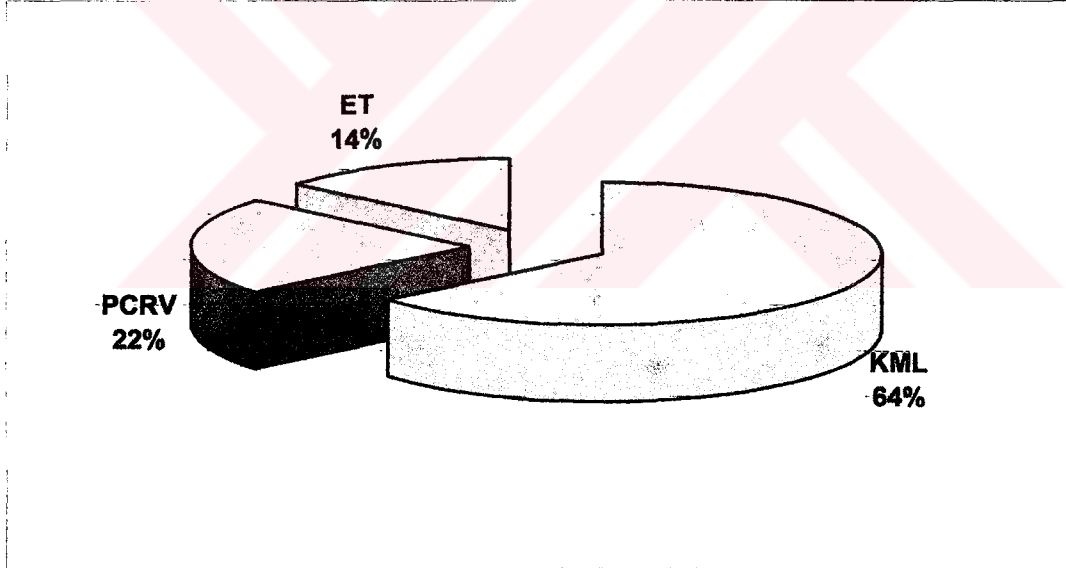
İstatistiksel analiz Bioistatistik Anabilim Dalı tarafından SPSS for windows 12.0 istatistik programı ile χ^2 testi, eşleştirilmiş t testi, Wilcoxon t testi, bağımsız örneklerde t testi, Mann-Whitney U testi, spearman korelasyon analizi, pearson korelasyon analizi ve eşik değer analizi kullanılarak yapılmıştır. Önemlilik düzeyi olarak $p < 0.05$ alındı.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen kronik miyeloproliferatif hastalığı olan olguların yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı aşağıda gösterilmiştir (Tablo 6).

	Yaş	Kadın	Erkek	Toplam
KML	49.2 ±15.0	12	11	23
PCRV	62.6 ±11.3	4	4	8
ET	59.0±14.9	4	1	5
Toplam	54.0 ±15.1	20	16	36

Tablo 6. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı



Şekil 1. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tanılarına göre dağılımı

KMPH'lı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde; %4 olgu normal iken, %25 olgu hipofonksiyone, %36 olgu hiperfonksiyone ve %36 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir.

Optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise, %28 olgu normal iken, %42 olgu hipofonksiyone, %11 olgu hiperfonksiyone ve %19 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir (Tablo 7).

	Normal	%	Hipofonk.	%	Hiperfonk.	%	Miks	%
Luminesans Yöntem (Tam kan)	n=1	3	n=9	25	n=13	36	n=13	36
Optik Yöntem (PRP)	n=10	28	n=15	42	n=4	11	n=7	19

Tablo 7. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyonları (n=36)

KMPH'lı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde; %6 olgu normal iken, %70 olgu hipofonksiyone, %12 olgu hiperfonksiyone ve %12 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir.

Optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise, %6 olgu hipofonksiyone, %12 olgu hiperfonksiyone ve %82 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir. Trombosit fonksiyon bozukluğu olmayan olgu bu yöntem ile saptanmamıştır (Tablo 8).

	Normal	%	Hipofonk.	%	Hiperfonk.	%	Miks	%
Luminesans Yöntem (Tam kan)	n=1	6	n=12	70	n=2	12	n=2	12
Optik Yöntem (PRP)	n=0	0	n=1	6	n=2	12	n=14	82

Tablo 8. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyonları (n=17)

KMPH'lı olguların tedavi öncesi ve sonrası hematolojik parametreleri karşılaştırıldığında; lökosit, platelet sayısı ve INR düzeyi tedavi sonrasında düşük saptanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 9).

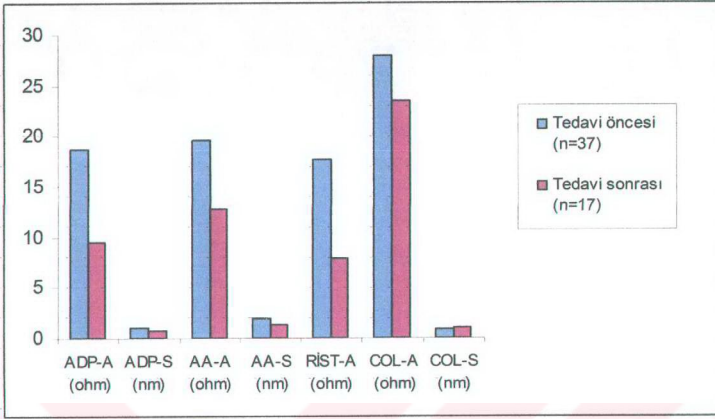
Parametre	Tedavi öncesi (n=17)	Tedavi sonrası (n=17)	p
Hemoglobin(g/dl)	13 ±2	13 ±1	p>0.05
Hematokrit(%)	37 ±7	38 ±4	p>0.05
Lökosit (x10 ³ /mm ³)	118.371 ±71.971	6.441 ±2.645	p<0.001
Platelet (x10 ³ /mm ³)	554.265 ±376.866	258.059 ±158.879	p<0.01
PT (sn)	14 ±3	14 ±1	p>0.05
aPTT (sn)	31 ±3	31 ±3	p>0.05
INR	1.2 ± 0.1	1.1 ±0.1	p<0.001
Fibrinojen (mg/dl)	382 ±66	349 ±82	p>0.05

Tablo 9. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi ve sonrası hematolojik parametrelerinin karşılaştırılması

KMPH'lı olguların tedavi öncesi ve sonrası tam kan trombosit agregasyon ve sekresyon sonuçları karşılaştırıldığında; ADP, ristosetin, kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu ve ADP ile indüklenen trombosit sekresyonu tedavi sonrası düşük saptanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 10).

Parametre	Tedavi öncesi (n=17)	Tedavi sonrası (n=17)	p
ADP-A (ohm)	19.4 ±11.8	9.4 ±6.2	p<0.05
ADP-S (nm)	1.1 ±1.2	0.7 ±0.5	p<0.05
AA-A (ohm)	17.8 ±10.1	12.8 ±9.7	p>0.05
AA-S (nm)	2.1 ±1.6	1.6 ±1.6	p>0.05
RİST-A (ohm)	18.9 ±10.4	6.5 ±5.9	p<0.001
COL-A (ohm)	28.2 ±11.2	23.7 ±5.4	p<0.05
COL-S (nm)	0.9 ±0.8	1.2 ±1.1	p>0.05

Tablo 10. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi ve sonrası tam kan trombosit agregasyon sonuçlarının karşılaştırılması

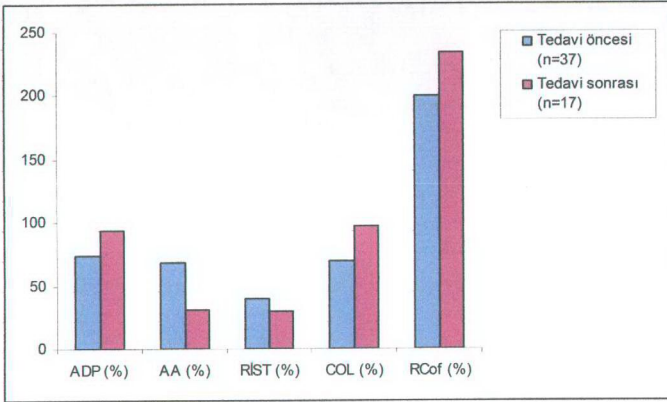


Şekil 2. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi ve sonrası tam kan trombosit agregasyon sonuçlarının karşılaştırılması

KMPH'lı olguların tedavi öncesi ve sonrası optik trombosit agregasyon (PRP) ve ristosetin kofaktör sonuçları karşılaştırıldığında; tedavi sonrasında ADP ve kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu artarken, AA ile indüklenen trombosit agregasyonu azalmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 11).

Parametre	Tedavi öncesi (n=17)	Tedavi sonrası (n=17)	p
ADP (%)	75.9 ±9.0	97.8 ±10.2	p<0.001
AA (%)	69.3 ±21.9	37.0 ±46.1	P<0.05
RİST (%)	43.8 ±28.2	35.5 ±35.5	p>0.05
COL (%)	71.9 ±14.1	98.8 ±11.1	p<0.001
RCof (%)	185.1 ±134.1	235.7 ±202.3	p>0.05

Tablo 11. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi ve sonrası optik trombosit agregasyon ve ristosetin kofaktör sonuçlarının karşılaştırılması



Şekil 3. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi ve sonrası optik trombosit agregasyon ve ristosetin kofaktör sonuçlarının karşılaştırılması

KMPH'lı tüm olgulardan sadece KML'li olguların tedavi öncesi ve sonrası tam kan trombosit agregasyon ve sekresyon sonuçları karşılaştırılabildi.

ADP, ristosetin, kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu ve ADP ile indüklenen trombosit sekresyonu tedavi sonrası düşük saptanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 12).

		Tedavi Öncesi (n=14)	Tedavi Sonrası (n=14)	p
Luminesans yöntem (Tam Kan)	Col-A (ohm)	25.7 ± 10.3	23.0 ± 5.8	ns
	Col-S (nm)	0.6 ± 0.4	1.0 ± 0.8	ns
	ADP-A (ohm)	17.8 ± 12.4	8.7 ± 5.4	ns
	ADP-S (nm)	0.8 ± 0.5	0.6 ± 0.3	ns
	Rist-A (ohm)	18.1 ± 10.4	5.0 ± 3.8	***
	AA-A (ohm)	15.8 ± 10.0	11.1 ± 7.1	ns
	AA-S (nm)	1.9 ± 1.4	1.3 ± 1.4	ns
Optik yöntem (PRP)	Col (%)	72.6 ± 15.3	101.7 ± 9.9	***
	ADP (%)	75.0 ± 9.7	100.0 ± 9.8	***
	Rist (%)	47.9 ± 27.2	35.9 ± 36.6	ns
	AA (%)	73.2 ± 14.0	12.2 ± 45.7	**

"ns p>0.05, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001"

Tablo 12. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi ve sonrası tam kan trombosit agregasyon sonuçlarının karşılaştırılması

KML'li olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde; %39 olgu hipofonksiyone, %17 olgu hiperfonksiyone ve %44 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir.

Optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise, %26 olgu normal iken, %48 olgu hipofonksiyone, %9 olgu hiperfonksiyone ve %17 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir.

KML'li olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde; %7 olgu normal iken, %79 olgu hipofonksiyone ve %14 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir.

Optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise, %14 olgu hiperfonksiyone ve %86 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir (Tablo 13).

		Normal	%	Hipofonk.	%	Hiperfonk.	%	Miks	%
Tedavi öncesi n=23	Luminesans Yöntem (Tam kan)	n=0	0	n=9	39	n=4	17	n=10	44
	Optik Yöntem (PRP)	n=6	26	n=11	48	n=2	9	n=4	17
Tedavi sonrası n=14	Luminesans Yöntem (Tam kan)	n=1	7	n=11	79	n=0	0	n=2	14
	Optik Yöntem (PRP)	n=0	0	n=0	0	n=2	14	n=12	86

Tablo 13. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi ve sonrası trombosit fonksiyonları

PCRv'li olguların trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde; %63 olgu hipofonksiyone ve %37 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir.

Optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise, %50 olgu normal iken, %25 olgu hipofonksiyone, %12.5 olgu hiperfonksiyone ve %12.5 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir (Tablo 14).

	Normal	%	Hipofonk.	%	Hiperfonk.	%	Miks	%
Luminesans Yöntem (Tam kan)	n=0	0	n=0	0	n=5	63	n=3	37
Optik Yöntem (PRP)	n=4	50	n=2	25	n=1	12.5	n=1	12.5

Tablo 14. Polisitemia Rubra Veralı olguların trombosit fonksiyonları (n=8)

ET'li olguların trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde %20 olgu normal iken, %60 olgu hipofonksiyone ve %20 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir.

Optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise, %40 olgu hipofonksiyone, %40 olgu miks ve %20 olgu hiperfonksiyone trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir (Tablo 15).

	Normal	%	Hipofonk.	%	Hiperfonk.	%	Miks	%
Luminesans Yöntem (Tam kan)	n=1	20	n=0	0	n=3	60	n=1	20
Optik Yöntem (PRP)	n=0	0	n=2	40	n=1	20	n=2	40

Tablo 15. Esansiyel trombositozlu olguların trombosit fonksiyonları (n=5)

Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda kullanılan agonistlere göre trombosit fonksiyon bozuklukları değerlendirildiğinde; luminesans yöntemde AA ile indüklenen agregasyon, optik yöntemde ise ristosetin ile indüklenen agregasyon yanıtında diğer agonistlere göre daha fazla azalma saptanmıştır (Tablo 16).

		Hipofonksiyon	Hiperfonksiyon	Normal
Luminesans yöntem (Tam Kan)	Col-A (ohm)	4	15	17
	Col-S (nm)	14	3	19
	ADP-A (ohm)	6	12	18
	ADP-S (nm)	9	5	22
	Rist-A (ohm)	2	19	15
	AA-A (ohm)	12	13	11
	AA-S (nm)	10	6	20
Optik yöntem (PRP)	Col-P	2	8	26
	ADP-P	2	4	30
	Rist-P	21	0	15
	AA-P	6	4	26

Tablo 16. Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda kullanılan agonistlere göre trombosit fonksiyon bozukluklarının dağılımı

KMPH'lı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçları luminesans yöntem ile karşılaştırıldığında kollajen, ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonu ve kollajen ile indüklenen trombosit sekresyonu hasta grubunda yüksek bulunmuştur (Tablo 17).

		Hasta n = 36	Kontrol n = 28	p
Luminesans yöntem (Tam Kan)	Col-A (ohm)	28.1 ± 9.7	22.4 ± 5.1	**
	Col-S (nm)	0.9 ± 1.0	1.6 ± 1.2	**
	ADP-A (ohm)	18.8 ± 11.6	13.8 ± 4.6	*
	ADP-S (nm)	1.1 ± 1.2	1.6 ± 1.6	ns
	Rist-A (ohm)	17.5 ± 10.1	9.9 ± 4.4	***
	AA-A (ohm)	19.7 ± 11.1	17.8 ± 5.2	ns
	AA-S (nm)	2.0 ± 1.7	2.1 ± 1.4	ns

"ns p>0.05, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001"

Tablo 17. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçlarının luminesans yöntem ile karşılaştırılması

KMPH'lı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçları optik yöntem ile karşılaştırıldığında; hasta grubunda kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu yüksek iken ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonu düşük bulunmuştur (Tablo 18).

		Hasta n = 36	Kontrol n = 26	p
Optik yöntem (PRP)	Col (%)	69.1 ± 18.8	61.3 ± 16.7	*
	ADP (%)	74.0 ± 15.6	75.2 ± 13.7	ns
	Rist (%)	40.0 ± 28.6	68.5 ± 6.7	***
	AA (%)	69.8 ± 25.0	76.9 ± 15.3	ns

"ns p>0.05, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001"

Tablo 18. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçlarının optik yöntem ile karşılaştırılması

KMPH'lı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçları luminesans yöntem ile karşılaştırıldığında kollajen, ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonu ve kollajen ile indüklenen trombosit sekresyonu hasta grubunda yüksek bulunmuştur (Tablo 19).

		Hasta n = 17	Kontrol n = 28	p
Luminesans yöntem (Tam Kan)	Col-A (ohm)	23.7 ± 5.4	22.4 ± 5.1	ns
	Col-S (nm)	1.2 ± 1.1	1.6 ± 1.2	ns
	ADP-A (ohm)	9.4 ± 6.2	13.8 ± 4.6	*
	ADP-S (nm)	0.7 ± 0.5	1.6 ± 1.6	*
	Rist-A (ohm)	6.5 ± 5.9	9.9 ± 4.4	*
	AA-A (ohm)	12.8 ± 9.7	17.8 ± 5.2	ns
	AA-S (nm)	1.6 ± 1.6	2.1 ± 1.4	ns

"ns p>0.05, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001"

Tablo 19. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçlarının luminesans yöntem ile karşılaştırılması

KMPH'lı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçları optik yöntem

ile karşılaştırıldığında; hasta grubunda kollajen, ADP ile indüklenen trombosit agregasyonu yüksek iken ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonu düşük bulunmuştur (Tablo 20).

	Hasta n = 17	Kontrol n = 26	p	
Optik yöntem (PRP)	Col (%)	98.8 ± 11.1	61.3 ± 16.7	***
	ADP (%)	97.8 ± 10.7	75.2 ± 13.7	***
	Rist (%)	35.5 ± 35.5	68.5 ± 6.7	**
	AA (%)	37.0 ± 46.1	76.9 ± 15.3	ns

"ns p>0.05, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001"

Tablo 20. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçlarının optik yöntem ile karşılaştırılması

KMPH' li 37 olgunun tedavi öncesi tam kan trombosit fonksiyonları hematolojik parametreler ile karşılaştırıldı.

Kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu ile platelet, aPTT arasında pozitif; kollajen ile indüklenen trombosit sekresyonu ile beyaz küre arasında negatif; ADP ile indüklenen trombosit agregasyonu ile platelet arasında pozitif; ADP ile indüklenen trombosit sekresyonu ile beyaz küre arasında negatif; AA ile indüklenen trombosit agregasyonu ile platelet, aPTT arasında pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Tablo 21).

	Hb	Htc	BK	PLT	PT	aPTT	INR	Fibr
Col-A	r=0.033 p>0.05	r=0.079 p>0.05	r=-0.040 p>0.05	r=0.490 p<0.01	r=-0.034 p>0.05	r=0.434 p<0.05	r=-0.067 p>0.05	r=-0.075 p>0.05
Col-S	r=0.102 p>0.05	r=0.273 p>0.05	r=-0.527 p<0.01	r=0.309 p>0.05	r=-0.037 p>0.05	r=0.113 p>0.05	r=0.009 p>0.05	r=-0.042 p>0.05
ADP-A	r=-0.082 p>0.05	r=0.047 p>0.05	r=-0.074 p>0.05	r=0.652 p<0.01	r=0.046 p>0.05	r=0.263 p>0.05	r=0.169 p>0.05	r=0.228 p>0.05
ADP-S	r=0.113 p>0.05	r=0.241 p>0.05	r=-0.418 p<0.05	r=0.043 p>0.05	r=-0.106 p>0.05	r=0.014 p>0.05	r=0.027 p>0.05	r=0.089 p>0.05
Rist-A	r=0.120 p>0.05	r=0.093 p>0.05	r=-0.072 p>0.05	r=0.281 p>0.05	r=0.025 p>0.05	r=0.059 p>0.05	r=-0.076 p>0.05	r=0.102 p>0.05
AA-A	r=-0.016 p>0.05	r=0.075 p>0.05	r=-0.213 p>0.05	r=0.676 p<0.01	r=0.073 p>0.05	r=0.341 p<0.05	r=-0.136 p>0.05	r=0.010 p>0.05
AA-S	r=0.050 p>0.05	r=0.100 p>0.05	r=-0.137 p>0.05	r=-0.005 p>0.05	r=-0.002 p>0.05	r=-0.030 p>0.05	r=-0.030 p>0.05	r=0.101 p>0.05

Tablo 21. Tam kan trombosit agregasyonu ve sekresyon sonuçlarının hematolojik parametreler ile ilişkisi

KMPH' li 37 olgunun tedavî öncesi optik yöntemle çalışılan trombosit fonksiyonları hematolojik parametreler ile karşılaştırıldı.

Kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu ile INR, fibrinojen arasında negatif; ADP ile indüklenen trombosit agregasyonu ile hematokrit arasında pozitif, INR ve fibrinojen arasında negatif; AA ile indüklenen trombosit agregasyonu ile hemoglobîn, hematokrit arasında pozitif, fibrinojen arasında negatif ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Tablo 22).

	Hb	Htc	BK	PLT	PT	aPTT	INR	Fibr
Col	r=0.272 p>0.05	r=0.323 p>0.05	r=-0.261 p>0.05	r=0.259 p>0.05	r=-0.092 p>0.05	r=0.197 p>0.05	r=-0.399 p<0.05	r=-0.492 p<0.01
ADP	r=0.265 p>0.05	r=0.346 p<0.05	r=-0.301 p>0.05	r=0.198 p>0.05	r=-0.133 p>0.05	r=0.139 p>0.05	r=-0.667 p<0.01	r=-0.554 p<0.01
Rist	r=0.212 p>0.05	r=0.124 p>0.05	r=0.173 p>0.05	r=-0.121 p>0.05	r=0.017 p>0.05	r=-0.143 p>0.05	r=-0.070 p>0.05	r=-0.084 p>0.05
AA	r=0.411 p<0.05	r=0.418 p<0.05	r=-0.185 p>0.05	r=-0.028 p>0.05	r=-0.011 p>0.05	r=0.202 p>0.05	r=-0.288 p>0.05	r=-0.361 p<0.05

Tablo 22. Optik yöntem trombosit agregasyonu sonuçlarının hematolojik parametreler ile ilişkisi

TARTIŞMA

Çalışmamızda kronik miyeloproliferatif hastalığı olan 36 olguda trombosit fonksiyonları luminesans ve optik agregasyon yöntemi ile araştırıldı.

Luminesans yöntem ile; tedavi öncesi olguların 13/36'sı hiperfonksiyon, 13/36'sı miks, 9/36'sı hipofonksiyon şeklinde trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken 1/36 olgu normal idi. Aynı yöntem ile tedavi sonrası olguların 12/17'si hipofonksiyon, 2/17'si hiperfonksiyon, 2/17'si miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken, 1/17 olgu normal idi.

Optik yöntem ile; tedavi öncesi olguların 15/36'sı hipofonksiyon, 7/36'sı miks, 4/36'sı hiperfonksiyon şeklinde trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken 10/36 olgu normal idi. Aynı yöntem ile tedavi sonrası olguların 14/17'si miks, 2/17'si hiperfonksiyon, 1/17'si hipofonksiyon şeklinde trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken, trombosit fonksiyonları normal olan olgu saptanmadı.

Kronik miyeloproliferatif hastalığı olan olguların trombosit fonksiyonlarını araştırmaya yönelik literatürde yapılmış olan çalışmaların çoğunda optik agregasyon yöntemi kullanılmıştır. En geniş seri Baker ve arkadaşlarına aittir (2). 24 AMM, 20 PCRV, 7 ET ve 3 KML'li hastayı içeren toplam 54 hastada PRP'de optik yöntem ile trombosit fonksiyonları değerlendirilmiş ve 27 olguda hipofonksiyon, 9 olguda hipo- ve hiperfonksiyon, 8 olguda hiperfonksiyon saptanırken 10 olgu normal olarak değerlendirilmiştir. Araştırmacılar kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda trombosit fonksiyonlarının klinik değerlendirmesinin gerekli olduğunu ve özellikle cerrahi işlemler öncesi kanama veya tromboz riskini belirlemek için hastaların yeniden değerlendirilmesini önermişlerdir.

Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda trombosit fonksiyonlarını luminesans yöntem ile değerlendiren en geniş çalışma serisi Manoharan ve arkadaşlarına aittir (3). 30 ET, 20 PCRV, 11 AMM, 8 klasifiye edilemeyen KMPH ve 6 KML olmak üzere toplam 75 kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguyu içeren çalışmada; 39 hastada hiperfonksiyon, 14 hastada hiper- ve hipofonksiyon, 16 hastada hipofonksiyon ve 6 hastada normal sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışma sonucunda kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların trombositlerinin, hiper ve/veya hipofonksiyon açısından test edilmesinin gerekli olduğuna işaret etmişler ve rutin tam kan trombosit agregasyon çalışmalarının bu hastalarda tromboz ve kanama riskini belirlemedeki yararlı rolünü ortaya koymuşlardır. Luminesans yöntem kullanılarak miyeloproliferatif hastalıklı olgularda trombosit defektlerini değerlendiren diğer bir çalışmada; 15 KML, 8 PCRV, 20 ET ve 2 AMM olmak üzere toplam 45 hastaya ait veriler rapore edilmiştir (58). ADP, epinefrin ve kollajene trombosit agregasyon ve sekresyon yanıtında azalma en sık görülen anormallik olup kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların büyük çoğunluğunda gözlenmiştir.

Bizim sonuçlarımız da; kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda çeşitli trombosit fonksiyon bozuklukları görülebileceğini ve hastalarda gelişen trombotik ve hemorajik komplikasyonlardan sorumlu olabileceğini desteklemiştir.

Çalışmamızda trombosit fonksiyonlarımızı değerlendirmek için kullanılan iki farklı yöntem, luminesans ve optik yöntem karşılaştırılmıştır. Tedavi öncesi luminesans yöntem ile %97 olguda trombosit fonksiyon bozukluğu saptanırken, optik yöntem ile aynı hasta grubunun 72'sinde trombosit fonksiyon bozukluğu saptanmıştır.

Tam kanda luminesans agregasyon testi, PRP' de optik agregasyon testi ile karşılaştırıldığında bilinen bir takım üstünlüklere sahiptir. Tam kan luminesans agregasyonu ristosetinine agrege edici etkisine daha sensitif olup von Willebrand hastalığı teşhisinde kanama zamanı ve vWF

ölçümüne göre daha kıymetlidir. Kan örneğinin optik özelliklerinden etkilenmediğinden lipemik ve trombositopenik örneklerde daha güvenilir olarak kullanılabilir. Daha fizyolojik bir yöntemdir, böylece trombositlerin doğal ortamında değişiklik yapılmadan fonksiyonları değerlendirilir. Santrifüj gerektirmediği için trombosit manipulasyonu önlenmiş olur. En önemli katkısı ise, trombosit agregasyonu ve ATP salınımının aynı ölçümde değerlendirilebilmesidir (67).

Literatürde kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda bu iki yöntemi karşılaştıran tek çalışma Balduini ve arkadaşlarına aittir (59). Çalışmaya dahil ettikleri 18 AMM'li hastada, tam kan trombosit agregasyonu ile %22, %22 ve %55 hastayı sırasıyla hipoaktif, normal ve hiperaktif bulmuşlardır. Konvansiyonel optik agregometri ile %33 hastayı hipoaktif bulurken %66 hastayı normal bulmuşlardır. Aynı grup takip eden yayınlarında, konvansiyonel optik agregometrinin, kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde yetersiz olduğunu yayınlamışlardır (60).

Bizim bulgumuzda literatür bilgisi ile koreledir ve luminesans yöntemin optik yöntemden daha üstün olduğunu göstermiştir. Luminesans yöntemin anormalliği belirleme yüzdesi optik yöntemden daha yüksek bulunmuştur ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0.05$). Sonuç olarak , kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda kanama ve tromboz riskini belirlemek için trombosit fonksiyonlarının tam kanda luminesans yöntem ile araştırılmasını önermekteyiz.

KML'li olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde; 9 olgu hipofonksiyon, 4 olgu hiperfonksiyon ve 10 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken, tedavi sonrası 11 olgu hipofonksiyon ve 2 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir. Optik yöntem ile tedavi öncesi 6 olgu normal iken, 11 olgu hipofonksiyon, 4 olgu miks ve 2 olgu

hiperfonksiyon şeklinde trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken, tedavi sonrası 12 olgu miks ve 2 olgu hiperfonksiyon şeklinde trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir. 18 olgu ilk seçenek olarak imatinib mesilat 400 mg/gün, 5 olgu ise ilk seçenek interferon , ikincil olarak 400 mg/gün imatinib mesilat kullanmışlardır.

KML'li hastalarda ADP, epinefrin, kollajen ve trombin ile bozulmuş agregasyon yanıtları rapore edilmiştir (56). Bir çalışmada görülen agregasyon anormalliklerinin blastik krizde, kronik fazdakine göre daha sık olduğu bulunmuştur (51). Baker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya dahil edilen 3 KML'li hastada optik agregasyon yöntemi ile 2 olguda hipo- ve hiperfonksiyon, 1 olguda ise hiperfonksiyon saptanmıştır (2). Manoharan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, 6 KML'li hastada tam kan luminesans agregasyon yöntemi ile 4 olguda hiperfonksiyon, 1 olguda hipofonksiyon, 1 olguda hipo- ve hiperfonksiyon saptanırken 1 olgu normal bulunmuştur (3).

Sitoredüktif tedavi, miyeloproliferatif hastalıklardaki trombosit defektleri üzerine kısmen olumlu etkiye sahip gibi gözükmektedir. Wehmeier ve arkadaşlarına ait 6 KML'li olguyu içeren bir çalışmada bisulfan ve hidroksiüre tedavisi sonrası beyaz küre ve trombosit sayısı normale dönmesine rağmen, plazma β TG ve PF4 düzeylerine azalma ve trombosit agregasyonunda düzelme olmamıştır (59, 60). Barbui ve arkadaşları ise bisulfan tedavisi sonrası spontan trombosit agregasyonunda normale dönme, kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonunda düzelmeyi rapore etmişlerdir ancak dens granül depo hastalığının devam ettiğini görmüşlerdir (61).

Konvansiyonel tedaviye alternatif olan interferon alfa'nın ise, klonal megakaryosit oluşumunu suprese ederek poliklonal hematopoezi sağlayarak, platelet fonksiyonları üzerine hafif olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (57).

KML'li hastaların tedavisinde yeni bir dönem açan imatinib mesilatın uzun vadedeki yan etkileri tam olarak bilinmediği gibi, trombosit fonksiyonları üzerine olan etkisine ait de literatürde bilgi mevcut değildir.

Çalışmamızda imatinib mesilat tedavisi sonrası sadece 1 olguda trombosit fonksiyonları tamamen normale dönerken, % 79 olgunun trombositleri hipofonksiyone olarak bulunmuştur. Bu bulgular ile; imatinib mesilat tedavisi sonrası normal hematopoiezin sağlanıp trombosit disfonksiyonunun düzelmesi beklenirken hipofonksiyonun artmış olması, bu ajanın KML' de görülen trombosit fonksiyon bozuklukları üzerine olumlu bir etkisi olmadığını göstermiştir. Bu, çalışmamız neticesinde gösterdiğimiz literatürde olmayan bir bulgudur.

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 8 PCRV'li hastada tedavi öncesi trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde 5 hiperfonksiyon ve 3 miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu; optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise 2 hipofonksiyon, 1 hiperfonksiyon, 1 miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu saptanırken 4 olgu normal idi.

PCRV'de görülen en sık trombosit fonksiyon bozukluğu, hastaların %50'sinde saptanan epinefrin ile agregasyon cevabının olmamasıdır ancak ADP (%45) ve kollajen (%40) ile indüklenen agregasyonda bozulmada bildirilmiştir (56). 20 hastayı içeren bir çalışmada ise, %25 olguda epinefrine azalmış cevap saptanırken; ADP, AA, trombin ve ristosetin ile normal agregasyon cevabı elde edilmiştir (2). Ek olarak, zaman içinde tekrarlanan çalışmalar bu hastaların trombositlerinin %50'sinde hipofonksiyone ve %25'inde hiperfonksiyone hale geldiğini göstermiştir ve hipofonksiyone trombositli hastalarda hemorajik komplikasyonlar gelişmiştir (56). Baker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya dahil edilen 20 PCRV'li hastada optik agregasyon yöntemi ile 9 olguda hipofonksiyon, 3 olguda hiperfonksiyon, 4 olguda hipo- ve hiperfonksiyon ve 1 olguda normal trombosit fonksiyonu saptanmıştır (2). Tam kan trombosit agregasyon yöntemini kullanarak yaptıkları

çalışmada Manoharan ve arkadaşları, 20 PCRV'li olgunun 7'sinde hipofonksiyon, 6'sında hiperfonksiyon, 5'inde miks tip trombosit fonksiyonu saptarken 2 olgu normal bulunmuştur (3).

Pareti ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 5 PCRV'li hastada flebotomiyi takiben depo havuz hastalığı sebat etmiştir (59). İki farklı çalışmada ise dens granüllerin depo havuzu defektine rağmen, tekrarlayan flebotomileri takiben trombosit β TG , PF4 ve PDGF konsantrasyonları artmıştır (60, 62).

ASA kullanan PCRV'li hastalarda; trombosit fonksiyon kontrolü için agregasyon testlerinin kullanımının uygun olmadığı belirtilmektedir. Birçok araştırmacı ASA kullanımı sonrası artmış plazma β TG ve PF4 düzeylerinin azaldığını ancak normalleşmediğini rapor etmişlerdir. Yüksek plazma β TG ve PF4 düzeylerinde benzer azalma tiklodipin alan PCRV'li hastalarda da belirtilmiştir. Ancak bozulmuş serotonin deposu değişmemiştir ve depo havuz hastalığının ASA tedavisi ile düzelmeyeceğini düşündürmektedir (57).

PCRV'li hastalarda görülen spesifik komplikasyonların tedavisinde önemli bir role sahip olan aspirin tedavisi planlanırken agregasyon testlerinin yapılmasını önermekteyiz. Hipoaktif trombositlere sahip hastalarda hemoraji riskinin dikkate alınmasını; hiperaktif trombositli hastalarda ise, asemptomatik olsalar bile, aspirin tedavisinin değerlendirilmesini önermekteyiz.

Çalışmaya dahil ettiğimiz 5 ET'li hastada tedavi öncesi trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde, 3'ü hiperfonksiyon, 1'i miks ve 1'i normal; optik yöntemle ise; 2'si hipofonksiyon, 1'i hiperfonksiyon ve 2'si miks olarak saptanmıştır.

ET'de görülen en sık trombosit bozukluğu epinefrin ile indüklenen agregasyonda belirgin azalmadır. Aynı zamanda bu hastalarda ADP,

kollajen ve trombin ile azalmış agregasyon yanıtı da görülür. Azalmış agregasyon yanıtına zıt olarak, bazı hastalarda spontan agregasyon veya platelet hiperagregabilitesi bulunmuştur (56). Vreeken ve arkadaşları spontan platelet agregasyonu ile eritromelalji arasındaki bir ilişkiyi yayınlamışlardır (63).

Rekombinant interferon alfa ile tedavi edilen 20 ET'li hastada trombosit içi ADP düzeylerinde parsiyel artış ancak normalleşmeme, platelet agregasyon bozukluklarında düzelme ve plazma β TG düzeylerine azalma rapore edilmiştir (64).

Çalışmamızda agonist olarak epinefrin kullanılmamakla birlikte sonuçlarımız ET'li hastalarda diğer agonistlere karşı artmış ve/veya azalmış agregasyon yanıtı olduğunu göstermiştir.

Çalışmaya aldığımız kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda kullanılan agonistlere göre trombosit fonksiyon bozuklukları değerlendirildiğinde; luminesans yöntemde AA ile indüklenen agregasyon, optik yöntemde ise ristosetin ile indüklenen agregasyon yanıtında diğer agonistlere göre daha fazla azalma saptanmıştır.

Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda görülen trombotik ve hemorajik olaylar ile trombosit anormallikleri arasındaki ilişki yapılan birçok çalışma ile araştırılmıştır. Anormal trombosit morfolojisi, edinsel depo havuz hastalığı, membran anormallikleri ve anormal araşidonik asit metabolizması açığa kavuşturulmuş olup, tüm bu trombosit değişikliklerinin anormal megakaryosit klonundan kaynaklanan intrinsik olarak defektif megakaryositlere bağlı olduğu bilinmektedir (65).

Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olguların trombositlerinde yapılan araşidonik asit metabolizması ile ilgili çalışmalar, lipooksijenaz ürünlerin oluşumunda azalma olduğunu göstermiştir. Siklooksijenaz ürünleri ise, AA veya diğer agonistler ile stimule edildiğinde normal, hatta artmış

olarak bulunabilmesine rağmen, bu agonistlere karşı trombosit agregasyonu bozuktur (66).

Olgularımızda görülen AA ile indüklenen trombosit agregasyon anormalliklerinden, bozulmuş araşidonik asid metabolizmasının sorumlu olduğunu düşünmekteyiz.

Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda bildirilen diğer bir trombosit anormalliği, edinsel von Willebrand hastalığı (vWD) dır. Budde ve arkadaşları ile Fabris ve arkadaşları trombositozlu miyeloproliferatif hastalıklı olgularda von Willebrand faktör (vWF) ün önemli rolünü ortaya koymuşlar ve vWF multimerik yapısındaki anormalliklerin bir edinsel vWD hastalık paterni oluşturabileceğini öne sürmüşlerdir. Diğer taraftan, megakaryosit-trombosit serisi ile vWF sentezi arasında sıkı bir ilişki olduğu bilinmektedir (65).

Ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonunda optik yöntem ile bozukluk saptanan olgularda tedavi sonrası %43 düzelme olması edinsel vWD lehine kabul edilebilir.

Çalışmaya alınan olgularda trombosit fonksiyonları hematolojik parametreler ile karşılaştırıldığında; luminesans yöntemde kollajen, ADP ve AA ile indüklenen trombosit agregasyonu ile trombosit sayısı arasında pozitif, kollajen ve ADP ile indüklenen trombosit sekresyonu ile beyaz küre sayısı arasında negatif ve anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Benzer korelasyonlar optik yöntemle elde edilememiştir.

Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda trombosit değişikliklerinden asıl sorumlu olan anormal megakaryosit klonunun ürünü olan trombositlerdir. Lökositlerin ise fibrinojen aracılığı ile direkt trombosit agregasyonuna sebep olduğu bilinmektedir. Luminesans yöntemde, optik yöntemin aksine, trombosit ve lökosit kaybı olmadan

trombositlerin doğal ortamında çalışıldığından, trombosit agregasyonu ile trombosit ve beyaz küre sayısı arasında bir ilişki elde edilmiştir.

Olgularımızda trombosit hiperfonksiyonundan sayıca artmış defektif trombositler sorumlu iken, beyaz küre artışı trombosit sekresyon bozukluğuna sebep olmaktadır.

Sonuç olarak;

1) Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda tanı anında hipofonksiyon, hiperfonksiyon veya miks agregasyon defektleri sık olarak görülmektedir ve bu defektleri saptamada luminesans yöntem optik yöntemden daha değerlidir. Bu nedenle KMPH'li hastalarda tanı anında antiagregan tedavi başlama kararı için luminesans yöntem ile trombosit fonksiyonlarının araştırılmasını önermekteyiz.

2) Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda görülen trombosit fonksiyon bozuklukları hastalık bazında değerlendirildiğinde KML'de hipofonksiyon, PCRV ve ET'de hiperfonksiyonun hakim olduğu saptanmıştır.

3) Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda uygulanan tedavi rejimleri sonrası hastalığın kontrol altına alınması ile trombositlerde hipofonksiyon ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle tanı anında antiagregan tedavi gerekli olan hastaların klinik seyrinde, uygulanan tedaviler sonucu antiagregan tedaviye ihtiyaç kalmayabilir ve antiagregan tedaviye devam edildiği takdirde hastalar kanama riski ile karşı karşıya kalabilirler.

4) KML tedavisinde standart bir ajan olan imatinib mesilat kullanımı sonrası hastalarda trombosit hipofonksiyonu gelişmektedir. Bu nedenle KML'li hastalarda antiagregan tedaviyi, hiperkoagulabilite olmadıkça önermemekteyiz.

SONUÇLAR

1. KMPH'lı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde; %4 olgu normal iken, %25 olgu hipofonksiyone, %36 olgu hiperfonksiyone ve %36 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir. Optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise, %28 olgu normal iken, %42 olgu hipofonksiyone, %11 olgu hiperfonksiyone ve %19 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir.
2. KMPH'lı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyonları luminesans yöntem ile değerlendirildiğinde; %6 olgu normal iken, %70 olgu hipofonksiyone, %12 olgu hiperfonksiyone ve %12 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir. Optik yöntem ile değerlendirildiğinde ise, %6 olgu hipofonksiyone, %12 olgu hiperfonksiyone ve %82 olgu miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu göstermiştir. Trombosit fonksiyon bozukluğu olmayan olgu bu yöntem ile saptanmamıştır.
3. KMPH'lı olguların tedavi öncesi ve sonrası hematolojik parametreleri karşılaştırıldığında; lökosit, platelet sayısı ve INR düzeyi tedavi sonrasında düşük saptanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
4. KMPH'lı olguların tedavi öncesi ve sonrası tam kan trombosit agregasyon ve sekresyon sonuçları karşılaştırıldığında; ADP, ristosetin, kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu ve ADP ile indüklenen trombosit sekresyonu tedavi sonrası düşük saptanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
5. KMPH'lı olguların tedavi öncesi ve sonrası optik trombosit agregasyon (PRP) ve ristosetin kofaktör sonuçları karşılaştırıldığında; tedavi sonrasında ADP ve kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu artarken, AA ile indüklenen trombosit agregasyonu azalmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

6. KMPH'lı tüm olgulardan sadece KML' li olguların tedavi öncesi ve sonrası tam kan trombosit agregasyon ve sekresyon sonuçları karşılaştırılabilir. ADP, ristosetin, kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu ve ADP ile indüklenen trombosit sekresyonu tedavi sonrası düşük saptanmıştır ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
7. Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda kullanılan agonistlere göre trombosit fonksiyon bozuklukları değerlendirildiğinde; luminesans yöntemde AA ile indüklenen agregasyon, optik yöntemde ise ristosetin ile indüklenen agregasyon yanıtında diğer agonistlere göre daha fazla azalma saptanmıştır.
8. KMPH'lı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçları luminesans yöntem ile karşılaştırıldığında kollajen, ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonu ve kollajen ile indüklenen trombosit sekresyonu hasta grubunda yüksek bulunmuştur.
9. KMPH'lı olguların tedavi öncesi trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçları optik yöntem ile karşılaştırıldığında; hasta grubunda kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu yüksek iken ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonu düşük bulunmuştur.
10. KMPH'lı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçları luminesans yöntem ile karşılaştırıldığında kollajen, ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonu ve kollajen ile indüklenen trombosit sekresyonu hasta grubunda yüksek bulunmuştur.
11. KMPH'lı olguların tedavi sonrası trombosit fonksiyon sonuçları ile kontrol grubundaki olguların trombosit fonksiyon sonuçları optik yöntem ile karşılaştırıldığında; hasta grubunda kollajen, ADP ile indüklenen trombosit agregasyonu yüksek iken ristosetin ile indüklenen trombosit agregasyonu düşük bulunmuştur.
12. KMPH' li 37 olgunun tedavi öncesi tam kan trombosit fonksiyonları hematolojik parametreler ile karşılaştırıldı. Kollajen ile indüklenen

trombosit agregasyonu ile platelet, aPTT arasında pozitif; kollajen ile indüklenen trombosit sekresyonu ile beyaz küre arasında negatif; ADP ile indüklenen trombosit agregasyon ile platelet arasında pozitif; ADP ile indüklenen trombosit sekresyonu ile beyaz küre arasında negatif; AA ile indüklenen trombosit agregasyonu ile platelet, aPTT arasında pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

- 13.KMPH' li 37 olgunun tedavi öncesi optik yöntemle çalışılan trombosit fonksiyonları hematolojik parametreler ile karşılaştırıldı. Kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu ile INR, fibrinojen arasında negatif; ADP ile indüklenen trombosit agregasyon ile hematokrit arasında pozitif, INR ve fibrinojen arasında negatif; AA ile indüklenen trombosit agregasyonu ile hemoglobin, hematokrit arasında pozitif, fibrinojen arasında negatif ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

ÖZET

Çalışmaya yeni kronik miyeloproliferatif bozukluk tanısı konan, yaş ortalaması 54 ±15 (28-79) olan 20'si kadın 16'sı erkek toplam 36 olgu (23 KML, 8 PCRV, 5 ET) alındı.

İlk başvuru sırasında tam kan sayımı, PT, aPTT, fibrinojen, tam kanda luminesans ve PRP'de optik agregasyon yöntemi ile trombosit fonksiyonları ve ristosetin kofaktör (Rcof) ölçümü yapıldı. Agonist olarak ADP, AA, Ristosetin, Kollajen kullanıldı. Trombositler; en az bir agonist ile indüklenen trombosit agregasyon veya ATP salınım değeri referans aralığının altında ise hipoaktif, üstünde ise hiperaktif olarak değerlendirildi.

Spesifik tedavi rejimleri başladıktan sonra takip edilen 17 olguda tam kan sayımı, koagülasyon testleri, trombosit agregasyon testleri ve Rcof ölçümü tekrarlandı.

Luminesans yöntem ile tedavi öncesi olguların 13/36'sı hiperfonksiyon, 13/36'sı miks, 9/36'sı hipofonksiyon şeklinde trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken 1/36 olgu normal idi. Aynı yöntem ile tedavi sonrası olguların 12/17'si hipofonksiyon, 2/17'si hiperfonksiyon, 2/17'si miks tip trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken, 1/17 olgu normal idi.

Optik yöntem ile tedavi öncesi olguların 15/36'sı hipofonksiyon, 7/36'sı miks, 4/36'sı hiperfonksiyon şeklinde trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken 10/36 olgu normal idi. Aynı yöntem ile tedavi sonrası olguların 14/17'si miks, 2/17'si hiperfonksiyon, 1/17'si hipofonksiyon şeklinde trombosit fonksiyon bozukluğu gösterirken, trombosit fonksiyonları normal olan olgu saptanmadı.

Sonuç olarak;

1) Kronik miyeloproliferatif hastalıklı olgularda tanı anında hipofonksiyon, hiperfonksiyon veya miks agregasyon defektleri sık olarak görülmektedir ve bu defektleri saptamada luminesans yöntem optik yöntemden daha değerlidir. Bu nedenle KMPH'li hastalarda tanı anında antiagregan tedavi başlama kararı için luminesans yöntem ile trombosit fonksiyonlarının araştırılmasını önermekteyiz.

2) Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda görülen trombosit fonksiyon bozuklukları hastalık bazında değerlendirildiğinde KML'de hipofonksiyon, PCRV ve ET'de hiperfonksiyonun hakim olduğu saptanmıştır.

3) Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda uygulanan tedavi rejimleri sonrası hastalığın kontrol altına alınması ile trombositlerde hipofonksiyon ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle tanı anında antiagregan tedavi gerekli olan hastaların klinik seyrinde, uygulanan tedaviler sonucu antiagregan tedaviye ihtiyaç kalmayabilir ve antiagregan tedaviye devam edildiği takdirde hastalar kanama riski ile karşı karşıya kalabilirler.

4) KML tedavisinde standart bir ajan olan imatinib mesilat kullanımı sonrası hastalarda trombosit hipofonksiyonu gelişmektedir. Bu nedenle KML'li hastalarda antiagregan tedaviyi, hiperkoagülabilite olmadıkça önermemekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Lichtman MA, Liesveld JL. Chronic myelogenous leukemia and related disorders. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS (Eds) Williams Hematology. Sixth Edition. McGraw-Hill. 2001, 1085-1123.
2. Baker RI, Manoharan A. Platelet function in myeloproliferative disorders and sequential studies show multiple platelet abnormalities and change with time. Eur J Haematol 1988; 40:267.
3. Manoharan A, Gemmell R, Brighton T, et al. Thrombosis and bleeding in myeloproliferative disorders: identification of at-risk patients with wall bloodplatelet aggregation studies. Br J Haematol 1999; 105:618-625
4. Ichimaru M, Ichimaru T, Belsky JL. Incidence of leukemia in atomic bomb survivors belonging to a fixed cohort in Hiroshima and Nagasaki, 1950-1971. J Radiat Res 1978; 19:262.
5. Court Brown WM, Doll R. Adult leukemia: trends in mortality in relation to etiology. Br Med J 1959; 1: 1063.
6. Boice JD Jr, Day NE, Anderson A, et al. Second cancers following radiation treatment for cervical cancer. J Natl Cancer Inst 1985; 74:955.
7. Maloney WC. Radiation leukemia revisited. Blood 1987; 70-905.
8. Pederson-Bjergaard J, Bondum-Nielsie K, Karle H, et al. Chemotherapy-related and late-occurring Philadelphia chromosome in AML, ALL and KML. Similar events related to treatment with DNA topoisomerase II inhibitors? Leukemia 1997; 11:1571.

9. Kern WF. Kronik miyeloproliferatif hastalıklar ve miyelodisplastik /miyeloproliferatif bozukluklar. Ferhanoğlu B çeviri editörlüğündeki PDQ hematoloji. İstanbul Medikal Yayıncılık İstanbul 2005, 255-295.
10. Cortes JE, Talpaz M, Kantarkian H. Chronic myelogenous leukemia: a review. Am J Med 1996; 100:555.
11. Lichtman MA, Rowe JM. Hyperleukocytic leukemias: rheological, clinical and therapeutic considerations. Blood 1982; 60:279.
12. Ungaro PC, Gonzales JJ, Werk EE, et al. Chronic myelogenous leukemia presenting clinically as diabetes insipidus. N C Med J 1984; 45:640.
13. Depalma L, Delgado P, Werner M. Diagnostic discrimination and cost effective assay strategy for leukocyte alkaline phosphate. Clin Chim Acta 1996; 6:83
14. Huret JL. Complex translocations, simple variant translocation and Ph negative cases in chronic myelogenous leukemia. Hum Genet 1990; 85:565
15. Leemhuis T, Leibowitz D, Cox G, et al. Identification of BCR/ABL negative primitive hematopoietic progenitor cells within chronic myeloid leukemia marrow. Blood 1993;81:801
16. Dewald GW, Schad CR, Christensen ER, et al. The application of in situ fluorescent hybridization to detect M bcr/abl fusion in variant Ph chromosomes in CML and ALL. Cancer Genet Cytogenet 1993; 71:7
17. Wells SJ, Philips CN, Winton EF, et al. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction for bcr/abl fusion in chronic myelogenous leukemia. Am J Clin Pathol 1998;109:24
18. Kennedy BJ. The evolution of hydroxyurea therapy in chronic myelogenous leukemia. Sem Oncol 1992;19(Suppl 9): 21

19. Sawyers CL, Shah NP. Chronic myeloid leukemia. In Hoffman R, Benz E, Shattil S (Eds) Hematology Basic Principles and Practice. Fourth edition. Elsevier 2005, 1247-1253
20. Guilhot F, Chastang C, Michallet M, et al. Interferon alfa-2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic myelogenous leukemia. French Chronic Myeloid Leukemia Study Group. N Engl J Med 1997; 337. 223-229
21. Bhatia R, Mc Carthy JB, Verfaillie CM, et al. Interferon alpha restores normal beta 1 integrin-mediated inhibition of hematopoietic progenitor proliferation by the marrow microenvironment in chronic myelogenous leukemia. Blood 1996; 87:3883-3891
22. Buchdunger E, Zimmerman J, Mett H, et al. Selective inhibition of the platelet-derived growth factor signal transduction pathway by a protein- tyrosine kinase inhibitor of the 2-phenylaminopyrimidine class. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92:2558-2562
23. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 2001; 344:1031-1037
24. Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. N Engl J Med 2002; 346: 645-652
25. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. Imatinib mesylate compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic –phase chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 2003; 348: 994-1004

26. Hoffman R, Baker K, Prchal J. The Polycythemia. In Hoffman R, Benz E, Shattil S (Eds) Hematology Basic Principles and Practice. Fourth edition. Elsevier 2005, 1209-1245
27. Dietz-Martin JL, Graham DL, Pettitt RM, et al. Chromosome studies in 104 patients with polycythemia vera. Mayo Clinic Proc 1991; 66: 287
28. Miller RL, Purvis JD, Weick JK. Familial polycythemia vera. Cleve Clin J Med 1989; 56:813
29. Beutler E. Polycythemia. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS (Eds) Williams Hematology. Sixth Edition. McGraw-Hill. 2001, 689-701
30. Berlin NI. Diagnosis and classification of the polycythemia. Semin Hematol 1975; 12: 339
31. Roberts BE, Smith AH. Use of radioactive phosphorus in haematology. Blood Rev 1997; 11:146
32. Ozturk A, Gunay A, Uskent N. Therapeutic efficacy of recombinant interferon-alpha in polycythemia vera. Acta Haematol 1998; 60:273
33. Schafer AI. Thrombocytosis and Essential Thrombocythemia. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS (Eds) Williams Hematology. Sixth Edition. McGraw-Hill. 2001, 1541-1549
34. Fruchtman S, Hoffman R. Essential Thrombocythemia. In Hoffman R, Benz E, Shattil S (Eds) Hematology Basic Principles and Practice. Fourth edition. Elsevier 2005, 1277-1296
35. van Genderen PJJ, Michiels JJ, van Strik R, et al. Platelet consumption in thrombocythemia complicated by erythromelalgia: reversal by aspirin. Thromb Haemost 1995; 73:210

36. Pettit RM, Silverstein MN, Petrone ME. Anagrelide for control thrombocythemia in polycythemia and other myeloproliferative disorders. *Sem Hematol* 1997; 34:51
37. Gisslinger H, Chott A, Scheithauer W, et al. Alpha interferon in the management of essential thrombocythaemia. *Eur J Cancer* 1991; 27(suppl 4): 69
38. Lichtman M. Idiopathic Myelofibrosis. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS (Eds) *Williams Hematology*. Sixth Edition. McGraw-Hill. 2001, 1125-1136
39. Forrester RH, Louro JM. Philadelphia chromosome abnormality in agnogenic myeloid metaplasia. *Ann Intern Med* 1996; 64:622
40. Hoffman R, Ravandi-Kashani F. Idiopathic myelofibrosis. In Hoffman R, Benz E, Shattil S (Eds) *Hematology Basic Principles and Practice*. Fourth edition. Elsevier 2005, 1255-1276
41. Löfvenberg E, Wahlin A. Management of polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis with hydroxyurea. *Eur J Haematol* 1988; 41:375
42. Leinweber C, Order SE, Calkins AR. Whole-abdominal irradiation for the management of gastrointestinal and abdominal manifestations of agnogenic myeloid metaplasia. *Cancer* 1991;68:1251
43. Deeg HJ, Appelbaum FR. Stem cell transplantation for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2001; 344:775
44. Hessling J, Kroger N, Werner M, et al. Dose-reduced conditioning regimen followed by allogeneic stem cell transplantation in patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 2002; 119: 769

45. Zucker S, Mielke CH. Classification of thrombocytosis based on platelet function tests. Correlation with hemorrhagic and thrombotic complications. *J Lab Clin Med* 1972; 80:385.
46. Walsh PN, Murphy S, Barry WE. The role of platelets in the pathogenesis of thrombosis and hemorrhage in patients with thrombocytosis. *Thromb Haemost* 1977; 38:1085.
47. McClure PD, Ingram GI, Stacey RS et al. Platelet function tests in thrombocythaemia and thrombocytosis. *Br J Haematol* 1966; 12:478.
48. Hehmann, R, Jahn M, Baumann B, Kopcke W. Essential thrombocythemia: Clinical characteristics and course of 61 cases. *Cancer* 1988; 61:2487.
49. Kessler CM, Klein HG, Haulik RJ. Uncontrolled thrombocythemia in chronic myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 1982; 50:157
50. Caranobe C, Site P, Nouvel C et al: Platelets in myeloproliferative disorders. II. Serotonin uptake and storage. Correlation with mepacrinelabelled dense bodies and with platelet density. *Scand J Haematol* 1980; 25:289.
51. Boneu B, Nouvel C, Site P et al. Platelets in myeloproliferative disorders. I A comparative evaluation with certain platelet function tests. *Scand J Haematol* 1980; 25:214.
52. Schafer Al. Deficiency of platelet lipooxygenase activity in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 1982; 306:381.
53. Fitz Wt Jr, Erde A, Peksin GW, Frost JW. Surgical implications of polycythemia vera. *Ann Surg* 1960; 152:548.

54. Mason JE, Devita VT, Canellos GP. Thrombocytosis in chronic granulocytic leukemia. Incidence and clinical significance. *Blood* 1974; 44:438.
55. Mohri H, Ohkubo T. Acquired von Willebrand's syndrome due to an inhibition of IgG specific for von Willebrand factor in polycythemia vera. *Acta Haematol* 1987; 78-256.
56. Rao AK, Carvalho AC. Acquired qualitative platelet defects. In Colman RW, Hirsch J, Marder VJ (Eds) *Hemostasis and Thrombosis*. Third edition. Lipincott company 1994, 685-704.
57. Wehmeier A, Südhoff T, Meierkord F. Relation of platelet abnormalities to thrombosis and hemorrhage in chronic myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23(4):391-402.
58. Raszejo-Specht A, Skibowska A, Kabata J, Hellmann A. Platelet defects in chronic myeloproliferative disorders . *Acta Haematol Pol* 1994;25(3):253-60.
59. Pareti FI, Gugliotta L, Mannucci L, et al. Biochemical and metabolic aspects of platelet dysfunction in chronic myeloproliferative disease. *Thromb Haemostas* 1982;47:84-89.
60. Wehmeier A, RE Scharf, S Fricke, et al. A prospective study of hemostatic parameters in relation to the clinical course of myeloproliferative disorders. *Eur J Haematol* 1990;45:191-197
61. Barbui T, Bassan R, Viero P, et al. Platelet function after busulfan in chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica* 1983;68:469-477.

62. Baglin TP, Price SM, Boughton BJ. A reversible defect of platelet PDGF content in myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 1988;69:483-486.
63. Vreeken J, van Aken WG. Spontaneous aggregation of blood platelet as a cause of idiopathic thrombosis and recurrent painful toes and fingers. *Lancet* 1971:1395-1397.
64. Catani L, Gugliotta L, Cascione M, et al. Platelet function and interferon alpha-2a treatment in essential thrombocythaemia. *Eur J Haematol* 1991;46:158-162.
65. Perrj JJ, Van G, Leenknecht H, et al. Acquired von Willebrand disease in myeloproliferative disorders. *Leukemia and Lymphoma* 1996;22:79-82.
66. Finazzi G, Budde U, Michiels J. Bleeding time and platelet function in essential thrombocythemia and other myeloproliferative syndroms. *Leukemia and Lymphoma* 1996;22:71-18.
67. www.chronolog.org.