

EGYETEMI DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

**ESSZENCIÁLIS TROMBOCITÉMIÁS BETEGEK HOSSZÚ TÁVÚ UTÁNKÖVETÉSE
A HUMYPRON REGISZTER ALAPJÁN**

DR. KELLNER ÁDÁM

TÉMAVEZETŐ: PROF. DR. EGYED MIKLÓS



KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

DEBRECEN

2021

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke	4
2. Bevezetés, irodalmi áttekintés	8
2.1. Az esszenciális trombocitémia epidemiológiája	9
2.2. Az esszenciális trombocitémia patológiája	9
2.3. Az esszenciális trombocitémia klinikai megjelenése	10
2.3.1. A trombotikus események patomechanizmusa	11
2.4. Az esszenciális trombocitémia diagnózisa	12
2.5. Az esszenciális trombocitémia prognózisa	12
2.5.1. Az IPSET-survival rizikómodell	12
2.6. Trombózis rizikó és terápia	13
2.6.1. Az acetilszalicilsav hatásmechanizmusa	16
2.6.2. A hidroxürea hatásmechanizmusa	17
2.6.3. A buszulfán hatásmechanizmusa	17
2.6.4. Az anagrelid hatásmechanizmusa	17
2.6.5. Az interferon-alfa hatásmechanizmusa	18
3. Célkitűzések	20
4. Betegek és módszerek	21
4.1. Adatgyűjtés	21
4.2. A trombotikus események meghatározása	22
4.3. Alkalmazott terápia	23
4.4. Lipokalin-2 alvizsgálat	23
4.5. Statisztikai elemzés	24
4.6. Etikai hozzájárulás	24
5. Eredmények	25
5.1. Beteg karakterisztikák	25
5.2. Trombotikus és vérzéses események	27
5.3. Trombózis rizikórendszerek	32
5.4. Szekunder malignitás	35
5.5. Betegség progresszió	37
5.6. Teljes túlélés	40
5.7. IPSET-survival rizikó	43
5.8. CALR mutáció	45
5.9. A lipokalin-2 szerepének vizsgálata a trombotikus eseményekben	46

6. Megbeszélés	50
7. Összefoglalás, új eredmények	56
8. Summary, new results	58
9. Referenciák jegyzéke	60
10. Köszönetnyilvánítás	81
10. Kulcsszavak, Keywords	82
11. Függelék	83

1. Rövidítések jegyzéke

ABL: Abelson tirozin kináz

Amaj: major artériás tromboembóliás esemény

Amin: minor artériás trombotikus esemény

AML: akut mieloid leukémia

ANA: anagrelid

ANAHYDRET: anagrelide compared with hidroxyurea in WHO-classified essential trombocitémia

ASA: acetilszalicilsav

ASXL1: addition sex combs like 1 gén

BCR: breakpoint cluster region

CALR: calreticulin

cAMP: ciklikus adenzin-monofoszfát

CHIP: klonális haematopoesis nem meghatározott jelentőséggel (clonal haematopoiesis of indeterminate potential)

CI: konfidencia intervallum

CML: krónikus mieloid leukémia

CNL: krónikus neutrofil leukémia

COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség (chronic obstructive pulmonary disease)

COX-1: ciklooxygenáz-1

CV: kardiovaszkuláris

DNMT: DNS metiltranszferáz

DNS: dezoxiribonukleinsav

eNOS: endotéliális nitrogén-monoxid szintetáz

ET: esszenciális trombocitémia

ETT-TUKEB: Egészségügyi Tudományos Tanács - Tudományos és Kutatásetikai Bizottság

EZH2: enhancer of zeste homológ 2

EXELS: evaluation of xagrid efficacy and long-term safety

FGFR: fibroblast növekedési faktor receptor

FOG-1: FOG family member 1

GATA-1: GATA-binding protein 1

GUSB: β -glükuronidáz

HUMYPRON: Hungarian Myeloproliferative Neoplasm Working Group

IDH2: izocitrát dehidrogenáz 2

IFN: interferon

HU: hidroxiurea

IPSET: International Prognostic Score for ET

IRF9: interferon regulátor faktor 9

ISGF3: interferon stimulált gén faktor 3

ISRE: interferon stimulált válaszelemek

JAK1: Janus kináz 1

JAK2: Janus kináz 2

LCN2: lipokalin-2

LDH: laktát-dehidrogenáz

MCH: átlagos vörösvérsejt hemoglobin tartalom (mean cell hemoglobin)

MF: mielofibrózis

MF-AML: mielofibrózisból transzformálódott akut mieloid leukémia

MMP9: mátrix metalloproteináz-9

MPL: mieloproliferatív leukémia vírus onkogén

MPN: mieloproliferatív neoplázia

NGS: új generációs szekvenálás (next generation sequencing)

NO: nitrogén-monoxid

NOS: máshogyan nem osztályozható (not otherwise specified)

NR: not reached

NSAID: nem szteroid gyulladásgátló

OR: esélyhányados (odds ratio)

OS: teljes túlélés (overall survival)

PDGFRA: trombocita eredetű növekedési faktor receptor alfa

PDGFRB: trombocita eredetű növekedési faktor receptor béta

PFS: progresszió-mentes túlélés (progression-free survival)

PMF: primer mielofibrózis

PT 1: Primary Trombocitémia 1

PSVG: Policitémia Vera Study Group

PV: policitémia vera

Q-PCR: kvantitatív polimeráz láncreakció

RB: retinoblastoma

RBC: vörösvérsejt

SD: standard deviáció

SF3B1: Splicing faktor 3B alegység 1

SH2B3: SH2B adapter fehérje 3

STAT1: Signal transducer and activator of transcription 1

STAT2: Signal transducer and activator of transcription 2

TE: tromboembólia

TET2: Tet methylcytosin dioxigenáz 2

TP53: tumor protein p53

TIA: tranziens ischaemiás attack

TYK2: tirozin kináz 2

U2AF1: U2 Small Nuclear RNA Auxiliary Factor 1

Vmaj: major vénás trombotikus esemény

WBC: fehérvérsejt

WHO: Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization)

2. Bevezetés, irodalmi áttekintés

A mieloproliferatív neopláziák (MPNs) a hemopoetikus őssejtek klonális megbetegedései, melyek egy vagy több mieloid sejtvonal proliferációjával járnak [1]. Az ide tartozó kórképek leggyakrabban 50 és 70 év között fordulnak elő, éves incidenciája az összes altípust együttvéve 0,5-6/100.000 fő [2-7]. Valamennyi MPN-re jellemző a csontvelői hipercellularitás és az effektív sejtérés, amely a perifériás vérben a granulociták, a vörösvérsejtek és/vagy a trombociták emelkedett számához vezet. Gyakran fordul elő máj- és lépmegegyesülés, amely egyaránt lehet a nagyfokú szekvesztráció és az extramedullaris vérképzés következménye. Annak ellenére, hogy kezdeti lefolyásuk indolens, genetikai evolúció útján bármely MPN transzformálódhat és ineffektív hemopoézis, mielofibrózis vagy akut leukémia alakulhat ki [8-11]. Az ide tartozó kórképek elkülönítése a jelenleg érvényben lévő 2016-os World Health Organization (WHO) osztályozás szerint klinikai, morfológiai, immunfenotípus és genetikai jellemzők alapján történik [11,12] (1. táblázat).

1. táblázat A mieloproliferatív neopláziák osztályozása a 2016-os WHO szerint [12].

1. Krónikus mieloid leukémia (CML), BCR-ABL1⁺
2. Krónikus neutrofil leukémia (CNL)
3. Policitémia vera (PV)
4. Primer mielofibrózis (PMF)
PMF, korai/prefibrotikus stádium
PMF, fibrotikus stádium
5. Esszenciális trombocitémia (ET)
6. Krónikus eozinofil leukémia, máshogyan nem osztályozható (NOS)
7. MPN, nem osztályozható

A 2016-os WHO klasszifikáció a mieloproliferatív neopláziák közé a BCR-ABL1 pozitív krónikus mieloid leukaemiát, a BCR-ABL1 negatív, ritka krónikus neutrofil leukaemiát, a policitémia verát, a primer mielofibrózist és az esszenciális thrombocythaemiát sorolja. Ide tartozik a máshogyan nem osztályozható krónikus eozinofil leukémia, amely nem jár PDGFRA, PDGFRB és FGFR eltéréssel.

Mivel jelen PhD dolgozat témája az esszenciális trombocitémia, a továbbiakban ennek részletesebb tárgyalása következik.

2.1. Az esszenciális trombocitémia epidemiológiája

Az ET éves incidenciája Európában és az USA-ban 0,2-2,3/100 000 fő, prevalenciája 38-57/100 000 fő [13-15]. Az átlagos életkor a diagnóziskor 60 év, nőknél 2x gyakoribb, mint férfiaknál [15,16]. Gyermekeknél ritkán fordul elő, elkülönítendő a szintén ritka hereditár trombocitózistól [17,18].

2.2. Az esszenciális trombocitémia patológiája

Az esszenciális trombocitémia egy klonális őssejtbetegség, melyre csontvelői megakariocitózis és emelkedett trombocita szám jellemző. A kórképre nincs specifikus molekuláris vagy genetikai marker. A leggyakoribb eltérés a Janus kináz-2 (JAK2) V617F aktivációs mutáció, amely mintegy 50-60%-ban fordul elő. Calreticulin (CALR) mutáció az esetek 15-32%-ában, mieloproliferatív leukémia vírus onkogén (MPL) mutáció 3-4%-ban van jelen [19-24]. A CALR pozitív esetekre magasabb trombocita szám és jobb prognózis jellemző [25]. Az esetek 10-20%-a tripla negatív, amikor a fenti mutációk egyike sem azonosítható [22,26]. A tripla negatív esetek egy részében érzékeny molekuláris technikákkal egyéb funkcionyeréses mutációkat sikerült azonosítani (pl. MPL S204P, MPL Y591N) [27,28]. Egyik eltérés sem specifikus ET-re, de jelenlétük segít a reaktív trombocitózis elkülönítésében [8,29].

Tefferi és munkatársai NGS (next generation sequencing) technikával 183 ET-s beteget vizsgálva az esetek 53%-ában találtak egyéb, a JAK2/CALR/MPL mutációtól eltérő szekvencia variációt vagy mutációt, leggyakrabban a TET2 és az ASXL1 génekben [30]. A SH2B3, SF3B1, U2AF1, TP53, IDH2 vagy EZH2 lókuszek eltérései 15%-ban fordultak elő és rossz prognózissal bírtak [30].

Abnormális kariotípus mindössze az esetek 5-10%-ában fordul elő. Az 5-ös, 8-as, 9-es és 20-as kromoszóma abnormalitások a leggyakoribbak, de egyik eltérés sem jellegzetes ET-re [31,32].

Mikroszkópos vizsgálattal a legszembetűnőbb eltérés a perifériás trombocitózis. A látott vérlemezkék változatos megjelenésűek és méretűek lehetnek az egész aprótól az óriás megakariocita fragmentumig terjedően [1,8,33]. A fehérvérsejt (WBC) szám jellemzően normális, de enyhén emelkedett is lehet [8,29,33-35]. A vörösvérsejt (RBC) morfológia általában normokróm-normociter, kivételt képeznek azok az esetek, ahol vérvesztés miatt vashiány alakul ki – ebben az esetben hipokróm-mikrociter RBC morfológiát látunk [33-35].

A csontvelő általában normocelluláris, jellemző a kifejezett megakariocitózis [36,37]. A megakariociták a csontvelőben elsórtan helyezkednek el, szemben a primer mielofibrózissal, ahol jellemzőek a megakariocita klaszterek. ET-ben a látott megakariociták általában nagy méretűek, érett citoplazmával és hiperlobulált maggal rendelkeznek [35,37-39]. Granulocita proliferáció nem jellemző, eritroid hiperplázia vérzéses eseményeket követően fordulhat elő [37]. Diszplasztikus eltérés, blasztszaporulat nem látható, szignifikáns retikulin vagy kollagén fibrózis jelenléte megkérdőjelezi az ET diagnózist [37-42].

2.3. Az esszenciális trombocitémia klinikai megjelenése

Az ET esetek több mint 50%-a rutin laborvizsgálat során kerül felfedezésre, tünetmentes betegeken [43,44]. A fennmaradó részben trombotikus vagy vérzéses szövődmény kapcsán kerül a kórkép felismerésre [45-48].

A laborvizsgálat során minden esetben emelkedett trombocita szám látható (a WHO 2016. diagnosztikus kritériumai szerint $\geq 450 \times 10^9/l$), de eritrocitózis és leukocitózis is előfordulhat. Emelkedett laktát-dehidrogenáz (LDH) nem jellemző és PMF-ra irányítja a figyelmet [33,35].

Az ET betegek erős trombózis készséggel bírnak. Mikrovaszkuláris szövődményként leggyakrabban fejfájás, szédülés, fülzúgás, látászavar, eritromelalgia és akroparesztázia fordul elő [45,48]. Tromboembóliás (TE) események a nagyobb artériákban is bekövetkezhetnek kardiovaszkuláris (akut koronária szindróma), cerebrális (stroke) vagy perifériás artériás szövődményekkel. Felületes vagy mélyvénás trombózis szintén előfordulhat, jellegzetes a kórképre a szplanknikus vénás trombózis [49-51].

Hemorrágiás szövődmény általában a nyálkahártya felszíneket érinti, így a gasztrointesztinális traktus és a felső légutak vérzése a leggyakoribb [46,47]. Az extrém magas trombocita szám szekunder von Willebrand-szindrómához vezethet következményes vérzéses szövődménnyel [30].

A szakirodalomban a trombohemorrágiás események gyakorisága jelentős különbségekkel szerepel, melynek hátterében az események eltérő definíciója, betegszelekciós, illetve terápiás különbségek állhatnak. Egy 100 beteget vizsgáló tanulmányban trombotikus események 6.6% beteg/év, hemorrágiás események 0.33% beteg/év gyakorisággal fordultak elő [52]. Egy másik közleményben a trombotikus és vérzéses események gyakorisága 8.1% beteg/év és 2.5% beteg/év volt [53]. Egy 1019 beteget vizsgáló retrospektív vizsgált a trombotikus események

előfordulását rizikófaktorok függvényében 1,03% beteg/év és 3,56% beteg/év között találta [54].

A korábbi ET definíció magában foglalhatta a prefibrotikus mielofibrózis esetek egy részét, az így meghatározott ET betegek kb. 50%-ában fordult elő splenomegália és 15-20%-ban hepatomegália [44,55,56]. A WHO klasszifikációval meghatározott ET-nél mindössze 15-20%-ában fordul elő kisfokú splenomegália [35,57].

2.3.1. A trombotikus események patomechanizmusa

Az MPN betegekre, így az ET-re is jellemző trombofilia hátterében számos komponens együttes szerepe feltételezhető. Az általános vaszkuláris rizikófaktorokon (életkor, elhízás, hipertónia, hiperlipidémia) túl egyéb tényezők járulhatnak hozzá a trombotikus események kialakulásához. Ilyenek a vérlemezke- és endotél eredetű prokoaguláns faktorok, az endotél funkció és regeneráció zavara [58,59], a vér megnövekedett viszkozitása [60], a fokozott trombocita, monocita vagy neutrofil granulocita aktiváció [61,62]. Egyes tanulmányok a leukocitózis protrombotikus hatására hívják fel a figyelmet [63,64]. Az aktivált neutrofilek és monociták szintén elősegíthetik a fokozott alvadási készséget. A lehetséges patomechanizmusok közé tartozik a leukocita-trombocita aggregátumok képződése [65], a neutrofilek és monociták megnövekedett szöveti faktor expressziója vagy prokoaguláns fehérjék rendellenes felszabadulása [66]. Bár az elmúlt években számos tanulmány foglalkozott a kérdéssel és több elmélet is napvilágot látott az MPN betegek fokozott trombózis hajlamára vonatkozóan, az eredmények sokszor ellentmondásosak és nincs egyértelmű magyarázat a jelenségre [67].

Az elmúlt időszak egy új kutatási területe a neutrofil granulociták általt termelt lipokalin-2 (LCN2) és annak szerepe a mieloproliferatív neopláziák patobiológiájában [68]. Ezen betegek CD34 pozitív sejtjeiben a lipokalin gén fokozott expressziója és emelkedett plazma lipokalin szint figyelhető meg [69]. Feltételezhetően a LCN2 reaktív oxigéngyökök (ROS) termelődésén keresztül károsítja az endotél funkciót, és ezzel szerepet játszhat a protrombotikus állapot kialakulásában [70].

2.4. Az esszenciális trombocitémia diagnózisa

A 2016-os WHO klasszifikáció a diagnózishoz 4 major és 2 minor kritériumot definiál (2. táblázat).

2. táblázat Az esszenciális trombocitémia 2016-os WHO diagnosztikai kritériumai [1].

Major kritériumok	1. Trombocita szám $\geq 450 \times 10^9/l$
	2. Jellegzetes csontvelő szövettani kép (a megakariocita sor proliferációja; emelkedett számú, nagyméretű, érett megakariociták hiperlobulált magokkal; az erythropoesis és a granulopoesis számottevően nem fokozott és nincs balratoltság; ritkán enyhe (grade 1) reticulín fibrózis)
	3. BCR-ABL1 pozitív chronikus mieloid leukémia, policitémia vera, primer mielofibrózis vagy egyéb mieloid neoplázia WHO kritériumai nem teljesülnek
	4. JAK2, CALR vagy MPL mutáció
Minor kritériumok	1. Egyéb klonális marker jelenléte
	2. Reaktív trombocitózis nem igazolható

A jelenleg érvényben lévő 2016-os WHO szerint az ET diagnózisához vagy a 4 major kritérium vagy az első 3 major kritérium mellett 1 minor kritérium teljesülése szükséges.

Ha az első 3 major kritérium teljesülése mellett JAK2, CALR vagy MPL mutáció igazolható, akkor a diagnózis kimondható. Tripla negatív esetekben az első 3 major kritérium mellett egy minor kritérium teljesülése (egyéb klonális marker jelenléte vagy reaktív trombocitózis kizárása) szükséges [1].

A diagnózishoz a fenti kritériumok értelmében elengedhetetlen a csontvelő biopszia elvégzése és ki kell zárni egyéb mieloid neoplázia lehetőségét.

2.5. Az esszenciális trombocitémia prognózisa

Az átlagos túlélés a teljes betegpopulációt tekintve 20 év, de a 60 évnél fiatalabbak körében ez az érték már 33 év [8]. A betegek morbiditását és mortalitását elsősorban a trombotikus és hemorrágiás szövődmények határozzák meg.

Mielofibrózisba történő transzformáció 10 év alatt 0.8–4.9%-ban, 15 év alatt 4–11%-ban, akut mieloid leukémiába történő transzformáció 10 év alatt 0.7–3%-ban, 15 év alatt 2.1–5.3%-ban fordul elő [26].

2.5.1. Az IPSET-survival rizikómodell

2012-ben Passamonti és társai 867 ET beteget vizsgálva azt találták, hogy az életkor, a megelőző TE esemény és a fehérvérsejt szám alapján 3 egymástól jól elkülönült rizikó kategória

alakítható ki [71]. A modellben a 60 év vagy afeletti életkor 2 pontot, a megelőző TE esemény és a WBC 1-1 pontot jelent. Az így megalkotott IPSET (International Prognostic Score for ET) modell rizikócsoportjai szignifikánsan különböztek egymástól a túlélés tekintetében (3. táblázat).

3. táblázat Az IPSET-survival modell [71].

Rizikófaktorok	Pont
Életkor ≥ 60 év	2
Megelőző trombózis	1
WBC $\geq 11 \times 10^9/l$	1

Rizikócsoport	Pontszám	Medián túlélés
Alacsony	0 pont	NR
Közepes	1-2 pont	24,5 év
Magas	≥ 3 pont	14,7 év

A modell 3 paraméter alapján 0-4 pont között osztályoz, és ezzel alacsony, közepes vagy magas rizikó kategóriába sorolja az ET betegeket. NR: not reached.

A később részletezett IPSET-trombózis rizikórendszerrel elkülönítve a fenti modell IPSET-survival néven terjedt el.

A rizikórendszer két független, egy német és egy francia betegpopuláción is validálták. Az egyik minta WHO kritériumok szerinti, a másik minta PSVG (Polycitémia Vera Study Group) kritériumok szerinti ET betegeket tartalmazott, az IPSET-survival mindkettőn jól használhatónak bizonyult [71,72].

2.6. Trombózis rizikó és terápia

Mivel a betegek túlélése nagyon jó és nincs arra adat, hogy ezt bármilyen gyógyszeres kezelés meghosszabbítaná, ma ET-ben a terápia lényege a trombohemorrágiás szövődmények megelőzése [22,73]. Ehhez fontos a rizikócsoportok kialakítása és az annak megfelelő kezelés.

Több trombózis rizikóbecslés ismert. Landolfi az életkor (kategorizáltan), a megelőző trombózis, a diagnóziskor mért fehérvérsejt- és trombocita szám, valamint általános vaszkuláris rizikófaktorok alapján sorolja a betegeket alacsony, közepes, magas és extrém magas rizikócsoportba [74]. Terápiás javaslata szerint az alacsony és közepes trombózis rizikójú betegeknek elegendő lehet az acetilszalicilsav kezelés, ezzel szemben a magas és extrém magas rizikójú betegeknek az ASA mellett citoreduktív terápiát javasol (4. táblázat).

4. táblázat ET trombózis rizikó és terápia Landolfi szerint [74].

Rizikófaktorok	
Életkor:	
<40 év: 0 pont	
45-55 év: 1 pont	
56-65 év: 2,5 pont	
>65 év: 3,5 pont	
Magas vérnyomás: 0,5 pont	
Hiperkoleszterinémia, hipertrigliceridémia: 0,5 pont	
Trombocitózis(>1000 G/l): 1,0 pont	
Dohányzás: 1,5 pont	
II. típusú diabétesz mellitusz: 1,5 pont	
Megelőző trombózis: 3,5 pont	
Rizikócsoporthoz	Terápiás ajánlás
<1 pont: alacsony rizikó	ASA megfontolható
1-3 pont: közepes rizikó	ASA Citoreduktív kezelés mérlegelése
3,1-5,5 pont: magas rizikó	ASA + hidroxürea
>5,5 pont: nagyon magas rizikó	ASA + hidroxürea Agresszív kezelés mérlegelése

Landolfi modellje 7 paraméter alapján 0-12 pont között osztályoz, ezzel alacsony, közepes, magas vagy nagyon magas trombózis rizikó kategóriába sorolja az ET betegeket és ehhez illeszti terápiás javaslatát.

Az IPSET (International Prognostic Score for Trombózis in WHO defined Essential Trombocitémia) trombózis rizikóbecslés az életkort, a megelőző trombózist, a JAK2 pozitivitást és a kardiovaszkuláris rizikófaktorokat veszi figyelembe [54,75]. A pontrendszerben a megelőző trombózis és a JAK2 pozitivitás nagyobb súlyozással szerepel (5. táblázat). A trombotikus események előfordulását az IPSET pontrendszerrel alacsony rizikónál 1,03% beteg/évnek, közepes rizikónál 2,35% beteg/évnek, magas rizikó esetén pedig 3,56% beteg/évnek találták.

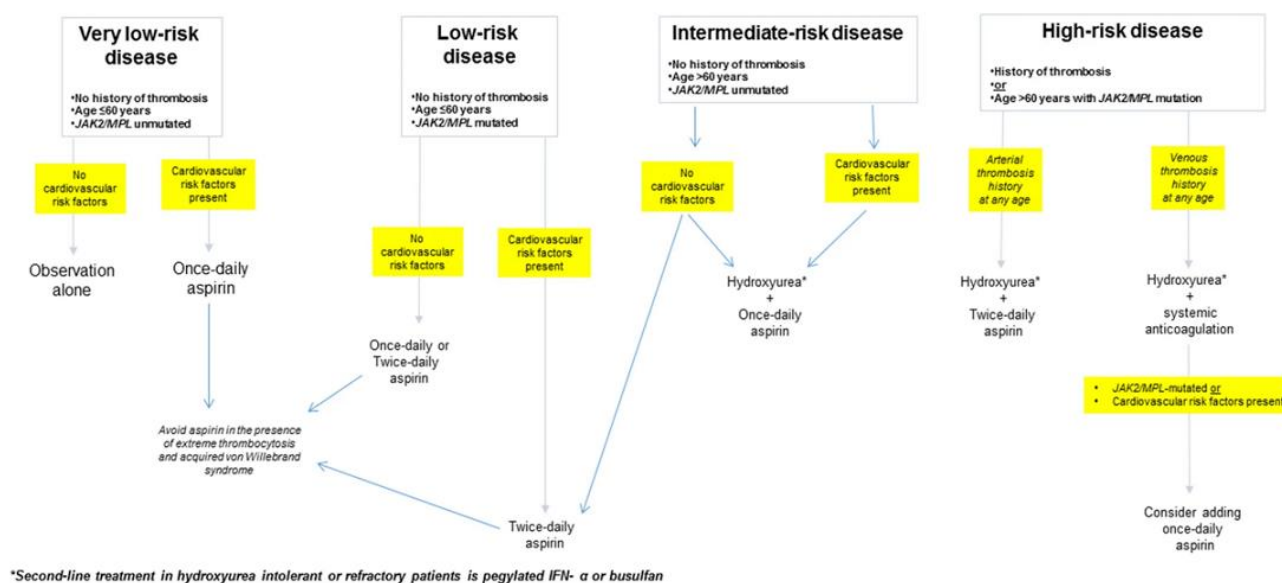
5. táblázat Az IPSET-trombózis rizikóbecslés [75].

Rizikófaktorok	Pont	Trombózis rizikó	Pontszám
Életkor > 60év	1	Alacsony	< 2 pont
Megelőző trombózis	2	Közepes	2 pont
Kardiovaszkuláris rizikó	1	Magas	> 2 pont
JAK2 ^{V617F} mutáció	2		

A modell 4 paraméter alapján 0-6 pont között osztályoz, ezzel alacsony, közepes vagy magas trombózis rizikókategóriába sorolja az ET betegeket.

Tefferi rizikóbecslésében (revised IPSET trombózis model – R-IPSET) négy csoportot különít el az életkor, a megelőző TE esemény és a JAK2/MPL mutáció alapján (nagyon alacsony, alacsony, közepes és magas rizikó) [76]. Kardiovaszkuláris rizikófaktorok a trombózis rizikóbecslésében nem szerepelnek, azokat a terápiás javaslatában veszi figyelembe. Eszerint nem szükséges kezelni azokat a nagyon alacsony trombózis rizikójú betegeket, akiknek nincs kardiovaszkuláris rizikófaktoruk, illetve CV rizikófaktor esetén napi 1x100mg ASA kezelést ajánl. Az alacsony rizikójú betegeknek napi 1x100mg vagy 2x100mg ASA-t javasol a CV rizikófaktorok függvényében. Óva int az ASA adásától extrém magas trombocita szám ($>1000 \times 10^9/l$) esetén másodlagos von Willebrand-szindróma és fokozott vérzéhajlam miatt. Azoknak a közepes trombózis rizikójú betegeknek, akiknek nincs CV rizikófaktoruk, napi 1x100mg ASA-t ajánl, míg CV rizikófaktor esetén az ASA mellett hidroxüüreát javasol. A magas trombózis rizikójú betegeknek attól függően, hogy artériás vagy vénás TE esemény volt, a hidroxüurea mellett napi 2x100mg ASA vagy szisztémás antikoaguláció a javaslata (1. ábra).

1. ábra ET trombózis rizikó és terápia Tefferi szerint (R-IPSET) [76].



A modell 3 paraméter alapján nagyon alacsony, alacsony, közepes vagy magas trombózis rizikó kategóriába sorolja az ET betegeket és a kardiovaszkuláris rizikót is figyelembe véve adja meg terápiás javaslatát. Forrás: Tefferi A, Vannucchi AM, Barbui T. Essential trombocitémia treatment algorithm 2018. Blood Cancer J. 2018.

Landolfi és Tefferi egyaránt jelentős szerepet tulajdonít a megelőző TE eseményeknek, annak megléte esetén a beteg már magas rizikó csoportba kerül.

2.6.1. Az acetilszalicilsav hatásmechanizmusa

A nem szteroid gyulladásgátlók (NSAID) közé tartozó szer orális adagolás során jól felszívódik, a plazma csúskonzentrációját kb. 1,5 óra múlva éri el [77]. Szöveti és plazma észterázok hatására ecetsavra és szalicilátra hidrolizál. Acetilálás útján irreverzibilisen gátolja a ciklooxygenáz enzimet. A COX-1 enzim inhibitora, csökkenti a tromboxán-A₂ szintjét, ezzel gátolva a trombocita aggregációt [78]. Mivel a vérlemezkéknek csak kisfokú fehérjeszintetizáló képességük van, ezért a ciklooxygenáz enzimet sem tudják regenerálni. Így az ASA antiaggregációs hatásának időtartama gyakorlatilag megegyezik a trombociták élettartamával (8-11 nap) [79]. Az ASA legfontosabb mellékhatásai közé tartoznak a gasztrointesztinális panaszok, a gyomornyálkahártyára protektív hatású prosztaglandinok szintézisének gátlása miatt eróziók, fekélyek alakulhatnak ki. Ritkán bőrreakció, vesefunkció romlás, májkárosodás vagy csontvelő-depresszió alakulhat ki [79-82].

2.6.2. A hidroxiurea hatásmechanizmusa

A hidroxiurea hatásmechanizmusát tekintve az antimetabolitokhoz tartozik. A gyomorbél rendszerből jól felszívódik, a plasma csúcskoncentrációját kb. 1 óra múlva éri el. Dúsul a fehérvérsejtekben és átjut a vér-agy gáton is [79,83]. A ribonukleotid-reduktáz enzim inhibitora, s így gátolja a nukleotidátalakulást és a DNS szintézist. A ribonukleotid-reduktáz aktivitása a sejtciklus S fázisában a legnagyobb, a hidroxiurea tehát azokat a sejteket károsítja, melyek ebben a DNS szintetizáló fázisban vannak [79,84]. A DNS-javító („repair”) mechanizmusok gátlásán keresztül a hidroxiurea teoretikusan mutációk kifejlődését segítheti elő [84]. Azonban a szer mutagén, leukemogén és genotoxikus hatását illetően az irodalmi adatok ellentmondásosak, némely közlemény mellette, némely ellene szól [84-88]. A hidroxiurea legfontosabb mellékhatása a hematológiai toxicitás, így a trombocita szám redukciója mellett leukopeniát és anémiát okozhat [79,89]. Hosszabb távú kezelés bőrtünetekkel járhat (makulopapulózus bőrkiütés, pigmentáció, lábszárfekély) [90-92].

2.6.3. A buszulfán hatásmechanizmusa

Alkiláló szer, amely citosztatikus hatását elsősorban úgy fejt ki, hogy kovalens kötással alkil-csoportokat kapcsol a DNS guanin bázisaihoz, így a polinukleotid láncok között keresztkötéseket és lánctöréseket hoz létre [93]. Gátolja a sejtproliferációt és apoptózist indukál, de hatása folytán erősen mutagén [93-95]. Legfőbb mellékhatásai a hematológiai toxicitás (leukopénia, anémia) és a gasztrointesztinális tünetek (hányinger-hányás, hasmenés) [96-98]. Hosszútávon intersticiális tüdőfibrózist („buszulfán-tüdő”) okozhat és második malignitás, akut leukémia kialakulásáért lehet felelős [99-103]. Tefferi ajánlásában másodvonalbeli terápiaként szerepel [76], de ET kezelésére a magyar gyakorlatban nem terjedt el.

2.6.4. Az anagrelid hatásmechanizmusa

Az anagrelid egy orálisan adható imidazoquinazolin származék, amely szelektíven gátolja a megakariocita proliferációt és érést, valamint a trombocita lefűződést [104,105]. Pontos hatásmechanizmusa nem teljesen ismert, de az utóbbi időben sok részletre fény derült. A gyomor-bélrendszerből felszívódva gyorsan metabolizálódik. A 3-hidroxianagrelid a III. típusú foszfodiészteráz gátlása révén cAMP-szint növekedéshez, így trombocita aggregáció gátláshoz vezet. Elsősorban másik metabolítja, a 2-amino-5,6-dikloro-3,4-dihidroquinazolin felelős a megakariocita proliferáció gátlásáért és a trombocita szám csökkenésért [106-108].

Számos transzkripció faktor regulációjában részt vesz, köztük az eritroid és megakariocita vonal érésében kulcsszerepet játszó GATA-1 és FOG-1 szabályozásában is [109,110].

A hidroxiureát az anagreliddel összehasonlító hatástanulmányok némelyike az ANA-t a HU-hoz képest non-inferiornak, más közlemények inferiornak találták [111-113]. Csontvelő fibrózist fokozó hatását illetően az irodalmi adatok ellentmondásosak. A Primary Trombocitémia 1 (PT-1) tanulmány az ET betegek közt nagyobb gyakorisággal talált mielofibrózisba történő transzformációt az anagrelid karon [112]. Egy másik vizsgálat 2 év ANA kezelés után 60-ból 19 ET betegen talált csontvelő fibrózist [114]. Ezzel szemben az ANAHYDRET study 122 anagreliddel kezelt ET beteget vizsgálva nem talált mielofibrózisba történő progressziót [111]. Az EXELS vizsgálatban több MF transzformációt találtak az ANA karon, ugyanakkor a leukémiás transzformáció gyakoribb volt hidroxiurea terápia mellett [115].

Az anagrelid mellékhatásai általában enyhék és jól tolerálhatóak, leggyakrabban fejfájás, hasmenés és palpitáció fordul elő [116,117]. A megakariocitákra gyakorolt szelektív hatása miatt pancitopéniát nem okoz [104]. Nem mutagén és nem leukemogén, de terhességben nem adható [118].

2.6.5. Az interferon-alfa hatásmechanizmusa

Az interferonok először antivirális szerként terjedtek el, majd antiproliferatív és immunmoduláns hatásuk is ismertté vált [119,120]. Az IFN specifikus receptorához kötődve a TYK2 és JAK1 tirozin-kinázokon keresztül a STAT1 és STAT2 foszforilációjához vezet. Ezzel elősegíti a STAT1-STAT2 heterodimer képződést, mely az IRF9-hez (IFN regulátor faktor 9) kötődve az ISGF3-mat (IFN stimulált gén faktor 3) alkotja. Az ISGF3 a sejtmagban az ISRE (IFN stimulált válaszelemek) néven ismert specifikus promoterekhez kötődik, elősegítve az IFN-stimulált gének (ISG-k) transzkripcióját [121-123]. IFN- α hatására csökken a RB tumorszupresszor gén foszforilációja, a ciklin-D expressziója és fokozódik a sejtfelszíni halálreceptor kifejeződése [79,124,125].

A kezelés után szinte minden esetben láz, hidegrázás, gyengeség, hányinger lép fel (influenzaszerű tünetek). A tünetek enyhíthetők, ha a beteg lázcsillapító adását követően kapja a kezelést [79]. Emellett csontvelő-szupresszió, autoimmun reakciók, kardiotoxicitás, vesetoxicitás, anorexia, szomnolencia, olykor súlyos pszichózisok alakulhatnak ki [126-131].

Míg az ET-ben alkalmazott fenti kezelésekkel elsősorban a betegség kontrollálása a cél, addig IFN- α mellett akár tartós hematológiai remisszió is elérhető [132,133]. Ugyanakkor jelentős

mellékhatásai miatt elsősorban arra alkalmas, fiatal betegek részére ajánlott. Terhességben is adható [134,135].

3. Célkitűzések

A HUMYPRON (Hungarian Myeloproliferative Neoplasm Working Group) regiszterének felhasználásával az ET betegek vonatkozásában a következő kérdésekre kerestük a választ:

1. Trombotikus és vérzéses szövődményekkel kapcsolatos összefüggések:

- trombotikus szövődményeket potenciálisan befolyásoló tényezők, rizikófaktorok elemzése, ideértve a lipokalin-2 szerepének vizsgálatát;
- trombózis rizikórendszerek (Landolfi-, IPSET-, R-IPSET modell) használhatóságának vizsgálata, egymással való összevetése;
- az alkalmazott terápia (anagrelid vs. hidroxürea+acetilszalicilsav) trombotikus- és hemorrágiás szövődményekre gyakorolt hatásának vizsgálata.

2. Betegség progresszióval és szekunder malignitással kapcsolatos összefüggések:

- a betegség progressziójának vizsgálata megjelenés szerint (MF, AML, MF-AML);
- az esszenciális trombocitémia progresszióját potenciálisan befolyásoló tényezők elemzése;
- az alkalmazott terápia (anagrelid vs. hidroxürea+acetilszalicilsav) progressziómentes túlélésre gyakorolt hatásának vizsgálata;
- szekunder malignitás megjelenése és az alkalmazott kezelés (anagrelid vs. hidroxürea+acetilszalicilsav) közti kapcsolat elemzése.

3. Teljes túléléssel kapcsolatos összefüggések:

- az ET betegek teljes túlélését potenciálisan befolyásoló tényezők, prognosztikai faktorok vizsgálata;
- a terápia (anagrelid vs. hidroxürea+acetilszalicilsav) teljes túlélésre gyakorolt hatásának vizsgálata;
- az IPSET-survival rizikórendszer alkalmazhatóságának elemzése.

4. Betegek és módszerek

A Philadelphia-negatív mieloproliferatív neopláziák spontán betegségfolyása elhúzódó, ezért a randomizált tanulmányok mellett fontos a betegek hosszú távú követése és „real-life” adatok értékelése.

4.1. Adatgyűjtés

A 2012-ben alapított HUMYPON regiszter 14 magyar hematológiai centrum MPN betegeinek epidemiológiai, klinikai, valamint laboratóriumi paramétereit tartalmazza [136,137]. Az adatokat részben a betegek kikérdezésével, részben a kórházi dokumentációk áttekintésével nyertük és vittük fel az elektronikus regiszterbe.

A betegvizitek alkalmával a páciens egy általunk szerkesztett kérdőívet tölt a HUMYPON adatbázis szempontjai alapján, melynek eredményét a kórházi rendszerben végzett ellenőrzést, szükség esetén kiegészítésként rögzítünk a beteg kórtörténetében is. Ezt követően a komplett betegadatok regisztrálása orvosi ellenőrzés és validálás mellett szakasszisztensi szinten történik.

A regiszterben az első adatcsoport a betegek azonosítását szolgálja. A beteg neve és TAJ száma nem szerepel a regiszterben. Betegazonosítás a beviteli hely, a beviteli sorszám, a bevívó személy monogramja, a születési dátum és a beteg neme szerint történhet, így az anonimitás csak az adatbevívó által feloldható.

A diagnózis minden esetben a 2008-as WHO klasszifikáció szerint történik (ET, PV vagy MF). Megadásra kerül a diagnózis éve, a JAK2, CALR és MPL mutációs státusz és diagnóziskori szérum EPO szint. Rögzítjük a diagnóziskor mért laborparamétereket (WBC, RBC, PLT, retikulocita, MCH, LDH, CRP, stb.) és a lépméretet.

A következő adatcsoport a trombotikus szövődményekkel kapcsolatos paramétereket tartalmazza. Bevitelre kerül az esetleges diagnózis előtti trombotikus események időpontja, fenotípusa és a családi trombotikus anamnézis. A trombózis rizikóbecsléshez a Landolfi, IPSET és R-IPSET [74-76] modelleket használtuk. Ezek meghatározásához a fentiekén túl általános vaszkuláris rizikófaktorok (diabétesz, hipertónia, hiperlipidémia, dohányzás) feltérképezése szükséges. A diagnózist követően elszenvedett trombotikus és vérzéses szövődmények klinikai megjelenésén túl megadásra kerül az események időpontja és azok bekövetkeztekor mért laborparaméterek eredménye.

Regisztráljuk az alkalmazott kezelést (flebotómia, ASA, hidroxiurea, anagrelid, interferon, JAK2 inhibitor, stb.), az utánkövetés során észlelt esetleges betegségprogresszió vagy második malignitás megjelenését és a haláleseteket. A betegek túlélésének becslésére az IPSET-survival pontrendszert alkalmazzuk [71]. Végül lehetőség van speciális kérdéskör megválaszolására és további rizikófaktorok megadására (terhesség, trombofília, egyéb ritka társulás).

A vizsgálat megkezdésekor a regiszter 426 PV és 321 ET beteg adatait tartalmazta. Fő vizsgálatunkba megfelelő adattisztítás után 237 ET beteget vontunk be. Kiszűrtük azokat, akiknek hiányos adatai miatt valamely célkitűzést nem lehetett megválaszolni és azokat, akik nem feleltek meg a lent részletezett terápiás kívánalmaknak.

Vizsgálatunk részben retrospektív, részben prospektív, hiszen az első adatbevitelkor regisztrált betegeket nyomon követjük és az új információkat rendre felvesszük. Az adatbázist folyamatosan frissítjük, a most ismertetett elemzést 5 évvel az első analízist követően [137], 2018. decemberi adatokkal végeztük, ami 10 éves medián utánkövetést jelent.

4.2. A trombotikus események meghatározása

A trombotikus eseményeket Gisslinger szerint definiáltuk az alábbiak szerint [111]:

- Major artériás trombózis: stroke, miokardiális infarktus, perifériás artériás- és szplanknikus artériás tromboembólia;
- Minor artériás trombózis: TIA, angina pektorisz, instabil angina, generalizált konvulzió, eritromelalgia, okuláris tünetek és angina abdominális (transziens abdominális iszkémia);
- Major vénás esemény: mélyvénás trombózis, tüdőembólia, szplanknikus vénás trombózis, pelvicus vénás trombózis és egyéb mélyvénás trombózis.
- A minor vénás eseményeket nem vettük figyelembe.

Egy betegnek több TE eseménye is előfordulhatott, de egy adott fenotípusú TE eseményt egy betegnél csak egyszer vettünk figyelembe.

4.3. Alkalmazott terápia

A vizsgált ET betegek anagrelid vagy hidroxiurea + acetilszalicilsav terápiában részesültek. Az elemzésből kiszűrtük azokat, akik egyik kezelésről a másikra tértek át. Az anagrelidet szedő betegek a vérzéses komplikációk fokozott veszélye miatt nem kaptak artériás tromboprofilaxist. Vénás TE profilaxisban azok a betegek részesültek, akik megelőző major vénás TE esemény miatt egyébként antikoagulálva voltak. Ismert trombofiliás beteg (APC rezisztencia, APSA szindróma, stb.) nem került a vizsgálatba.

Az alkalmazott terápia helyi szokások szerint történt. Nincs arra vonatkozó adat, hogy a különböző centrumok klinikusait mi motiválta a terápia megválasztásában. Egy adott kezelést különböző prognózisú betegek is kaphattak és az azonos prognosztikai csoportba tartozó betegek részesülhettek eltérő terápiában is. A bármilyen okból alkalmazott antikoaguláns vagy trombocita aggregáció gátló terápia a lehetséges szövődmények befolyásolásával megtevesztő lehet, ugyanakkor az antikoaguláns és egyéb – ASA-tól eltérő - trombocita aggregáció gátló kezelésekről nem rendelkezünk információval.

4.4. Lipokalin-2 alvizsgálat

Egy alvizsgálat során a lipokalin-2 trombotikus eseményekben betöltött lehetséges szerepét vizsgáltuk. A kaposvári centrumból 37 PV és 37 ET beteget vontunk be az analízisbe. A vizsgálat idején egyik betegnél sem állt fenn akut tromboembóliás epizód, fertőző- vagy gyulladásos betegség, veseelégtelenség. A mintagyűjtést megelőző 7 napban felfüggesztettük az acetilszalicilsav és a citoreduktív szerek (hidroxiurea, anagrelid) alkalmazását, de a korábban trombozist elszenvedő betegek antikoaguláns kezelésén nem változtattunk.

A perifériás vérből RNS mintát nyertünk ki Trizol reagens (Ambion) segítségével. A reverz transzkripciót követően (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit - Life Technologies) a Q-PCR vizsgálatot Taqman próba alapú génexpresszió meghatározással (Hs01008571_m1, Life Technologies) végeztük, endogén kontrollnak β -glükuronidázt (GUSB, Hs99999908_m1) használva. Minden esetben a gyártó ajánlása alapján jártunk el. Az eredményeket ΔC_T módszerrel számoltuk ki és a GUSB expresszióra normalizált LCN2 expressziós értékeket mutatják.

Az alvizsgálat során a bármely időpontban (diagnózist megelőzően vagy azt követően) elszenvedett major, minor artériás és vénás TE eseményeket egyaránt figyelembe vettük, de a látászavart, szédülést, fejfájást, fülzúgást vagy akroparesztéziát nem tekintettük trombotikus komplikációnak.

4.5. Statisztikai elemzés

A folytonos változók normalitás vizsgálatához Kolmogorov-Smirnov-tesztet használtunk (első fajú hiba = 10%). A normális eloszlást mutató minták összehasonlítását kétmintás t-próbával végeztük (a varianciák homogenitását Levene-teszttel ellenőriztük, első fajú hiba = 5%), a többi minta esetében pedig Mann-Whitney féle U-próbát alkalmaztunk. Az ordinális skálán mérhető adatok esetén szintén Mann-Whitney-próbával számoltunk. A kategorikus változókat Fisher-egzakt teszttel vagy Khi-négyzet (χ^2) próbával vizsgáltuk. Ahol egy adott esemény bekövetkeztéig eltelt idő összehasonlítása volt a cél a különböző csoportokban, log-rank tesztet használtunk Kaplan-Meier görbe alapján.

Cox-regressziót (előremutató módszer) alkalmaztunk annak megállapítására, hogy a következő változók befolyásolták-e a halál vagy a betegség progressziójának idejét: alkalmazott terápia (anagrelid vs. hidroxürea+acetylszalicilsav), életkor a diagnózis idején (<60 év vs. ≥60 év), nem (férfi vs. nő), JAK2^{V617F} pozitivitás (igen vs. nem), a diagnózist megelőző tromboembóliás esemény megléte vagy hiánya. Ugyanezen változók hatását az ET diagnózisát követő tromboembóliás eseményekre és a másodlagos malignitás kialakulására logisztikus regresszióval (előremutató módszer) elemeztük. Hasonlóképpen jártunk el a relatív LCN2 génexpresszió trombotikus eseményekre gyakorolt hatásának vizsgálatakor.

Mivel a szignifikancia szintek korrekciója nélkül végeztünk többszörös összehasonlításokat, következtetéseink csupán leíró jellegűek.

A statisztikai elemzéshez a 3.2.1. verzió számú R statisztikai szoftvercsomagot használtuk.

Az eredményeket 5%-os szignifikancia szinten értékeltük.

4.6. Etikai hozzájárulás

A vizsgálatot ETT-TUKEB engedéllyel és a Helsinki deklaráció elveinek betartásával végeztük. A betegek a vizsgálat természetéről való tájékoztatást követően írásban járultak hozzá adataik névtelenül történő használatához.

5. Eredmények

5.1. Beteg karakterisztikák

237 ET beteg adatait elemeztük 10 éves medián utánkövetési idővel (1–29 év). A diagnóziskori átlagéletkor 60,9 év volt. Női dominancia volt megfigyelhető, a férfi:nő arány 1:2. JAK2^{V617F} mutáció pozitivitás 70.5%-ban fordult elő.

116 beteg részesült anagrelid terápiában, 121 beteg hidroxürea + acetilszalicilsav kezelést kapott. A két terápiás csoportban nem volt szignifikáns különbség a nemek arányában, a kategorizált életkorban (<60 év vs. ≥60 év), a mutáció státuszban (JAK2^{V617F}, CALR, MPL) és a diagnózist megelőző TE események arányában (6. táblázat).

Az anagrelid és hidroxürea + acetilszalicilsav terápiában részesült betegek közt nem találtunk szignifikáns eltérést a Landolfi-, IPSET- és R-IPSET rizikó kategóriákban sem. A betegek többsége mindhárom modellnél a magas rizikó csoportba tartozott.

Az IPSET-survival rizikómodellel a legtöbb beteg mindkét terápiás csoportban közepes túlélési rizikójú volt. A két csoport közt itt sem volt szignifikáns különbség.

Ugyanakkor szignifikáns különbség mutatkozott az ET diagnózisakor regisztrált medián életkor (magasabb a hidroxürea+ASA csoportban) és a medián utánkövetés/halálig eltelt idő (rövidebb a hidroxürea+ASA csoportban) tekintetében (6. táblázat).

6. táblázat Az anagrelid és hidroxiurea + ASA kezelésben részesült ET betegek jellemzői.

	Anagrelid (n=116)	Hidroxiurea+ASA (n=121)	Összesen (n=237)	p
Nem, n (%)				
Férfi	34 (29,3)	43 (35,5)	77 (32,5)	0,333
Nő	82 (70,7)	78 (64,5)	160 (67,5)	
Életkor a diagnóziskor, év				
Medián	60	63	62	0,026
Minimum-maximum	25-92	29-89	25-92	
Átlag +/- SD	58,9 ± 15,1	62,8 ± 11,4	60,9 ± 13,4	
Életkor a diagnóziskor kategorizáltan, év, n (%)				
<60	56 (48,3)	46 (38,0)	102 (43,0)	0,117
≥60	60 (51,7)	75 (62,0)	135 (57,0)	
JAK2 pozitív, n (%)	80 (69,0)	87 (71,9)	167 (70,5)	0,670
CALR pozitív, n (%)	27 (23,3)	18 (14,9)	45 (19,0)	0,135
MPL pozitív, n (%)	6 (5,2)	6 (5,0)	12 (5,1)	>0,999
Tripla negatív, n (%)	3 (2,6)	10 (8,3)	13 (5,5)	0,084
Utánkövetés/haláláig eltelt idő, év				
Medián	10	8	10	0,011
Minimum-maximum	1-29	1-29	1-29	
Átlag +/- SD	11,3 ± 5,4	9,7 ± 5,3	10,5 ± 5,4	
Landolfi rizikó, n (%)				
Alacsony	5 (4,3)	3 (2,5)	8 (3,4)	0,061
Közepes	38 (32,7)	25 (20,7)	63 (26,6)	
Magas	47 (40,5)	50 (41,3)	97 (40,9)	
Nagyon magas	26 (22,4)	43 (35,5)	69 (29,1)	
IPSET-trombózis rizikó, n (%)				
Alacsony	11 (9,5)	5 (4,1)	16 (6,8)	0,176
Közepes	26 (22,4)	23 (19,0)	49 (20,7)	
Magas	79 (68,1)	93 (76,9)	172 (72,6)	
R-IPSET rizikó, n (%)				
Nagyon alacsony	15 (12,9)	6 (4,9)	21 (8,9)	0,119
Alacsony	34 (29,3)	32 (26,4)	66 (27,8)	
Közepes	12 (10,3)	12 (9,9)	24 (10,1)	
Magas	55 (47,4)	71 (58,7)	126 (53,2)	
TE esemény a diagnózis előtt, n (%)	25 (21,6)	38 (31,4)	63 (26,6)	0,106
Minor artériás TE	8 (6,9)	12 (9,9)	20 (8,4)	>0,999
Major artériás TE	9 (7,7)	21 (17,4)	30 (12,7)	0,198
Major vénás TE	9 (7,7)	6 (4,9)	15 (6,3)	0,078
TE esemény a diagnózis után, n (%)	30 (25,9)	46 (38,0)	76 (32,1)	0,052
Minor artériás TE	8 (6,9)	36 (29,8)	44 (18,6)	<0,001
Major artériás TE	15 (12,9)	12 (9,9)	27 (11,4)	0,049
Major vénás TE	11 (9,5)	8 (6,6)	19 (8,0)	0,102
Vérzéses esemény a diagnózis után, n (%)	4 (3,4)	4 (3,3)	8 (3,4)	>0,999
IPSET-survival rizikó, n (%)				
Alacsony	12 (10,3)	6 (5,0)	18 (7,6)	0,059
Közepes	65 (56,0)	58 (47,9)	123 (51,9)	
Magas	39 (33,6)	57 (47,1)	96 (40,5)	

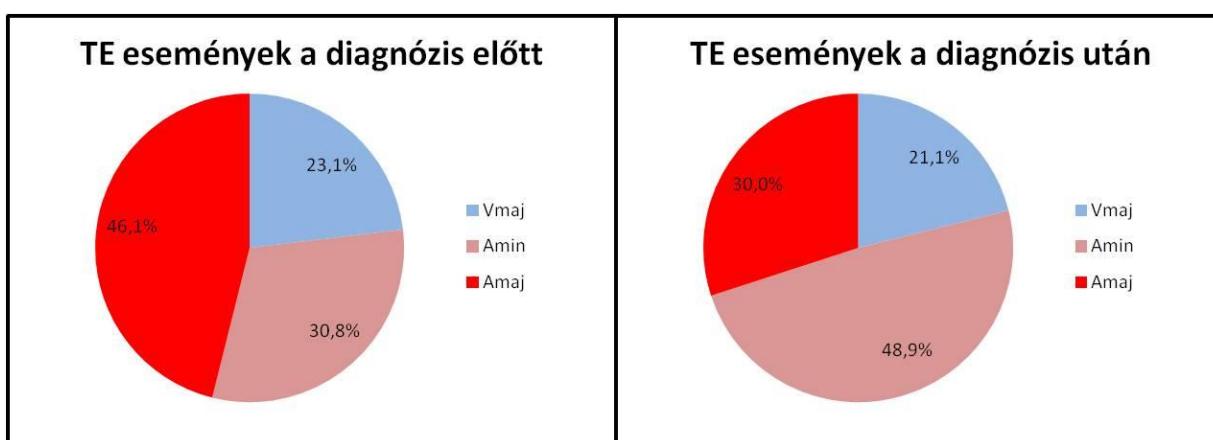
A két terápiás csoport (anagrelid vs. hidroxiurea+ASA) a legtöbb jellemzőben kiegyensúlyozott volt, ugyanakkor a diagnóziskori életkor szignifikánsan alacsonyabb volt az ANA csoportban, továbbá az IPSET-survival rizikó is arra utal, hogy ez a betegcsoport jobb prognózissal bírt.

5.2. Trombotikus és vérzéses események

A diagnózist megelőzően 63 betegnek (26.6%) volt 65 TE eseménye. Leggyakoribbak a major artériás szövődmények voltak (n=30, 46.1%). Minor artériás TE-t 20 esetben (30.8%), major vénás TE-t 15 esetben (23.1%) regisztráltunk.

A diagnózist követően összesen 76 betegnek (32.1%) volt 90 TE eseménye. A legtöbb esetben minor artériás komplikációk fordultak elő (n=44, 48.9%). Major artériás TE-t 27 (30.0%), major vénás TE-t 19 (21.1%) esetben észleltünk (2. ábra). A minor vénás eseményeket a 10 éves medián utánkövetés során nem vettük figyelembe.

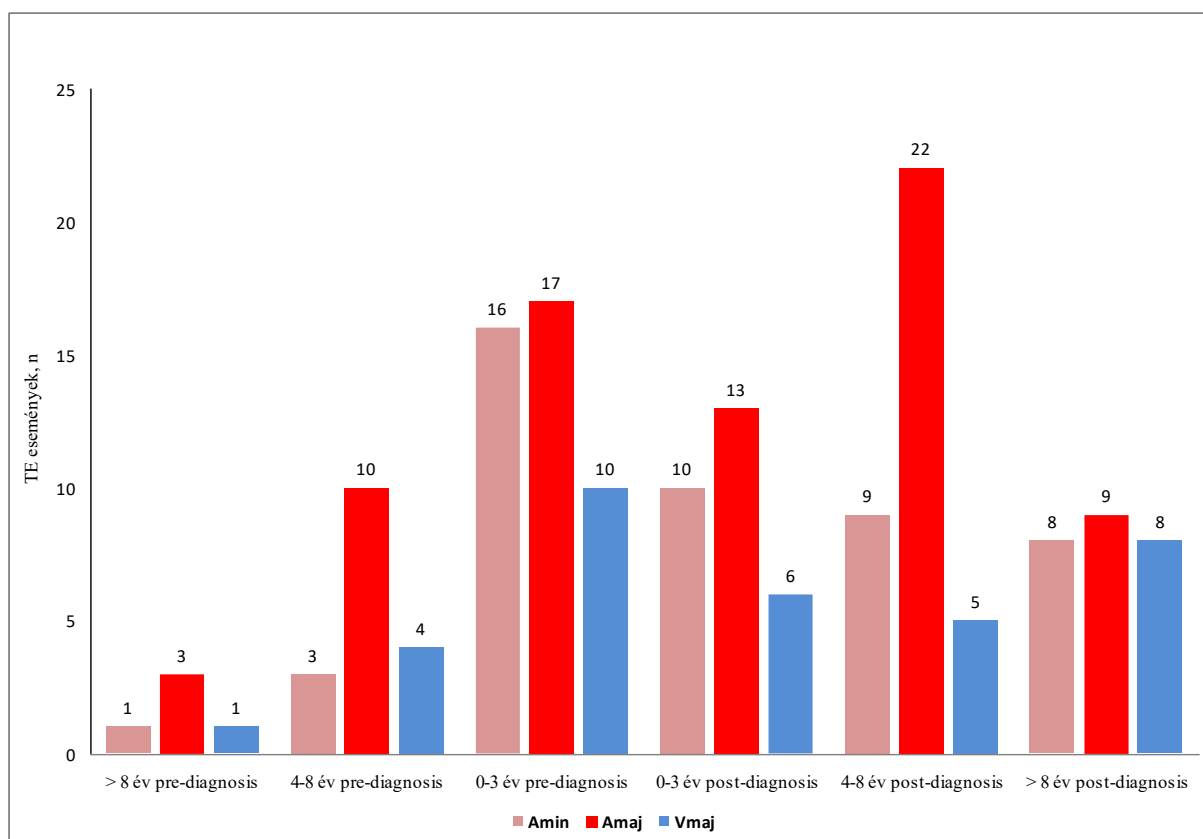
2. ábra A TE események fenotípus szerinti megoszlása az ET diagnózisa előtt és azt követően.



A diagnózist követően a major artériás események gyakorisága csökkent, amely az alkalmazott terápia (anagrelid vagy hidroxiurea+acetilszalicilsav) következménye lehet.

A legkorábban elszenvedett TE eseményt 10 évvel az ET diagnózist megelőzően regisztráltuk. Legkésőbb az ET diagnózisa után 19 évvel észleltünk trombózist (3. ábra). A legtöbb TE esemény (n=43) az ET diagnózist megelőző 3 évben fordult elő.

3. ábra A tromboembóliás események időbeli előfordulása az ET diagnózisához viszonyítva.



A legkorábban regisztrált TE események több mint 8 évvel az ET diagnózisa előtt történtek, amely egy protrombotikus jelenség meglétét feltételezi. A legtöbb TE esemény a diagnózis előtti 3 éven belül történt.

Az ET diagnózist megelőzően hasonló arányban fordultak elő TE események a két terápiás csoportban (6. táblázat). A diagnózis után határérték különbség mutatkozott a két csoport TE eseményei között ($p=0,052$); az anagreliddel kezelték 25,9%-ában, a hidroxiurea+acetilszalicilsav terápiában részesülők 38%-ában regisztráltunk tromboembóliás eseményt.

Az ET diagnózist követő TE események fenotípusát illetően szignifikáns különbség mutatkozott a kezelési csoportok között. Míg minor artériás események a hidroxiurea+ASA csoportban fordultak előbb nagyobb számban (4,5x több beteg, $p<0,001$), addig major artériás eseményt az anagrelid csoportban figyeltünk meg gyakrabban (1,25x több beteg, $p=0,049$). A major vénás eseményt elszenvedők aránya hasonló volt a két csoportban, csakúgy, mint a vérzéses komplikációké - ez utóbbiból mindkét kezelési csoportban 4-et regisztráltunk.

A diagnózist követően TE eseményt elszenvedő betegek ($n=76$) adatait vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a nem, az életkor (≥ 60 év), az utánkövetés/halálalig eltelt idő, a mutáció

státusz, a fehérvérsejt-, a trombocita szám, az MCH (a vashiány mutatójaként [138]) és a kardiovaszkuláris rizikófaktorok (diabétesz mellitusz, diszlipidémia, hipertónia) nem bírtak szignifikáns hatással a későbbi TE esemény bekövetkeztére (7. táblázat).

7. táblázat Az ET diagnózist követő tromboembóliás eseményeket befolyásoló tényezők.

	TE, igen, n (%) N=76	TE, nem, n (%) N=161	p
Nem			0,658
férfi, n (%)	23 (30,3)	54 (33,5)	
nő, n (%)	53 (69,7)	107 (66,5)	
Életkor a diagnóziskor			0,484
<60 év, n (%)	30 (39,5)	72 (44,7)	
≥60 év, n (%)	46 (60,5)	89 (55,3)	
TE esemény a diagnózis előtt			<0,001
igen, n (%)	37 (48,7)	26 (16,1)	
nem, n (%)	39 (51,3)	135 (83,9)	
Utánkövetés/halálig eltelt idő, év			0,977
Medián	10	9	
Minimum-maximum	1-22	1-29	
Átlag +/- SD	10,3 ± 5,5	10,3 ± 5,5	
JAK2 státusz			0,127
pozitív, n (%)	59 (77,6)	108 (67,1)	
negatív, n (%)	17 (22,4)	53 (32,9)	
CALR státusz			0,155
pozitív, n (%)	10 (13,2)	35 (21,7)	
negatív, n (%)	66 (86,8)	126 (78,3)	
MPLstátusz			0,529
pozitív, n (%)	5 (6,6)	7 (4,3)	
negatív, n (%)	71 (93,4)	154 (95,7)	
WBC			0,532
≥10.000, n (%)	18 (23,7)	45 (28,0)	
<10.000, n (%)	58 (76,3)	116 (72,0)	
PLT			0,066
≥1.000.000, n (%)	11 (14,5)	42 (26,1)	
<1.000.000, n (%)	65 (85,5)	119 (73,9)	
MCH			0,220
<28pg, n (%)	13 (17,1)	18 (11,2)	
≥28pg, n (%)	63 (82,9)	143 (88,8)	
Diabétesz			1,000
igen, n (%)	10 (13,2)	22 (13,7)	
nem, n (%)	66 (86,8)	139 (86,3)	
Diszlipidémia			0,437
igen, n (%)	18 (23,7)	47 (29,2)	
nem, n (%)	58 (76,3)	114 (70,8)	
Hipertónia			0,576
igen, n (%)	46 (60,5)	91 (56,5)	
nem, n (%)	30 (39,5)	70 (43,5)	

Egyváltozós analízis: a 237 beteget vizsgálva egyedül az ET diagnózist megelőző TE esemény bírt szignifikáns hatással a későbbi TE eseményekre ($p<0,001$).

Logisztikus regresszió analízissel megállapítottuk, hogy az egyetlen olyan tényező, amely szignifikáns hatást gyakorolt a poszt-diagnosztikus TE eseményekre az a korábban elszenvedett TE esemény volt ($p < 0,001$) (8. táblázat).

8. táblázat Az ET diagnózist követő tromboembóliás események előfordulását befolyásoló tényezők.

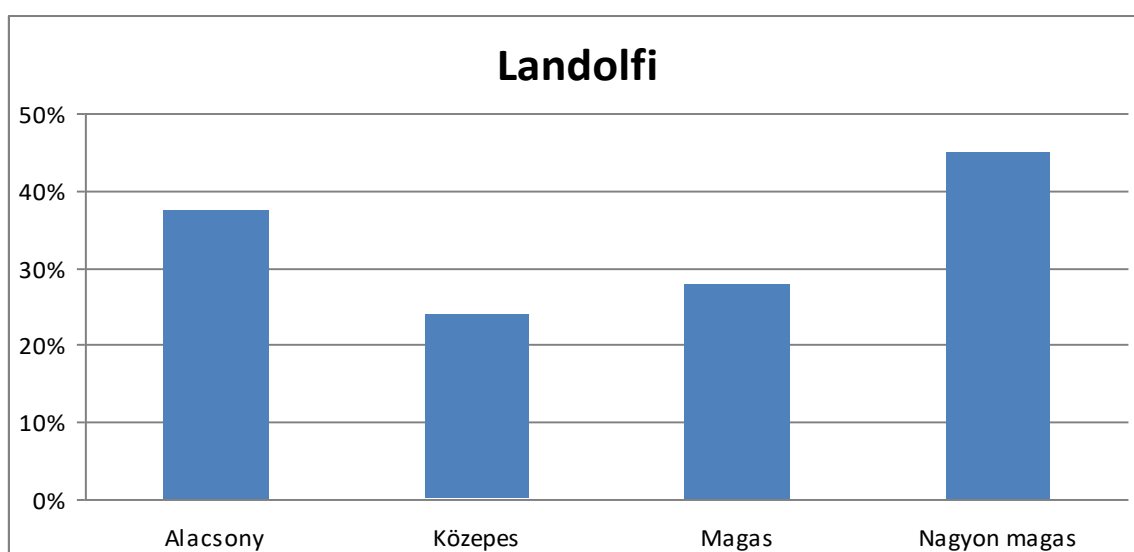
Változók	p	Exp(B): hazards ratio	Exp(B): 95% CI
Kezelés (ANA vs. HU+ASA)	0,114	1,641	0,888-3,031
Életkor a diagnóziskor (év)	0,298	1,016	0,986-1,048
Nem (férfi vs. nő)	0,771	0,908	0,473-1,741
JAK2 pozitivitás (igen vs. nem)	0,115	1,733	0,874-3,437
TE esemény a diagnózis előtt (igen vs. nem)	<0,001	6,130	2,897-12,972
Utánkövetés/halálig eltelt idő (év)	0,903	1,004	0.944-1,067

Logisztikus regresszió (többváltozós modell): a függő változó a teljes betegcsoportból (n=237) a TE eseményt elszenvedett betegek száma. Társváltozók: kezelés (anagrelid vs. hidroxiurea+acetilszalicilsav), életkor a diagnóziskor (év), nem (férfi vs. nő), JAK2 mutáció pozitivitás (igen vs. nem), TE esemény az ET diagnózisa előtt (igen vs. nem), utánkövetés/halálig eltelt idő (év).

5.3. Trombózis rizikórendszerek

A HUMYPRON regiszter 237 ET-s betegén elemeztük a Landolfi-, IPSET- és R-IPSET rizikórendszereket. A Landolfi szerinti alacsony rizikónál a betegek 37.5%-ának fordult előtrombotikus eseménye a diagnózis után, ezzel szemben a nagyon magas rizikócsoporthoz a trombotikus események aránya 44.9% volt. Ugyanakkor a Landolfi szerinti alacsony rizikócsoporthoz a TE események gyakorisága (37.5%) meghaladta a közepes (23.8%) és a magas rizikócsoporthoz (27.8%) (4. ábra).

4. ábra A tromboembóliás események előfordulása a Landolfi rizikócsoporthoz.

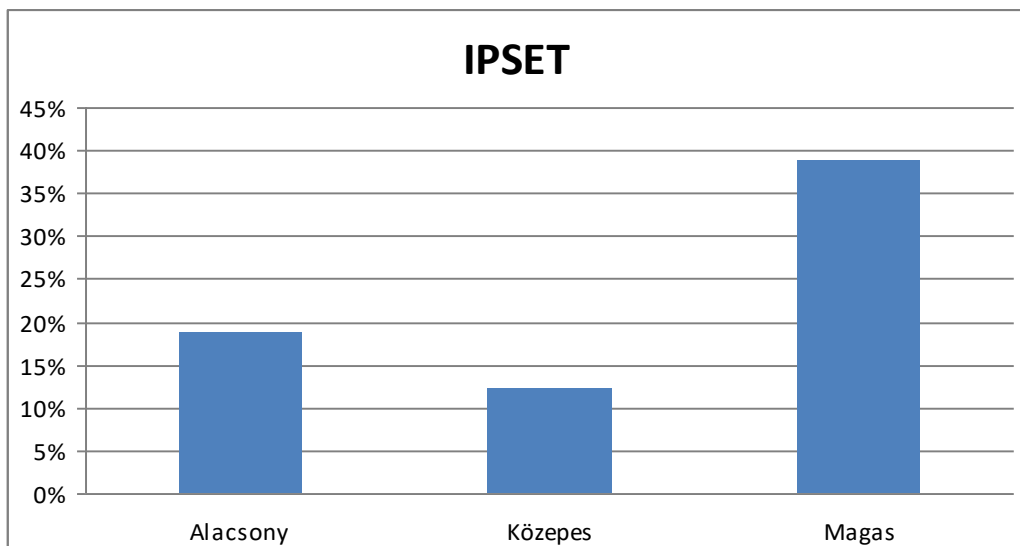


Landolfi rizikó	Alacsony N=8	Közepes N=63	Magas N=97	Nagyon magas N=69
TE esemény, nem, n (%)	5 (62,5)	48 (76,2)	70 (72,2)	38 (55,1)
TE esemény, igen, n (%)	3 (37,5)	15 (23,8)	27 (27,8)	31 (44,9)

A Landolfi-féle rizikórendszer szerint a legtöbb beteg magas trombózis rizikójú volt. Legnagyobb arányban a nagyon magas rizikócsoporthoz fordult elő TE esemény, ugyanakkor a trombózis rizikó növekedésével nem emelkedik párhuzamosan a TE események gyakorisága.

Az IPSET-trombózis modellnél az alacsony rizikócsoporthoz 18.8%-ban, a magas rizikócsoporthoz 39.0%-ban fordult elő TE esemény. Az IPSET szerinti közepes rizikójú csoportban a TE események gyakorisága szintén alacsonyabb volt, mint az azt megelőző alacsony kategóriában (5. ábra).

5. ábra A tromboembóliás események előfordulása az IPSET rizikócsoporthoz.

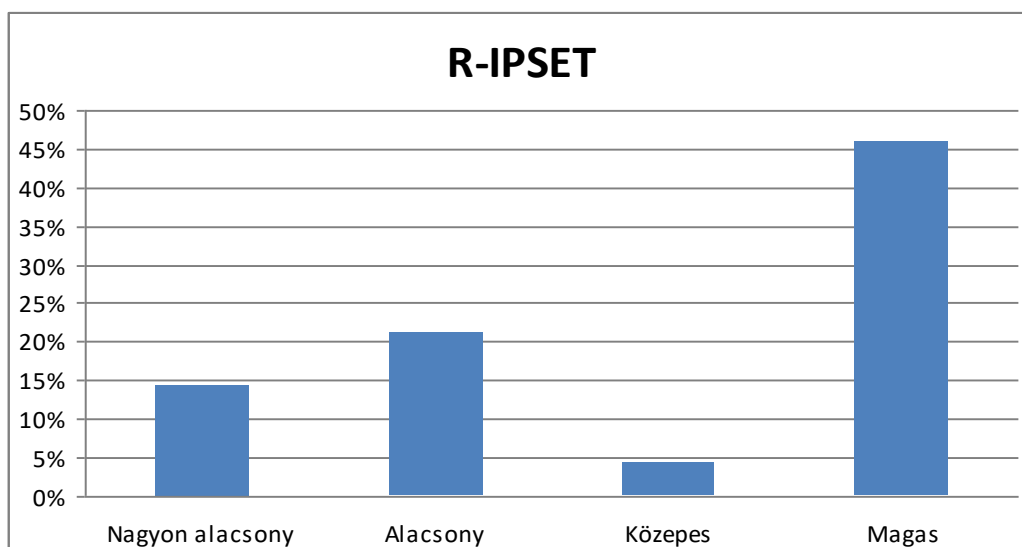


IPSET rizikó	Alacsony N=16	Közepes N=49	Magas N=172
TE esemény, nem, n (%)	13 (81,2)	43 (87,8)	105 (61,0)
TE esemény, igen, n (%)	3 (18,8)	6 (12,2)	67 (39,0)

Az IPSET modell szerint is a legtöbb beteg magas trombózis rizikójú volt. Legnagyobb arányban a magas rizikócsoporthoz fordult elő TE esemény, ugyanakkor a trombózis rizikó növekedésével itt sem emelkedik párhuzamosan a TE események gyakorisága.

Az R-IPSET rizikórendszerrel a nagyon alacsony rizikócsoporthoz 14.3%-ban fordult elő diagnózist követő TE esemény, a magas kategóriában ez az érték 46.0% volt. Az R-IPSET szerinti közepes rizikócsoporthoz is kisebb arányban fordultak elő TE események, mint az azt megelőző nagyon alacsony és alacsony kategóriában (6. ábra).

6. ábra A tromboembóliás események előfordulása az R-IPSET rizikócsoportokban.



R-IPSET rizikó	Nagyon alacsony N=21	Alacsony N=66	Közepes N=24	Magas N=126
TE esemény, nem, n (%)	18 (85,7)	52 (78,8)	23 (95,8)	68 (54,0)
TE esemény, igen, n (%)	3 (14,3)	14 (21,2)	1 (4,2)	58 (46,0)

Az R-IPSET modell által meghatározott négy trombózis rizikó kategóriából legnagyobb arányban a magas rizikó csoportban fordult elő TE esemény, ugyanakkor a trombózis rizikó növekedésével itt sem emelkedik párhuzamosan a TE események gyakorisága. A legtöbb beteg ebben a modellben is magas trombózis rizikójú volt.

A vizsgált modellek közül legnagyobb arányban az R-IPSET szerinti magas rizikó csoportban fordult elő trombotikus esemény a diagnózist követően (46.0%).

Mindhárom rendszerben a legmagasabb rizikó kategóriában fordult elő a legtöbb TE esemény (Landolfi: 44,9%, IPSET: 39,0%, R-IPSET: 46,0%).

Mindhárom modellnél szignifikáns különbséget találtunk a trombózis-mentes túlélésben a legmagasabb és az azt megelőző rizikó csoportok között (Landolfi: $p=0,032$, IPSET: $p<0,001$, R-IPSET: $p<0,001$).

A rizikórendszereket összevetve a legszenzitívebb mutató az IPSET szerinti magas rizikó (88.2%). Ugyanúgy az IPSET rendszerben a legmagasabb a negatív prediktív érték is (83.8%). Specificitás és pozitív prediktív érték tekintetében az R-IPSET modell bizonyult a legjobbnak. A Landolfi rizikórendszer minden paraméterben gyengébbnek mutatkozott a másik két modellhez képest. Összességében az R-IPSET rendszer kiegyensúlyozottabb a többinél, a százalékok összege itt a legmagasabb. Beteganyagunkon ez bizonyult a legerősebb modellnek (9. táblázat).

9. táblázat A Landolfi-, IPSET- és R-IPSET rizikórendszerek megbízhatósága.

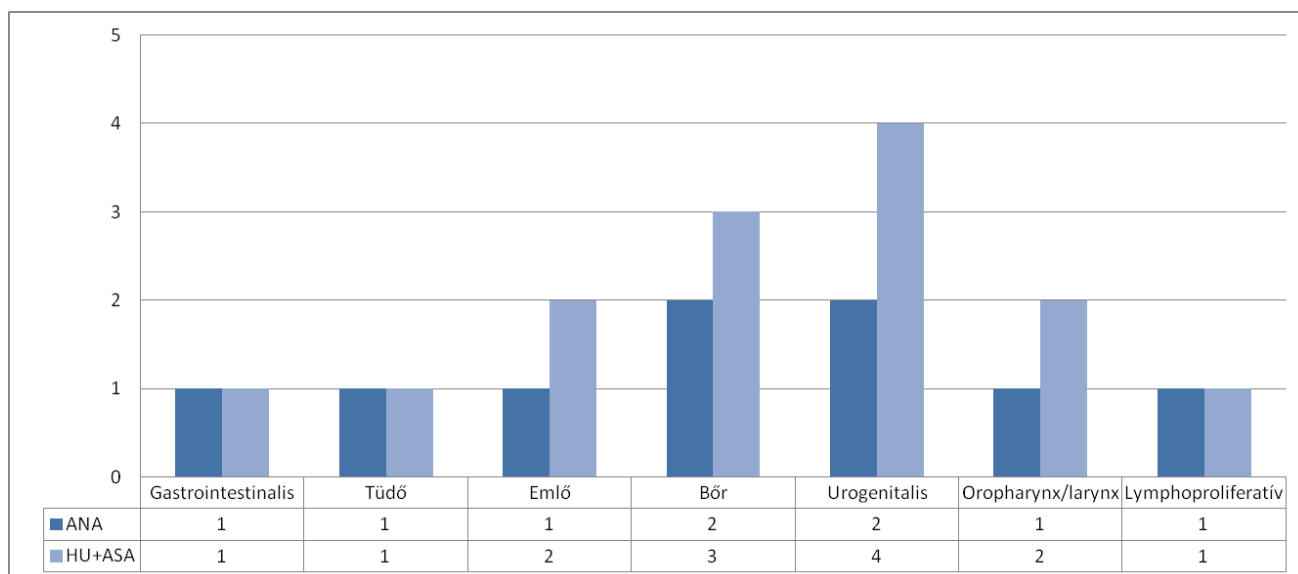
	Landolfi	IPSET	R-IPSET
Szenzitivitás	76,3%	88,2%	76,3%
Specificitás	32,9%	34,8%	57,8%
Pozitív prediktív érték	34,9%	39,0%	46,0%
Negatív prediktív érték	74,6%	86,2%	83,8%

A szenzitivitás, specificitás, pozitív- és negatív prediktív értékek számolása a modellek nagyon magas/magas és a nagyon alacsony/alacsony/közepes rizikók összevetéséből történt.

5.4. Szekunder malignitás

Szekunder malignitás összesen 28 esetben fordult elő. Az anagrelid kezelésben részesültek közül 11 (9,5%) betegnél (mind nő), a hidroxürea+ASA csoportban 17 (14,0%) betegnél (9 nő és 8 férfi) regisztráltunk második malignitást, a különbség nem szignifikáns ($p=0,854$). Az anagrelid és hidroxürea+ASA csoportban gasztrointesztinális daganat 1-1, tüdő karcinóma 1-1, emlő tumor 1-2, bőr karcinóma 2-3, urogenitális tumor 2-4, orofaringeális/laringeális malignitás 1-2, limfoproliferatív megbetegedés 1-1 esetben fordult elő (7. ábra).

7. ábra Szekunder malignitások megjelenése a terápiás csoportokban.



Mindkét kezelési csoportban többféle daganattípusból regisztráltunk az utánkövetés alatt kisebb esetszámokat, de szignifikáns különbséget nem találtunk ($p=0,854$).

Logisztikus regresszió analízissel azt láttuk, hogy egyik beteg karakterisztika sem gyakorolt szignifikáns hatást a szekunder malignitások megjelenésére (10. táblázat). Ugyanakkor az alacsony esetszámok miatt pontos következtetést nem tudtunk levonni.

10. táblázat A szekunder malignitások előfordulását befolyásoló tényezők.

Változók	p	Exp(B): odds ratio	Exp(B): 95% CI
Kezelés (ANA vs. HU+ASA)	0,419	1,411	0,621-3,254
Életkor a diagnóziskor (év)	0,891	0,997	0,956-1,040
Nem (férfi vs. nő)	0,497	0,734	0,302-1,788
JAK2 pozitivitás (igen vs. nem)	0,281	1,701	0,648-4,468
TE esemény a diagnózis előtt (igen vs. nem)	0,381	0,634	0,228-1,758
Utánkövetés/haláláig eltelt idő (év)	0,501	0,970	0,888-1,060

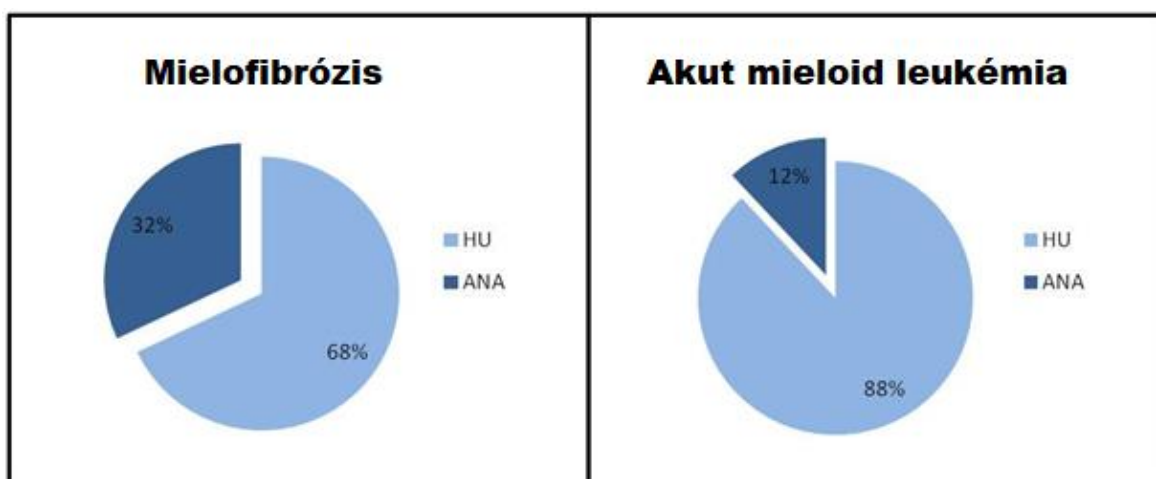
Logisztikus regresszió (többváltozós modell): a függő változó a teljes betegcsoportból ($n=237$) azoknak a betegeknek a száma, akiknek szekunder malignitásuk volt. Társváltozók: kezelés (anagrelid vs. hidroxiurea+acetilszalicilsav), életkor a diagnóziskor (év), nem (férfi vs. nő), JAK2 mutáció pozitivitás (igen vs. nem), TE esemény a diagnózis előtt (igen vs. nem), utánkövetés/haláláig eltelt idő (év).

5.5. Betegség progresszió

Betegségprogressziót összesen 33 betegnél igazoltunk, minden esetben csontvelő vizsgálattal. A 33 betegből 10 (8,6%) kapott anagrelid kezelést és 23 (19%) részesült hidroxürea+ASA terápiában; a különbség szignifikáns ($p=0,024$).

Mielofibrózisba történő progressziót 31 betegnél észleltünk, ebből 10 kapott anagrelid és 21 hidroxürea+ASA kezelést. Direkt AML transzformációt 2 esetben regisztráltunk, mindkét beteg HU+ASA kezelésben részesült. A mielofibrózisba progrediált esetek közül 6 transzformálódott akut mieloid leukémiává, 1 az anagrelid, 5 a hidroxürea+ASA csoportból (8. ábra). A transzformációk fenotípusában nem találtunk szignifikáns különbséget a csoportok között.

8. ábra ET betegség-transzformációk terápiás csoportok szerint.



	AML, n (%)	MF, n (%)	MF-AML, n (%)
ANA	0 (0,0)	10 (32,3)	1 (16,7)
HU+ASA	2 (100,0)	21 (67,7)	5 (83,3)

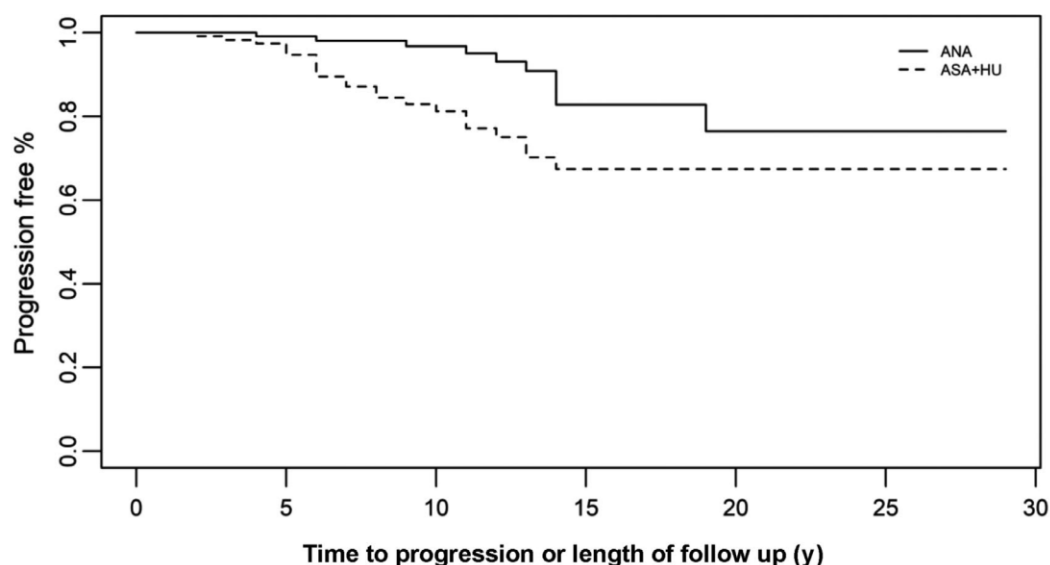
Mind mielofibrózisba, mind akut mieloid leukémiába (direkt vagy MF-AML irányú transzformáció) történő progresszió nagyobb gyakorisággal fordult elő hidroxürea+ASA kezelés mellett ($p=0,024$).

A teljes betegpopulációt tekintve ($n=237$) a medián progresszióig eltelt idő/utánkövetés az anagrelid csoportban ($n=116$) 10 év, a hidroxürea+ASA csoportban ($n=121$) 8 év volt (a tartomány mindkét esetben 1-29 év), a különbség szignifikáns ($p=0,004$).

A progrediált ET betegeknél ($n=33$) a medián progresszióig eltelt idő az anagrelid csoportban 12,5 év (tartomány: 4-19 év, átlag: 11,6 év, standard deviáció (SD): 4,35), a hidroxürea+ASA csoportban 7,0 év (tartomány: 2-14 év, átlag: 7,7 év, standard deviáció (SD): 3,36) volt, a különbség itt is szignifikáns ($p=0,016$).

A progresszió-mentes túlélés (PFS) szignifikánsan hosszabb volt az anagreliddel kezeltéknél, mint a hidroxiurea+ASA csoportban (log-rank teszt: $p=0,004$). A Kaplan-Meier analízis görbéi 5 éves követés után válnak el egymástól és az események 5-13 év között sűrűsödnek (9. ábra).

9. ábra Kaplan-Meier progresszió-mentes túlélés analízis: anagrelid vs. hidroxiurea+ASA.



No. patients							
ANA	116	109	69	34	9	2	2
ASA + HU	121	110	51	21	7	2	2

Treatment	Summary				Median for progression time			
	Total N	No events	Censored		Estimate	Standard error	95% Confidence interval	
			Frequency	%			Lower bound	Upper bound
ANA	116	10	106	91.4	Cannot be calculated			
ASA + HU	121	23	98	81.0				
Overall	237	33	204	86.1				

Ana, Anagrelide; ASA, Aspirin; HU, Hydroxyurea.

Log-Rank test: $P = .004$

A Kaplan-Meier görbék 5 év utánkövetésnél válnak el egymástól és szignifikáns progressziómentes túlélésbeli különbség mutatkozott a két terápiás csoport (anagrelid vs. hidroxiurea+ASA) között ($p=0,004$).

Cox-regresszióval (többváltozós modell) azt találtuk, hogy a betegkarakterisztikák közül egyedül az alkalmazott terápia bírt szignifikáns hatással a progressziómentes túlélésre ($p=0,006$, hazard ratio: 3.091, 95% konfidencia intervallum 1.387-6.886) (11. táblázat).

11. táblázat A progresszió-mentes túlélést befolyásoló tényezők.

Változók	p	Exp(B): hazard ratio	Exp(B): 95% CI
Kezelés (ANA vs. HU+ASA)	0,006	3,091	1,387-6,880
Életkor a diagnóziskor (év)	0,134	1,031	0,991-1,074
Nem (férfi vs. nő)	0,249	1,527	0,743-3,136
JAK2 pozitivitás (igen vs. nem)	0,198	0,618	0,297-1,285
TE esemény a diagnózis előtt (igen vs. nem)	0,055	0,327	0,104-1,023

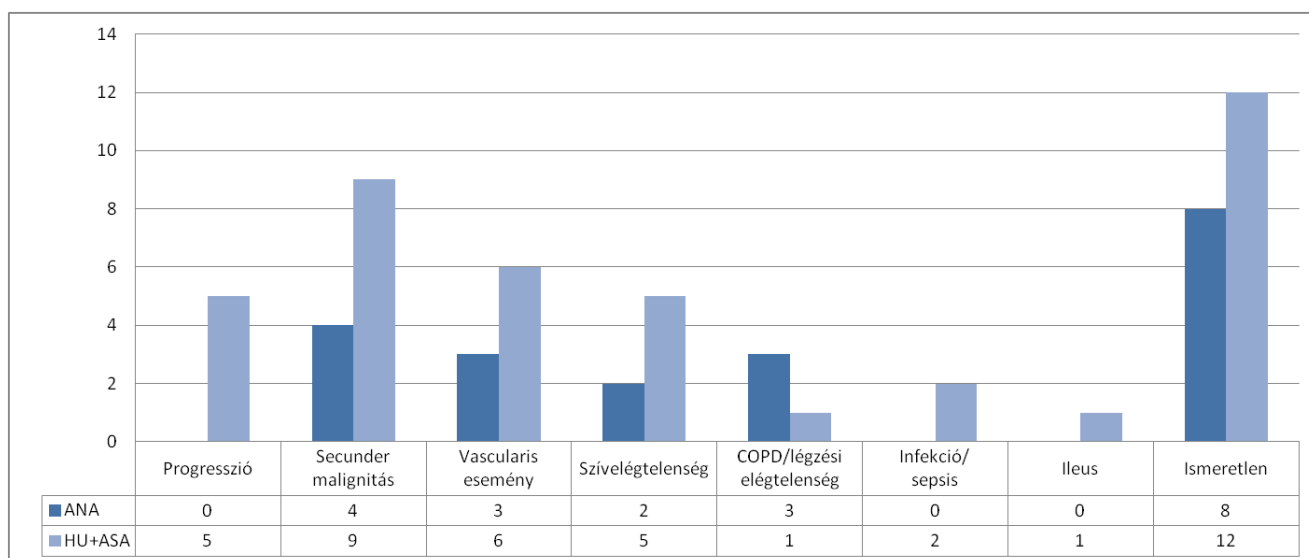
Cox-regresszió (többváltozós modell): a függő változó a progresszióig eltelt idő/utánkövetés hossza (év) ($n=233$).

5.6. Teljes túlélés

Az utánkövetés alatt összesen 61 halálesetet regisztráltunk. Szignifikánsan különbözött a halálesetek előfordulása a két kezelési csoportban, az anagrelid terápiában részesültek közül 20 (17,2%), a hidroxürea+acetilszalicilsav kezelést kapottak közül 41 (33,9%) beteg halt meg ($p=0,005$).

A halálokok közt betegség progresszió, szekunder malignitás, vaszkuláris esemény, szívelégtelenség, COPD/légzési elégtelenség, infekció/szeptis és ileusz szerepelt. A COPD/légzési elégtelenség az anagrelid csoportban volt gyakoribb (3 vs. 1 eset), minden más halál oka a hidroxürea+ASA csoportban fordult elő gyakrabban (10. ábra). 20 esetben a halál oka ismeretlen maradt.

10. ábra A halálokok megoszlása a terápiás csoportokban.



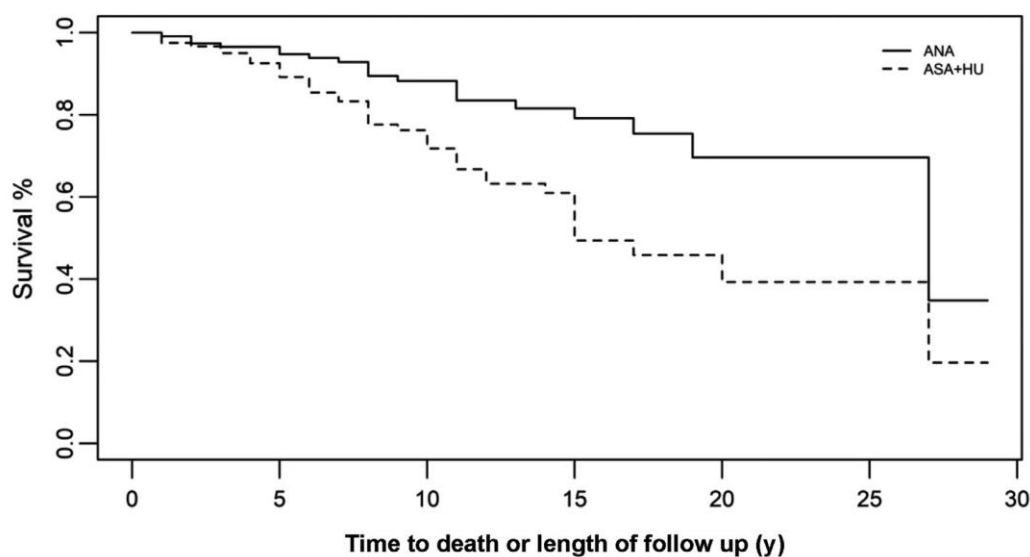
A legtöbb esetben ($n=20$) a halálok nem került meghatározásra. A leggyakoribb ismert halálok a másodlagos malignitás volt ($n=13$). A HU+ASA kezelési csoportban szignifikánsan több haláleset fordult elő, mint az anagrelid csoportban (41 vs. 20; $p=0,005$).

A teljes betegpopulációt tekintve ($n=237$) a medián halálig eltelt idő/utánkövetés 10 év volt az anagrelid és 8 év a hidroxürea+ASA csoportban (a tartomány mindkét esetben 1-29 év), a különbség szignifikáns ($p=0,011$) (6. táblázat).

A 61 halálesetet vizsgálva nem találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,510$) a halálig eltelt medián idő hosszában a két terápiás csoport között (anagrelid csoport: halálig eltelt medián idő: 8 év, tartomány: 1-27 év, átlag: 9,40 év, SD: 6,47; HU+ASA csoport: halálig eltelt medián idő: 8 év, tartomány: 1-27 év, átlag: 8,66 év, SD: 5,49).

A teljes túlélés (OS) szignifikánsan hosszabb volt az anagreliddel kezeltéknél, mint a hidroxiurea+acetilszalicilsav csoportban (log-rank teszt: $p=0,001$). A Kaplan-Meier görbék nagyjából 5 éves követés után válnak el egymástól (11. ábra).

11. ábra Kaplan-Meier túlélés analízis: anagrelid vs. hidroxiurea+acetilszalicilsav.



No. patients							
ANA	116	109	69	34	9	2	2
ASA + HU	121	110	51	21	7	2	2

Treatment	Summary				Median for survival time			
	Total N	No events	Censored		Estimate	Standard error	95% Confidence interval	
			Frequency	%			Lower bound	Upper bound
ANA	116	20	96	82.8	27.000	5.728	15.774	38.226
ASA + HU	121	41	80	66.1	15.000	1.934	11.209	18.791
Overall	237	61	176	74.3	27.000	3.617	19.911	34.089

Ana, Anagrelide; ASA, Aspirin; HU, Hydroxyurea.
Log-Rank test: $P = .001$

A Kaplan-Meier görbék 5 év utánkövetésnél válnak el egymástól és szignifikáns teljes túlélésbeli különbség mutatkozott a két terápiás csoport (anagrelid vs. hidroxiurea+ASA) között ($p=0,001$).

Cox-regresszióval (többváltozós modell) azt találtuk, hogy a betegkarakterisztikák közül az alkalmazott terápia ($p=0,004$), a diagnóziskori életkor ($p<0,001$) és a nem ($p=0,002$) bírt szignifikáns hatással a teljes túlélésre (12. táblázat).

12. táblázat A teljes túlélést befolyásoló tényezők.

Változók	p	Exp(B): hazard ratio	Exp(B): 95% CI
Kezelés (ANA vs. HU+ASA)	0,004	2,333	1,318-4,131
Életkor a diagnóziskor (év)	<0,001	1,127	1,090-1,165
Nem (férfi vs. nő)	0,002	2,387	1,395-4,085
JAK2 pozitivitás (igen vs. nem)	0,548	0,842	0,481-1,474
TE esemény a diagnózis előtt (igen vs. nem)	0,517	1,222	0,666-2,241

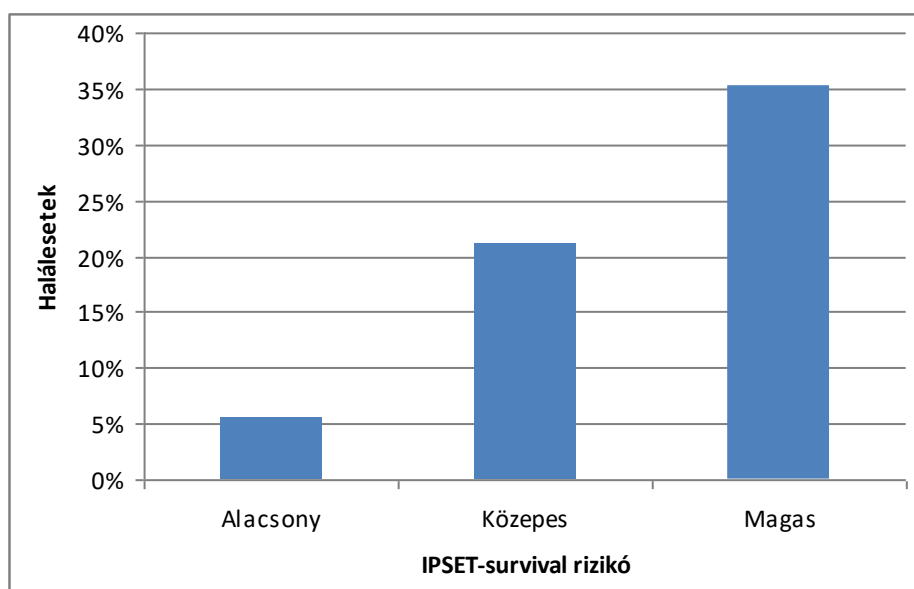
Cox-regresszió (többváltozós modell): a függő változó a halálig eltelt idő/utánkövetés hossza (év) ($n=237$).

5.7. IPSET-survival rizikó

A HUMYPRON regiszter 237 ET betegén az IPSET-survival pontrendszert megvizsgálva határérték különbséget találtunk a két kezelési csoport között ($p=0,059$) (6. táblázat). Az IPSET survival modell szerinti magas rizikójú beteg viszont szignifikánsan gyakrabban fordult elő a hidroxiurea+acetilszalicilsav csoportban (47,1%), mint az anagrelid csoportban (33,6%) ($p=0,034$).

A halálesetek ($n=61$) tekintetében szignifikáns különbséget tapasztaltunk az egyes rizikócsoportok között ($p=0,007$): az IPSET-survival szerinti alacsony rizikócsoportban 5,6%, a közepes rizikócsoportban 21,1%, a magas rizikócsoportban 35,4% volt a halálesetek aránya (12. ábra).

12. ábra A halálesetek aránya az IPSET-survival rizikócsoportok szerint.



IPSET-survival rizikó	Alacsony	Közepes	Magas
Él, n (%)	17 (94,4)	97 (78,9)	62 (64,6)
Nem él, n (%)	1 (5,6)	26 (21,1)	34 (35,4)

Az IPSET-survival modell szerint a legtöbb beteg ($n=123$) közepes rizikójú volt. A rizikó növekedésével párhuzamosan emelkedik a halálesetek gyakorisága és legnagyobb arányban a magas rizikócsoportban fordult elő.

A teljes beteganyagot (n=237) vizsgálva azt találtuk, hogy a medián halálig eltelt idő/utánkövetés az alacsony és a közepes rizikócsoporthoz 10-10 év (alacsony rizikó: tartomány 4-20 év, átlag: 10,3 év, SD: 4,2; közepes rizikó: tartomány: 1-29 év, átlag: 11,1 év, SD: 5,9), míg a magas rizikócsoporthoz 8 év volt (tartomány 1-27 év, átlag: 9,4 év, SD: 5,0), a különbség szignifikáns ($p=0,028$).

A 61 halálesetnél viszont nem találtunk szignifikáns különbséget a rizikócsoporthoz között a halálig eltelt medián idő tekintetében ($p=0,262$). Az alacsony rizikócsoporthoz halálig eltelt medián idő 4 év (1 eset), a közepes rizikócsoporthoz 9,5 év (tartomány 1-20 év, átlag: 9,9 év, SD: 6,1), a magas rizikócsoporthoz pedig 7 év volt (tartomány 1-27 év, átlag: 8,0 év, SD: 5,4).

5.8. CALR mutáció

A 237 ET betegből 45-nél igazolódott CALR mutáció, 27 az anagrelid, 18 a hidroxiurea+acetilszalicilsav kezelési csoportban; a különbség nem szignifikáns ($p=0,135$). A CALR pozitív betegek közt nagyobb arányban fordult elő férfi és alacsonyabb volt a diagnóziskori medián életkor, de ezek a különbségek nem voltak szignifikánsak (13. táblázat). Nem találtunk eltérést a halálesetek és a progresszió gyakoriságában sem a CALR mutáció pozitív és negatív esetek között, viszont szignifikáns különbséget tapasztaltunk a halál- és a progresszióig eltelt időben. A CALR pozitív betegeknek hosszabb volt a progressziómentes- ($p=0,017$) és a teljes túlélése ($p=0,021$). A CALR mutáció negatív betegeknél gyakoribbak voltak a TE események (34,4% vs. 22,2%), de a különbség nem bizonyult szignifikánsnak ($p=0,116$).

13. táblázat CALR mutáció jelenlétének értékelése.

Esemény	CALR mutáció		p
	igen (N=45)	nem (N=192)	
Nem, n (%)			0,232
férfi	18 (40,0)	59 (30,7)	
nő	27 (60,0)	133 (69,3)	
Életkor a diagnóziskor, év			0,651
medián	61	62	
minimum-maximum	27-81	25-92	
átlag +/- SD	60,1 +/- 13,5	61,1 +/- 13,5	
Halál, n (%)			0,549
igen	10 (22,2)	51 (26,6)	
nem	35 (77,8)	141 (73,4)	
Utánkövetés/halál-ig eltelt idő, év			0,021
medián	11	8	
minimum-maximum	1-27	1-27	
átlag +/- SD	11 +/- 6,8	8,5 +/- 5,5	
Progresszió, n (%)			0,899
igen	6 (13,3)	27 (14,1)	
nem	39 (86,7)	165 (85,9)	
Utánkövetés/progresszióig eltelt idő, év			0,017
medián	13	7	
minimum-maximum	6-14	2-14	
átlag +/- SD	11,5 +/- 3,3	7,4 +/- 3,5	
TE esemény, n (%)			0,116
igen	10 (22,2)	66 (34,4)	
nem	35 (77,8)	126 (65,6)	

A CALR mutáció pozitív esetek (n=45) szignifikánsan hosszabb progressziómentes- ($p=0,017$) és teljes túléléssel ($p=0,021$) bírtak a CALR mutáció negatív esetekhez képest; más paraméterben nem találtunk különbséget.

5.9. A lipokalin-2 szerepének vizsgálata a trombotikus eseményekben

74 beteg (37 PV és 37 ET) adatainak elemzésére volt lehetőségünk. 35 esetben találtunk pozitív tromboembóliás anamnézist. A PV betegek 100%-ában, az ET betegek 51%-ában volt kimutatható JAK2-V617F mutáció.

Az ET betegek között az átlagos relatív LCN2 génexpresszió 15.33 volt (tartomány: 0.47-109.14), míg PV betegeknél ez az érték 24.87-nek bizonyult (tartomány: 7.38-419), a különbség nem szignifikáns. Hasonlóképpen a JAK2 pozitív és negatív betegek összehasonlításakor sem mutatkozott szignifikáns különbség a relatív LCN2 génexpressziós szintek tekintetében.

Ugyanakkor szignifikáns különbséget találtunk a korábban trombózison átesett és át nem esett betegek eredményeit összehasonlítva. A relatív LCN2 génexpressziós szintjének cut-off értékét 30-nak választva az esélyhányados 4,487-nek mutatkozott. Az általunk vizsgált betegkarakterisztikákat elemezve a két csoport között egyedül a relatív LCN2 génexpressziós szintjében volt szignifikáns különbség (14. táblázat).

14. táblázat A lipokalin-2 alvizsgálat során vizsgált 74 MPN betegnél előforduló TE eseményeket befolyásoló tényezők.

	TE esemény igen (n=35)	TE esemény nem (n=39)	p
Nem, férfi/nő (%/%)	17/18 (49/51)	18/21 (46/54)	0,816
Életkor, medián, év (range)	71 (39-84)	70 (22-86)	0,689
Diagnózis, ET/PV (%/%)	16/19 (45/55)	21/18 (53/47)	0,486
JAK2 V617F pozitív (%)	25 (71)	31 (79)	0,283
LCN2 rel.expr. medián (range)	3,3 (0,5-8235)	4,3 (0,4-4682)	0,245
LCN2 rel.expr. >30 (%)	10 (28)	3 (8)	0,019
Családi TE anamnézis poz, n (%)	8 (22)	5 (13)	0,369
WBC, átlag, 10 ⁹ /L (range)	7,1 (7-24)	8,0 (4-20)	0,08
Hb, átlag, g/L (range)	142 (100-171)	139 (101-170)	0,095
PLT, átlag, 10 ⁹ /L (range)	375 (205-1051)	372 (135-650)	0,634
BMI, átlag, kg/m ² (range)	26 (21-34)	28 (20-38)	0,08
CRP, átlag, mg/L (range)	6,9 (0,1-12)	5,8 (0,2-13)	0,219
Diszlipidémia, n (%)	11 (31)	14 (37)	0,628
Hipertónia, n (%)	22 (61)	19 (49)	0,360
Diabétesz mellitusz, n (%)	8 (22)	8 (20)	1,0
Hidroxiurea kezelés, n (%)	25 (71)	25 (64)	0,821
Anagrelid kezelés, n (%)	10 (28)	12 (31)	NA
JAK2 gátló kezelés, n (%)	1 (3)	1 (2)	NA

Egyváltozós vizsgálat: a 74 MPN beteget (37 PV és 37 ET) vizsgálva egyedül a relatív LCN2 génexpresszió bírt szignifikáns hatással a későbbi TE eseményekre ($p=0,019$).

A 30 alatti (n=61) és 30 feletti (n=13) relatív génexpressziót mutató csoportok a vizsgált paraméterek szempontjából kiegyensúlyozottnak bizonyultak. Nem találtunk különbséget a nem, az életkor, a diagnózis, a JAK2 státusz, a családi TE anamnézis, laborparaméterek, általános vaszkuláris rizikófaktorok és az alkalmazott terápia vonatkozásában sem (15. táblázat).

15. táblázat Az alacsony (<30) és a magas (>30) relatív LCN2 génexpresszióval bíró betegek karakterisztikái.

	LCN2 rel.expr. <30 (n=61)	LCN2 rel.expr. >30 (n=13)	p
Nem, férfi/nő (%/%)	27/34 (44/56)	8/5 (62/36)	0,361
Életkor, medián, év (range)	70 (22-86)	71 (39-84)	0,932
Diagnózis, ET/PV (%/%)	30/31 (49/51)	7/6 (54/46)	1,0
JAK2 V617F pozitív (%)	48 (79)	8 (62)	0,283
Családi TE anamnézis poz, n (%)	12 (20)	1 (8)	0,442
WBC, átlag, 10 ⁹ /L (range)	7,4 (4-22,1)	8,1 (3,8-23,6)	0,717
Hb, átlag, g/L (range)	140 (101-171)	136 (100-170)	0,099
PLT, átlag, 10 ⁹ /L (range)	378 (135-785)	368 (146-1051)	0,570
BMI, átlag, kg/m ² (range)	26,1 (19,7-41,5)	28 (22-38)	0,151
CRP, átlag, mg/L (range)	6,9 (0,1-13)	4,5 (0,2-12)	0,201
Diszlipidémia, n (%)	19 (31)	6 (46)	0,342
Hipertónia, n (%)	32 (53)	9 (69)	0,362
Diabétesz mellitusz, n (%)	15 (25)	1 (8)	0,275
Hidroxiurea kezelés, n (%)	44 (72)	7 (54)	0,259
Anagrelid kezelés, n (%)	15 (25)	6 (46)	NA
JAK2 gátló kezelés, n (%)	2 (3)	0 (0)	NA

Egyváltozós vizsgálat: az alacsony (<30, n=61) és a magas (>30, n=13) relatív LCN2 génexpressziós csoportok kiegyensúlyozottak voltak, egyik vizsgált paraméterben sem találtunk szignifikáns különbséget.

A 30 feletti LCN2 relatív génexpressziót mutató betegek csoportját vizsgálva azt találtuk, hogy az ide tartozó 7 ET betegből 4-nek, a 6 PV betegből pedig mindnek volt tromboembóliás eseménye.

A többváltozós analízis szerint a 30 fölötti LCN2 érték a trombotikus események független és szignifikáns rizikófaktora (p=0.015, OR: 11.83, 16. táblázat).

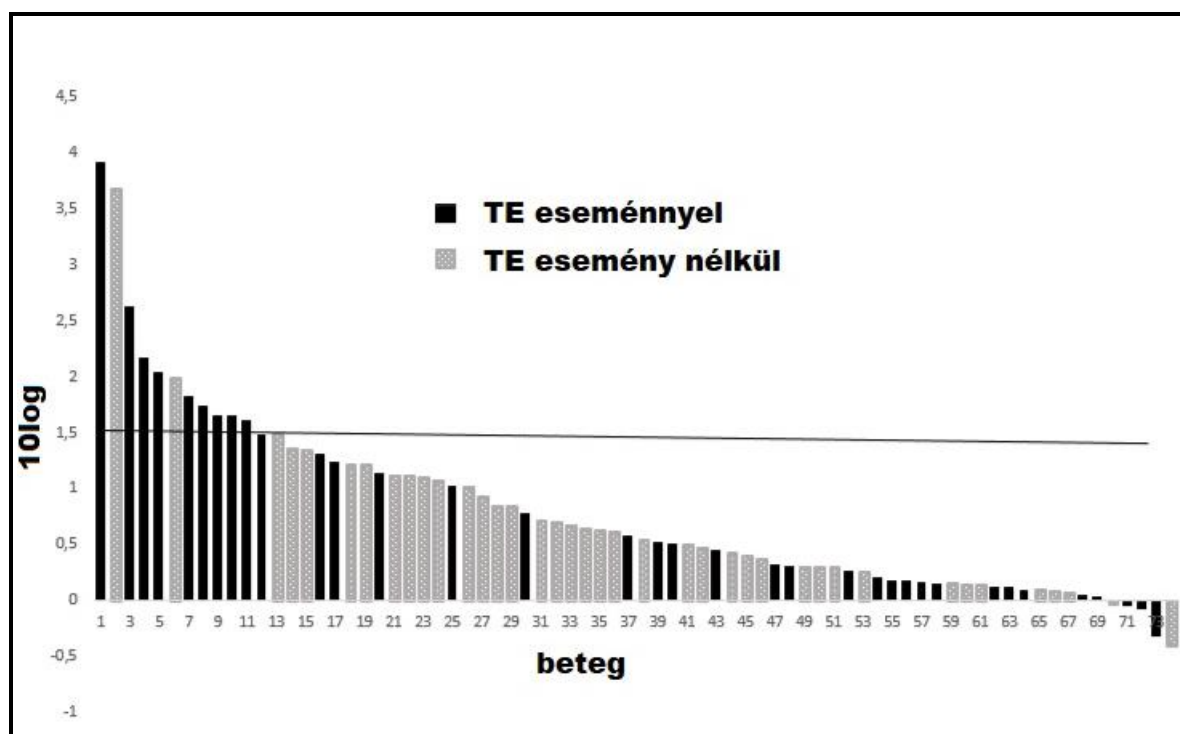
16. táblázat A relatív LCN2 génexpresszió, valamint egyéb klinikai és laboratóriumi paraméterek hatásának vizsgálata a trombotikus eseményekre.

	B	S.E.	Wald	df	p	OR	95% CI for OR	
							Lower	Upper
Életkor	0,021	0,026	0,684	1	0,408	1,021	0,971	1,074
Diagnózis	1,625	0,764	4,525	1	0,233	1,080	0,998	1,136
Nem	0,022	0,608	0,001	1	0,971	1,022	0,311	3,365
JAK2 V617F	-1,311	0,872	2,262	1	0,133	0,270	0,049	1,488
LCN2 30 cut-off	2,471	1,017	5,905	1	0,015	11,839	1,613	86,89
WBC	0,028	0,843	0,001	1	0,974	1,028	0,197	5,369
PLT	0,02	0,02	1,055	1	0,304	1,002	0,998	1,007
BMI	-0,981	0,554	3,139	1	0,076	0,375	0,127	1,11
CRP	0,118	0,085	1,914	1	0,166	1,125	0,952	1,328
Diszlipidémia	-0,054	0,634	0,007	1	0,932	0,947	0,274	3,28
Hipertónia	0,937	0,656	2,042	1	0,153	2,553	0,706	9,235
Diabétesz mellitusz	0,303	0,737	0,169	1	0,681	1,354	0,319	5,745

Logisztikus regresszió (többváltozós modell): a magas (>30) relatív LCN2 génexpressziós szint a trombotikus események független rizikófaktora ($p=0,015$, OR: 11,839).

Pozitív prediktív értéke a tromboembóliás komplikációkra nézve 77%. Az alacsony (<30) LCN2 relatív génexpressziós szintet mutató betegek körében (n=61) 25-nél regisztráltunk megelőző TE eseményt. Ennek alapján a 30 alatti LCN2 relatív génexpressziós szint negatív prediktív értéke 59% (13. ábra).

13. ábra A lipokalin-2 alvizsgálat során analizált betegek relatív LCN2 génexpressziós szintjei.



A relatív LCN2 génexpressziós szintek logaritmikus skálán vannak feltüntetve. A 30 feletti relatív LCN2 génexpressziós esetek (n=13) 77%-ában regisztráltunk trombózist, a 30 alatti relatív LCN2 génexpressziós eseteknél (n=61) mindössze 41%-ban.

6. Megbeszélés

Az esszenciális trombocitémia medián túlélése a teljes betegpopulációt nézve 20 év, a fiatalabb (<60 év) betegek körében 33 év [8]. A betegek morbiditását elsősorban a trombotikus és vérzéses események határozzák meg [46]. Mivel az ET prognózisa jó, ma a kezelés lényege ezeknek a szövődményeknek a megelőzése úgy, hogy az alkalmazott terápiával ne rontsunk a kórkép kimenetelén.

Bebizonyították, hogy már 6 hónapos anagrelid kezelés hatékony a trombocita szám redukciójában és szignifikánsan csökkenti a minor- és major trombotikus események számát [139]. Az ANAHYDRET study 36 hónap medián utánkövetéssel nem igazolt különbséget az anagrelidet és a hidroxüüreát kapott ET betegek között sem a major- és minor artériás, sem a vénás, sem pedig a vérzéses eseményekben [111]. Ezzel szemben a Primary Trombocitémia 1 (PT-1) vizsgálat azt találta, hogy 39 hónap medián utánkövetéssel az artériás trombózisok és a súlyos vérzéses események szignifikánsan gyakrabban fordultak elő az anagrelid+acetilszalicilsav, mint a hidroxüurea+acetilszalicilsav csoportban [112]. A vérzéses események nagyobb aránya az anagrelid+ASA terápia mellett a foszfodiészteráz- és a ciklooxygenáz enzimek együttes gátlásának, így a két hatóanyag szinergizmusának tulajdonítható [78,107]. A két vizsgálat metaanalízise azt a következtetést hozta, hogy a trombotikus események hasonló gyakorisággal fordultak elő az anagrelid és a hidroxüurea csoportban, ugyanakkor a major vérzéses komplikációk ritkábbak voltak hidroxüurea mellett [113].

Vizsgálatunk során egy országos regiszter adatait dolgoztuk fel retrospektív (részben prospektív) módon és fentiekhez képest előnye a lényegesen hosszabb időtartamú adatrögzítés. 120 hónap medián utánkövetéssel a HUMYPRON regiszter ET betegeit vizsgálva arra jutottunk, hogy az anagrelidet kapott betegek közt marginálisan kevesebb tromboembóliás esemény fordult elő, mint a hidroxüurea+acetilszalicilsav csoportban (30 vs. 46; $p=0,052$). Ez a különbség az anagrelid csoportban észlelt szignifikánsan kevesebb minor artériás eseménynek tulajdonítható (8 vs. 36; $p<0,001$). A major artériás szövődmények közt határérték különbség mutatkozott, ebből a típusú TE eseményből a hidroxüurea+ASA csoportban fordult elő kevesebb (15 vs. 12; $p=0,049$). Az anagrelid csoportban részben az acetilszalicilsav hiánya magyarázhatja a major artériás komplikációk nagyobb számát, de a vérzéses események alacsony arányát is. Vizsgálatunk tehát arra utal, hogy az anagrelidnek egy folytonos, szignifikáns effektusa van a minor artériás eseményekre, míg a major artériás és a vérzéses

események tekintetében a 10 év utánkövetés alatt nem különbözött számottevően a hidroxürea+acetilszalicilsav kezeléstől.

Eredményeink összhangban vannak más tanulmányokkal, miszerint a megelőző trombózis a később elszenvedett TE események legfőbb rizikófaktor [140]. Ezzel szemben, míg más publikációk a 60 év feletti életkort és a JAK2^{V617F} mutáció jelenlétét az artériás-, a férfi nemet pedig a vénás trombozishoz rizikófaktoraként azonosították [45], kutatásunkban ezek a tényezők nem mutattak összefüggést az ET diagnózisát követő tromboembóliák előfordulásával. A HUMYPRON regiszter ET betegein potenciális trombotikus rizikófaktorokat vizsgálva egyedül a diagnózist megelőző trombózis állt szignifikáns összefüggésben a diagnózist követő trombotikus szövődményekkel ($p < 0,001$). A diagnózist megelőző TE események független és erősen szignifikáns hatása a diagnózist követő trombózisokra ezeknél a betegeknél egy protrombotikus fenomén meglétére utal. Az utóbbi évek kutatásaiból kiderült, hogy a számos hematológiai malignitást megelőző klonális hemopoézis (CHIP - clonal haematopoiesis of indeterminate potential) egy független, vaszkuláris eseményekre hajlamosító tényező [141,142]. Az irodalomból ismert adat, hogy a CHIP betegeket a klonális vérképzés során észlelt non-driver mutációk (ASXL1, TET2, DNMT) hajlamosíthatják vaszkuláris eseményekre [143-145]. A TE események időbeli lefolyását tekintve felmerül, hogy a diagnózist megelőző TE események egy része még CHIP fázisban történt (3. ábra). Adataink alapján felvetjük, hogy az ET betegeken észlelt TE események tulajdonképpen nem az ET, hanem a CHIP attribútumai. A klonális vérképzés által képződött neutrofil granulociták/monociták LCN2 (lipokalin-2) és MMP9 (mátrix metalloproteináz-9) termelése és következményes endotél károsítása vezethet a fokozott trombózis hajlamhoz [68, 146]. A neutrofil granulociták által termelt LCN2 kisméretű, hidrofób molekulák szállításában betöltött szerepe már régóta ismert [147]. Az utóbbi évek kutatásai rávilágítottak, hogy számos biológiai folyamatban részt vesz, szerepet játszik a sejtmetabolizmusban, gyulladásos reakciókban, immunfolyamatokban [148,149]. Daganatos megbetegedésekben, gyulladásos folyamatokban, máj-, vese- és koronáriabetegségekben plazmaszintje megemelkedik, mintegy biokémiai markerként funkcionálva [150-152]. Lipokalin-2-vel kezelt állatokban endotél diszfunkciót észleltek, melynek hátterében oxidatív stressz és az eNOS/NO útvonal gátlása állt [153]. Ennek egy lehetséges magyarázata, hogy a lipokalin szállítófehérjeként befolyással bírhat az endotél poliamin-homeosztázisára, és ezáltal a nitrogén-oxid bioszintézisére.

Egy alvizsgálatban 74 PV és ET beteg adatait vizsgálva azt láttuk, hogy a magasabb relatív LCN2 génexpresszió szignifikánsan korrelál a trombotikus események előfordulásával.

Ugyanakkor fontos hangsúlyozni, hogy ezzel kapcsolatos eredményeink pusztán leíró jellegűek, a 30-as cut-off értéket önkényesen határoztuk meg. Pontosabb következtetést nagyobb esetszám vizsgálatával és a fiziológiás LNC2 génexpresszió ismeretében lehetne tenni.

A trombózis rizikórendszerek segítséget nyújtanak a betegek rizikó besorolásában és az optimális terápia megválasztásában. Az ET betegek trombózis rizikóbecsléséhez az életkort, a trombotikus anamnézist, a JAK2/MPL mutációs státuszt és az általános kardiovaszkuláris rizikófaktorokat veszik alapul [74-76]. A Landolfi-, IPSET-, és R-IPSET modelleket vizsgálva mindhárom esetben szignifikáns különbséget találtunk a trombózis-mentes túlélésben a magas és az alacsonyabb rizikócsoporthoz között. Ugyanakkor mindegyik modell közepes rizikó kategóriájában kisebb volt a trombotikus események gyakorisága, mint az alacsony rizikójú csoportban. Beteganyagunkon a legerősebb modellnek az R-IPSET bizonyult. A Landolfi-rendszer volt a legkevésbé használható - hátránya a többi rizikórendszerhez képest, hogy a betegek kikérdezésén alapuló kevésbé objektív paramétereket is tartalmaz (pl. dohányzás).

Az irodalomban leírt és a saját eredményeink közti eltérések hátterében betegszelekciós, terápiás különbségek és a TE események eltérő definíciója állhat.

Landolfi rizikórendszerét ET és PV betegekre egyaránt alkalmazta. Az IPSET-trombózis rizikómodell megalkotásánál az akkor hatályos, 2008-as WHO szerint definiált ET betegeket vonták be a vizsgálatba és minden esetben csontvelő revíziót végeztek. Az R-IPSET modellt 2018-ban publikálták és a legújabb, 2016-os WHO ajánlásnak megfelelően minden esetben csontvelő vizsgálattal erősítették meg a diagnózist. Vizsgálatunkba a 2008-as WHO diagnosztikai kritériumok szerint választottuk be a betegeket, amely csak bizonyos esetekben ír elő csontvelő vizsgálatot (anémia, makrocitózis, leukopénia vagy extramedulláris hemopoézis gyanújelei). Mivel a betegek 14 különböző centrumból származtak és revíziót nem végeztünk, így fennáll a lehetősége, hogy a fentiektől némileg eltérő betegpopulációt vizsgáltunk.

Ugyancsak felmerül, hogy a hazai terápiás gyakorlat eltér attól, amelyet a trombózis rizikómodellek validálásánál alkalmaztak. Ennek egy példája, hogy az R-IPSET által másodvonalban ajánlott buszulfán itthon egyáltalán nem terjedt el.

Vizsgálatunkban a TE eseményeket Gisslinger szerint [111] definiáltuk, a major- és minor artériás, valamint a major vénás trombotikus szövődményeket vettük figyelembe. Ezzel szemben a Landolfi-, IPSET- és R-IPSET modelleknél eltérő besorolás szerint csak a major

vaszkuláris trombózisokat használták, de ideértették a TIA-t is (az általunk alkalmazott besorolás szerint ez minor eseménynek minősül). Mivel a TE események meghatározása nem egyértelmű, fennáll a lehetősége, hogy olyan trombotikus szövődményeket is számításba vettünk, melyeket a rizikómodellek megalkotásánál figyelmen kívül hagytak.

Egy tanulmány az ET kezelésének hosszútávú komplikációit vizsgálva számos daganattípus tekintetében talált kisebb esetszámokat [154]. Vizsgálatunkban az utánkövetés alatt gasztrointesztinális-, pulmonális-, urogenitális-, emlő-, bőr-, laringeális-, orofaringeális- és limfoproliferatív malignitásokat regisztráltunk. A hidroxiurea+acetilszalicilsav csoportban nagyobb gyakorisággal fordult elő másodlagos malignitás, mint az anagreliddel kezelték között, bár ez az összefüggés nem volt szignifikáns 10 év távlatából ($p=0,419$).

A hidroxiurea+acetilszalicilsav csoportban hamarabb és 2x gyakrabban észleltünk betegség progressziót, mint az anagrelid csoportban. Ez elsősorban mielofibrózisba történő transzformációt jelent, direkt akut mieloid leukémia irányú progressziót mindössze 2 esetben regisztráltunk, mindkettőt hidroxiurea+ASA terápia mellett. Érdekes adat, hogy a szekunder transzformációk (MF-AML) 5x gyakrabban fordultak elő a hidroxiurea+ASA csoportban. Az anagreliddel kezelt betegek progressziómentes túlélése szignifikánsan hosszabb volt, mint azoké, akik hidroxiurea+acetilszalicilsav kezelést kaptak ($p=0,004$). Ez a különbség nagyjából 5 év után jelentkezett (9. ábra).

Ezzel szemben, a PT-1 tanulmány azt találta, hogy az anagrelid+acetilszalicilsav terápiában részesülő betegeknél szignifikánsan nagyobb arányban fordul elő mielofibrózisba történő transzformáció, mint azoknál, akiket hidroxiurea+acetilszalicilsavval kezeltek [112]. Más tanulmányok, melyek anagreliddel kezelt ET betegeket követtek nyomon, egyáltalán nem írtak le mielofibrózisba, mielodiszplázias szindrómába vagy akut mieloid leukémiába történő transzformációt [111,154,155]. A hidroxiurea egy DNS anyagcserét befolyásoló citosztatikum, ennél fogva potenciálisan leukemogén [84,156,157]. Egy ezt vizsgáló tanulmány szerint a hidroxiurea expozíció és az AML/MDS rizikója közötti kapcsolat a betegcsoportok közötti különbségeknek volt betudható, de nem tudta teljes bizonyossággal kizárni a hidroxiurea leukemogén hatását [158].

Következtetéseinket limitálja, hogy a terápiás csoportok az életkor tekintetében nem voltak kiegyensúlyozottak, emellett lehettek olyan ismeretlen faktorok is – mint más génmutációk –, melyeknek az AML/MDS kialakulására kifejtett esetleges hatását nem tudtuk figyelembe venni.

A 10 évet meghaladó utánkövetési idejű tanulmányok szerint az ET betegek rövidebb életkilátásokkal bírnak a teljes populációhoz képest [159]. Az életkor és a nem prognosztikai faktorként szolgálnak, a diagnóziskori magasabb életkor, valamint a férfi nem rontja a túlélési esélyeket [159,160]. Vizsgálatunk a fentiekkel összhangban szignifikáns összefüggést talált az életkor, a nem és a túlélés között.

Ismert, hogy a CALR mutáció pozitív esetek jobb prognózissal bírnak [25]. Egy közel 13 éves medián utánkövetésű tanulmány azt találta, hogy a CALR pozitív esetek körében a fiatalabb életkor jellemző, gyakoribb a férfi nem és ritkábban fordul elő recidív TE esemény [161]. Eredményeink a fentiekkel összhangban állnak, bár a különbségek nem voltak szignifikánsak. Ugyanakkor szignifikáns különbséget tapasztaltunk a progressziómentes- ($p=0,017$) és a teljes túlélés ($p=0,021$) tekintetében a CALR mutáció pozitív és negatív esetek között (13. táblázat). Az anagreliddel kezelték közt nagyobb gyakorisággal találtunk CALR mutációt, mint a hidroxürea+acetilszalicilsav csoportban, de a különbség nem volt szignifikáns (23% vs. 15%, $p=0,135$).

Az IPSET-survival pontrendszer az életkort, a trombotikus előzményt és fehérvérsejt számot veszi figyelembe [71]. Beteganyagunkon jól használhatónak bizonyult, szignifikáns túlélésbeli különbséget találtunk a rizikócsoportok között ($p=0,007$).

Az anagreliddel kezelték csoportjában fele annyi halálesetet és hosszabb túlélést észleltünk a hidroxürea+acetilszalicilsav csoporthoz képest, mely eltérés nagyjából 5 év kezelés után mutatkozott meg ($p=0,001$) (11. ábra). Az anagrelid terápiában részesülők életkora alacsonyabb volt a diagnózis idején, ami önmagában is túlélési előnyt jelent, továbbá az IPSET-survival rizikóbecslés is arra utal, hogy a hidroxürea+acetilszalicilsav csoport betegei rosszabb prognózisúak. Mindemellett az alkalmazott terápia szignifikánsnak bizonyult a túlélés szempontjából (6. táblázat).

Vizsgálatunk erőssége, hogy a HUMYPRON adatbázis, mint az MPN betegek országos regisztere, „real life” adatokkal lehetővé teszi a betegek sorsának hosszú távú nyomonkövetését. Az értékelhetőségét korlátozza, hogy az adatbázisban rögzített adatokkal voltunk kénytelenek dolgozni, annak hiányosságaival együtt. Számolni kell a kezelésekkal, szövődeményekkel és rizikófaktorkkal kapcsolatos esetleges félreértésekkel a betegek és a klinikusok között, valamint téves riportálások is előfordulhattak.

A kezelés a szerint a klinikai gyakorlat szerint történt, hogy egy adott terápiát különböző prognózisú betegek is kaptak. Nincs arra vonatkozó információnk, hogy a

különböző hematológiai centrumok klinikusai milyen megítélés alapján választották az adott terápiát. Megítélésünk szerint a kezelés nem minden esetben a nemzetközi standardnak megfelelően történt. A betegség kimenetelét a korábban kapott kezelések és más, egyidejűleg kapott gyógyszerek, illetve egyéb ismeretlen faktorok is befolyásolhatták, melyek szerepét nem tudtuk figyelembe venni. Az anagrelid és acetilszalicilsav együttes adását a vérzéses komplikációk fokozott veszélye miatt minden esetben kerültük. A profilaxisként vagy a kezelés részeként kapott antikoaguláns terápia megtévesztő lehet a lehetséges szövődmények befolyásolása által, ugyanakkor az antikoaguláns és egyéb trombocita aggregáció gátló kezelésekről nem rendelkezünk információval. Hibalehetőség adódik abból is, hogy a minor artériás eseményeket nehezebb definiálni, mint a major artériás komplikációkat. Figyelembe kell venni azt is, hogy vizsgálatunkban az anagrelid kezelésben részesült betegek fiatalabbak és jobb prognózisúak voltak (6. táblázat).

A jelenlegi ET kezelési irányelvek a betegeket trombotikus kockázat szerint rizikócsoporthoz sorolják. A közepes- és magas rizikócsoporthoz tartozók esetében hidroxiurea+acetilszalicilsav az elsőként választandó terápia [22,30,74]. Anagrelidet gyakran csak más terápiás lehetőségek kudarca esetén javasolnak, azokat a megfigyeléseket alapul véve, melyek trombotikus szövődményeket, vérzéses komplikációkat és fibrotikus progressziót társítanak hozzá [112].

Vizsgálatunkban a medián 10 éves utánkövetési idő alatt azt tapasztaltuk, hogy az anagrelid terápiában részesültek csoportjában a minor artériás események előfordulása csökkent, míg a major artériás események gyakorisága kis fokban emelkedett a hidroxiurea+ASA kezeléshez képest. Lényeges, hogy ez alatt az idő alatt hosszabb progressziómentes- és teljes túlélést tapasztaltunk az anagrelid terápia mellett, mint a hidroxiurea+ASA csoportban.

Eredményeinket a fent részletezett limitációkkal együttesen kell értékelni, mindemellett azonban azt a következtetést hoztuk, hogy az ET betegek rizikóadaptált kezeléséhez az R-IPSET modell használatát javasoljuk, ugyanakkor az ahhoz kapcsolt terápiás útmutatással ellentétben hidroxiurea+acetilszalicilsav helyett anagrelid alkalmazását ajánljuk.

7. Összefoglalás, új eredmények

Az esszenciális trombocitémia a Philadelphia-negatív mieloproliferatív neopláziák közé tartozó klonális őssejtbetegség, melyre csontvelői megakariocitózis és emelkedett trombocita szám jellemző. A betegek morbiditását elsősorban a trombotikus és vérzéses események határozzák meg. Mivel az ET prognózisa jó, ma a kezelés lényege ezeknek a szövődményeknek a megelőzése úgy, hogy az alkalmazott terápiával ne rontsunk a kórkép kimenetelén.

A HUMYPRON (Hungarian Myeloproliferative Neoplasm Working Group) regiszter felhasználásával, 10 éves medián utánkövetéssel 237 ET beteget vizsgálva az alábbi következtetésekre jutottunk:

1. Trombotikus és vérzéses szövődményekkel kapcsolatos összefüggések:

- az ET diagnózist követő trombotikus szövődményekkel egyedül a diagnózist megelőző trombotikus események előfordulása állt szignifikáns összefüggésben;
- a lipokalin-2 relatív génexpresszió szignifikáns összefüggésben állt a diagnózist megelőző vagy azt követő trombotikus események előfordulásával;
- a trombózis rizikórendszerek (Landolfi-, IPSET-, R-IPSET-) közül az R-IPSET modell bizonyult a legjobban használhatónak;
- az anagrelid kezelést kapott betegek körében a minor artériás események előfordulása szignifikánsan csökkent, míg a major artériás események gyakorisága kis fokban emelkedett a hidroxiurea+acetilszalicilsav kezeléshez képest; a hemorrágiás szövődmények tekintetében nem volt különbség a két kezelés között.

2. Betegség progresszióval és szekunder malignitással kapcsolatos összefüggések:

- egyedül az alkalmazott kezelés bírt szignifikáns hatással a betegség progressziójára;
- a hidroxiurea+acetilszalicilsav csoportban hamarabb és 2x gyakrabban észleltünk betegség progressziót (MF, AML), mint az anagrelid csoportban; az anagreliddel kezelt betegek progressziómentes túlélése szignifikánsan hosszabb volt, mint azoké, akik hidroxiurea+acetilszalicilsav terápiában részesültek;
- az utánkövetés alatt számos daganattípus tekintetében találtunk kisebb esetszámokat; a hidroxiurea+acetilszalicilsav csoportban nagyobb gyakorisággal fordult elő másodlagos

malignitás, mint az anagreliddel kezelték között, de ez az összefüggés nem volt szignifikáns.

3. Teljes túléléssel kapcsolatos összefüggések:

- az előrehaladott életkor és a férfi nem rossz prognózist jelentett a túlélés szempontjából;
- az IPSET-survival modell jól használhatónak bizonyult, szignifikáns túlélésbeli különbséget találtunk a rizikócsoporthoz között;
- az anagreliddel kezelték csoportjában fele annyi halálesetet és hosszabb túlélést észleltünk a hidroxürea+acetilszalicilsav csoporthoz képest.

8. Summary, new results

Essential trombocitémia is one of the Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. This clonal stem cell disease is characterised by megakariocitózis of the bone marrow and elevated platelet count. Patient morbidity and mortality is primarily determined by thrombotic and bleeding episodes. Since ET itself has a favorable prognosis, the aim of the therapy is to prevent these complications without worsening the course of the disease.

Analysing the data of 237 ET patients of the HUMYPON (Hungarian Myeloproliferative Neoplasm Working Group) registry with a median follow-up of 10 years, we came to the following conclusions

1. Findings regarding thrombotic and bleeding complications:

- thrombotic event before diagnosis turned out to be the only factor that had significant impact on post-diagnostic thrombosis;
- lipocalin-2 relative gene expression significantly correlates with both pre-diagnostic and post-diagnostic TE episodes;
- among thrombotic risk stratification systems (Landolfi-, IPSET-, R-IPSET-) R-IPSET model proved to be the most reliable;
- patients who received anagrelid therapy suffered significantly less minor arterial events but slightly more major arterial events than those treated with the combination of hydroxyurea+acetylsalicylic acid; we found no difference between the two groups in terms of bleeding episodes;

2. Findings regarding disease progression and secondary malignancy:

- it was only the choice of therapy that influenced disease progression significantly;
- in the hydroxyurea+acetylsalicylic acid group we observed disease progression (MF, AML) sooner and with a frequency twice as high as in the anagrelid group; patients treated with anagrelid had significantly longer progression free survival than those who received hydroxyurea+acetylsalicylic acid;

- during follow-up we observed many types of secondary malignancies, being more frequent in the hidroxyurea+acetilsalicilic acid group - but this correlation was not found to be significant.

3. Findings regarding overall survival:

- higher age and male gender came with a less favorable prognosis in terms of survival;
- IPSET survival model proved to be a good predictor of disease outcome, we found significant difference in survival between different risk groups;
- in the group of patients treated with anagrelide we observed half as much fatal outcome and longer survival compared to the hidroxyurea+acetilsalicilic acid group.

9. Referenciák jegyzéke

- [1] Swerdlow, S.H.; Campo, E.; Harris, N.L.; Jaffe, E.S.; Pileri, S.A.; Stein, H.; Thiele, J.; Vardiman, J.W. (Eds.)WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 4th ed.; IARC: Lyon, France, 2008.
- [2] Rollison DE, Howlader N, Smith MT, Strom SS, Merritt WD, Ries LA, Edwards BK, List AF. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood* 2008; 112: 45-52.
- [3] Mehta J, Wang H, Iqbal SU, Mesa R. Epidemiology of myeloproliferative neoplasms in the United States. *Leuk Lymphoma* 2014; 55: 595-600.
- [4] Mehta J, Wang H, Fryzek JP, Iqbal SU, Mesa R. Health resource utilization and cost associated with myeloproliferative neoplasms in a large United States health plan. *Leuk Lymphoma* 2014; 55: 2368-74.
- [5] Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, Marcos-Gragera R, Maynadié M, Simonetti A, Lutz JM, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010; 116: 3724-34.
- [6] Johansson P. Epidemiology of the myeloproliferative disorders polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32: 171-3.
- [7] Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF, O'Rourke M, Mesa R, De Vocht F, Horan S, Fritschi L, Clarke M, Anderson LA. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol* 2014; 89: 581-7.

- [8] Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, Gangat N, Fjerza R, Belachew AA, Lasho TL, Ketterling RP, Hanson CA, Rambaldi A, Finazzi G, Thiele J, Barbui T, Pardanani A, Vannucchi AM. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood*. 2014 Oct 16;124(16):2507-13; quiz 2615. doi: 10.1182/blood-2014-05-579136. Epub 2014 Jul 18. PMID: 25037629; PMCID: PMC4199952.

- [9] Iurlo A, Cattaneo D, Gianelli U. Blast Transformation in Myeloproliferative Neoplasms: Risk Factors, Biological Findings, and Targeted Therapeutic Options. *Int J Mol Sci*. 2019 Apr 13;20(8):1839. doi: 10.3390/ijms20081839. PMID: 31013941; PMCID: PMC6514804.

- [10] Kreipe, Hans, et al. "Progression of myeloproliferative neoplasms to myelofibrosis and acute leukaemia." *Journal of Hematopathology* 4.2 (2011): 61-68.

- [11] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391–2405.

- [12] Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer J*. 2018;8:15.

- [13] Johansson P. Epidemiology of the myeloproliferative disorders polycythemia vera and essential thrombocythemia. In *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2006 Apr (Vol. 32, No. 03, pp. 171-173). Copyright© 2006 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.

- [14] Ma X, Vanasse G, Cartmel B, Wang Y, Selinger HA. Prevalence of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *American journal of hematology*. 2008 May;83(5):359-362.

- [15] Moulard O, Mehta J, Fryzek J, Olivares R, Iqbal U, Mesa RA. Epidemiology of myelofibrosis, essential thrombocythemia, and polycythemia vera in the European Union. *Eur J Haematol*. 2014 Apr;92(4):289-97. doi: 10.1111/ejh.12256. Epub 2014 Feb 3. PMID: 24372927.
- [16] Cortelazzo S, Viero P, Finazzi GA, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *Journal of Clinical Oncology*. 1990 Mar;8(3):556-562.
- [17] Giona F, Teofili L, Moleti ML, Martini M, Palumbo G, Amendola A, Mazzucconi MG, Testi AM, Pignoloni P, Orlando SM, Capodimonti S, Nanni M, Leone G, Larocca LM, Foà R. Thrombocythemia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biologic features, treatment, and long-term outcome. *Blood*. 2012 Mar 8;119(10):2219-27. doi: 10.1182/blood-2011-08-371328. Epub 2012 Jan 18. PMID: 22262773.
- [18] Randi, Maria L., et al. "Are all cases of paediatric essential thrombocythaemia really myeloproliferative neoplasms? Analysis of a large cohort." *British Journal of Haematology* 169.4 (2015): 584-589.
- [19] Murati A, Brecqueville M, Devillier R, Mozziconacci MJ, Gelsi-Boyer V, Birnbaum D. Myeloid malignancies: Mutations, models and management. *BMC Cancer*. 2012;12:304.
- [20] Mead AJ, Mullally A. Myeloproliferative neoplasm stem cells. *Blood*. 2017;129(12):1607–1616.
- [21] Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms: A decade of discoveries and treatment advances. *Am J Hematol*. 2016;91(1):50–58.
- [22] Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2017;92(1):95–108.

- [23] Kleman A, Singavi AK, Michaelis LC. Current challenges in the management of essential thrombocythemia. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2017;15(10):773–783.
- [24] Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Finazzi G, Vannucchi AM, Tefferi A. The 2016 revision of WHO classification of myeloproliferative neoplasms: clinical and molecular advances. *Blood Rev*. 2016;30(6):453–459.
- [25] Al Assaf, Carla, et al. "Analysis of phenotype and outcome in essential thrombocythemia with CALR or JAK2 mutations." *Haematologica* 100.7 (2015): 893-897.
- [26] Cerquozzi S, Tefferi A. Blast transformation and fibrotic progression in polycythemia vera and essential thrombocythemia: a literature review of incidence and risk factors. *Blood cancer journal*. 2015 Nov;5(11):e366-.
- [27] Cabagnols, Xénia, et al. "Presence of atypical thrombopoietin receptor (MPL) mutations in triple-negative essential thrombocythemia patients." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 127.3 (2016): 333-342.
- [28] Milosevic Feenstra, Jelena D., et al. "Whole-exome sequencing identifies novel MPL and JAK2 mutations in triple-negative myeloproliferative neoplasms." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 127.3 (2016): 325-332.
- [29] Tefferi, Ayalew, and William Vainchenker. "Myeloproliferative neoplasms: molecular pathophysiology, essential clinical understanding, and treatment strategies." *Journal of clinical oncology* 29.5 (2011): 573-582.
- [30] Tefferi, Ayalew, and Tiziano Barbui. "Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2019 update on diagnosis, risk stratification and management." *American journal of hematology* 94.1 (2019): 133-143.

- [31] Panani, Anna D. "Cytogenetic findings in untreated patients with essential thrombocythemia." *in vivo* 20.3 (2006): 381-384.
- [32] Hirose, Yuko, Yasufumi Masaki, and Susumu Sugai. "Leukemic transformation with trisomy 8 in essential thrombocythemia: a report of four cases." *European journal of haematology* 68.2 (2002): 112-116.
- [33] Barbui, Tiziano, et al. "Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study." *Journal of clinical oncology* 29.23 (2011): 3179-3184.
- [34] Gisslinger, Heinz. "Update on diagnosis and management of essential thrombocythemia." *Seminars in thrombosis and hemostasis*. Vol. 32. No. 04. Copyright© 2006 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA., 2006.
- [35] Thiele, Jürgen, et al. "Essential thrombocythemia versus early primary myelofibrosis: a multicenter study to validate the WHO classification." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 117.21 (2011): 5710-5718.
- [36] Thiele, Jürgen, et al. "European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity." *haematologica* 90.8 (2005): 1128-1132.
- [37] Florena, Ada Maria, et al. "Value of bone marrow biopsy in the diagnosis of essential thrombocythemia." *Haematologica* 89.8 (2004): 911-919.
- [38] Gianelli, Umberto, et al. "Essential thrombocythemia or chronic idiopathic myelofibrosis? A single-center study based on hematopoietic bone marrow histology." *Leukemia & lymphoma* 47.9 (2006): 1774-1781.

- [39] Thiele, Juergen, and Hans Michael Kvasnicka. "Clinicopathological criteria for differential diagnosis of thrombocythemias in various myeloproliferative disorders." *Seminars in thrombosis and hemostasis*. Vol. 32. No. 03. Copyright© 2006 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA., 2006.
- [40] Georgii, A., et al. "Classification and staging of Ph-negative myeloproliferative disorders by histopathology from bone marrow biopsies." *Leukemia & lymphoma* 22.sup1 (1996): 15-29.
- [41] Kreft, Andreas, et al. "The incidence of myelofibrosis in essential thrombocythaemia, polycythaemia vera and chronic idiopathic myelofibrosis: a retrospective evaluation of sequential bone marrow biopsies." *Acta haematologica* 113.2 (2005): 137-143.
- [42] Thiele, Juergen, and Hans Michael Kvasnicka. "The 2008 WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis." *Current hematologic malignancy reports* 4.1 (2009): 33-40.
- [43] Finazzi, Guido, and Claire Harrison. "Essential thrombocythemia." *Seminars in hematology*. Vol. 42. No. 4. WB Saunders, 2005.
- [44] Harrison, Claire N., and Anthony R. Green. "Essential thrombocythemia." *Hematology/oncology clinics of North America* 17.5 (2003): 1175-90.
- [45] Carobbio, Alessandra, et al. "Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients." *Blood* 117.22 (2011): 5857-5859.
- [46] Elliott, Michelle A., and Ayalew Tefferi. "Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia." *British journal of haematology* 128.3 (2005): 275-290.

- [47] Finazzi, Guido, et al. "Incidence and risk factors for bleeding in 1104 patients with essential thrombocythemia or prefibrotic myelofibrosis diagnosed according to the 2008 WHO criteria." *Leukemia* 26.4 (2012): 716-719.
- [48] Passamonti, Francesco, et al. "Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients." *haematologica* 93.11 (2008): 1645-1651.
- [49] Donadini, Marco P., Francesco Dentali, and Walter Ageno. "Splanchnic vein thrombosis: new risk factors and management." *Thrombosis research* 129 (2012): S93-S96.
- [50] Kiladjian, Jean-Jacques, et al. "The impact of JAK2 and MPL mutations on diagnosis and prognosis of splanchnic vein thrombosis: a report on 241 cases." *Blood* 111.10 (2008): 4922-4929.
- [51] Smalberg, Jasper H., et al. "Myeloproliferative disease in the pathogenesis and survival of Budd-Chiari syndrome." *Haematologica* 91.12 (2006): 1712-1713.
- [52] Cortelazzo S, Viero P, Finazzi GA, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *Journal of Clinical Oncology*. 1990 Mar;8(3):556-562.
- [53] Jensen MK, de Nully Brown P, Nielsen OJ, Hasselbalch HC. Incidence, clinical features and outcome of essential thrombocythaemia in a well defined geographical area. *European journal of haematology*. 2000 Aug;65(2):132-9.
- [54] Barbui, Tiziano, et al. "Practice-relevant revision of IPSET-thrombosis based on 1019 patients with WHO-defined essential thrombocythemia." *Blood cancer journal* 5.11 (2015): e369-e369.

- [55] Murphy, Scott, et al. "Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment." *Seminars in hematology*. Vol. 34. No. 1. 1997.
- [56] Tefferi, Ayalew, and S. Murphy. "Current opinion in essential thrombocythemia: pathogenesis, diagnosis, and management." *Blood reviews* 15.3 (2001): 121-131.
- [57] Tefferi, Ayalew, and Tiziano Barbui. "Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2015 update on diagnosis, risk stratification and management." *American journal of hematology* 90.2 (2015): 162-173.
- [58] Wautier MP, El Nemer W, Gane P, Rain JD, Cartron JP, Colin Y, et al. Increased adhesion to endothelial cells of erythrocytes from patients with polycythemia vera is mediated by laminin alpha5 chain and Lu/BCAM. *Blood* 2007;110:894–901.
- [59] Trappenburg MC, van Schilfgaarde M, Marchetti M, Spronk HM, ten Cate H, Leyte A, et al. Elevated procoagulant mikroparticles expressing endothelial and platelet markers in essential thrombocythemia. *Haematologica* 2009; 94:911–918.
- [60] Kwaan HC, Wang J. Hyperviscosity in polycythemia vera and other red cell abnormalities. *Semin Thromb Hemost* 2003;29:451–458.
- [61] Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Barbui T. Leukocyte-platelet interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* 2005;33:523–530.
- [62] Maugeri N, Brambilla M, Camera M, Carbone A, Tremoli E, Donati MB, et al. Human polymorphonuclear leukocytes produce and express functional tissue factor upon stimulation. *J Thromb Haemost* 2006;4:1323–1330.
- [63] Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, De Stefano V, Finazzi G, Marfisi R et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with Polycythemia Vera. *Blood* 2007; 109: 2446–2452.

- [64] Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Delaini F, Guerini V et al. Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2732–2736.
- [65] Kaplar M, Kappelmayer J, Kiss A, Szabo K, Udvardy M. Increased leukocyteplatelet adhesion in chronic myeloproliferative disorders with high platelet counts. *Platelets* 2000;11:183–184.
- [66] Maugeri N, Giordano G, Petrilli MP, Fraticelli V, de Gaetano G, Cerletti C, et al. Inhibition of tissue factor expression by hydroxyurea in polymorphonuclear leukocytes from patients with myeloproliferative disorders: a new effect for an old drug? *J Thromb Haemost* 2006;4:2593–2598.
- [67] Barbui T, Carobbio A, Cervantes F, Vannucchi AM, Guglielmelli P, Antonioli E. Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood* 2009; blood2009–2008.238.
- [68] Allegra A, Alonci A, Bellomo G, et al. Increased serum levels of neutrophil gelatinaseassociated lipocalin in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Leuk Lymphoma*. 2011;52(1):101-107.
- [69] Norfo R, Zini R, Pennucci V, et al; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. miRNAmRNA integrative analysis in primary myelofibrosis CD341 cells: role of miR-155/JARID2 axis in abnormal megakaryopoiesis. *Blood*. 2014;124(13):e21-e32.
- [70] Kagoya Y, Yoshimi A, Tsuruta-Kishino T, et al. JAK2V617F1myeloproliferative neoplasm clones evoke paracrine DNA damage to adjacent normal cells through secretion of lipocalin-2. *Blood*. 2014; 124(19):2996-3006.

- [71] Passamonti F, Thiele J, Girodon F, et al. A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis. *Blood*. 2012;120(6):1197–1201.
- [72] Rumi E, Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017;129(6):680–692.
- [73] Hernández-Boluda JC, Gómez M. Target hematologic values in the management of essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Eur J Haematol*. 2015 Jan;94(1):4-11. doi: 10.1111/ejh.12381. Epub 2014 May 29. PMID: 24814134.
- [74] Landolfi R, Gennaro L. Prevention of thrombosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2008;93(9):331–335.
- [75] Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization–essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood*. 2012;120(26):5128–5133.
- [76] Tefferi A, Vannucchi AM, Barbui T. Essential thrombocythemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer J*. 2018;8(1):2. Published 2018 Jan 10. doi:10.1038/s41408-017-0041-8
- [77] Buntenkötter K, Osmers M, Schenk I, Schänzer W, Machnik M, Düe M, Kietzmann M. Pharmacokinetics and in vitro efficacy of salicylic acid after oral administration of acetylsalicylic acid in horses. *BMC Vet Res*. 2017 Jan 19;13(1):28. doi: 10.1186/s12917-017-0955-1. PMID: 28103874; PMCID: PMC5247822.
- [78] Schrör K. Aspirin and platelets: the antiplatelet action of aspirin and its role in thrombosis treatment and prophylaxis. *Semin Thromb Hemost*. 1997;23(4):349–356.

- [79] Gyires K., Fürst Zs.: A farmakológia alapjai. Budapest, Medicina Könyvkiadó Zrt., 2011. 2. kiadás

- [80] Guida L, Annunziata M, Passaro I, Buonaiuto C, Rullo R, Tetè S, Della Ragione F, Oliva A. Acetilsalicylic acid inhibits proliferation of human bone marrow stromal cells and matrix mineralization. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2008 Oct-Dec;21(4):921-8. doi: 10.1177/039463200802100416. PMID: 19144277.

- [81] Shirota T, Ikegami T, Sugiyama S, Kubota K, Shimizu A, Ohno Y, Mita A, Urata K, Nakazawa Y, Kobayashi A, Iwaya M, Miyagawa S. Successful living donor liver transplantation for acute liver failure after acetilsalicylic acid overdose. *Clin J Gastroenterol*. 2015 Apr;8(2):97-102. doi: 10.1007/s12328-015-0553-3. Epub 2015 Feb 25. PMID: 25711165.

- [82] Gault MH, Barrett BJ. Analgesic nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 1998 Sep;32(3):351-60. doi: 10.1053/ajkd.1998.v32.pm9740150. PMID: 9740150.

- [83] Gwilt PR, Tracewell WG. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of hidroxyurea. *Clin Pharmacokinet*. 1998 May;34(5):347-58. doi: 10.2165/00003088-199834050-00002. PMID: 9592619.

- [84] Yarbrow JW. Mechanism of action of hidroxyurea. *Semin Oncol*. 1992 Jun;19(3 Suppl 9):1-10. PMID: 1641648.

- [85] Santos JL, Bosquesi PL, Almeida AE, Chin CM, Varanda EA. Mutagenic and genotoxic effect of hidroxyurea. *Int J Biomed Sci*. 2011 Dec;7(4):263-7. PMID: 23675245; PMCID: PMC3614842.

- [86] Oliveira EAM, Boy KA, Santos APP, Machado CDS, Velloso-Rodrigues C, Gerheim PSAS, Mendonça LM. Evaluation of hidroxyurea genotoxicity in patients with sickle cell disease. *Einstein (Sao Paulo)*. 2019 Sep 9;17(4):eAO4742. doi: 10.31744/einstein_journal/2019AO4742. PMID: 31508660; PMCID: PMC6750882.

- [87] Timson J. Hidroxyurea. *Mutat Res.* 1975;32(2):115-32. doi: 10.1016/0165-1110(75)90002-0. PMID: 765790.
- [88] Tefferi A. Is hidroxyurea leukemogenic in essential thrombocythemia? *Blood.* 1998 Aug 15;92(4):1459-60; author reply 1460-1. PMID: 9694740.
- [89] Jinna S, Khandhar PB. Hidroxyurea Toxicity. 2020 Aug 27. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan–. PMID: 30725894.
- [90] Quattrone F, Dini V, Barbanera S, Zerbinati N, Romanelli M. Cutaneous ulcers associated with hidroxyurea therapy. *J Tissue Viability.* 2013 Nov;22(4):112-21. doi: 10.1016/j.jtv.2013.08.002. Epub 2013 Aug 28. PMID: 24050921.
- [91] Shalihin SE, Harun Z, Osman IF. Non-specific skin purpura. *Malays Fam Physician.* 2018 Aug 31;13(2):39-41. PMID: 30302184; PMCID: PMC6173960.
- [92] Kwong YL. Hidroxyurea-induced nail pigmentation. *J Am Acad Dermatol.* 1996 Aug;35(2 Pt 1):275-6. doi: 10.1016/s0190-9622(96)90353-9. PMID: 8708039.
- [93] Galaup A, Paci A. Pharmacology of dimethanesulfonate alkylating agents: busulfan and treosulfan. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2013 Mar;9(3):333-47. doi: 10.1517/17425255.2013.737319. Epub 2012 Nov 16. PMID: 23157726.
- [94] Chen X, Liang M, Wang D. Progress on the study of the mechanism of busulfan cytotoxicity. *Cytotechnology.* 2018 Apr;70(2):497-502. doi: 10.1007/s10616-018-0189-5. Epub 2018 Jan 19. PMID: 29350306; PMCID: PMC5851972.
- [95] Morales-Ramírez P, Miranda-Pasaye S, Cruz-Vallejo VL, Vallarino-Kelly T, Mendiola-Cruz MT. Kinetic of genotoxic expression in the pharmacodynamics of busulfan. *Arch Med Res.* 2006 Apr;37(3):316-21. doi: 10.1016/j.arcmed.2005.06.014. PMID: 16513478.

- [96] Buggia I, Locatelli F, Regazzi MB, Zecca M. Busulfan. *Ann Pharmacother*. 1994 Sep;28(9):1055-62. doi: 10.1177/106002809402800911. PMID: 7803883.
- [97] LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012–. Antineoplastic Agents. 2019 May 1. PMID: 31643354.
- [98] Hehlmann R, Heimpel H, Kolb HJ, Heinze B, Hochhaus A, Griesshammer M, Pralle H, Queisser WP, Essers U, Falge C, et al. The German CML study, comparison of busulfan vs. hidroxyurea vs. interferon alpha and establishment of prognostic score 1. *Leuk Lymphoma*. 1993;11 Suppl 1:159-68. doi: 10.3109/10428199309047880. PMID: 8251890.
- [99] Lippmann M. Pulmonary reactions to drugs. *Med Clin North Am*. 1977 Nov;61(6):1353-67. doi: 10.1016/s0025-7125(16)31266-4. PMID: 72895.
- [100] Bishop JB, Wassom JS. Toxicological review of busulfan (Myleran). *Mutat Res*. 1986 Jul;168(1):15-45. doi: 10.1016/0165-1110(86)90020-5. PMID: 3713721.
- [101] Pearl M. Busulfan lung. *Am J Dis Child*. 1977 Jun;131(6):650-2. PMID: 266839.
- [102] Briere J, Guilmin F. Management of patients with essential thrombocythemia: current concepts and perspectives. *Pathol Biol (Paris)*. 2001 Mar;49(2):178-83. doi: 10.1016/s0369-8114(00)00026-2. PMID: 11317966.
- [103] LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012–. Anagrelide. 2017 Jul 5. PMID: 31643786.
- [104] Tefferi A, Silverstein MN, Petitt RM, Mesa RA, Solberg LA Jr. Anagrelide as a new platelet-lowering agent in essential thrombocythemia: mechanism of action, efficacy, toxicity, current indications. *Semin Thromb Hemost*. 1997;23(4):379-83. doi: 10.1055/s-2007-996112. PMID: 9263355.

- [105] Mazur EM, Rosmarin AG, Sohl PA, Newton JL, Narendran A. Analysis of the mechanism of anagrelide-induced thrombocytopenia in humans. *Blood*. 1992 Apr 15;79(8):1931-7. PMID: 1562721.
- [106] Oertel MD. Anagrelide, a selective thrombocytopenic agent. *Am J Health Syst Pharm*. 1998 Oct 1;55(19):1979-86. doi: 10.1093/ajhp/55.19.1979. PMID: 9784784.
- [107] Gillespie E. Anagrelide: a potent and selective inhibitor of platelet cyclic AMP phosphodiesterase enzyme activity. *Biochem Pharmacol*. 1988;37:2866.
- [108] Erusalimsky JD, Hong Y, Franklin R. Is the platelet lowering activity of anagrelide mediated by its major metabolite 2-amino-5,6-dichloro-3,4-dihydroquinazoline (RL603)? *Exp Hematol*. 2002 Jul;30(7):625-6; author reply 626-7. doi: 10.1016/s0301-472x(02)00870-6. PMID: 12135656.
- [109] Mancini E, Sanjuan-Pla A, Luciani L, Moore S, Grover A, Zay A, Rasmussen KD, Luc S, Bilbao D, O'Carroll D, Jacobsen SE, Nerlov C. FOG-1 and GATA-1 act sequentially to specify definitive megakaryocytic and erythroid progenitors. *EMBO J*. 2012 Jan 18;31(2):351-65. doi: 10.1038/emboj.2011.390. Epub 2011 Nov 8. PMID: 22068055; PMCID: PMC3261555.
- [110] Wang X, Crispino JD, Letting DL, Nakazawa M, Poncz M, Blobel GA. Control of megakaryocyte-specific gene expression by GATA-1 and FOG-1: role of Ets transcription factors. *EMBO J*. 2002 Oct 1;21(19):5225-34. doi: 10.1093/emboj/cdf527. PMID: 12356738; PMCID: PMC129049.
- [111] Gisslinger H, Gotic M, Holowiecki J, Penka M, Thiele J, Kvasnicka HM, Kralovics R, Petrides PE; ANAHYDRET Study Group. Anagrelide compared with hidroxyurea in WHO-classified essential thrombocythemia: the ANAHYDRET Study, a randomized controlled trial. *Blood*. 2013 Mar 7;121(10):1720-8. doi: 10.1182/blood-2012-07-443770. Epub 2013 Jan 11. PMID: 23315161; PMCID: PMC3591796.

- [112] Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, Wilkins BS, van der Walt JD, Reilly JT, Grigg AP, Revell P, Woodcock BE, Green AR; United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005 Jul 7;353(1):33-45. doi: 10.1056/NEJMoa043800. PMID: 16000354.

- [113] Samuelson B, Chai-Adisaksopha C, Garcia D. Anagrelide compared with hidroxyurea in essential thrombocythemia: a meta-analysis. *J Thromb Thrombolysis*. 2015;40:474–479.

- [114] Hultdin M, Sundström G, Wahlin A, Lundström B, Samuelsson J, Birgegård G, Engström-Laurent A. Progression of bone marrow fibrosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera during anagrelide treatment. *Med Oncol*. 2007;24(1):63-70. doi: 10.1007/BF02685904. PMID: 17673813.

- [115] Kiladjian JJ, Besses C, Griesshammer M, Gugliotta L, Harrison C, Coll R, Smith J, Birgegård G. Efficacy and safety of cytoreductive therapies in patients with essential thrombocythaemia aged >80 years: an interim analysis of the EXELS study. *Clin Drug Investig*. 2013 Jan;33(1):55-63. doi: 10.1007/s40261-012-0042-0. PMID: 23184668; PMCID: PMC3586170.

- [116] Ge X, Yang L, Jin J, Qian W, Li J, Yang R, Cao X, Jiang B, Wang Z, Hou M, Zhang W, Xiao Z, Zhao Y, Gao D, Zhang X, Wang S, Sun A, Fu J, Su L, Li K. Efficacy and safety of anagrelide in treatment of essential thrombocythemia: multicenter, randomized controlled clinical trial. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2015 Jul;36(7):547-52. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.07.00. PMID: 26304075; PMCID: PMC7342634.

- [117] Knutsen H, Hysing J. Anagrelid ved primaer trombocytemi [Anagrelide in primary thrombocythemia]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2001 May 10;121(12):1478-82. Norwegian. PMID: 11449771.

- [118] Cornet N, Vialard F, Mir O, Berveiller P. Is anagrelide safe during pregnancy? *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2017 Nov;46(9):697-699. doi: 10.1016/j.jogoh.2017.08.005. Epub 2017 Sep 1. PMID: 28866127.

- [119] Gresser I. Wherefore interferon? *J Leukoc Biol.* 1997 May;61(5):567-74. doi: 10.1002/jlb.61.5.567. PMID: 9129205.

- [120] Yacoub A, Mascarenhas J, Kosiorek H, Prchal JT, Berenzon D, Baer MR, Ritchie E, Silver RT, Kessler C, Winton E, Finazzi MC, Rambaldi A, Vannucchi AM, Leibowitz D, Rondelli D, Arcasoy MO, Catchatourian R, Vadakara J, Rosti V, Hexner E, Kremyanskaya M, Sandy L, Tripodi J, Najfeld V, Farnoud N, Papaemmanuil E, Salama M, Singer-Weinberg R, Rampal R, Goldberg JD, Barbui T, Mesa R, Dueck AC, Hoffman R. Pegylated interferon alfa-2a for polycythemia vera or essential thrombocythemia resistant or intolerant to hidroxyurea. *Blood.* 2019 Oct 31;134(18):1498-1509. doi: 10.1182/blood.2019000428. PMID: 31515250; PMCID: PMC6839950.

- [121] Ivashkiv LB, Donlin LT. Regulation of type I interferon responses. *Nat Rev Immunol.* 2014 Jan;14(1):36-49. doi: 10.1038/nri3581. PMID: 24362405; PMCID: PMC4084561.

- [122] Yamagami M, Otsuka M, Kishikawa T, et al. ISGF3 with reduced phosphorylation is associated with constitutive expression of interferon-induced genes in aging cells. *NPJ Aging Mech Dis.* 2018;4:11. Published 2018 Nov 15. doi:10.1038/s41514-018-0030-6

- [123] Schneider WM, Chevillotte MD, Rice CM. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:513-45. doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120231. Epub 2014 Feb 6. PMID: 24555472; PMCID: PMC4313732.

- [124] Tiefenbrun N, Melamed D, Levy N, Resnitzky D, Hoffman I, Reed SI, Kimchi A. Alpha interferon suppresses the cyclin D3 and cdc25A genes, leading to a reversible G0-like arrest. *Mol Cell Biol.* 1996 Jul;16(7):3934-44. doi: 10.1128/mcb.16.7.3934. PMID: 8668211; PMCID: PMC231390.

- [125] Zhang K, Kumar R. Interferon-alpha inhibits cyclin E- and cyclin D1-dependent CDK-2 kinase activity associated with RB protein and E2F in Daudi cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994 Apr 15;200(1):522-8. doi: 10.1006/bbrc.1994.1479. PMID: 8166726.

- [126] Wong S, Kaita K, Gauthier T, Jones S, Minuk GY. A comparative trial of recombinant interferon alpha 2A versus alpha 2 beta on myelosuppression in healthy adult volunteers. *Hepatogastroenterology.* 1996 Jan-Feb;43(7):301-5. PMID: 8682483.

- [127] Rönnblom L. The importance of the type I interferon system in autoimmunity. *Clin Exp Rheumatol.* 2016 Jul-Aug;34(4 Suppl 98):21-4. Epub 2016 Jul 21. PMID: 27586799.

- [128] Le Corguillé M, Pochmalicki G, Eugène C. Complications cardiovasculaires de l'interféron-alpha [Cardiovascular complications of alpha interferon]. *Gastroenterol Clin Biol.* 2007 Dec;31(12):1081-4. French. doi: 10.1016/s0399-8320(07)78339-2. PMID: 18176361.

- [129] Phillips TM. Interferon-alpha induces renal dysfunction and injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1996 Jul;5(4):380-3. doi: 10.1097/00041552-199607000-00016. PMID: 8823539.

- [130] Debien C, De Chouly De Lenclave MB, Foutrein P, Bailly D. Interféron alpha et troubles psychiatriques [Alpha-interferon and mental disorders]. *Encephale.* 2001 Jul-Aug;27(4):308-17. French. PMID: 11686052.

- [131] Borden EC, Parkinson D. A perspective on the clinical effectiveness and tolerance of interferon-alpha. *Semin Oncol.* 1998 Feb;25(1 Suppl 1):3-8. PMID: 9482534.

- [132] Bewersdorf JP, Giri S, Wang R, Podoltsev N, Williams RT, Tallman MS, Rampal RK, Zeidan AM, Stahl M. Interferon alpha therapy in essential thrombocythemia and polycythemia vera-a systematic review and meta-analysis. *Leukemia.* 2020 Sep 1. doi: 10.1038/s41375-020-01020-4. Epub ahead of print. PMID: 32868875.

- [133] Juliette Soret, Bruno Cassinat, Sylvie Chevret, Christine Dosquet, Stephane Giraudier, Emmanuelle Verger, Nabih Maslah, Nathalie Parquet, Christine Chomienne, Jean-Jacques Kiladjian; Outcomes of Patients with Myeloproliferative Neoplasms (MPN) after Interferon-Alpha (IFN) Therapy Discontinuation. *Blood* 2016; 128 (22): 3106.

- [134] Yoshida Y, Katsurada T, Nakabou Y, Kawabata H. Efficacy of interferon-alpha in essential thrombocythemia during pregnancy. *Ann Hematol.* 2017 May;96(5):877-878. doi: 10.1007/s00277-017-2946-5. Epub 2017 Feb 13. PMID: 28194492.

- [135] Sakai K, Ueda A, Hasegawa M, Ueda Y. Efficacy and safety of interferon alpha for essential thrombocythemia during pregnancy: two cases and a literature review. *Int J Hematol.* 2018 Aug;108(2):203-207. doi: 10.1007/s12185-017-2397-8. Epub 2017 Dec 30. PMID: 29290077.

- [136] Dombi P, Illés Á, Demeter J, et al. Development of the Philadelphia negative chronic myeloproliferative neoplasia registry in Hungary. *Orv Hetil.* 2016;157(3):98–103.

- [137] Dombi P, Illés Á, Demeter J, et al. Anagrelide reduces thrombotic risk in essential thrombocythaemia vs. hidroxyurea plus aspirin. *Eur J Haematol.* 2017;98(2):106–111.

- [138] Kellner SV, Kellner Á, Haragh A, Dombi P, Karádi É, et al. (2016) Low meancell hemoglobin is a reliable marker for iron deficiency screening. *OrvosiHetilap* 157: 35-38.
- [139] Steurer M, Gastl G, Jedrzejczak W-W, et al. Anagrelide for thrombocytosis in myeloproliferative disorders: a prospective study to assess efficacy and adverse event profile. *Cancer*. 2004;101(10):2239–2246.
- [140] Tefferi A, Barbui T. Essential thrombocythemia and polycythemia vera: focus on clinical practice. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(9):1283–1293.
- [141] Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, Lindsley RC, Mermel CH, Burt N, Chavez A, Higgins JM. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *New England Journal of Medicine*. 2014 Dec 25;371(26):2488-98.
- [142] Libby P, Ebert BL. CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) potent and newly recognized contributor to cardiovascular risk. *Circulation*. 2018 Aug 14;138(7):666-668.
- [143] Jaiswal S, Natarajan P, Silver AJ, Gibson CJ, Bick AG, Shvartz E, McConkey M, Gupta N, Gabriel S, Ardissino D, Baber U. Clonal hematopoiesis and risk of atherosclerotic cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*. 2017 Jul 13;377(2):111-121.
- [144] Steensma DP. Clinical consequences of clonal hematopoiesis of indeterminate potential. *Hematology*. 2018 Nov 30;2018(1):264-9.
- [145] Buscarlet M, Provost S, Zada YF, Bourgoïn V, Mollica L, Dubé MP, Busque L. Lineage restriction analyses in CHIP indicate myeloid bias for TET2 and multipotent stem cell origin for DNMT3A. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2018 Jul 19;132(3):277-280.

- [146] Rajnics P, Kellner Á, Karádi É, Moizs M, Bődör C, Király PA, Marosvári D, Andrikovics H, Egyed M. Increased Lipocalin 2 level may have important role in thrombotic events in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Leukemia research*. 2016 Sep 1;48:101-106.
- [147] Flower D.R. The lipocalin protein family: structure and function *Biochem. J.*, 318 (1996), pp. 1–14
- [148] Seppälä M., R.N. Taylor, H. Koistinen, R. Koistinen, E. Milgrom Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation *Endocr. Rev.*, 23 (2002), pp. 401–430
- [149] Flo T.H., K.D. Smith, S. Sato, D.J. Rodriguez, M.A. Holmes, R.K. Strong, S. Akira, A. Aderem Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron *Nature*, 432 (2004), pp. 917–921
- [150] Xu S., P. Venge. Lipocalins as biochemical markers of disease *Biochim. Biophys. Acta*, 1482 (2000), pp. 298–307
- [151] Henze A., S.K. Frey, J. Raila, M. Tepel, A. Scholze, A.F. Pfeiffer, M.O. Weickert, J. Spranger, F.J. Schweigert Evidence that kidney function but not type 2 diabetes determines retinol-binding protein 4 serum levels *Diabetes*, 57 (2008), pp. 3323–3326
- [152] Al-Daghri N.M., O.S. Al-Attas, M. Alokail, H.M. Draz, A. Bamakhramah, S. Sabico Retinol binding protein-4 is associated with TNF-alpha and not insulin resistance in subjects with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease *Dis. Markers*, 26 (2009), pp. 135–140
- [153] Liu JT, Song E, Xu A, Berger T, Mak TW, Tse HF, Law IK, Huang B, Liang Y, Vanhoutte PM, Wang Y. Lipocalin-2 deficiency prevents endothelial dysfunction associated with dietary obesity: role of cytochrome P450 2C inhibition. *Br J Pharmacol*. 2012;165:520–531

- [154] Ciftciler R, Aksu S, Malkan UY, Buyukasik Y, Haznedaroglu IC. Fibrosis development, leukemic transformation and secondary malignancies complicating the clinical course of essential thrombocythemia. *Int J Hematol Oncol*. 2019;29(1):14–21.
- [155] Ejerblad E, Kvasnicka HM, Thiele J, et al. Diagnosis according to World Health Organization determines the long-term prognosis in patients with myeloproliferative neoplasms treated with anagrelide: results of a prospective long-term follow-up. *Hematology*. 2013;18(1):8–13.
- [156] Hatalova A, Schwarz J, Gotic M, et al. Recommendations for the diagnosis and treatment of patients with polycythaemia vera. *Eur J Haematol*. 2018;101(5):654–664.
- [157] Cuthbert D, Stein BL. Therapy-associated with leukemic transformation in myeloproliferative neoplasms – what do we know? *Best Pract Res Clin Haematol*. 2019;32(1):65–73.
- [158] Björkholm M, Derolf AR, Hultcrantz M, et al. Treatment-related risk factors for transformation to acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in myeloproliferative neoplasms. *J Clin Oncol*. 2011;29(17):2410–2415.
- [159] Hultcrantz M, Kristinsson SY, Andersson TML, et al. Patterns of survival among patients with myeloproliferative neoplasms diagnosed in Sweden from 1973 to 2008: A population-based study. *J Clin Oncol*. 2012;30(24):2995–3001.
- [160] Tefferi A, Betti S, Barraco D, et al. Gender and survival in essential thrombocythemia: a two-center study of 1,494 patients. *Am J Hematol*. 2017;92(11):1193–1197.
- [161] Tefferi, Ayalew, et al. Calreticulin mutations and long-term survival in essential thrombocythemia. *Leukemia* 28.12 (2014): 2300-2303.

10. Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni mindazoknak a segítségét, akik hozzájárultak doktori értekezésem létrejöttéhez.

Köszönöm témavezetőmnek, Egyed Miklós Professzor Úrnak mindenkori támogatását. Osztályvezetőmként hozzásegített az orvosi munka megkezdéséhez, emellett kitartó ösztönzéssel bevezetett a tudományos életbe. Mind a mai napig bármiben számíthatok rá. Köszönettel tartozom Illés Árpád Professzor Úrnak és Váróczy László Tanár Úrnak, akik lehetővé tették, hogy a Debreceni Egyetemen végezzem PhD munkámat. Támogatásukkal a nagy távolság sem volt akadály.

Köszönöm azoknak, aki részt vettek az adatbevitelben, kiemelve Horváth Mónikát, aki számtalan egyéb területen is segítségemre volt.

Köszönetet mondok a statisztikai számítások és ábrák elkészítéséért Dr. Wolfgang Schimettának, Dr. Parádi-Dolgos Anettnek és Dr. Sipiczki Zoltánnak.

Köszönöm Győriné Korom Viktóriának az értekezés formai ellenőrzését és javítását.

Köszönöm továbbá közleményeim társszerzőinek, hogy hozzájárultak azok létrejöttéhez és köszönöm munkatársaimnak, hogy a mindennapi munkámat segítették.

Hálával tartozom feleségemnek, aki mindvégig mellettem állt, kitartásra ösztönzött és tevékeny részt vett az értekezés létrejöttében.

10. Kulcsszavak, Keywords

Kulcsszavak: esszenciális trombocitémia, HUMYPRON regiszter, trombózis rizikó, anagrelid, hidroxiurea + acetilszalicilsav, progresszió, túlélés

Keywords: essential trombocitémia, HUMYPRON registry, thrombotic risk, anagrelide, hidroxyurea + acetylsalicylic acid, progression, survival

11. Függelék

Közlemények listája:



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/78/2021.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kellner Ádám

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kellner, Á.**, Kellner, V., Rajnics, P., Karádi, É., Illés, Á., Udvardy, M., Homor, L., Dombi, P., Herczeg, J., Sipiczki, Z., Győriné, K. V., Egyed, M.: Analysis of Thrombosis Risk Stratification Models Based on 10 Years Follow Up of 237 Essential Thrombocythemia Patients. *J. Blood & Lymph.* 11 (2), 1-7, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.24105/21657831.11.251>
2. **Kellner, Á.**, Dombi, P., Illés, Á., Demeter, J., Homor, L., Ercsei, I., Simon, Z., Karádi, É., Herczeg, J., Győriné, K. V., Gasztanyi, Z., Szerafin, L., Udvardy, M., Egyed, M.: Anagrelide influences thrombotic risk, and prolongs progression-free and overall survival in essential thrombocythaemia vs hydroxyurea plus aspirin. *Eur. J. Haematol.* 105 (4), 408-418, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/ejh.13459>
IF: 2.22 (2019)
3. Rajnics, P., **Kellner, Á.**, Karádi, É., Moizs, M., Bödör, C., Király, P. A., Marosvári, D., Andrikovics, H., Egyed, M.: Increased Lipocalin 2 level may have important role in thrombotic events in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Leuk. Res.* 48, 101-106, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2016.04.016>
IF: 2.501

További közlemények

4. Kurdi, B., Mezei, Z. A., **Kellner, Á.**, Egyed, M.: Thalassaemiás betegen észlelt anaemia perniciososa: a diagnózis nehézségei. *Orv. hetil.* 159 (33), 1368-1371, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2018.31097>
IF: 0.564





5. Dombi, P., Illés, Á., Demeter, J., Homor, L., Simon, Z., Udvardy, M., Karádi, É., **Kellner, Á.**,
Egyed, M.: Philadelphia-negatív krónikus Myeloproliferatív Neoplasia Magyarországi
Regiszter.
Orvosi Hetilap. 158 (3), 111-116, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2017.30638>
IF: 0.322
6. Dombi, P., Andrikovics, H., Illés, Á., Demeter, J., Homor, L., Simon, Z., Udvardy, M., **Kellner, Á.**,
Egyed, M.: Thromboembolic Events in Polycythaemia Vera Patients: an Audit of the
Hungarian Philadelphia Negative Chronic Myeloproliferative Neoplasia Register.
J. Clin. Exp. Oncol. 6 (1), 1-7, 2016.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 5,607

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
4,721**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai
ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján
elvégezte.

Debrecen, 2021.03.02.



Táblázatok, ábrák:

1. táblázat: A mieloproliferatív neoplasiák osztályozása a 2016-os WHO szerint: 7. oldal
 2. táblázat: Az esszenciális trombocitémia 2016-os WHO diagnosztikai kritériumai: 11. oldal
 3. táblázat: Az IPSET-survival modell: 12. oldal
 4. táblázat: ET trombózis rizikó és terápia Landolfi szerint: 13. oldal
 5. táblázat: Az IPSET-trombózis rizikóbecslés: 14. oldal
 6. táblázat: Az anagrelid és hidroxiurea + acetilszalicilsav kezelésben részesült ET betegek jellemzői: 25. oldal
 7. táblázat: Az ET diagnózist követő tromboembóliás eseményeket befolyásoló tényezők: 29. oldal
 8. táblázat: Az ET diagnózist követő tromboembóliás események előfordulását befolyásoló tényezők: 30. oldal
 9. táblázat: A Landolfi-, IPSET- és R-IPSET rizikórendszerek megbízhatósága: 34. oldal
 10. táblázat: A szekunder malignitások előfordulását befolyásoló tényezők: 35. oldal
 11. táblázat: A progresszió-mentes túlélést befolyásoló tényezők: 38. oldal
 12. táblázat: A teljes túlélést befolyásoló tényezők: 41. oldal
 13. táblázat: CALR mutáció jelenlétének értékelése: 44. oldal
 14. táblázat: A lipokalin-2 alvizsgálat során vizsgált 74 MPN betegnél előforduló TE eseményeket befolyásoló tényezők: 45. oldal
 15. táblázat: Az alacsony (<30) és a magas (>30) relatív LCN2 génexpresszióval bíró betegek karakterisztikái: 46. oldal
 16. táblázat: A relatív LCN2 génexpresszió, valamint egyéb klinikai és laboratóriumi paraméterek hatásának vizsgálata a trombotikus eseményekre: 47. oldal
-
1. ábra: ET trombózis rizikó és terápia Tefferi szerint (R-IPSET): 15. oldal
 2. ábra: A tromboembóliás események fenotípus szerinti megoszlása az ET diagnózisa előtt és azt követően: 26. oldal
 3. ábra: A tromboembóliás események időbeli előfordulása az ET diagnózisához viszonyítva: 27. oldal
 4. ábra: A tromboembóliás események előfordulása a Landolfi rizikócsoportokban: 31. oldal
 5. ábra: A tromboembóliás események előfordulása az IPSET rizikócsoportokban: 32. oldal
 6. ábra: A tromboembóliás események előfordulása az R-IPSET rizikócsoportokban: 33. oldal
 7. ábra: Szekunder malignitások megjelenése a terápiás csoportokban: 35. oldal

8. ábra: ET betegség-transzformációk terápiás csoportok szerint: 36. oldal
9. ábra: Kaplan-Meier progresszió-mentes túlélés analízis: anagrelid vs. hidroxiurea+ASA: 38. oldal
10. ábra: A halálokok megoszlása a terápiás csoportokban: 39. oldal
11. ábra: Kaplan-Meier túlélés analízis: anagrelid vs. hidroxiurea+acetilszalicilsav: 41. oldal
12. ábra: A halálesetek aránya az IPSET-survival rizikócsoportok szerint: 42. oldal
13. ábra: A lipokalin-2 alvizsgálat során analizált betegek relatív LCN2 génexpressziós szintjei: 48. oldal