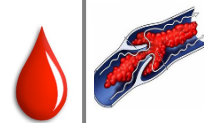




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών  
ΘΡΟΜΒΩΣΗ – ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ – ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΓΙΣΕΩΝ

*Διπλωματική Εργασία*  
«Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΕ  
ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ»

ΟΝΟΜΑ : ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΚΟΨΑΥΤΟΠΟΥΛΟΥ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ: 20201501

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : Θεόδωρος Π. Βασιλακόπουλος, Καθηγητής Αιματολογίας

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....                                                                                                     | 4  |
| SUMMARY .....                                                                                                      | 6  |
| A. ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ .....                                                                                | 9  |
| 1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ-ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ .....                                                                             | 9  |
| 2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ .....                                                                                                | 13 |
| 3. ΑΛΛΗΛΟΠΕΙΚΑΛΥΠΤΟΜΕΝΕΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ<br>ΤΩΝ BCR/ABL ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ<br>..... | 19 |
| 4. ΠΡΟΓΝΩΣΗ.....                                                                                                   | 22 |
| 5. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΥΝ.....                                                                                               | 26 |
| B. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ-ΘΡΟΜΒΩΣΗ .....                                                                                        | 33 |
| 1. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΗΞΗΣ.....                                                                                    | 34 |
| 2. ΑΝΟΣΟΘΡΟΜΒΩΣΗ (IMMUNOTHROMBOSIS): .....                                                                         | 43 |
| ΟΡΣΙΜΟΣ- ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ .....                                                                                        | 43 |
| ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....                                                                                                 | 44 |
| A. ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ<br>ΝΟΣΗΜΑΤΑ- ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....                                  | 44 |
| ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΕ ΜΥΝ.....                                                                          | 45 |
| B. ΓΕΝΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΑ<br>ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ.....                                             | 49 |
| Γ. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΟΣΟΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ<br>ΝΟΣΗΜΑΤΑ.....                                                | 51 |
| Γενικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί ανοσοθρόμβωσης .....                                                           | 51 |
| 1. Ο ρόλος των λευκών αιμοσφαιρίων και των NETs στην<br>ανοσοθρόμβωση σε ΜΥΝ.....                                  | 56 |
| 2. Αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων-ουδετεροφίλων και αιμοπεταλίων-<br>μονοκυττάρων στην ανοσοθρόμβωση σε ΜΥΝ.....       | 60 |
| 3. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων.....                                                                                   | 61 |
| 6. Ο ρόλος των ερυθροκυττάρων.....                                                                                 | 66 |
| 7. Ο ρόλος των ενδοθηλιακών κυττάρων.....                                                                          | 66 |
| 8. ρόλος των εξωκυττάρων κυστιδίων (extracellular vesicles, EV).....                                               | 68 |
| 9. Ο ρόλος των παραγόντων πήξης.....                                                                               | 69 |
| Δ. ΠΡΟΛΗΨΗ-ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΥΝ .....                                                                    | 70 |
| Α. Πρωτογενής πρόληψη της θρόμβωσης.....                                                                           | 70 |
| Β. Επίδραση της θεραπείας των ΜΥΝ στα NETs.....                                                                    | 79 |

|                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Γ. Δευτερογενής πρόληψη της θρόμβωσης στα MYN .....</i>                         | <i>80</i> |
| <i>Δ. Μελλοντικές θεραπείες για πρόληψη και θεραπεία της θρόμβωσης σε MYN.....</i> | <i>84</i> |
| ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....                                                                  | 86        |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....                                                                  | 89        |

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα Μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα (MYN) είναι κλωνικές νεοπλασματικές διαταραχές του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου με αποτέλεσμα τη μυελική υπερπλασία και την άλλοτε διαφορετικού βαθμού λευκοκυττάρωση, ερυθροκυττάρωση ή/και θρομβοκυττάρωση. Η αληθής πολυκυτταραιμία (polycythemia vera, PV), η ιδιοπαθής θρομβοκυττάρωση (essential thrombocytosis, ET) και η μυελοϊνώση (myelofibrosis, MF) αποτελούν τα κλασσικά BCR/ABL αρνητικά μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα σύμφωνα με την ταξινόμηση της WHO (World Health Organization) του 2022, και αν και διαφορετικές νοσολογικές οντότητες μοιράζονται πολλά κοινά παθοφυσιολογικά, εργαστηριακά και κλινικά γνωρίσματα. Η πρόσφατη ανακάλυψη της «οδηγού μετάλλαξης» JAK2V617F που οδηγεί σε υπέρμετρη ενεργοποίηση του μονοπατίου ενδοκυττάριας σηματοδότησης JAK/STAT, καθώς και άλλων λιγότερων συχνών «οδηγών μεταλλάξεων» με αντίστοιχο παθοφυσιολογικό αντίκτυπο (CALR, MPL, JAK2 exon 12), έχει συμβάλλει σημαντικά στην κατανόηση του παθογενετικού μηχανισμού τους.

Τα MYN χαρακτηρίζονται από κίνδυνο ινωτικής ή λευχαιμικής εκτροπής καθώς και από αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο. Η αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση αποτελούν την κύρια αιτία νοσηρότητας και θνητότητας των ασθενών. Τα MYN χαρακτηρίζονται από διπλάσιο θρομβωτικό κίνδυνο σε σχέση με τις δευτεροπαθείς καταστάσεις που προκαλούν ερυθροκυττάρωση ή/και θρομβοκυττάρωση. Επιπλέον, σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, οι ασθενείς με MYN παρουσιάζουν 3 φορές έως και 10 φορές υψηλότερο κίνδυνο αρτηριακής και φλεβικής θρόμβωσης αντίστοιχα, ενώ αυξημένος είναι και ο κίνδυνος υποτροπής της θρόμβωσης στους ασθενείς αυτούς.

Αποδεδειγμένοι κλινικοί παράγοντες κινδύνου θρόμβωσης αποτελούν η ηλικία >60 ετών, το ιστορικό θρόμβωσης, οι καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου και η παρουσία της μετάλλαξης JAK2V617F, οι οποίοι συνεισφέρουν στην διαστρωμάτωση κινδύνου των ασθενών και στο σχεδιασμό της θεραπευτικής στρατηγικής. Ωστόσο, η ακριβής πρόβλεψη του θρομβωτικού κινδύνου αποτελεί ακόμη μια πρόκληση καθώς δεν υπάρχουν επαρκείς προβλεπτικοί βιοδείκτες.

Οι παθογενετικοί μηχανισμοί που υπεισέρχονται στη θρομβωτική διάθεση στα MYN είναι πολύπλοκοι και δεν έχουν διαλευκανθεί πλήρως επί του παρόντος. Περιλαμβάνουν σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυτταρικών στοιχείων του

αίματος, των πλασματικών παραγόντων πήξης (μικροσωματίδια, φυσικοί ανασταλτές), των ενδοθηλιακών κυττάρων και των μεσολαβητών της φλεγμονής. Στα MYN τα έμμορφα στοιχεία του αίματος (λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια, ερυθρά αιμοσφαίρια) είναι αυξημένα σε αριθμό αλλά παράλληλα φέρουν και ποιοτικές μεταβολές που συνεισφέρουν σε έναν ενεργοποιημένο προθρομβωτικό φαινότυπο. Οι οδηγές μεταλλάξεις των MYN ενισχύουν το θρομβωτικό περιβάλλον ενώ η χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση που υπάρχει προάγει περαιτέρω την κλωνική επέκταση της νόσου, δημιουργώντας μια ανατροφοδοτούμενη αλυσίδα θρόμβωσης-φλεγμονής.

Πρόσφατα έχει περιγραφεί ο ρόλος της διαδικασίας της ανοσοθρόμβωσης (immunothrombosis) ως παθογενετικός μηχανισμός θρόμβωσης σε διάφορες καταστάσεις όπως η στεφανιαία νόσος και τα αυτοάνοσα νοσήματα. Η διαδικασία αυτή συνδέει τη φυσική ανοσία με τη θρόμβωση ως επικουρικός μηχανισμός της φυσικής ανοσίας για τον περιορισμό της εξάπλωσης παθογόνων-εισοβολέων. Η ανοσοθρόμβωση προάγεται κυρίως από ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα που σχηματίζουν NETs, και από μονοκύτταρα και υποστηρίζεται από τη δημιουργία μικροθρόμβων σε μικρά αγγεία. Ο ρόλος των ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων στη θρόμβωση στα MYN έχει υποστηρηχθεί σε πολλές μελέτες που δείχνουν την αυξημένη κυκλοφορία στο πλάσμα δεικτών ενεργοποίησης και πρωτεολυτικών ενζύμων των ουδετεροφίλων. Όσον αφορά πιο συγκεκριμένα στο μηχανισμό της ανοσοθρόμβωσης, τα δεδομένα είναι λιγότερα, εντούτοις υποστηρίζουν την αυξημένη NETωση στους ασθενείς αυτούς, καθώς και την αυξημένη αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων που πυροδοτεί τη δημιουργία NETs. Επιπλέον, στη διαδικασία αυτή συμβάλλει η ενισχυμένη αλληλεπίδραση μονοκυττάρων-αιμοπεταλίων καθώς και η αυξημένη πρόσδεση των λευκών αιμοσφαιρίων στο δυσλειτουργικό ενδοθήλιο το οποίο συχνά συμμετέχει στον κακοήθη κλώνο.

Όσον αφορά στην πρόληψη της θρόμβωσης στα MYN, οι τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν με βάση τη διαστρωμάτωση κινδύνου, την αφαίμαξη στην περίπτωση της PV και τη χορήγηση χαμηλής δόσης ασπιρίνης με ή χωρίς την έναρξη αγωγής κυτταρομείωσης. Όσον αφορά στη δευτερογενή προφύλαξη έναντι υποτροπής, τα δεδομένα είναι λιγότερα και χαμηλότερης ισχύος, προκρίνοντας στις περισσότερες περιπτώσεις την επ' αόριστο λήψη αντιπηκτικής αγωγής με αναστολείς βιταμίνης K ή με νεότερα από του στόματος αντιπηκτικά (DOACs) με εξατομικευμένη προσέγγιση.

Τέλος, η περαιτέρω κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών της θρόμβωσης στα MYN και η ακριβέστερη περιγραφή της συνεισφοράς της ανοσοθρόμβωσης σε αυτήν αποτελούν σημαντικό ερευνητικό πεδίο που θα συμβάλλει στην πιθανή ανάδειξη νέων βιοδεικτών για ακριβέστερη πρόβλεψη του θρομβωτικού κινδύνου και θεραπευτικών στόχων για την πρόληψη και την αντιμετώπιση των θρομβωτικών επιπλοκών των ασθενών.

## SUMMARY

Myeloproliferative diseases (MPNs) are clonal neoplastic disorders of the progenitor hematopoietic stem cell resulting in myeloid hyperplasia and varying degrees of peripheral leukocytosis, erythrocytosis and/or thrombocytosis. Polycythemia vera (PV), essential thrombocytosis (ET) and myelofibrosis (MF) are the classic BCR/ABL negative myeloproliferative diseases according to the WHO (World Health Organization) 2022 classification, and although different nosological entities share many common pathophysiological, laboratory and clinical features. The recent discovery of the JAK2V617F “driver mutation” leading to overactivation of the JAK/STAT intracellular signaling pathway, as well as other less frequent “driver mutations” with corresponding pathophysiological impact (CALR, MPL, JAK2 exon 12), has contributed significantly to the understanding of their pathogenic mechanism.

MPNs are characterized by a risk of fibrotic or leukemic transformation, as well as an increased thrombotic risk. Arterial or venous thrombosis is the main cause of morbidity and mortality in these patients. MPNs are characterized by twice the thrombotic risk compared to secondary conditions that cause erythrocytosis and/or thrombocytosis. In addition, compared to the general population, patients with MPN have a 3-fold to 10-fold higher risk of arterial and venous thrombosis, and there is also an increased risk of recurrence of thrombosis. Proven clinical risk factors for thrombosis are age >60 years, history of thrombosis, cardiovascular risk factors and the presence of the JAK2V617F mutation, which contribute to the risk stratification and the design of the therapeutic strategy.

However, accurate prediction of thrombotic risk is still a challenge as there are no adequate predictive biomarkers.

The pathogenic mechanisms involved in thrombotic disposition in MPN are complex and not fully elucidated at present. They involve complex interactions between cellular components of the blood, plasma clotting factors (microparticles, natural inhibitors), endothelial cells, and inflammatory mediators. In MPN, the cellular elements of the blood (white blood cells, platelets, red blood cells) are increased in number but at the same time they also carry qualitative changes that contribute to an activated prothrombotic phenotype. MPN driver mutations enhance the thrombotic milieu while the chronic inflammatory state that exists further promotes the clonal expansion of the disease, creating a thrombo-inflammatory feedback loop.

Recently, the role of the immunothrombosis process has been described as a pathogenic mechanism of thrombosis in various conditions such as coronary artery disease and autoimmune diseases. This process links innate immunity to thrombosis as an adjunctive mechanism of innate immunity to limit the spread of invading pathogens. Immunothrombosis is promoted mainly by neutrophils that form NETs (Neutrophil extracellular traps), and by monocytes and is supported by microthrombi formation in small vessels. The role of activated leukocytes in thrombosis in MPNs has been supported by several studies showing increased plasma circulation of neutrophil activation markers and proteolytic enzymes. Regarding more specifically the mechanism of immunothrombosis, data are less, however, they support increased NETosis in these patients, as well as increased platelet-leukocyte interaction that triggers the formation of NETs. In addition, enhanced monocyte-platelet interaction as well as increased binding of white blood cells to the dysfunctional endothelium that often participates in the malignant clone contribute to this process.

Regarding the prevention of thrombosis in MPN, current guidelines recommend, based on risk stratification, phlebotomy in the case of PV and the administration of low-dose aspirin with or without the initiation of cytoreductive therapy. Regarding secondary prophylaxis against relapse, data are fewer and of lower power, favoring in most cases indefinite anticoagulation with vitamin K antagonists or newer direct oral anticoagulants (DOACs) with an individualized approach.

Finally, the further understanding of the pathophysiological mechanisms of thrombosis in MPN and the more precise description of the contribution of immunothrombosis to it are an important research field that will contribute to the

possible emergence of new biomarkers for more accurate prediction of thrombotic risk and therapeutic targets for the prevention and treatment of thrombotic complications of patients.

# **A. ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

## **1. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ-ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ**

Τα μυελοΐπερπλαστικά νοσήματα (MYN/Myeloproliferative neoplasms, MPN) αποτελούν μια ευρεία ομάδα κλωνικών διαταραχών του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου, τα οποία χαρακτηρίζονται από πολλαπλασιασμό πρόδρομων κυττάρων της μυελικής σειράς στο μυελό των οστών. Αυτός ο πολλαπλασιασμός έχει ως αποτέλεσμα αυξημένο αριθμό ερυθροκυττάρων, αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων στην κυκλοφορία του αίματος. Τα MYN συχνά ταξινομούνται με βάση τη μοριακή βλάβη-οδηγό που συντελεί στην εμφάνισή τους : BCR/ABL θετική Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία (ΧΜΛ), BCR/ABL αρνητικά κλασσικά MYN (αληθής πολυκυτταραιμία, ιδιοπαθής θρομβοκυττάρωση και μυελοϊνωση) και άλλα μη κλασσικά MYN που παρουσιάζουν σπανιότερες μοριακές βλάβες (χρόνια ουδετεροφιλική λευχαιμία, χρόνια ηωσινοφιλική λευχαιμία) καθώς και αταξινόμητα μυελοΐπερπλαστικά νοσήματα που χαρακτηρίζονται από μυελική υπερπλασία αλλά δεν ταξινομούνται σαφώς σε κάποια νοσολογική κατηγορία. Στον πίνακα 1 φαίνεται η τρέχουσα ταξινόμηση του 2022 των MYN και σχετικών διαταραχών με βάση τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organisation, WHO) (1). Η Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία αποτελεί διακριτή κλινική οντότητα με παθογενετικά, κλινικά και θεραπευτικά χαρακτηριστικά που διαφέρουν από τα υπόλοιπα MYN και δεν θα περιληφθεί στην τρέχουσα βιβλιογραφική ανασκόπηση.

Τα κλασσικά BCR/ABL (χρωμόσωμα Φιλαδέλφεια) αρνητικά Μυελουπερπλαστικά νοσήματα αποτελούν η αληθής πολυκυτταραιμία (polycythemia vera, PV), η ιδιοπαθής θρομβοκυττάρωση (essential thrombocythemia, ET) και η πρωτοπαθής μυελοϊνωση (myelofibrosis, MF). Μολονότι διακριτές νοσολογικές οντότητες, έχουν παρόμοια παθοφυσιολογία, μορφολογία του μυελού των οστών, εργαστηριακά ευρήματα και κλινικό φαινότυπο. Όσον αφορά στην κλινική εικόνα, συχνά παρουσιάζουν συστηματικά συμπτώματα (κόπωση, εφιδρώσεις, εμπύρετο, κνησμό) που επηρεάζουν την ποιότητα ζωής, αυξημένο κίνδυνο θρόμβωσης, εξωμυελική αιμοποίηση με αποτέλεσμα σπληνομεγαλία και ηπατομεγαλία, καθώς και την πιθανότητα εμφάνισης ίνωσης μυελού (μετάπτωση σε μυελοϊνωση) και εκτροπής σε οξεία μυελογενή λευχαιμία. <sup>(1, 2)</sup>.

Στον πίνακα 2 περιγράφονται τα κριτήρια διάγνωσης για κάθε ένα από τα κλασσικά MYN με βάση την ταξινόμηση του 2022 της WHO. <sup>(1)</sup>

**Πίνακας 1: Μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα σύμφωνα με την ταξινόμηση της WHO 2022**

|                                                                                                                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Χρόνια μυελογενής λευχαιμία (Chronic myeloid leukaemia, CML)                                                           |
| 2. Αληθής πολυκυτταραιμία (Polycythaemia vera, PV)                                                                        |
| 3. Ιδιοπαθής θρομβοκυττάρωση (Essential thrombocythaemia, ET)                                                             |
| 4. Πρωτοπαθής μυελοϊνωση (Primary myelofibrosis, PMF)                                                                     |
| 5. Χρόνια ουδετεροφιλική λευχαιμία (Chronic neutrophilic leukaemia, CNL)                                                  |
| 6. Χρόνια ηωσινοφιλική λευχαιμία (Chronic eosinophilic leukaemia, CEL)                                                    |
| 7. Νεανική μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (Juvenile myelomonocytic leukaemia, JMML)                                         |
| 8. Μυελοϋπερπλαστικό νεόπλασμα, μη αλλιώς προσδιοριζόμενο (Myeloproliferative neoplasm, not otherwise specified, MPN NOS) |

**Πίνακας 2. Κριτήρια διάγνωσης MYN- 2016 WHO classification**

**Διαγνωστικά κριτήρια Αληθούς πολυκυτταραιμίας (PV)**

Η διάγνωση απαιτεί είτε τα 3 μείζονα κριτήρια είτε τα 2 πρώτα μείζονα και το 1 έλασσον

**ΜΕΙΖΟΝΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ**

1. **Αυξημένη αιμοσφαιρίνη** Hb>16,5g/dl σε άνδρες, >16 g/dl σε γυναίκες ή Hct>49% σε άνδρες, >48% σε γυναίκες ή **αυξημένη μάζα ερυθρών αιμοσφαιρίων >25% από την μέση φυσιολογική τιμή**
2. Οστεομυελική βιοψία που δείχνει: αυξημένη για την ηλικία κυτταροβρίθεια μετριγραμμική αύξηση (πανμυέλωση), με προέχουσα ερυθροκυτταρική, κοκκιοκυτταρική και μεγακαρυοκυτταρικό υπερπλασία με πλειόμορφα, ώριμα μεγακαρυοκύτταρα (διαφορετικού μεγέθους)
3. **Παρουσία JAKV617F ή JAK exon 12 μετάλλαξης**

**ΕΛΑΣΣΟΝ ΚΡΙΤΗΡΙΟ**

1. Επίπεδα ερυθροποιητίνης ορού χαμηλότερα του φυσιολογικού

**\*Το 2<sup>ο</sup> μείζον κριτήριο της οστεομυελικής βιοψίας μπορεί να μην απαιτείται σε ασθενείς με εμμένονσα απόλυτη ερυθροκυττάρωση (Hb>18,5 g/dl σε άνδρες ή >16,5 g/dl σε γυναίκες, ή Hct>55,5% σε άνδρες ή >49,5% σε γυναίκες), αν το μείζον κριτήριο 3 και το έλασσον κριτήριο πληρούνται. Ωστόσο η αρχική μυελοϊνωση (παρούσα μέχρι και σε 20% των ασθενών) μπορεί να διαπιστωθεί μόνο με οστεομυελική βιοψία, εύρημα που μπορεί να προβλέψει ταχύτερη εξέλιξη σε εμφανή, τελικού σταδίου (overt) μυελοϊνωση.**

### Διαγνωστικά κριτήρια Ιδιοπαθούς θρομβοκυττάρωσης (ET)

Η διάγνωση απαιτεί είτε όλα τα μείζονα είτε τα 3 πρώτα μείζονα και το έλασσον κριτήριο

#### ΜΕΙΖΟΝΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ

1. Αριθμός αιμοπεταλίων  $\geq 450.000/\mu\text{L}$
2. Οστεομυλική βιοψία με υπερπλασία κυρίως της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς, με αυξημένο αριθμό μεγάλων, ώριμων μεγακαρυοκυττάρων με πολύλοβους πυρήνες, χωρίς ιδιαίτερη αύξηση ούτε αριστερή στροφή της κοκκιδόδους ούτε της ερυθράς σειράς, πολύ σπάνια μικρή (βαθμού 1<sup>α</sup>) αύξηση στις ίνες ρετικουλίνης
3. Δεν πληρούνται τα κριτήρια της WHO για BCR/ABL θετική ΧΜΛ, αληθή πολυκυτταραιμία, πρωτοπαθή μυελοϊνωση ή άλλες μυελικές νεοπλασίες
4. Παρουσία JAK2, CALR ή MPL μετάλλαξης

#### ΕΛΑΣΣΟΝ ΚΡΙΤΗΡΙΟ

1. Παρουσία άλλου δείκτη κλωνικότητας ή απουσία ένδειξης αντιδραστικής θρομβοκυττάρωσης

### Διαγνωστικά κριτήρια πρωτοπαθούς μυελοϊνωσης, αρχική/προ-ινωτική μορφή (early/prefibrotic MF)

Η διάγνωση απαιτεί να πληρούνται όλα τα (3) μείζονα κριτήρια και τουλάχιστον 1 έλασσον κριτήριο

#### ΜΕΙΖΟΝΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ

1. Μεγακαρυοκυτταρική υπερπλασία και ατυπία, συνοδευόμενη από αυξημένη για την ηλικία κυτταροβρίθεια του μυελού, κοκκιδώδης υπερπλασία και (συχνά) μειωμένη ερυθρά σειρά, χωρίς ίνωση ρετικουλίνης βαθμού  $>1^{\text{α}}$
2. Δεν πληρούνται τα κριτήρια της WHO για BCR/ABL θετική ΧΜΛ, αληθή πολυκυτταραιμία, ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση, μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο ή άλλες μυελικές νεοπλασίες
3. JAK2, CALR ή MPL μετάλλαξη ή

Παρουσία ενός άλλου δείκτη κλωνικότητας \* ή

Απουσία αντιδραστικής ίνωσης ρετικουλίνης του μυελού\*\*

#### ΕΛΑΣΣΟΝΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ

Παρουσία τουλάχιστον 1, επιβεβαιωμένου με 2 διαφορετικές μετρήσεις

1. Αναιμία μη αποδιδόμενη σε συνυπάρχουσα πάθηση
2. Λευκοκυττάρωση  $\geq 11.000/\mu\text{L}$
3. Ψηλαφητή σπληνομεγαλία
4. LDH μεγαλύτερη του ανώτερου φυσιολογικού ορίου του εργαστηρίου

## Διαγνωστικά κριτήρια πρωτοπαθούς μυελοϊνώσεως σε εμφανή ινωτική φάση (overt MF)

Η διάγνωση απαιτεί όλα τα μείζονα κριτήρια και τουλάχιστον 1 έλασσον κριτήριο

### ΜΕΙΖΟΝΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ

1. Μεγακαρυοκυτταρική υπερπλασία και ατυπία συνοδευόμενη από ίνωση ρετικουλίνης ή/και κολλαγόνου, βαθμού 2 ή 3<sup>a</sup>
2. Δεν πληρούνται τα κριτήρια της WHO για BCR/ABL θετική ΧΜΛ, αληθή πολυκυτταραιμία, ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση, μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο ή άλλες μυελικές νεοπλασίες
3. JAK2, CALR ή MPL μετάλλαξη ή  
Παρουσία ενός άλλου δείκτη κλωνικότητας \* ή  
Απουσία αντιδραστικής ίνωσης ρετικουλίνης του μυελού\*\*

### ΕΛΑΣΣΟΝΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ

Παρουσία τουλάχιστον 1, επιβεβαιωμένου με 2 διαφορετικές μετρήσεις

1. Αναιμία μη αποδιδόμενη σε συνυπάρχουσα πάθηση
2. Λευκοκυττάρωση  $\geq 11.000/\mu\text{L}$
3. Ψηλαφητή σπληνομεγαλία
4. LDH μεγαλύτερη του ανώτερου φυσιολογικού ορίου του εργαστηρίου
5. Λευκοερυθροβλαστική αντίδραση στο επίχρισμα αίματος

\*Άλλες μεταλλάξεις που σχετίζονται με μυελικές νεοπλασίες (π.χ. *ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, *SRSF2*, *SFEB1*).

\*\*Αντιδραστική ίνωση σε περιπτώσεις λοίμωξης, αυτοάνοσης διαταραχής ή άλλων χρόνιων φλεγμονωδών καταστάσεων, λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων ή άλλη λεμφική νεοπλασία, μεταστατική κακοήθεια ή τοξικές μυελοπάθειες.

Αναγνωρίζοντας τα διακριτά κλινικά, εργαστηριακά και ιστολογικά τους ευρήματα, πρώτος ο William Dameshek χρησιμοποίησε τον όρο μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα το 1951, περιλαμβάνοντας την αληθή πολυκυτταραιμία, την ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση και την πρωτοπαθή μυελοϊνώση. Ο Dameshek επιπλέον υπέθεσε μία κοινή παθογένεια, οφειλόμενη στην παρουσία ενός «μυελο-κινητοποιού παράγοντα». Το 2005 η υπόθεση του Dameshek επιβεβαιώθηκε με την ανακάλυψη της ενεργοποιού σημειακής μετάλλαξης της Janus κινάσης (JAK2) V617F (3,4,5). Η συγκεκριμένη ανακάλυψη σηματοδότησε μία νέα εποχή στη διερεύνηση και κατανόηση αυτών των σύνθετων διαταραχών. Η μοριακή γενετική βάση των κλασσικών MYN του Dameshek έχει χαρακτηριστεί επαρκώς έκτοτε. Σημειακές μεταλλάξεις που

ενεργοποιούν την JAK2 υπάρχουν σχεδόν σε όλους τους ασθενείς με αληθή πολυκυτταραιμία (PV) καθώς και σε ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών με ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση (ET) και πρωτοπαθή μυελοϊνώση (MF). Μεταλλάξεις του γονιδίου της καλρετικουλίνης (calreticulin, CALR) ανευρίσκονται σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με JAK2V617F-αρνητική ET και MF <sup>(6)</sup>. Σημειακές μεταλλάξεις στο εξώνιο 12 του JAK2 γονιδίου παρατηρούνται λιγότερο συχνά σε ασθενείς με JAK2V617F-αρνητική PV <sup>(7)</sup>, ενώ το ίδιο ισχύει και για μεταλλάξεις στο γονίδιο MPL (myeloproliferative-leukemia) σε ασθενείς με ET και MF <sup>(8)</sup>. Μία από αυτές τις τρεις «οδηγές» μεταλλάξεις στο JAK2, CALR, MPL ανευρίσκεται στην πλειοψηφία των ασθενών με PV, ET, MF. Όλες οι ανωτέρω μοριακές μεταλλάξεις καταλήγουν στην ενεργοποίηση του JAK-STAT μονοπατίου ενδοκυττάριας σηματοδότησης. Οι οδηγές μεταλλάξεις είναι συνήθως αμοιβαία αποκλειόμενες. Ωστόσο, σπάνια υπάρχουν ασθενείς που φέρουν δύο ξεχωριστές οδηγές μεταλλάξεις. Τέλος, σπάνιες περιπτώσεις όπου δεν παρατηρείται μετάλλαξη σε κάποιο από αυτά τα τρία οδηγά γονίδια αποτελούν τα «τριπλά-αρνητικά» μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα <sup>(9)</sup>.

## 2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η απορρύθμιση της σηματοδότησης μέσω του μεταγραφικού μονοπατιού JAK/STAT με προεξάρχουσα την απορύθμιση του γονιδίου JAK2, έχει αναδειχθεί ως ο κεντρικός φαινοτυπικός οδηγός για την εμφάνιση των BCR/ABL αρνητικών MYN ενώ επίσης έχει αναδειχθεί ως κύριος θεραπευτικός στόχος. Επιπλέον, τα MYN εμφανίζουν απροσδόκητες διαβαθμίσεις γενετικής πολυπλοκότητας, με πολλαπλές γενετικές διαταραχές να σχετίζονται με την πρόοδο νόσου, με αλληλεπιδράσεις μεταξύ κληρονομικών παραγόντων και επίκτητων οδηγών μεταλλάξεων και με αποτελέσματα σχετιζόμενα με την σειρά με την οποία συνέβησαν οι επίκτητες μεταλλάξεις. Επειδή σε μεγάλο βαθμό η εμφάνισή τους οφείλεται σε επίκτητες οδηγές μεταλλάξεις στο DNA των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, παρακάτω θα αναλυθούν οι συχνότερες και καλά περιγεγραμμένες οδηγές μεταλλάξεις (πίνακας 3) <sup>(10)</sup>.

**Πίνακας 3** Οι συχνότερες επίκτητες, σωματικές μεταλλάξεις σε ασθενείς με PV,ET,MF.

| <b>Γονίδιο</b>      | <b>Αποτέλεσμα μετάλλαξης</b> | <b>PV<br/>(%συχνότητα)</b> | <b>ET<br/>(%συχνότητα)</b> | <b>MF<br/>(%συχνότητα)</b> |
|---------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>JAK2V617F</b>    | JAK/STAT signaling           | 95-97                      | 50-60                      | 50-60                      |
| <b>JAK2 exon 12</b> | JAK/STAT signaling           | 1-2                        | 0                          | 0                          |
| <b>CALR</b>         | JAK/STAT signaling           | 0                          | 25                         | 30                         |
| <b>MPL</b>          | JAK/STAT signaling           | 0                          | 3-5                        | 5-10                       |
| <b>CBL</b>          | JAK/STAT signaling           | Σπάνιο                     | Σπάνιο                     | 5-10                       |
| <b>SH2B3/LNK</b>    | JAK/STAT signaling           | 1-2                        | 3-6                        | 3-6                        |
| <b>ASXL1</b>        | Επιγενετική τροποποίηση      | 2                          | 2-5                        | 10-35                      |
| <b>EZH2</b>         | Επιγενετική τροποποίηση      | 1-2                        | 1-2                        | 7-10                       |
| <b>IDH-1/2</b>      | Επιγενετική τροποποίηση      | 1-2                        | 1-2                        | 5-6                        |
| <b>DNMT3A</b>       | Επιγενετική τροποποίηση      | 5-10                       | 1-5                        | 8-12                       |
| <b>TET2</b>         | Επιγενετική τροποποίηση      | 10-20                      | 5                          | 10-20                      |
| <b>SF3B1</b>        | Μάτισμα mRNA                 | 2                          | 2                          | 5                          |
| <b>SRSF2</b>        | Μάτισμα mRNA                 | Σπάνιο                     | Σπάνιο                     | 5-17                       |
| <b>U2AF1</b>        | Μάτισμα mRNA                 | Σπάνιο                     | Σπάνιο                     | 16                         |
| <b>ZRSR2</b>        | Μάτισμα mRNA                 | Σπάνιο                     | Σπάνιο                     | 1                          |
| <b>TP53</b>         | Επιδιόρθωση DNA              | Σπάνιο                     | Σπάνιο                     | Σπάνιο                     |

mRNA:messenger RNA, αγγελιοφόρο RNA

Πηγή: ASH-SAP 2022

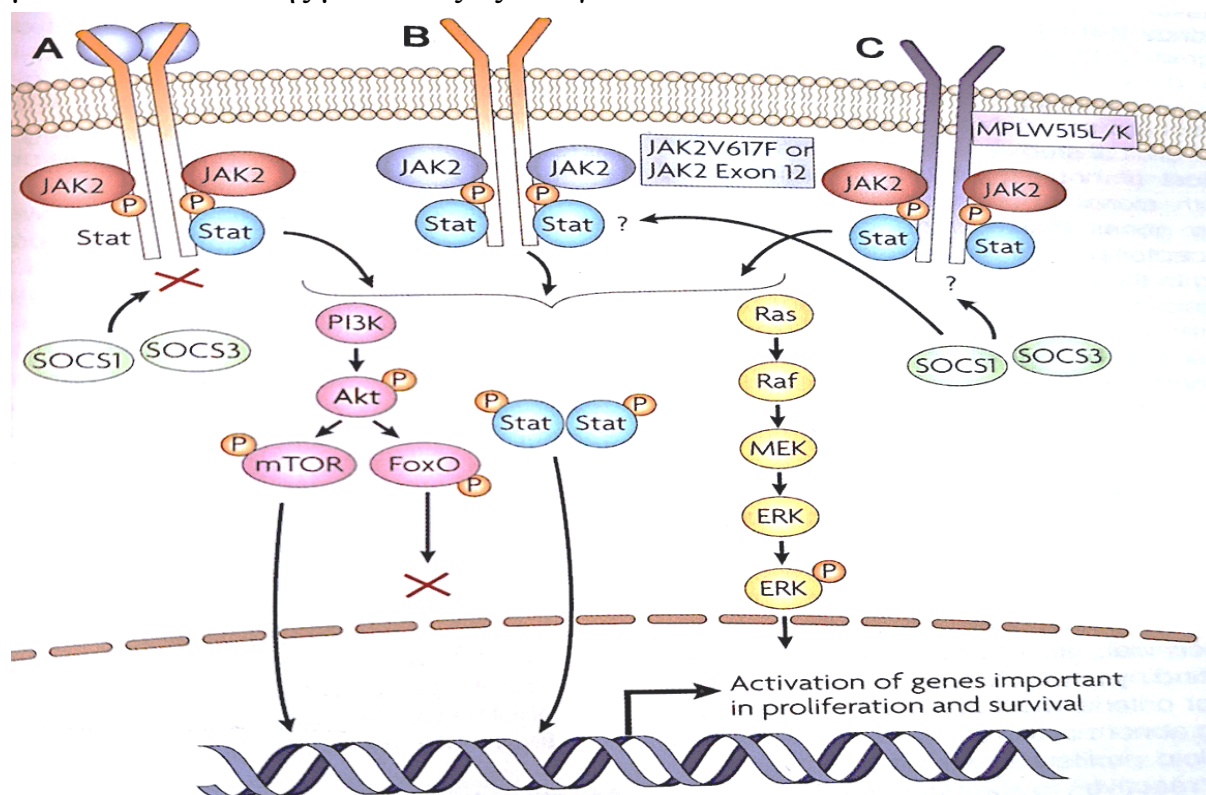
### 1. *JAK2* μεταλλάξεις

Ορόσημο στην κατανόηση της παθογένειας των MYN, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ήταν το 2005 όταν μία ενεργοποιός σημειακή μετάλλαξη στο JAK2 γονίδιο, η JAK2V617F, ανακαλύφθηκε σε ασθενείς με PV, ET, και MF. Το JAK2 είναι ένα ενδοκυττάριο μόριο σηματοδότησης που συνδέεται με αρκετούς μεμβρανικούς υποδοχείς αιμοποιητικών αυξητικών παραγόντων, οι οποίοι δεν διαθέτουν ενδογενές τμήμα με δράση κινάσης, όπως ο υποδοχέας της ερυθροποιητίνης, ο υποδοχέας του αυξητικού παράγοντα των ουδετεροφίλων (G-CSF) και ο υποδοχέας της θρομβοποιητίνης (c-MPL). Συνέπεια της μετάλλαξης JAK2V617F είναι η συνεχής, ανεξάρτητη από μόριο σύνδεσης, ενεργοποίηση του μονοπατιού ενδοκυττάριας σηματοδότησης JAK-STAT. Η JAK-STAT ενεργοποίηση προωθεί τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των προγονικών μυελικών κυττάρων, έχοντας ως αποτέλεσμα το φαινότυπο της ερυθροκυττάρωσης, λευκοκυττάρωσης και/ή της θρομβοκυττάρωσης, οι οποίες παρατηρούνται συχνά στα MYN (εικόνα 1). Η JAK2V617F υπάρχει στο 95% των περιπτώσεων PV και μπορεί να είναι ομόζυγη ή ετερόζυγη, λόγω της επίκτητης δισωμίας της περιοχής, συμπεριλαμβανόμενου και του μεταλλαγμένου γονιδίου στο χρωμόσωμα 9p24<sup>(3,4,9)</sup>.

Η ανάλυση των JAK2V617F-αρνητικών περιπτώσεων PV, οδήγησε στον προσδιορισμό επίκτητων-ενεργοποιών μεταλλάξεων στο εξώνιο 12 του JAK2. Σε αντίθεση με το περισσότερο πλειότροπο JAK2V617F αλληλίο, το οποίο παρατηρείται σε ευρύ φάσμα μυελικών νεοπλασιών, οι μεταλλάξεις στο εξώνιο 12 του JAK2 ανευρίσκονται στις JAK2V617F-αρνητικές PV (1-2% των περιπτώσεων PV), και συχνότερα στις περιπτώσεις με μεμονωμένη ερυθροκυττάρωση<sup>(7)</sup>.

Επιπλέον η JAK2V617F μετάλλαξη ανευρίσκεται σε 50-60% των ασθενών με ET και MF. Germline JAK2 παραλλαγές έχουν διαπιστωθεί σε ασθενείς με «τριπλά-αρνητική» ET και σε οικογένειες (JAK2V617I, JAK2R564Q) με κληρονομική θρομβοκυττάρωση.

**Εικόνα 1.** Μηχανισμοί ενεργοποίησης της JAK2 κινάσης και του JAK/STAT μονοπατιού από της μεταλλάξεις του γονιδίου JAK2.



Πηγή: 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms

## 2. MPL

Μετά την ανακάλυψη της JAK2V617F μετάλλαξης, οι επόμενες συνήθεις μεταλλάξεις στα MYN ήταν σωματικές-ενεργοποιές μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα της θρομβοποιητίνης (MPL). MPL μεταλλάξεις απαντώνται στο 3-5% των ασθενών με ET και στο 5-10% των ασθενών με MF, αλλά δεν απαντώνται σε ασθενείς με PV <sup>(8)</sup>. MPL μεταλλάξεις (W515, S505) επίσης οδηγούν σε ανεξάρτητη από μόριο-συνδέτη, ενεργοποίηση του μονοπατιού JAK/STAT και κυρίως σε πολλαπλασιασμό των μεγακαρυοκυττάρων. Germline μεταλλάξεις του γονιδίου έχουν ανιχνευθεί σε παιδιά που πάσχουν από τη σπάνια κλινική οντότητα της κληρονομικής θρομβοκυττάρωσης.

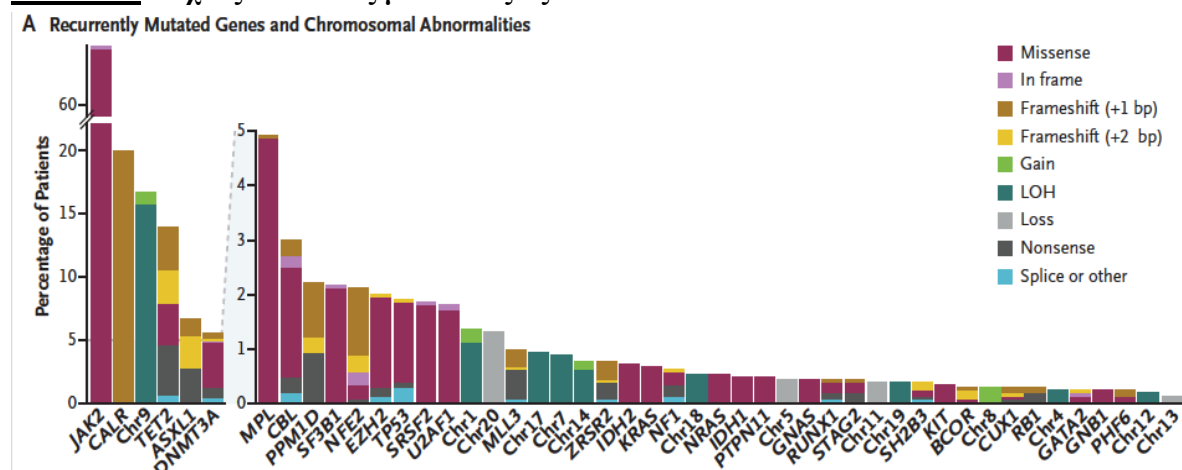
### 3. CALR

Στα τέλη του 2013 ανιχνεύθηκαν μεταλλάξεις στο γονίδιο της καλρετικουλίνης (calreticulin gene, CALR) και πλέον είναι γνωστό ότι ανευρίσκονται στο 25-30% των ασθενών με ET και MF. Σπανιότερα μεταλλάξεις CALR έχουν ανευρεθεί σε άλλα μυελικά νεοπλάσματα, συμπεριλαμβανομένων μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων και μεικτών μυελοδυσπλαστικών/μυελοϋπερπλαστικών συνδρόμων. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου CALR συμβαίνουν στο τελικό εξώνιο-9 του γονιδίου και έχουν ως αποτέλεσμα την κατά ένα ζεύγος βάσης μετακίνηση του πλαισίου ανάγνωσης του γονιδίου, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε μία καινούργια πεπτιδική αλληλουχία. Η τρέχουσα έρευνα δείχνει ότι το μεταλλαγμένο προϊόν του CALR συνδέεται στον MPL, οδηγώντας σε ενεργοποίηση του μονοπατιού JAK/STAT. Η παρουσία της CALR μετάλλαξης έχει φαινοτυπικές και προγνωστικές προεκτάσεις όπως θα περιγραφεί στο επόμενο κεφάλαιο της κλινικής εικόνας των MYN <sup>(6)</sup>.

### 4. Επιπρόσθετες μεταλλάξεις στα MYN

Ένα φάσμα σωματικών επίκτητων μεταλλάξεων σε γονίδια που συμμετέχουν σε ποικίλες κυτταρικές διεργασίες έχουν επίσης ανιχνευθεί σε MYN. Πρόκειται για μη οδηγές, συνυπάρχουσες κλωνικές μεταλλάξεις που συμμετέχουν στη βιολογία των νοσημάτων αυτών και τον κλινικό τους φαινότυπο. Η στοχευμένη αλληλούχιση νέας γενιάς (next-generation sequencing, NGS) έχει οδηγήσει στην ανακάλυψη παθολογικών μεταλλάξεων σε ένα εύρος γονιδίων σε ασθενείς με MYN, τα οποία ρυθμίζουν την μεθυλίωση του DNA (TET2, DNMT3A, IDH1/IDH2), τη διάταξη των ιστονών (ASXL1, EZH2), το μάτισμα (splicing) του RNA (SF3B1, U2AF1, ZRSR2, SRSF2), τη μεταγωγή σήματος (LNK, CBL, NRAS) και την επιδιόρθωση του DNA (TP53). Αυτές οι μεταλλάξεις απαντώνται συχνά και σε άλλες μυελικές νεοπλασίες, ενώ είναι οι συχνότερες μεταλλάξεις σε άτομα με κλωνική αιμοποίηση απροσδιόριστης σημασίας (clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει το γεγονός ότι πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι οδηγές μεταλλάξεις των MYN μπορούν να αποκτηθούν πολύ νωρίς στη ζωή ενός ατόμου, προδιαγράφοντας την ανάπτυξη εμφανούς κλινικής μυελικής κακοήθειας στο μέλλον. Η ανεύρεση τέτοιων μεταλλάξεων, υποδεικνύει κλωνικότητα σε ασθενείς με «τρπλά-αρνητική» ET και MF και έχει σημασία στη διάγνωσή τους (Εικόνα 2) <sup>(10)</sup>.

**Εικόνα 2. Συχνές κλωνικές μεταλλάξεις σε MYN**



Grinfeld J, Nangalia E.J et al. NEJM Oct. 2018;379:1416-30

## 5. Επιπρόσθετοι συντελεστές στην παθογένεια των MYN

Η ανεύρεση της μετάλλαξης JAK2V617F σε όλους του υποτύπους μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων, καθώς και οι μεταλλάξεις στα γονίδια CALR και MPL στην ET και την MF, εγείρουν το ερώτημα σχετικά με το ποιοι άλλοι παράγοντες συμβάλλουν στην φαινοτυπική ετερογένεια μεταξύ των διαφορετικών μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων που φέρουν την ίδια μετάλλαξη. Διαφορές στο αλληλικό φορτίο, στην ενδοκυττάρια μεταφορά σημάτων, στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών, σε επιγενετικούς παράγοντες, στο γενετικό υπόβαθρο του ξενιστή, την ηλικία, το φύλο, η απόκτηση επιπλέον μοριακών μεταλλάξεων (συμπεριλαμβανομένης και της σειράς απόκτησής τους) και το αιμοποιητικό προγονικό κύτταρο που επηρεάζεται από τη μετάλλαξη, μπορούν να επηρεάσουν τον κλινικό φαινότυπο. Ο germline απλότυπος (46/1, GGCC) στην 3' περιοχή του JAK2 επίσης σχετίζεται με 3-4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο απόκτησης της μετάλλαξης JAK2V617F ή μεταλλάξεων MPL. Πολυμορφισμοί του γονιδίου TERT και άλλοι germline πολυμορφισμοί που επηρεάζουν πολλαπλές κυτταρικές λειτουργίες επίσης συμβάλλουν σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MYN <sup>(11)</sup>.

### **3. ΑΛΛΗΛΟΠΕΙΚΑΛΥΠΤΟΜΕΝΕΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ BCR/ABL ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ**

#### **A. Εργαστηριακά ευρήματα**

Αρχικά, στην κλινική πορεία τους, τα περισσότερα MYN εμφανίζουν χαρακτηριστική αύξηση των κυτταρικών σειρών στην γενική εξέταση αίματος, περιλαμβάνοντας οποιοδήποτε συνδυασμό ερυθροκυττάρωσης (PV), θρομβοκυττάρωσης (ET και συχνά και PV) και λευκοκυττάρωσης (PV, ET, και συχνά MF). Αργότερα, στην εξέλιξη της νόσου μπορεί να εμφανιστεί μια κατάσταση «εξάντλησης» του μυελού των οστών με εικόνα ίνωσης του μυελού και συχνή ύπαρξη κυτταροπενιών. Σημεία αυξημένου κυτταρικού καταβολισμού όπως η αυξημένη γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) και αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος, παρατηρούνται σε διαφορετικό βαθμό στην ET και την PV και ακόμη συχνότερα στην μυελοϊνωση <sup>(18)</sup>.

#### **B. Ευρήματα στην κλινική εξέταση**

Η εξωμυελική αιμοποίηση είναι κοινή στα MYN και οδηγεί σε απορρυθμισμένη κυκλοφορία αιμοποιητικών κυττάρων σε όργανα εκτός του μυελού των οστών και στον επακόλουθο πολλαπλασιασμό τους σε αυτό το περιβάλλον. Κλινικά το αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η εμφάνιση σπληνομεγαλίας (η οποία μπορεί να είναι και εκσεσημασμένη, ιδιαίτερα στο στάδιο της προχωρημένης μυελοϊνωσης) και συχνά ηπατομεγαλίας (επίσης, συνήθως στα προχωρημένα στάδια της νόσου) <sup>(18)</sup>. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι τα ανωτέρω κλινικά ευρήματα μπορεί να απουσιάζουν ακόμη και σε έντονα συμπτωματικούς ασθενείς.

#### **Γ. Κλινικά συμπτώματα**

Στα MYN συχνά παρατηρούνται ενοχλητικά συμπτώματα που μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα ζωής των ασθενών. Τα συμπτώματα μπορεί να ποικίλουν πολύ μεταξύ των ασθενών και μπορεί να αλλάξουν στην πορεία της νόσου. Γενικά, τα συμπτώματα μπορεί να σχετίζονται με φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, αγγειακής φύσεως ή/και σχετιζόμενα με την οργανομεγαλία. Η καταβολή είναι το πιο συχνά αναφερόμενο και ενοχλητικό σύμπτωμα σε ασθενείς με MYN. Άλλα, σχετιζόμενα με έκκριση κυτταροκινών συστηματικά συμπτώματα, περιλαμβάνουν απώλεια βάρους, οστικά άλγη, πυρετό και

νυχτερινές εφιδρώσεις. Μικροαγγειακά ή αγγειοκινητικά συμπτώματα μπορεί να περιλαμβάνουν κεφαλαλγίες, διαταραχές της όρασης, νευροπαθητικά συμπτώματα ή ερυθρομελαλγία. Η τελευταία αφορά καυστικό άλγος σε άνω ή κάτω άκρα, συχνά συνοδευόμενο από ερυθρότητα και οίδημα. Η σπληνομεγαλία και η ηπατομεγαλία μπορεί να προκαλέσουν κοιλιακό άλγος, εύκολο κορεσμό και απώλεια βάρους. Επιπλέον, είναι σημαντική η αναγνώριση νοητικών και ψυχιατρικών εκδηλώσεων των MYN όπως διαταραχές συγκέντρωσης, κατάθλιψη και αγχώδης διαταραχή.

Τα συμπτώματα των MYN έχουν ποσοτικοποιηθεί και μετρώνται με ειδικές για τα MYN, συμπληρωμένες από ασθενείς βαθμολογίες <sup>(12)</sup>. Ένα τέτοιο εργαλείο αξιολόγησης της βαρύτητας των συμπτωμάτων είναι η MYN/MPN-10 βαθμολογία (γνωστή και ως MPN Symptom Assessment From Total Symptom Score/ MPN-SAF TSS). Το συγκεκριμένο σύμπτωμα χαρακτηρίζεται με μία κλίμακα βαρύτητας από 1 έως 10, και τα αποτελέσματα αθροίζονται. Αυτή η ποσοτικοποίηση των συμπτωμάτων μπορεί να παρακολουθείται διαδοχικά και είναι χρήσιμη στην αξιολόγηση της προόδου νόσου ή της ανταπόκρισης στη θεραπεία.

#### **Δ. Αγγειακά επεισόδια**

Τα αγγειακά επεισόδια προεξάρχουν στην ET, PV και MF, εμφανίζονται συχνότερα πέρι τη διάγνωση και φτάνουν σε πλατώ περί το τέλος της πρώτης δεκαετίας της νόσου <sup>(13)</sup>. Οι θρομβώσεις μεγάλων αγγείων μπορεί να είναι φλεβικές (θρόμβωση εν τω βάθει φλεβών ή πνευμονική εμβολή) ή αρτηριακές (έμφραγμα του μυοκαρδίου, ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο- ΑΕΕ, ή άλλες αρτηριακές θρομβώσεις) και έχουν την τάση να εμφανίζονται σε ασυνήθεις εντοπίσεις όπως η πυλαία, σπληνική ή μεσεντέριος φλέβα. Οι θρομβώσεις είναι συχνά το πρώτο εμφανιζόμενο σημείο των MYN: το σύνδρομο Budd-Chiari και οι ενδοκοιλιακές θρομβώσεις πρέπει να οδηγούν σε διερεύνηση για αποκελισμό MYN<sup>(14,15)</sup>. Οι μικρο-αγγειακές διαταραχές που περιγράφηκαν προηγουμένως μπορεί να είναι λιγότερο επικίνδυνες, ωστόσο επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών <sup>(16)</sup>. Η αιμορραγία είναι λιγότερο συχνή από την θρόμβωση, αλλά μπορεί να εμφανιστεί σε κάθε MYN ως αποτέλεσμα πολλών παραγόντων τόσο της νόσου (όπως εκσεσημασμένη θρομβοκυττάρωση με αριθμό αιμοπεταλίων >1.500.000/μL και συνέπεια επίκτητη ανεπάρκεια παράγοντα von Willebrand) όσο και της θεραπείας (κυτταροστατική αγωγή με δευτεροπαθή θρομβοπενία, χορήγηση αντιπηκτικών και αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων) <sup>(17)</sup>.

**Πίνακας 4. Εργαστηριακά ευρήματα, κλινικά σημεία και συμπτώματα κατά τη διάγνωση MYN<sup>(18)</sup>**

| Νόσος                                   | PV         | ET         | MF(PMF/post-ET/PV MF) |
|-----------------------------------------|------------|------------|-----------------------|
| <b>Εργαστηριακά ευρήματα</b>            |            |            |                       |
| Ερυθροκυττάρωση                         | +++        | Απούσα     | Απούσα                |
| Λευκοκυττάρωση                          | Ποικίλουσα | Ποικίλουσα | Ποικίλουσα            |
| Θρομβοκυττάρωση                         | Ποικίλουσα | +++        | Ποικίλουσα            |
| Λευκο-ερυθροβλαστική αντίδραση αίματος  | Απούσα     | Απούσα     | +++                   |
| Μειωμένη ερυθροποιητίνη ορού            | +++        | Ποικίλουσα | Απούσα                |
| Αυξημένη LDH                            | Ποικίλουσα | Απούσα     | Συχνή                 |
| Υπερουριχαιμία                          | Συνήθης    | Συνήθης    | Ποικίλουσα            |
| <b>Κλινικά σημεία</b>                   |            |            |                       |
| Σπληνομεγαλία                           | +          | +          | +++                   |
| Ηπατομεγαλία                            | Απούσα     | Απούσα     | +                     |
| Πληθώρα                                 | ++         | Απούσα     | Απούσα                |
| Ωχρότητα                                | Απούσα     | Απούσα     | Ποικίλουσα            |
| <b>Συμπτώματα (MPN-10)</b>              |            |            |                       |
| Κόπωση                                  | 84%        | 85%        | 94%                   |
| Εύκολος κορεσμός                        | 56%        | 60%        | 74%                   |
| Κοιλιακή δυσφορία                       | 48%        | 48%        | 65%                   |
| Μειώση δραστηριοτήτων                   | 54%        | 60%        | 76%                   |
| Διαταραχές συγκέντρωσης                 | 58%        | 62%        | 68%                   |
| Νυχτερινές εφιδρώσεις                   | 47%        | 52%        | 63%                   |
| Κνησμός                                 | 46%        | 62%        | 52%                   |
| Οστικά άλγη                             | 45%        | 48%        | 53%                   |
| Πυρετός                                 | 17%        | 19%        | 24%                   |
| Απώλεια βάρους                          | 28%        | 33%        | 47%                   |
| <b>Επιπλέον συμπτώματα στη διάγνωση</b> |            |            |                       |
| Ερυθρομελαλγία                          | +          | ++         | Απούσα                |
| Θρόμβωση                                | Ποικίλουσα | Ποικίλουσα | Ποικίλουσα            |
| Αιμορραγία                              | Ποικίλουσα | Ποικίλουσα | Ποικίλουσα            |
| Πυλαία υπέρταση                         | Ποικίλουσα | Ποικίλουσα | Ποικίλουσα            |

+ : περιστασιακά μέχρι +++ : πολύ συχνά

Geyer HL, Mesa RA, Blood. 2014;124:3529-3537 (18)

#### 4. ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Τα μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα αποτελούν χρόνιες μυελικές νεοπλασματικές νόσους και είναι ανίατα χωρίς τη διενέργεια αλλογενούς μεταμόσχευσης αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Ωστόσο, λόγω της χρόνιας πορείας τους, η συγκεκριμένη εφαρμόζεται κυρίως σε περιπτώσεις εκτροπής της νόσου σε οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ) και σε περιπτώσεις μετάπτωσης σε προχωρημένη μυελοϊνωση. Η πρόγνωσή τους εξαρτάται από τον τύπο του νοσήματος και την πιθανότητα εκτροπής σε ΟΜΛ και ως εκ τούτου ποικίλει από πολύχρονη επιβίωση στην περίπτωση της ΡV και της ΕΤ σε ολιγοετή με αυξημένη νοσηρότητα και με αυξημένο κίνδυνο εκτροπής στην περίπτωση της ινωτικής φάσης μυελοϊνωσης. Για κάθε τύπο ΜΥΝ έχουν περιγραφεί προγνωστικά συστήματα με βάση κλινικο-εργαστηριακούς και μοριακούς δείκτες <sup>(1)</sup>.

Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά στην ΡV, η ηλικία διάγνωσης, ο αριθμός λευκοκυττάρων και το ιστορικό θρόμβωσης επηρεάζουν την πρόγνωση, με μέση προσδοκώμενη επιβίωση μεταξύ 11 έως και 28 ετών με βάση την ομάδα κινδύνου (πίνακας 5). Ο κίνδυνος εκτροπής σε ΟΜΛ κυμαίνεται από 1-3% για ασθενείς που αντιμετωπίζονται μόνο με αφαιμάξεις έως και >10% σε ασθενείς μετά από συγκεκριμένες κυτταρομειωτικές θεραπείες. Επίσης, ορισμένες επίκτητες σωματικές μεταλλάξεις όπως ASXL1, IDH1/2, SRSF2 ενδέχεται να αυξάνουν περαιτέρω τον κίνδυνο εκτροπής <sup>(19)</sup>.

#### **Πίνακας 5. Επιβίωση στην ΡV, με βάση παράγοντες κινδύνου** <sup>(19)</sup>

|                                       |                                                                                                                                 |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1. Ηλικία</b>                      | <b>&gt;67 (5 βαθμοί)</b>                                                                                                        |
|                                       | 57-66 (2 βαθμοί)                                                                                                                |
|                                       | <57 (0 βαθμοί)                                                                                                                  |
| <b>2. Λευκά αιμοσφαίρια</b>           | >15.000/μL (1 βαθμός)                                                                                                           |
| <b>3. Προηγούμενη θρόμβωση</b>        | Ναι (1 βαθμός), Όχι (0 βαθμοί)                                                                                                  |
| <b><u>Επιβίωση/ομάδα κινδύνου</u></b> | -Χαμηλού κινδύνου (0 βαθμοί): 27,8 έτη<br>-Ενδιαμέσου κινδύνου (1-2 βαθμοί): 18,9έτη<br>- Υψηλού κινδύνου (≥3 βαθμοί): 10,9 έτη |

*Tefferi A et al. Leukemia, 2013;27:1874-1881*

**Όσον αφορά στην ET**, η πορεία νόσου μπορεί να ποικίλει από ένα σχεδόν κανονικό προσδόκιμο επιβίωσης έως κατάσταση με ιδιαίτερη νοσηρότητα και θάνατο εξαιτίας αγγειακών συμβάντων ή προόδου νόσου σε μυελοϊνωση ή/και OMA. Όπως και οι ασθενείς με PV, παρουσιάζουν συχνά συστηματικά αγγειακά, αγγειοκινητικά και σχετιζόμενα με κυτταροκίνες συμπτώματα που επηρεάζουν την ποιότητα ζωής. Περίπου το 30% των ασθενών έχει επεισόδιο θρόμβωσης πριν ή κατά τη διάγνωση. Ο κίνδυνος προόδου σε μυελοϊνωση είναι 10% στα 15 έτη, ενώ ο κίνδυνος εκτροπής σε OMA είναι 2% στα 15 έτη σε ασθενείς που δεν έχουν λάβει λευχαιμιόγono θεραπεία (ραδιοφώσφορος, αλκυλιούντες παράγοντες). Με βάση τις μοριακές βλάβες, η παρουσία μεταλλάξεων CALR ενδέχεται να αυξάνει τον κίνδυνο εκτροπής σε μυελοϊνωση, ενώ μεταλλάξεις στα γονίδια SH2B3, SF3B1, U2AF1, TP53, IDH2, EZH2 φαίνεται να αυξάνουν τον κίνδυνο τόσο MF όσο και OMA <sup>(11)</sup>. Σε μια μεγάλη μελέτη διαπιστώθηκε διάμεση επιβίωση περίπου 20 έτη σε ασθενείς με ET. Στον πίνακα 6 φαίνεται προγνωστικό μοντέλο με βάση παράγοντες κινδύνου (ηλικία, λευκοκυττάρωση, θρόμβωση) σε 800 ασθενείς με ET.

**Πίνακας 6. Επιβίωση σε ET ασθενείς (3 ομάδες κινδύνου)** <sup>(20)</sup>

| Παράμετρος                  | 0 βαθμοί                         | 1 βαθμός                   | 2 βαθμοί |
|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------|----------|
| <b>1.Ηλικία</b>             | <60                              | -                          | ≥60      |
| <b>2.Λευκά αιμοσφαίρια</b>  | <11.000/μL                       | ≥11.000/μL                 | -        |
| <b>3.Ιστορικό θρόμβωσης</b> | Όχι                              | Ναι                        | -        |
| <b>Επιβίωση</b>             | Χαμηλού κινδύνου (0 βαθμοί)      | Διάμεση επιβίωση >30 έτη   |          |
|                             | Ενδιαμέσου κινδύνου (1-2 βαθμοί) | Διάμεση επιβίωση: 24,5 έτη |          |
|                             | Υψηλού κινδύνου (3-4 βαθμοί)     | Διάμεση επιβίωση: 13,8 έτη |          |

*Passamonti F et al., Blood. 2012;120(6):1197-1201*

Τέλος, όσον αφορά στη **μυελοϊνωση (MF)**, οι πάσχοντες συνήθως εμφανίζουν εντονότερα συμπτώματα σε σχέση με την PV και την ET. Τα συμπτώματα οφείλονται κυρίως σε υπερκαταβολισμό και υποκείμενη φλεγμονώδη δραστηριότητα, και συνίστανται σε πυρετό, νυχτερινές εφιδρώσεις και απώλεια βάρους. Συχνά εμφανίζεται κόπωση, ενώ επίσης κνησμός και

οστικά-μυϊκά άλγη. Συνήθη είναι τα συμπτώματα που οφείλονται στη σπληνομεγαλία συμπεριλαμβανομένων κοιλιακού άλγους και πρώιμου κορεσμού. Η πυλαία υπέρταση και ο ασκίτης μπορεί να επιπλέξουν την πορεία της νόσου. Η αναιμία επίσης είναι συχνή. Περίπου 75% των ασθενών έχουν αιμοσφαιρίνη κατώτερη του φυσιολογικού, 50% έχουν αιμοσφαιρίνη <10g/dl και 25% είναι εξαρτώμενοι από συχνές μεταγγίσεις. Οι περισσότεροι ασθενείς θα αποβιώσουν ενώ η νόσος βρίσκεται σε χρόνια φάση (λόγω καρδιαγγειακών επιπλοκών/θρομβωτικών επεισοδίων ή αιμορραγίας, συχνά σε έδαφος πυλαίας υπέρτασης, ή λόγω λοιμώξεων/μυελικής ανεπάρκειας). Ωστόσο εκτροπή σε ΟΜΛ μπορεί να συμβεί σε 5 έως 30% των ασθενών και να αποβεί μοιραία <sup>(11)</sup>.

Γενικά, στην ινωτικής φάσης μυελοϊνώση η διάμεση επιβίωση είναι 2-7 έτη, ενώ στην προϊνωτική μυελοϊνώση είναι 72% στην 10ετία και 59% στα 15 έτη <sup>(11)</sup>. Έχουν θεσπιστεί διάφορα προγνωστικά σκορ εκτίμησης επιβίωσης με βάση κλινικο-εργαστηριακούς και μοριακούς παράγοντες κινδύνου στην MF, τόσο για την πρόβλεψη κατά τη διάγνωση (International Prognostic Scoring System/ IPSS) <sup>(21)</sup> όσο και κατά την πορεία της νόσου (Dynamic International Prognostic Scoring System/ DIPSS και DIPSS-plus, πίνακας 7) <sup>(22)</sup>. Όπως και στην PV και την ET, το μοριακό προφίλ επηρεάζει την πρόγνωση, με καλύτερη πρόγνωση σε παρουσία CALR μετάλλαξης, ενδιάμεση σε JAK2 και MPL μεταλλάξεις και χειρότερη σε απουσία αυτών (τριπλά αρνητικοί ασθενείς). Επιπλέον, η απόκτηση επίκτητων σωματικών μεταλλάξεων σε γονίδια υψηλού κινδύνου επηρεάζει δυσμενέστερα την πρόγνωση (IDH1/2, EZH2, ASXL1, SRSF2). Τα προγνωστικά σκορ MIPSS70 και MIPSS70-plus (Mutation and Karyotype-enhanced International Prognostic Scoring System, πίνακας 8) περιλαμβάνουν τους μοριακούς παράγοντες κινδύνου και κλινικο-εργαστηριακούς παράγοντες για την πρόγνωση ασθενών πιθανά επιλέξιμων για μεταμόσχευση με βάση την ηλικία.

#### **Πίνακας 7. IPSS-σχετιζόμενα προγνωστικά σκορ στην MF <sup>(21)</sup>**

| Παράγοντας κινδύνου      | IPSS (βαθμοί)-<br>διάγνωση | DIPSS – πορεία<br>νόσου | DIPSS-Plus |
|--------------------------|----------------------------|-------------------------|------------|
| Ηλικία>65έτη             | 1                          | 1                       | 0          |
| Συστηματικά συμπτώματα   | 1                          | 1                       | 1          |
| Hb<10g/dl                | 1                          | 2                       | 2          |
| Λευκά>25.000/μL          | 1                          | 1                       | -          |
| Βλάστες αίματος≥1%       | 1                          | 1                       | 3          |
| Μεταγγισιοεξαρτώμενος    | -                          | -                       | 1          |
| Θρομβοπενία(<100.000/μL) | -                          | -                       | 1          |
| Δυσμενής καρυότυπος*     | -                          | -                       | 1          |

| Ομάδα κινδύνου      | Διάμεση επιβίωση (βαθμοί : έτη) | Διάμεση επιβίωση (βαθμοί : έτη) | Διάμεση επιβίωση (βαθμοί : έτη) |
|---------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <b>Χαμηλού</b>      | 0: 11,3                         | 0: Not reached                  | 0: 15,4                         |
| <b>Ενδιαμέσου-1</b> | 1: 7,9                          | 1-2: 14,2                       | 1: 6,5                          |
| <b>Ενδιαμέσου-2</b> | 2: 4,4                          | 3-4: 4                          | 2-3: 2,9                        |
| <b>Υψηλού</b>       | ≥3: 2,3                         | 5-6: 1,5                        | 4-6: 1,3                        |

\*Δυσμενής καρυότυπος: σύμπλοκος, 1 ή 2 ανωμαλίες από: +8,-7/7q-, i(17q),-5/-5q, 12p-, inv(3), 11q23 διαμετάθεση

*Cervantes F et al., Blood. 2009;113:2895-2901; Passamonti F et al., Blood. 2010;115:1703-1708; Gangat N et al., JCO. 2011;29:392-397*

### **Πίνακας 8. MIPSS70 Scoring systems στην MF <sup>(22)</sup>**

| Παράγοντες κινδύνου                   | MIPSS70(βαθμοί)       | MIPSS70-Plus (βαθμοί) | MYSEC-PM (βαθμοί) |
|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| <b>Συστηματικά συμπτώματα</b>         | 1                     | 1                     | 1                 |
| <b>Hb&lt;10g/dl</b>                   | 1                     | 1                     | 2 (Hb<11g/dl)     |
| <b>Λευκά&gt;25.000/μL</b>             | 2                     | -                     | -                 |
| <b>Θρομβοπενία(&lt;100.000/μL)</b>    | 2                     | -                     | 1 (<150.000/μL)   |
| <b>Βλάστες αίματος ≥ 2%</b>           | 1                     | 1                     | 2 (≥3%)           |
| <b>Ίνωση βαθμού ≥2</b>                | 1                     | -                     | -                 |
| <b>Απουσία μετάλλαξης CALR</b>        | 1                     | 2                     | 2                 |
| <b>Μετάλλαξη υψηλού κινδύνου*</b>     | 1                     | 1                     | -                 |
| <b>≥2 μεταλλάξεις υψηλού κινδύνου</b> | 2                     | 2                     | -                 |
| <b>Δυσμενής καρυότυπος**</b>          | -                     | 3                     | -                 |
| Ομάδα κινδύνου                        | Βαθμοί/5ετής επιβίωση | Βαθμοί/5ετής επιβίωση | Διάμεση επιβίωση  |
| <b>Χαμηλού</b>                        | 0-1: 95%              | 0-2: 91%              | Not reached       |
| <b>Ενδιαμέσου</b>                     | 2-4: 70%              | 3: 66%                | Ενδιαμ-1: 9,3 έτη |
| <b>Υψηλού</b>                         | ≥ 5: 29%              | 4-6: 42%              | Ενδιαμ-2: 4,4 έτη |
| <b>Πολύ υψηλού</b>                    | -                     | ≥7: 7%                | Υψηλού: 2 έτη     |

\*\* Δυσμενής καρυότυπος: κάθε παθολογικός καρυότυπος, 20q-, 13q-, +9, διαμετάθεση/διπλασιασμός χρωμ.1, -Y ή άλλη διαταραχή φυλετικού χρωμοσώματος

\*Μεταλλάξεις υψηλού κινδύνου: IDH1/2, EZH2, ASXL1, SRSF2

*Guglielmelli P et al., JCO. 2018;36(4):310-318, Passamonti F et al., Leukemia. 2017;31(12):2726-273*

## 5. ΘΕΡΑΠΕΙΑ MYN

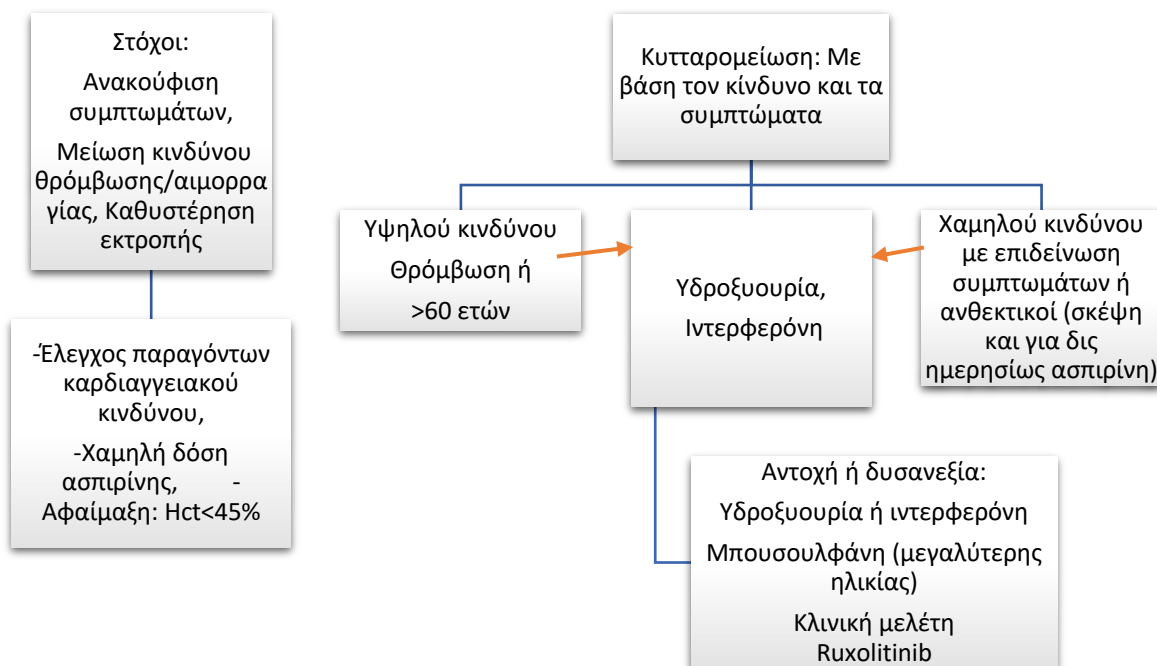
Οι στόχοι της θεραπείας των MYN περιλαμβάνουν την ανακούφιση των συστηματικών συμπτωμάτων, τη βελτίωση της ποιότητας ζωής και τη μείωση του κινδύνου θρόμβωσης ή/και αιμορραγίας. Δυστυχώς, οι μέχρι σήμερα θεραπείες δεν είναι αποτελεσματικές στην αποτροπή ή καθυστέρηση του κινδύνου εκτροπής της νόσου. Πρόσφατα δεδομένα ωστόσο υποδεικνύουν ότι η επίτευξη μοριακής ανταπόκρισης με >20% μείωση του αλληλικού φορτίου του JAK2V617F με χρήση αναστολέων JAK2, σχετίζεται με καλύτερη επιβίωση ελευθέρα συμβάντος, καλύτερη ολική επιβίωση και μειωμένο κίνδυνο εξέλιξης σε μυελοϊνωση <sup>(202)</sup>. Επί του παρόντος, η αντιμετώπιση βασίζεται στον θρομβωτικό κίνδυνο αλλά είναι σημαντικό να περιλαμβάνει ταυτόχρονα και την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων <sup>(23)</sup>.

Σε γενικές γραμμές στην PV στόχος είναι η διατήρηση αιματοκρίτη <45% για τη μείωση του θρομβωτικού κινδύνου και των συμπτωμάτων υπεργλοιότητας. Αυτό επιτυγχάνεται μόνο με αφαιμάξεις σε ασθενείς χαμηλού κινδύνου (<60 ετών, χωρίς ιστορικό θρόμβωσης) ή/και με κυτταρομείωση με υδροξυουρία ή ιντερφερόνη σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (>60 ετών, ή/και ιστορικό θρόμβωσης) ή ανθεκτικούς ασθενείς χαμηλού κινδύνου. Για την πρόληψη θρομβωτικών επιπλοκών χρησιμοποιείται αντιαιμοπεταλική αγωγή (συνήθως με ασπιρίνη επί μη ύπαρξης αντένδειξης) <sup>(24)</sup>.

Πρόσφατα έλαβε έγκριση χορήγησης από τον Ευρωπαϊκό οργανισμό φαρμάκων συγκεκριμένη μορφή ιντερφερόνης, η ropeginterferon alfa-2b, για ασθενείς με PV χωρίς συμπτωματική σπληνομεγαλία, με βάση τα αποτελέσματα των τυχαιοποιημένων μελετών φάσης 3, PROUD-PV και CONTINUATION-PV. Η 1<sup>η</sup> μελέτη στους 12 μήνες δεν έδειξε τη μη-κατωτερότητα της ropeginterferon alfa-2b σε σχέση με την υδροξυουρία όσον αφορά στην αιματολογική ανταπόκριση και τη σπληνομεγαλία. Ωστόσο, η ανταπόκριση στη ροπεγιντερφερόνη άλφα-2b συνέχισε να αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου με βελτιωμένες αποκρίσεις (71% αιματολογική ανταπόκριση) σε σύγκριση με την υδροξυουρία (51%) στους 36 μήνες [η προέκταση της μελέτης στα 3 έτη (CONTINUATION-PV)]. Λαμβάνοντας υπόψη τις υψηλές και συνεχείς αιματολογικές και μοριακές ανταποκρίσεις (μείωση του αλληλικού φορτίου JAK2V617F) και την καλή της ανεκτικότητα, η ροπεγκιντερφερόνη άλφα-2b προσφέρει μια πολύτιμη και ασφαλή μακροχρόνια θεραπευτική επιλογή με χαρακτηριστικά διαφορετικά από την υδροξυουρία <sup>(201)</sup>.

Σε ασθενείς ανθεκτικούς ή με δυσανεξία στις ανωτέρω θεραπείες χρησιμοποιείται ο JAK-αναστολέας Ruxolitinib ή εναλλαγή μεταξύ υδροξυουρίας και ιντερφερόνης ή μπουσουλφάνη σε ηλικιωμένους ασθενείς. Σε κάθε περίπτωση ενθαρρύνεται η συμμετοχή των ανθεκτικών ασθενών σε κλινικές μελέτες νεότερων παραγόντων <sup>(23,25,26)</sup>. (Σχήμα 1)

### **Σχήμα 1: Θεραπευτικός αλγόριθμος PV**



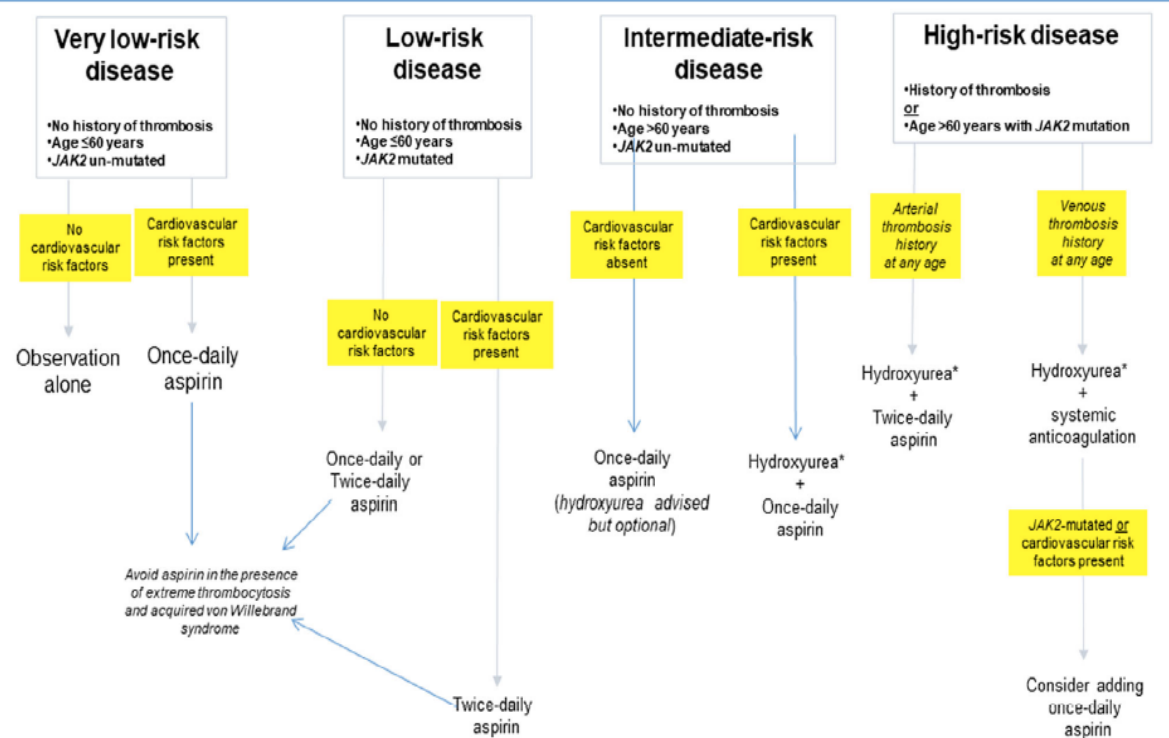
(Πηγή: Θεραπευτικά πρωτόκολλα Υπουργείου Υγείας 2018 <sup>(25)</sup> και Tefferi, A, Barbui, T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020; 95: 1599– 1613. <sup>(26)</sup>)

Αντίστοιχα με την PV, στόχος της θεραπείας των ασθενών με ET είναι η συμπτωματική ανακούφιση, η μείωση του θρομβωτικού και αιμορραγικού κινδύνου και η πρόληψη της εκτροπής.

Αντίθετα με την PV, δεν υπάρχουν τυχαιοποιημένες μελέτες που να υποστηρίζουν τη χρήση ασπιρίνης σε ασθενείς με ET, ούτε που να συσχετίζουν τον απόλυτο αριθμό αιμοπεταλίων με τον θρομβωτικό κίνδυνο <sup>(26)</sup>. Σε γενικές γραμμές στόχος είναι η διατήρηση αριθμού αιμοπεταλίων <400.000/μL. Αντίθετα, υπάρχουν μελέτες που δείχνουν την αύξηση του αιμορραγικού κινδύνου (λόγω επίκτητης νόσου von Willebrand) σε περιπτώσεις εκσεσημασμένης θρομβοκυττάρωσης (>1.500.000/μl), καταστάσεις που απαιτούν κυτταρομειωτική αγωγή και καθυστέρηση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής <sup>(17)</sup>. Συνεπώς η χρήση αντιαιμοπεταλιακής προφύλαξης σε ασθενείς με ET δεν είναι σαφώς ενδεδειγμένη και σε μεγάλο βαθμό υπόκειται στην κλινική κρίση και την συνύπαρξη επιπλέον παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου <sup>(26)</sup>. Η κυτταρομείωση με χρήση υδρουξουρίας ή/και ιντερφερόνης ή/και αναγρελίδης ενδείκνυται για τους ασθενείς υψηλού θρομβωτικού κινδύνου (>60 ετών, ιστορικό θρόμβωσης, JAK2V617F μετάλλαξη) ή για ασθενείς με ανθεκτικά στην υποστηρικτική αγωγή συμπτώματα σχετιζόμενα με τη νόσο <sup>(23,25,26)</sup>.

Στο σχήμα 2 περιγράφεται προτεινόμενος αλγόριθμος αντιμετώπισης ασθενών με ET.

**Σχήμα 2: Θεραπευτικός αλγόριθμος ET <sup>(26)</sup>**



\*Second-line treatment in hydroxyurea intolerant or refractory patients is pegylated IFN-alpha or busulfan or anagrelide

(Πηγή: Tefferi, A, Barbui, T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020; 95: 1599– 1613. <sup>(26)</sup>)

Συγκριτικά με την PV και την ET, η αντιμετώπιση της μυελοϊνώσεως αποτελεί θεραπευτική πρόκληση, λόγω των εντονότερων συμπτωμάτων, των συχνών κυτταροπενιών ως αποτέλεσμα της μυελικής ανεπάρκειας, της δυσμενέστερης πρόγνωσης και του μεγαλύτερου κινδύνου εκτροπής σε ΟΜΛ <sup>(11,23,25)</sup>. Για τους ανωτέρω λόγους, μεγάλη σημασία έχει ο προσδιορισμός της κατηγορίας κινδύνου με βάση τα προγνωστικά συστήματα και η βαρύτητα των συμπτωμάτων σε κάθε ασθενή.

Νέοι ασθενείς, σε καλή κατάσταση ικανότητας και με αυξημένο κίνδυνο (DIPSS-plus >1, MIPSS70≥4, MIPSS70-plus ≥4) είναι υποψήφιοι για επιθετικότερη προσέγγιση και αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων η οποία είναι και η μόνη θεραπεία που θα μπορούσε να οδηγήσει σε ίαση <sup>(11)</sup>. Ωστόσο, δεν πρέπει να παραβλέπεται ο αυξημένος κίνδυνος επιπλοκών και θνητότητας που συνεπάγεται η προσέγγιση αυτή. Τα αποτελέσματα μεταμόσχευσης σε σειρές ασθενών με MF διαφέρουν ευρέως με 5-ετή ολική επιβίωση να κυμαίνεται από 30% έως 65% <sup>(27)</sup>

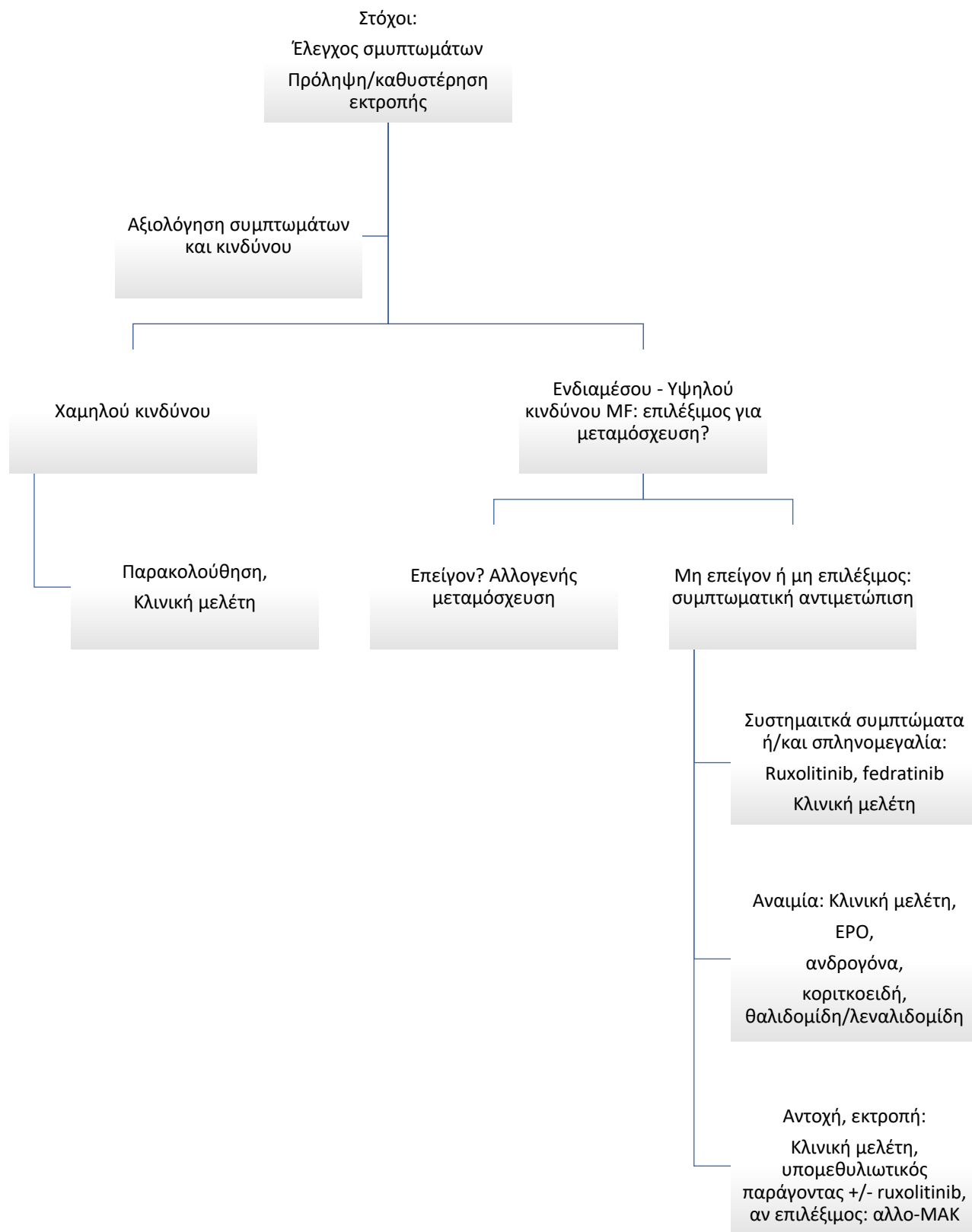
Για τους ασθενείς χαμηλότερου κινδύνου με μικρής βαρύτητας συμπτώματα, είναι συχνά αποδεκτή μια αρχική περίοδος προσεκτικής παρακολούθησης. Σημαντική θέση κατέχει η συμπτωματική αντιμετώπιση, η οποία πλέον γίνεται με τους νεότερους JAK2 αναστολείς ruxolitinib και fedratinib <sup>(11,23)</sup>. Οι συγκεκριμένοι παράγοντες έχουν ένδειξη σε ασθενείς με συστηματικά συμπτώματα και σπληνομεγαλία. Επιφέρουν βελτίωση των συμπτωμάτων και σε ορισμένες περιπτώσεις μείωση της σπληνομεγαλίας. Δυστυχώς μέχρι σήμερα δεν έχουν δείξει ότι μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο εκτροπής σε ΟΜΛ <sup>(28,29)</sup>. Πρόσφατα δεδομένα όμως για την χρήση τους σε ασθενείς με ET και PV υποδεικνύουν τη δυνατότητα μείωσης του αλληλικού φορτίου JAK2V617F. Στους ασθενείς που επιτεύχθηκε πλήρης μοριακή ύφεση (17% των ασθενών) παρατηρήθηκε μεγαλύτερη επιβίωση ελεύθερα συμβάντος, μεγαλύτερη ολική επιβίωση και μικρότερο κίνδυνο εξέλιξης σε μυελοϊνώση <sup>(202)</sup>.

Υποστηρικτική αντιμετώπιση χρειάζονται και οι κυτταροπενίες που συχνά επιπλέκουν την μυελοϊνώση. Για την αντιμετώπιση της αναιμίας, πέρα από τις μεταγγίσεις συμπυκνωμένων ερυθρών, έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλοι υποστηρικτικοί παράγοντες. Η ερυθροποιητίνη μπορεί να ωφελήσει ασθενείς με MF και αναιμία, ιδίως εάν έχουν χαμηλά επίπεδα ενδογενούς ερυθροποιητίνης (EPO<125 IU/mL) <sup>(30)</sup>. Ανδρογόνα όπως η δαναζόλη μπορούν να βελτιώσουν την αναιμία και τη θρομβοπενία σε 10-35% των ασθενών <sup>(31,32)</sup>.

Μία υποομάδα ασθενών με στοιχεία αυτοάνοσης αιμόλυσης ανταποκρίνεται και στα συστηματικά κορτικοεδή. Επιπλέον τα κορτικοειδή μπορεί να βοηθήσουν στη μείωση των συστηματικών φλεγμονωδών συμπτωμάτων <sup>(32)</sup>.

Με αντίστοιχη μείωση του φλεγμονώδους υπόβαθρου ειδικά στο μικροπεριβάλλον του μυελού, ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες όπως η θαλιδομίδη ή/και η λεναλιδομίδη σε συνδυασμό με πρεδνιζολόνη, μπορούν να βελτιώσουν την αναιμία ή/και τη θρομβοπενία <sup>(32,33)</sup>. Τέλος ο νεότερος JAK αναστολέας momelotinib έχει δείξει σε επίπεδο κλινικών μελετών τη δυνατότητα να βελτιώνει την αναιμία <sup>(34)</sup>. Τέλος σε περίπτωση εκτροπής νόσου σε βλαστική κρίση/ΟΜΛ, τα ποσοστά ανταπόκρισης στα χημειοθεραπευτικά πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται στην de novo ΟΜΛ είναι πολύ μικρά και έχουν σύντομη διάρκεια ανταπόκρισης. Για το λόγο αυτό, στους ασθενείς αυτούς προτιμάται, εάν είναι δυνατή, η σταθεροποίηση με αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων <sup>(11,32)</sup>. Στο σχήμα 3 απεικονίζεται ένας αλγόριθμος αντιμετώπισης ασθενών με MF <sup>(23,25,32)</sup>.

### Σχήμα 3: Θεραπευτικός αλγόριθμος MF <sup>(25)</sup>

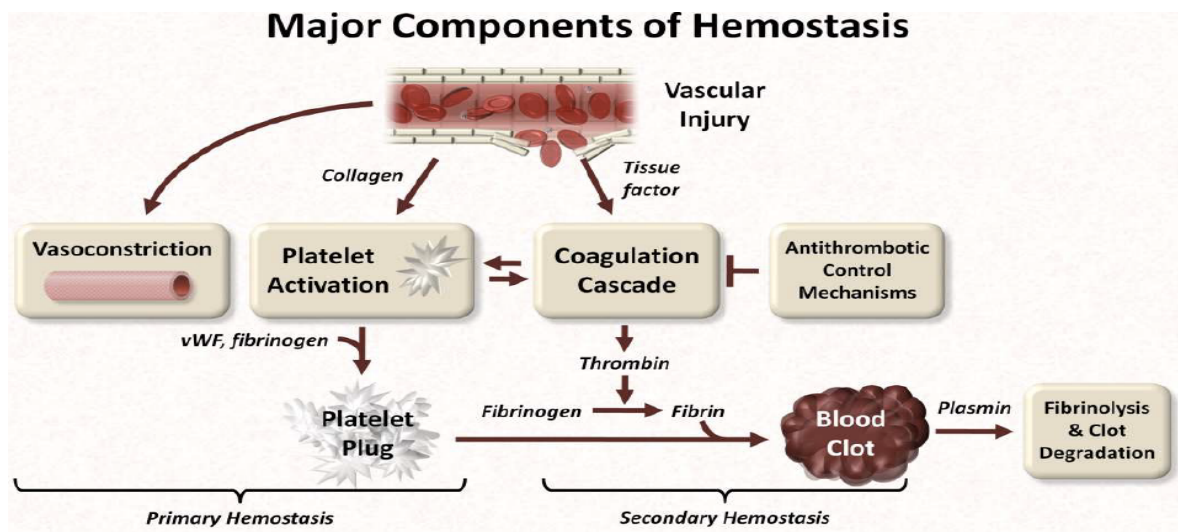


## B. ΑΙΜΟΣΤΑΣΗ-ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Η αιμόσταση είναι ένας θεμελιώδης αμυντικός μηχανισμός για τον άνθρωπο, ο οποίος περιλαμβάνει ένα σύνολο πολύπλοκων μηχανισμών αλληλεπίδρασης μεταξύ κυττάρων του αίματος και ενδοθηλίου του αγγείου με σκοπό την προστασία του οργανισμού από την αιμορραγία, όταν υπάρχει τραυματισμός και ταυτόχρονα τη διατήρηση του αίματος στα αγγεία σε μία ρευστή κατάσταση, ώστε να εμποδίζεται η θρόμβωση. Τέλος στα πλαίσια της φυσιολογικής αιμόστασης πραγματοποιείται και η απομάκρυνση του θρόμβου μετά την αποκατάσταση της βλάβης <sup>(35)</sup>.

Σχηματικά, η αιμόσταση μπορεί να περιγραφεί στα εξής στάδια (σχήμα 4):

1. **Πρωτογενής αιμόσταση:** Περιλαμβάνει τη σύσπαση του τραυματισμένου αγγείου και τη δημιουργία ενός πρωτογενούς αιμοπεταλιακού θρόμβου (λευκού θρόμβου). Στη διαδικασία αυτή συμμετέχουν το ενδοθήλιο-αγγειακό τοίχωμα με την αποκάλυψη του υπενδοθηλίου (κολλαγόνο, vWF, ινωδογόνο, ιστικός παράγων, φιβρονεκτίνη, θρομβοσπονδίνη, λαμινίνη, βιτρονεκτίνη). Στο υπενδοθήλιο προσκολλώνται τα αιμοπετάλια (μέσω του vWF και της γλυκοπρωτεΐνης επιφανείας τους GPIb) με αποτέλεσμα την ενεργοποίησή τους, την απελευθέρωση ουσιών των κοκκίων τους (ADP, TXA<sub>2</sub>, σεροτονίνη, ασβέστιο) και την συσσώρευση τους (σχήμα 5).
2. **Δευτερογενής αιμόσταση:** Περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός πλέγματος ινώδους που σταθεροποιεί τον θρόμβο (σε αυτή τη διαδικασία συμμετέχουν οι παράγοντες πήξης, οι φυσικοί αναστολείς και κύτταρα) (σχήμα 6).
3. **Ινωδόλυση:** Η διαδικασία που αποτρέπει την υπερβολική αύξηση του θρόμβου και μεσολαβεί στη διάλυσή του.



Σχήμα 4: Στάδια αιμόστασης

## 1. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΗΞΗΣ

Το σύστημα της πήξης αποτελείται από πρωτεΐνες του πλάσματος (παράγοντες πήξης και φυσικούς αναστολείς της πήξης), κυτταρικά στοιχεία (αιμοπετάλια, λευκά αιμοσφαίρια) και συστατικά του αγγειακού ενδοθηλίου. Σε φυσιολογικές συνθήκες οι περισσότεροι παράγοντες του συστήματος βρίσκονται σε ανενεργό μορφή και ενεργοποιούνται μέσω ενζυμικών διαδικασιών με την εμφάνιση αγγειακής βλάβης.

Το κλασικό μοντέλο της πήξης που διαμορφώθηκε το 1960 περιγράφει έναν «καταρράκτη» αντιδράσεων που αποτελούν διαδοχική ενεργοποίηση των παραγόντων της πήξης μέσω δύο ξεχωριστών οδών (ενδογενής οδός μέσω συστήματος επαφής και εξωγενής οδός μέσω ιστικού παράγοντα) οι οποίες καταλήγουν σε κοινή οδό με παραγωγή θρομβίνης και μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες και σταθερό θρόμβο ινικής (σχήμα 7). Ωστόσο, επειδή το μοντέλο αυτό δεν μπορούσε να εξηγήσει πολλές ερευνητικές παρατηρήσεις στη διαδικασία της αιμόστασης, έχει αναπτυχθεί από τη δεκαετία του 1990 ένα νέο μοντέλο πήξης, το «κυτταρικό μοντέλο της πήξης». Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, η διαδικασία της πήξης συντελείται σε τρεις αλληλοεπικαλυπτόμενες φάσεις (έναρξη-ενίσχυση-εξάπλωση) που συμβαίνουν στην αρνητικά φορτισμένη κυτταρική μεμβράνη διαφόρων κυττάρων, τα οποία παρέχουν ως υπόστρωμα φωσφολιπίδια και στα οποία συνδέονται τα προπηκτικά συμπλέγματα των πρωτεϊνών της πήξης (σχήμα 8). Το κεντρικό γεγονός στο μοντέλο αυτό είναι η δημιουργία της θρομβίνης. Όλες οι αντιδράσεις που

προηγούνται ή έπονται της δημιουργίας της θρομβίνης συμβαίνουν γρήγορα, χωρίς να ακολουθούν τη σαφή ακολουθία που υπάρχει στο μοντέλο του καταρράκτη <sup>(35)</sup>.

Πιο αναλυτικά οι 3 αλληλοεπικαλυπτόμενες φάσεις του κυτταρικού μοντέλου της πήξης είναι οι εξής: (σχήμα 9) <sup>(36)</sup>

### ***I. Έναρξη (initiaton):***

Ο κύριος φυσιολογικός εκκινητής της διαδικασίας της πήξης είναι ο ιστικός παράγοντας (tissue factor,TF) και το στάδιο «κλειδί» για την αποτελεσματική έναρξη της διαδικασίας της πήξης (ή θρόμβωσης) είναι η γειτνίαση του συμπλέγματος FVIIa/TF με την ενεργοποιημένη επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Ο TF είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη και επομένως εντοπίζεται μόνο στην επιφάνεια των κυττάρων που τον παράγουν, όπως είναι οι λείες μυϊκές ίνες, οι ινοβλάστες, τα μακροφάγα στην επιφάνεια της αθηρωματικής πλάκας, τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα στα σημεία ιστικής βλάβης και φλεγμονής. Επιπλέον, κυκλοφορούντα θραύσματα κυτταρικών μεμβρανών, τα μικροσωματίδια, φέρουν TF. Κατά τη διαδικασία της αιμόστασης, ο τραυματισμός του τοιχώματος του ενδοθηλίου επιτρέπει στο πλάσμα να έρθει σε επαφή με τον TF στην επιφάνεια των εξωαγγειακών κυττάρων. Ο παράγοντας VII συνδέεται με τον κυτταρικό TF και ενεργοποιείται ταχέως από πρωτεάσες. Το σύμπλεγμα FVIIa/TF ενεργοποιεί τους παράγοντες FX και FIX. Ο παράγοντας Xa μπορεί να ενεργοποιήσει τον πλασματικό FV <sup>(37)</sup>. Ο FX που ενεργοποιείται από το σύμπλεγμα FVIIa/TF αναστέλλεται ταχέως από τον TFPI (tissue factor pathway inhibitor) ή την ATIII (antithrombin III) αν αφήσει την κυτταρική επιφάνεια. Όμως, ο FX που παραμένει στην κυτταρική επιφάνεια μπορεί να συνδεθεί με τον FV ώστε να παράγουν μικρή ποσότητα θρομβίνης <sup>(38)</sup>, η οποία παίζει κεντρικό ρόλο στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και του FVIII κατά το επόμενο στάδιο, το στάδιο της ενίσχυσης.



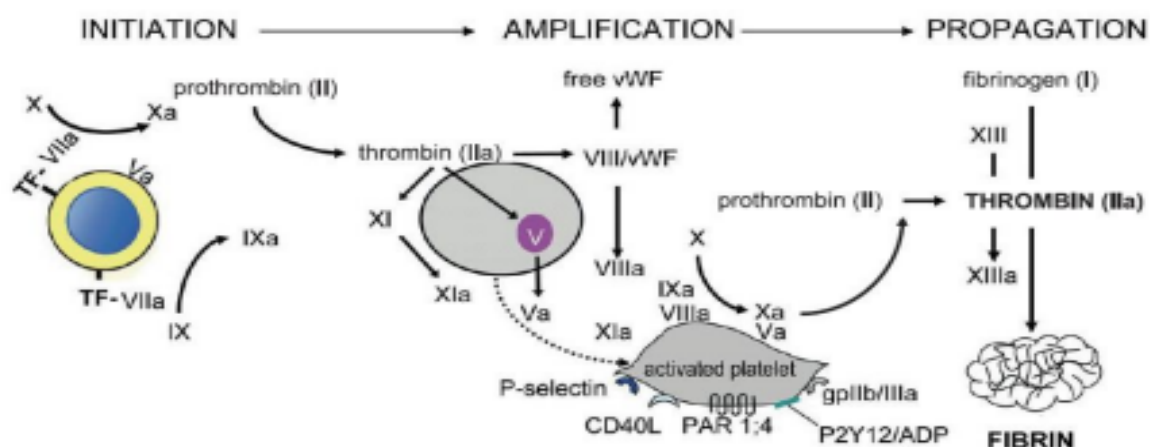
## 2. Ενίσχυση (amplification):

Τα μικρά ποσά θρομβίνης που παράχθηκαν στο προηγούμενο στάδιο στην επιφάνεια των κυττάρων που φέρουν TF ενισχύουν την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, ενεργοποιούν πλήρως τα αιμοπετάλια και τους παράγοντες V, VIII και XI<sup>(38)</sup>. Κατά την ενεργοποίησή τους, τα αιμοπετάλια απελευθερώνουν από τα α κοκκία τον FV στην επιφάνειά τους, ο οποίος ενεργοποιείται από τη θρομβίνη ή τον FXa.<sup>(37)</sup> Επιπλέον, η θρομβίνη που έχει προσδεθεί στο GPIIb/IX μπορεί να ενεργοποιήσει τον FVIII και να τον απελευθερώνει από το σύμπλεγμα von Willebrand factor (vWF)/FVIII. Έτσι, με τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και τους ενεργοποιημένους FV και FVIII στην επιφάνειά τους, ξεκινά η σχηματισμός των προπηκτικών συμπλόκων και η παραγωγή θρομβίνης σε μεγάλη κλίμακα.



## 3. Εξάπλωση (propagation):

Σε αυτή τη φάση, τα συμπλέγματα «τενάσης» και «προθρομβινάσης» συναρμολογούνται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και παράγονται μεγάλα ποσά θρομβίνης. Το σύμπλεγμα «τενάσης» (FVIIIa/FIXa) σχηματίζεται όταν ο FIXa πλησιάσει την επιφάνεια των αιμοπεταλίων, ο οποίος δεν αναστέλλεται γρήγορα από την ΑΤΙΙΙ ή άλλους πλασματικούς αναστολείς πρωτεασών και μπορεί να διαχυθεί από το σημείο ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης. Επιπρόσθετα, ο FXI μπορεί να προσδεθεί στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, διευκολύνοντας έτσι την ενεργοποίησή του από την θρομβίνη<sup>(39)</sup>. Έπειτα ο FXI μπορεί να παρέχει επιπλέον FIXa άμεσα στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Το σύμπλεγμα FIX/FVIII ενεργοποιεί τον FX στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, όπου ο FXa δημιουργεί σύμπλεγμα με τον συμπαραγοντα του, τον FVa. Το σύμπλεγμα FXa/FVa μπορεί πλέον να παράγει τα μεγάλα ποσά θρομβίνης που απαιτούνται για να δημιουργηθεί ένας θρόμβος ινικής.



**Σχήμα 9:** Κυτταρικό μοντέλο αιμόστασης. Οι τρεις φάσεις της πήξης λαμβάνουν χώρα σε διαφορετικές κυτταρικές επιφάνειες: Η έναρξη στα κύτταρα που φέρουν *TF*, η ενίσχυση στα αιμοπετάλια κατά την ενεργοποίησή τους και η εξάπλωση στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων.

Πηγή: *Thrombosis Haemostasis* 2013; 109:569-579 <sup>(36)</sup>

## **ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΗΞΗΣ**

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω στην περιγραφή του κυτταρικού μοντέλου της πήξης, καθοριστικής σημασίας για την έναρξή του είναι η ύπαρξη αρνητικά φορτισμένων επιφανειών πάνω στις οποίες λαμβάνουν χώρα όλες οι διαδικασίες της πήξης. Εναλλακτικοί τρόποι ενεργοποίησης του μηχανισμού της πήξης περιγράφονται παρακάτω.

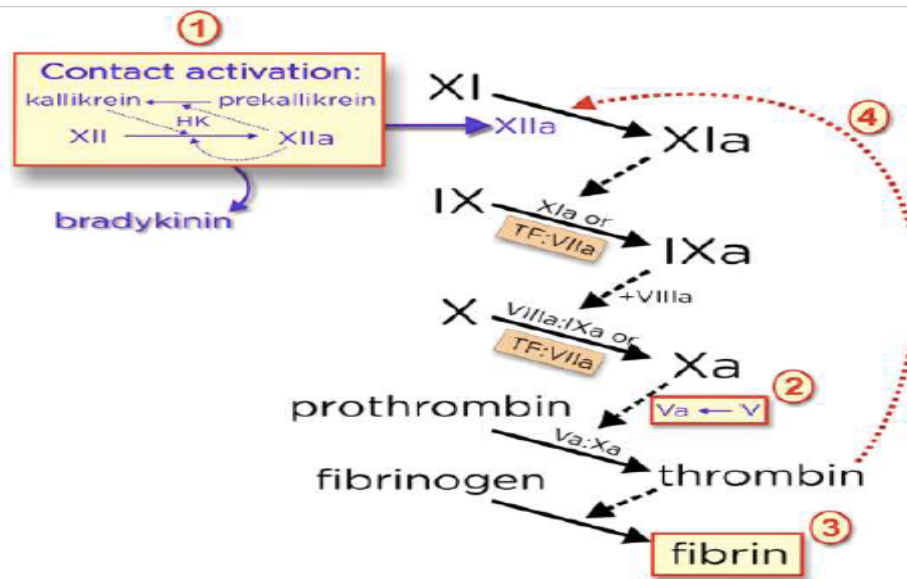
### **1. Εναλλακτική ενεργοποίηση πήξης: PolyP**

Τα πολυφωσφορικά πολυμερή (polyPs) είναι γραμμικά αρνητικά φορτισμένα πολυμερή φωσφορικών ενέσεων που συνδεούνται με φωσφοανυδριτικούς δεσμούς και ανευρίσκονται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς. Προέρχονται από τα αιμοπετάλια ή από μικρόβια. Τα δ κοκκία των αιμοπεταλίων περιέχουν polyPs τα οποία εκκρίνονται κατά την ενεργοποίησή τους. Τα μόρια polyP που προέρχονται από τα αιμοπετάλια περιέχουν κατά μέσο όρο 60-100 φωσφορικά άλατα, ενώ τα μόρια που προέρχονται από μικρόβια είναι πολύ πιο μακρά και μπορεί να έχουν μήκος έως και χιλιάδες φωσφορικά. Τα polyPs έχουν εισαγάγει νέες συνδέσεις στον κλασικό καταρράκτη της πήξης και ιδιαίτερα στην ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού/συστήματος επαφής. Συγκεκριμένα, τα polyPs ρυθμίζουν τον καταρράκτη της πήξης με τους εξής τρόπους (Σχήμα 10):

1. Ενεργοποιώντας την οδό επαφής της πήξης μέσω της καλλικρεΐνης
2. Επιταχύνοντας την ενεργοποίηση του παράγοντα V
3. Ενισχύοντας τη δομή του θρόμβου ινώδους
4. Επιταχύνοντας τον ρυθμό ενεργοποίησης του παράγοντα XI από τη θρομβίνη

Η αντίδραση 1 απαιτεί polyP μακράς αλυσίδας του τύπου που υπάρχει σε μικρόβια, ενώ οι άλλες τρεις αντιδράσεις προωθούνται τόσο από polyP μικροβίων όσο και polyP μεγέθους που εκκρίνεται από αιμοπετάλια <sup>(40)</sup>.

**Σχήμα 10:** Εναλλακτική ενεργοποίηση πήξης από polyPs <sup>(40)</sup>



## 2. Εναλλακτική ενεργοποίηση πήξης: Κυτταρικά στοιχεία του αίματος

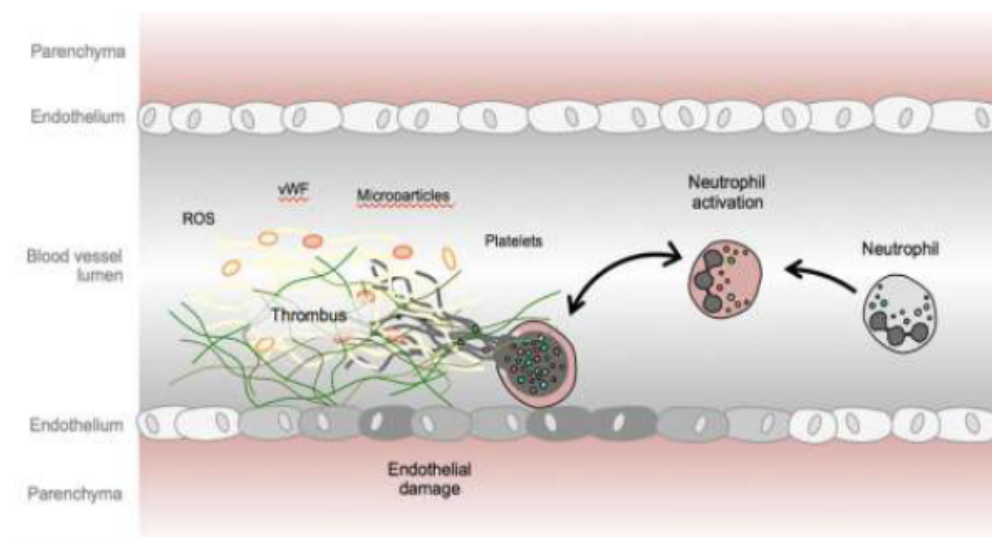
Τα NETs (neutrophils extracellular traps, ουδετεροφιλικές εξωκυττάρειες παγίδες) ανακαλύφθηκαν το 2004 και αποτελούν μια σκαλωσιά/ραχοκοκκαλιά από DNA/ιστόνες στην οποία είναι προσδεδεμένα αντιμικροβιακά πεπτίδια που κάτω από κανονικές συνθήκες βρίσκονται στα κοκκία των ουδετεροφίλων. Δημιουργούνται όταν τα ουδετερόφιλα αποσυμπυκνώνουν τη χρωματίνη και αποδομούν τις μεμβράνες τους με αποτέλεσμα την απελευθέρωση νουκλεϊκών οξέων στην κυκλοφορία. Κύριος ρόλος τους είναι ο εγκλωβισμός παθογόνων και η αποτροπή της διασποράς τους. Ωστόσο, μη ελεγχόμενη ή αυξημένη δημιουργία τους στο αγγείο συνεισφέρει στην ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης με τους εξής μηχανισμούς (σχήμα 11) <sup>(41)</sup>:

Α. Η αρνητικά φορτισμένη επιφάνειά τους ενεργοποιεί τόσο τα αιμοπετάλια μέσω των ιστονών όσο και τον FXII. Παράλληλα ενεργοποιούν και τον TFPI και προκαλούν έκθεση ιστικού παράγοντα (tissue factor, TF)

Β. Συμβάλλουν στην ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, την απελευθέρωση vWF και τη συσσώρευση λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων στο ενδοθηλιακό τοίχωμα

Γ. Η ραχοκοκκαλιά DNA-ιστονών των NETs συνεισφέρει στη σταθεροποίηση του θρόμβου ινικής καθώς και σε μειωμένη ινωδολυτική ικανότητα.

**Σχήμα 11:** Μηχανισμός σχηματισμού NETs και η συμμετοχή τους στη θρόμβωση <sup>(41)</sup>



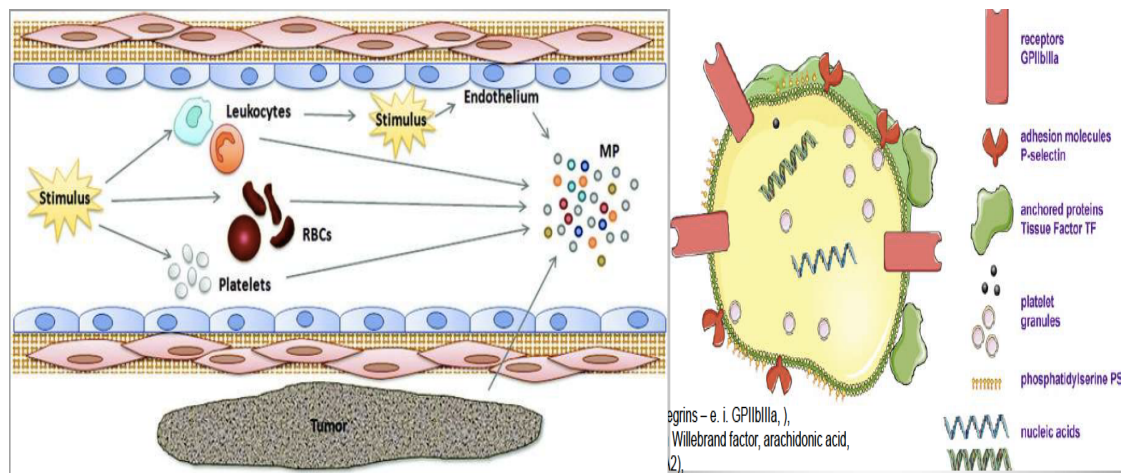
*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019;39:1724-1738

**3. Εναλλακτική ενεργοποίηση πήξης: Μικροκυστίδια (Microparticles, MPs)**

Τα μικροκυστίδια *MPs* είναι μικρού μεγέθους κυστίδια, με διάμετρο 100-1000nm που αποτελούνται από μια φωσφολιπιδική διπλοστοιβάδα και μεμβρανικές πρωτεΐνες. Προέρχονται από κυτταρικές μεμβράνες μετά από τοπικές ανακατατάξεις του κυτταροσκελετού και των μεμβρανών. Απελευθερώνονται από την κυτταρική επιφάνεια κατά την ενεργοποίηση ή την απόπτωση των κυττάρων και η φύση τους μπορεί να ποικίλει με βάση το ερέθισμα και το κύτταρο προέλευσης. Τα *MPs* περιγράφηκαν για πρώτη φορά ως «σκόνη αιμοπεταλίων» το 1967. Το αίμα περιέχει πληθώρα μικροκυστιδίων τα οποία προέρχονται από διαφορετικά κύτταρα: αιμοπετάλια, μονοκύτταρα, ερυθρά αιμοσφαίρια, ενδοθηλιακά κύτταρα και καρκινικά κύτταρα. Ο αριθμός τους αυξάνεται ιδιαίτερα σε κάποιες κλινικές καταστάσεις όπως στον καρκίνο, την καρδιαγγειακή νόσο και τη φλεγμονή. Ενώ εκφράζουν δείκτες επιφανείας προερχόμενους από τα μητρικά κύτταρα (πρωτεΐνες, λιπίδια), δεν αποτελούν πιστά αντίγραφα των μητρικών κυττάρων. Πιθανώς παίζουν ρόλο στην ενδοκυττάρια επικοινωνία, την επικοινωνία μεταξύ κυττάρων, τη φλεγμονή, ενώ έχουν και προπηκτική δράση <sup>(42)</sup>.

Τα *MPs* επάγουν τη θρόμβωση μέσω διαφόρων μηχανισμών (σχήμα 12). Λόγω της μεταβολής στην κανονική ασύμμετρη διαμόρφωση της φωσφολιπιδικής διπλοστιβάδας η φωσφατιδυλοσερίνη (PS) εμφανίζεται στην εξωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης προάγοντας το σχηματισμό θρόμβου. Ένας άλλος μηχανισμός είναι η έκφραση του ιστικού παράγοντα (TF) στην επιφάνεια των *MPs*, ενώ τέλος, τα *MPs* αυξάνουν τη συσσώρευση άλλων κυττάρων στο σημείο του θρόμβου <sup>(43)</sup>.

**Σχήμα 12:** Προέλευση των *MPs* και μηχανισμοί επαγωγής θρόμβωσης

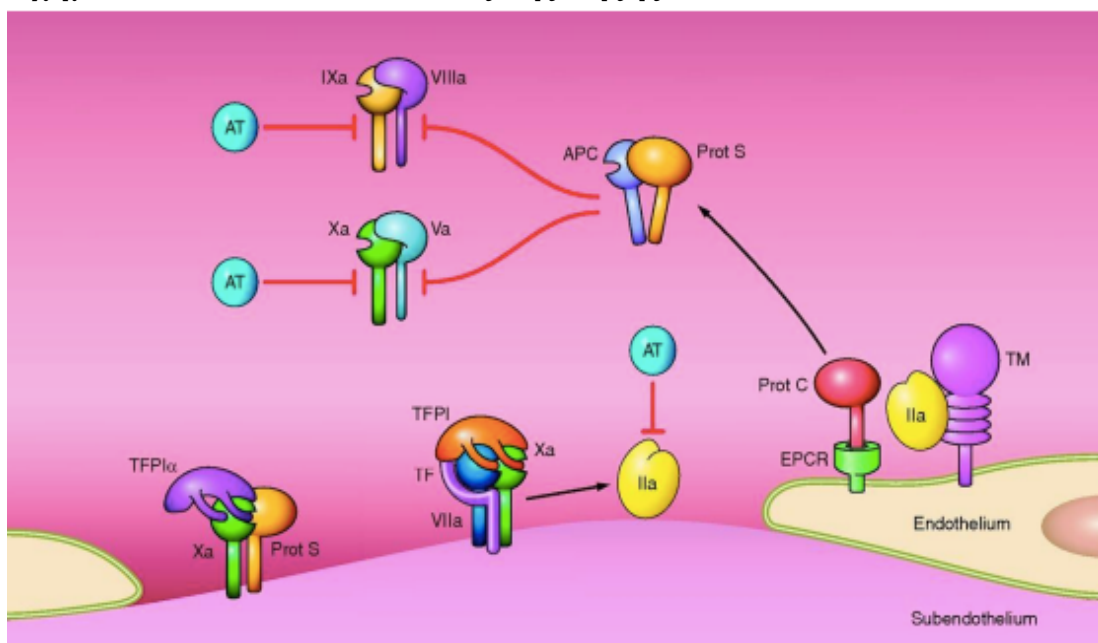


## ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΑΝΑΣΤΑΛΤΕΣ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΗΞΗΣ

Ο αποτελεσματικός έλεγχος του σχηματισμού θρόμβου είναι αναγκαίος για την ομοιόσταση του οργανισμού, ώστε ο θρόμβος να περιορίζεται στο σημείο της βλάβης και να λύεται ικανοποιητικά όταν αυτό απαιτείται. Η ρύθμιση αυτή επιτυγχάνεται με δυο κύριους μηχανισμούς, με τους οποίους ρυθμίζεται η δράση της θρομβίνης:

1. Ένα άμεσο σύστημα αναστολέων των κυκλοφορούντων διαλυτών πρωτεασών σερίνης που περιλαμβάνουν την αντιθρομβίνη (AT III) και τον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI, tissue factor pathway inhibitor). Η AT απενεργοποιεί κυρίως τη θρομβίνη και τους παράγοντες IXa, Xa, XIa, ενώ ο TFPI αναστέλλει τον ιστικό παράγοντα και το σύμπλεγμα TF-FVIIa-FXa.
2. Ένα έμμεσο σύστημα που αποτελείται από την πρωτεΐνη C (PC) και τον συμπαράγοντά της, την πρωτεΐνη S (PS), πρωτεΐνες που εξαρτώνται από τη βιταμίνη K. Η οδός της PC ενεργοποιείται από το σύμπλεγμα θρομβίνης/θρομβομοντουλίνης (TM) που βρίσκεται στο ενδοθήλιο. Η ενεργοποιημένη PC (APC) με την παρουσία του συμπαράγοντά της PS απενεργοποιεί τους Va και VIIIa, αναστέλλοντας κατ'έκταση το σύμπλεγμα της προθρομβινάσης και της τενάσης (σχήμα 13) <sup>(35,44,45)</sup>

**Σχήμα 13 Φυσιολογικοί ανασταλτές της πήξης**



Πηγή: Versteeg et al., *New fundamentals in hemostasis. Physiol Rev* 2013. 93:327-358

## **2. ΑΝΟΣΟΘΡΟΜΒΩΣΗ (IMMUNOTHROMBOSIS): ΟΡΣΙΜΟΣ- ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ**

Ο όρος «ανοσοθρόμβωση» (immunothrombosis) χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά το 2013 από τους Engelmann και Massberg οι οποίοι επανεξέτασαν τον μηχανισμό της μικρο-αγγειακής θρόμβωσης με τη μεσολάβηση των NETs και τον πρότειναν ως έναν δυνητικά επικουρικό μηχανισμό της φυσικής ανοσίας για τον περιορισμό της εξάπλωσης και επιβίωσης παθογόνων-εισοβολέων, ο οποίος πυροδοτείται από παθογόνα και κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη. Ο όρος περιγράφει τη λειτουργική αλληλεπίδραση μεταξύ φυσικής ανοσίας και θρόμβωσης. Πρότειναν τέσσερις μηχανισμούς με τους οποίους η ανοσοθρόμβωση εμποδίζει την εξάπλωση της λοίμωξης: 1) συλλαμβάνει και παγιδεύει παθογόνους μικροοργανισμούς στη μικροαγγειακή κυκλοφορία και εμποδίζει τη διάδοσή τους, 2) εμποδίζει την ιστική διείσδυση σχηματίζοντας μικροθρόμβους σε μικρά αγγεία, 3) συγκεντρώνει τα παθογόνα σε μία περιοχή για την εξουδετέρωση από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και 4) προσελκύει άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος στη θέση της φλεγμονής. Η ανοσοθρόμβωση πυροδοτείται κυρίως από ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα που σχηματίζουν NETs, και από μονοκύτταρα και υποστηρίζεται από τη δημιουργία μικροθρόμβων σε μικρά αγγεία, μέσα στα οποία τα ενδοθηλιακά κύτταρα που εκτίθενται σε μικροοργανισμούς αποκτούν έναν προπηκτικό φαινότυπο <sup>(45)</sup>. Έτσι, ενώ η διαδικασία πήξης παίζει ρόλο στην υπεράσπιση του ξενιστή ενάντια στα βακτήρια, εάν αφεθεί ανεξέλεγκτη, η ανοσοθρόμβωση μπορεί να συμβάλλει σε σημαντική συστηματική παθολογία <sup>(46)</sup>. Ο μηχανισμός της ανοσοθρόμβωσης έχει περιγραφεί σε διάφορες παθήσεις όπως αυτοάνοσα νοσήματα, αγγειϊτίδες, αθηροσκλήρωση, κακοήθειες, και προσφάτως στο σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας στην covid-19 λοίμωξη <sup>(47)</sup>. Πιο αναλυτικά οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που ενέχονται στην ανοσοθρόμβωση θα περιγραφούν σε επόμενο ειδικό κεφάλαιο.

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### Α. ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ- ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι ασθενείς με MYN διατρέχουν τον κίνδυνο ινωτικής ή λευχαιμικής εκτροπής, ωστόσο οι αιμοστατικές (κυρίως θρομβωτικές και λιγότερο συχνά αιμορραγικές) επιπλοκές είναι αυτές που κυρίως επηρεάζουν αρνητικά το προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών αυτών. Η θρόμβωση που περιλαμβάνει τόσο το αρτηριακό, όσο και το φλεβικό σκέλος, αναγνωρίζεται ως η πρωταρχική αιτία νοσηρότητας και θνητότητας σε ασθενείς με PV και ET <sup>(17)</sup>. Προοπτική ανάλυση των θρομβωτικών επεισοδίων στην μελέτη της ECLAP (European Collaboration on Low-dose Aspirin study), βρήκε ότι τα καρδιαγγειακά επεισόδια αποτελούσαν το 45% της ολικής (από κάθε αιτία) θνητότητας στην PV <sup>(48,49)</sup>. Ο κίνδυνος θρόμβωσης είναι μεγαλύτερος κατά την αρχική διάγνωση. Μια μετανάλυση αναφέρει επιπολασμό θρόμβωσης 20% κατά την αρχική διάγνωση MYN (16,2% αφορά σε αρτηριακή και 6,2% σε φλεβική θρόμβωση). Η συχνότητα θρόμβωσης στην διάγνωση ήταν μεγαλύτερη στην PV στο 28,6% (95% CI, 22-36%), ακολουθούμενη από την ET στο 20,7% (95% CI, 16,6-25,5%) και χαμηλότερη στην MF στο 9,5% (95% CI, 5-17%) <sup>(13)</sup>. Μια μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη παρατήρησε ότι ο κίνδυνος θρόμβωσης σε MYN σε σχέση με το γενικό πληθυσμό είναι 3 φορές μεγαλύτερος για την αρτηριακή θρόμβωση και 10 φορές μεγαλύτερος για την φλεβική θρόμβωση. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ο κίνδυνος είναι μεγαλύτερος κατά τη διάγνωση ή λίγο μετά από αυτήν, αλλά μολονότι μειώνεται αργότερα, παραμένει σημαντικά αυξημένος στη διάρκεια της ζωής των ασθενών αυτών. Η 5ετής αθροιστική επίπτωση της θρόμβωσης ήταν 2 φορές μεγαλύτερη από αυτήν αντίστοιχων ηλικιακών ομάδων μαρτύρων, όπως αυξημένος είναι και ο κίνδυνος υποτροπιάζουσας θρόμβωσης<sup>(50)</sup>.

Οι αρτηριακές θρομβώσεις αποτελούν το 60-70% των θρομβωτικών επεισοδίων (διπλάσιες από τις φλεβικές θρομβώσεις) και περιλαμβάνουν το έμφραγμα του μυοκαρδίου, ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και απόφραξη περιφερικής αρτηρίας. Όσον αφορά τις φλεβικές θρομβώσεις, αυτές περιλαμβάνουν την πνευμονική εμβολή, την εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση άκρων αλλά και θρομβώσεις σε ασυνήθη σημεία, όπως θρόμβωση φλεβωδών κόλπων εγκεφάλου, σπλαχνικές φλεβικές θρομβώσεις (κυρίως ενδοκοιλιακών

αγγείων)<sup>(51)</sup>. Τα MYN είναι η συχνότερη αιτία συνδρόμου Budd-Chiari προκαλώντας το 40% των περιπτώσεων και είναι η πιο συχνή αιτία μη-κακοήθους και μη-κιρρωτικής αιτιολογίας θρόμβωσης της πυλαίας φλέβας, αποτελώντας το 30% των περιπτώσεων. Μάλιστα η σπλαγγχνική θρόμβωση μπορεί να είναι η πρώτη εκδήλωση MYN, ιδίως στην περίπτωση μετάλλαξης του JAK2. Τα MYN που εμφανίζονται με αυτή την εικόνα συνήθως έχουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που περιλαμβάνουν την έναρξη σε μικρότερη ηλικία, την υπεροχή του γυναικείου φύλου και το γεγονός ότι η θρόμβωση προηγείται της εμφάνισης διαταραχών στη γενική αίματος. Ο έλεγχος για μεταλλάξεις στο JAK2 σε ασθενείς με θρόμβωση σπλαγγχνικής φλέβας, χωρίς εμφανή στοιχεία μυελοϋπερπλασίας, οδήγησε στη διάγνωση MYN σε 15,4% και 17,1% ασθενών με θρόμβωση πυλαίας φλέβας και σύνδρομο Budd-Chiari αντίστοιχα<sup>(15,52,53)</sup>. Τέλος, επιπλέον της θρόμβωσης μεγάλων αγγείων, σημαντικό μέρος των συμπτωμάτων ασθενών με PV και ET όπως η κεφαλαλγία, οι παραισθησίες των άκρων και η ερυθρομελαλγία οφείλονται σε μικροαγγειακούς θρόμβους<sup>(16)</sup>.

## ***ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΕ MYN***

Πολλαπλοί παράγοντες κινδύνου με βάση κλινικά στοιχεία για τον κάθε ασθενή και με βάση τα χαρακτηριστικά του κάθε νοσήματος σχετίζονται με αυξημένο θρομβωτικό κίνδυνο στα MYN.

### ***A. Παράγοντες κινδύνου σχετιζόμενοι με τον ασθενή***

Σημαντική είναι η θετική συσχέτιση μεταξύ των κλασικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και της θρομβωτικής προδιάθεσης στα MYN. Η πολυπαραγοντική ανάλυση μιας αναδρομικής κοορτής ασθενών με ET ανέδειξε σημαντικούς προγνωστικούς δείκτες αρτηριακής θρόμβωσης: 1) ηλικία >60 έτη, 2) ιστορικό θρόμβωσης, 3) καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων του καπνίσματος, της υπέρτασης και του σακχαρώδους διαβήτη. Το άρρεν φύλο ήταν ο μόνος προγνωστικός παράγοντας φλεβικής θρόμβωσης<sup>(51)</sup>.

Παρομοίως σε ασθενείς με PV, η μεγάλη ηλικία >60 ετών και η προηγούμενη θρόμβωση είναι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες καρδιαγγειακών επιπλοκών, ενώ έχουν φανεί συσχετίσεις και μεταξύ της υπέρτασης και της δυσλιπιδαιμίας με την εμφάνιση αρτηριακών θρομβώσεων<sup>(54)</sup>. Συνεπώς, η συνεκτίμηση συννοσηροτήτων είναι κρίσιμη στον καθορισμό του θρομβωτικού

κινδύνου και η ρύθμιση των καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου αποτελεί βασική μέριμνα στην κλινική διαχείριση των ασθενών με MYN <sup>(26)</sup>.

### ***B. Παράγοντες κινδύνου σχετιζόμενοι με το νόσημα***

Επειδή τα MYN χαρακτηρίζονται από αύξηση διαφόρων κυτταρικών σειρών του αίματος, έχει γίνει προσπάθεια να σκιαγραφηθεί η ανεξάρτητη συσχέτιση μεταξύ των κυτταρικών τιμών και της θρόμβωσης. Η συνεισφορά της υπεργλοιοότητας στην υπερπηκτική κατάσταση έχει φανεί στην περίπτωση της PV. Η τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη CYTO-PV διερεύνησε τον θρομβωτικό κίνδυνο σε διάφορες τιμές αιματοκρίτη. Η συχνότητα θρόμβωσης ήταν 4 φορές υψηλότερη σε ασθενείς με αιματοκρίτη μεταξύ 45-50% σε σχέση με ασθενείς με αιματοκρίτη <45%, θέτοντας έτσι και ένα θεραπευτικό στόχο κατά την παρακολούθηση <sup>(24)</sup>.

Η θρομβοκυττάρωση μπορεί να εμφανιστεί σε όλους του υποτύπους MYN, αλλά είναι χαρακτηριστική στην ET. Ωστόσο ο βαθμός της θρομβοκυττάρωσης δεν έχει φανεί να συσχετίζεται με θρομβωτικές επιπλοκές. Παραδόξως, η υπερβολική θρομβοκυττάρωση (>1.500.000/μl) σχετίζεται με αιμορραγική διάθεση. Ο υποκείμενος μηχανισμός είναι η επίκτητη νόσος von Willebrand, η οποία είναι αποτέλεσμα της αυξημένης κάθαρσης των μεγάλων πολυμερών του παράγοντα vWF από τα αυξημένα αιμοπετάλια <sup>(55,56)</sup>.

Αντικρουόμενα δεδομένα υπάρχουν στη βιβλιογραφία για την επίδραση της λευκοκυττάρωσης στα αγγειακά επεισόδια στο πλαίσιο των MYN. Δεδομένα μελετών παρατήρησης έχουν δείξει μία θετική συσχέτιση μεταξύ λευκοκυττάρωσης και θρόμβωσης τόσο στην PV όσο και στην ET <sup>(57-59)</sup>. Μια μετα-ανάλυση 30.000 ασθενών έδειξε 60% μεγαλύτερο κίνδυνο θρόμβωσης με την ύπαρξη λευκοκυττάρωσης, ιδίως στην περίπτωση της ET και όσον αφορά σε αρτηριακές θρομβώσεις. Ωστόσο η μέτρηση των λευκοκυττάρων συνέβαινε σε μία μόνο χρονική στιγμή (συνήθως στη διάγνωση), μειώνοντας την ισχύ της συγκεκριμένης διαπίστωσης λόγω της απουσίας επαναληψιμότητας <sup>(60)</sup>. Μία πρόσφατη μελέτη που διερεύνησε την ύπαρξη εμμένουσας λευκοκυττάρωσης σε ασθενείς με PV, δεν ανέδειξε συσχέτιση μεταξύ αριθμού λευκοκυττάρων και θρόμβωσης <sup>(61)</sup>. Επομένως, η συμβολή της λευκοκυττάρωσης σαν ανεξάρτητου παράγοντα κινδύνου θρόμβωσης στα MYN δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το μοριακό υπόβαθρο των MYN είναι σύνθετο και φαίνεται να συσχετίζεται με τον θρομβωτικό κίνδυνο.

Η μετάλλαξη JAK2V617F στην ET φαίνεται ότι προσδίδει διπλάσιο κίνδυνο θρόμβωσης σε σχέση με τους ασθενείς με αμετάλλακτο (wild type, WT) JAK2<sup>(62)</sup>. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν φανεί και στην περίπτωση της MF<sup>(63)</sup>. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει μία ποσοτική σχέση μεταξύ ποσοστού αλληλίου JAK2V617F (allele burden) και θρόμβωσης στην PV, ET και MF<sup>(64)</sup>. Μία Ιταλική προοπτική μελέτη έδειξε ότι αλληλικό φορτίο μεγαλύτερο από 50% συνεπαγόταν μεγαλύτερο θρομβωτικό κίνδυνο σε ET και MF<sup>(65)</sup>. Μια προοπτική Ισπανική μελέτη ποσοτικοποίησε και παρακολούθησε ασθενείς με PV και ET, δείχνοντας ότι η θρόμβωση ήταν συχνότερη σε ασθενείς με σταθερά υψηλό ή κυμαινόμενο αλληλικό φορτίο σε σχέση με αυτούς με σταθερά χαμηλό αλληλικό φορτίο<sup>(66)</sup>. Απεναντίας, ο θρομβωτικός κίνδυνος είναι μικρότερος σε ασθενείς με ET και μετάλλαξη του CALR γονιδίου σε σχέση με αυτούς με JAK2V617F μετάλλαξη και συγκρίσιμος με αυτό των τριπλά αρνητικών περιπτώσεων. Ιταλική προοπτική μελέτη με 576 ET ασθενείς, οι οποίοι είχαν διάμεση παρακολούθηση 6 έτη, αναφέρει μείζονα καρδιαγγειακά επεισόδια στο 30% JAK2V617F θετικών ασθενών, έναντι 13.5% σε ασθενείς με CALR μετάλλαξη. Τέλος, σχετικά μεγάλος ήταν και ο κίνδυνος θρόμβωσης σε ασθενείς με μετάλλαξη MPL με 10ετή αθροιστική επίπτωση θρόμβωσης 20%<sup>(67)</sup>.

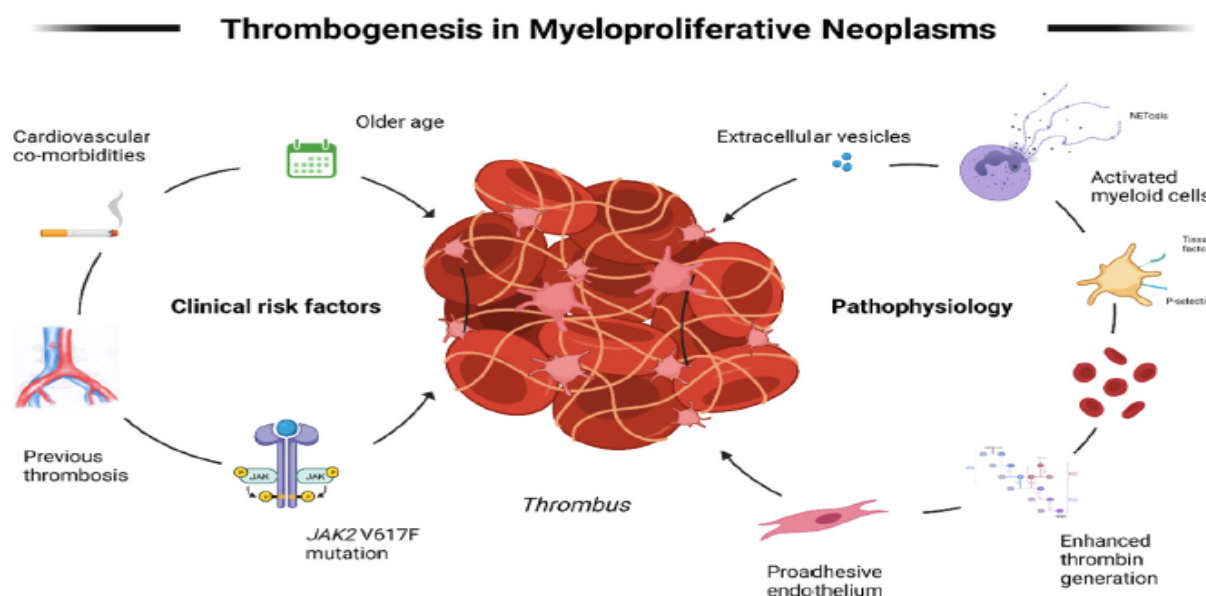
Στο σχήμα 14 φαίνεται το προγνωστικό σκορ θρόμβωσης στην ET<sup>(68)</sup> και στο σχήμα 15 οι γενικότεροι παράγοντες κινδύνου θρόμβωσης στα MYN<sup>(69)</sup>

**Σχήμα 14:** Διεθνές προγνωστικό σκορ για θρόμβωση στην ET (International Prognostic Score for Thrombosis in Essential Thrombocythaemia, **IPSET-Thrombosis**) <sup>(68)</sup>

| ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ                           | ΣΚΟΡ | ΚΙΝΔΥΝΟΣ       | ΕΤΗΣΙΑ ΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ |
|-------------------------------------|------|----------------|-----------------------------|
| ΗΛΙΚΙΑ>60 ΕΤΩΝ                      | 1    | Χαμηλός (0-1)  | 1,03%                       |
| ΠΟΡΗΓΟΥΜΕΝΗ ΘΡΟΜΒΩΣΗ                | 2    | Ενδιάμεσος (2) | 2,35%                       |
| ΚΑΡΔΕΙΑΓΓΕΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ | 1    | Υψηλός (3-6)   | 3,56%                       |
| JAK2V617F ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ                 | 2    |                |                             |

**Σχήμα 15:** Γενικοί κλινικοί και παθοφυσιολογικοί παράγοντες θρόμβωσης στα MYN

(Πηγή: Kelliher et A. Falanga, *Thrombosis Update 5* (2021) 100081)<sup>(69)</sup>



## **B. ΓΕΝΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

Η παθογένεια της θρόμβωσης στα MYN είναι πολυπαραγοντική, καθώς είναι το αποτέλεσμα σύνθετων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων του αίματος, του ενδοθηλίου και του συστήματος της πήξης. Η αριθμητική αύξηση των ερυθροκυττάρων, λευκοκυττάρων ή/ και των αιμοπεταλίων συνοδεύεται από ποιοτικές διαταραχές τους οι οποίες ευνοούν έναν προπηκτικό φαινότυπο <sup>(17,70)</sup>. Γι' αυτό το λόγο ο θρομβωτικός κίνδυνος στην ET και PV είναι πολύ μεγαλύτερος από αυτόν που παρατηρείται στην δευτεροπαθή θρομβοκυττάρωση ή πολυερυθραιμία. Η υπεργλοιοότητα εξαιτίας της αυξημένης ερυθροκυτταρικής μάζας στην PV παίζει ισχυρό ρόλο στη θρομβωτική προδιάθεση, ενώ παράλληλα, τα ερυθρά αιμοσφαίρια στην PV παρουσιάζουν αυξημένη προσκόλληση στη λαμινίνη του ενδοθηλίου <sup>(71)</sup>.

Επιπλέον, ο αυξημένος αιματοκρίτης ευνοεί τη μετακίνηση των αιμοπεταλίων εγγύτερα στο αγγειακό τοίχωμα, αυξάνοντας τη συγκέντρωσή τους σε σημεία αγγειακού τραυματισμού <sup>(72)</sup>.

Προσφάτως, υπάρχουν ενδείξεις για το ρόλο των λευκών αιμοσφαιρίων στην προθρομβωτική κατάσταση, ενώ η λευκοκυττάρωση έχει προταθεί ως παράγοντας κινδύνου θρόμβωσης <sup>(51)</sup>. Πέρα από την αριθμητική αύξηση, υπάρχουν ενδείξεις αυξημένης *in vivo* ενεργοποίησης των ουδετεροφίλων, όπως υποδηλώνεται από την έκφραση του CD11b στην επιφάνειά τους και από τα αυξημένα επίπεδα ελαστάσης και μυελοϋπεροξειδής (MPO) στην κυκλοφορία <sup>(73,74)</sup>. Παράλληλα, ανευρίσκεται και ενεργοποίηση των μονοκυττάρων με αυξημένη έκφραση του CD25 στην επιφάνειά τους <sup>(75)</sup>.

Ένα άλλο στοιχείο που συμβάλλει στη θρομβωτική τάση, αποτελεί η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου η οποία προσφέρει μία ευνοϊκή στη συγκόλληση και στη φλεγμονή επιφάνεια που ευνοεί την πρόσδεση και ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων <sup>(70,51)</sup>.

Πλέον είναι καλά διαπιστωμένο ότι ο MYN κλώνος επάγει μία συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση, η οποία αντικατοπτρίζεται στα αυξημένα επίπεδα ποικίλων προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η IL-6, IL-1, IL-8 και ο TNF-α <sup>(76)</sup>. Η φλεγμονή και η αιμόσταση είναι στενά συνδεδεμένες διαδικασίες και πρόσφατα, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η σύνδεση μεταξύ φυσικής ανοσίας και πήξης ως στρατηγικής άμυνας του οργανισμού ενάντια σε παθογόνα, έχει οδηγήσει στο σχήμα της ανοσοθρόμβωσης (immunothrombosis) <sup>(45)</sup>.

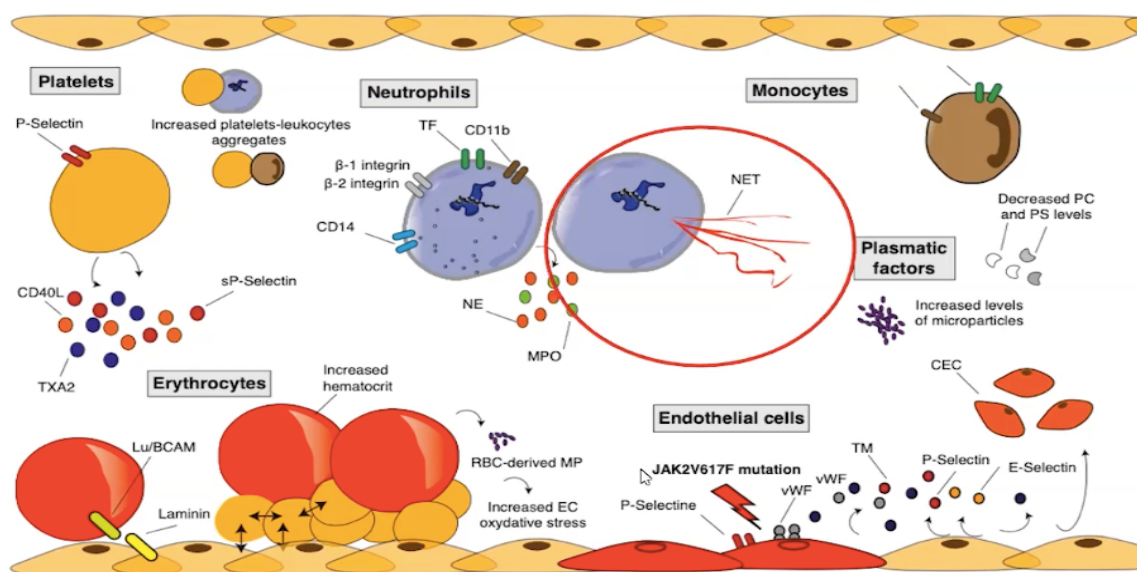
Απορρύθμιση του μηχανισμού αυτού μπορεί να οδηγήσει σε αγγειακή βλάβη και να συμβάλλει σε αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Τέλος, εξελισσόμενη έρευνα υπογραμμίζει τη συνεισφορά της χρόνιας φλεγμονής στην υπερπηκτική κατάσταση των MYN, όπως υποδηλώνεται από τη συσχέτιση υψηλής CRP (C-reactive protein) και της θρόμβωσης <sup>(17,77)</sup>. Μεσολαβητές της φλεγμονής επάγουν την ενεργοποίηση νεοπλασματικών και μη-νεοπλασματικών κυττάρων του αίματος, τον σχηματισμό μικροσωματιδίων (microparticles, MPs) και την αγγειακή βλάβη, τροφοδοτώντας τη θρομβωτική διαδικασία (Σχήμα 16) <sup>(17)</sup>.

### **Σχήμα 16 Γενικοί μηχανισμοί θρόμβωσης στα JAK2V617F θετικά MYN:**

<sup>(78)</sup> Φαίνεται σχηματικά η αλληλεπίδραση μεταξύ:

- αιμοπεταλίων (αυξημένη ενεργοποίηση, έκκριση μεσολαβητών φλεγμονής, μικροσωματιδίων),
- ουδετεροφίλων (αύξηση έκφρασης  $\beta 1, \beta 2$  ιντεγκρινών, TF, δεικτών ενεργοποίησης- CD11b, CD14, σχηματισμός NETs και έκκριση MPO και ελαστάσης),
- σχηματισμένων συσσωμάτων ουδετεροφίλων-αιμοπεταλίων και μονοκυττάρων-αιμοπεταλίων
- μακροφάγων (αυξημένη ενεργοποίησή, έκφραση CD25)
- ενδοθηλιακών κυττάρων (θετικά για JAK2V617F, αύξηση μορίων προσκόλλησης, έκκριση vWF, οξειδωτικό στρες, κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα)
- ερυθροκυττάρων (αυξημένη ερυθροκυτταρική μάζα- υπεργλοιότητα, απόθεση αιμοπεταλίων προς το αγγειακό τοίχωμα, αύξηση μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο /LuBCAM, παραγωγή μικροσωματιδίων)
- παραγόντων πλάσματος που συμμετέχουν στην πήξη (μειωμένες PC, PS)
- μικροκυστιδίων

### **The actors of thrombosis during JAK2V617F MPN**



Guy et al, Leukemia, 2021

## Γ. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΟΣΟΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΙΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

### Γενικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί ανοσοθρόμβωσης

Όπως αναφέρθηκε στο εισαγωγικό κεφάλαιο, προσφάτως έχει περιγραφεί με τον όρο «ανοσοθρόμβωση» η στενή σχέση μεταξύ φυσικής ανοσίας και θρόμβωσης ως αμυντικού μηχανισμού του οργανισμού ενάντια στην εισβολή παθογόνων. Οι Engelmann και Massberg περιέγραψαν τη διαδικασία αυτή ως έναν μηχανισμό φυσικής ανοσίας που πυροδοτείται από παθογόνα και κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη, με σκοπό να μειωθεί η εξάπλωση και η επιβίωση των παθογόνων-εισβολέων <sup>(45)</sup>. Από την άλλη μεριά, ο όρος «θρομβο-φλεγμονή» (thromboinflammation) αναφέρεται σε μία διαδικασία στην οποία η φλεγμονή και η θρόμβωση συνυπάρχουν στα μικρά αγγεία, ως απάντηση σε σήματα που προκαλούν βλάβη (παθογόνα, τραυματισμένα κύτταρα και επιβλαβείς/τοξικοί παράγοντες) <sup>(79)</sup>. Η ανοσοθρόμβωση (immunothrombosis) πυροδοτείται κυρίως από ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα και υποστηρίζεται από το σχηματισμό μικροθρόμβων στα αγγεία της μικροκυκλοφορίας, μέσα στα οποία τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκτίθενται σε μικροοργανισμούς ή άλλα σήματα και αποκτούν έναν προπηκτικό φαινότυπο <sup>(79)</sup>.

Κατά τη διάρκεια της ανοσοθρόμβωσης τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα απελευθερώνουν ιστικό παράγοντα (TF), ινφλαμماسώματα και εξωκυττάρια νουκλεοσώματα (NETs) και αποδομούν τα ενδογενή αντιπηκτικά μόρια (protein C, protein S/ PC,PS, tissue factor pathway inhibitor/TFPI, θρομβομοντουλίνη /TM), διευκολύνοντας έτσι την ενεργοποίηση της πήξης από τη φλεγμονή <sup>(80)</sup>.

### **NETs**

Τα ουδετερόφιλα συμμετέχουν περαιτέρω στη διαδικασία της ανοσοθρόμβωσης με τον σχηματισμό NETs <sup>(81)</sup>. Τα NETs είναι εξωκυττάρια δομές αποτελούμενες από DNA και ιστόνες και συνδέονται με αντιβακτηριδιακές πρωτεΐνες που περιέχονται στα κοκκία των ουδετεροφίλων (MPO, ελαστάση, cathepsin G, matrix metalloproteinase 9/MMP9) οι οποίες εγκλωβίζουν, ακινητοποιούν και εξουδετερώνουν παθογόνα <sup>(81,82)</sup>. Ο σχηματισμός των NETs είναι μια δυναμική διαδικασία (σχήμα 17). Με την ενεργοποίηση τους τα ουδετερόφιλα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και ένζυμα των κοκκίων τους (όπως η ελαστάση και η MPO) μετακινούνται στον πυρήνα τους.

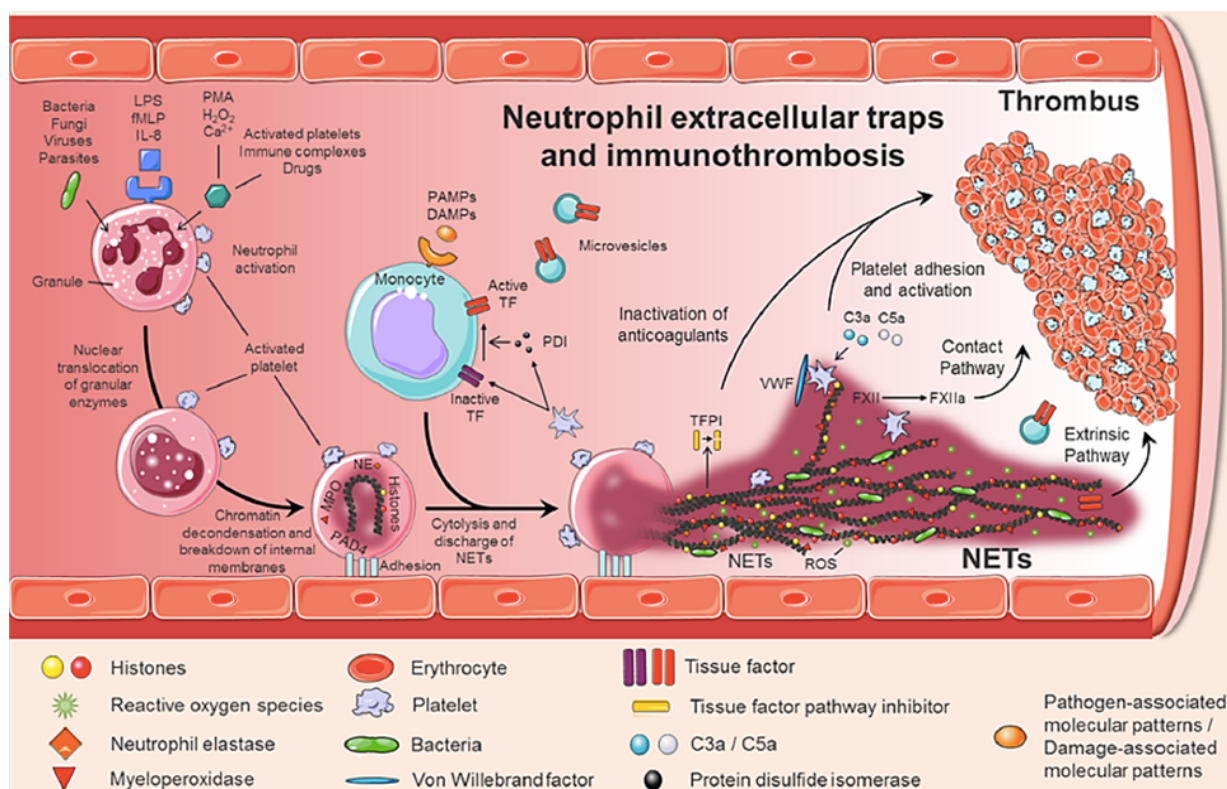
Το γεγονός αυτό, μαζί με την ενεργοποίηση του ενζύμου πεπτιδυλο-απαμινάση της αργινίνης (peptidyl arginine deaminase 4/ PAD4) προωθεί την αποσυμπύκνωση της χρωματίνης, την απώλεια του λοβώδους σχήματος του πυρήνα και την ρήξη της πυρηνικής μεμβράνης<sup>(83,84)</sup>. Οι πρωτεΐνες των κοκκίων συνδεδεμένες στη χρωματίνη ελευθερώνονται στον εξωκυττάριο χώρο με ή χωρίς ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης, διαδικασία που ονομάζεται αυτοκτονική ή ζωτική NETωση (suicidal ή vital NETosis), αντίστοιχα. Στη ζωτική NETωση (vital NETosis) τα ουδετερόφιλα επιβιώνουν μετά την απελευθέρωση των NETs και μπορούν να συνεχίσουν τη φαγοκυττάρωση παθογόνων<sup>(85,86)</sup>. Σε αντίθεση, η αυτοκτονική NETωση (suicidal NETosis) θεωρείται μία συγκεκριμένη μορφή κυτταρικού θανάτου, η οποία εξαρτάται από την ενεργοποίηση της νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτιδο-φωσφορικής οξειδάσης (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) και από την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS)<sup>(87)</sup>. Εάν θα ενεργοποιηθεί ο ένας ή ο άλλος μηχανισμός NETωσης εξαρτάται από το ερέθισμα που πυροδοτεί τη διαδικασία<sup>(85,86,88)</sup>: τα παθογόνα (βακτήρια, μύκητες, ιοί, πρωτόζωα) στην ζωτική NETωση ή φλεγμονώδη ερεθίσματα (λιποπολυσακχαρίτης μικροβιακού τοιχώματος/LPS, IL-8, TNFα), ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, αυτοαντισώματα ή κρύσταλλοι χοληστερόλης στην αυτοκτονική (ή άσηπτη, sterile) NETωση. Και στις δυο μορφές NETωσης, η κιτρουλλίνωση των ιστονών που μεσολαβείται από την PAD4 θεωρείται ότι προάγει το σχηματισμό NETs. Έτσι η PAD4 είναι ουσιώδης για το σχηματισμό NETs και ποντίκια με έλλειψη PAD4 είναι ανίκανα να παράξουν NETs<sup>(85,86)</sup>. Παρόλο που τα NETs παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του οργανισμού, ο υπερβολικός σχηματισμός τους ή η μη αποτελεσματική αποδομή τους οδηγεί σε ανεπιθύμητα αποτελέσματα και παθογένεια. Επομένως, η αποδομή τους είναι μία σημαντική διαδικασία που πραγματοποιείται από την Dnase I. Μολονότι οι μηχανισμοί της κάθαρσης των NETs δεν έχουν γίνει πλήρως κατανοητοί, τα μακροφάγα συμμετέχουν επίσης, με διαδικασίες ενδοκυττάρωσης<sup>(85,86)</sup>.

Ωστόσο, τα NETs δεν λειτουργούν μόνο ως ένας από τους μηχανισμούς της αντιμικροβιακής λειτουργίας των ουδετεροφίλων, αλλά παρέχουν το υπόβαθρο για την προαγωγή μιας προπηκτικής απάντησης και τον σχηματισμό θρόμβου ως μηχανισμού άμυνας ενάντια σε παθογόνα. Συνεπώς η ανοσοθρόμβωση προωθείται από κύτταρα με ανοσιακή λειτουργία (ουδετερόφιλα, μακροφάγα, αιμοπετάλια, ενδοθηλιακά κύτταρα) και από θρομβωτικά μόρια<sup>(89)</sup>.

Συγκεκριμένα, τα NETs συμμετέχουν στο σχηματισμό θρόμβου με πολλούς τρόπους<sup>(47)</sup>:

- Ενεργοποιούν απευθείας τον παράγοντα XII και συνεπώς την οδό επαφής (ενδογενή οδό), ενώ παράλληλα προσδένουν τον παράγοντα von Willebrand (vWF), βοηθώντας στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων <sup>(90)</sup>.
- Οι ιστόνες που αποτελούν τμήμα του σκελετού των NETs και ειδικά οι H3 και H4, πυροδοτούν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων <sup>(90,91)</sup>.
- Επιπλέον, η ελαστάση των ουδετεροφίλων (NE) και η μυελοϋπεροξειδάση (MPO) των NETs καθαίνουν και απενεργοποιούν τους φυσικούς ανασταλτές της πήξης (TFPI, TM) <sup>(92)</sup>.
- Ιδιαίτερη σημασία έχει το γεγονός ότι ο ιστικός παράγοντας (TF) εξωτερικεύεται και προσδένεται στο σκελετό των NETs όπως έχει περιγραφεί στην ανοσοθρόμβωση στη σήψη και στην covid-19 λοίμωξη προσφάτως. Με τον τρόπο αυτό ενεργοποιείται και η εξωγενής οδός της πήξης <sup>(93)</sup>.
- Τέλος τα NETs προσδένουν φимπρονεκτίνη συμβάλλοντας σε σταθερότερη ινική <sup>(94,95)</sup>.
- Τα αιμοπετάλια με τη σειρά τους, συμμετέχουν στην ανοσοθρομβωτική διαδικασία ενεργοποιώντας την ενδογενή οδό της πήξης μέσω της απελευθέρωσης polyPs και μαζί με τα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορεί να προωθούν την παραγωγή ινικής <sup>(45,96)</sup>.
- Επίσης τα αιμοπετάλια αυξάνουν τη συγκέντρωση ανοσιακών κυττάρων που εκφράζουν ιστικό παράγοντα ενώ συνδέονται απευθείας με τα ουδετερόφιλα και τα NETs <sup>(94,97,98)</sup>. Τέλος, εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες μέσω μικροκυστιδίων προερχόμενων από αυτά και εκκρίνουν και DAMPs (damage-associated molecular patterns) τα οποία προάγουν την έκφραση ιστικού παράγοντα μέσα στους μικροθρόμβους <sup>(99)</sup> (σχήμα 17) <sup>(100)</sup>.

Η ανοσοθρομβωτική διαδικασία επιτρέπει τον περιορισμό της εξουδετέρωσης των παθογόνων μέσα στο ενδαγγειακό διαμέρισμα, περιορίζοντας έτσι τη βλάβη στους ιστούς και στα ζωτικά όργανα. Συνεπώς, η ανοσοθρόμβωση μπορεί να θεωρηθεί ως ωφέλιμος μηχανισμός ενδαγγειακής ανοσίας. Όμως, όταν η ανοσοθρόμβωση καταστεί ανεξέλεγκτη προκαλεί υπέρμετρη ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης, οδηγώντας σε σχηματισμό μικροθρόμβων και φλεγμονή, οδηγώντας σε έναν ανατροφοδοτούμενο μηχανισμό που εξελίσσεται σε κλινικά σοβαρή θρόμβωση (θρομβο-φλεγμονή, thromboinflammation) (σχήμα 18) <sup>(47)</sup>

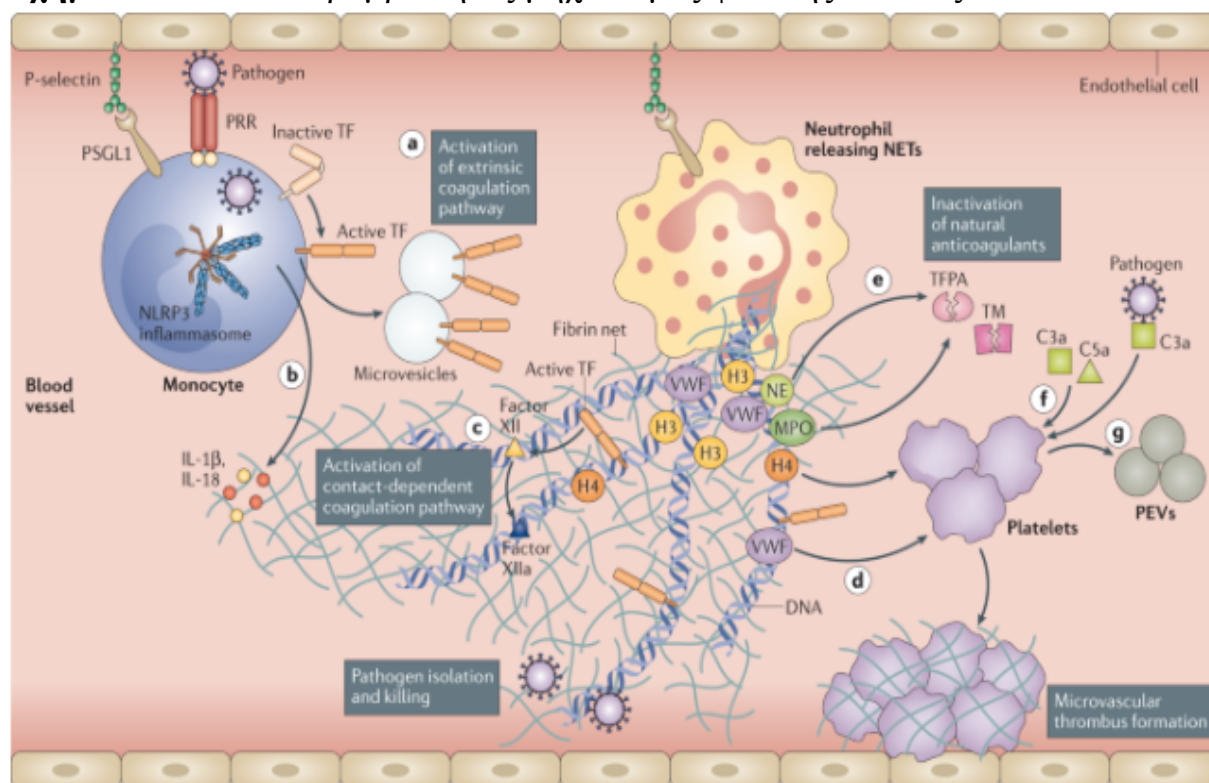


## Σχήμα 17. Σχηματισμός NETs και θρόμβου στη διαδικασία της ανοσοθρόμβωσης

Ο σχηματισμός των NETs είναι μία δυναμική διαδικασία, στην οποία δεν εμπλέκονται μόνο τα ουδετερόφιλα, αλλά και άλλα κυκλοφορούντα κύτταρα όπως μονοκύτταρα και αιμοπετάλια. Όταν ενεργοποιηθεί, τα ουδετερόφιλα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και ένζυμα των κοκκίων όπως (MPO, ελαστάση NE) μεταφέρονται στον πυρήνα, γεγονός που μαζί με την ενεργοποίηση του PAD4 προάγει την αποσυμπύκνωση της χρωματίνης και τη ρήξη της πυρηνικής μεμβράνης. Οι πρωτεΐνες των κοκκίων προσδένονται στη χρωματίνη και απελευθερώνονται στον εξωκυττάριο χώρο (NET), προσφέροντας μία κατασκευή για ακινητοποίηση και εξουδετέρωση παθογόνων αλλά και για επαγωγή της πήξης. Η επαγωγή της πήξης και ο σχηματισμός θρόμβου ως αμυντικού μηχανισμού έναντι παθογόνων, γίνεται με πολλούς μηχανισμούς: ενεργοποίηση από NETs παράγοντα XII και ενδογενούς οδού πήξης, αυξημένη έκφραση σε NETs, μικροκυστίδια και μακροφάγα του TF -ενεργοποίηση εξωγενούς οδού, αδρανοποίηση φυσικών ανασταλτών (TFPI, TM) από ένζυμα των NETs (MPO, NE), πρόσδεση vWF από NETs και αυξημένη ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, πρόσδεση φμπρονεκτίνης σε NETs και σχηματισμός σταθερότερης ινικής. Επιπλέον, με τη σειρά τους τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια τροφοδοτούν την ανοσοθρόμβωση με περαιτέρω προσέλκυση ανοσιακών κυττάρων που εκφράζουν TF, άμεση πρόσδεση σε NETs και ουδετερόφιλα (συσσωματώματα PLT-neutrophils), έκκριση polyPs – ενεργοποίηση ενδογενούς οδού και απελευθέρωση DAMPs και μικροκυστιδίων με αυξημένη έκφραση TF.

(Πηγή: Marin et al., Int.J.Mol.Sci. 2021, 22, 1143)<sup>(100)</sup>

**Σχήμα 18:** Η ανοσοθρόμβωση ως μηχανισμός φυσικής ανοσίας <sup>(47)</sup>



Ακολουθώντας την αναγνώριση ενός παθογόνου μέσω των υποδοχέων PRPs (*pattern recognition receptors*) τα μονοκύτταρα και τα προερχόμενα από μονοκύτταρα μικροκυστίδια (*microparticles, MPs*) παρουσιάζουν στις επιφάνειές τους ενεργοποιημένο ιστικό παράγοντα (*tissue factor, TF*) (ο οποίος εκφράζεται και στη ραχοκοκκαλιά των σχηματιζόμενων NETs), ενεργοποιώντας έτσι την εξωγενή οδό πήξης (a). Τα παθογόνα ενεργοποιούν το ινφλαμμάσωμα NLRP3 στα μονοκύτταρα και στα μακροφάγα, οδηγώντας σε έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1β, IL-18) (b). Τα ουδετερόφιλα συγκεντρώνονται στο σημείο και συνεισφέρουν στη διαδικασία ελευθερώνοντας NETs, τα οποία απευθείας ενεργοποιούν τον παράγοντα XII και άρα την ενδογενή οδό πήξης (c). Τα NETs επίσης προσδένουν τον vWF και βοηθούν στη συσσώρευση αιμοπεταλίων (d). Οι ιστόνες των NETs (ειδικά H3, H4) ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια, ενώ η MPO, NE των NETs αδρανοποιούν τους φυσικούς ανασταλτές της πήξης TFPI, TM. Τα NETs προσδένουν TF ενεργοποιώντας την εξωγενή οδό (a). Τα αιμοπετάλια ενισχύουν τη διαδικασία ενεργοποιώντας την ενδογενή οδό μέσω παραγωγής *polyP* και μαζί με τα ενδοθηλιακά κύτταρα προωθούν την δημιουργία ινικής. Επίσης ενεργοποιούνται από το C3a, C5a (f). Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες μέσω εξωκυττάρων κυστιδίων (*platelet extracellular vesicles, PEVs*, g).

Πηγή: Bonaventura et al., *Nature Reviews Immunology* 21, 319-329 (2021)<sup>(47)</sup>

## 1. Ο ρόλος των λευκών αιμοσφαιρίων και των NETs στην ανοσοθρόμβωση σε MYN

Τα λευκά αιμοσφαίρια συμμετέχουν ενεργά στην ανοσοθρόμβωση σε ασθενείς με MYN μέσω της αλληλεπίδρασής τους με αιμοπετάλια, ενδοθηλιακά κύτταρα και τον μηχανισμό της πήξης <sup>(101)</sup>. Δείκτες ενεργοποίησης των ουδετεροφίλων συμπεριλαμβανομένων των CD14, CD11b, P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) και αλκαλική φωσφατάση των λευκοκυττάρων (leukocyte alkaline phosphate, LAP), εκφράζονται έντονα σε ασθενείς με ET και PV προωθώντας αυξημένη συσσώρευση λευκοκυττάρων μαζί με αιμοπετάλια και ενδοθηλιακά κύτταρα <sup>(102,103)</sup>. Στην ET και PV έχουν παρατηρηθεί και αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα πρωτεασών προερχόμενων από τα κοκκία των ουδετεροφίλων, όπως ελαστάση, μυελοϋπεροξειδάση και ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) <sup>(104)</sup>. Αυτά τα ενδοκυττάρια ένζυμα με τη σειρά τους προκαλούν βλάβη στο ενδοθήλιο, ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια και τον καταρράκτη της πήξης και αδρανοποιούν τους φυσικούς ανασταλτές της πήξης, προάγοντας τη δημιουργία θρόμβου <sup>(101)</sup>. Αυξημένη ενεργοποίηση μονοκυττάρων με αυξημένη έκφραση του CD25 και του ιστικού παράγοντα (tissue factor, TF) στην επιφάνειά τους, παρατηρείται επίσης σε ασθενείς με MYN <sup>(105)</sup>.

Επιπλέον, μεσολαβούμενη από το JAK2V617F ενεργοποίηση των  $\beta 1$  και  $\beta 2$  ιντεγκρινών στα λευκά αιμοσφαίρια έχει φανεί σε ζωικά μοντέλα, προκαλώντας αυξημένη λευκοκυτταρική προσκόλληση στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω του VCAM1 (vascular cell adhesion molecule 1) και του ICAM1 (intracellular adhesion molecule 1) <sup>(106)</sup>. Συγκεκριμένα, η αυξημένη δραστηριότητα κινάσης της JAK2V617F προάγει την αλλαγή διαμόρφωσης από ανενεργή σε ενεργή ανοιχτή διαμόρφωση του VLA4 (Very Late Antigen-4, CD49d/CD29, και  $\alpha 4 \beta 1$  integrin) και ενεργοποιεί υπέρμετρα το VLA4 και LFA-1 (Lymphocyte Function-associated Antigen-1, CD11a/CD18 και  $\alpha L \beta 2$  ιντεγκρίνη) σε μυελικές κυτταρικές σειρές και σε ουδετερόφιλα από ασθενείς με MYN <sup>(106)</sup>. Τα παραπάνω έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της μεσολαβούμενης από  $\beta 1/\beta 2$  ιντεγκρίνες προσκόλληση των ουδετεροφίλων και την αυξημένη δημιουργία θρόμβου σε μοντέλο στένωσης εν τω βάθει φλέβας. Από την άλλη μεριά, εξουδετερωτικά αντισώματα έναντι  $\beta 1/\beta 2$  ιντεγκρίνης μείωναν τον προθρομβωτικό φαινότυπο σε JAK2V617F θετικά ποντίκια.

Επιπλέον, η υπερέκφραση του ετεροδιμερούς μορίου ιντεγκρίνης  $\alpha M \beta 2$  CD11b/CD18 έχει περιγραφεί στα ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα ασθενών με

MF, ιδίως σε θετικούς για JAK2V617F μετάλλαξη. Η αυξημένη έκφραση αυτών των παραγόντων ενέχεται στον σχηματισμό αυξημένου αριθμού κυκλοφορούντων συμπλεγμάτων αιμοπεταλίων-ουδετεροφίλων και αιμοπεταλίων-μονοκυττάρων σε JAK2V617F θετικούς ασθενείς<sup>(107)</sup>.

Τέλος, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ένας επιπλέον τρόπος με τον οποίο τα ουδετερόφιλα συμμετέχουν στην επαγωγή της ανοσοθρόμβωσης είναι ο σχηματισμός NETs. Τα NETs παρατηρούνται τόσο σε λοιμώδεις όσο και μη-λοιμώδεις διαταραχές π.χ. αυτοάνοσα νοσήματα και καρκίνος, πυροδοτούμενα από κυτταροκίνες (TNFα, IL-8) που εκκρίνονται από τον ίδιο το νεοπλασματικό κλώνο ή από ενεργοποιημένα αιμοπετάλια. Όταν τα αιμοπετάλια είναι ενεργοποιημένα P-σελεκτίνη μεταφέρεται στη μεμβράνη τους από τα α-κοκκία. Η P-σελεκτίνη τόσο στην κυτταρική μεμβράνη όσο και σε διαλυτή μορφή στο πλάσμα, προάγει τη NETωση συνδεόμενη με τον PSGL-1 υποδοχέα (σχήμα 19)<sup>(108)</sup>.

Σε μια πρόσφατη προοπτική μελέτη 2ετούς παρατήρησης σχεδόν 1000 ασθενών με καρκίνο, η κιτρουλλιωμένη ιστόνη 3 (citH3), ένας βιοδείκτης σχηματισμού NET, προέβλεπε τον κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης. Έτσι η citH3 είχε βαθμό συσχέτισης με τη φλεβοθρόμβωση συγκρίσιμο με τα d-dimers ή την διαλυτή P-σελεκτίνη<sup>(109)</sup>. Ωστόσο, μέχρι σήμερα μόνο ένας περιορισμένος αριθμός μελετών έχουν πραγματοποιηθεί για την κατανόηση της συμβολής των NETs στην προπηκτική κατάσταση των MYN. Μία in vivo μελέτη σε ποντίκια από τους Wolach και συνεργάτες έδειξε ότι η αυξημένη ενεργότητα της JAK2 κινάσης είναι συνακόλουθη με το σχηματισμό NETs σε MYN και η χρήση του JAK2 αναστολέα ruxolitinib, ανέστρεφε τη δημιουργία του θρόμβου<sup>(110)</sup>.

Όσον αφορά σε μελέτες ασθενών με MYN, μόνο τρεις μελέτες έχουν διερευνήσει το εάν τα NETs συνεισφέρουν στην προπηκτική κατάσταση των MYN<sup>(110-112)</sup>. Ενώ είναι σαφές το ότι το ποσοστό ουδετεροφίλων με αυξημένα επίπεδα ROS (reactive oxygen species) είναι υψηλότερο σε ασθενείς με MYN σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, δεν είναι σαφές εάν σε σταθερή κατάσταση, δηλ. χωρίς κινητοποίηση, τα ουδετερόφιλα τους παράγουν περισσότερα NETs. Ενώ οι Guy και συνεργάτες έδειξαν ότι μη-κινητοποιημένα ουδετερόφιλα από ασθενείς με MYN, ex vivo, παρήγαγαν περισσότερα NETs σε σχέση με υγιείς μάρτυρες<sup>(112)</sup>, οι Oyarzun και συνεργάτες και οι Wolach και συνεργάτες, σε δύο ανεξάρτητες μελέτες, δεν βρήκαν αυξημένη NETωση από μη-διεγερμένα JAK2V617F ουδετερόφιλα<sup>(110,111)</sup>. Αυτά τα αντικρουόμενα αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στο γεγονός ότι στις δυο τελευταίες μελέτες, οι περισσότεροι από τους ασθενείς λάμβαναν JAK2 αναστολείς ή

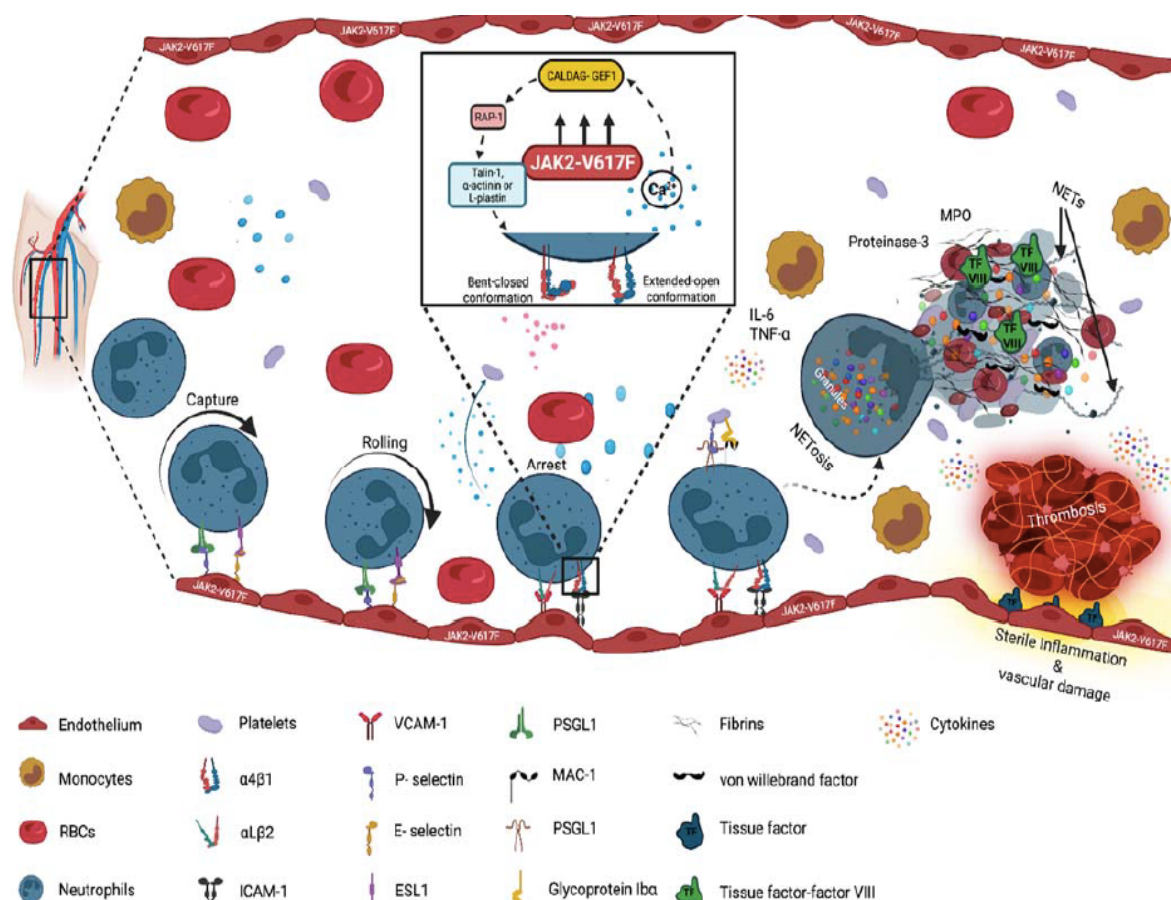
κυτταρομειωτική θεραπεία κατά την έναρξη της μελέτης. Άλλες αιτίες των αντικρουόμενων αυτών αποτελεσμάτων μπορεί να οφείλονται σε συστηματικά σφάλματα (bias) λόγω του μικρού αριθμού ασθενών στην 2<sup>η</sup> και 3<sup>η</sup> μελέτη (n=19 σε Oyarzún et al., n=32 σε Wolach et al.) και στην πιθανή υπερεκπροσώπηση ασθενών με προηγούμενη θρόμβωση στην πρώτη μελέτη των Guy et al. (26 από τους 52 ασθενείς, δηλ. 50% των ασθενών) <sup>(112)</sup>. Μία επιπρόσθετη εξήγηση μπορεί να είναι η χρήση μη-προτυπωμένων μεθόδων για εκτίμηση της NETωσης. Είναι γεγονός, ότι προς το παρόν δεν υπάρχουν πρότυπες μέθοδοι για τον καθορισμό της NETωσης με έναν αντικειμενικό και αναπαραγώγιμο τρόπο <sup>(113)</sup>.

Όσον αφορά στο σχηματισμό των NETs ex vivo, κατόπιν διέγερσης με ειδικούς παράγοντες, τα αποτελέσματα είναι επίσης αντικρουόμενα. Η ex vivo κινητοποίηση των ουδετεροφίλων με ιονομυκίνη προκάλεσε αύξηση στο σχηματισμό NETs (διαπιστωμένη μέσω έκφρασης citH3) σε JAK2V617F ουδετερόφιλα τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ποντικούς. <sup>(110)</sup>. Σε αντίθεση μια άλλη μελέτη δεν βρήκε σχηματισμό NETs μετά από διέγερση με IL-8, TNFα και με έναν ισχυρότερο επαγωγέα NETs όπως το PMA, υπό τον οποίο τα λευκοκύτταρα σε MYN είχαν ελαττωματική NETωση <sup>(111)</sup>.

Επιπλέον, δυο ανεξάρτητες μελέτες ασθενών με MYN για την εκτίμηση βιοδεικτών NETs στο πλάσμα, έδειξαν αύξηση στη συγκέντρωση ελεύθερου DNA <sup>(113)</sup> και αυξημένα επίπεδα νουκλεοσωμάτων <sup>(112)</sup>. Ωστόσο, το ελεύθερο στο πλάσμα DNA ή τα νουκλεοσώματα δεν είναι ειδικοί βιοδείκτες των NETs, καθώς μπορεί να προέρχονται και από άλλες μορφές κυτταρικού θανάτου όπως ή απόπτωση ή η νέκρωση. Περισσότερο ειδικοί δείκτες των NETs περιλαμβάνουν μέτρηση DNA (νουκλεοσώματα, ιστόνες ή ελεύθερο DNA) μαζί με ένα ειδικό ένζυμο (μυελοϋπεροξειδάση/MPO ή ελαστάση) από τα ουδετερόφιλα. Ενώ οι Oyarzún et al δεν βρήκαν αυξημένα επίπεδα ιστονών-MPO σε ασθενείς με MYN σε σχέση με υγιείς δότες <sup>(111)</sup>, οι Guy et al. έδειξαν μία σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση MPO-DNA σε ασθενείς με MYN τη στιγμή της διάγνωσης σε σχέση με μάρτυρες <sup>(112)</sup>. Μάλιστα, τα επίπεδα MPO-DNA ήταν υψηλότερα σε ασθενείς με MYN και προηγούμενη θρόμβωση, ειδικά με σπληνική θρόμβωση, λειτουργώντας ίσως ως βιοδείκτης θρόμβωσης σε ασθενείς με MYN <sup>(112)</sup>.

Τέλος, μελέτες σε δυο διαφορετικά είδη ποντικών, ένα με έκφραση του JAK2V617F σε όλα τα αιμοποιητικά κύτταρα και ένα με έκφραση του JAK2V617F μόνο στα ουδετερόφιλα, έδειξαν ότι τα JAK2V617F ουδετερόφιλα από μόνα τους δεν αρκούν για να προάγουν τη NETωση και τη θρόμβωση και ότι χρειάζεται να αλληλεπιδράσουν με τα αιμοπετάλια για να επάγουν το σχηματισμό NETs <sup>(114)</sup>.

## Σχήμα 19: Σχετιζόμενη με ουδετερόφιλα ανοσοθρόμβωση στα MYN <sup>(108)</sup>



Η συνεχής δραστηριότητα της JAK2V617F μεταλλαγμένης κινάσης αυξάνει το ενδοκυττάριο ασβέστιο ( $Ca^{2+}$ ) και υποστηρίζει την εισροή  $Ca^{2+}$  ακολουθούμενη από CalDAG-GEFI ενεργοποίηση (calcium and diacylglycerol-regulated GEF1). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μικρών GTPασών, όπως η RAS-related protein 1 (RAP1), η οποία περαιτέρω διευκολύνει αλλαγές διαμόρφωσης των ιντεγκρινών στα ουδετερόφιλα. Η ενεργοποίηση των ιντεγκρινών βοηθά τα ουδετερόφιλα να επάγουν την ανοσοθρόμβωση, μια σύνθετη διαδικασία όπου ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα, ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, παράγοντες πήξης και κυτταροκίνες συνεργάζονται. Αρχικά, κατά τη ροή τους, τα ουδετερόφιλα αλληλεπιδρούν με την P- και E-σελεκτίνη του ενδοθηλίου μέσω των υποδοχέων όπως PSGL-1, ESL-1 αντίστοιχα, που βοηθά τα ουδετερόφιλα να κυλίσουν αργά κατά μήκος του τοιχώματος του αγγείου. Καθώς κυλούν, τα ουδετερόφιλα συνδέονται μέσω των β1,β2 ιντεγκρινών (VLA-4, LFA-1) με τα VCAM1-, ICAM-1 του ενδοθηλίου. Κατόπιν, υπό την επίδραση και άλλων διεγερτικών παραγόντων (κυτταροκίνες, ενεργοποιημένα αιμοπετάλια κλπ), τα ουδετερόφιλα απελευθερώνουν NETs. Τα NETs με τους μηχανισμούς που περιγράφονται παραπάνω (σχήμα 17,18) επάγουν περαιτέρω την ανοσοθρόμβωση.

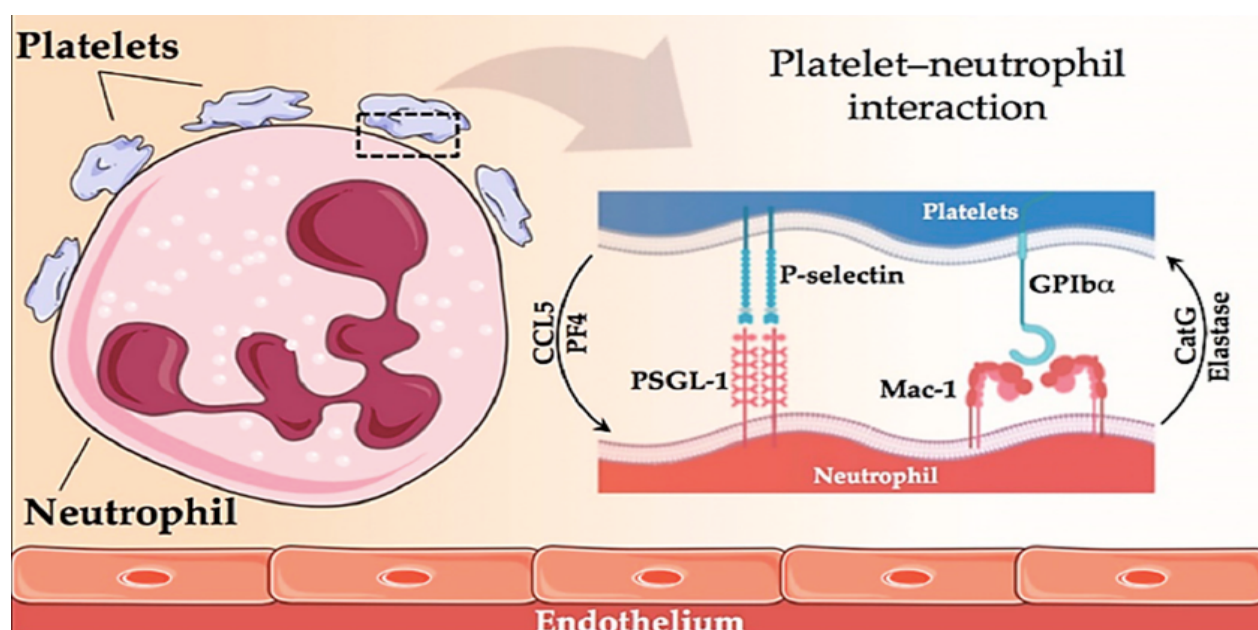
Πηγή: Bhuria et al., Int.J. Mol. Sci. 2022, 23, 3206 <sup>(108)</sup>

## **2. Αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων-ουδετεροφίλων και αιμοπεταλίων-μονοκυττάρων στην ανοσοθρόμβωση σε MYN**

Ως συνέχεια και της προηγούμενης ερευνητικής παρατήρησης ότι τα JAK2V617F ουδετερόφιλα από μόνα τους δεν αρκούν για να επάγουν NETωση αλλά χρειάζονται την αλληλεπίδραση με αιμοπετάλια, φαίνεται ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων είναι κεντρικές στην προθρομβωτική κατάσταση στα MYN. Τα αιμοπετάλια ενισχύουν την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων με την έκκριση CCL5 (RANTES) και παράγοντα 4 των αιμοπεταλίων (platelet factor 4, PF4), ενώ αντιστρόφως, τα ουδετερόφιλα επάγουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω της έκκρισης ελαστάσης και καθεψίνης G (CatG) (σχήμα 20) <sup>(100)</sup>. Τα αιμοπετάλια συνδέονται τόσο με τα ουδετερόφιλα όσο και με τα μονοκύτταρα με μόρια προσκόλλησης όπως η P-σελεκτίνη η οποία αναγνωρίζει τον υποδοχέα PSGL-1 και μέσω των GPIIb και GPIIb/IIIa (μέσω του ινωδογόνου), οι οποίες συνδέονται με το CD11b/CD18 (Mac-1) (σχήμα 20) <sup>(100)</sup>.

Σε συμφωνία με την αυξημένη P-σελεκτίνη, αυξημένα επίπεδα συσσωμάτων αιμοπεταλίων-ουδετεροφίλων και αιμοπεταλίων-μονοκυττάρων ανευρίσκονται στην κυκλοφορία ασθενών με ET <sup>(101,115)</sup>, PV <sup>(115)</sup>, MF <sup>(107)</sup>. Η αλληλεπίδραση μεταξύ αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων πυροδοτεί την ενεργοποίηση αμφοτέρων. Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης αιμοπεταλίων-ουδετεροφίλων είναι η αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS), η αυξημένη μετακίνηση των λευκοκυττάρων πάνω στο ενδοθηλιακό τοίχωμα, η ενεργοποίηση του ιστικού παράγοντα (TF), η παραγωγή λευκοτριενίων και ο σχηματισμός NETs <sup>(116)</sup>. Παρομοίως, η αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων-μονοκυττάρων μπορεί να προάγει μονοκυτταρικές διαδικασίες όπως η έκφραση ιστικού παράγοντα (TF) <sup>(117)</sup>, η οποία είναι αυξημένη στα MYN <sup>(75)</sup> και η σύνθεση κυτταροκινών <sup>(118)</sup>, η οποία έχει βρεθεί να είναι συνεχώς αυξημένη σε μονοκύτταρα ασθενών με μυελοϊνωση <sup>(119)</sup>.

**Σχήμα 20** Αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων-ουδετεροφίλων στα MYN <sup>(100)</sup>



Απεικόνιση των δύο βασικών αλληλεπιδράσεων μέσω υποδοχέων αιμοπεταλίων-ουδετεροφίλων που περιλαμβάνουν τα ζεύγη P-σελεκτίνη-PSGL-1 και GPIIb-Mac-1. Επίσης φαίνονται η ενίσχυση της ενεργοποίησης των ουδετεροφίλων από τα αιμοπετάλια (μέσω έκκρισης από τα τελευταία CCL5 και PF4) και αντιστρόφως, τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται από την έκκριση ελαστάσης και CatG από τα ουδετερόφιλα. Τα αιμοπετάλια επάγουν τη NETωση από τα ουδετερόφιλα.

Πηγή: Marín et al., Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 1143 <sup>(100)</sup>

### 3. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων

Τα αιμοπετάλια παίζουν σημαντικό ρόλο στη θρόμβωση στα MYN. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, συνεισφέρουν στον προθρομβωτικό φαινότυπο μέσω της αλληλεπίδρασής τους με άλλα κυτταρικά στοιχεία (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα). Ωστόσο, υπάρχει αμφιβολία όσον αφορά στο ρόλο της θρομβοκυττάρωσης καθυστερημένης στον θρομβωτικό κίνδυνο, καθώς δεν έχει βρεθεί στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ αριθμού αιμοπεταλίων και αγγειακών επιπλοκών <sup>(55,101)</sup>. Όμως, η υπερβολική θρομβοκυττάρωση ( $>1.000-1.500 \times 10^9/L$ ) σχετίζεται με αυξημένο αιμορραγικό κίνδυνο αντί για θρομβωτικό. Παρά την διχογνωμία που υπάρχει σχετικά με το ρόλο των υψηλών τιμών αιμοπεταλίων στο θρομβωτικό κίνδυνο, υπάρχουν πολλά δεδομένα που

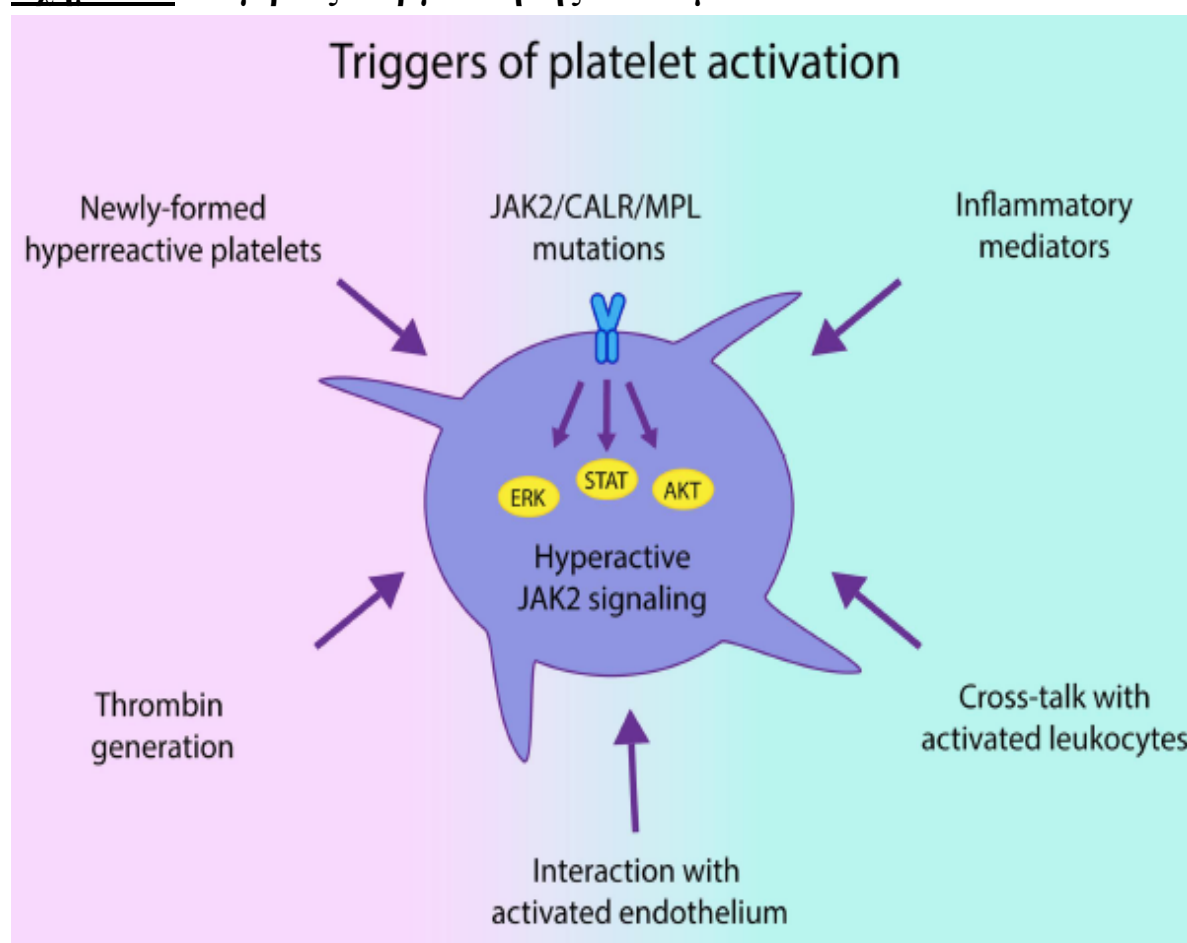
υποστηρίζουν την συμβολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων στον κίνδυνο θρόμβωσης στα MYN. Τα αιμοπετάλια φαίνεται να κυκλοφορούν σε μία υπεραντιδραστική κατάσταση στα MYN όπως αποδεικνύεται από την αυξημένη έκφραση P-σελεκτίνης, CD40 συνδέτη και ιστικού παράγοντα (TF) <sup>(69, 74, 103)</sup>. Επιπλέον, έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα δεικτών ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων όπως β-thromboglobulin, PF4, PDGF στο πλάσμα και TXB2 μεταβολίτη στα ούρα ως αντανάκλαση της σύνθεσης θρομβοξάνης <sup>(120-122)</sup>. Αυτή η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων φαίνεται να συσχετίζεται με το αλληλικό φορτίο του JAK2V617F και έτσι οι διαταραχές μπορεί να είναι εγγενείς στα κύτταρα που φέρουν τη μετάλλαξη <sup>(123)</sup>. Μελέτη των Hobbs και συνεργατών σε knock-in ποντίκια με ET, έδειξε ότι η JAK2V617F μετάλλαξη εκκινεί εγγενείς αλλαγές στο σχηματισμό αιμοπεταλίων από μεγακαρυοκύτταρα και επιδρά στην αντιδραστικότητά τους <sup>(124)</sup> (σχήμα 21).

Παράλληλα, ο αυξημένος ρυθμός παραγωγής και κατανάλωσης των αιμοπεταλίων οδηγεί σε αυξημένο ποσοστό νέο-σχηματισμένων αιμοπεταλίων, τα οποία έχουν μεγαλύτερη αιμοστατική δραστηριότητα <sup>(125)</sup> και τα οποία είναι αυξημένα σε αριθμό και αντιδραστικότητα σε ασθενείς με ET και PV <sup>(70)</sup> ενώ σχετίζονται θετικά με την ύπαρξη JAK2V617F μετάλλαξης <sup>(126)</sup>.

Η επαγόμενη από ADP συσσώρευση των αιμοπεταλίων είναι σημαντικά ενισχυμένη στην ET και την PV σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, με τις υψηλότερες τιμές να παρατηρούνται σε ασθενείς θετικούς για JAK2V617F <sup>(69)</sup>. Αντιθέτως, δείκτες ενεργοποίησης και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων ήταν μειωμένοι σε ασθενείς με CALR θετική ET σε σχέση με αυτούς με μετάλλαξη JAK2V617F, γεγονός το οποίο συνάδει με την κλινική διαφορά στο θρομβωτικό φαινότυπο μεταξύ των δυο μεταλλάξεων <sup>(69)</sup>. Ωστόσο, υπάρχουν και αντικρουόμενα αποτελέσματα μελετών της ex vivo απάντησης των αιμοπεταλίων ασθενών με MYN σε κλασσικούς αγωνιστές όπως το ADP και TRAP. Η αγγρεγομετρία μπορεί να δείξει αυτόματη συσσώρευση των αιμοπεταλίων συγχρόνως με μειωμένη απόκριση σε διάφορους αγωνιστές, ιδίως στο ADP και την επινεφρίνη <sup>(101)</sup>. Έχει προταθεί ότι αυτό το in vitro έλλειμμα στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων των MYN μπορεί να οφείλεται εν μέρει σε εργαστηριακό σφάλμα (artifact) ή στις προαναλυτικές μεθόδους ορισμένων μεθόδων αγγρεγομετρίας (τεχνική με πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα) <sup>(127)</sup>. Η in vivo απελευθέρωση του περιεχομένου των κοκκίων των αιμοπεταλίων λόγω της αυθόρμητης ενεργοποίησής τους με αποτέλεσμα την «εξάντλησή» τους και την δευτεροπαθή έλλειψη των κοκκίων τους μπορεί να εξηγεί τη δυσλειτουργία που ανευρίσκεται ex vivo.

Η συνύπαρξη της ενεργοποίησης και της δυσλειτουργίας των αιμοπεταλίων μπορεί να συντελεί στην παράδοση εμφάνιση τόσο θρομβωτικών όσο και αιμορραγικών επιπλοκών. Ιδίως στην περίπτωση της εκσεσημασμένης θρομβοκυττάρωσης, η απορρόφηση των μεγάλων πολυμερών του vWF στην GPIa γλυκοπρωτεΐνη των αιμοπεταλίων οδηγεί σε απώλεια των μεγάλων πολυμερών του vWF και σε επίκτητη νόσο von Willebrand, συμβάλλοντας σε αιμορραγική προδιάθεση <sup>(101)</sup>.

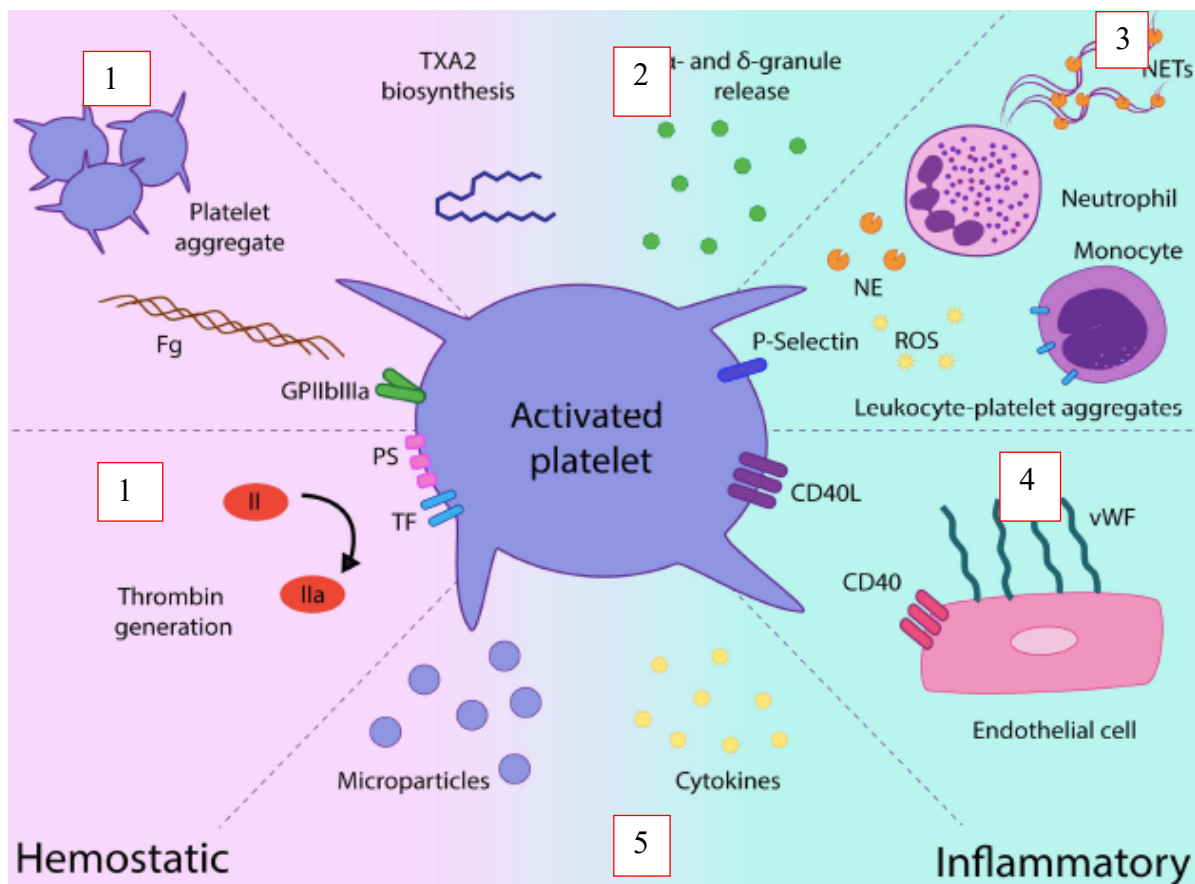
**Σχήμα 21:** Διεγέρτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων στα MYN



Τόσο εγγενείς διαταραχές που απορρέουν από τον MYN κλώνο, όπως η JAK2-εξαρτώμενη ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών και τα υπεραντιδραστικά νέο-σχηματισμένα αιμοπετάλια, όσο και εξωτερικά σήματα λόγω της αυξημένης αλληλεπίδρασης με ενεργοποιημένα λευκά αιμοσφαίρια και ενδοθηλιακά κύτταρα και διαλυτούς μεσολαβητές φλεγμονής (συμπεριλαμβανομένων και κλασσικών αγωνιστών όπως η θρομβίνη) μπορούν να πυροδοτήσουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων στα MYN.

Πηγή: Oyarzún et al., *Front. Immunol.* 2019, 10:1373 <sup>(101)</sup>

Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια μεσολαβούν σε διάφορες λειτουργικές αντιδράσεις που συμβάλουν στην προθρομβωτική κατάσταση των MYN. Επιπροσθέτως των κλασσικών αιμοστατικών λειτουργιών των αιμοπεταλίων, την τελευταία δεκαετία επισημαίνεται η ύπαρξη εναλλακτικών λειτουργιών των αιμοπεταλίων ως μεσολαβητών φλεγμονής και η συμμετοχή τους στη φυσική ανοσία. Τα αιμοπετάλια συνεισφέρουν σε φλεγμονώδεις καταστάσεις μέσω απελευθέρωσης προφλεγμονωδών διαβιβαστών από τα α-κοκκία όπως κατά την ενεργοποίησή τους. Χυμοκίνες όπως RANTES, b-thromboglobulin, PF4 έχουν διαπιστωθεί στην κυκλοφορία ασθενών με MYN <sup>(69,128)</sup> . Επιπλέον, τα αιμοπετάλια συμμετέχουν στη φυσική ανοσία μέσω της έκφρασης toll-like υποδοχέων (TLR), οι οποίοι αναγνωρίζουν φλεγμονώδη σήματα και επάγουν λειτουργικές απαντήσεις των αιμοπεταλίων. Ενισχυμένη απόκριση σε διέγερση μέσω των TLR έχει φανεί στην ET με αυξημένη έκκριση κοκκίων αιμοπεταλίων και αυξημένη αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων-ενδοθηλίου <sup>(128)</sup>. Έτσι, τα αιμοπετάλια παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανοσοθρομβωτική κατάσταση στα MYN (σχήμα 22).



**Σχήμα 22: Ο ρόλος των αιμοπεταλίων ως μεσολαβητών αιμοστατικών και προφλεγμονωδών αποκρίσεων στα MYN**

1. Η ενεργοποίηση αιμοπεταλίων οδηγεί στη συσσώρευσή τους, την παραγωγή θρομβίνης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων ενώ τα προερχόμενα από αιμοπετάλια μικροκυστίδια περαιτέρω τροφοδοτούν την πήξη
2. Η έκκριση μεσολαβητών των α και δ κοκκίων τους συνεισφέρει στην πήξη και την φλεγμονή
3. Η αυξημένη αλληλεπίδραση με λευκά οδηγεί σε συσσωματώματα αιμοπεταλίων-λευκών και μπορεί να πυροδοτεί τις λευκοκυτταρικές αντιδράσεις όπως η NETωση, η έκφραση ιστικού παράγοντα (TF), έκκριση πρωτεασών (NE, ελαστάση), έκκριση ελεύθερων ριζών οξυγόνου (ROS),
4. Έκθεση του CD40L ευνοεί τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και προσκόλληση στο ενδοθήλιο, ευνοεί την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων με αποτέλεσμα την απελευθέρωση vWF από τα σωμάτια Weibel-Palade
5. Από την μία πλευρά κυτταροκίνες μπορεί να πυροδοτούν την ενεργοποίηση αιμοπεταλίων και από την άλλη, τα αιμοπετάλια να είναι πηγή κυτταροκινών, χυμοκινών και μικροκυστιδίων

Πηγή: Oyarzún et al., *Front. Immunol.* 2019, 10:1373 <sup>(101)</sup>

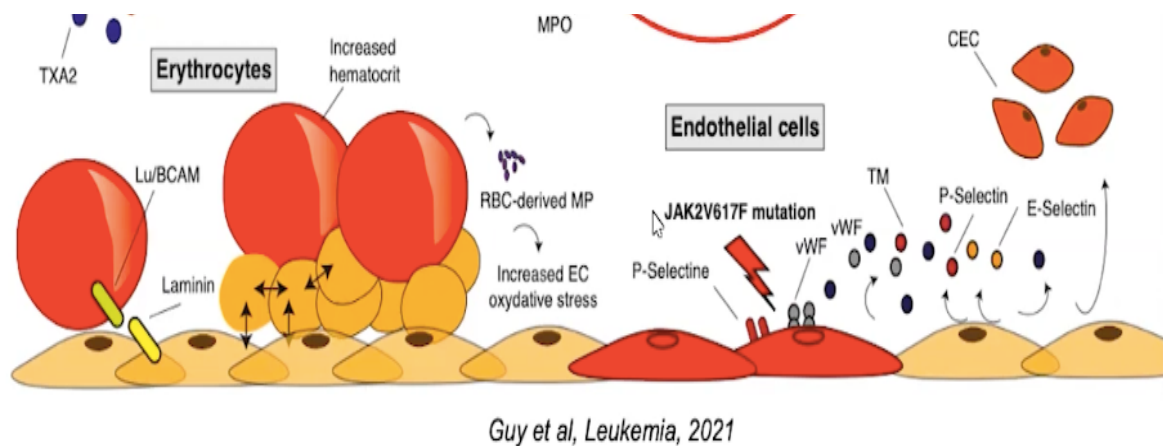
## 6. Ο ρόλος των ερυθροκυττάρων

Το προθρομβωτικό δυναμικό του αυξημένου αιματοκρίτη έχει περιγραφεί εκτενώς στην περίπτωση της PV. Σε κατάσταση χαμηλής ροής (φλεβικό δίκτυο) ο βασικός θρομβωτικός ρόλος οφείλεται στην υπεργλοιότητα (τριάδα Virchow) ενώ σε συνθήκες υψηλής ροής (αρτηριακό δίκτυο), η αύξηση της ερυθροκυτταρικής μάζας εξωθεί τα αιμοπετάλια εγγύτερα στο αγγειακό τοίχωμα, διευκολύνοντας την ενεργοποίηση τους και την αλληλεπίδραση μεταξύ τους. Ωστόσο, ο αυξημένος αιματοκρίτης δεν επαρκεί για να εξηγήσει την αυξημένη θρομβωτική διάθεση στα MYN, η οποία είναι υπερδιπλάσια σε σχέση με καταστάσεις που προκαλούν δευτερογενώς πολυερυθραιμία (π.χ. πνευμονική νόσος) <sup>(70,108)</sup>. Ο MYN κλώνος δεν οδηγεί μόνο σε αυξημένη ερυθροποίηση αλλά επάγει βιοχημικές αλλαγές στη μεμβράνη και τη λειτουργία των ερυθροκυττάρων ευνοώντας το σχηματισμό συσσωμάτων ερυθροκυττάρων και την πρόσδεσή τους στο ενδοθήλιο και σε άλλα κύτταρα του αίματος. Η JAKV617F μετάλλαξη μέσω ενός ανεξάρτητου από την ερυθροποιητίνη σηματοδοτικού μονοπατιού Rap1/Akt προωθεί τη φωσφορυλίωση του ερυθροκυτταρικού μορίου προσκόλλησης Lu/BCAM έχοντας ως αποτέλεσμα αυξημένη πρόσδεση των ερυθρών στο ενδοθήλιο. Τέλος, μέσω του FAS/FAS συνδέτη πραγματοποιείται η αλληλεπίδραση ερυθροκυττάρων με αιμοπετάλια στα MYN, η οποία αυξάνει την έκφραση της φωσφατιδυλοσερίνης στην επιφάνεια των ερυθρών, προάγοντας την παραγωγή θρομβίνης <sup>(108)</sup>.

## 7. Ο ρόλος των ενδοθηλιακών κυττάρων

Στα MYN πολλαπλοί παράγοντες διαταράσσουν την ομοιόσταση του ενδοθηλίου, μετατρέποντάς το σε μία προθρομβωτική επιφάνεια με αυξημένη δυνατότητα προσκόλλησης κυττάρων. Αρκετά δεδομένα αποδεικνύουν την αυξημένη ενεργοποίηση του ενδοθηλίου στα MYN, όπως η αύξηση στο πλάσμα του αντιγόνου vWF, της διαλυτής θρομβομοντουλίνης και της E-σελεκτίνης <sup>(70)</sup>. Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα εκδηλώνουν έναν προθρομβωτικό φαινότυπο που προάγει τη συγκέντρωση αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων. Η απελευθέρωση vWF από τα σωμάτια Weibel-Palade του ενδοθηλίου συγκεντρώνει και ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια, οδηγώντας στη μετακίνηση στην επιφάνεια του αιμοπεταλιακού συνδέτη του CD40 (CD40L), με τον οποίο προσδένονται στο CD40 του ενδοθηλίου. Με αμφίδρομο μηχανισμό, η

αλληλεπίδραση με τα αιμοπετάλια και τα λευκά αιμοσφαίρια ανατροφοδοτεί την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου. Επιπλέον, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και πρωτεάσες που εκλύονται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα κατά την NETωση μπορούν να οδηγήσουν στην αποκόλληση ή λύση ενδοθηλιακών κυττάρων <sup>(101)</sup>. Υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών κυττάρων (σε ηρεμία, ενεργοποιημένων, αποπτωτικών ή πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων) ανευρίσκονται σε MYN <sup>(108,129)</sup>, ενώ σε 2 μελέτες έχουν φανεί να σχετίζονται θετικά με τον αριθμό των θρομβωτικών επεισοδίων σε MYN <sup>(129,130)</sup>. Τέλος, η μετάλλαξη JAKV617F έχει βρεθεί στα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα ασθενών με MYN, όπως στα ενδοθηλιακά κύτταρα του σπληνός ασθενών με μυελοϊνώση και στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ήπατος ασθενών με σύνδρομο Budd-Chiari, υποδεικνύοντας την πιθανή συμμετοχή των ενδοθηλιακών κυττάρων στον κακοήγη κλώνο <sup>(131,132)</sup> και στον προθρομβωτικό φαινότυπο.



## Σχήμα 22. Ο ρόλος των ερυθροκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων στη θρόμβωση στα MYN <sup>(78)</sup>

### 1. Ερυθροκύτταρα:

- Υπεργλοιότητα,
- απώθηση αιμοπεταλίων προς το ενδοθήλιο και ενεργοποίησή τους
- αλληλεπίδραση με λευκά, αιμοπετάλια
- αυξημένη πρόσδεση στο ενδοθήλιο μέσω Lu/BCAM
- έκκριση μικροκυστιδίων

### 2. Ενδοθηλιακά κύτταρα: -αυξημένη ενεργοποίηση (αυξημένος vWF, E-selectin, thrombomodulin)

- αυξημένη αλληλεπίδραση με αιμοπετάλια, ερυθρά, λευκά
- αυξημένα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα
- φέρουν την μετάλλαξη JAKV617F/ συμμετοχή στον κλώνο

## 8. Ο ρόλος των εξωκυττάρων κυστιδίων (extracellular vesicles, EV)

Τα εξωκυττάρια κυστίδια είναι μία ετερογενής ομάδα νανο έως μικρο- μεγέθους σωματιδίων διπλοστιβάδας λιπιδίων που εκλύονται από τους περισσότερους τύπους κυττάρων. Είναι σημαντικά στην διακυτταρική επικοινωνία καθώς μεταφέρουν microRNAs και πρωτεϊνικά σήματα, τα οποία ρυθμίζουν πολύπλοκες βιολογικές και φλεγμονώδεις διαδικασίες όπως η θρόμβωση και η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου. Υπάρχουν δύο βασικοί τύποι εξωκυττάρων κυστιδίων με βάση το μέγεθος και την προέλευση, τα μικροσωματίδια (microparticles, MP) ( $\delta=0.1-1\mu\text{m}$ ) προερχόμενα από την κυτταρική μεμβράνη και τα εξωσώματα ( $\delta=30-100\text{nm}$ ) προερχόμενα από τα ενδοσώματα. Τα εξωσώματα δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς στα MYN. Από την άλλη μεριά, έχει διαπιστωθεί αυξημένος αριθμός μικροσωματιδίων με δείκτες αιμοπεταλιών, ενδοθηλιακών κυττάρων και λευκών αιμοσφαιρίων στο πλάσμα ασθενών με ET σε σχέση με υγιείς μάρτυρες <sup>(69)</sup>. Η πλειοψηφία αυτών είναι αιμοπεταλιακής προέλευσης, ενώ αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι υπάρχουν μικροσωματίδια που συνεκφράζουν δείκτες τόσο αιμοπεταλιακής όσο και ενδοθηλιακής προέλευσης σε ασθενείς με ET. Τα προερχόμενα από αιμοπετάλια μικροσωματίδια είναι πλούσια σε ιστικό παράγοντα και εμφανίζουν εξαρτώμενη από φυσφολιπίδια προπηκτική δράση, ενώ μπορεί να μεταφέρουν κυτταροκίνες και χυμοκίνες, ενισχύοντας προφλεγμονώδη και προπηκτικά σήματα.

Επιπλέον τα μικροσωματίδια είναι αυξημένα σε ασθενείς με MYN και θρόμβωση σε σχέση με αυτούς που δεν έχουν παρουσιάσει θρόμβωση <sup>(133)</sup>. Παράλληλα σε μελέτη των Chaerentier και συνεργατών <sup>(135)</sup> τα αιμοπεταλιακής προέλευσης μικροσωματίδια ήταν περισσότερα σε αριθμό και είχαν μεγαλύτερη προπηκτική δράση σε ασθενείς με ET που ήταν JAKV617F θετικοί σε σχέση με ασθενείς που ήταν CALR θετικοί ή τριπλά αρνητικοί. Το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει πιθανό ρόλο των μικροσωματιδίων στην επαγωγή υψηλού θρομβωτικού κινδύνου στα MYN.

Τα μικροσωματίδια που προέρχονται από ερυθροκύτταρα φάνηκε σε μία μελέτη να επάγουν αρτηριακή υπεραντιδραστικότητα και αγγειοσύσπαση σε JAK2 θετικούς ασθενείς <sup>(134)</sup>.

Τέλος, τα μικροσωματίδια συμβάλλουν στην υπερπηκτικότητα μέσω ενίσχυσης της επαγόμενης από αυτά παραγωγής θρομβίνης. Η μεσολαβούμενη από μικροσωματίδια αντίσταση στη θρομβομοντουλίνη έχει προταθεί ως υποκείμενος μηχανισμός <sup>(135)</sup>.

## 9. Ο ρόλος των παραγόντων πήξης

Η διαταραχή μεταξύ προπηκτικών και αντιπηκτικών παραγόντων του πλάσματος έχει φάνει σε μελέτες ασθενών με MYN και συμβάλλει στον προπηκτικό φαινότυπο. Συγκεκριμένα, σε ασθενείς με MYN παρατηρείται αυξημένη παραγωγή θρομβίνης με τη μέθοδο της αυτόματης θρομβογραφίας που χρησιμοποιείται ερευνητικά ως μέθοδος σφαιρικής εκτίμησης της πήξης. Αρκετές μελέτες αναφέρουν αυξημένη τόσο εξαρτώμενη από αιμοπετάλια, όσο και ανεξάρτητη από αυτά παραγωγή θρομβίνης <sup>(69,136)</sup>. Η ενίσχυση της οδού του ιστικού παράγοντα έχει φανεί ως ο υποκείμενος παθοφυσιολογικός μηχανισμός <sup>(69,136)</sup>.

Επιπλέον, η παραγωγή θρομβίνης σχετίζεται θετικά με το αλληλικό φορτίου του JAK2V617F, ενώ σχετίζεται αρνητικά με την κυτταρομείωση και τη χορήγηση υδροξυουρίας <sup>(126)</sup>.

Παράλληλα, τα επίπεδα φυσικών ανασταλτών της πήξης, της πρωτεΐνης S, της πρωτεΐνης C και της αντιθρομβίνης ανευρίσκονται συχνά μειωμένα σε ασθενείς με ET και PV <sup>(137)</sup>. Επίκτητη αντίσταση στην ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, μεσολαβούμενη από τη χαμηλή ελεύθερη πρωτεΐνη S έχει επίσης παρατηρηθεί σε ασθενείς με MYN <sup>(138)</sup>. Η μείωση στα επίπεδα της πρωτεΐνης S μπορεί να οφείλεται σε αυξημένη κάθαρση της από πρωτεάση προερχόμενη από τα αιμοπετάλια <sup>(139)</sup>. Η κάθαρση της πρωτεΐνης S φάνηκε να είναι ιδιαίτερα αυξημένη σε ασθενείς με ET και αυξημένο αριθμό αιμοπεταλίων, ενώ επανερχόταν σε φυσιολογικές τιμές σε ασθενείς με ET που ελάμβαναν υδροξυουρία και είχαν φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων <sup>(140)</sup>.

Τα αποτελέσματα αρκετών μελετών δείχνουν ότι οι παραπάνω μεταβολές στους παράγοντες πήξης του πλάσματος είναι μεγαλύτερες σε ασθενείς με MYN και μετάλλαξη JAK2V617F <sup>(70,139,140)</sup>. Ωστόσο, ο ρόλος των ανωτέρω βιοδεικτών στην εκτίμηση του κινδύνου θρόμβωσης σε ασθενείς με MYN μένει να καθιερωθεί μέσα από προοπτικές μελέτες ώστε να αξιολογηθεί η προγνωστική τους αξία και η ενσωμάτωσή τους στη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων.

## Δ. ΠΡΟΛΗΨΗ-ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΥΝ

### 1. Πρωτογενής πρόληψη της θρόμβωσης

- *Μείωση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου- αλλαγές στον τρόπο ζωής*

Δεδομένου του αυξημένου θρομβωτικού κινδύνου που διατρέχουν οι ασθενείς με ΜΥΝ, είναι θεμελιώδης η αναγνώριση και η σωστή αντιμετώπιση των γνωστών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (κάπνισμα, αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία) και η υιοθέτηση υγιεινού τρόπου ζωής ως προς τη διατροφή και τη σωματική άσκηση <sup>(26,70)</sup>.

- *Αφαίμαξη*

Στους ασθενείς με PV η αφαίμαξη αποτελεί βασική μέθοδο ρύθμισης του αιματοκρίτη και διατήρησής του στο στόχο <45% . Ο ανωτέρω στόχος είχε τεθεί σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μεγάλης τυχαιοποιημένης πολυκεντρικής μελέτης Cyto-PV με 365 ασθενείς με PV οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν είτε να λάβουν πιο εντατική θεραπεία με στόχο Hct<45% ,είτε σε μια λιγότερο εντατική θεραπεία με στόχο Hct 45-50%. Μετά από σχεδόν 3 έτη παρακολούθησης τα μείζονα θρομβωτικά επεισόδια και ο καρδιαγγειακός θάνατος ήταν 4 φορές συχνότερα στους ασθενείς με την πιο χαλαρή ρύθμιση και τον υψηλότερο αιματοκρίτη- στόχο >45% (HR=3.91, p=0.007) <sup>(24, 26)</sup>.

- *Χαμηλή δόση ασπιρίνης*

Η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της χορήγησης χαμηλής δόσης ασπιρίνης (100mg ημερησίως) προφυλακτικά σε ασθενείς με PV έχει παγιωθεί από τη διπλά-τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη ECLAP. Σε αυτή τη μελέτη, μετά από παρακολούθηση για περίπου 3 έτη, η χαμηλή δόση ασπιρίνης μείωσε σημαντικά τον κίνδυνο καρδιαγγειακού θανάτου, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το ΑΕΕ και την εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση κατά 60% <sup>(26,58)</sup> . Για τους ανωτέρω λόγους όλοι οι ασθενείς με PV πρέπει να λαμβάνουν χαμηλή δόση ασπιρίνης (επί μη αντένδειξης) και αφαίμαξη με στόχο Hct<45%.

Ωστόσο, στην περίπτωση των ασθενών με ET η αποτελεσματικότητα της ασπιρίνης δεν έχει αποδειχθεί σε τυχαιοποιημένες μελέτες, όπως επίσης δεν έχει θεσπιστεί σαφής στόχος αριθμού αιμοπεταλίων για τη μείωση των θρομβωτικών επιπλοκών <sup>(26,69)</sup>. Το σύστημα IPSET (International Prognostic Score for thrombosis in Essential Thrombocythaemia) για τον κίνδυνο θρόμβωσης σε ασθενείς με ET αποτελεί ένα νέο προγνωστικό σύστημα το οποίο έχει ενσωματωθεί στις κατευθυντήριες οδηγίες του ELN (European Leukemia Net) και του NCCN (National Comprehensive Cancer Network). Το σκορ περιλαμβάνει επιπλέον των συμβατικών παραγόντων κινδύνου της ηλικίας και της προηγούμενης θρόμβωσης, περιλαμβάνει την ύπαρξη επιπρόσθετων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και της μετάλλαξης JAK2V617F (σχήμα 14) <sup>(28)</sup>.

Η χαμηλή δόση ασπιρίνης μπορεί να ελέγχει τα μικρο-αγγειακά συμπτώματα όπως η ερυθρομελαλγία και οι παροδικές νευρολογικές και οπτικές διαταραχές. Μία αναδρομική ανάλυση αξιολόγησε το λόγο οφέλους-κινδύνου με τη χρήση ασπιρίνης σε ασθενείς με ET <sup>(66)</sup>. Στους ασθενείς που έφεραν τη μετάλλαξη JAK2V617F η ασπιρίνη σχετιζόταν με μειωμένη επίπτωση φλεβικής θρομβοεμβολικής νόσου, ενώ σε ασθενείς με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου με μειωμένη επίπτωση αρτηριακών θρομβώσεων <sup>(66)</sup>. Παράλληλα σε αυτές τις ομάδες ασθενών η ασπιρίνη δε συσχετίστηκε με αυξημένο αιμορραγικό κίνδυνο <sup>(69)</sup>. Αντιθέτως, σε ασθενείς με CALR μεταλλάξεις και ET, η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή δεν επηρέασε τον κίνδυνο θρόμβωσης και συσχετίστηκε με αυξημένη επίπτωση αιμορραγίας <sup>(69)</sup>.

Όσον αφορά στον αιμορραγικό κίνδυνο, η ετήσια επίπτωση μείζονος αιμορραγίας λόγω της ασπιρίνης σε ασθενείς με PV και ET ποικίλλει μεταξύ 0.3% και 0.8%, και η συχνότητα είναι υψηλότερη σε ασθενείς με ET που παρουσιάζουν προ-ινωτική μυελοϊνώση (1.39%), υποδεικνύοντας πιθανόν αυτή τη συγκεκριμένη ομάδα ασθενών ως αυξημένου κινδύνου αιμορραγίας με τη λήψη ασπιρίνης, σε σχέση με τους ασθενείς με συμβατική ET σύμφωνα με τα κριτήρια της WHO (0.79% ετήσια επίπτωση μείζονος αιμορραγίας με ασπιρίνη) <sup>(141)</sup>. Συνεπώς οι σύγχρονοι θεραπευτικοί αλγόριθμοι προτείνουν ότι μόνο η παρακολούθηση ίσως είναι επαρκής για μία προσεκτικά επιλεγμένη κατηγορία ασθενών με ET πολύ χαμηλού κινδύνου, π.χ. αυτούς με ηλικία <60 ετών, JAK2V617F αρνητικών, χωρίς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου και χωρίς προηγούμενη θρόμβωση <sup>(23,26,142)</sup>.

Από την άλλη πλευρά, η ασπιρίνη δις ημερησίως (100mg δις ημερησίως) έχει προταθεί για ασθενείς με PV και ιστορικό αρτηριακής θρόμβωσης, ανεπαρκή ρύθμιση μικρο-αγγειακών συμπτωμάτων ή πτωχή ρύθμιση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου. Παρομοίως, έχει προταθεί και για ασθενείς με ET και ιστορικό αρτηριακής θρόμβωσης ή με συνύπαρξη καρδιαγγειακών συννοσηροτήτων, μεγαλύτερης ηλικίας ή με παρουσία JAK2V617F μετάλλαξης <sup>(26)</sup>. Μάλιστα μια μελέτη έδειξε ότι η αποτελεσματικότητα της μίας ημερησίως χαμηλής δόσης ασπιρίνης στην ET διαρκεί λιγότερο λόγω ταχύτερης ανανέωσης της κυκλοξυγενάσης-1 των αιμοπεταλίων και προτείνει ότι η επηρεασμένη αναστολή των αιμοπεταλίων μπορεί να αναστραφεί με την ρύθμιση του μεσοδιαστήματος μεταξύ των δόσεων παρά με την αύξηση της δόσης <sup>(143)</sup>. Ωστόσο αυτή η προσέγγιση της διπλής ημερήσιας δόσης ασπιρίνης δεν έχει ενσωματωθεί στις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες και θα πρέπει να υπόκειται σε εξατομίκευση με βάση και τον αιμορραγικό κίνδυνο κάθε ασθενούς. Όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενο κεφάλαιο, στην περίπτωση υπέρμετρης θρομβοκυττάρωσης (>1.000.000/μl), η χρήση της ασπιρίνης μπορεί να εντείνει τον κίνδυνο αιμορραγίας και ο έλεγχος ενεργότητας του vWF με δραστικότητα συμπαράγοντα ριστοσετίνης ενδείκνυται για αποκλεισμό επίκτητης νόσου von Willebrand <sup>(144)</sup>. Σε περίπτωση δραστικότητας ριστοσετίνης <30% συνιστάται η αναστολή της λήψης ασπιρίνης <sup>(26)</sup>.

- **Υδροξυουρία (HU)**

Η κυτταρομειωτική αγωγή έχει ένδειξη σε ασθενείς με υψηλού θρομβωτικού κινδύνου MYN. Οι ασθενείς με MYN λαμβάνουν αγωγή για τη μείωση του κινδύνου θρόμβωσης, με μη ειδικά κυτταρομειωτικά φάρμακα όπως η υδροξυουρία, ή η μπουσουλφάνη, η τελευταία εκ των οποίων λόγω του κινδύνου λευχαιμογένεσης προτείνεται μόνο σε ηλικιωμένους ασθενείς <sup>(23,25,26,66,145,146,147)</sup>.

Μετά από αρκετές τυχαιοποιημένες και μη τυχαιοποιημένες μελέτες, η υδροξυουρία, ένας αντιμεταβολίτης, έχει καθιερωθεί ως πρώτη γραμμής αγωγή κυτταρομείωσης στα MYN <sup>(26)</sup> καθώς φαίνεται να μειώνει τις θρομβωτικές επιπλοκές στους ασθενείς σε σχέση με την απλή παρατήρηση <sup>(144)</sup>.

Η αντιθρομβωτική αποτελεσματικότητα της HU στην ET έχει παγιωθεί με μία τυχαιοποιημένη μελέτη η οποία έδειξε ότι μείωσε τη συχνότητα θρομβωτικών επεισοδίων, συμπεριλαμβανομένων κυρίως των παροδικών ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων <sup>(148)</sup>.

Όσον αφορά την αντιθρομβωτική της δράση στην PV, αυτή καθιερώθηκε από μία μη τυχαιοποιημένη μελέτη του PVSG (polycythemia vera study group) όπου συσχετίστηκε με χαμηλότερη επίπτωση πρώιμης θρόμβωσης σε σύγκριση με έναν ιστορικό πληθυσμό ασθενών που υποβαλλόταν μόνο σε αφαίμαξη (επίπτωση θρόμβωσης 6.6% με HU έναντι 14% με αφαίμαξη στα 2 έτη) <sup>(26,149)</sup>.

Η υδροξυουρία δρα ως αναστολέας της ριβονουκλεοτιδικής ρεδουκτάσης εμποδίζοντας τη σύνθεση του DNA, ωστόσο ο μηχανισμός με τον οποίο μειώνει τον κίνδυνο θρόμβωσης δεν έχει τεκμηριωθεί επαρκώς. Πέρα από την μυελοκαταστολή, η αντιθρομβωτική της δράση μπορεί να περιλαμβάνει ποιοτικές αλλαγές στα λευκά αιμοσφαίρια, μείωση έκφρασης ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης και αυξημένη παραγωγή αγγειοδιασταλτικού μονοξειδίου του αζώτου <sup>(150)</sup>. Σε μία μελέτη σε διαδοχικά δείγματα ασθενών με MYN σε αγωγή με HU, διαπιστώθηκε μείωση των συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων, ενώ το φάρμακο φάνηκε να αναστέλλει την επαγόμενη από την P σελεκτίνη δημιουργία συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων in vitro <sup>(150)</sup>. Επιπλέον, σε μια πρόσφατη μελέτη με τη χρήση JAK2V617F μυϊκού μοντέλου, φάνηκε ότι η αγωγή με υδροξυουρία μείωσε τη θρόμβωση και καταργούσε την αλληλεπίδραση μεταξύ λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων που εκφράζουν JAKV617F μέσω της αναστολής της έκφρασης P σελεκτίνης από το ενδοθήλιο <sup>(151)</sup>.

Όσον αφορά στον κίνδυνο λευχαιμογένεσης με την ΗΥ, στη μοναδική τυχαιοποιημένη μελέτη που συνέκρινε την ΗΥ έναντι pirarubicin σε ασθενείς με PV, η αθροιστική επίπτωση ΟΜΛ/ΜΔΣ στα 10,15,20 έτη αγωγής ήταν 6,6%, 16,5% και 24% στο σκέλος της ΗΥ και 13%, 34% και 52% στο σκέλος του pirarubicin αντίστοιχα ( $p=0.004$ )<sup>(146)</sup>. Ωστόσο, άλλα δεδομένα από αναδρομικές καταγραφές και προοπτικές μελέτες δεν κατάφεραν να αποδώσουν κίνδυνο λευχαιμογένεσης στη λήψη ΗΥ<sup>(152-154)</sup>. Στις διάφορες μελέτες ασθενών με PV η συχνότητα ανάπτυξης ΟΜΛ σε ασθενείς που λαμβάνουν ΗΥ είναι χαμηλή και κυμαίνεται μεταξύ 1-5,6%<sup>(26,81,155,156)</sup>. Στην μεγαλύτερη μελέτη ασθενών με PV ( $n=1638$ ) σε διάμεση παρακολούθηση 8,4 ετών από τη διάγνωση μόνο 1,3% ανέπτυξε ΟΜΛ<sup>(81)</sup>. Αυτοί ήταν συγκριτικά με τους υπόλοιπους, μεγαλύτεροι σε ηλικία, με μεγαλύτερη διάρκεια της νόσου, είχαν εκτεθεί σε περισσότερες θεραπείες (αλκυλιούντες παράγοντες εκτός της υδροξουρίας) και ήταν πιθανότερο να έχουν λευκοκυττάρωση (γνωστός παράγοντας λευχαιμικής εκτροπής). Επιπλέον δεδομένα λευχαιμογένεσης δεν υποστηρίζονται από μακροχρόνιες μελέτες παρατήρησης σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο που λαμβάνουν υδροξουρία. Τέλος, μια πρόσφατη μελέτη του IWG (International Working Group) 1545 ασθενών με PV έδειξε αθροιστικό κίνδυνο λευχαιμικής εκτροπής 2,3% στα 10 έτη και 5,5% στα 15 έτη. Παράγοντες κινδύνου για λευχαιμική εκτροπή ήταν η μεγάλη ηλικία, ο παθολογικός καρυότυπος και λευκά αιμοσφαίρια  $\geq 15 \times 10^9/L$ . Η λευχαιμική εκτροπή επίσης συσχετίστηκε με θεραπεία με pirarubicin ή χλωραμβουκίλη αλλά όχι με την υδροξουρία ή τη μπουσουλφάνη<sup>(19)</sup>. Αν αυτό ισχύει και για δευτεροπαθείς κακοήθειες που αναπτύσσονται σε ασθενείς με MYN μένει να αποσαφηνιστεί<sup>(157)</sup>. Ωστόσο, μια πολύ πρόσφατη αναδρομική μελέτη ασθενών >66ετών με MYN έδειξε ότι η ΗΥ δεν αυξάνει τη συχνότητα δευτεροπαθών νεοπλασιών (συμπεριλαμβανομένων των ΜΔΣ/ΟΜΛ) σε αυτή την ομάδα ασθενών<sup>(158)</sup>.

Συνολικά, η πλειονότητα των δεδομένων δεν αποδίδει κίνδυνο λευχαιμογένεσης στην υδροξουρία, αλλά πρέπει να τονιστεί ότι αυτός ο κίνδυνος μπορεί να εμφανιστεί μετά από μακροχρόνια έκθεση στο φάρμακο. Συνεπώς θα ήταν συνετό να υιοθετηθεί μία πολιτική προσεκτικής χορήγησης του φαρμάκου σε νεότερους ασθενείς καθώς και σε ασθενείς με προηγούμενη έκθεση σε μυελοτοξικά φάρμακα ή σε όσους έχουν κυτταρογενετικές ανωμαλίες.

- **Ιντερφερόνη-α (INF-α)**

Οι ιντερφερόνες μακράς δράσης φαίνεται να τροποποιούν τα MYN στο επίπεδο του αιμοποιητικού προγονικού κυττάρου. Καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των πρόδρομων αιμοποιητικών κυττάρων, έχουν άμεση ανασταλτική επίδραση στα πρόδρομα κύτταρα των ινοβλαστών στο μυελό των οστών και ανταγωνίζονται την δράση του αιμοπεταλιακής προέλευσης αυξητικού παράγοντα (platelet-derived growth factor), του TGF-β και άλλων κυτταροκινών που μπορεί να εμπλέκονται στην ανάπτυξη της μυελοϊνωσης <sup>(159)</sup>.

Δύο μελέτες φάσης II έχουν δείξει ότι η πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη-α 2α οδήγησε σε υψηλό βαθμό αιματολογικής ανταπόκρισης και μείωσε τον κακοήθη κλώνο, όπως ποσοτικοποιήθηκε από το ποσοστό του μεταλλαγμένου αλληλίου JAK2V617F <sup>(160,161)</sup>.

Το προφίλ ανεπιθύμητων παρενεργειών της πεγκυλιωμένης ιντερφερόνης-α 2α στη δόση των 90μg εβδομαδιαίως ήταν πολύ καλά ανεκτό. Σε μία μελέτη ασθενών με PV και ET οι οποίοι έλαβαν πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη-α 2<sup>α</sup> σαν θεραπεία 2<sup>ης</sup> γραμμής μετά από αποτυχία ή δυσανεξία στην υδροξυουρία, η αθροιστική επίπτωση μείζονος αγγειακού επεισοδίου ήταν στον ένα χρόνο 2% και στα 2 χρόνια 5% <sup>(162)</sup>. Ενώ η συχνότητα αγγειακών συμβάντων σε τυχαιοποιημένες μελέτες που διερεύνησαν τη θεραπεία με ιντερφερόνη ήταν χαμηλή, δεν έχει αποδειχθεί η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ της μοριακής ανταπόκρισης και της τροποποίησης του κινδύνου θρόμβωσης <sup>(163)</sup>. Τέλος, δεν έχει φανεί σε τυχαιοποιημένες μελέτες αν η ιντερφερόνη είναι πιο αποτελεσματική από την υδροξυουρία στη μείωση των αγγειακών θρομβωτικών επεισοδίων.

- ***Αναγρελίδη***

Η αναγρελίδη, μία χημική ένωση ιμιδαζοκιναζολίνης, προκαλεί μείωση των αιμοπεταλίων, χωρίς δυναμικό λευχαιμογένεσης και μπορεί να χορηγηθεί εναλλακτικά της ΗΥ για τη μείωση των αιμοπεταλίων σε νεότερους ασθενείς με ET και υψηλό κίνδυνο θρόμβωσης οι οποίοι έχουν αντοχή ή δυσανεξία στην ΗΥ. Η αναγρελίδη έχει συγκριθεί με την ΗΥ σε δύο τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες. Στην πρώτη (PT-1), σε σύγκριση με την ΗΥ, οι ασθενείς στο σκέλος της αναγρελίδης εμφάνισαν αυξημένη συχνότητα αρτηριακής θρόμβωσης, μείζονος αιμορραγίας, αλλά μικρότερη συχνότητα φλεβικής θρόμβωσης <sup>(164)</sup>. Από την άλλη, στη μελέτη μη-κατωτερότητας ANAHDRET δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ αναγρελίδης και υδροξυουρίας όσον αφορά στην επίπτωση της μείζονος αρτηριακής και φλεβικής θρόμβωσης και στα σοβαρά αιμορραγικά επεισόδια. Στην μελέτη αυτή δεν αναφέρθηκε ο κίνδυνος εκτροπής σε μυελοϊνωση ή ΟΜΛ <sup>(165)</sup>. Σύμφωνα με το ELN (European Leukemia Net) η αναγρελίδη προτείνεται ως δεύτερη και περαιτέρω γραμμή θεραπείας σε υψηλού κινδύνου ασθενείς με ET ανθεκτικούς ή με δυσανεξία στην ΗΥ <sup>(166)</sup>.

- ***Ruxolitinib***

Πρόκειται για έναν από του στόματος αναστολέα JAK1/2 και αποτελεί την πρώτη στοχευμένη θεραπεία που έλαβε έγκριση για την μυελοϊνωση ενδιάμεσου και υψηλού κινδύνου (με σπληνομεγαλία ή/και παρουσία συστηματικών συμπτωμάτων), με βάση τα αποτελέσματα των μελετών COMFORT -I και COMFORT-II <sup>(28,167,168)</sup>. Επίσης έχει λάβει έγκριση και για την αντιμετώπιση ασθενών με PV οι οποίοι είναι ανθεκτικοί ή έχουν δυσανεξία στη χορήγηση υδροξυουρίας, με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης RESPONSE <sup>(167)</sup>.

Όσον αφορά στη μυελοϊνωση, τα αποτελέσματα των ανωτέρω μελετών έδειξαν ότι το ruxolitinib πέτυχε μείωση >35% της σπληνομεγαλίας και των συστηματικών συμπτωμάτων. Επιπρόσθετα της βελτίωσης στην ποιότητα ζωής, μακροπρόθεσμη ανάλυση των ασθενών έδειξε σημαντική αύξηση της επιβίωσης των ασθενών με ενδιαμέσου-2 και υψηλού κινδύνου μυελοϊνωση . Ωστόσο η εκτροπή σε ΟΜΛ δεν διέφερε σημαντικά με τη λήψη ruxolitinib <sup>(169,170)</sup>.

Στην περίπτωση των ασθενών με PV, η μελέτη RESPONSE έδειξε σημαντική >35% μείωση της σπληνομεγαλίας σε 22,7% των ασθενών και έλεγχο του αιματοκρίτη σε 62% των ασθενών που ήταν ανθεκτικοί ή είχαν δυσανεξία στην υδροξουρία <sup>(171)</sup>.

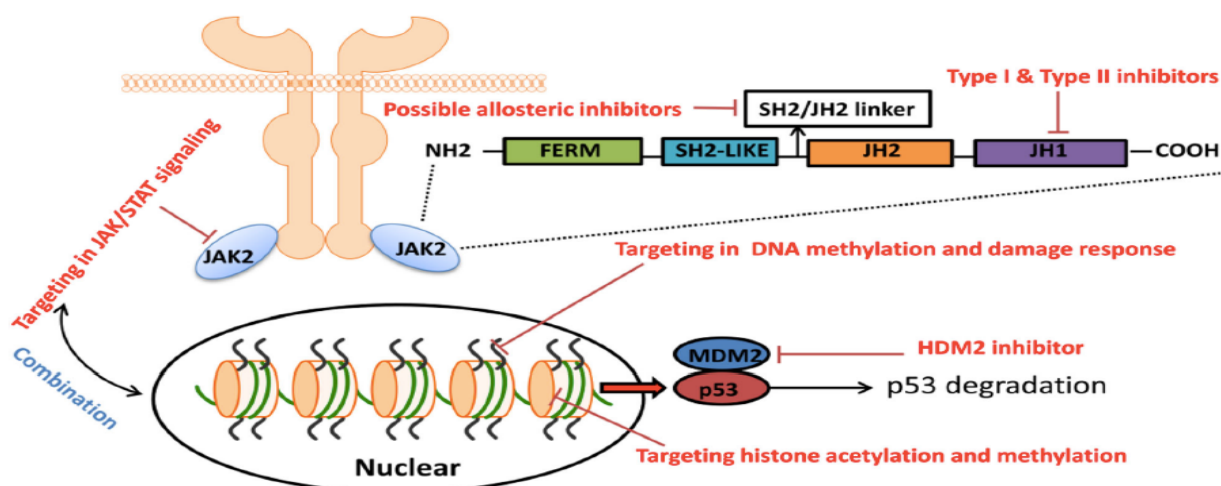
Ωστόσο, σε ασθενείς με ET ανθεκτικούς στην υδροξουρία, η λήψη ruxolitinib δεν φάνηκε να ωφελεί σε σχέση με άλλες θεραπείας ως προς τον έλεγχο της θρομβοκυττάρωσης και των επιπλοκών της νόσου, όμως βελτίωσε τα γενικά συμπτώματα και τον κνησμό <sup>(172)</sup>.

Γενικώς, το ruxolitinib αποτελεί μία σχετικά καλά ανεκτή θεραπεία από του στόματος με 25-33% ανεπιθύμητες παρενέργειες (με συχνότερη την αιματολογική τοξικότητα: αναιμία, θρομβοπενία, και λιγότερο συχνές την ενεργοποίηση λοιμώξεων όπως έρπης ζωστήρ, φυματίωση, ιογενείς λοιμώξεις και βακτηριακές λοιμώξεις). Σημαντική είναι η μακροπρόθεσμη παρακολούθηση λόγω του ότι το ruxolitinib μειώνει την λειτουργικότητα των NK λεμφοκυττάρων με πιθανό κίνδυνο συμπαγών κακοηθειών και λεμφωματογένεσης. Επίσης, παρά τα κλινικά οφέλη, η μακροχρόνια αγωγή με ruxolitinib δεν οδηγεί σε μοριακή ή ιστολογική ύφεση στην πλειονότητα των ασθενών με MYN, σε αντίθεση με την ύφεση που επιτυγχάνεται με τους αναστολείς της ABL κινάσης στην περίπτωση της Χρόνιας Μυελογενούς Λευχαιμίας. Παρ'όλα αυτά, μια πρόσφατη μελέτη των Deininger et al. έδειξε ότι μετά από μακροχρόνια χορήγηση σε ασθενείς με μυελοϊνωση, το ruxolitinib μπορεί να μειώσει το αλληλικό φορτίο του JAK2V617F σε ορισμένους ασθενείς <sup>(173)</sup>. Λόγω της αιματολογικής τοξικότητας, ένας σημαντικός αριθμός ασθενών με μυελοϊνωση αποκλείονται από τη λήψη του ruxolitinib, ιδίως οι ασθενείς με θρομβοπενία <50.000/μλ.

Πρόσφατα έλαβε έγκριση με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης JAKARTA ο νεότερος αναστολέας JAK, fedratinib, για τους ασθενείς με μυελοϊνωση και αντοχή ή δυσανεξία στο ruxolitinib. Ο εν λόγω αναστολέας φάνηκε να μειώνει επίσης τη σπληνομεγαλία κατά >35%, την ανάγκη μεταγγίσεων και τα συστηματικά συμπτώματα.

Ωστόσο, όσον αφορά στην αντιθρομβωτική δράση των JAK2 αναστολέων και ειδικά του ruxolitinib που είναι ο πλέον χορηγούμενος, υπάρχουν αντικρουόμενα δεδομένα στη βιβλιογραφία. Στην περίπτωση ασθενών υψηλού κινδύνου με PV και αντοχή/δυσανεξία στην υδροξυουρία, η 5ετής παρακολούθηση στη μελέτη RESPONSE έδειξε λιγότερες θρομβωτικές επιπλοκές στο σκέλος του ruxolitinib (1.2 ανά 100 ασθενο-έτη) σε σύγκριση με την συμβατική θεραπεία (8.2 ανά 100 ασθενείς/έτη) <sup>(174)</sup>. Μία πρόσφατη μετα-ανάλυση κλινικών μελετών απέτυχε να δείξει ότι το ruxolitinib μειώνει τη θρόμβωση σε ασθενείς με PV σε σύγκριση με την συμβατική θεραπεία <sup>(175)</sup>. Ωστόσο, μια προηγούμενη μετα-ανάλυση είχε καταγράψει μείωση του κινδύνου θρόμβωσης κατά 46% με το ruxolitinib σε σύγκριση με την καλύτερη υποστηρικτική θεραπεία σε PV <sup>(176)</sup>. Τέλος, σε μια άλλη μελέτη παρατηρήθηκε ομαλοποίηση του αριθμού των κυκλοφορούντων μικροσωματιδίων αιμοπεταλιακής προέλευσης σε ασθενείς με μείωση του μεγέθους του σπληνός υπό ruxolitinib, υποδεικνύοντας ότι η επίδραση των JAK2 αναστολέων στις αιμοστατικές παραμέτρους στα MYN χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Στο **σχήμα 23** φαίνεται ο τρόπος δράσης των JAK2 αναστολέων καθώς και κοινοί μοριακοί στόχοι στη θεραπεία των MYN <sup>(167)</sup>



## 2. Επίδραση της θεραπείας των MYN στα NETs

Όσον αφορά στην επίδραση των μέχρι σήμερα καθιερωμένων κυτταρομειωτικών θεραπειών των MYN στους δείκτες ανοσοθρόμβωσης τα δεδομένα στη βιβλιογραφία είναι περιορισμένα.

Το ruxolitinib αναστέλλει το σχηματισμό NETs *ex vivo* σε ουδετερόφιλα από ασθενείς με MYN που το λαμβάνουν ενώ *in vivo* μειώνει τη θρόμβωση σε JAK2V617F θετικά ποντίκια <sup>(110)</sup>.

Οι Oyarzún και συνεργάτες έδειξαν ότι τόσο η υδροξυουρία όσο και το ruxolitinib μειώνουν τη συγκέντρωση νουκλεοσωμάτων (δείκτες των NETs) σε MYN <sup>(111)</sup>.

Επιπλέον οι Oyarzún και συνεργάτες έδειξαν μείωση των συσσωματωμάτων ουδετεροφίλων-αιμοπεταλίων σε διαδοχικά δείγματα ασθενών κατά τη διάρκεια θεραπείας με υδροξυουρία. Σε αντίθεση, οι Guy και συνεργάτες σε 10 ασθενείς με MYN, βρήκαν ότι η θεραπεία δεν σχετιζόταν με μείωση του ελεύθερου DNA ή των συμπλόκων MPO-DNA, παρά την ομαλοποίηση του αριθμού των ουδετεροφίλων <sup>(112)</sup>.

Τέλος, οι Wolach και συνεργάτες προκειμένου να διερευνήσουν το ρόλο της NETωσης στη θρόμβωση στα MYN χρησιμοποίησαν ένα πειραματικό μοντέλο NET-εξαρτώμενης θρόμβωσης σε JAK2V617F ποντίκια. Δύο ώρες μετά από τμηματική στένωση της κάτω κοίλης φλέβας 45% των θετικών ποντικίων ανέπτυξε θρόμβωση σε αντίθεση με κανένα από τα αρνητικά ποντίκια. Η θεραπεία μετά από 72 ώρες με ruxolitinib μείωσε τη θρόμβωση σε επίπεδα αντίστοιχα με τα αρνητικά ποντίκια και μείωσε το ποσοστό των ουδετεροφίλων και της citH3 (δείκτης σχηματισμού NET) μέσα στο θρόμβο <sup>(110)</sup>.

Τα ανωτέρω δεδομένα αν και αφορούν μικρό αριθμό ασθενών, υποδεικνύουν πιθανό ρόλο της θεραπείας των MYN και στη μείωση των δεικτών ανοσοθρόμβωσης.

### 3. Δευτερογενής πρόληψη της θρόμβωσης στα MYN

Η πρόληψη της υποτροπής της θρόμβωσης στους ασθενείς με MYN αποτελεί ένα σημαντικό έλλειμα καλά τεκμηριωμένης γνώσης, με τις κλινικές αποφάσεις να βασίζονται στη γνώμη ειδικών και στην κλινική εμπειρία και όχι σε μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες <sup>(177)</sup>. Δεν υπάρχουν εμπεριστατωμένα δεδομένα ούτε ως προς τον καλύτερο αντιπηκτικό παράγοντα ούτε ως προς τη διάρκεια της αντιπηκτικής αγωγής μετά το πρώτο θρομβωτικό επεισόδιο σε ασθενείς με MYN.

#### - Συχνότητα επανεμφάνισης θρόμβωσης σε MYN

Η συχνότητα της υποτροπής της θρομβοεμβολικής νόσου στο γενικό πληθυσμό είναι 5-7% ασθενείς/έτη <sup>(178)</sup>. Μετά τη διακοπή της αντιπηκτικής αγωγής, η συχνότητα υποτροπής στα 1 και 5 έτη είναι 10% και 30% για μη προκλητή θρομβοεμβολική νόσο αντίστοιχα, και 5% και 15% για θρομβοεμβολή προκαλούμενη από μη χειρουργικούς αναστρέψιμους παράγοντες <sup>(179,180)</sup>. Συνεπώς, στο γενικό πληθυσμό οι παραπάνω εκτιμήσεις οδηγούν σε διάρκεια της αντιπηκτικής αγωγής με DOAC (Direct Oral Anticoagulants) ή με ανταγωνιστές της βιταμίνης K (VKA) μετά από θρόμβωση για διάστημα από το ελάχιστο των 3 μηνών έως επ'αορίστου χορήγησης <sup>(178)</sup>.

Αρκετές αναδρομικές μελέτες έχουν εκτιμήσει τη συχνότητα της υποτροπιάζουσας θρόμβωσης σε MYN. Στην μεγαλύτερη εξ'αυτών <sup>(150)</sup>, υποτροπή συνέβη στο 34% ασθενών με PV και ET (166 από 494 ασθενείς), αντιστοιχώντας σε συχνότητα 7,6% ασθενείς/έτη. Ο μόνος παράγοντας που συσχετίστηκε με την υποτροπή ήταν η ηλικία >60 ετών. Σε αυτή τη μελέτη η χορήγηση αντιαιμοπεταλιακής αγωγής σε συνδυασμό με κυτταρομείωση μείωσε στατιστικά σημαντικά την υποτροπή σε σχέση με την κάθε παρέμβαση ξεχωριστά. Μετά το πρώτο θρομβωτικό επεισόδιο, η μακροχρόνια αντιπηκτική αγωγή συσχετίστηκε με 63% μείωση του κινδύνου επανεμφάνισης θρόμβωσης χωρίς στατιστικά σημαντική αύξηση της μείζονος αιμορραγίας (0,9% ασθενο-έτη) σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς αντιπηκτική αγωγή (1,2% ασθενείς/έτη). Σε άλλη αναδρομική μελέτη, η επίπτωση υποτροπής της θρόμβωσης ήταν 5,3% ασθενείς/έτη μεταξύ των ασθενών σε VKA θεραπεία και 12,8% μετά τη διακοπή της αντιπηκτικής θεραπείας αντίστοιχα (στατιστικά σημαντική διαφορά με  $p=0.008$ ).

Μετά τη διακοπή των VKA μάλιστα η συχνότητα υποτροπής ήταν 42,3% στα 5 έτη<sup>(181)</sup>, ενώ οι ασθενείς με θρόμβωση ηπατικών φλεβών<sup>(182)</sup> ή φλεβωδών κόλπων εγκεφάλου<sup>(183)</sup> ήταν πιο επιρρεπείς σε επανεμφάνιση θρόμβωσης.

Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση 10 μελετών παρατήρησης 1295 ασθενών με MYN και ιστορικό θρόμβωσης αναφέρει συνολική συχνότητα υποτροπής 22,6% για επόμενη αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση. Η ίδια μελέτη έδειξε ότι η θεραπεία που περιλαμβάνει συνδυασμό αντιπηκτικής αγωγής και κυτταρομείωσης φαίνεται να έχει τη χαμηλότερη συχνότητα υποτροπής<sup>(184)</sup>. Αυτό το δεδομένο έχει υιοθετηθεί και από τις κατευθυντήριες οδηγίες του ELN και NCCN οι οποίες συνιστούν την έναρξη κυτταρομείωσης σε ασθενείς με MYN και προηγούμενη θρόμβωση<sup>(23,177)</sup>.

Μεγάλο προβληματισμό κατά την λήψη αντιπηκτικής αγωγής αποτελεί ο κίνδυνος αιμορραγίας. Σε ασθενείς χωρίς MYN που λαμβάνουν VKA η συχνότητα μείζονος αιμορραγίας είναι 1,2-2,2%<sup>(185-187)</sup>. Στους ασθενείς με MYN η επίπτωση μείζονος αιμορραγίας είναι 0,9-2,4% ασθενο-έτη με τη λήψη VKA και 0,7-1,5% χωρίς τη λήψη VKA. Αυτή η συχνότητα είναι ακόμη μεγαλύτερη και φτάνει το 2,8% ασθενείς/έτη στην περίπτωση συγχορήγησης VKA και ασπιρίνης<sup>(177,181,182)</sup>.

#### *- Διάρκεια αντιπηκτικής αγωγής σε θρόμβωση στα MYN*

Οι κατευθυντήριες οδηγίες για τη θεραπεία τη σχετιζόμενης με κακοήθεια θρόμβωσης προτείνουν τη διάρκεια αγωγής για 3-6 μήνες, καθώς και την περαιτέρω παράτασή της σε περίπτωση ενεργού κακοήθειας ή λήψης χημειοθεραπείας και μετά το πέρας του διαστήματος αυτού<sup>(188)</sup>. Μια πρόσφατη έρευνα έδειξε μεγάλη ετερογένεια στη θεραπευτική πρακτική στην περίπτωση θρόμβωσης στα MYN<sup>(177)</sup>. Καθώς τα MYN αποτελούν χρόνια κακοήθη νοσήματα, θα μπορούσε να είναι δόκιμη η επ'αόριστο λήψη αντιπηκτικής αγωγής σε περίπτωση θρόμβωσης και εφόσον δεν υπάρχουν σοβαροί παράγοντες αιμορραγικού κινδύνου<sup>(144)</sup>.

Η σύσταση της συνάντησης ειδικών στα MYN του 2019 προτείνει παράταση επ'αόριστον της αντιπηκτικής αγωγής μετά από μη προκλητή εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση άκρων ή/και μη προκλητή πνευμονική εμβολή, μετά από απειλητική για τη ζωή θρόμβωση ή μετά από υποτροπή θρόμβωσης<sup>(177)</sup>, υπογραμμίζοντας ωστόσο ότι δεν υπάρχουν δεδομένα ελεγχόμενων μελετών πάνω στο συγκεκριμένο θέμα.

- *Χρήση DOACs στη θεραπεία της θρόμβωσης στα MYN*

Στον γενικό πληθυσμό τα άμεσα δρώντα από του στόματος αντιπηκτικά με δράση αντι-Χα (DOACs, Direct Oral Anticoagulants) dabigatran, rivaroxaban, apixaban, edoxaban είναι εγκεκριμένες θεραπείες για τη θεραπεία της φλεβικής θρόμβωσης, για την περιεγχειρητική θρομβοπροφύλαξη και για την πρόληψη ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου στην κολπική μαρμαρυγή μη βαλβιδικής αιτιολογίας <sup>(177)</sup>. Σε αυτές τις καταστάσεις τα DOAC είναι εξίσου αποτελεσματικά με τη βαρφαρίνη και φαίνεται να σχετίζονται με μικρότερη συχνότητα ενδοκράνιας αιμορραγίας.

Στην περίπτωση ασθενών με κακοήθεια, τρεις πρόσφατες τυχαιοποιημένες μελέτες του edoxaban, rivaroxaban και apixaban έναντι χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνης έδειξαν μη-κατωτερότητα ως προς την αποτελεσματικότητα για τη θεραπεία της θρομβοεμβολικής νόσου σχετιζόμενης με κακοήθεια <sup>(189,190)</sup>.

Στους ασθενείς με MYN η θεραπεία της θρόμβωσης με VKA παρέχει καλή προστασία έναντι της υποτροπής, παρόλο που η επανεμφάνιση θρόμβωσης παραμένει υψηλότερη σε σχέση με ασθενείς χωρίς MYN <sup>(191)</sup>.

Η γνώση σχετικά με την θεραπεία της θρόμβωσης σε ασθενείς με MYN με τη χορήγηση DOACs είναι ακόμη περιορισμένη. Στις ανωτέρω μελέτες των DOAC σε κακοήθειες, μόνο το 10% των ασθενών είχαν αιματολογική κακοήθεια, στην πλειοψηφία τους λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα.

Μέχρι σήμερα, λίγες μικρές αναδρομικές μελέτες ασθενών με MYN που έλαβαν αντιπηκτική θεραπεία με DOAC ανέφεραν την απουσία επανεμφάνισης θρόμβωσης με λίγα ελάσσονα αιμορραγικά επεισόδια (στην πλειοψηφία των περιπτώσεων γινόταν συγχορήγηση ασπιρίνης <sup>(192-194)</sup>).

Μία πρόσφατη αναδρομική μελέτη δεδομένων πραγματικού κόσμου για 442 ασθενείς με MYN που έλαβαν θεραπεία με DOACs λόγω κολπικής μαρμαρυγής ή θρόμβωσης, ανέδειξε παρόμοια ποσοστά επανεμφάνισης θρόμβωσης και αιμορραγικών επιπλοκών σε σχέση με ιστορικό πληθυσμό ασθενών υπό VKA <sup>(194)</sup>. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση ασθενών με MYN που ελάμβαναν DOAC λόγω κολπικής μαρμαρυγής η ετήσια επίπτωση θρόμβωσης ήταν 1,5%. Στους ασθενείς με προηγούμενο AEE/TIA ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στο 4,6%. Τα περισσότερα αφορούσαν αρτηριακή παρά φλεβική θρόμβωση (παροδικό ισχαιμικό εγκεφαλικό, οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου). Στην περίπτωση ασθενών με MYN που έλαβαν DOAC για θεραπεία φλεβικής θρόμβωσης, η ετήσια

επίπτωση επανεμφάνισης ήταν 5,1% (5,1% ασθενείς/έτη στην περίπτωση της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης και 3,2% ασθενείς/έτη στην περίπτωση της σπλαχνικής θρόμβωσης). Οι συχνότητες αυτές είναι ανάλογες με αυτές που είχαν παρατηρηθεί σε ασθενείς με MYN υπό VKA σε προγενέστερες μελέτες. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, τα DOACs θα μπορούσαν να αποτελούν δόκιμη εναλλακτική των VKA για τη θεραπεία της θρόμβωσης στα MYN, με την ανάγκη ωστόσο μεγαλύτερων προοπτικών μελετών που να κατοχυρώνουν την αποτελεσματικότητά τους σε αυτούς του ασθενείς.

- *Διαχείριση αντιθρομβωτικής αγωγής σε εγκυμοσύνη σε ασθενείς με MYN*

Η διαχείριση εγκύων γυναικών με MYN αποτελεί μία πρόκληση διότι τόσο η κύηση όσο και το μυελοϋπερπλαστικό νόσημα αυξάνουν τον κίνδυνο θρόμβωσης, αιμορραγίας και μαιευτικών επιπλοκών. Στην περίπτωση απουσίας επίκτητου συνδρόμου von Willebrand ή δυσλειτουργίας των αιμοπεταλίων, η αντιθρομβωτική προφύλαξη με ασπιρίνη ή/και ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (HXMB) κατά τη διάρκεια της κύησης και της λοχείας μπορεί να υιοθετηθεί σε συνδυασμό με κυτταρομείωση με ιντερφερόνη (ασφαλής για το έμβρυο) <sup>(177)</sup>.

Δεν υπάρχει τυχαιοποιημένη μελέτη για την αντιθρομβωτική και κυτταρομειωτική αγωγή σε εγκύους με MYN. Τα περισσότερα δεδομένα προέρχονται από περιπτώσεις και μικρές σειρές ασθενών. Μια προοπτική μελέτη παρατήρησης είναι διαθέσιμη σε εγκύους με MYN, όπου η συχνότητα επιπλοκών ήταν μικρότερη σε σχέση με αυτή που καταγραφόταν παλαιότερα. Αναδείχθηκε επιτυχής κύηση σε 96% των περιπτώσεων (έναντι 60-80%), αποβολές στο 1,7% (έναντι 22-40%), χωρίς καμία αναφορά θρόμβωσης κατά την κύηση ή τη λοχεία. Σε μια μετα-ανάλυση ο κίνδυνος σχετιζόμενης με την κύηση θρόμβωσης ήταν 1,3% και 2,5% (με ή χωρίς HXMB αντίστοιχα) πριν τον τοκετό και κατά τη λοχεία 1,8% και 4,4% (με ή χωρίς HXMB αντίστοιχα) <sup>(195)</sup>. Ο θρομβωτικός κίνδυνος φαίνεται να είναι υψηλότερος σε γυναίκες με PV έναντι ET <sup>(195)</sup>. Ο κίνδυνος αιμορραγίας (κυρίως μετά τον τοκετό) ποικίλει μεταξύ 3-12,5% <sup>(177)</sup>. Ένας αριθμός αιμοπεταλίων  $>1000 \times 10^9/l$ , προηγούμενη θρόμβωση, αιμορραγία ή μαιευτικές επιπλοκές φαίνεται να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο μαιευτικών επιπλοκών. Οι γυναίκες με έναν τουλάχιστον από τους ανωτέρω παράγοντες κινδύνου πιθανά χρήζουν πιο «επιθετικής» αντιπηκτικής προφύλαξης <sup>(177)</sup>.

#### 4. Μελλοντικές θεραπείες για πρόληψη και θεραπεία της θρόμβωσης σε MYN

Η πρόκληση θρόμβωσης στα MYN ενέχει πολλαπλούς κυτταρικούς μηχανισμούς, συμπεριλαμβανομένων της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων καθώς και το σχηματισμό NETs. Σε αυτό το πλαίσιο υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον στην διερεύνηση αντιθρομβωτικών θεραπειών που στοχεύουν τις ανωτέρω παθοφυσιολογικές διαδικασίες. Έτσι, η αποσυμπυκνωμένη χρωματίνη των NETs είναι ευαίσθητη στη δράση της **DNAσης I**, την κυρίαρχη νουκλεάση στο πλάσμα. Σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο η DNAση I επιτάχυνε *ex vivo* την μεσολαβούμενη από τον tPA θρομβόλυση των στεφανιαίων θρόμβων <sup>(100)</sup>.

Η πρόληψη του σχηματισμού NETs θα μπορούσε να είναι μια άλλη θεραπευτική προσέγγιση. Οι Wolach και συνεργάτες έδειξαν σε μυϊκό μοντέλο ότι η επαγόμενη από JAK2V617F NETωση και θρόμβωση εξαρτώνται από το ένζυμο PAD4 (peptidyl arginine deaminase 4), που βρέθηκε να υπερεκφράζεται σε ουδετερόφιλα ασθενών με PV που φέρουν τη μετάλλαξη JAK2V617F <sup>(110)</sup>. Με βάση το γεγονός αυτό, **αναστολείς PAD4** έχουν αναπτυχθεί και βρίσκονται σε αξιολόγηση. Μάλιστα, ένας καινούργιος PAD4 αναστολέας, ο BMS-P5 αναστέλλει *in vitro* τον επαγόμενο από κύτταρα πολλαπλού μυελώματος σχηματισμό NETs και *in vivo* σε μυϊκό μοντέλο πολλαπλού μυελώματος καθυστερεί την πρόοδο της νόσου <sup>(196)</sup>.

Η **N-ακετυλοκυστεΐνη (NAC)** είναι ένας παράγοντας με αντιοξειδωτική και βλεννολυτική δράση. Δρα αυξάνοντας το επίπεδο της γλουταθειόνης, δεσμεύοντας ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και μειώνοντας τους δισουλφιδικούς δεσμούς. Χρησιμοποιείται στην υπερδοσολογία παρακεταμόλης και ως βλεννολυτικό στην κυστική ίνωση και νοσήματα του αναπνευστικού. Επιπλέον σε ένα ζωϊκό μοντέλο φλεβικής θρόμβωσης σε JAK2 θετικά ποντίκια, η NAC μείωσε τη δημιουργία του θρόμβου και τον επαγόμενο από τη θρομβίνη σχηματισμό συσσωματωμάτων αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων. *Ex vivo*, η NAC μείωσε τη δημιουργία NET σε διεγερμένα ουδετερόφιλα από ασθενείς με MYN <sup>(197)</sup>, υποδηλώνοντας πιθανή αντιθρομβωτική δράση σε αυτούς τους ασθενείς.

Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο, έχει φανεί ότι τα ουδετερόφιλα που εκφράζουν JAK2V617F έχουν αυξημένη ενεργοποίηση  $\beta 1$  και  $\beta 2$  ιντεγκρινών με αποτέλεσμα την αυξημένη προσκόλληση στα VCAM και ICAM1 στο αγγειακό ενδοθήλιο και την ενίσχυση του σχηματισμού θρόμβου.

Επομένως, **αντισώματα που στοχεύουν τις β1 και β2 ιντεγκρίνες** μειώνουν την προσκόλληση των ουδετεροφίλων στο αγγειακό τοίχωμα έχοντας ως αποτέλεσμα τον μειωμένο σχηματισμό θρόμβου <sup>(106)</sup>. Παρομοίως σε μία μελέτη από τους Yago και συνεργάτες, η θεραπεία με αντίσωμα αντι-β2 ιντεγκρίνης κατέστειλε το σχηματισμό θρόμβου σε ένα μοντέλο θρόμβωσης κάτω κοίλης φλέβας σε ποντίκια <sup>(198)</sup>. Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε θρόμβωση σε JAK2V617F θετικά ποντίκια <sup>(110)</sup> που έλαβαν αγωγή με αντίσωμα αντι-β2 ιντεγκρίνης και με αναστολέα του VLA-4 των ουδετεροφίλων.

Επιπλέον, στόχος για τη μείωση του κινδύνου θρόμβωσης στα MYN θα μπορούσε να είναι και το **CD18** λόγω της υπέρμετρης ενεργοποίησης του LFA-1 (CD11a/CD18) στα MYN<sup>(110)</sup>. Μια απόδειξη της αντίληψης ότι η στόχευση των ιντεγκρινών θα μπορούσε να είναι αποτελεσματική και ασφαλής θεραπεία της θρόμβωσης παρέχεται από τους ανταγωνιστές αIIbβ3 ιντεγκρίνης. Υπάρχουν τρεις τέτοιοι παράγοντες, δύο μικρά μόρια και ένα τμήμα αντισώματος που στοχεύει το συγκεκριμένο αντιγόνο, οι οποίοι έχουν εγκριθεί ως φάρμακα που στοχεύουν ιντεγκρίνες για οξύ στεφανιαίο σύνδρομο και για θρομβωτικά καρδιαγγειακά επεισόδια <sup>(199,200)</sup>.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα κλασσικά BCR/ABL αρνητικά μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα (MYN) περιλαμβάνουν την αληθή πολυκυτταραιμία (PV), την ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση (ET) και την μυελοϊνώση (MF). Η ανακάλυψη των οδηγών σωματικών μεταλλάξεων (πρωταρχικώς του JAK2V617F) και επιπρόσθετων κλωνικών μεταλλάξεων που συνδράμουν στην παθογένεση των μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων, έχει σηματοδοτήσει μια νέα εποχή στην κατανόηση της βιολογίας αυτών των νοσημάτων και στην κλινική πρακτική. Επιπλέον, οι νέες εξελίξεις στη γνώση της μοριακής παθογένεσης έχουν συμβάλλει και στην καλύτερη κατανόηση της παθογένεσης της σχετιζόμενης με MYN αρτηριακής και φλεβικής θρόμβωσης. Νέα δεδομένα είναι διαθέσιμα σχετικά με την πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων του αίματος, του ενδοθηλίου και του συστήματος πήξης η οποία οδηγεί στη θρόμβωση.

Πιο συγκεκριμένα, ο αυξημένος αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων, λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων σε συνδυασμό με τις κλωνικές ποιοτικές διαταραχές τους ευνοούν ένα προθρομβωτικό φαινότυπο στα MYN. Η υπεργλοιότητα που οφείλεται στην αυξημένη ερυθροκυτταρική μάζα έχει σημαντικό ρόλο στη θρομβωτική προδιάθεση στην PV, ενώ παράλληλα τα ερυθρά αιμοσφαίρια εκδηλώνουν αυξημένη προσκόλληση στη λαμινίνη του ενδοθηλίου. Επιπλέον, ο υψηλός αιματοκρίτης ευνοεί την απόθεση των αιμοπεταλίων και τη συγκέντρωσή τους σε σημεία αγγειακής τοιχωματικής βλάβης. Ένα επιπλέον στοιχείο που συμβάλλει στην θρομβωτική τάση είναι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, το οποίο συχνά συμμετέχει στον κακοήθη κλώνο και αποτελεί μια προφλεγμονώδη επιφάνεια που ευνοεί την πρόσδεση λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων και την ενεργοποίησή τους. Πρόσφατα υπάρχουν αυξημένες ενδείξεις για τον σημαντικό ρόλο των λευκοκυττάρων στην υπερπηκτική κατάσταση και η λευκοκυττάρωση έχει αναδειχθεί σε ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα κινδύνου θρόμβωσης. Πέραν του αυξημένου αριθμού τους, τα λευκά αιμοσφαίρια στα MYN βρίσκονται σε μία ενεργοποιημένη κατάσταση *in vivo*, όπως υποδηλώνεται από την έκφραση του CD11b στην επιφάνειά τους και από τα αυξημένα επίπεδα ελαστάσης και μυελοϋπεροξειδάσης στην κυκλοφορία. Το ίδιο ισχύει και για τα μονοκύτταρα που παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση του δείκτη ενεργοποίησης CD25.

Πλέον έχει διαπιστωθεί ότι ο μυελοϋπερπλαστικός κλώνος καθώς και κύτταρα που δεν συμμετέχουν σε αυτόν επάγουν μια συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση στα MYN που αντικατοπτρίζεται στα αυξημένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως IL-6, IL-1, IL-8, TNFα. Η φλεγμονή και η θρόμβωση είναι στενά συνδεδεμένες διαδικασίες και η σύνδεση μεταξύ φυσικής ανοσίας και πήξης ως μηχανισμού άμυνας του οργανισμού έναντι παθογόνων έχει οδηγήσει στη θεωρία του μηχανισμού της ανοσοθρόμβωσης. Η απορρύθμιση αυτού του μηχανισμού έχει φανεί ότι οδηγεί σε αγγειακή δυσλειτουργία και συνεισφέρει στη θρόμβωση σε διάφορες καταστάσεις (στεφανιαία νόσος, αυτοάνοσα νοσήματα, αγγειϊτίδες κλπ). Η ανοσοθρόμβωση πυροδοτείται κυρίως από ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα που σχηματίζουν NETs, και από μονοκύτταρα και υποστηρίζεται από τη δημιουργία μικροθρόμβων σε μικρά αγγεία, μέσα στα οποία τα ενδοθηλιακά κύτταρα που εκτίθενται σε μικροοργανισμούς αποκτούν έναν προπηκτικό φαινότυπο. Όσον αφορά στα MYN, πολλαπλά δεδομένα υποστηρίζουν τη συμβολή της χρόνιας φλεγμονής στην προπηκτική διάθεση. Παρ'όλο που είναι λίγες σε αριθμό, πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι ο αυξημένος σχηματισμός NETs προάγει τη θρόμβωση στα MYN σε συνδυασμό με την ενεργοποίηση των ουδετεροφίλων, των μονοκυττάρων, των αιμοπεταλίων και των αλληλεπιδράσεων τόσο μεταξύ τους, όσο και με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Επομένως η συμβολή της ανοσοθρόμβωσης στην παθογένεση της θρόμβωσης στα MYN αποτελεί ένα ρεαλιστικό σενάριο που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Ωστόσο, παρά την πρόοδο στην κατανόηση της μοριακής βιολογίας των MYN και την ανάδειξη στοχευμένων θεραπειών με τους JAK αναστολείς, οι θρομβωτικές επιπλοκές συνεχίζουν να αποτελούν τις βασικές αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στους ασθενείς αυτούς, με συχνότητα θρόμβωσης 5 έως 10 φορές υψηλότερη αυτής του γενικού πληθυσμού. Επομένως, υπάρχει ανάγκη για διεξοδικότερη κατανόηση των μηχανισμών θρόμβωσης και της συμμετοχής της ανοσοθρόμβωσης στην παθογένεια της στους ασθενείς με MYN.

Αναπάντητα ερευνητικά και κλινικά ερωτήματα όσον αφορά στη θρόμβωση στα MYN, αποτελούν η συσχέτιση των NETs με το μηχανισμό θρόμβωσης και το κατά πόσο μπορούν να λειτουργήσουν ως βιοδείκτης ή/και θεραπευτικός στόχος, ο ακριβέστερος προσδιορισμός του παθογενετικού ρόλου του JAK2-μεταλλαγμένου ενδοθηλίου στη θρόμβωση, η αποσαφήνιση του οφέλους και κινδύνου από τη λήψη DOACs στα MYN, η βέλτιστη χρονική διάρκεια της

αντιπηκτικής αγωγής για προφύλαξη από υποτροπή της θρόμβωσης, η βελτίωση του προγνωστικού συστήματος κινδύνου θρόμβωσης, η βελτίωση του δοσολογικού σχήματος ασπιρίνης στην ET και τέλος η διαχείριση της αντιθρομβωτικής προφύλαξης κατά την κύηση στα MYN.

Τα ανωτέρω τονίζουν την ανάγκη για συστηματική μελέτη μεγάλου αριθμού ασθενών προκειμένου να περιγραφούν οι μοριακοί μηχανισμοί, να αναδειχθούν ακριβέστεροι βιοδείκτες που να προβλέπουν τον θρομβωτικό κίνδυνο και κατόπιν να υπάρξει η δυνατότητα ανάπτυξης στοχευμένων θεραπειών για πρόληψη και αντιμετώπιση της θρόμβωσης στα συγκεκριμένα νοσήματα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391-405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544. Epub 2016 Apr 11. PMID: 27069254.
- 2) E. Rumi, M. Cazzola, Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms, *Blood* 129 (6) (2017) 680–692.
- 3) E.J. Baxter, L.M. Scott, P.J. Campbell, C. East, N. Fourouclas, S. Swanton, et al., Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders, *Lancet* 365 (9464) (2005) 1054–1061.
- 4) C. James, V. Ugo, J.P. Le Couedic, J. Staerk, F. Delhommeau, C. Lacout, et al., A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera, *Nature* 434 (7037) (2005) 1144–1148
- 5) R. Kralovics, F. Passamonti, A.S. Buser, S.S. Teo, R. Tiedt, J.R. Passweg, et al., A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders, *N. Engl. J. Med.* 352 (17) (2005) 1779–1790
- 6) T. Klampfl, H. Gisslinger, A.S. Harutyunyan, H. Nivarthi, E. Rumi, J.D. Milosevic, et al., Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms, *N. Engl. J. Med.* 369 (25) (2013) 2379–2390
- 7) L.M. Scott, W. Tong, R.L. Levine, M.A. Scott, P.A. Beer, M.R. Stratton, et al., JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis, *N. Engl. J. Med.* 356 (5) (2007) 459–468
- 8) Y. Pikman, B.H. Lee, T. Mercher, E. McDowell, B.L. Ebert, M. Gozo, et al., MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia, *PLoS Med.* 3 (7) (2006), e270
- 9) M.F. McMullin, L.A. Anderson, Aetiology of myeloproliferative neoplasms, *Cancers (Basel)* 12 (7) (2020).
- 10) Zoi K, Cross NC. Genomics of Myeloproliferative Neoplasms. *J Clin Oncol*. 2017 Mar 20;35(9):947-954.
- 11) American Society of Hematology Self-Assessment Program 2022 By: Jessica K. Altman, MD, Molly Weidner Mandernach, MD, MPH, FACP, Rakhi P. Naik, MD, MHS, Matthew Ulrickson, MD, MS DOI: <https://doi.org/10.1182/ashsap8>
- 12) Emanuel RM, Dueck AC, Geyer HL, et al. Myeloproliferative neoplasm (MPN) symptom assessment form total symptom score: prospective

- 13) international assessment of an abbreviated symptom burden scoring system among patients with MPNs. *J Clin Oncol.*2012;30(33):4098-4103.
- 14) T. Rungjirajittranon, W. Owattanapanich, P. Ungprasert, N. Siritanaratkul, T. Ruchutrakool, A systematic review and meta-analysis of the prevalence of thrombosis and bleeding at diagnosis of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms, *BMC Cancer* 19 (1) (2019) 184
- 15) G. Finazzi, V. De Stefano, T. Barbui, Splanchnic vein thrombosis in myeloproliferative neoplasms: treatment algorithm, *Blood Cancer J.* 8 (7) (2018) 64.
- 16) J.H. Smalberg, L.R. Arends, D.C. Valla, J.J. Kiladjian, H.L. Janssen, F.W. Leebeek, Myeloproliferative neoplasms in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a meta-analysis, *Blood* 120 (25) (2012) 4921–4928.
- 17) M.A. Elliott, A. Tefferi, Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia, *Br. J. Haematol.* 128 (3) (2005) 275–290.
- 18) Falanga, A.; Marchetti, M. Thrombosis in Myeloproliferative Neoplasms. *Semin. Thromb. Hemost.* 2014, 40, 348–358.
- 19) Geyer HL, Mesa RA. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? *Blood.* 2014 Dec 4;124(24):3529-37.
- 20) Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi AM, Rodeghiero F, Randi ML, Vaidya R, Cazzola M, Rambaldi A, Gisslinger B, Pieri L, Ruggeri M, Bertozzi I, Sulai NH, Casetti I, Carobbio A, Jeryczynski G, Larson DR, Müllauer L, Pardanani A, Thiele J, Passamonti F, Barbui T. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia.* 2013 Sep;27(9):1874-81
- 21) Passamonti F, Thiele J, Girodon F, Rumi E, Carobbio A, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Ruggeri M, Randi ML, Gangat N, Vannucchi AM, Gianatti A, Gisslinger B, Müllauer L, Rodeghiero F, d'Amore ES, Bertozzi I, Hanson CA, Boveri E, Marino F, Maffioli M, Caramazza D, Antonioli E, Carrai V, Buxhofer-Ausch V, Pascutto C, Cazzola M, Barbui T, Tefferi A. 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 Research and Treatment. *Blood.* 2012 Aug 9;120(6):1197-201.
- 22) Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly JT, Morra E, Vannucchi AM, Mesa RA, Demory JL, Barosi G, Rumi E, Tefferi A. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood.* 2009 Mar 26;113(13):2895-901.

- 23) Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, et al. MIPSS70: Mutation-enhanced International Prognostic Score System for transplantation-age patients with primary myelofibrosis. *J Clin Oncol.* 2018;36(4):310-318. doi:10.1200/JCO.2017.76.4886
- 24) Gerds AT, Gotlib J, Ali H, Bose P, Dunbar A, Elshoury A, George TI, Gundabolu K, Hexner E, Hobbs GS, Jain T, Jamieson C, Kaesberg PR, Kuykendall AT, Madanat Y, McMahon B, Mohan SR, Nadiminti KV, Oh S, Pardanani A, Podoltsev N, Rein L, Salit R, Stein BL, Talpaz M, Vachhani P, Wadleigh M, Wall S, Ward DC, Bergman MA, Hochstetler C. Myeloproliferative Neoplasms, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022 Sep;20(9):1033-1062. doi: 10.6004/jnccn.2022.0046.
- 25) Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, Cacciola R, Cavazzina R, Cilloni D, De Stefano V, Elli E, Iurlo A, Latagliata R, Lunghi F, Lunghi M, Marfisi RM, Musto P, Masciulli A, Musolino C, Cascavilla N, Quarta G, Randi ML, Rapezzi D, Ruggeri M, Rumi E, Scortechini AR, Santini S, Scarano M, Siragusa S, Spadea A, Tieghi A, Angelucci E, Visani G, Vannucchi AM, Barbui T; CYTO-PV Collaborative Group. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med.* 2013 Jan 3;368(1):22-33.
- 26) Θεραπευτικά πρωτόκολλα Υπουργείου Υγείας, Επιστημονική ομάδα Αιματολογίας, Μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα, 2018.
- 27) Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020 Dec;95(12):1599-1613. doi: 10.1002/ajh.26008.
- 28) Kröger N, Giorgino T, Scott BL, Ditschkowski M, Alchalby H, Cervantes F, Vannucchi A, Cazzola M, Morra E, Zabelina T, Maffioli M, Pereira A, Beelen D, Deeg HJ, Passamonti F. Impact of allogeneic stem cell transplantation on survival of patients less than 65 years of age with primary myelofibrosis. *Blood.* 2015 May 21;125(21):3347-50; quiz 3364.
- 29) Harrison C, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Gisslinger H, Waltzman R, Stalbovskaya V, McQuitty M, Hunter DS, Levy R, Knoops L, Cervantes F, Vannucchi AM, Barbui T, Barosi G. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2012 Mar 1;366(9):787-98.
- 30) Harrison CN, Schaap N, Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Tiu RV, Zachee P, Jourdan E, Winton E, Silver RT, Schouten HC, Passamonti F, Zweegman S, Talpaz M, Lager J, Shun Z, Mesa RA. Janus kinase-2 inhibitor fedratinib in patients with myelofibrosis previously treated with ruxolitinib (JAKARTA-2): a single-arm, open-label, non-randomised,

- 31) phase 2, multicentre study. *Lancet Haematol.* 2017 Jul;4(7):e317-e324. doi: 10.1016/S2352-3026(17)30088-1
- 32) Crisà E, Cilloni D, Elli EM, Martinelli V, Palumbo GA, Pugliese N, Beggiato E, Frairia C, Cerrano M, Lanzarone G, Marchetti M, Mezzabotta M, Boccadoro M, Ferrero D. The use of erythropoiesis-stimulating agents is safe and effective in the management of anaemia in myelofibrosis patients treated with ruxolitinib. *Br J Haematol.* 2018 Sep;182(5):701-704.
- 33) Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Domingo A, Arellano-Rodrigo E, Montserrat E. Efficacy and tolerability of danazol as a treatment for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: long-term results in 30 patients. *Br J Haematol.* 2005 Jun;129(6):771-5
- 34) Francisco Cervantes; How I treat myelofibrosis. *Blood* 2014; 124 (17): 2635–2642
- 35) Abgrall JF, Guibaud I, Bastie JN, Flesch M, Rossi JF, Lacotte-Thierry L, Boyer F, Casassus P, Slama B, Berthou C, Rodon P, Leporrier M, Villemagne B, Himberlin C, Ghomari K, Larosa F, Rollot F, Dugay J, Allard C, Maigre M, Isnard F, Zerbib R, Cauvin JM; Groupe Ouest-Est Leucémies et Maladies du Sang (GOELAMS). Thalidomide versus placebo in myeloid metaplasia with myelofibrosis: a prospective, randomized, double-blind, multicenter study. *Haematologica.* 2006 Aug;91(8):1027-32.
- 36) Oh ST, Talpaz M, Gerds AT, Gupta V, Verstovsek S, Mesa R, Miller CB, Rivera CE, Fleischman AG, Goel S, Heaney ML, O'Connell C, Arcasoy MO, Zhang Y, Kawashima J, Ganz T, Kowalski M, Brachmann CB. ACVR1/JAK1/JAK2 inhibitor momelotinib reverses transfusion dependency and suppresses hepcidin in myelofibrosis phase 2 trial. *Blood Adv.* 2020 Sep 22;4(18):4282-4291.
- 37) Αιμορραγία και θρόμβωση, Παθογένεια-Κλινική εικόνα- Αντιμετώπιση, Έκδοση του Ιδρύματος της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρείας, 2021 Εκδόσεις Ροτόντα
- 38) De Caterina R, Husted S, Wallentin L, Andreotti F, Arnesen H, Bachmann F, Baigent C, Huber K, Jespersen J, Kristensen SD, Lip GY, Morais J, Rasmussen LH, Siegbahn A, Verheugt FW, Weitz JJ; European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis Task Force on Anticoagulants in Heart Disease. General mechanisms of coagulation and targets of anticoagulants (Section I). Position Paper of the ESC Working Group on Thrombosis--Task Force on Anticoagulants in Heart Disease. *Thromb Haemost.* 2013 Apr;109(4):569-79.
- 39) Monkovic DD, Tracy PB. Activation of human factor V by factor Xa and thrombin. *Biochemistry* 1990; 29: 1118-28.

- 40) Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR. Transmission of a procoagulant signal from tissue factor-bearing cells to platelets. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996; 7: 459-64.
- 41) Oliver J, Monroe D, Roberts H, et al. Thrombin activates factor XI on activated platelets in the absence of factor XII. *Arterioscler Thromb Vascular Biol* 1999; 19: 170-7.
- 42) Morrissey JH, Smith SA. Polyphosphate as modulator of hemostasis, thrombosis, and inflammation. *J Thromb Haemost.* 2015 Jun;13 Suppl 1(01):S92-7.
- 43) Thålin C, Hisada Y, Lundström S, Mackman N, Wallén H. Neutrophil Extracellular Traps: Villains and Targets in Arterial, Venous, and Cancer-Associated Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019 Sep;39(9):1724-1738
- 44) Aharon A, Brenner B. Microvesicles in Thrombosis and Inflammation. *Isr Med Assoc J.* 2016;18(9):530-533.
- 45) Versteeg HH, Heemskerk JW, Levi M, Reitsma PH. New fundamentals in hemostasis. *Physiol Rev.* 2013 Jan;93(1):327-58.
- 46) Ejiofor JA. Anticlotting mechanisms I: Physiology and pathology. *Contin Educ Anesth Crit Care Pain.* 2013; 13:87–92.
- 47) Engelmann, B. & Massberg, S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **13**, 34–45 (2013).
- 48) Hickey, M. J. & Kubes, P. Intravascular immunity: the host–pathogen encounter in blood vessels. *Nat. Rev. Immunol.* **9**, 364–375 (2009).
- 49) Bonaventura, A., Vecchié, A., Dagna, L. *et al.* Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nat Rev Immunol* **21**, 319–329 (2021).
- 50) Finazzi G; low-dose aspirin in polycythemia (ECLAP). A prospective analysis of thrombotic events in the European collaboration study on low-dose aspirin in polycythemia (ECLAP). *Pathol Biol (Paris).* 2004 Jun;52(5):285-8.
- 51) Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, Kutti J, Gisslinger H, Patrono C, Marilus R, Villegas A, Tognoni G, Barbui T. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol.* 2005 Apr 1;23(10):2224-32.
- 52) Hulcrantz M, Björkholm M, Dickman PW, Landgren O, Derolf ÅR, Kristinsson SY, Andersson TML. Risk for Arterial and Venous Thrombosis in Patients With Myeloproliferative Neoplasms: A Population-Based Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2018 Mar 6;168(5):317-325.
- 53) Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, Vannucchi AM, Antonioli E, Gisslinger H,

- 54) Buxhofer-Ausch V, Finazzi G, Gangat N, Tefferi A, Barbui T. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood*. 2011 Jun 2;117(22):5857-9.
- 55) Finazzi, G., De Stefano, V. & Barbui, T. Splanchnic vein thrombosis in myeloproliferative neoplasms: treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal* 8, 64 (2018).
- 56) Liu A, Naymagon L, Tremblay D. Splanchnic Vein Thrombosis in Myeloproliferative Neoplasms: Treatment Considerations and Unmet Needs. *Cancers (Basel)*. 2022 Dec 20;15(1):11
- 57) Cerquozzi, S., Barraco, D., Lasho, T. *et al*. Risk factors for arterial versus venous thrombosis in polycythemia vera: a single center experience in 587 patients. *Blood Cancer Journal* 7, 662 (2017).
- 58) Campbell PJ, MacLean C, Beer PA, Buck G, Wheatley K, Kiladjan JJ, Forsyth C, Harrison CN, Green AR. Correlation of blood counts with vascular complications in essential thrombocythemia: analysis of the prospective PT1 cohort. *Blood*. 2012 Aug 16;120(7):1409-11.
- 59) Alessandra Carobbio, Guido Finazzi, Elisabetta Antonioli, Paola Guglielmelli, Alessandro M. Vannucchi, Federica Delaini, Vittoria Guerini, Marco Ruggeri, Francesco Rodeghiero, Alessandro Rambaldi, Tiziano Barbui; Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood* 2008; 112 (8): 3135–3137.
- 60) Parasuraman S, Yu J, Paranagama D, Shrestha S, Wang L, Baser O, Scherber R. Elevated White Blood Cell Levels and Thrombotic Events in Patients With Polycythemia Vera: A Real-World Analysis of Veterans Health Administration Data. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2020 Feb;20(2):63-69.
- 61) Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, De Stefano V, Finazzi G, Marfisi R, Tognoni G, Marchioli R; European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP). Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood*. 2007 Mar 15;109(6):2446-52.
- 62) Buxhofer-Ausch V, Steurer M, Sormann S, Schloegl E, Schimetta W, Gisslinger B, Schalling M, Krauth MT, Thiele J, Ruckser R, Gastl G, Gisslinger H. Impact of white blood cells on thrombotic risk in patients with optimized platelet count in essential thrombocythemia. *Eur J Haematol*. 2018 Mar 30.
- 63) Carobbio A, Ferrari A, Masciulli A, Ghirardi A, Barosi G, Barbui T. Leukocytosis and thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: a systematic review and meta-analysis. *Blood Adv*. 2019 Jun 11;3(11):1729-1737.

- 64) Ronner L, Podoltsev N, Gotlib J, Heaney ML, Kuykendall AT, O'Connell C, Shammo J, Fleischman AG, Scherber RM, Mesa R, Yacoub A, Perkins C, Meckstroth S, Behlman L, Chiaramonte M, Salehi M, Ziadkhanpour K, Nguyen H, Siwoski O, Hung AK, Janania Martinez M, Nguyen J, Patel S, Kollipara R, Dave A, Randall M, Grant M, Harrison M, Fernandez Soto P, Tremblay D, Hoffman R, Moshier E, Mascarenhas J. Persistent leukocytosis in polycythemia vera is associated with disease evolution but not thrombosis. *Blood*. 2020 May 7;135(19):1696-1703.
- 65) Rumi E, Pietra D, Ferretti V, Klampfl T, Harutyunyan AS, Milosevic JD, Them NC, Berg T, Elena C, Casetti IC, Milanese C, Sant'antonio E, Bellini M, Fugazza E, Renna MC, Boveri E, Astori C, Pascutto C, Kralovics R, Cazzola M; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. *Blood*. 2014 Mar 6;123(10):1544-51.
- 66) Rumi E, Pietra D, Pascutto C, Guglielmelli P, Martínez-Trillos A, Casetti I, Colomer D, Pieri L, Pratcorona M, Rotunno G, Sant'Antonio E, Bellini M, Cavalloni C, Mannarelli C, Milanese C, Boveri E, Ferretti V, Astori C, Rosti V, Cervantes F, Barosi G, Vannucchi AM, Cazzola M; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood*. 2014 Aug 14;124(7):1062-9.
- 67) Zhang Y, Han Y, Teng G, et al. Incidence and risk factors for second malignancies among patients with myeloproliferative neoplasms. *Cancer Med*. 2023;12:9236-9246.
- 68) Palandri F, Latagliata R, Polverelli N, Tieghi A, Crugnola M, Martino B, Perricone M, Breccia M, Ottaviani E, Testoni N, Merli F, Aversa F, Alimena G, Cavo M, Martinelli G, Catani L, Baccarani M, Vianelli N. Mutations and long-term outcome of 217 young patients with essential thrombocythemia or early primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2015 Jun;29(6):1344-9.
- 69) Alvarez-Larrán A, Bellosillo B, Pereira A, Kerguelen A, Hernández-Boluda JC, Martínez-Avilés L, Fernández-Rodríguez C, Gómez M, Lombardía L, Angona A, Ancochea A, Senín A, Longarón R, Navarro B, Collado M, Besses C. JAK2V617F monitoring in polycythemia vera and essential thrombocythemia: clinical usefulness for predicting myelofibrotic transformation and thrombotic events. *Am J Hematol*. 2014 May;89(5):517-23.

- 70) Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P, Pacilli A, Pancrazzi A, Pieri L, Fanelli T, Bosi A, Vannucchi AM; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in essential thrombocythemia. *Blood*. 2014 Mar 6;123(10):1552-5.
- 71) Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, Gisslinger H, Buxhofer-Ausch V, De Stefano V, Betti S, Rambaldi A, Vannucchi AM, Tefferi A. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood*. 2012 Dec 20;120(26):5128-33; quiz 5252.
- 72) Kelliher, Sarah, Falanga, Anna. Thrombosis in myeloproliferative neoplasms: A clinical and pathophysiological perspective. *Thrombosis Update*. Vol.5. 2021; 100081
- 73) Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood*. 2013 Sep 26;122(13):2176-84.
- 74) Wautier MP, El Nemer W, Gane P, Rain JD, Cartron JP, Colin Y, Le Van Kim C, Wautier JL. Increased adhesion to endothelial cells of erythrocytes from patients with polycythemia vera is mediated by laminin alpha5 chain and Lu/BCAM. *Blood*. 2007 Aug 1;110(3):894-901.
- 75) Walton BL, Lehmann M, Skorzewski T, Holle LA, Beckman JD, Cribb JA, et al. Elevated hematocrit enhances platelet accumulation following vascular injury. *Blood*. (2017) 129:2537–46. doi: 10.1182/blood-2016-10-746479
- 76) Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, Vignoli A, Licini M, Balicco M, Manarini S, Finazzi G, Cerletti C, Barbui T. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood*. 2000 Dec 15;96(13):4261-6.
- 77) Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A, Reverter JC, Villamor N, Colomer D, Cervantes F. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica*. (2006) 91:169–75.
- 78) Goette NP, Lev PR, Heller PG, Kornblihtt LI, Korin L, Molinas FC, Marta RF. Monocyte IL-2Ralpha expression is associated with thrombosis and the JAK2V617F mutation in myeloproliferative neoplasms. *Cytokine*. 2010 Jul;51(1):67-72.
- 79) Tefferi A, Vaidya R, Caramazza D, Finke C, Lasho T, Pardanani A. Circulating interleukin (IL)-8, IL-2R, IL-12, and IL-15 levels are

- independently prognostic in primary myelofibrosis: a comprehensive cytokine profiling study. *J Clin Oncol*. 2011 Apr 1;29(10):1356-63.
- 80) Barbui T, Carobbio A, Finazzi G, Vannucchi AM, Barosi G, Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Salmoiraghi S, Zilio P, Ottomano C, Marchioli R, Cuccovillo I, Bottazzi B, Mantovani A, Rambaldi A; AGIMM and IIC Investigators. Inflammation and thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: different role of C-reactive protein and pentraxin 3. *Haematologica*. 2011 Feb;96(2):315-8.
  - 81) Guy, A., Poisson, J. & James, C. Pathogenesis of cardiovascular events in BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* **35**, 935–955 (2021).
  - 82) Massberg, S. et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat. Med.* **16**, 887–896 (2010).
  - 83) Cao, Y. et al. Ruxolitinib in treatment of severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): a multicenter, single-blind, randomized controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.* **146**, 137–146.e3 (2020).
  - 84) Kolaczkowska, E., Kubes, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* **13**, 159–175 (2013).
  - 85) Papayannopoulos, V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol* **18**, 134–147 (2018).
  - 86) Li P, Li M, Lindberg MR, Kennett MJ, Xiong N, Wang Y. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2010 Aug 30;207(9):1853-62.
  - 87) Leshner M, Wang S, Lewis C, Zheng H, Chen XA, Santy L, Wang Y. PAD4 mediated histone hypercitrullination induces heterochromatin decondensation and chromatin unfolding to form neutrophil extracellular trap-like structures. *Front Immunol*. 2012 Oct 4;3:307.
  - 88) Jorch SK, Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med*. 2017 Mar 7;23(3):279-287.
  - 89) Desai J, Mulay SR, Nakazawa D, Anders HJ. Matters of life and death. How neutrophils die or survive along NET release and is "NETosis" = necroptosis? *Cell Mol Life Sci*. 2016 Jun;73(11-12):2211-9.
  - 90) Stoiber W, Obermayer A, Steinbacher P, Krautgartner WD. The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Formation of Extracellular Traps (ETs) in Humans. *Biomolecules*. 2015 May 4;5(2):702-23.
  - 91) Zawrotniak M, Rapala-Kozik M. Neutrophil extracellular traps (NETs) - formation and implications. *Acta Biochim Pol*. 2013;60(3):277-84.
  - 92) Jackson, S. P., Darbousset, R. & Schoenwaelder, S. M. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood* **133**, 906–918 (2019).

- 93) Fuchs, T. A. et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **107**, 15880–15885 (2010).
- 94) Ammollo, C. T., Semeraro, F., Xu, J., Esmon, N. L. & Esmon, C. T. Extracellular histones increase plasma thrombin generation by impairing thrombomodulin-dependent protein C activation. *J. Thromb. Haemost.* **9**, 1795–1803 (2011).
- 95) von Bruhl, M. L. et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J. Exp. Med.* **209**, 819–835 (2012).
- 96) Kambas, K. et al. Autophagy mediates the delivery of thrombogenic tissue factor to neutrophil extracellular traps in human sepsis. *PLoS ONE* **7**, e45427 (2012).
- 97) Bonaventura, A. et al. The pathophysiological role of neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases. *Thromb. Haemost.* **118**, 6–27 (2018).
- 98) Martinod, K. & Wagner, D. D. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood* **123**, 2768–2776 (2014).
- 99) Nicolai, L., Gaertner, F. & Massberg, S. Platelets in host defense: experimental and clinical insights. *Trends Immunol.* **40**, 922–938 (2019).
- 100) Ma, A. C. & Kubes, P. Platelets, neutrophils, and neutrophil extracellular traps (NETs) in sepsis. *J. Thromb. Haemost.* **6**, 415–420 (2008).
- 101) Guo, L. & Rondina, M. T. The era of thromboinflammation: platelets are dynamic sensors and effector cells during infectious diseases. *Front. Immunol.* **10**, 2204 (2019).
- 102) Reinhardt, C. et al. Protein disulfide isomerase acts as an injury response signal that enhances fibrin generation via tissue factor activation. *J. Clin. Invest.* **118**, 1110–1122 (2008).
- 103) Ferrer-Marín, F.; Cuenca-Zamora, E.J.; Guijarro-Carrillo, P.J.; Teruel-Montoya, R. Emerging Role of Neutrophils in the Thrombosis of Chronic Myeloproliferative Neoplasms. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22, 1143.
- 104) Marin Oyarzún CP, Heller PG. Platelets as Mediators of Thromboinflammation in Chronic Myeloproliferative Neoplasms. *Front Immunol.* 2019 Jun 14;10:1373.
- 105) Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Barbui T. Leukocyte-platelet interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol.* 2005 May;33(5):523-30.
- 106) Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Russo L, Guerini V, Barbui T. V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. *Exp Hematol.* 2007 May;35(5):702-11.

- 107) Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, Vignoli A, Licini M, Balicco M, Manarini S, Finazzi G, Cerletti C, Barbui T. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood*. 2000 Dec 15;96(13):4261-6.
- 108) Goette NP, Lev PR, Heller PG, Kornblihtt LI, Korin L, Molinas FC, Marta RF. Monocyte IL-2R $\alpha$  expression is associated with thrombosis and the JAK2V617F mutation in myeloproliferative neoplasms. *Cytokine*. 2010 Jul;51(1):67-72
- 109) Edelmann B, Gupta N, Schnoeder TM, Oelschlegel AM, Shahzad K, Goldschmidt J, Philipsen L, Weinert S, Ghosh A, Saalfeld FC, Nimmagadda SC, Müller P, Braun-Dullaeus R, Mohr J, Wolleschak D, Kliche S, Amthauer H, Heidel FH, Schraven B, Isermann B, Müller AJ, Fischer T. JAK2-V617F promotes venous thrombosis through  $\beta 1/\beta 2$  integrin activation. *J Clin Invest*. 2018 Oct 1;128(10):4359-4371.
- 110) Alvarez-Larrán A, Arellano-Rodrigo E, Reverter JC, Domingo A, Villamor N, Colomer D, Cervantes F. Increased platelet, leukocyte, and coagulation activation in primary myelofibrosis. *Ann Hematol*. 2008 Apr;87(4):269-76.
- 111) Bhuria, V.; Baldauf, C.K.; Schraven, B.; Fischer, T. Thromboinflammation in Myeloproliferative Neoplasms (MPN)—A Puzzle Still to Be Solved. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 3206.
- 112) Mauracher LM, Posch F, Martinod K, Grilz E, Däullary T, Hell L, Brostjan C, Zielinski C, Ay C, Wagner DD, Pabinger I, Thaler J. Citrullinated histone H3, a biomarker of neutrophil extracellular trap formation, predicts the risk of venous thromboembolism in cancer patients. *J Thromb Haemost*. 2018 Mar;16(3):508-518.
- 113) Wolach O, Sellar RS, Martinod K, Cherpokova D, McConkey M, Chappell RJ, Silver AJ, Adams D, Castellano CA, Schneider RK, Padera RF, DeAngelo DJ, Wadleigh M, Steensma DP, Galinsky I, Stone RM, Genovese G, McCarroll SA, Iliadou B, Hultman C, Neuberg D, Mullally A, Wagner DD, Ebert BL. Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Sci Transl Med*. 2018 Apr 11;10(436):eaan8292.
- 114) Marin Oyarzún CP, Carestia A, Lev PR, Glembotsky AC, Castro Ríos MA, Moiraghi B, Molinas FC, Marta RF, Schattner M, Heller PG. Neutrophil extracellular trap formation and circulating nucleosomes in patients with chronic myeloproliferative neoplasms. *Sci Rep*. 2016 Dec 13;6:38738.
- 115) Guy A, Favre S, Labrousse-Colomer S, Deloison L, Gourdou-Latyszenok V, Renault MA, Riviere E, James C. High circulating levels of MPO-

DNA are associated with thrombosis in patients with MPN. *Leukemia*. 2019 Oct;33(10):2544-2548.

- 116) Kasprzycka, W.; Homa-Mlak, I.; Mlak, R.; Małecka-Massalska, T. Direct and indirect methods of evaluating the NETosis process. *J. Pre-Clin. Clin. Res.* 2019, 13, 50–56.
- 117) Wolff, L.; Guy, A.; Gourdou-Latyszenokv, V.; Favre, S.; Colomer, S.; Renault, M.A.; Couffinhal, T.; James, C. Neutrophils prothrombotic characteristics during myeloproliferative neoplasms. *Arch. Cardiovasc. Dis. Suppl.* 2020, 12, 205.
- 118) Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Barbui T. Leukocyte-platelet interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol.* 2005 May;33(5):523-30.
- 119) Lisman, T. Platelet–neutrophil interactions as drivers of inflammatory and thrombotic disease. *Cell Tissue Res.* 2018, 371, 567–576.
- 120) Celi A, Pellegrini G, Lorenzet R, De Blasi A, Ready N, Furie BC, et al. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* (1994) 91:8767–71.
- 121) Weyrich AS, Elstad MR, McEver RP, McIntyre TM, Moore KL, Morrissey JH, et al. Activated platelets signal chemokine synthesis by human monocytes. *J Clin Invest.* (1996) 97:1525–34
- 122) Fisher DAC, Miner CA, Engle EK, Hu H, Collins TB, Zhou A, et al. Cytokine production in myelofibrosis exhibits differential responsiveness to JAK-STAT, MAP kinase, and NFκB signaling. *Leukemia.* (2019).
- 123) Laguna MS, Kornblihtt LI, Marta RF, Molinas FC. Thromboxane B2 and platelet derived growth factor in essential thrombocythemia treated with anagrelide. *Medicina.* (2000) 60:448–52.
- 124) Lev PR, Marta RF, Vassallu P, Molinas FC. Variation of PDGF, TGFβ, and bFGF levels in essential thrombocythemia patients treated with anagrelide. *Am J Hematol.* (2002) 70:85–91.
- 125) van Genderen PJ, Lucas IS, van Strik R, Vuzevski VD, Prins FJ, van Vliet HH, et al. Erythromelalgia in essential thrombocythemia is characterized by platelet activation and endothelial cell damage but not by thrombin generation. *Thromb Haemost.* (1996) 76:333–8.
- 126) H.C. Hasselbalch, M. Elvers, A.I. Schafer, The pathobiology of thrombosis, microvascular disease, and hemorrhage in the myeloproliferative neoplasms, *Blood* 137 (16) (2021) 2152–2160.
- 127) Hobbs CM, Manning H, Bennett C, Vasquez L, Severin S, Brain L, Mazharian A, Guerrero JA, Li J, Soranzo N, Green AR, Watson SP, Ghevaert C. JAK2V617F leads to intrinsic changes in platelet formation and reactivity in a knock-in mouse model of essential thrombocythemia. *Blood.* 2013 Nov 28;122(23):3787-97.
- 128) Harrison P, Robinson MS, Mackie IJ, Machin SJ. Reticulated platelets. *Platelets.* 1997;8(6): 379-383.

- 129) Panova-Noeva M, Marchetti M, Buoro S, et al. JAK2V617F mutation and hydroxyurea treatment as determinants of immature platelet parameters in essential thrombocythemia and polycythemia vera patients. *Blood*. 2011;118(9):2599-2601.
- 130) Lussana F, Femia EA, Pugliano M, Podda G, Razzari C, Maugeri N, et al. Evaluation of platelet function in essential thrombocythemia under different analytical conditions. *Platelets*. (2019) 1–8.
- 131) Marín Oyarzún CP, Glembofsky AC, Goette NP, Lev PR, De Luca G, Baroni Pietto MC, Moiraghi B, Castro Ríos MA, Vicente A, Marta RF, Schattner M, Heller PG. Platelet Toll-Like Receptors Mediate Thromboinflammatory Responses in Patients With Essential Thrombocythemia. *Front Immunol*. 2020 Apr 30;11:705.
- 132) Torres, C.; Fonseca, A.M.; Leander, M.; Matos, R.; Morais, S.; Campos, M.; Lima, M. Circulating Endothelial Cells in Patients with Venous Thromboembolism and Myeloproliferative Neoplasms. *PLoS ONE* 2013, 8, e81574
- 133) Treliński, J.; Wierzbowska, A.; Krawczyńska, A.; Sakowicz, A.; Pietrucha, T.; Smolewski, P.; Robak, T.; Chojnowski, K. Circulating Endothelial Cells in Essential Thrombocythemia and Polycythemia Vera: Correlation with JAK2-V617F Mutational Status, Angiogenic Factors and Coagulation Activation Markers. *Int. J. Hematol*. 2010, 91, 792–798.
- 134) Rosti V, Villani L, Riboni R, Poletto V, Bonetti E, Tozzi L, et al. Spleen endothelial cells from patients with myelofibrosis harbor the JAK2V617F mutation. *Blood*. (2013) 121:360–8.
- 135) Sozer S, Fiel MI, Schiano T, Xu M, Mascarenhas J, Hoffman R. The presence of JAK2V617F mutation in the liver endothelial cells of patients with Budd-Chiari syndrome. *Blood*. (2009) 113:5246–9.
- 136) Trappenburg MC, van Schilfgaarde M, Marchetti M, Spronk HM, ten Cate H, Leyte A, Terpstra WE, Falanga A. Elevated procoagulant microparticles expressing endothelial and platelet markers in essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2009 Jul;94(7):911-8
- 137) Zhang W, Qi J, Zhao S, Shen W, Dai L, Han W, Huang M, Wang Z, Ruan C, Wu D, Han Y. Clinical significance of circulating microparticles in Ph<sup>+</sup> myeloproliferative neoplasms. *Oncol Lett*. 2017 Aug;14(2):2531-2536
- 138) Charpentier, A.; Lebreton, A.; Rauch, A.; Bauters, A.; Trillot, N.; Nibourel, O.; Tintillier, V.; Wemeau, M.; Demory, J.-L.; Preudhomme, C.; et al. Microparticle Phenotypes Are Associated with Driver Mutations and Distinct Thrombotic Risks in Essential Thrombocythemia. *Haematologica* 2016, 101, e365–e368.
- 139) Tripodi, A., Chantarangkul, V., Gianniello, F. *et al.* Global coagulation in myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol* **92**, 1633–1639 (2013).

- 140) Bucalossi A, Marotta G, Bigazzi C, Galieni P, Dispensa E. Reduction of antithrombin III, protein C, and protein S levels and activated protein C resistance in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with thrombosis. *Am J Hematol*. 1996 May;52(1):14-20.
- 141) Marchetti M, Castoldi E, Spronk HM, van Oerle R, Balducci D, Barbui T, Rosing J, Ten Cate H, Falanga A. Thrombin generation and activated protein C resistance in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood*. 2008 Nov 15;112(10):4061-8. doi: 10.1182/blood-2008-06-164087.
- 142) Brinkman HJ, Mertens K, van Mourik JA. Proteolytic cleavage of protein S during the hemostatic response. *J Thromb Haemost*. 2005 Dec;3(12):2712-20.
- 143) Dienava-Verdoold I, Marchetti MR, te Boome LC, Russo L, Falanga A, Koene HR, Mertens K, Brinkman HJ. Platelet-mediated proteolytic down regulation of the anticoagulant activity of protein S in individuals with haematological malignancies. *Thromb Haemost*. 2012 Mar;107(3):468-76.
- 144) Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, Vannucchi AM, Antonioli E, Gisslinger H, Buxhofer-Ausch V, Gangat N, Rambaldi A, Tefferi A, Barbui T. Incidence and risk factors for bleeding in 1104 patients with essential thrombocythemia or prefibrotic myelofibrosis diagnosed according to the 2008 WHO criteria. *Leukemia*. 2012 Apr;26(4):716-9.
- 145) Barbui T, Vannucchi AM, Buxhofer-Ausch V, De Stefano V, Betti S, Rambaldi A, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, Gisslinger H, Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Falcone C, Tefferi A. Practice-relevant revision of IPSET-thrombosis based on 1019 patients with WHO-defined essential thrombocythemia. *Blood Cancer J*. 2015 Nov 27;5(11):e369.
- 146) Pascale S, Petrucci G, Dragani A, Habib A, Zaccardi F, Pagliaccia F, Pocaterra D, Ragazzoni E, Rolandi G, Rocca B, Patrono C. Aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in essential thrombocythemia is explained by accelerated renewal of the drug target. *Blood*. 2012 Apr 12;119(15):3595-603.
- 147) Falanga A, Marchetti M, Schieppati F. Prevention and Management of Thrombosis in BCR/ABL-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Hamostaseologie*. 2021 Feb;41(1):48-57.
- 148) 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.
- 149) Kiladjian JJ, Chevret S, Dosquet C, Chomienne C, Rain JD. Treatment of polycythemia vera with hydroxyurea and pipobroman: final results of a randomized trial initiated in 1980. *J Clin Oncol*. 2011 Oct 10;29(29):3907-13.
  - 150) Kreher S, Ochsenreither S, Trappe RU, Pabinger I, Bergmann F, Petrides PE, Koschmieder S, Matzdorff A, Tiede A, Griesshammer M, Riess H; Haemostasis Working Party of the German Society of Hematology and Oncology; Austrian Society of Hematology and Oncology; Society of Thrombosis and Haemostasis Research. Prophylaxis and management of venous thromboembolism in patients with myeloproliferative neoplasms: consensus statement of the Haemostasis Working Party of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO), the Austrian Society of Hematology and Oncology (ÖGHO) and Society of Thrombosis and Haemostasis Research (GTH e.V.). *Ann Hematol*. 2014 Dec;93(12):1953-63.
  - 151) Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, Vestri O, Galli M, Rodeghiero F, Barbui T. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med*. 1995 Apr 27;332(17):1132-6.
  - 152) Fruchtman SM, Mack K, Kaplan ME, Peterson P, Berk PD, Wasserman LR. From efficacy to safety: a Polycythemia Vera Study group report on hydroxyurea in patients with polycythemia vera. *Semin Hematol*. 1997 Jan;34(1):17-23.
  - 153) Maugeri N, Giordano G, Petrilli MP, Fraticelli V, de Gaetano G, Cerletti C, Storti S, Donati MB. 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 Dec;4(12):2593-8.
  - 154) Guy A, Gourdou-Latyszenok V, Le Lay N, Peghaire C, Kilani B, Dias JV, Duplaa C, Renault MA, Denis C, Villeval JL, Boulaftali Y, Jandrot-Perrus M, Couffinhal T, James C. Vascular endothelial cell expression of JAK2<sup>V617F</sup> is sufficient to promote a pro-thrombotic state due to increased P-selectin expression. *Haematologica*. 2019 Jan;104(1):70-81
  - 155) Finazzi G, Ruggeri M, Rodeghiero F, Barbui T. Second malignancies in patients with essential thrombocythaemia treated with busulphan and hydroxyurea: long-term follow-up of a randomized clinical trial. *Br J Haematol*. 2000 Sep;110(3):577-83.
  - 156) Björkholm M, Derolf AR, Hulcrantz M, Kristinsson SY, Ekstrand C, Goldin LR, Andreasson B, Birgegård G, Linder O, Malm C, Markevörn B, Nilsson L, Samuelsson J, Granath F, Landgren O. Treatment-related risk factors for transformation to acute myeloid leukemia and

myelodysplastic syndromes in myeloproliferative neoplasms. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 10;29(17):2410-5.

- 157) Finazzi G, Caruso V, Marchioli R, Capnist G, Chisesi T, Finelli C, Gugliotta L, Landolfi R, Kutti J, Gisslinger H, Marilus R, Patrono C, Pogliani EM, Randi ML, Villegas A, Tognoni G, Barbui T; ECLAP Investigators. Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study. *Blood*. 2005 Apr 1;105(7):2664-70.
- 158) West WO. Hydroxyurea in the treatment of polycythemia vera: a prospective study of 100 patients over a 20-year period. *South Med J*. 1987 Mar;80(3):323-7.
- 159) Tatarsky I, Sharon R. Management of polycythemia vera with hydroxyurea. *Semin Hematol*. 1997 Jan;34(1):24-8.
- 160) Marchetti M, Ghirardi A, Masciulli A, Carobbio A, Palandri F, Vianelli N, Rossi E, Betti S, Di Veroli A, Iurlo A, Cattaneo D, Finazzi G, Bonifacio M, Scaffidi L, Patriarca A, Rumi E, Casetti IC, Stephenson C, Guglielmelli P, Elli EM, Palova M, Rapezzi D, Erez D, Gomez M, Wille K, Perez-Encinas M, Lunghi F, Angona A, Fox ML, Beggiato E, Benevolo G, Carli G, Cacciola R, McMullin MF, Tieghi A, Recasens V, Isfort S, Pane F, De Stefano V, Griesshammer M, Alvarez-Larran A, Vannucchi AM, Rambaldi A, Barbui T. Second cancers in MPN: Survival analysis from an international study. *Am J Hematol*. 2020 Mar;95(3):295-301.
- 161) Wang R, Shallis RM, Stempel JM, Huntington SF, Zeidan AM, Gore SD, Ma X, Podoltsev NA. Second malignancies among older patients with classical myeloproliferative neoplasms treated with hydroxyurea. *Blood Adv*. 2023 Mar 14;7(5):734-743.
- 162) Silver RT, Kiladjian JJ, Hasselbalch HC. Interferon and the treatment of polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Expert Rev Hematol*. 2013 Feb;6(1):49-58.
- 163) Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, Turlure P, Cambier N, Roussel M, Bellucci S, Grandchamp B, Chomienne C, Fenaux P. Pegylated interferon-alfa-2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood*. 2008 Oct 15;112(8):3065-72.
- 164) Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Manshouri T, Luthra R, Estrov Z, Pierce S, Richie MA, Borthakur G, Konopleva M, Cortes J, Verstovsek S. Pegylated interferon alfa-2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. *J Clin Oncol*. 2009 Nov 10;27(32):5418-24.
- 165) Yacoub, A.; Mascarenhas, J.; Kosiorek, H.; Prchal, J.T.; Berenzon, D.; Baer, M.R.; Ritchie, E.; Silver, R.T.; Kessler, C.; Winton, E.; et al. Pegylated Interferon Alfa-2a for Polycythemia Vera or Essential

- Thrombocythemia Resistant or Intolerant to Hydroxyurea. *Blood* 2019, 134, 1498–1509
- 166) Moliterno AR, Ginzburg YZ, Hoffman R. Clinical insights into the origins of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2021 Mar 4;137(9):1145-1153.
- 167) 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.
- 168) Gisslinger H, Gotic M, Holowiecki J, Penka M, Thiele J, Kvasnicka HM, Kralovics R, Petrides PE; ANAHYDRET Study Group. Anagrelide compared with hydroxyurea in WHO-classified essential thrombocythemia: the ANAHYDRET Study, a randomized controlled trial. *Blood*. 2013 Mar 7;121(10):1720-8.
- 169) Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, Hehlmann R, Hoffman R, Kiladjian JJ, Kröger N, Mesa R, McMullin MF, Pardanani A, Passamonti F, Vannucchi AM, Reiter A, Silver RT, Verstovsek S, Tefferi A; European LeukemiaNet. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 20;29(6):761-70
- 170) Li B, Rampal RK, Xiao Z. Targeted therapies for myeloproliferative neoplasms. *Biomark Res*. 2019 Jul 16;7:15.
- 171) Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, Levy RS, Gupta V, DiPersio JF, Catalano JV, Deininger M, Miller C, Silver RT, Talpaz M, Winton EF, Harvey JH Jr, Arcasoy MO, Hexner E, Lyons RM, Paquette R, Raza A, Vaddi K, Erickson-Viitanen S, Koumenis IL, Sun W, Sandor V, Kantarjian HM. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2012 Mar 1;366(9):799-807.
- 172) Verstovsek S, Gotlib J, Mesa RA, et al. Long-term survival in patients treated with ruxolitinib for myelofibrosis: COMFORT-I and -II pooled analyses. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):156
- 173) Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, Gupta V, DiPersio JF, Catalano JV, Deininger MW, Miller CB, Silver RT, Talpaz M, Winton EF, Harvey JH Jr, Arcasoy MO, Hexner EO, Lyons RM, Paquette R, Raza A, Jones M, Kornacki D, Sun K, Kantarjian H; COMFORT-I investigators. Long-term treatment with ruxolitinib for patients with myelofibrosis: 5-year update from the randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 COMFORT-I trial. *J Hematol Oncol*. 2017 Feb 22;10(1):55
- 174) Passamonti F, Palandri F, Saydam G, Callum J, Devos T, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Zor E, Zuurman M, Gilotti G, Zhang Y, Griesshammer

- M. Ruxolitinib versus best available therapy in inadequately controlled polycythaemia vera without splenomegaly (RESPONSE-2): 5-year follow up of a randomised, phase 3b study. *Lancet Haematol.* 2022 Jul;9(7):e480-e492.
- 175) Harrison CN, Mead AJ, Panchal A, Fox S, Yap C, Gbandi E, Houlton A, Alimam S, Ewing J, Wood M, Chen F, Coppell J, Panoskaltsis N, Knapper S, Ali S, Hamblin A, Scherber R, Dueck AC, Cross NCP, Mesa R, McMullin MF. Ruxolitinib vs best available therapy for ET intolerant or resistant to hydroxycarbamide. *Blood.* 2017 Oct 26;130(17):1889-1897.
- 176) Deininger, M.; Radich, J.; Burn, T.C.; Huber, R.; Paranagama, D.; Verstovsek, S. Brief Report The Effect of Long-Term Ruxolitinib Treatment on JAK2p.V617F Allele Burden in Patients with Myelofibrosis. *Blood* 2015, 126, 1551–1554.
- 177) Kiladjian JJ, Zachee P, Hino M, Pane F, Masszi T, Harrison CN, Mesa R, Miller CB, Passamonti F, Durrant S, Griesshammer M, Kirito K, Besses C, Moiraghi B, Rumi E, Rosti V, Blau IW, Francillard N, Dong T, Wroclawska M, Vannucchi AM, Verstovsek S. Long-term efficacy and safety of ruxolitinib versus best available therapy in polycythaemia vera (RESPONSE): 5-year follow up of a phase 3 study. *Lancet Haematol.* 2020 Mar;7(3):e226-e237.
- 178) Masciulli, A.; Ferrari, A.; Carobbio, A.; Ghirardi, A.; Barbui, T. Ruxolitinib for the Prevention of Thrombosis in Polycythemia Vera: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Blood Adv.* 2020, 4, 380–386.
- 179) Samuelson, B.T.; Vesely, S.K.; Chai-Adisaksopha, C.; Scott, B.L.; Crowther, M.; Garcia, D. The Impact of Ruxolitinib on Thrombosis in Patients with Polycythemia Vera and Myelofibrosis: A Meta-Analysis. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2016, 27, 648–652
- 180) Barbui T, De Stefano V, Falanga A, Finazzi G, Martinelli I, Rodeghiero F, Vannucchi AM, Barosi G. Addressing and proposing solutions for unmet clinical needs in the management of myeloproliferative neoplasm-associated thrombosis: A consensus-based position paper. *Blood Cancer J.* 2019 Aug 8;9(8):61.
- 181) Cushman M. Epidemiology and risk factors for venous thrombosis. *Semin Hematol.* 2007 Apr;44(2):62-9.
- 182) Kearon C, Iorio A, Palareti G; Subcommittee on Control of Anticoagulation of the SSC of the ISTH. Risk of recurrent venous thromboembolism after stopping treatment in cohort studies: recommendation for acceptable rates and standardized reporting. *J Thromb Haemost.* 2010 Oct;8(10):2313-5.
- 183) Baglin T, Bauer K, Douketis J, Buller H, Srivastava A, Johnson G; SSC of the ISTH. Duration of anticoagulant therapy after a first episode of an

- unprovoked pulmonary embolus or deep vein thrombosis: guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2012 Apr;10(4):698-702.
- 184) De Stefano V, Ruggeri M, Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Iurlo A, Randi ML, Elli E, Finazzi MC, Finazzi G, Zetterberg E, Vianelli N, Gaidano G, Rossi E, Betti S, Nichele I, Cattaneo D, Palova M, Ellis MH, Cacciola R, Tieghi A, Hernandez-Boluda JC, Pungolino E, Specchia G, Rapezzi D, Forcina A, Musolino C, Carobbio A, Griesshammer M, Sant'Antonio E, Vannucchi AM, Barbui T. High rate of recurrent venous thromboembolism in patients with myeloproliferative neoplasms and effect of prophylaxis with vitamin K antagonists. *Leukemia*. 2016 Oct;30(10):2032-2038
- 185) De Stefano V, Vannucchi AM, Ruggeri M, Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Iurlo A, Randi ML, Pieri L, Rossi E, Guglielmelli P, Betti S, Elli E, Finazzi MC, Finazzi G, Zetterberg E, Vianelli N, Gaidano G, Nichele I, Cattaneo D, Palova M, Ellis MH, Cacciola E, Tieghi A, Hernandez-Boluda JC, Pungolino E, Specchia G, Rapezzi D, Forcina A, Musolino C, Carobbio A, Griesshammer M, Barbui T. Splanchnic vein thrombosis in myeloproliferative neoplasms: risk factors for recurrences in a cohort of 181 patients. *Blood Cancer J*. 2016 Nov 4;6(11):e493.
- 186) Martinelli I, De Stefano V, Carobbio A, Randi ML, Santarossa C, Rambaldi A, Finazzi MC, Cervantes F, Arellano-Rodrigo E, Rupoli S, Canafoglia L, Tieghi A, Facchini L, Betti S, Vannucchi AM, Pieri L, Cacciola R, Cacciola E, Cortelezzi A, Iurlo A, Pogliani EM, Elli EM, Spadea A, Barbui T. Cerebral vein thrombosis in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. An European Leukemia Net study. *Am J Hematol*. 2014 Nov;89(11):E200-5.
- 187) Hamulyák EN, Daams JG, Leebeek FWG, Biemond BJ, Te Boekhorst PAW, Middeldorp S, Lauw MN. A systematic review of antithrombotic treatment of venous thromboembolism in patients with myeloproliferative neoplasms. *Blood Adv*. 2021 Jan 12;5(1):113-121.
- 188) Agnelli G, Buller HR, Cohen A, Curto M, Gallus AS, Johnson M, Masiukiewicz U, Pak R, Thompson J, Raskob GE, Weitz JI; AMPLIFY Investigators. Oral apixaban for the treatment of acute venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2013 Aug 29;369(9):799-808.
- 189) Hokusai-VTE Investigators; Büller HR, Décousus H, Grosso MA, Mercuri M, Middeldorp S, Prins MH, Raskob GE, Schellong SM, Schwocho L, Segers A, Shi M, Verhamme P, Wells P. Edoxaban versus warfarin for the treatment of symptomatic venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2013 Oct 10;369(15):1406-15.
- 190) EINSTEIN-PE Investigators; Büller HR, Prins MH, Lensin AW, Decousus H, Jacobson BF, Minar E, Chlumsky J, Verhamme P, Wells P, Agnelli G, Cohen A, Berkowitz SD, Bounameaux H, Davidson BL, Misselwitz F, Gallus AS, Raskob GE, Schellong S, Segers A. Oral

- rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. *N Engl J Med*. 2012 Apr 5;366(14):1287-97.
- 191) Lyman GH, Carrier M, Ay C, Di Nisio M, Hicks LK, Khorana AA, Leavitt AD, Lee AYY, Macbeth F, Morgan RL, Noble S, Sexton EA, Stenehjem D, Wiercioch W, Kahale LA, Alonso-Coello P. American Society of Hematology 2021 guidelines for management of venous thromboembolism: prevention and treatment in patients with cancer. *Blood Adv*. 2021 Feb 23;5(4):927-974.
- 192) Raskob GE, van Es N, Verhamme P, Carrier M, Di Nisio M, Garcia D, Grosso MA, Kakkar AK, Kovacs MJ, Mercuri MF, Meyer G, Segers A, Shi M, Wang TF, Yeo E, Zhang G, Zwicker JJ, Weitz JJ, Büller HR; Hokusai VTE Cancer Investigators. Edoxaban for the Treatment of Cancer-Associated Venous Thromboembolism. *N Engl J Med*. 2018 Feb 15;378(7):615-624.
- 193) Young AM, Marshall A, Thirlwall J, Chapman O, Lokare A, Hill C, Hale D, Dunn JA, Lyman GH, Hutchinson C, MacCallum P, Kakkar A, Hobbs FDR, Petrou S, Dale J, Poole CJ, Maraveyas A, Levine M. Comparison of an Oral Factor Xa Inhibitor With Low Molecular Weight Heparin in Patients With Cancer With Venous Thromboembolism: Results of a Randomized Trial (SELECT-D). *J Clin Oncol*. 2018 Jul 10;36(20):2017-2023.
- 194) Kaifia A, Kirschner M, Wolf D, Maintz C, Hänel M, Gattermann N, Gökkurt E, Platzbecker U, Hollburg W, Göthert JR, Parmentier S, Lang F, Hansen R, Isfort S, Schmitt K, Jost E, Serve H, Ehninger G, Berdel WE, Brummendorf TH, Koschmieder S; Study Alliance Leukemia (SAL). Bleeding, thrombosis, and anticoagulation in myeloproliferative neoplasms (MPN): analysis from the German SAL-MPN-registry. *J Hematol Oncol*. 2016 Mar 5;9:18.
- 195) Curto-Garcia N, Doyle AJ, Breen KA, McLornan DP, Radia DH, Hunt BJ, Ling G, Harrison CN. Outcomes of patients receiving direct oral anticoagulants for myeloproliferative neoplasm-associated venous thromboembolism in a large tertiary centre in the UK. *Br J Haematol*. 2020 May;189(3):e79-e81.
- 196) Serrao A, Breccia M, Napolitano M, Fiori L, Santoro M, Scalzulli E, Santopietro M, Santoro C, Raso S, Chistolini A. A multicenter real-life study on anticoagulant treatment with direct oral anticoagulants in patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol*. 2020 Dec;95(12):E329-E332.
- 197) Barbui T, De Stefano V, Carobbio A, Iurlo A, Alvarez-Larran A, Cuevas B, Ferrer Marín F, Vannucchi AM, Palandri F, Harrison C, Sibai H, Griesshammer M, Bonifacio M, Elli EM, Trotti C, Koschmieder S, Carli G, Benevolo G, Iannotto JC, Goel S, Falanga A, Betti S, Cattaneo D, Arellano-Rodrigo E, Mannelli L, Vianelli N, Doyle A, Gupta V, Wille K,

- Tremblay D, Mascarenhas J. Direct oral anticoagulants for myeloproliferative neoplasms: results from an international study on 442 patients. *Leukemia*. 2021 Oct;35(10):2989-2993.
- 198) Alimam S, Bewley S, Chappell LC, Knight M, Seed P, Gray G, Harrison C, Robinson S. Pregnancy outcomes in myeloproliferative neoplasms: UK prospective cohort study. *Br J Haematol*. 2016 Oct;175(1):31-6
- 199) Li M, Lin C, Deng H, Strnad J, Bernabei L, Vogl DT, Burke JJ, Nefedova Y. A Novel Peptidylarginine Deiminase 4 (PAD4) Inhibitor BMS-P5 Blocks Formation of Neutrophil Extracellular Traps and Delays Progression of Multiple Myeloma. *Mol Cancer Ther*. 2020 Jul;19(7):1530-1538.
- 200) Craver BM, Ramanathan G, Hoang S, Chang X, Mendez Luque LF, Brooks S, Lai HY, Fleischman AG. N-acetylcysteine inhibits thrombosis in a murine model of myeloproliferative neoplasm. *Blood Adv*. 2020 Jan 28;4(2):312-321.
- 201) Yago T, Liu Z, Ahamed J, McEver RP. Cooperative PSGL-1 and CXCR2 signaling in neutrophils promotes deep vein thrombosis in mice. *Blood*. 2018 Sep 27;132(13):1426-1437.
- 202) Slack RJ, Macdonald SJF, Roper JA, Jenkins RG, Hatley RJD. Emerging therapeutic opportunities for integrin inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*. 2022 Jan;21(1):60-78.
- 203) Ley K, Rivera-Nieves J, Sandborn WJ, Shattil S. Integrin-based therapeutics: biological basis, clinical use and new drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2016 Mar;15(3):173-83.
- 204) Gisslinger H, Klade C, Georgiev P, Krochmalczyk D, Gercheva-Kyuchukova L, Egyed M, Rossiev V, Dulicek P, Illes A, Pylypenko H, Sivcheva L, Mayer J, Yablokova V, Krejcy K, Grohmann-Izay B, Hasselbalch HC, Kralovics R, Kiladjian JJ; PROUD-PV Study Group. Ropoginterferon alfa-2b versus standard therapy for polycythaemia vera (PROUD-PV and CONTINUATION-PV): a randomised, non-inferiority, phase 3 trial and its extension study. *Lancet Haematol*. 2020 Mar;7(3):e196-e208.
- 205) Paola Guglielmelli, Barbara Mora, Francesca Gesullo, Francesco Mannelli, Giuseppe Gaetano Loscocco, Leonardo Signori, Chiara Pessina, Fabiana Pancani, Ilaria Colugnat, Raffaella Aquila, Elena Nacca, Paolo Cicogna, Francesco Passamonti, Alessandro Vannucchi; *JAK2V617F Molecular Response to Ruxolitinib in Patients with PV and ET Is Associated with Lower Risk of Progression to Secondary Myelofibrosis*. *Blood* 2022; 140 (Supplement 1): 1788–1789.