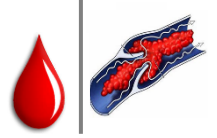




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
ΘΡΟΜΒΩΣΗ - ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ - ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΓΓΙΣΕΩΝ

Διπλωματική Εργασία

« Φλεγμονή και θρομβωτικά επεισόδια σε ασθενείς με κλασικά μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα: Νεότερα δεδομένα και θεραπευτικές δυνατότητες »

ΟΝΟΜΑ : ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΥ

Αριθμός Μητρώου: 20191222

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : ΘΕΟΔΩΡΟΣ ΒΑΣΙΛΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

Περίληψη

Τα μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα ή μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα (MYN) αποτελούν ομάδα κλωνικών αιματολογικών νοσημάτων που χαρακτηρίζονται από υπερπλασία μίας ή περισσότερων κυτταρικών σειρών του μυελού των οστών. Τα κλασικά μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα χαρακτηρίζονται από την απουσία της διαμετάθεσης t(9;22) και, ως εκ τούτου, του χρωμοσώματος Philadelphia, και περιλαμβάνουν την αληθή πολυκυτταραιμία (polycythemia vera, PV), την ιδιοπαθή θρομβοκυττάρωση (essential thrombocythemia, ET) και την πρωτοπαθή μυελοίνωση (primary myelofibrosis, PMF). Η κλασική μετάλλαξη JAK2V617F χαρακτηρίζει τη πλειοψηφία των ασθενών με PV, και μικρότερα ποσοστά των ασθενών με ET και PMF, με δευτερεύουσες τις μεταλλάξεις καλρετικουλίνης (CALR) και του υποδοχέα της θρομβοποιητίνης (MPL).

Το βασικό χαρακτηριστικό της παθοφυσιολογίας των κλασικών MYN είναι η υπέρμετρη ενεργοποίηση του JAK/ STAT μονοπατιού που οδηγεί σε ιδιαίτερα υψηλή παραγωγή κυτταροκινών, σε συνδυασμό με ενεργοποίηση και άλλων μονοπατιών μέσω επικοινωνίας αυτών (cross-talk). Η κλινική εικόνα των νοσημάτων χαρακτηρίζεται από συμπτωματολογία που σχετίζεται με τις διαταραχές της αιμοποίησης, τη σπληνομεγαλία, και, χαρακτηριστικά, από την εκδήλωση θρομβωτικών επεισοδίων στους ασθενείς τόσο πριν και κατά τη διάγνωση, όσο και κατά την περίοδο παρακολούθησης. Η παθοφυσιολογία και η βιολογική συμπεριφορά των νοσημάτων αποτελούν αντικείμενο εντατικής μελέτης στην έρευνα, με σημαντικά ευρήματα τα τελευταία 15 έτη σχετικά με τη διαταραχή της λειτουργίας των σηματοδοτικών μονοπατιών που σχετίζονται με τη συστηματική φλεγμονή, την κυτταρική επιβίωση, και την κυτταρική ανάπτυξη σε επίπεδο μυελού των οστών. Η φλεγμονή αναγνωρίζεται πλέον ως κεντρικός άξονας της παθοφυσιολογίας των MYN και σχετίζεται με την εκδήλωση θρομβώσεων σε ένα πολυπαραγοντικό παθογενετικό μοντέλο ανοσοθρόμβωσης σε επίπεδο αγγείου, αιμοσφαιρίων και μηχανισμού της πήξης.

Έτσι, παρότι η χρήση των JAK αναστολέων στη θεραπεία των MYN έχει συντελέσει στη σημαντική βελτίωση της ποιότητας ζωής και της επιβίωσης των ασθενών, η επίπτωση των θρομβωτικών επεισοδίων αποτελεί ακόμη υπαρκτό παράγοντα θνητότητας και επιδείνωσης του επιπέδου ζωής, ακόμη και σε ασθενείς υπό θεραπεία. Η προσθήκη νέων JAK και JAK/ FLT3 αναστολέων στις θεραπευτικές επιλογές και η αναζήτηση φαρμάκων με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης στοχεύει στη βέλτιστη αντιμετώπιση των ασθενών και την ελάττωση του αριθμού των θρομβωτικών επεισοδίων.

Η βιβλιογραφική αυτή ανασκόπηση αποσκοπεί στην καταγραφή των σύγχρονων δεδομένων σχετικά με τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς της θρόμβωσης σε συσχέτιση με τη φλεγμονή στα κλασικά μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα, τους

παράγοντες κινδύνου για θρόμβωση, καθώς και τους νέους πιθανούς θεραπευτικούς στόχους που αναδεικνύονται.

Abstract

Myeloproliferative neoplasms (MPN) are a group of clonal hematological diseases characterized by hyperproliferation of one or more hematologic cell lines. Classical myeloproliferative diseases share the feature of absence of translocation (9;22) and, therefore, the philadelphia chromosome, and include polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF). The typical mutation JAK2V617F is present in the majority of patients with PV as well as less patients with ET and PMF, while mutations of calreticulin (CALR) gene and thrombopoietin receptor (myeloproliferative leukemia virus- MPL) gene are also common mutations.

The pathophysiology of classical MPNs is characterized by constant activation of the JAK/STAT pathway, which leads to a cytokine overproduction, combined with the activation of more signalling pathways through cross-talk. Clinical presentation includes symptoms due to abnormal hematopoiesis, splenomegaly, and, typically, episodes of arterial and venous thrombosis before diagnosis as well as during the follow-up period. Their pathophysiology and biologic behaviour are being studied intensively during the past fifteen years in the subjects of disruption of function of signalling pathways of inflammation, cell survival and cell growth in the bone marrow. Inflammation is currently recognized as a central axis in MPNs' pathophysiology and correlates with thrombotic episodes, in a multivariate model of immunothrombosis concerning the blood cells and coagulation mechanisms.

Thus, even though the use of JAK inhibitors in the treatment of myeloproliferative neoplasms has contributed to the improvement of patients' quality of life and survival, the consequences of thromboses are still detrimental for mortality and well-being, even for patients under treatment. The addition of new JAK and JAK/FLT3 inhibitors to the therapeutic options and the investigation for novel therapeutic agents aim to improve treatment and decrease thrombotic episodes.

This review is aiming to collect current data in the subjects of the pathophysiology of thrombosis in relation to inflammation in classical MPNs, the risk factors for thrombosis, and the novel prospective therapeutic targets that could be addressed.

Ευχαριστίες

Για την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους διδάσκοντες του μεταπτυχιακού προγράμματος, για το εκπαιδευτικό τους έργο τα δύο αυτά έτη στη δυσχερή περίοδο της πανδημίας, τη συνεχή επικοινωνία και υποστήριξή τους κατά το διάστημα της εξ αποστάσεως διδασκαλίας.

Την πρώτο άνθρωπο που χαρακτηρίζω ως μέντορά μου, την επιμελήτρια μου κα Κούρτη Γ, και τον επιμελητή μου κο Καρακατσάνη Σ, για την πρώτη ουσιαστική εκπαίδευση και επαφή μου με την ειδικότητα της Αιματολογίας και το ρόλο τους ως πρότυπα επιστημόνων και ανθρώπων.

Ένα λαμπρό και ξεχωριστό άνθρωπο, την ασθενή κα Καραντάση Σ, για τη δική της σοφία ζωής που μου μετέδωσε κατά το διάστημα της γνωριμίας μας.

Τους δικούς μου ανθρώπους, για όλα αυτά που μου προσέφεραν και μου προσφέρουν.

Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Παθοφυσιολογία θρόμβωσης.....	6
I. Αιμοπετάλια	
II. Ενδοθήλιο	
III. Μηχανισμός πήξης- Δευτερογενής αιμόσταση	
IV. Ανοσοθρόμβωση	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα.....	18
I. Περιγραφή- Επιδημιολογία	
II. Παθοφυσιολογία	
III. Κλινική εικόνα - Θρομβωτικά επεισόδια	
IV. Διάγνωση	
V. Θεραπεία	
VI. Πρόγνωση	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Θρόμβωση και μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα.....	32
I. Αιμοσφαίρια	
II. Ενδοθηλιακή βλάβη	
III. Διαταραχές μηχανισμού πήξης	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Φλεγμονή και θρομβωτικά επεισόδια σε ασθενείς με μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα.....	45
I. JAK/ STAT μονοπάτι/ Σηματοδοτικά μονοπάτια	
II. Πρωτεΐνες οξειάς φάσης	
III. Κυτταροκίνες	
IV. Αιμοσφαίρια	
V. Ενδοθηλιακή βλάβη	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Σύγχρονη θεραπεία και νέες θεραπευτικές δυνατότητες...	67
I. Υπάρχουσες θεραπείες και φλεγμονή	
II. Νέες θεραπευτικές δυνατότητες	
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	77
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	79
ΓΛΩΣΣΑΡΙ	88

Κεφάλαιο 1: Παθοφυσιολογία θρόμβωσης

Η μελέτη της θρόμβωσης ξεκινά από την αρχαιότητα, αποτελώντας αντικείμενο αναζήτησης για τους αρχαίους Έλληνες φιλοσόφους και τον Ιπποκράτη, συνεχίζοντας έως τις πρώτες αναφορές σε κλινική οντότητα με χαρακτηρισες ετερόπλευρου οιδήματος του κάτω άκρου, περιγραφή που ομοιάζει με την εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση, στο Μεσαίωνα. Η αντίληψη σχετικά με τη θρόμβωση κορυφώνεται περί το 1900, όταν ο Rudolf Virchow περιγράφει την περίφημη “τριάδα του Virchow” ως τους τρεις παράγοντες της φλεβικής στάσης, της υπερπηκτικότητας του αίματος και των διαταραχών των αγγείων, που αλληλεπιδρώντας οδηγούν σε διαταραχή της πήξης του αίματος (Figure 1).

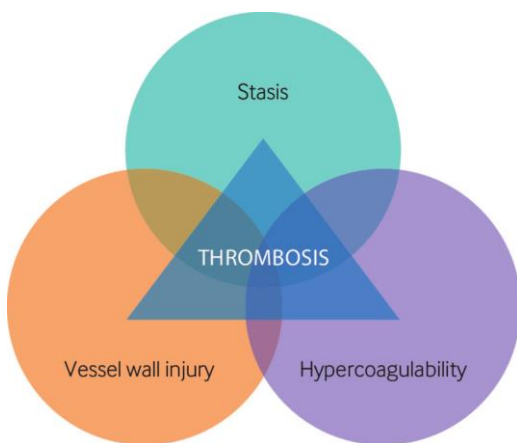


Figure 1. Η τριάδα του Virchow

F. Khan et al. Diagnosis and Management of Deep Vein Thrombosis in Pregnancy. May 2017 BMJ Clinical Research 357:j2344

Η θεωρία της δευτερογενούς αιμόστασης και ο διαχωρισμός της ενδογενούς και της εξωγενούς οδού πήξης, που στη συνέχεια αναπτύχθηκε, έχει πλέον αντικατασταθεί από τη θεωρία του κυτταρικού μοντέλου της πήξης, το οποίο αναδεικνύει το ρόλο των κυτταρικών στοιχείων στην ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης. Με αυτή τη βάση, θα προχωρήσουμε σε μία σύντομη αναφορά των φυσιολογικών μηχανισμών της πήξης και της θρόμβωσης.

Αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια (ΑΜΠ) αποτελούν κύτταρα του αίματος με σημαίνοντα ρόλο στο μηχανισμό της πήξης και το σχηματισμό θρόμβου. Τα στοιχεία μέσω των οποίων επιτυγχάνεται αυτό είναι τόσο οι επιφανειακοί υποδοχείς των αιμοπεταλίων, όσο και τα κοκκία τους.

Τα αιμοπετάλια περιέχουν δύο είδη κοκκίων, τα α και τα πυκνά (ή δέλτα- δ) κοκκία, τα οποία περιέχουν χημειοκίνες, ιόντα, αυξητικούς παράγοντες, που εκκρίνονται κατά την αποκοκκίωση, με προφλεγμονώδεις και προπηκτικές ιδιότητες, καθώς και λυσοσώματα που απελευθερώνουν πρωτεολυτικά ένζυμα. Τα α κοκκία περιέχουν ουσίες όπως οι vWF, P- σελεκτίνη, factor V, factor XI, factor XII, ινωδογόνο, platelet factor 4 (PF4), platelet derived growth factor (PDGF), tumor growth factor β (TGF-β), vascular endothelial growth factor (VEGF), ενώ τα πυκνά κοκκία περιέχουν 5- υδροξυτρυπταμίνη, σεροτονίνη, ασβέστιο. Η σύνθεση θρομβοξάνης μέσω του αραχιδονικού οξέος και η έκκρισή της αποτελεί έναν ακόμη βασικό μηχανισμό των αιμοπεταλίων, καθ' ότι όντας ισχυρός ενεργοποιητής των ΑΜΠ ενισχύει τη δράση τους και τη θρομβογένεση (Figure 2).

coagulation: vWF, fibrinogen, factor V, XI, XII

adhesion: GPIb α -IX-V, α IIb β 3, GPVI

inflammation: P-selectin, chemokines (CXCL4+7)

wound healing: TGF- β , HGF, PDWHF

angiogenesis: VEGF

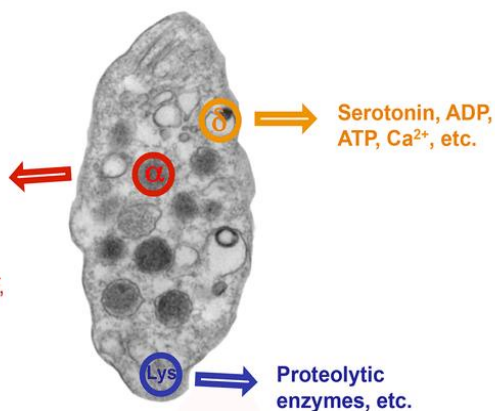


Figure 2. Τα κοκκία των αιμοπεταλίων και τα περιεχόμενά τους Deppermann. The role of platelet granules in thrombosis, hemostasis, stroke and inflammation (Thesis). Oct 2015

Οι υποδοχείς περιλαμβάνουν τους GPIb, GPVI, GPIIb/IIIa και GPIX και μέσω αυτών τα αιμοπετάλια συγκολλούνται μεταξύ τους και προσδένονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα λευκά αιμοσφαίρια. Η σύνδεση μέσω των υποδοχέων GPIIb/IIIa με την παρεμβολή του ινωδογόνου ή του vWF οδηγεί στη συγκόλληση

των αιμοπεταλίων που πετυχαίνει το σχηματισμό του “ερυθρού”, αιμοπεταλιακού θρόμβου, που ακολουθεί την αγγειοσύσπαση ύστερα από την πρόκληση βλάβης σε ένα αγγείο. Η σύνδεση μέσω των υποδοχέων GPIb/IX/V με την παρεμβολή του παράγοντα von Willebrand (vWF), καθώς και μέσω των υποδοχέων GPVI με το κολλαγόνο, οδηγεί σε πρόσδεση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο.

Η κληρονομικής φύσης ανεπάρκεια είτε υποδοχέων είτε των κοκκίων των ΑΜΠ αποτελεί αίτιο συγγενών νοσημάτων ποιοτικών διαταραχών των ΑΜΠ (θρομβασθένειες) με χαρακτηριστικά αιμορραγικής διάθεσης, όπως η θρομβασθένεια Glanzmann (έλλειψη GPIIb/IIIa) και η θρομβασθένεια Bernard-Soulier (έλλειψη GPIb).

Άλλοι υποδοχείς είναι οι protease activated receptors (PARs) και ο platelet fibrinogen receptor (PFR). Οι PARs είναι υποδοχείς των ΑΜΠ και του ενδοθηλίου υπεύθυνοι για διαδικασίες διαμεταβίβασης σημάτων και ενεργοποίησης ενδοκυττάρων μονοπατιών, ρυθμίζοντας κυτταρικές διεργασίες, την επιβίωση και απόπτωση κυττάρων, καθώς και τη διαδικασία της αιμόστασης. Ο PFR είναι υποδοχέας για το ινωδογόνο ο οποίος εκτίθεται μόνο ύστερα από ενεργοποίηση του υποδοχέα GPIIb/IIIa.

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι μία διαδικασία που τελικώς οδηγεί στην έξοδο στην κυκλοφορία των περιεχομένων τους (αποκοκκίωση). Η αποκάλυψη του υπενδοθηλίου ύστερα από πρόκληση ιστικής βλάβης εκθέτει το κολλαγόνο, στο οποίο προσδένονται μέσω των GPVI και GPIb/IX/V τα αιμοπετάλια. Ακολουθεί μεταβολή του σχήματός τους και, μέσω της δράσης των ενζύμων φλιπάση, φλοπάση και σκραμπλάση (διαδικασία flip- flop) στην επιφάνειά τους εκτίθενται φωσφολιπίδια (PL), παράλληλα με τη διαδικασία αποκοκκίωσης συνεπικουρώντας στη συσσώρευσή τους. Τα PL, τα οποία είναι αρνητικά φορτισμένα, εκτίθενται στην επιφάνεια των κυττάρων, και είναι διαθέσιμα για την εκκίνηση της ενεργοποίησης του καταρράκτη της πήξης. Ποικίλα μόρια αποτελούν ενεργοποιητές των αιμοπεταλίων, όπως η θρομβίνη, η θρομβοζάνη, το ADP και το κολλαγόνο, με τους ισχυρότερους να είναι η θρομβίνη και η θρομβοζάνη.

Η αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία αποτελείται από πολλούς διαφορετικούς φαρμακευτικούς παράγοντες, με στόχους τους διαφορετικούς κυτταρικούς υποδοχείς των αιμοπεταλίων. Τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα δρουν ως ανταγωνιστές των υποδοχέων εμποδίζοντας την πρόσδεση των μορίων-ενεργοποιητών των αιμοπεταλίων, αναστέλλοντας έτσι την προσκόλληση στο ενδοθήλιο, τη συσσώρευση και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Στην παρακάτω σχηματική απεικόνιση βλέπουμε τους κυτταρικούς υποδοχείς των αιμοπεταλίων, που μέσω των προσδετών τους εξυπηρετούν τη συσσώρευση (GPIIb/IIIa, με πρόσδεση ινωδογόνου), την ενεργοποίηση (PAR1, με πρόσδεση θρομβίνης/

υποδοχέας θρομβοξάνης, με πρόσδεση θρομβοξάνης/ P2Y₁₂, με πρόσδεση ADP), και την προσκόλληση στο ενδοθήλιο (GPIb/IX/V, με πρόσδεση vWF, GPVI, με πρόσδεση κολλαγόνου), και τα φάρμακα που δρουν σε κάθε στόχο (αναστολείς GPIIb/IIIa, αναστολέας PAR1, COX-1 αναστολείς, ΜΣΑΦ, αναστολείς PDY₁₂) (Figure 3).

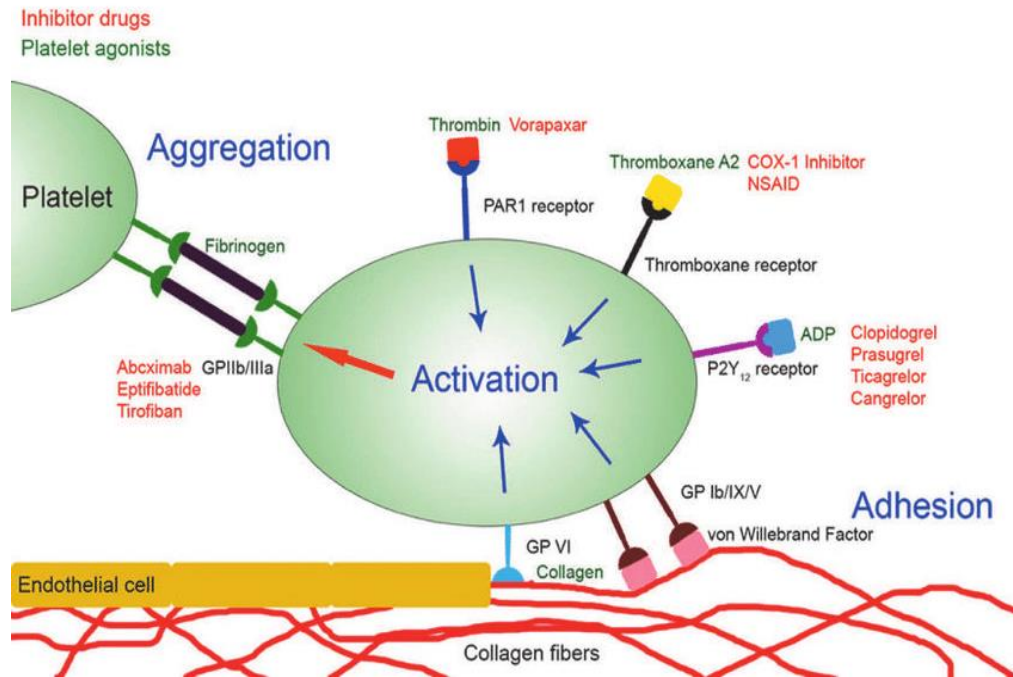


Figure 3. Στο γράφημα βλέπουμε σχηματικά τους υποδοχείς της μεμβράνης των ΑΜΠ και τα φάρμακα που προσδένονται σε αυτούς αναστέλλοντας τη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Demertzis et al. Antiplatelet therapy before cardiac surgery (2016, The Journal of cardiovascular medicine 19(4):110-116)

Ενδοθήλιο

Το ενδοθήλιο των αγγείων έχει ιδιότητες φυσικά αντιπηκτικές και αντιφλεγμονώδεις, που κατά τη πρόκληση βλάβης των αγγείων διαταράσσονται. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν πρωτεΐνες επιφανείας όπως η p-selectin intercellular adhesion molecule- 1 (ICAM-1) και vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM), που προσδένονται σε πρωτεΐνες επιφανείας των αιμοπεταλίων και των πολυμορφοπύρηνων, όπως η P- και E-selectin, οδηγώντας στην πρόσδεση αυτών στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα πολυμορφοπύρηνια αποτελούν το βασικό πληθυσμό των λευκοκυττάρων που μετέχουν στην αρχική φάση της φλεβικής θρόμβωσης. Όταν συμβαίνει σύσπαση ενός αγγείου σε καταστάσεις ιστικής βλάβης, τα πολυμορφοπύρηνια έχουν την τάση να προσκολλώνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ μέσω της προσκόλλησης και της αλληλεπίδρασης με τα αιμοπετάλια ξεκινά η

δημιουργία του πρώιμου αιμοπεταλιακού θρόμβου. Η προσκόλληση των PMNs συμβαίνει μέσω των $\beta 1$ και $\beta 2$ ιντεγκρινών της επιφανείας τους οι οποίες προσδένονται στους υποδοχείς ICAM και VCAM των ενδοθηλιακών αγγείων.

Ο vWF, προσδεδεμένος με τον FVIII, βρίσκεται αποθηκευμένος στα σωμάτια Weibel- Palade στο κυτταρόπλασμα των ενδοθηλιακών κυττάρων και απελευθερώνεται στην κυκλοφορία με σταθερό ρυθμό σε φυσιολογικές συνθήκες. Τα μακρά πολυμερή του vWF έχουν ιδιαίτερο ρόλο στη διαδικασία της πήξης, έχοντας ιδιαίτερη δράση σαν προπηκτικά μόρια πάνω στα οποία ενεργοποιείται ο καταρράκτης της πήξης ενδαγγειακά. Η ανεπάρκεια του μηχανισμού διάσπασης των μακρών πολυμερών του vWF λόγω της έλλειψης της πρωτεάσης ADAMTS-13 αποτελεί τον παθογενετικό μηχανισμό της θρομβωτικής θρομβοπενικής πορφύρας.

Η βλάβη του ενδοθηλίου ύστερα από την επίδραση επιβλαβών παραγόντων, για παράδειγμα μίας μικροβιακής τοξίνης ή τοξικής χημικής ουσίας ή μηχανικού παράγοντα, όπως το τραύμα, οδηγεί σε διαταραχή των φυσιολογικών αντιπηκτικών ιδιοτήτων του ενδοθηλίου, την έκθεση κολλαγόνου και της βασικής μεμβράνης, την απελευθέρωση παράγοντα vWF, οδηγώντας στην ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης μέσω της πρόσδεσης των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων στο κολλαγόνο του εξωκυτταρίου στρώματος, αλλά και τη διαπίδυση των λευκών αιμοσφαιρίων μέσω του ενδοθηλίου (Figure 4). Ο vWF έχει κεντρικό ρόλο στην πρόσδεση των αιμοπεταλίων στο κολλαγόνο μέσω των υποδοχέων GPIb/IX με ενδιάμεσο τον vWF, και η ποσοτική είτε ποιοτική διαταραχή του vWF προκαλεί διαταραχή στο σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου και την αιμόσταση με εμφάνιση αιμορραγικής διάθεσης, όπως συμβαίνει στη νόσο von Willebrand (vWD).

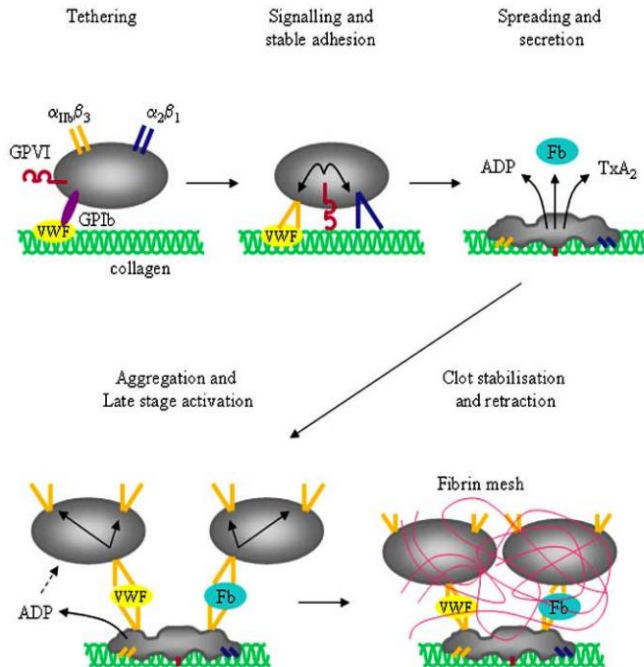


Figure 4. Η διαδικασία της πρόσδεσης των αιμοπεταλίων στο κολλαγόνο του εξωκυτταρίου στρώματος και ο σχηματισμός αιμοπεταλιακού θρόμβου. Η αρχική σύνδεση συμβαίνει μέσω του υποδοχέα GPIb με την παρεμβολή του vWF, οδηγώντας στην σταθερότερη πρόσδεση μέσω του GPVI, και της $\alpha_2\beta_1$ ιντεγκρίνης, οδηγώντας στην ενεργοποίηση των AMPI. Η μεταξύ των αιμοπεταλίων συγκόλληση μέσω των GPIIb/IIIa με την παρεμβολή του ινωδογόνου και του vWF και η ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης, που μέσω του σχηματισμού θρομβίνης οδηγεί τόσο στο σχηματισμό πλέγματος ινώδους όσο και στην περαιτέρω ενεργοποίηση των AMPI, καταλήγει στο σχηματισμό σταθερού, αιμοπεταλιακού θρόμβου.

Steve P. Watson. Platelet activation by extracellular matrix proteins. *Current Pharmaceutical Design*, 2009, Vol. 15, No. 12 1359

Μηχανισμός πήξης- Δευτερογενής αιμόσταση

Το κλασικό μοντέλο της πήξης παρουσιάζεται ως διαχωρισμός ενδογενούς και εξωγενούς οδού της πήξης που οδηγούν σε ενεργοποίηση του FX, και ενώνονται στο σημείο αυτό στην κοινή οδό της πήξης. Το μοντέλο αυτό έχει πλέον αναθεωρηθεί και αντικατασταθεί από το σύγχρονο κυτταρικό μοντέλο που αναδεικνύει τη σημασία των κυτταρικών στοιχείων ως απαραίτητη επιφάνεια ενεργοποίησης, και στο οποίο οι δύο “οδοί” αλληλεπιδρούν σε πολλαπλά σημεία.

Η ενδογενής οδός της πήξης θεωρούνταν η ενεργοποίηση του καταρράκτη μέσω του συστήματος επαφής, όπου η καλλικρεΐνη και το κολλαγόνο ενεργοποιεί τον FXII, οδηγώντας ακολούθως σε ενεργοποίηση κατά σειρά του FXI, FIX και, μέσω του FVIII συμπαράγοντα, στην ενεργοποίηση του FX. Η εξωγενής οδός της πήξης θεωρούνταν η ενεργοποίηση του καταρράκτη ύστερα από ενδοθηλιακή βλάβη, όπου ο εκτιθέμενος ιστικός παράγοντας (TF) ενεργοποιεί τον παράγοντα FVII, οδηγώντας ακολούθως σε ενεργοποίηση του FX. Ακολουθεί η κοινή οδός της πήξης που οδηγεί σε μετατροπή της προθρομβίνης (FII) σε θρομβίνη, με τη μεσολάβηση του ενεργοποιημένου FX (FXa) και ενεργοποιημένου FV (FVa), του ασβεστίου (Ca^{2+}) και φωσφολιπιδίων. Μέσω της δράσης της θρομβίνης ακολουθεί η μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες. Σε κάθε στάδιο, απαραίτητος παράγοντας είναι το Ca^{2+} (που αποτελεί τον παράγοντα FIV) (Figure 5).

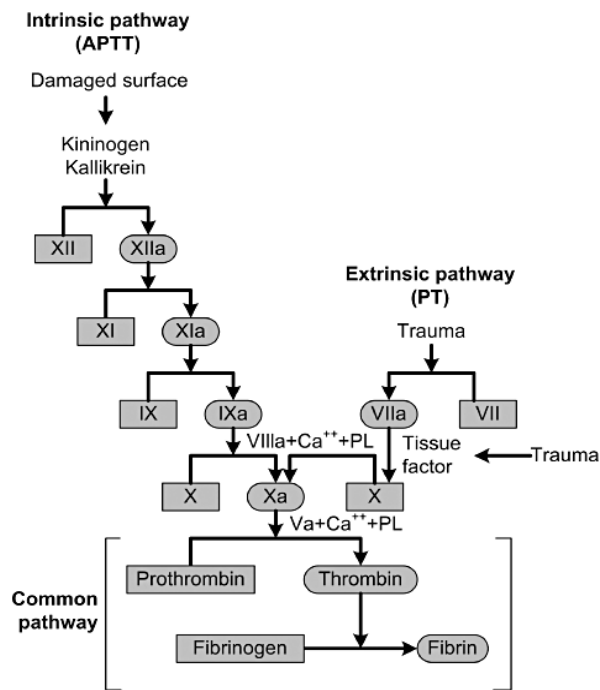


Figure 5. Ο μηχανισμός της πήξης με τον κλασικό διαχωρισμό ενδογενούς και εξωγενούς οδού.

Rebecca L C Adams, Robert J Bird. Review article: Coagulation cascade and therapeutics update: Relevance to nephrology. Part 1: Overview of coagulation, thrombophilias and history of anticoagulants. Nephrology Volume 14, Issue 5. August 2009

Συνολικά, η ενδοθηλιακή ιστική βλάβη και η τοπική έκθεση του ιστικού παράγοντα οδηγούν συνδυαστικά στην ενεργοποίηση, μέσω της καλλικρεΐνης, του παράγοντα FXII, FIX και XI, και, μέσω του TF, του FVII.

Σημαντικό ρόλο έχουν οι φυσικές αντιπηκτικές πρωτεΐνες πρωτεΐνη C, πρωτεΐνη S και αντιθρομβίνη II (ATII), οι μεν C και S σχηματίζοντας σύμπλοκο με τη μεσολάβηση και της θρομβομοδουλίνης και η ATII μέσω πρόσδεσης στη θρομβίνη, αναστέλλουν την ενεργοποίηση των συμπαραγόντων FV και FVIII και της θρομβίνης, αντίστοιχα. Η αναστολή του μηχανισμού γίνεται με τη συμμετοχή και άλλων μορίων όπως ο tissue factor pathway inhibitor (TFPI).

Ακόμη, παράλληλα με το μηχανισμό της πήξης ενεργοποιείται ο μηχανισμός της ινωδολύσης. Ο σχηματισμός πλέγματος ινώδους ακολουθείται από τη διάσπαση αυτού σε προϊόντα κατάτμησης του ινώδους από την πλασμίνη, προϊόν μετατροπής του πλασμινογόνου, και είναι αλληλένδετος με το μηχανισμό της πήξης σε κοινά σημεία, για παράδειγμα κάποιοι εκ των ενεργοποιητών του είναι οι παράγοντες FXIa και FXIIa. Ο μηχανισμός αυτός ενισχύεται από μόρια όπως ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator- tPA) και ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (urokinase- type plasminogen activator- uPA), και αντίστοιχα αναστέλλεται από μόρια όπως η α2 αντιπλασμίνη, η α2 μακροσφαιρίνη (που αναστέλλουν την πλασμίνη) και ο αναστολέας του tPA (plasminogen activator inhibitor- PAI) (Figure 6).

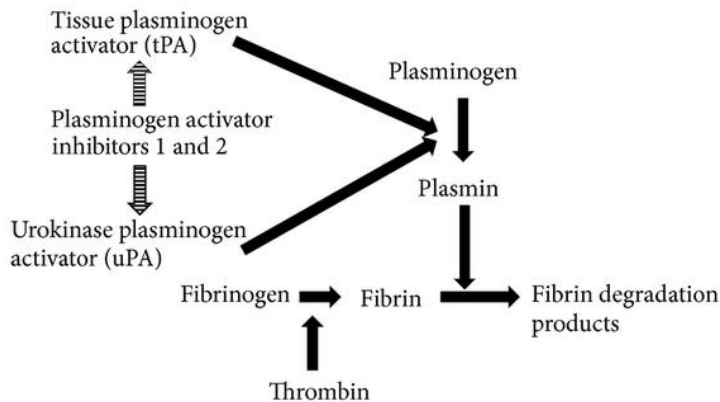


Figure 6. Η οδός της ινωδολύσης.

S. Y. Yildiz et al. Functional Stability of Plasminogen Activator Inhibitor-1. The Scientific World Journal, Volume 2014.

Σύμφωνα με το σύγχρονο, κυτταρικό μοντέλο της πήξης η αγγειοσύσπαση σε συνδυασμό με την αποκάλυψη του ιστικού παράγοντα ύστερα από ιστική βλάβη, οδηγεί σε ενεργοποίηση μέσω του συμπλόκου TF και VII του καταρράκτη της πήξης, οδηγώντας στο σχηματισμό θρομβίνης. Η θρομβίνη αποτελεί ισχυρό

ενεργοποιητή των αιμοπεταλίων, οδηγώντας έτσι σε πρόσδεση των αιμοπεταλίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στο σχηματισμό των συμπλόκων TF- VII στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, συντελώντας στην ενεργοποίηση και αποκοκκίωση των PLTs. Ακόμη, την ιστική βλάβη ακολουθεί η απελευθέρωση VIII, ο οποίος βρίσκεται προσδεδεμένος με τον vWF στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η έκκριση FV και FVIII από τα κοκκία των αιμοπεταλίων, που λειτουργούν ως συμπαραγόντες στην οδό της πήξης, καθώς και FIX και άλλων παραγόντων, οδηγούν σε μαζική παραγωγή θρομβίνης, οδηγώντας έπειτα στην παραγωγή ινώδους και το σχηματισμό πλέγματος ινικής που, μαζί με τα αιμοπετάλια, σχηματίζουν τον ενδαγγειακό θρόμβο.

Ανοσοθρόμβωση

Η ανοσοθρόμβωση περιλαμβάνει όλους τους τρόπους αλληλεπίδρασης ανοσιακών και φλεγμονωδών παραγόντων με το μηχανισμό της πήξης, όταν ενεργοποιείται η φυσική ανοσία για να ελέγξει τοπικά μία λοίμωξη (Florian Gaertner 2016). Περιλαμβάνει διεργασίες και ιδιότητες του μηχανισμού της πήξης, των λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων.

Ένας βασικός μηχανισμός είναι η ενδοθηλιακή βλάβη, όπως μπορεί να πυροδοτείται μέσω τοξινών που εκκρίνονται από παθογόνα, από προϊόντα κυτταρικού θανάτου, και ελεύθερες ρίζες, που παράγονται από τα πολυμορφοπύρρηνα και κυτταρικές διεργασίες.

Τα λευκά αιμοσφαίρια αλληλεπιδρούν με τα αιμοπετάλια μέσω των ζευγών υποδοχέων P- selectin/ PSGL1 και GPIIb/ Mac-1. Ακόμη, τα PLTs απελευθερώνουν PF4 και RANTES (CCL5) που δρουν σαν ενεργοποιητές των WBCs, ενώ αντίστοιχα τα WBCs εκκρίνουν ελαστάση και cathepsin G που ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια (Ferrer Marin F 2021). Τα πολυμορφοπύρρηνα, όπως και τα μονοπύρρηνα, κύτταρα με κεντρική θέση στη φυσική ανοσία, έχει διαπιστωθεί με τη βοήθεια της κυτταρομετρίας ροής ότι σχηματίζουν συσσωματώματα με τα αιμοπετάλια μέσω των υποδοχέων τους. Η επικοινωνία (crosstalk) αυτή αποτελεί θεμέλιο λίθο της ανοσοθρόμβωσης. Επίσης, τα WBCs δρουν μέσω του σχηματισμού ελευθέρων ριζών από τη δράση των οξειδασών τους, της απελευθέρωσης neutrophil extracellular traps (NETs), της αλληλεπίδρασης με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και της μετανάστευσής τους μέσω του ενδοθηλίου.

Τα αιμοπετάλια αποτελούν βασικό ρυθμιστή της ανοσοθρόμβωσης. Η εκκίνηση της συσσώρευσής τους μέσω των υποδοχέων GPIIb/IIIa, η αποκοκκίωση κυτταροκινών,

προθρομβωτικών μορίων και αυξητικών παραγόντων και η σύνθεση θρομβοξάνης που εκκινούνται από την ενεργοποίησή τους, η αλληλεπίδραση μέσω υποδοχέων επιφανείας με ενδοθηλιακά κύτταρα, πολυμορφοπύρρηνα και μονοκύτταρα και η απελευθέρωση μικροσωματιδίων (microparticles- MPs), που φέρουν αυξημένα ποσά ιστικού παράγοντα και φωσφολιπιδίων στην επιφάνειά τους, αποτελούν βασικές διεργασίες που ευοδώνουν τη θρόμβωση σε συνθήκες ανοσιακής απάντησης σε κάποιο ερέθισμα (Figure 7).

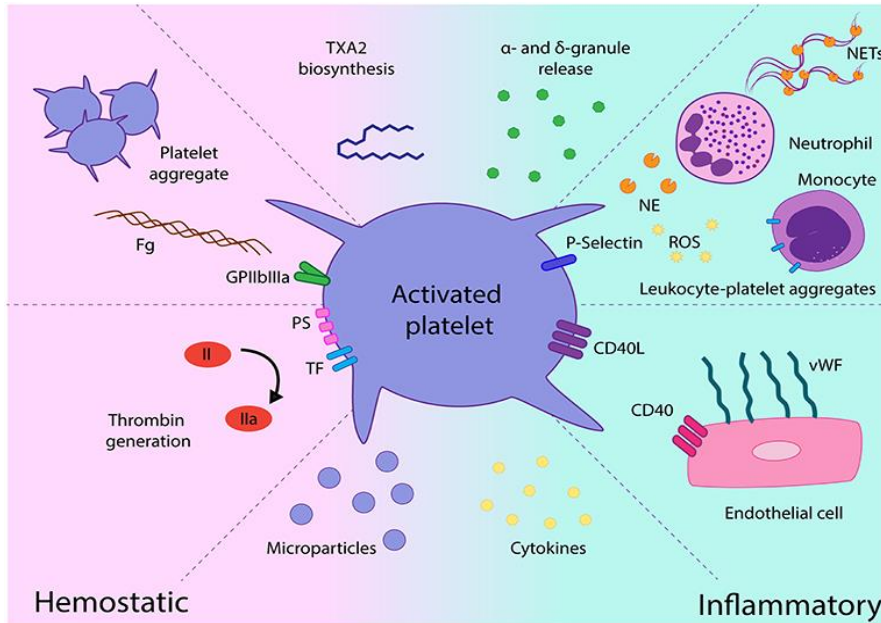


Figure 7. Οι μηχανισμοί της ανοσοθρόμβωσης που περιλαμβάνουν τα αιμοπετάλια, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα λευκά αιμοσφαίρια, με τα αιμοπετάλια σε κεντρικό ρόλο. Cecilia P. Marin Oyarzún and Paula G. Heller. Platelets as mediators of thromboinflammation in chronic inflammation (Frontiers in Immunology, 2019)

Πέραν των αιμοσφαιρίων, κάποιοι επιμέρους σχηματισμοί φαίνεται να δρουν ως επιφάνειες έναρξης σχηματισμού θρόμβου. Τα MPs είναι σωματίδια που προέρχονται από κυτταρικές μεμβράνες και δημιουργούνται ύστερα από κυτταρικές διεργασίες. Τα MPs μπορεί να προέλθουν από όλα τα αιμοσφαίρια, τυπικότερα από τα αιμοπετάλια, και φέρουν υποδοχείς και λοιπά μόρια της μεμβράνης των αιμοσφαιρίων από τα οποία απομακρύνονται. Η παρουσία τους μπορεί να έχει ιδιότητες προπηκτικές και προφλεγμονώδεις, καθώς μέσω των μορίων που εκτίθενται στην επιφάνειά τους αλληλεπιδρούν στην κυκλοφορία με κυτταρικούς υποδοχείς και άλλα μόρια.

Τα NETs είναι εξωκυττάρειες δομές από γενετικό υλικό σε συνδυασμό με ιστόνες και άλλες πρωτεΐνες με δράση αντιμικροβιακή (μυελοϋπεροξειδάση,

μεταλλοπρωτεϊνάση του στρώματος, ελαστάση, πεντραξίνη κλπ (Ferrer Marin F 2021) (Figure 8). Ύστερα από πρόσδεση μορίων στους υποδοχείς τους και την επακόλουθη ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων, η υπεροξειδάση και η ελαστάση των κοκκίων μεταναστεύουν στον πυρήνα του κυττάρου και, μαζί με την ενεργοποίηση του ενζύμου peptidyl arginine deiminase 4 (PAD4), οδηγούν σε αποδόμηση της χρωματίνης, απώλεια της λόβωσης του πυρήνα και σε καταστροφή της πυρηνικής μεμβράνης. Οι πρωτεΐνες που είναι προσδεμένες στη χρωματίνη και εξέρχονται στον εξωκυττάριο χώρο δημιουργούν μία δομή που όχι μόνο μπορεί να ακινητοποιήσει και να σκοτώσει παθογόνα αλλά και να αποτελέσει περιοχή έναρξης δημιουργίας θρόμβου.

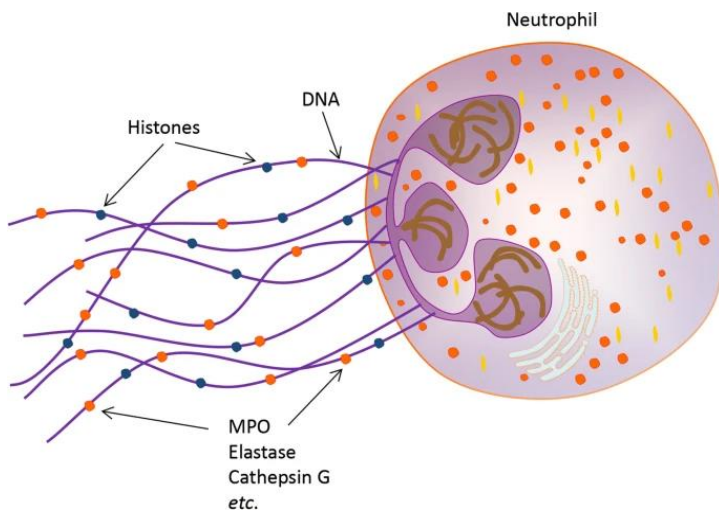


Figure 8. Η δομή ενός NET.

Yang Wang, Yulan Liu. *Neutrophil-Induced Liver Injury and Interactions Between Neutrophils and Liver Sinusoidal Endothelial Cells. Inflammation.* 2021

Οι Poly P είναι αρνητικά φορτισμένα πολυμερή φωσφορικών με αιμοπεταλιακή συνήθως προέλευση. Τα μόρια αυτά προάγουν την ενεργοποίηση των παραγόντων FXII, FV, FXI, (δράση όμοια με την ενεργοποίηση της πήξης μέσω του συστήματος επαφής), ενώ αναστέλλουν την ινωδόλυση. Η ενεργοποίηση του FXII οδηγεί σε σχηματισμό σταθερότερης ινικής, λόγω του ιδιαίτερου ρόλου του στη σταθεροποίηση του πλέγματος ινώδους.

Η μελέτη του μηχανισμού της πήξης γίνεται με ποικίλες μεθόδους, όπως τις κλασικές δοκιμασίες πήξης (PT, aPTT), τη μέτρηση των επιπέδων παραγόντων της πήξης και της ινωδόλυσης (συνήθως των d- dimers, ινωδογόνο, vWF αντιγόνο και δραστηριότητα), τις λειτουργικές δοκιμασίες όπως ο λειτουργικός έλεγχος των

αιμοπεταλίων (aggregometry, PFA- 100) και τις νεότερες σφαιρικές μεθόδους, όπως η θρομβοελαστογραφία. Η θρομβοελαστογραφία αποτελεί συνολική εκτίμηση του μηχανισμού της πήξης, συμπεριλαμβανομένης της λειτουργικής κατάστασης των αιμοπεταλίων, του καταρράκτη πήξης, και της ινωδολυτικής δραστηριότητας. Προς το παρόν, η θρομβοελαστογραφία χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη κυρίως σε περιπτώσεις όπως μείζονα χειρουργεία με χρήση καρδιοπνευμονικής παράκαμψης ή μεταμόσχευση ήπατος όπου η κατάσταση του πηκτικού μηχανισμού δε γίνεται να μελετηθεί με τον κλασικό πηξιολογικό έλεγχο.

Κεφάλαιο 2: Μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα

Περιγραφή- Επιδημιολογία

Τα μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα ή νεοπλάσματα (MYN) είναι μία ετερογενής ομάδα κλωνικών νοσημάτων του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου, τα οποία χαρακτηρίζονται από ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων μίας ή περισσότερων σειρών του αίματος. Τα MYN έχουν σαφώς διαφορετική γενετική βάση, βιολογική συμπεριφορά, καθώς και θεραπευτική αντιμετώπιση.

Η ταξινόμηση των MYN έχει υποβληθεί σε αρκετές τροποποιήσεις στα συστήματα ταξινόμησης νοσημάτων. Η πιο πρόσφατη ταξινόμηση είναι εκείνη του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization- WHO) του 2016. Σε αυτή διαχωρίζονται τα μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα και η ομάδα των μυελοδυσπλαστικών/ μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων (ΜΔΣ/MYN), ως νοσήματα με ιδιαίτερα βιολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά μεταξύ των δύο ομάδων νοσημάτων.

Στα MYN συγκαταλέγονται η χρόνια μυελοενης λευχαιμία θετική για τη διαμετάθεση (9,22) (BCR-ABL+), η χρόνια ουδετεροφιλική λευχαιμία (CNL), η αληθής πολυκυτταραιμία (PV), η ιδιοπαθής θρομβοκυττάρωση (ET), η πρωτοπαθής μυελοίνωση (PMF), η χρόνια ηωσινοφιλική λευχαιμία που δεν οφείλεται σε άλλο νεόπλασμα, και το αταξινόμητο MYN. Η PMF ταξινομείται περαιτέρω στο προινωτικό/ πρώιμο στάδιο (prefibrotic/early stage) και το ινωτικό στάδιο (overt fibrotic stage) (Table 1).

2016 WHO classification of MPNs
CML, BCR-ABL1-positive
CNL
PV
PMF
PMF, prefibrotic/early stage
PMF, overt fibrotic stage
ET
Chronic eosinophilic leukemia, NOS
MPN, unclassifiable

Table 1. F Passamonti, M Maffioli. Update from the latest WHO classification of MPNs: a user's manual. Hematology Am Soc Hematol Educ Program (2016)

Τα philadelphia (-) MYN ή κλασικά MYN αντιμετωπίζονται σαν μία ξεχωριστή ομάδα νοσημάτων, καθώς έχουν κοινή καταβολή από άποψη μοριακών χαρακτηριστικών και παθοφυσιολογίας, και έχουν μελετηθεί σημαντικά σαν ομάδα νοσημάτων. Τόσο η PV όσο και η ET παρουσιάζουν κίνδυνο μετάπτωσης σε δευτεροπαθή μυελοίνωση (post- PV/ post- ET MF) με δυσμενείς επιπτώσεις στην πρόγνωση του ασθενούς. Χαρακτηρίζονται από την συχνότατη παρουσία γενετικών μεταλλάξεων που οδηγούν σε υπέρμετρη δραστηριότητα του μονοπατιού JAK/STAT, οδηγώντας σε αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών, χημειοκινών και αυξητικών παραγόντων.

Τα MYN είναι σπάνια νοσήματα. Συγκεκριμένα, η υπολογιζόμενη συχνότητα της ET ετησίως στην Αμερική μεταξύ 2001 και 2016 υπολογίζεται σε 1,14 ανά 100.000 ανθρωποέτη, η συχνότητα της PV σε 1,18 ανά 100.000 ανθρωποέτη και η συχνότητα της PMF προσδιορίζεται περίπου στο 0,33 ανά 100.000 ανθρωποέτη (Shallis RM 2020). Στην PV και στη PMF προεξάρχον είναι το άρρεν φύλο, ενώ στην ET είναι το θήλυ φύλο.

Τα θρομβωτικά και αιμορραγικά επεισόδια αποτελούν τις συχνότερες επιπλοκές των MYN. Μελέτες σε ικανά δείγματα ασθενών έχουν πραγματοποιηθεί κυρίως σε ασθενείς με PV και ET όπου οι συχνότητες θρομβωτικών και αιμορραγικών συμβάντων δεν παρουσιάζουν σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Η συχνότητα θρομβωτικών επεισοδίων φαίνεται συχνότερα να είναι μεγαλύτερη πριν

και κατά τη διάγνωση, ενώ οι φλεβικές θρομβώσεις είναι μάλλον συχνότερες στην PMF.

Στην PV, η υπολογιζόμενη συχνότητα θρομβωτικών επεισοδίων σύμφωνα με τη μελέτη ECLAP είναι περίπου 5,5% patient- years (Landolfi R 2007). Στην ET, οι μελέτες συγκλίνουν σε συχνότητα θρομβωτικών επεισοδίων που υπολογίζεται σε 1-3% patient- years (Carobbio 2018) (Passamonti 2008). Στην PMF, μελέτη 205 ασθενών με MF ανέδειξε ότι πριν και κατά τη διάγνωση θρόμβωση υπέστη το 13,2% των ασθενών, με το 10,2% να είναι αρτηριακές και το 3,4% φλεβικές, ενώ κατά την περίοδο follow up μετά τη διάγνωση η συχνότητα θρόμβωσης ήταν 10,8%, με το 4,4% να είναι αρτηριακές και το 7,8% να είναι φλεβικές (Michelle Ann Elliott 2010). Οι θρομβώσεις σε ασυνήθεις θέσεις είναι επίσης συχνότερες στην PMF, όπως η θρόμβωση μεσεντερικών φλεβών και το Budd Chiari syndrome (Saliba 2020).

Η διαστρωμάτωση κινδύνου (risk stratification) σχετικά με την κλινική πορεία των ασθενών γινόταν κλασικά, σε όλους τους ασθενείς, με βάση τους παράγοντες της ηλικίας άνω των 60 ετών και του ιστορικού θρόμβωσης (φλεβικής είτε αρτηριακής). Σε αυτό, ασθενείς με κανένα εκ των δύο παραγόντων θεωρούνταν ως χαμηλού κινδύνου (low risk), ενώ ασθενείς με ένα ή δυο εκ των παραγόντων κινδύνου ως υψηλού κινδύνου (high risk). Σε αναθεώρηση του κλασικού μοντέλου, το αναθεωρημένο μοντέλο διαστρωμάτωσης κινδύνου International Prognostic Stratification for Essential Thrombocythemia (Table 2) συμπεριλαμβάνει στους παραπάνω παράγοντες και την ύπαρξη της μετάλλαξης JAK2V617F, υπάρχει δε αναφορά και στην ύπαρξη παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (Barbui 2015). Βάσει των παραγόντων οι ασθενείς κατηγοριοποιούνται σε very low, low, intermediate και high risk.

Table 2. Revised International Prognostic Score of Thrombosis for Essential Thrombocythemia (IPSET-thrombosis)

Risk factors	Age > 60 yr
	Prior thrombosis
	JAK2V617F mutation
Risk groups	Very low-risk: no prior thrombosis, age ≤ 60 yr, wild-type JAK2
	Low-risk: no prior thrombosis, age ≤ 60 yr, JAK2-mutated
	Intermediate-risk: no prior thrombosis, age > 60 yr, wild-type JAK2
	High-risk: prior thrombosis or age > 60 yr and JAK2-mutated

Adapted from Barbui T, Vannucchi AM, Buxhofer-Ausch V, et al. Practice-relevant revision of IPSET-thrombosis based on 1019 patients with WHO-defined essential thrombocythemia. Blood Cancer J 2015;5:e369.

Table 2. International Prognostic Stratification for Essential Thrombocythemia (IPSET)

Τέλος, οι ασθενείς έχουν αυξημένο κίνδυνο μετάπτωσης του νοσήματος σε δευτεροπαθή οξεία μυελογενή λευχαιμία (acute myeloid leukemia- AML). Η δευτεροπαθής AML σε έδαφος MYN χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα κακή πρόγνωση και προσδόκιμο επιβίωσης.

Παθοφυσιολογία

Τα MYN είναι κλωνικά αιματολογικά νοσήματα όπου η γενετική βλάβη σε επίπεδο αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου οδηγεί στην πλειοψηφία των περιπτώσεων σε υπέρμετρη ενεργοποίηση του Janus Kinase- signal transducer and activator of transcription (JAK- STAT) μονοπατιού.

Φυσιολογικά η ενεργοποίηση του μονοπατιού ξεκινά από την ενεργοποίηση υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης μέσω κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων. Η διαβίβαση σήματος οδηγεί σε ενεργοποίηση και διμερισμό της JAK κινάσης, που ακολούθως φωσφορυλιώνει την STAT3, η οποία μεταφέρεται στον πυρήνα του κυττάρου ενεργοποιώντας ή απενεργοποιώντας αντίστοιχα μεταγραφικούς παράγοντες (Figure 1). Το μονοπάτι “διασταυρώνεται” (cross-talk) και συντελεί στην ενεργοποίηση και άλλων μονοπατιών, όπως τα PI3K/AKT και MAPK, οδηγώντας, μέσω μορίων όπως το STAT5, στη μεταγραφή γονιδίων που ευνοούν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό, όπως αυξητικών παραγόντων, ογκογονιδίων (VEGF, Bcl-2) καθώς και την αναστολή μεταγραφής γονιδίων, όπως η p53. Ακόμη, μέσω μορίων όπως το STAT1/3, οδηγεί σε ενίσχυση της φλεγμονώδους αντίδρασης με την παραγωγή κυτταροκινών και τη δράση λευκών αιμοσφαιρίων (WBCs) (Hermouet 2015).

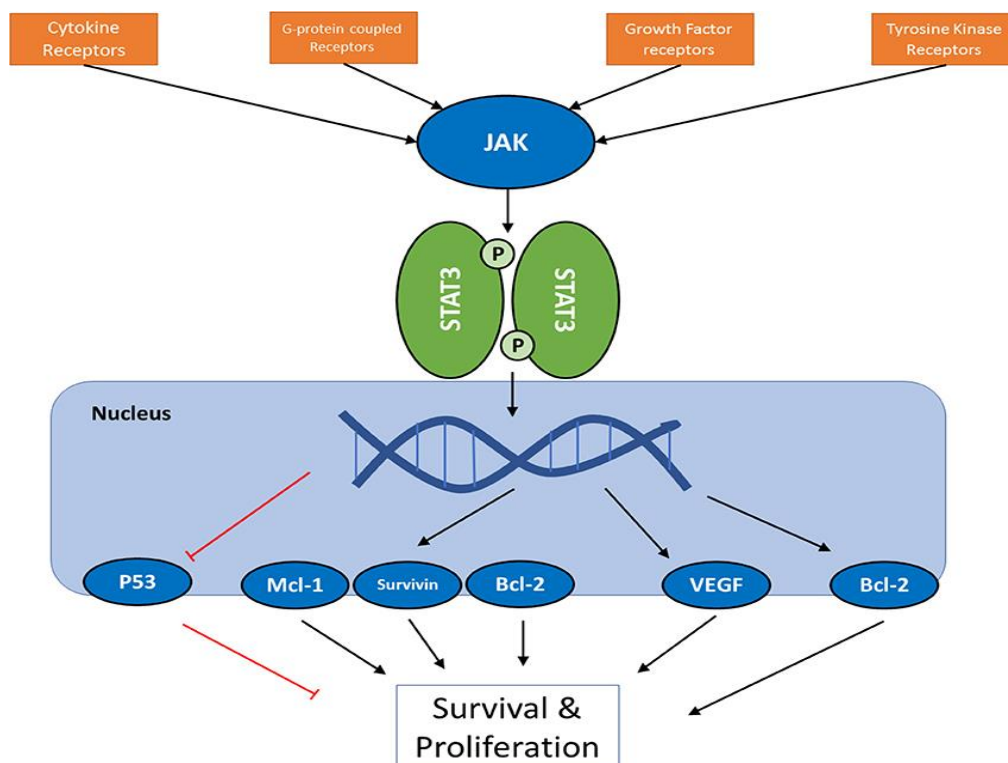


Figure 1. Σχηματική αναπαράσταση λειτουργίας JAK- STAT μονοπατιού στα καρκινικά κύτταρα

E Bousoïk and H Montazeri Aliabadi. Front. Oncol., 31 July 2018

Μοριακές βλάβες που επηρεάζουν την ενεργοποίηση του μονοπατιού JAK/STAT έχουν ως αποτέλεσμα τη διαρκή ενεργοποίηση του, με αποτέλεσμα τη συνεχή ενεργότητα των STAT κινασών, οδηγώντας σε ανεξέλεγκτη παραγωγή κυτταροκινών και κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Η πρώτη μοριακή βλάβη που ανακαλύφθηκε η οποία χαρακτηρίζει τυπικά τα MYN είναι η μετάλλαξη JAK2V617F, η οποία οδηγεί σε αλλαγή μίας βαλίνης στη θέση 617 σε φαινυλαλανίνη στο γονίδιο JAK. Η JAK2V617F είναι παρούσα στο 90-95% των ασθενών με PV και περίπου στο 50-60% των ασθενών με ET ή PMF. Συχνή μετάλλαξη του JAK είναι και η μετάλλαξη του εξονίου 12 (exon 12), μετάλλαξη για την οποία ακόμη γίνεται έλεγχος κατά την έναρξη διερεύνησης για τη νόσο, συνήθως σε περίπτωση που τα μοριακά ευρήματα δε συνάδουν με σαφή κλινικοεργαστηριακή εικόνα MYN.

Η δεύτερη μετάλλαξη με παθογενετική συσχέτιση με τα MYN είναι η μετάλλαξη του γονιδίου της καλρετικουλίνης (calreticulin- CALR), πρωτεΐνης με δράση δέσμευσης του ενδοκυττάριου ασβεστίου, μετάλλαξη της οποίας οδηγεί σε συνεχή διαβίβαση σήματος και ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων του JAK/STAT. Η μετάλλαξη εντοπίζεται σε 20-30% των ασθενών με ET ή PMF. Τέλος, η τρίτη

συχνότερα απαντούμενη μετάλλαξη είναι εκείνη του υποδοχέα θρομβοποιητίνης (myeloproliferative leukemia- MPL) που εντοπίζεται σε 1-10% των ασθενών με ET και PMF. Οι MPL μεταλλάξεις σταθεροποιούν τον MPL, τον κυτταρικό υποδοχέα της TPO, ο οποίος διμερίζεται. Η TPO είναι γνωστό ότι διεγείρει τα μονοπάτια JAK/STAT (κυρίως STAT1 και STAT3) και επιπλέον τα PI3K/ AKT, ERK, p38, NF-κB, HIF (Hermouet 2015) (Figure 2). Οι ασθενείς που δεν έχουν καμία από τις κυρίαρχες μεταλλάξεις, οι λεγόμενοι τριπλά αρνητικοί, αποτελούν το 10-25% των ασθενών (Cecilia P. Marin Oyarzun 2019). Η μετάλλαξη JAK2V617F είναι αυτή που έχει μελετηθεί περισσότερο, κυρίως λόγω της μεγαλύτερης συχνότητάς της.

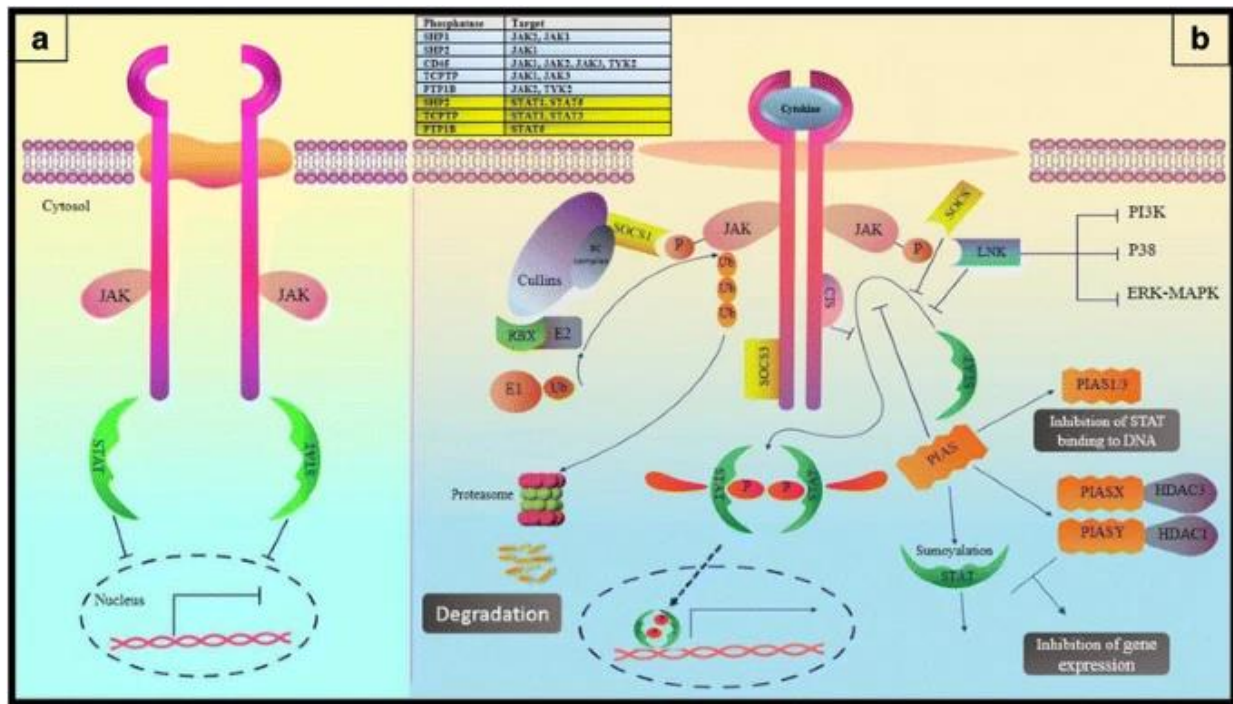


Figure 2. Cross- talk μονοπατιών στη JAK/STAT σηματοδότηση
Seif F et al. Cell Communication and Signaling, 2017

Πέραν των μοριακών μεταλλάξεων αυτών, τα MYN παρουσιάζουν ένα μοριακό προφίλ και άλλων βλαβών, όπως οι μεταλλάξεις γονιδίων που επιφέρουν επιγενετικές μεταβολές στο γενετικό υλικό και με αυτό τον τρόπο μεταβολή στην έκφραση γονιδίων, για παράδειγμα οι ten- eleven translocation 2 (TET2), DNMT3, ASXL1, η μετάλλαξη της isocitrate dehydrogenase1/2 (IDH1/IDH2) (Reikvam 2012), αλλά και γονιδίων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στο RNA splicing όπως η SF3B1.

Το MPL/JAK2 μονοπάτι ενεργοποιείται από τις 3 μεταλλάξεις- οδηγούς των MYN (JAK2V617F, CALR, MPL) οδηγώντας σε υπερπλασία των μεγακαρυοκυττάρων,

η οποία εξελίσσεται σε δυσπλασία, διεργασία που αποτελεί βασικό καθοριστή της εξέλιξης των MYN (Vainchenker 2017).

Τα MKK κυρίως εμπλέκονται στην παραγωγή των αιμοπεταλίων (ΑΜΠ), και παίζουν κεντρικό ρόλο στην αιμοποιητική φωλεά του μυελού ρυθμίζοντας την επιβίωση και εξέλιξη των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (hemopoietic stem cells- HSCs). Οι μηχανισμοί με τους οποίους φαίνεται να συμβαίνει αυτό είναι η αναδιαμόρφωση (remodelling) στο μυελό με την έκκριση TGFβ1, ο ρόλος του PDGF και του VEGF, που οδηγούν σε διέγερση των ινοβλαστών και προοδευτικά σε μυελοίνωση, η έκκριση IL-1α που οδηγεί σε διέγερση των στρωματικών κυττάρων εκκινώντας επίσης τη δημιουργία ίνωσης και ο ρόλος του TGFβ1 και της οστεοπροτεγερίνης (OPG) που οδηγούν σε νεοοστεογένεση (Figure 3).

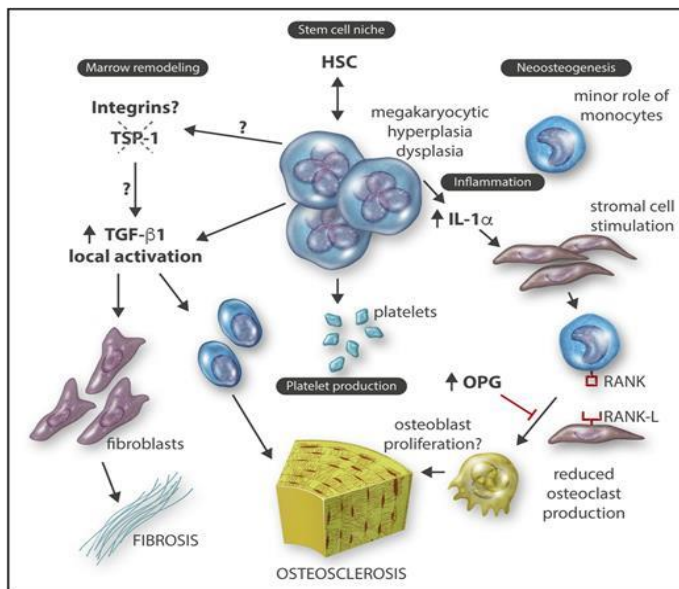


Figure 3. Απεικόνιση της δράσης των μεγακαρυοκυττάρων στο μυελό των οστών. Vainchenker W, Kralovics R. *ASH*, 2017. Professional illustration by Somersault18:24.

Αποτέλεσμα των μηχανισμών αυτών είναι η ενεργοποίηση της φλεγμονής σε επίπεδο μυελού, κυκλοφορίας και ιστών. Υψηλά επίπεδα κυτταροκινών, χημειοκινών, αυξητικών παραγόντων, εντοπίζονται στην αιματική κυκλοφορία, αλλά και στο μυελό των οστών (Čokić 2015). Επίσης, η ιδιαίτερη προδιάθεση για φλεβικές θρομβώσεις στην περιοχή της πυλαίας φλέβας και λοιπών αγγείων της ανατομικής περιοχής οδήγησε σε μελέτες του σπληνός σε *in vitro* μοντέλα, αναδεικνύοντας υψηλούς δείκτες ενδοθηλιακής ενεργοποίησης (Edelmann B 2019).

Κλινική εικόνα - Θρομβωτικά επεισόδια (Αρτηριακή/ Φλεβική θρόμβωση)

Οι ασθενείς με MYN είναι συχνά ασυμπτωματικοί. Ιδιαίτερα συνήθης, ιδιαίτερα στην PV και την ET, είναι η διάγνωση της νόσου ύστερα από τυχαίο έλεγχο γενικής αίματος, ή ύστερα από ένα θρομβωτικό επεισόδιο. Η PV χαρακτηρίζεται συνήθως από υψηλές τιμές ερυθρών αιμοσφαιρίων, αιμοσφαιρίνης και αιματοκρίτη, και πιθανώς υψηλή τιμή αιμοπεταλίων ή και λευκών αιμοσφαιρίων. Η ET χαρακτηρίζεται από υψηλή τιμή αιμοπεταλίων ή και λευκών αιμοσφαιρίων.

Η συχνότερη εκδήλωση της νόσου είναι τα θρομβωτικά επεισόδια, αρτηριακής, φλεβικής ή και μικροαγγειακής εντόπισης, τα οποία οδηγούν στην ανάλογη κλινική εικόνα αναλόγως της εντόπισής τους. Η αρτηριακή θρόμβωση μοιάζει να είναι συχνότερη από τη φλεβική σε ασθενείς άνω των 60 ετών, ενώ σε νεότερους ασθενείς συχνότερη είναι η φλεβική θρόμβωση. Πιο ειδικά, τυπικό γνώρισμα είναι η ασυνήθης εντόπιση των θρομβώσεων με εντόπιση στα ενδοκοιλιακά και τα εγκεφαλικά αγγεία, ιδιαίτερα σε έγκυες γυναίκες, όπου εντοπίζονται συχνότερα η θρόμβωση εγκεφαλικών αγγείων, φλεβωδών κόλπων και πλακούντα. Είναι σημαντικό ότι νέο περιστατικό θρόμβωσης σε ασθενή με ελεύθερο ατομικό αναμνηστικό εγείρει, στο πλαίσιο της διαφορικής διάγνωσης, ισχυρά το ενδεχόμενο πρώτης διάγνωσης MYN. Συχνά παρατηρούνται και υποτροπιάζοντα θρομβωτικά επεισόδια, έχει παρατηρηθεί δε ότι η εντόπιση της υποτροπιάζουσας θρόμβωσης μπορεί να είναι στην αγγειακή περιοχή όπου συνέβη το πρώτο επεισόδιο (Landolfi R 2007). Τα θρομβωτικά επεισόδια είναι συχνότερα κατά τη διάγνωση ή στο διάστημα δύο ετών προ της διάγνωσης του ασθενούς, οπότε και θεωρείται ότι σχετίζονται με τη νόσο, ενώ θρομβώσεις που έχουν συμβεί περισσότερα από 2 έτη προ της διάγνωσης δε θεωρείται απόλυτα ότι σχετίζονται. Ακόμη, συχνά είναι και τα αιμορραγικά επεισόδια, είτε λόγω λήψης αντιπηκτικής αγωγής είτε στο πλαίσιο των αιμοδυναμικών διαταραχών της νόσου.

Η εντόπιση του θρομβωτικού επεισοδίου δημιουργεί την ανάλογη κλινική εικόνα και συμπτωματολογία. Το κοιλιακό άλγος μπορεί να αποτελεί την εκδήλωση θρόμβωσης πυλαίας φλέβας ή άλλων ενδοκοιλιακών αγγείων, με χαρακτηριστικό εύρημα τη δυσαναλογία μεταξύ κλινικής εικόνας (οξύ άλγος) και των σημειολογικών ευρημάτων. Διαταραχές κινητικότητας, αισθητικότητας ή εγκεφαλικών συζυγιών, ζάλη, κεφαλαλγία, μπορεί να αποτελούν την εκδήλωση θρομβώσεων εγκεφαλικών αγγείων. Η κεφαλαλγία μπορεί να αποτελεί ένδειξη θρόμβωσης φλεβώδους κόλπου, επιπλοκή με συχνότερη εμφάνιση σε νέες γυναίκες. Επιπροσθέτως, συχνή εκδήλωση στο πλαίσιο μικροαγγειακών διαταραχών είναι συμπτωματολογία όπως ζάλη, ίλιγγος, κεφαλαλγία, και δευτεροπαθή

ερυθρομελαλγία, δηλαδή ερυθρότητα των άκρων που συνοδεύεται από έντονο πόνο (Figure 4).



Actas Dermosifiliogr. 2020;111:885-6

Figure 4. Δευτεροπαθής ερυθρομελαλγία σε JAK2V617F+ PV

Οι ασθενείς μπορεί να εκδηλώνουν συστηματικά συμπτώματα όπως κόπωση, πυρετό, κνησμό, απώλεια βάρους, νυκτερινές εφιδρώσεις. Τα συμπτώματα εξηγούνται πιθανώς από την αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών εκ νόσου, μπορεί να είναι ιδιαίτερα ενοχλητικά για τον ασθενή, και αποτελούν ένδειξη ενεργότητας νόσου καθώς και ανάγκης για θεραπευτική αντιμετώπιση. Στο πλαίσιο της ανακούφισης και της αξιολόγησης της θεραπείας χρησιμοποιούνται εργαλεία αξιολόγησης βαρύτητας συμπτωμάτων MYN (MPN symptom assessment form) την οποία μπορεί να παρέχει στον ασθενή ο ιατρός.

Ασθενείς με PMF μπορεί να παρουσιάζουν επιπλοκές λόγω των κυτταροπενιών. Ωχρότητα, ταχυκαρδία, αδυναμία- καταβολή λόγω αναιμίας, λοιμώξεις λόγω ουδετεροπενίας και αιμορραγική διάθεση όπως εκχυμώσεις, επίσταξη, απώλεια αίματος από το πεπτικό ή το ουροποιητικό, ακόμη και ενδοεγκεφαλική αιμορραγία, λόγω της θρομβοπενίας. Ακόμη, η σπληνομεγαλία μπορεί να αποτελεί εκδήλωση της PMF, ανήκει μάλιστα στα αίτια μαζικής σπληνομεγαλίας (κεφαλουραία διάμετρος σπλήνα περισσότερο από 20 εκατοστά). Ως αποτέλεσμα αυτής οι ασθενείς μπορεί να παρουσιάζουν αίσθημα βάρους και άλγος αριστερού υποχονδρίου.

Σε περίπτωση ιδιαίτερα υψηλής τιμής αιμοπεταλίων στην ET, ιδιαίτερα >1.000.000/ μ L, ο ασθενής μπορεί να παρουσιάζει αιμορραγική διάθεση που αποδίδεται σε

επίκτητο νόσο von Willebrand (vWD) και εκφράζεται με εκδηλώσεις όπως εκχυμώσεις ή επίσταξη.

Διάγνωση

Τα σύγχρονα διαγνωστικά κριτήρια για τα MYN είναι τα διαγνωστικά κριτήρια κατά WHO του 2016.

Τα παθολογικά όρια αιμοσφαιρίνης για τη διάγνωση της PV είναι τιμή περισσότερο από 16,5 g/dL για τους άνδρες και περισσότερο από 16 g/dL για τις γυναίκες. Η παθολογική αύξηση του αιματοκρίτη, ο συμβατός μορφολογικά μυελός, η ύπαρξη JAK2V617F μετάλλαξης ή μετάλλαξης εξονίου 12 αποτελούν τα μείζονα κριτήρια, και η ερυθροποιητίνη ορού κάτω από το φυσιολογικό όριο αποτελεί το έλασσον κριτήριο για τη διάγνωση της PV. Εξ αυτών, τα 3 μείζονα ή τα πρώτα 2 μείζονα και το έλασσον κριτήριο αρκούν για τη διάγνωση της PV (Swerdlow HS 2017).

Τα μείζονα διαγνωστικά κριτήρια της ET περιλαμβάνουν τη θρομβοκυττάρωση (PLT > 450.000/μL), το συμβατό μορφολογικά μυελό, την παρουσία της JAK2, CALR, ή MPL μετάλλαξης, και την ασυμφωνία διάγνωσης βάσει των κριτηρίων κατά WHO άλλων μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων, μυελοειδών νεοπλασιών ή μυελοδυσπλαστικών νοσημάτων. Το έλασσον κριτήριο είναι η παρουσία κλωνικού δείκτη ή η απουσία στοιχείων αντιδραστικής θρομβοκυττάρωσης. Η διάγνωση απαιτεί τα 4 μείζονα ή τα 3 μείζονα και το 1 έλασσον κριτήριο.

Τα μείζονα διαγνωστικά κριτήρια της PMF διακρίνονται στα κριτήρια της προινωτικής και της ινωτικής μορφής της PMF περιλαμβάνουν το συμβατό για την καθεμία μορφολογικά μυελό, την παρουσία της JAK2, CALR, ή MPL μετάλλαξης, και την ασυμφωνία διάγνωσης βάσει των κριτηρίων κατά WHO άλλων μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων, μυελοειδών νεοπλασιών ή μυελοδυσπλαστικών νοσημάτων. Τα ελάσσονα κριτήρια περιλαμβάνουν τη λευκοκυττάρωση (WBC > 11.000/μL), την παθολογική αύξηση της LDH, την αναιμία που δεν οφείλεται σε άλλο αίτιο, τη ψηλαφητή σπληνομεγαλία και, για την ινωτική PMF, τη λευκοερυθροβλαστική αντίδραση.

Ένα σημαντικό στοιχείο είναι ότι η οστεομυελική βιοψία, βάσει των διαγνωστικών κριτηρίων, δεν είναι απαραίτητη σε JAK2V617F θετικούς ασθενείς με χαμηλή EPO ορού για τη διάγνωση της PV, όμως έχει σημαντική προγνωστική αξία για την κλινική εικόνα και το θρομβωτικό κίνδυνο του ασθενούς, όπως θα δούμε στη συνέχεια της ανασκόπησης, έχει δε ρόλο και ως baseline εξέταση, στο πλαίσιο της παρακολούθησης του νοσήματος.

Θεραπεία

Η θεραπεία των κλασικών MYN έχει ως στόχους τον έλεγχο της νόσου, την πρόληψη θρομβώσεων, τόσο πρώτου επεισοδίου όσο και υποτροπής, τη βελτίωση των συμπτωμάτων και ως εκ τούτου της ποιότητας ζωής, καθώς και τη θεραπευτική αντιμετώπιση θρομβώσεων. Ο θεραπευτικός αλγόριθμος των MYN από το 2015 διαχωρίζει την αντιμετώπιση βάσει διαστρωμάτωσης κινδύνου (Figure 5).

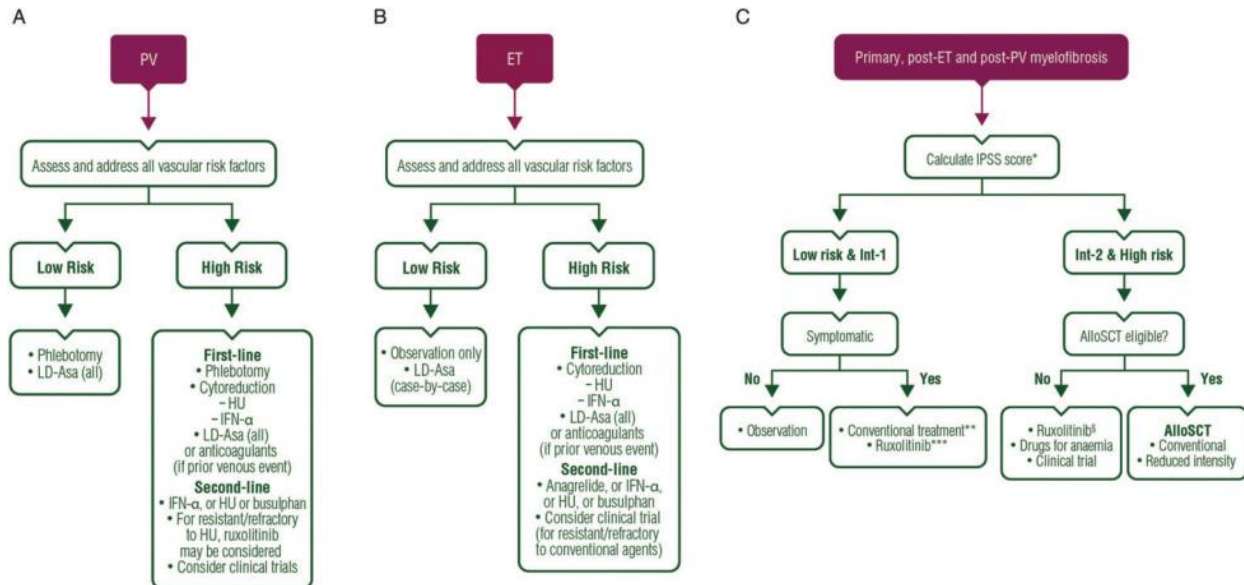


Figure 5. Θεραπευτικός αλγόριθμος των MYN

Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up

A.M. Vannucchi T. Barbui F. Cervantes C. Harrison J.-J. Kiladjan N. Kröger J. Thiele C. Buske on behalf of the ESMO Guidelines Committee. *Annals of Oncology*, 2015

Η αφαίμαξη αποτελεί θεραπευτικό χειρισμό με θέση στη χαμηλού κινδύνου PV, καθώς και σε συνδυασμό με κυτταρομειωτική αγωγή στη high risk PV. Η μεγάλη, κλασική μελέτη CYTO- PV το 2013 έδειξε ότι ο έλεγχος του Ht <45% στους ασθενείς με PV έχει ρόλο στη μείωση των θρομβωτικών επεισοδίων σε σύγκριση με τους ασθενείς με Ht 45-50% (Marchioli 2013).

Στους ασθενείς με θρομβοκυττάρωση, γίνεται χορήγηση ασπιρίνης σε καθημερινή βάση, με σκοπό την αναστολή της ενεργοποίησης και συγκόλλησης των αιμοπεταλίων, που μπορεί να οδηγήσει σε θρομβογένεση. Η χρήση της συνιστάται σε ασθενείς χαμηλού κινδύνου με PV και ET, ανεξάρτητα από το εάν έχουν υποστεί αρτηριακή θρόμβωση. Η χορήγηση ασπιρίνης δε συστήνεται στην περίπτωση όπου

ο αριθμός αιμοπεταλίων είναι $>1.000.000/\mu\text{L}$ λόγω του κινδύνου επίκτητου νόσου vWD.

Η κυτταρομειωτική αγωγή (cytoreductive treatment) χορηγείται με επιθυμητό αποτέλεσμα τη μείωση των κυτταρικών σειρών και τον έλεγχο της νόσου, και χρησιμοποιείται στη high risk ET και PV και στην MF. Ιστορικά στο πλαίσιο του ελέγχου ποσοτικά των κυτταρικών σειρών χορηγούνταν παράγοντες όπως ο ραδιενεργός φώσφορος, η μελφαλάνη και, νεότερα, η αναγρελίδη και η υδροξουρία (HU). Το όφελος έναντι στην τοξικότητα και τον κίνδυνο εκτροπής σε μυελογενή κακοήθεια έχει οδηγήσει στο να απομακρυνθούν από τη θεραπευτική αντιμετώπιση κάποιοι εκ των παραγόντων. Η κυτταρομειωτική αγωγή γίνεται κλασικά με τη χορήγηση υδροξουρίας (ή υδροξυκαρβαμίδη), η οποία αναστέλλει την παραγωγή των δεοξυριβονουκλεοτιδίων, αναστέλλοντας την αντιγραφή του γενετικού υλικού και ως εκ τούτου την παραγωγή νέων αιμοσφαιρίων, χωρίς σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες.

Ο παράγοντας που προστέθηκε στη φαρέτρα της κυτταρομειωτικής αγωγής το 2011 με εξαιρετικά αποτελέσματα είναι το ruxolitinib, αναστολέας του JAK1/2 υποδοχέα που καταστέλλει την ενεργοποίηση του JAK/STAT μονοπατιού, οδηγώντας σε μείωση της παραγωγής κυτταροκινών ως αποτέλεσμα αυτού. Η θέση του στο θεραπευτικό αλγόριθμο των MYN είναι σε υψηλού κινδύνου PV επί αποτυχίας χορήγησης της HU, καθώς και σε μετρίου και υψηλού κινδύνου PMF, είτε post- PV MF, ή post- ET MF (Greenfield 2018) (S. Verstovsek 2012) (S. Verstovsek 2015) (Harrison 2012). Άλλες επιλογές φαρμάκων, σε περίπτωση αποτυχίας της HU είναι η βουσουλφάνη και η αναγρελίδη. Ακόμη, από το 2019 έγκριση έχει λάβει και ο ημικλεκτικός JAK2 αναστολέας fedratinib, με ένδειξη χρήσης στην Ευρωπαϊκή Ένωση σε ασθενείς με PMF ή post- PV MF ή post- ET MF, σε ασθενείς που δεν έχουν λάβει JAK αναστολέα, ή ύστερα από αποτυχία του ruxolitinib.

Η ιντερφερόνη α (IFNα) και συγκεκριμένα η πεγκυλιωμένη IFNα αποτελεί ένα ακόμη νεότερο φάρμακο, με υποσχόμενη ανοσοτροποποιητική δράση, καθώς και δράση που μεταβάλλει τη φυσική ιστορία της νόσου (disease modifying treatment). Στο θεραπευτικό αλγόριθμο της νόσου το νέο σκεύασμα μονο-πεγκυλιωμένης IFNα (ropeginterferon α 2b) έχει θέση από το Νοέμβριο του 2021, στην PV και την ET υψηλού κινδύνου, σαν έτερη επιλογή πέραν της HU και του ruxolitinib. Η χρήση της μελετάται ευρέως σε κλινικές μελέτες, τόσο σαν επιλογή σε συγχορήγηση με το ruxolitinib (σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με ruxolitinib), με εξαιρετικά αποτελέσματα όσο και σε σύγκριση με την αναγρελίδη, στην οποία φαίνεται να υπερτερεί (Bewersdorf 2020) (Sørensen 2020).

Οι ασθενείς που έχουν υποστεί θρομβωτικό επεισόδιο λαμβάνουν αντιαιμοπεταλιακή και αντιπηκτική αγωγή ύστερα από αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση αντίστοιχα. Το αντιαιμοπεταλιακό εκλογής είναι η ασπιρίνη, όπως και στην προφυλακτική χορήγηση, ενώ η αντιπηκτική αγωγή μπορεί να περιλαμβάνει τα κουμαρινικά αντιπηκτικά, τις ηπαρίνες χαμηλού μοριακού βάρους και προσφάτως τα νεότερα αντιπηκτικά από του στόματος που δρουν ως αναστολείς της θρομβίνης ή του FX (direct oral anticoagulants- DOACs)

Σε ασθενείς με PMF, κυρίως ινωτικού σταδίου (fibrotic PMF), που παρουσιάζουν αναιμία χορηγείται ερυθροποιητίνη για την ενίσχυση της αιμοποίησης. Στους ασθενείς με fibrotic PMF υποστηρικτικά χορηγούνται μεταγγίσεις παραγώγων αίματος για την αντιμετώπιση των πενιών όπως συμπυκνωμένα ερυθρά και αιμοπετάλια, αυξητικός παράγοντας της κοκκιδώδους σειράς, καθώς και πλάσμα σε περίπτωση αιμορραγικών επεισοδίων.

Η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (ΑΜΑΚ) αποτελεί τη θεραπευτική μέθοδο που οδηγεί σε ίαση της πρωτοπαθούς μυελοίνωσης. Έχει θέση στην ενδιάμεσου ή υψηλού κινδύνου PMF σε ασθενείς που είναι επιλέξιμοι για μεταμόσχευση, με βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών αυτών είναι η ηλικία κάτω από 60 έτη, η απουσία συννοσηροτήτων και η καλή γενική κατάσταση (performance status- PS).

Πρόγνωση

Η πρόγνωση των μυελοπερπλαστικών νοσημάτων διαφέρει βάσει του επιμέρους νοσήματος και των χαρακτηριστικών του. Ο συχνότερος παράγοντας θνητότητας είναι με διαφορά τα θρομβωτικά και αιμορραγικά επεισόδια. Μελέτη σε 3139 ασθενείς με PV και ET ανέδειξε μάλιστα ποσοστό υποτροπιάζουσας θρόμβωσης στο 33,6% των ασθενών σε ένα διάστημα 10 ετών παρακολούθησης των ασθενών (Stefano 2008).

Παράγοντες κινδύνου για επαναλαμβανόμενες θρομβώσεις είναι η ηλικία άνω των 60 ετών και το ιστορικό θρόμβωσης. Σε ασθενείς κάτω των 60 ετών, η λευκοκυττάρωση αποτελεί παράγοντα κινδύνου επίσης. Η θρομβοφιλία φάνηκε να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής θρόμβωσης, ενώ ύστερα από προσαρμογή βάσει της ηλικίας φάνηκε να σχετίζεται σε ασθενείς ηλικίας κάτω των 60 ετών (Stefano 2008). Το φύλο, το είδος του μυελοϋπερπλαστικού νοσήματος, οι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και το ιστορικό απομακρυσμένης χρονικά

θρόμβωσης δε φάνηκαν να αποτελούν παράγοντες κινδύνου για νέο επεισόδιο θρόμβωσης.

Η ET θεωρείται ως το κλασικό MYN με την καλοηθέστερη κλινική πορεία με λιγότερα θρομβωτικά επεισόδια και χαμηλότερη συχνότητα μετάπτωσης σε δευτεροπαθή μυελοϊνώση. Η μυελοϊνώση, πρωτοπαθής είτε δευτεροπαθής, έχει τη χειρότερη πρόγνωση από άποψη τόσο επιβίωσης όσο και επιπλοκών που αυξάνουν τη θνητότητα, όπως αιμορραγία και λοιμώξεις. Το IPSET thrombosis score (Table 3), όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, χρησιμοποιείται στην ET ως εργαλείο διαστρωμάτωσης κινδύνου, ενώ οι παράγοντες κινδύνου για θρόμβωση αξιολογούνται και στην PV. Για την PMF, χρησιμοποιείται το International Prognostic Scoring System (IPSS).

Risk	Attributes	Management
Very low	Age ≤60years, <i>JAK2</i> wild type, no prior thrombosis	Observation or low-dose aspirin, unless contraindicated*
Low	Age ≤60years, <i>JAK2</i> V617F ⁺ , no prior thrombosis	Low-dose aspirin, unless contraindicated.* Twice-daily aspirin if cardiovascular risk factors present
Intermediate	Age >60years, <i>JAK2</i> wild type, no prior thrombosis	Cytoreductive therapy plus low-dose aspirin, unless contraindicated*, or twice-daily aspirin without cytoreductive therapy if no cardiovascular risk factors present
High	Age >60years and <i>JAK2</i> V617F ⁺ , or prior thrombosis history regardless of other factors	Cytoreductive therapy plus low-dose aspirin, unless contraindicated*

Table 3. To International Prognostic Score for ET.

Prithviraj Bose and Srđan Verstovsek. Updates in the management of polycythemia vera and essential thrombocythemia. Ther Adv Hematol. 2019

Η επιβίωση και η ποιότητα ζωής των ασθενών έχει βελτιωθεί ύστερα από σημαντικά ευρήματα της έρευνας, όπως η χρησιμότητα της χορήγησης HU στην high risk ET (Cortelazzo 1995), της χαμηλής δόσης ασπιρίνης σε ασθενείς με PV (Landolfi R 2007), του αναστολέα *JAK1/2* ruxolitinib στην MF (FDA approval 2011) και η σημασία του ελέγχου του Ht κάτω από 45% για τη μείωση θρομβωτικών επεισοδίων σε ασθενείς με PV (Marchioli 2013),

Κεφάλαιο 3: Θρόμβωση και μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα

Η θρόμβωση αποτελεί κεντρικό παράγοντα νοσηρότητας, θνητότητας και επιδείνωσης του επιπέδου ζωής των ασθενών με μυελοϋπερπλαστικό νόσημα. Οι μηχανισμοί της θρομβογένεσης ποικίλλουν, ενώ η έρευνα αρχικά κινούνταν στη διερεύνηση των ποσοτικών διαταραχών των σειρών του αίματος και της επίδρασης αυτών στην εκδήλωση θρομβώσεων. Οι ποιοτικές όμως διαταραχές και η αλληλεπίδραση αυτών έχουν σημαντικό ρόλο στη θρόμβωση στα MYN, κάτι που αναδεικνύεται από το γεγονός ότι η τακτική παρακολούθηση με γενική εξέταση αίματος δεν έχει αποτελεί απόλυτα αποτελεσματική πρακτική πρόληψης των θρομβωτικών συμβάντων για τους ασθενείς.

Αιμοσφαίρια

Αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια έχουν κεντρικό ρόλο στη θρόμβωση, μέσω της ενεργοποίησής τους, της επακόλουθης αποκοκκίωσης και τροποποίησης της κυτταρικής τους επιφανείας με έκθεση TF και φωσφολιπιδίων, της συγκόλλησης και της πρόσδεσής τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Η ποσοτική διαταραχή των αιμοπεταλίων αποτελεί το τυπικό γνώρισμα κυρίως της ET, απαντάται δε με μεγάλη συχνότητα επίσης στην PV και λιγότερο στην προιωτική PMF. Ωστόσο, η προφανής, ίσως, σκέψη της συσχέτισης θρομβοκυττάρωσης με θρομβώσεις δεν επιβεβαιώνεται στη βιβλιογραφία.

Η προοπτική μελέτη 108.521 ασθενών του γενικού πληθυσμού από την ομάδα μελέτης της Κοπεγχάγης έδειξε ότι οι τιμές αιμοπεταλίων των ασθενών στα ανώτερα 5 εκατοστημόρια (τιμές PLTs >398.000/μL) σε σχέση με τους ασθενείς στα εκατοστημόρια με τιμές μεταξύ 25-75% σχετίζονταν με 1,8 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, ενώ οι τιμές αιματοκρίτη στα ανώτερα 5 εκατοστημόρια (>45% στις γυναίκες και 48% στους άνδρες) σε σύγκριση με όσους βρίσκονται στο 25 έως 75% σχετίζονταν με 1,5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου (Warny M 2019). Σε ασθενείς με MYN υπήρξε αναφορά προ πολλών ετών σχετικά με τη συσχέτιση θρομβώσεων σε ασθενείς με υψηλότερες τιμές αιμοπεταλίων κατά την παρακολούθηση (Ohyashiki 2007), ευρήματα όμως σε μικρές σειρές ασθενών, που στη συνέχεια δεδομένα από πολλές μελέτες δεν επιβεβαίωσαν (Carobbio 2018) (Carlos Galvez 2020) (Campbell PJ 2012)

(Gugliotta 2016). Μία προοπτική πολυκεντρική ανάλυση κοόρτης 776 ασθενών με ET δεν ανέδειξε συσχέτιση μεταξύ του αριθμού PLTs στη διάγνωση ή την παρακολούθηση και του κινδύνου μελλοντικών θρομβωτικών επιπλοκών (Campbell PJ 2012). Ακόμη, μελέτη μεγάλης ομάδας 977 ασθενών διεγνωσθέντων με MYN που παρουσίαζαν θρομβοκυττάρωση ανέδειξε τη θρομβοκυττάρωση με τιμές PLTs <700.000 / μ L κατά τη διάγνωση να συνδέεται με συχνότητα θρόμβωσης 28% σε σύγκριση με 15,8% σε ασθενείς με τιμές >700.000 / μ L (Gugliotta 2016). Τέλος, χαρακτηριστικά στην PV δεδομένα από μεγάλες κοόρτες ασθενών (PVSG, CYTO-PV, ECLAP) δεν ανέδειξαν συσχέτιση των θρομβωτικών επεισοδίων με τη θρομβοκυττάρωση (Landolfi R 2007) (Marchioli 2013) (Berk PD 1986).

Συμπερασματικά, ο ρόλος της θρομβοκυττάρωσης δε φαίνεται να είναι αναλογικός προς το θρομβωτικό κίνδυνο, τα συγκεκριμένα επίπεδα αιμοπεταλίων δε στα οποία ο κίνδυνος θρόμβωσης αυξάνεται δεν είναι σαφή (Ohyashiki 2007). Φαίνεται, όμως, ότι τα ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα αιμοπεταλίων σαφώς συνδέονται με αιμορραγικό παρά θρομβωτικό κίνδυνο, λόγω ποιοτικής διαταραχής της λειτουργίας τους.

Οι ποιοτικές διαταραχές των αιμοπεταλίων με διάφορους παθογενετικούς μηχανισμούς είναι προεξέχουσες στα MYN.

Σε καταστάσεις extreme θρομβοκυττάρωσης παρατηρούνται συχνά όχι θρομβωτικά, αλλά αιμορραγικά επεισόδια, γεγονός που έχει συσχετιστεί με επίκτητη vWD τύπου 2 (Budde U 1993). Γι' αυτό, έχει συζητηθεί σαν πιθανή μέθοδος η μέτρηση δραστηριότητας ριστοσετίνης (ristocetin cofactor activity), και επί δραστηριότητας <30% συνιστάται να μη χορηγείται ασπιρίνη. Μία πιθανή εξήγηση τόσο για την αυξημένη θρομβωτική όσο και αιμορραγική τάση είναι η παθολογική ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που οδηγεί σε αποκοκκίωσή τους και διαταραχή της λειτουργικότητάς τους (Michiels JJ 2006).

Τα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν με τα λευκά αιμοσφαίρια μέσω των κυτταρικών τους υποδοχέων. Συγκεκριμένα, οι υποδοχείς GPIbA (GP42b) και GPVI (GP62p) της επιφάνειας των PLTs, αλληλεπιδρούν με υποδοχείς CD11b και CD18 των μονοπύρηνων και των ουδετεροφίλων με αποτέλεσμα τη δημιουργία συσσωματωμάτων με αυτά (Cecilia P. Marin Oyarzun 2019).

Τα μικροσωματίδια (microparticles- MPs) είναι κυκλοφορούντα σωματίδια, τα οποία αποτελούν τμήμα κυτταρικών μεμβρανών αιμοσφαιρίων, κυρίως των αιμοπεταλίων. Ως προς τα MYN, υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντων MPs έχουν εντοπιστεί στην ET και στην PV. Στην ET, μελέτη δειγμάτων πλάσματος ασθενών εντόπισε υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντων MPs με προέλευση από αιμοπετάλια,

λευκά και ερυθρά αιμοσφαίρια, καθώς και MPs που εκφράζουν δείκτες επιφανείας PLTs μαζί με δείκτες ενδοθηλιακών κυττάρων, ως επί διττής προέλευσης αυτών (Trappenburg MC 2009). Αναφορά σε κυκλοφορούντα MPs φέροντα φωσφατιδυλοσερίνη έχει γίνει και στην PV (Tan X 2013).

Οι υποδοχείς επιφανείας των αιμοπεταλίων και οι διαταραχές αυτών στους ασθενείς με MYN έχουν απασχολήσει την έρευνα εδώ και πολλά έτη.

Διαταραχές των GPIIb/IIIa υποδοχέων έχουν περιγραφεί από παλαιότερες μελέτες στα MYN (Jensen M K 2000) (Eche 2009). Διαταραχή της λειτουργικότητας του PI3K/Rap1 μονοπατιού με μειωμένη ενεργοποίηση του GPIIb/IIIa σε JAK2V617F θετικών ασθενείς με ET, όπως και μειωμένη συγκέντρωση των γλυκοπρωτεϊνών επιφανείας και μειωμένη πρόσδεση του ινωδογόνου στα αιμοπετάλια, περιγράφονται στη βιβλιογραφία (Eche 2009) (Moore S F 2013) (Mazzucato M 1989) (Mistry, et al. 1991). Τα παραπάνω ευρήματα θεωρήθηκε ότι συνδέονται με την αυξημένη παραγωγή θρομβίνης, που συσχετίζεται με συνεχή μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες. Σε μοντέλα ποντικών με MYN, τα JAK2V617F θετικά αιμοπετάλια φάνηκε ότι παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση GPVI σε αντίθεση με άλλες γλυκοπρωτεΐνες επιφανείας, οι οποίες παρουσίαζαν περαιτέρω μείωση κατά 20% σε έκθεση σε υψηλές συγκεντρώσεις TPO, καθώς και ότι τα επίπεδα μεγάλων πολυμερών vWF ήταν ελαττωμένα, γεγονός που θα μπορούσε να επηρεάζει την πρόσδεση των AMPI στο ενδοθήλιο και να εξηγεί, ίσως, τα ευρήματα μειωμένης διέγερσης του θρομβωτικού μηχανισμού μέσω του κολλαγόνου (Lamrani L 2014).

Σε άλλη μελέτη, η έκφραση των υποδοχέων επιφανείας GPIb και GPIIb/IIIa φάνηκε να είναι σημαντικά χαμηλότερη στους ασθενείς με MYN, ενώ η έκφραση GPIV ήταν αυξημένη (Jensen M K 2000). Ύστερα από διέγερση των δειγμάτων με ανάλογο θρομβίνης, οι δείκτες P-selectin και ο λόγος PAC-1/ GPIIb/IIIa ήταν ελαττωμένοι στους ασθενείς, αναδεικνύοντας ελαττωμένη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων. Το εύρημα αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί είτε λόγω εγγενώς ελαττωμένου αριθμού GP πρωτεϊνών εντός των κοκκίων των αιμοπεταλίων, είτε λόγω ελλείμματος στη μεταβίβαση του σήματος είτε στην ενεργοποίηση των GPIIb/IIIa. Η διέγερση των αιμοπεταλίων, στη συνέχεια του πειράματος, επέφερε περαιτέρω μείωση της GPIb, αύξηση της GPIIb/IIIa και αύξηση της GPIV σε σύγκριση με τα μη διεγερμένα αιμοπετάλια, πιο έντονη στους ασθενείς με MYN σε σχέση με τους υγιείς controls.

Σε μοντέλα ποντικών με ET η ενεργοποίηση με knock-in διαδικασία της JAK2V617F μετάλλαξης ενέτεινε την ευαισθησία του υποδοχέα της TPO, την κινητικότητα των μεγακαρυοκυττάρων και τη δημιουργία μεγαλύτερου σε μέγεθος θρόμβου λόγω αυξημένης συγκόλλησης αιμοπεταλίων (Hobbs C M 2013).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αναφορά στην ενεργοποίηση της πήξης στα MYN ως κυκλοφορούν τραύμα (circulating wound), ένα μοντέλο όπου βασικό ρόλο έχουν τα αιμοπετάλια, η θρομβίνη, το ενδοθήλιο και οι μηχανισμοί της φλεγμονής (Figure 1). Η αλληλεπίδραση των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων με το ενδοθήλιο και τα λοιπά αιμοσφαίρια του αίματος οδηγεί σε ενεργοποίηση του μηχανισμού της πήξης στο βλαμμένο ενδοθήλιο και στα MPs μέσω του TF. Ο καταρράκτης της πήξης καταλήγει σε παραγωγή θρομβίνης, η οποία ανατροφοδοτεί θετικά την αύξηση των επιπέδων της και την ενεργοποίηση των υποδοχέων PARs των αιμοπεταλίων, οδηγώντας σε περαιτέρω ενεργοποίησή τους (Lucchesi 2021). Περαιτέρω δράσεις των PARs είναι η μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες μέσω της απόκρυψης των PFR υποδοχέων των αιμοπεταλίων, κάτι που ίσως οφείλεται και σε μειωμένη ενεργοποίηση των GPIIb/IIIa. Η ενεργοποίηση του PAR-1 δρα αγγειοσυσταλτικά, ενισχύοντας τη διαπερατότητα του ενδοθηλίου μέσω κινητοποίησης ασβεστίου και επίδρασης στον καταρράκτη των MAP κινασών, ενώ η ενεργοποίηση του PAR-4 οδηγεί επίσης σε μεγάλη κινητοποίηση ασβεστίου στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το crosstalk των PAR-2/PAR-1 και TGFβ/ALK5 μονοπατιών οδηγεί σε απελευθέρωση TGFβ που με τη σειρά του οδηγεί σε φλεγμονή και ίωση, μηχανισμός που έχει προταθεί στο μοντέλο της ανάπτυξης μυελοϊνώσεως (Čokić 2015) (William Vainchenker 2017).

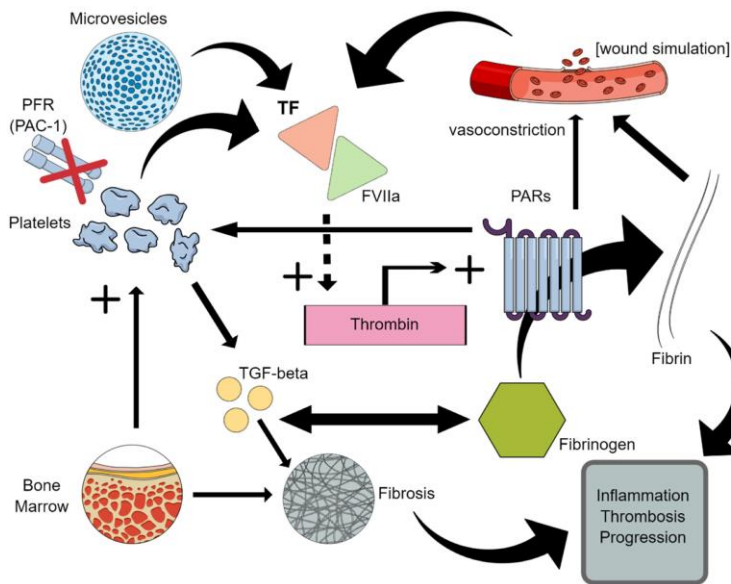


Figure 1. Lucchesi et al. Platelets Contribution to Thrombin Generation in Philadelphia-Negative Myeloproliferative Neoplasms: The "Circulating Wound" Model (International Journal of Molecular Sciences, 2021)

Λευκά αιμοσφαίρια

Τα λευκά αιμοσφαίρια συμμετέχουν με διάφορους μηχανισμούς των ιδίων, όπως και μέσω της αλληλεπίδρασης με τα αιμοπετάλια, στην ανοσοθρόμβωση και στην παθολογική θρομβογένεση των ΜΥΝ.

Η λευκοκυττάρωση έχει μελετηθεί ιδιαίτερα ως προς τη συσχέτιση με θρομβωτικό κίνδυνο στους ασθενείς με ΜΥΝ.

Οι δύο μεγαλύτερες ίσως μελέτες οι οποίες ανέδειξαν το ρόλο της λευκοκυττάρωσης σαν παράγοντα που σχετίζεται με αυξημένο αριθμό θρομβωτικών επεισοδίων στους ασθενείς με PV ήταν η μελέτη European Collaboration on Low- Dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP) του 2007 και η Cardiovascular Events and Intensity of Treatment in Polycythemia Vera (CYTO- PV) του 2013. Στην ECLAP, η μελέτη σε 1638 ασθενείς με PV με μέση περίοδο follow up 16 μηνών, έδειξε ότι η λευκοκυττάρωση (WBC >15.000/μL) αναδείχθηκε ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για αρτηριακή θρόμβωση, και κυρίως για οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (Landolfi R 2007). Ύστερα, τα δεδομένα της μελέτης CYTO- PV σε 365 ασθενείς με PV JAK2V617F θετικούς, έδειξαν ότι στην ομάδα ασθενών που συνδύαζε αιματοκρίτη (Ht) πάνω από 45% και λευκοκυττάρωση (WBC>11.000/μL) παρουσιάστηκαν περισσότερα, θανατηφόρα και μη, θρομβωτικά επεισόδια (Marchioli 2013).

Στην ET και την PMF, αντίστοιχα, μελέτες σε μεγάλες ομάδες ασθενών ασθενών κατέληξαν στη συσχέτιση της λευκοκυττάρωσης με τη θρόμβωση, ιδιαίτερα στην ET (Campbell PJ 2012) (Stefano 2008) (Carobbio, et al. 2011) (A Carobbio 2019).

Σε μελέτη 707 ασθενών με PMF σε στάδιο ίνωσης, από τη μονοπαραγοντική ανάλυση η ηλικία, το JAK2 status, και η λευκοκυττάρωση συσχετίστηκαν με αυξημένη επίπτωση, θανατηφόρων και μη, θρομβωτικών επεισοδίων, ενώ κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση, η συσχέτιση του JAK status και της λευκοκυττάρωσης με τη θρόμβωση παρέμειναν στατιστικά σημαντικές (T Barbui 2010). Ακόμη, στο 30% περίπου των ασθενών, οι οποίοι είχαν wild type JAK γονιδίωμα και απουσία λευκοκυττάρωσης η υπολογιζόμενη επίπτωση θρόμβωσης ήταν περίπου 1,07 ανά 100 ανθρωποέτη, ενώ στο τεταρτημόριο με μετάλλαξη JAK2V617F και λευκοκυττάρωση η υπολογιζόμενη επίπτωση ήταν 3,92/100 ανθρωποέτη (Table 1).

Interaction	No.* (%)	Events (%)	Rate % pt-yr (95% CI)	Hazard ratio (95% CI)
(1) JAK2 wild type + low WBC count	124 (30)	4 (3)	1.07 (0.66-1.73)	1 (reference)
(2) JAK2 wild type + high WBC count†	31 (8)	2 (6)	2.28 (1.42-3.68)	1.95 (0.84-4.52)
(3) JAK2 V617F + low WBC count	194 (48)	17 (9)	2.61 (1.36-5.01)	2.06 (1.03-4.12)
(4) JAK2 V617F + high WBC count†	58 (14)	7 (12)	3.92 (1.87-8.22)	3.13 (1.26-7.81)

Table 1. Η συσχέτιση JAK status και λευκοκυττάρωσης διακρίνει ομάδες ασθενών, με υψηλότερη επίπτωση θρόμβωσης σε ασθενείς JAK2V617F θετικούς σε συνδυασμό με λευκοκυττάρωση.

Barbui T et al. Thrombosis in primary PMF; incidence and risk factors (Blood, 2010)

Σε μελέτη που δημοσιεύτηκε το 2008, έγινε ανάλυση δεδομένων 657 ασθενών με ET, στους οποίους συνέβησαν 72 μείζονα θρομβωτικά επεισόδια (Carobbio A 2008). Η πολυπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων επιβεβαίωσε τον ρόλο της ηλικίας και των προηγούμενων θρομβώσεων ως παραγόντων κινδύνου, και έδειξε ότι όσο υψηλότερος ήταν ο αριθμός λευκοκυττάρων κατά την αρχική αξιολόγηση (baseline), τόσο υψηλότερο ήταν το hazard ratio (HR), οδηγώντας σε σημαντική αύξηση της πιθανότητας θρόμβωσης έως και τρεις φορές σε σύγκριση με ανθρώπους με φυσιολογικό αριθμό λευκοκυττάρων. Η λευκοκυττάρωση συνδέθηκε με μεγαλύτερο κίνδυνο αρτηριακής θρόμβωσης, με το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου να αποτελεί την κύρια επιπλοκή σε ασθενείς με επίπεδα λευκοκυττάρων μεγαλύτερα από 10.000/μL (HR, 8.08; 95% CI, 1.00 to 65.5; $P = 0.05$), ενώ η βέλτιστη τιμή που όριζε την περιοχή που αντιστοιχεί σε αυξημένη επίπτωση θρομβωτικών γεγονότων στη receiver operator curve (ROC) ήταν τα 9.400/ μL.

Η συγκεντρωτική πιθανότητα θρόμβωσης ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους ασθενείς χαμηλού κινδύνου με αριθμό λευκοκυττάρων πάνω από τη διάμεση τιμή (8,700/ μL) σε σύγκριση με τους ασθενείς με χαμηλότερο αριθμό, διαφορά που αντίστοιχα στους ασθενείς υψηλού κινδύνου δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Τέλος, μία μεγάλη ανασκόπηση και μεταανάλυση του 2019 σε δεδομένα 40 μελετών ασθενών με PV και ET σχετικά με τη λευκοκυττάρωση κατά τη διάγνωση ή την εξέλιξη της νόσου σε συσχέτιση με τα θρομβωτικά επεισόδια, επιβεβαίωσε το ρόλο της λευκοκυττάρωσης ως παράγοντα κινδύνου για αρτηριακές θρομβώσεις, όχι όμως και για φλεβικές θρομβώσεις, ενώ συσχετίστηκε και με τη συνολική θνητότητα και τα μείζονα αιμορραγικά επεισόδια (A Carobbio 2019). Λόγω της απουσίας συσχέτισης με τη φλεβική θρόμβωση, θεωρήθηκε ότι σαν προγνωστικός παράγοντας δε δύναται να έχει συνολικά προγνωστικό ρόλο (πχ IPSET score).

Επίσης, φάνηκε δύσκολο να οριστεί το όριο (cut off) της τιμής λευκοκυττάρων που είναι σημαντικό προγνωστικά, δεδομένου ότι στις μελέτες η λευκοκυττάρωση δεν αποτελούσε συνήθως βασικό αντικείμενο μελέτης σε σχέση με τα δεδομένα για τις θρομβώσεις, ως εκ τούτου ο αυθαίρετος ορισμός cut off θα έκανε δύσκολη τη μελέτη των δεδομένων και θα δημιουργούσε ενδεχομένως σφάλμα στην εξαγωγή αποτελεσμάτων. Σοβαρό μειονέκτημα της μεταανάλυσης αποτελεί το πιθανό bias από πολλούς παράγοντες, όπως, σημαντικά, το ότι κάποιες μελέτες δε συμπεριελήφθησαν λόγω ελλιπών δεδομένων, έτσι συμπεριελήφθησαν περισσότερα δεδομένα (που ήταν διαθέσιμα) από μελέτες που επιβεβαίωναν τη θετική συσχέτιση λευκοκυττάρωσης και θρόμβωσης. Από την άλλη, το γεγονός αυτό έγινε προσπάθεια να ισοσταθμιστεί με την εφαρμογή στατιστικών μεθόδων για την προσαρμογή λόγω bias.

Οι ποιοτικές διαταραχές των λευκών αιμοσφαιρίων παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον και αποτελούν σημαντικό πεδίο έρευνας στην ανοσοθρόμβωση και την έκφρασή της στα MYN. Τα NETs, ο σχηματισμός συσσωματωμάτων μονοκυττάρων (monocyte-Mo) - αιμοπεταλίων και πολυμορφοπύρηνων (polymorphonuclear-PMN) - αιμοπεταλίων ανιχνεύονται μέσω κυτταρομετρίας ροής στον ορό ασθενών με MYN κάτι που αποδίδεται σε ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και αλληλεπίδραση με τα λευκά αιμοσφαίρια μέσω υποδοχέων των επιφανειών τους (Brandi N Reeves 2021) (D Šefer 2022) (K H Lee 2021) (A Falanga 2005). Οι ποιοτικές διαταραχές των λευκών αιμοσφαιρίων θα αναλυθούν εκτενέστερα στο κεφάλαιο 4.

Ερυθρά αιμοσφαίρια

Η επίδραση της ερυθροκυττάρωσης στο θρομβωτικό κίνδυνο στα MYN έχει μελετηθεί αρκετά, ενώ με βάση τα αρχικά ερευνητικά δεδομένα αμφισβητούνταν. Στην PV ο όγκος αίματος αυξάνεται λόγω της πλειοκυττάρωσης, σε μεγάλο βαθμό λόγω της ερυθροκυττάρωσης, όμως πέραν της αύξησης της μάζας των ερυθρών, ο συνδυασμός με τη μεταβολή της γλοιότητας μεταβάλλει ακόμη σημαντικότερα την αιμοδυναμική κατάσταση.

Μία μελέτη του 2021 συνέκρινε την επίπτωση θρομβώσεων μεταξύ 36 ασθενών με δευτεροπαθή ερυθροκυττάρωση (secondary erythrocytosis- SE) και 66 ασθενών με PV (E Nguyen 2021). Οι ασθενείς με SE παρουσίαζαν ερυθροκυττάρωση και είχε αποκλειστεί σύμφωνα με τα κριτήρια κατά WHO η ύπαρξη πρωτοπαθούς μυελοϋπερπλαστικής νόσου. Παρατηρήθηκε ότι το ποσοστό θρομβώσεων στους ασθενείς με SE κατά την παρακολούθηση ήταν 0% ενώ στους ασθενείς με PV ήταν 14%. Ωστόσο, προ διάγνωσης τα ποσοστά θρομβώσεων ήταν όμοια στις δύο

ομάδες, γεγονός που εγείρει την υποψία ότι η ερυθροκυττάρωση, ακόμη και στην περίπτωση της δευτεροπαθούς κατάστασης, ίσως είναι κατάσταση που προδιαθέτει σε θρομβωτικό κίνδυνο. Σημειώνεται ότι η ομάδα ασθενών με SE ήταν άτομα με χαμηλότερο μέσο όρο ηλικίας, και υψηλότερη επίπτωση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως παχυσαρκία και κάπνισμα συγκριτικά με την ομάδα ασθενών με PV. Στις μελέτες του Polycythemia Vera Study Group (PVSG) 01 και 05, που συνέκριναν τη χρήση φλεβοτομής αποκλειστικά ή σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία, διαπιστώθηκε αυξημένος θρομβωτικός κίνδυνος σε ασθενείς υπό φλεβοτομή, ενδεχομένως λόγω της σιδηροπενίας και δευτεροπαθούς υποξίας που επάγει, ενώ δε φάνηκε ότι η ερυθροκυττάρωση αποτελεί παράγοντα κινδύνου για αυξημένα θρομβωτικά επεισόδια (Berk PD 1986). Συνολικά, εγείρονται ερωτήματα του κατά πόσον η αύξηση της μάζας των ερυθρών αυξάνει το θρομβωτικό κίνδυνο, και κατά πόσον οι μορφολογικές κυτταρικές αλλαγές, μεταβολές στο μηχανισμό της πήξης και τη γλοιότητα του αίματος είναι αυτές που προδιαθέτουν σε θρόμβωση.

Η τυχαίοποιημένη πολυκεντρική μελέτη CYTO- PV το 2013 αποτέλεσε σημαντικό σταθμό στη διερεύνηση της συσχέτισης της τιμής του αιματοκρίτη και της ερυθροκυττάρωσης με το θρομβωτικό κίνδυνο (Marchioli 2013). Οι ασθενείς διαχωρίστηκαν σε ομάδες υπό θεραπεία με αφαιμάξη, κυτταρομειωτική αγωγή ή συνδυασμό των δύο, με σκοπό είτε τη διατήρηση του αιματοκρίτη σε τιμές < 45% (χαμηλός αιματοκρίτης) είτε >45% (υψηλός αιματοκρίτης), με πρωτογενή καταληκτικά σημεία της μελέτης το θάνατο από καρδιαγγειακά αίτια και τα θρομβωτικά επεισόδια. Οι μελετητές έδειξαν ότι ο έλεγχος του αιματοκρίτη κάτω από 45% συνδέεται με λιγότερα θρομβωτικά επεισόδια και λιγότερους θανάτους από καρδιαγγειακά αίτια σε ασθενείς με PV, σε σύγκριση με τους ασθενείς με τιμές αιματοκρίτη μεταξύ 45-50% (Figure 2). Στους 6 μήνες παρακολούθησης της μελέτης, λιγότεροι ασθενείς με υψηλότερο Ht ήταν υπό αγωγή με HU και, εάν ναι, με χαμηλότερες δόσεις, ενώ παρουσίαζαν και υψηλότερο WBC. Δεδομένου ότι η σύνδεση θρομβωτικών επεισοδίων σε ασθενείς με υψηλό Ht ήταν σταθερή ανεξάρτητα από τα επίπεδα των WBCs και τη χρήση HU, δε γίνεται να αποκλειστεί ότι πέραν της λευκοκυττάρωσης και της θεραπείας μόνο με αφαιμάξη που στη μελέτη έδειξαν να αποτελούν ανεξάρτητους παράγοντες αυξημένου θρομβωτικού κινδύνου, έχει κάποιο ρόλο και ο υψηλός αιματοκρίτης.

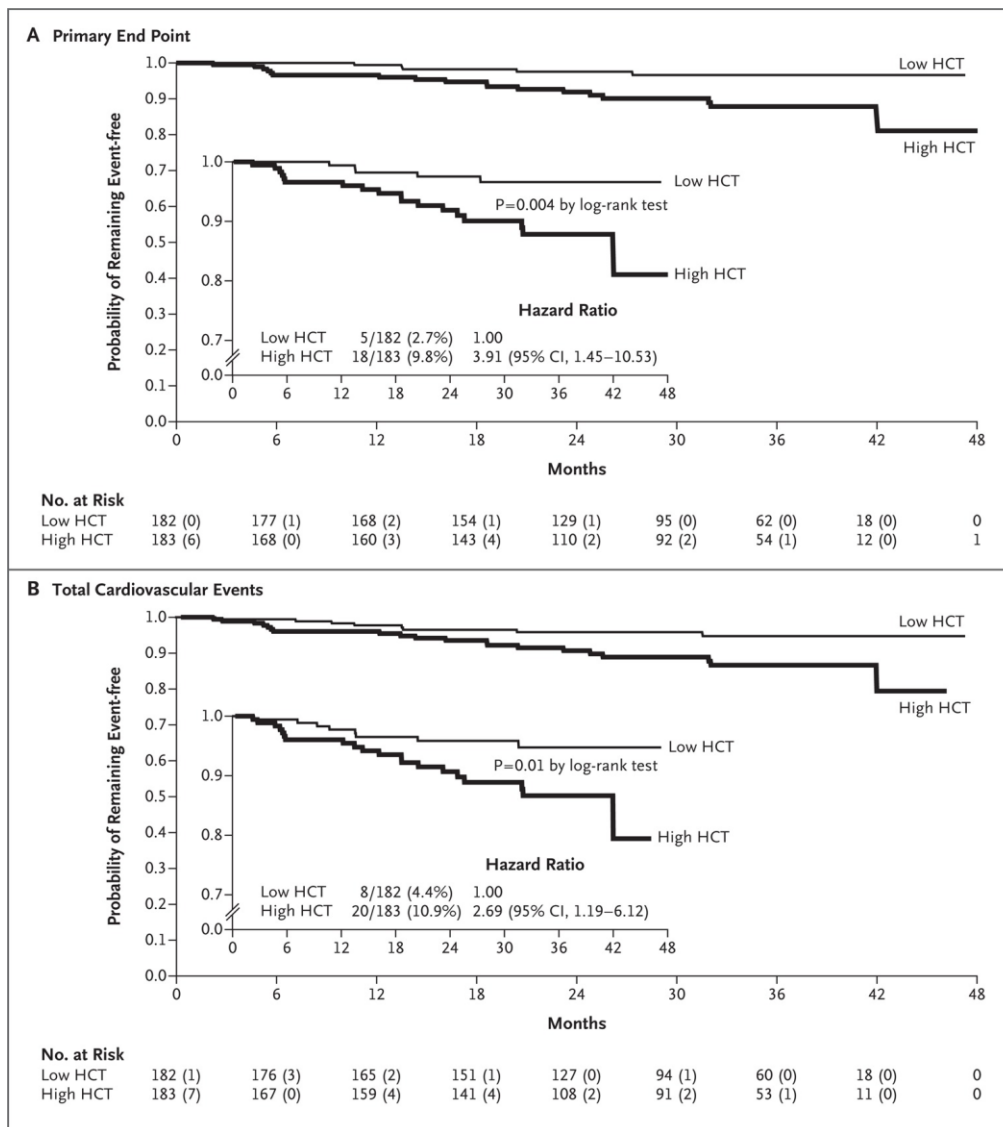


Figure 2. Καμπύλες Kaplan- Meier. Στο γράφημα A, η καμπύλη για τα πρωτογενή καταληκτικά σημεία σε ασθενείς με χαμηλό και υψηλό αιματοκρίτη και στο γράφημα B, η καμπύλη για τα συνολικά καρδιαγγειακά συμβάντα μαζί με την επιπολής θρομβοφλεβίτιδα. Marchioli et al. Cardiovascular Events and Intensity of Treatment in Polycythemia Vera (CYTO-PV) (NEJM, 2013)

Όσον αφορά στις ποιοτικές αλλαγές των ερυθροκυττάρων, οι διαταραχές, κυρίως σε επίπεδο ερυθροκυτταρικής μεμβράνης, επηρεάζουν τη λειτουργία τους. Υπό διαμητική τάση η μεμβράνη των ερυθρών τροποποιείται, χάνει τη σταθερότητα της δομής της, εκτίθεται φωσφατιδυλοσερίνη και ευοδώνεται έτσι η δημιουργία MPs με προθρομβωτικές ιδιότητες. Η κυκλοφορία MPs με πιθανή προέλευση και από τα RBCs έχει φανεί στη βιβλιογραφία, όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, ότι παρατηρείται σε ασθενείς με PV και με ET (Tan X 2013) (Tong D 2018) (Aswad MH 2019).

Η JAK2V617F μετάλλαξη στην PV οδηγεί σε ενεργοποίηση του Rap1/AKT μονοπατιού στα RBCs, οδηγώντας σε έκφραση του Lutheran/ basal cell adhesion molecule (Lu/BCAM), διαμεμβρανική πρωτεΐνη που αποτελεί αποτέλεσμα σύζευξης του ερυθροκυτταρικού αντιγόνου Lutheran με μια γλυκοπρωτεΐνη. Η Lu/BCAM παρουσιάζει αυξημένη πρόσδεση στη λαμινίνη-α5 του εξωκυτταρίου στρώματος (Brusson M 2018).

Ενδοθηλιακή βλάβη

Η εντόπιση της JAK2V617F μετάλλαξης σε ενδοθηλιακά κύτταρα σε ασθενείς με MYN και σύνδρομο Budd Chiari αποτελεί πιθανώς ένδειξη της συμμετοχής των ενδοθηλιακών κυττάρων στην παθοφυσιολογία της θρόμβωσης στο πλαίσιο των MYN (Sozer S 2009) (Rosti V 2013). Συγκεκριμένα, σε ασθενείς με Budd Chiari, η μετάλλαξη έχει εντοπιστεί σε ενδοθηλιακά κύτταρα του ήπατος σε ασθενείς με PV, αλλά και σε κάποιους ασθενείς με JAK2V617F κλωνική αιμοποίηση χωρίς κλινική εικόνα MYN, και σε ενδοθηλιακά κύτταρα της σπληνικής φλέβας και του σπλήνα σε ασθενείς με PMF. Τα ευρήματα αυτά προσφέρουν ένα στοιχείο που πιθανώς εξηγεί την τάση για θρομβωτικά επεισόδια που αφορούν στα επιχώρια αγγεία της κοιλιακής χώρας, όπως τις ηπατικές φλέβες και την πυλαία φλέβα. Ακόμη, η JAK2V617F έχει εντοπιστεί σε πρόδρομες μορφές των ενδοθηλιακών κυττάρων (endothelial colony forming cells) στο μυελό των οστών σε ασθενείς με Budd Chiari κάποιοι εκ των οποίων διεγνώσθησαν με PMF (Teofili 2011) (Helman R 2018).

Η αυξημένη συγκέντρωση λευκών αιμοσφαιρίων JAK2V617F θετικών στο σπλήνα έχει φανεί να αναστέλλεται από αντισώματα αντι-β2 ιντεγκρινών και από φαρμακολογική αναστολή του Rap1 μονοπατιού. Φαίνεται, όπως περιγράφεται και σε άλλες πηγές στη βιβλιογραφία, ότι η διαπίδυση λευκών αιμοσφαιρίων στα MYN χαρακτηρίζεται από αυξημένη αλληλεπίδραση με τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω ιντεγκρινών, αναδεικνύοντας μία πιθανή συσχέτιση των ευρημάτων. Ακόμη, τα δεδομένα αυτά εγείρουν σκέψεις για πιθανές θεραπευτικές δυνατότητες με μονοκλωνικά αντισώματα αντί ιντεγκρινών (Brandi N Reeves 2021) (Edelmann B 2019).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα φαίνονται να απελευθερώνουν αυξημένα επίπεδα vWF και να εκφράζουν αυξημένα επίπεδα P-selectin, τόσο στην επιφάνειά τους σε ασθενείς με PV και στην ET, όσο και διαλυτή στην κυκλοφορία σε ασθενείς με ET, PV και PMF, στην πρόσφατη βιβλιογραφία (D Šefer 2022) (Falanga A 2021). Ακόμη, έχουν ανευρεθεί υψηλές συγκεντρώσεις διαλυτών P, E και L σελεκτινών σε ασθενείς με MYN (D Šefer 2022).

Τέλος, η ανακάλυψη κυκλοφορούντων MPs με ενδοθηλιακούς δείκτες δείχνει την πιθανή συμμετοχή του ενδοθηλίου στην εγκατάσταση μίας προπηκτικής κατάστασης και στην αυξημένη ενεργοποίηση του καταρράκτη της πήξης στην κυκλοφορία (Trappenburg MC 2009).

Διαταραχές μηχανισμού πήξης

Σε μελέτη που δημοσιεύθηκε το 1973, στην οποία συμμετείχαν δέκα ασθενείς με την τότε κατηγοριοποίηση MYN (primary thrombocythemia, PV, μυελοειδής μεταπλασία), ύστερα από ραδιενεργή σήμανση προθρομβίνης και ινωδογόνου διαπιστώθηκε αυξημένος ρυθμός καταβολισμού αυτών σε σύγκριση με τις συνήθεις τιμές (Martinez 1973). Μετά τη θεραπευτική μείωση των ΑΜΠ, οι τιμές του ρυθμού καταβολισμού επέστρεφαν εντός φυσιολογικών ορίων. Η συγκεκριμένη μελέτη είναι παλαιά και με ιδιαίτερα μικρό αριθμό ασθενών, ωστόσο η διερεύνηση με νεότερες μελέτες για την επαλήθευση του ευρήματος θα παρουσίαζε πιθανώς ενδιαφέροντα αποτελέσματα.

Μελέτη σε 3139 ασθενείς, 1.151 ασθενείς με PV και 1.988 με ET, μελέτησε την υποτροπή θρομβωτικών επεισοδίων σε ασθενείς με PV και ET και τους παράγοντες που πιθανώς σχετίζονται με τη θρόμβωση, μεταξύ των οποίων η συγγενής θρομβοφιλία (Stefano 2008). Η θρομβοφιλία φάνηκε να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπιάζουσας θρόμβωσης, ενώ, ύστερα από προσαρμογή για την ηλικία, φάνηκε να σχετίζεται σημαντικά σε ασθενείς ηλικίας κάτω των 60 ετών. Η ύπαρξη συγγενούς θρομβοφιλίας, παρότι υπάρχουν μελέτες που συνηγορούν υπέρ του ότι η μετάλλαξη factor V Leiden και η μετάλλαξη για την ομοκυστεϊνή MTHFR - 6C77T είναι παράγοντες κινδύνου για θρομβώσεις, δεν έχει διαπιστωθεί σαφώς αν αποτελούν παράγοντα κινδύνου (I Horvat 2019) (E Papadakis 2012).

Σε πρόσφατη μελέτη 95 ασθενών με MYN, δε διαπιστώθηκαν συγκριτικά διαφορές των τιμών PT, aPTT, prothrombin fragments 1+2, d dimers, prot C, ATII, μετάλλαξης G20210A, factor V Leiden, αντισωμάτων έναντι καρδιολιπίνης μεταξύ ασθενών που υπέστησαν θρομβωτικά επεισόδια και όσων δεν παρουσίασαν θρομβώσεις (D Šefer 2022).

Οι νεότερες σφαιρικές μέθοδοι είναι σκόπιμο να χρησιμοποιηθούν ώστε να μελετηθεί πληρέστερα ο μηχανισμός της πήξης και οι διαταραχές του στους ασθενείς με MYN, δεδομένων των επιδράσεων πολλών επιμέρους μηχανισμών.

Οι Tripodi et al σε μελέτη 111 ασθενών με MYN υπολόγισαν το ενδογενές δυναμικό θρομβίνης (endogenous thrombin potential- ETP) και διενήργησαν θρομβοελαστογραφία (Tripodi A 2013). Τα ευρήματα περιελάμβαν αυξημένο ETP στους ασθενείς, σε θετική συσχέτιση με τον αριθμό των PLTs, και αρνητική συσχέτιση με την ελεύθερη prot S, prot C και AT. Οι ασθενείς υπό θεραπεία με HU παρουσίαζαν χαμηλότερες τιμές ETP.

Οι Giaccherini et al σε μελέτη 39 ασθενών με ET και 23 με PV, διαπίστωσαν από τον έλεγχο INTEM και EXTEM ένα υπερπηκτικό προφίλ στους ασθενείς με MYN, με μειωμένο clot formation time (CFT) και αυξημένο maximum clot formation (MCF) (Giaccherini C 2016). Στους ασθενείς φάνηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των τιμών CFT και MCF με τον αριθμό αιμοπεταλίων, ενώ οι τιμές MCF διορθωμένες βάσει των τιμών των PLTs αποκαλύπτουν μειωμένη αντιδραστικότητα των PLTs στους ασθενείς, κάτι που στηρίζει τα ευρήματα άλλων μελετών υπέρ ελάττωσης της δράσης των PLTs, που αποδίδεται σε δυσλειτουργία των υποδοχέων τους ή εξάντλησή τους λόγω αποκοκκίωσης στο πλαίσιο της συνεχούς ενεργοποίησης. Οι Sahin et al χρησιμοποιώντας το ROTEM σε ασθενείς με MYN διαπίστωσαν υψηλότερο MCF σε ασθενείς με ET και PV (Şahin D G 2021).

Μία ακόμη μελέτη 36 ασθενών με MF διαπίστωσε κατά τη μέτρηση του ETP χαμηλότερες τιμές στους ασθενείς με MF ($p= 0,0003$) ενώ διαπίστωσαν ότι ο αριθμός των PLTs $>400.000/\mu\text{L}$ συνδεόταν με υψηλότερες τιμές γένεσης θρομβίνης, και χαμηλότερες τιμές διαπιστώνονταν σε αρχικά στάδια της MF και σε ασθενείς θετικούς για τη μετάλλαξη CALR. Κατέληξαν ότι η παραγωγή θρομβίνης στα MYN σχετίζεται με τη θρομβοκυττάρωση πιθανώς λόγω της ενεργοποίησης του καταρράκτη της πήξης λόγω της συνεχούς ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (Palova M 2018).

Σε μία ακόμη μελέτη με θρομβοελαστογραφία 38 ασθενών με MYN, 26 με ET, 8 με PV, 3 με MF και 1 με μη χαρακτηρισμένο MYN, εκ των αποτελεσμάτων ανεδείχθη αυξημένος ρυθμός σχηματισμού θρόμβου, ομοιότητα ως προς το μέγιστο πλάτος του θρόμβου (maximum amplitude) και το ETP, και υψηλότερος χρόνος λύσης (LY30) στους ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς, και συνολικά τα ευρήματα ήταν υπέρ διατηρημένης ινωδολυτικής δραστηριότητας (Lim H Y 2018). Τα παραπάνω δεν ταιριάζουν απόλυτα με τα προθρομβωτικά χαρακτηριστικά των MYN, και πιθανώς αφορούσαν σε ομάδα ασθενών υπό αντιαιμοπεταλιακή ή κυτταρομειωτική αγωγή η οποία επηρεάζει το θρομβογενετικό δυναμικό και τη δυναμική της λύσης του θρόμβου, αντίστοιχα.

Συμπερασματικά, από την έως τώρα έρευνα δεν έχει φανεί κάποια σαφής ποιοτική ή ποσοτική διαταραχή παραγόντων πήξης στα MYN. Το παραπάνω εύρημα δύναται να ισχύει δεδομένου ότι ο μηχανισμός της πήξης είναι πολυεπίπεδος και

περιλαμβάνει πολλαπλές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αιμοσφαιρίων, ενδοθηλιακών κυττάρων, παραγόντων της πήξης, όπως υποδεικνύεται από το σύγχρονο, κυτταρικό μοντέλο της πήξης, σε αντίθεση με τον αυστηρό διαχωρισμό ενδογενούς και εξωγενούς συστήματος πήξης. Ωστόσο η περαιτέρω ερευνητική εργασία σε μοντέλα του πηκτικού μηχανισμού με χαρακτηριστικά των μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων, με *in vivo* και *in vitro* πειραματική μελέτη, θα μπορούσαν να αποδώσουν νέες γνώσεις, ιδιαίτερα στο λιγότερο διερευνημένο πεδίο των αντιπηκτικών πρωτεϊνών.

Μία ιδιαίτερα πρόσφατη μελέτη είχε ως αντικείμενο το ρόλο του φλεγμονοσώματος στα MYN (Andina N 2022). Το φλεγμονόσωμα είναι σύμπλεγμα πολλαπλών πρωτεϊνών που ενεργοποιεί μέσω διαφόρων οδών προφλεγμονώδεις κασπάσες (caspases), καθώς και τη διαδικασία της πυρόπτωσης. Για παράδειγμα, η caspase 1 πρωτεολυτικά ενεργοποιεί την proIL1β, την IL18 και τη διαδικασία της πυρόπτωσης.

Η ενεργοποίηση φλεγμονοσώματος μετέχει στη φυσική ανοσία, και ενέχει την αναγνώριση προτύπων pathogen- associated molecular patterns (PAMPs) και damage- associated molecular patterns (DAMPs), μέσω των οποίων αναγνωρίζεται η ιστική βλάβη και η προσβολή από μικροοργανισμούς. Ανάλογοι μηχανισμοί υφίστανται και στα προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα μέσω pattern recognition receptors (PRRs) και υποδοχέων κυτταροκινών. Από τη μία ο ρόλος του φλεγμονοσώματος φαίνεται να είναι θετικός ως προς την αντιμετώπιση της λοίμωξης, από την άλλη η συντήρηση χρονίως μίας φλεγμονώδους κατάστασης είναι μέρος της παθογένειας στις μυελικές κακοήθειες.

Στα MYN, μια υγιής αιμοποιητική φωλεά επηρεάζει θετικά την υγιή ανάπτυξη των HSCs εμποδίζοντας την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό κακοήθων κυττάρων, ενώ ένα κακοήθες HSC μπορεί να αναδιαμορφώσει (remodelling) το μικροπεριβάλλον του μυελού προς όφελος της επιβίωσής του, δυσμενώς για τα υγιή HSCs. Στα κλασικά MYN ανευρίσκονται υψηλά επίπεδα IL1β, η παραγωγή της οποίας αποδίδεται και στα JAK2V617F θετικά κύτταρα, ενώ έχει φανεί ότι η IL1β σε επίπεδο μυελού οδηγεί σε remodelling της φωλεάς (Arranz L 2014) (Asada N 2017) (de Mooij C E M 2017). Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι η παρουσία IL1β στο μυελό ενίσχυσε την ανάπτυξη του JAK2 μεταλλαγμένου κλώνου σε MYN μοντέλα ποντικών οδηγώντας και σε απόπτωση των υγιών κυττάρων, ενώ η αναστολή της παραγωγής IL1β από τα HSCs φάνηκε να ελαττώνει το ρυθμό ανάπτυξης των κακοήθων κυττάρων και άρα να μειώνει το φορτίο της νόσου (Rai S 2019).

Κεφάλαιο 4: Φλεγμονή και θρομβωτικά επεισόδια σε ασθενείς με μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα

JAK/ STAT μονοπάτι/ Σηματοδοτικά μονοπάτια

Το JAK/STAT μονοπάτι είναι βασικό σηματοδοτικό μονοπάτι το οποίο παρουσιάζει αυξημένη ενεργοποίηση στους ασθενείς με MYN λόγω των συχνότερων μεταλλάξεων που οδηγούν στην κλινική έκφραση μυελοϋπερπλαστικού νοσήματος.

Η JAK2V617F αποτελεί τη συχνότερη γενεσιουργό μετάλλαξη και δη των περιπτώσεων PV, νόσο με την οποία κυρίως συσχετίζεται. Ως εκ τούτου, έχει συνδεθεί κλασικά με φαινότυπο αυξημένων επιπέδων των κυτταρικών σειρών, καθώς και θρομβωτικών επεισοδίων. Η μετάλλαξη έχει μελετηθεί εκτεταμένα ως προς το κατά πόσον ποιοτικά (ύπαρξη της μετάλλαξης ή όχι) και ποσοτικά συνδέεται με μεγαλύτερη επίπτωση θρομβωτικών επεισοδίων. Η μελέτη ως προς την ποσοτική έκφραση έχει γίνει στη βιβλιογραφία άλλοτε εξετάζοντας την κατάσταση ετεροζυγωτίας της μετάλλαξης συγκριτικά με την ομοζυγωτία, είτε ως το ποσοστό αλληλίων JAK2V617F (variant allele frequency- VAF).

Το 2020 σε μελέτη από την Κίνα σε 1537 ασθενείς έγινε ανάλυση του κινδύνου θρόμβωσης σε σχέση με το JAK2 status σε ασθενείς με MYN, όπου οι ασθενείς με PV είχαν μεγαλύτερο θρομβωτικό κίνδυνο συγκριτικά με τους ασθενείς με ET και MF, ενώ η επίπτωση θρόμβωσης στους ασθενείς με PV με JAK2V617F VAF \geq 50% ήταν 4,6 φορές μεγαλύτερη από την επίπτωση σε ασθενείς με VAF < 50% (Zhang Y 2020). Τα δεδομένα από 806 ασθενείς με PV και ET από 3 προοπτικές μελέτες ανέδειξαν μεγαλύτερο θρομβωτικό κίνδυνο στους ασθενείς που έφεραν τη μετάλλαξη σε σύγκριση με τους αρνητικούς ως προς αυτήν (Campbell P J 2005). Ακόμη μία μελέτη ασθενών με ET και PV, συνέκρινε το θρομβωτικό κίνδυνο μεταξύ των JAK2V617F θετικών ασθενών με ET, των JAK2V617F αρνητικών ασθενών με ET και των ασθενών με PV. Εκ των αποτελεσμάτων, ο θρομβωτικός κίνδυνος ήταν περίπου διπλάσιος στους ασθενείς με PV και τους JAK2V617F(+) με ET, συγκριτικά με τους JAK2 V617F(-) με ET (Rumi E 2014).

Υπήρξε και μελέτη όπου μεταξύ των ασθενών με και άνευ JAK2V617F μετάλλαξης δε διαπιστώθηκε διαφορά στην επίπτωση θρομβωτικών γεγονότων (Hacibekiroglu T 2016).

Σε σύγκριση με την CALR μετάλλαξη, τέσσερις μελέτες σε ασθενείς με PV, ET και PMF έδειξαν ότι οι ασθενείς με τη JAK2V617F σε σύγκριση με τους ασθενείς με CALR μετάλλαξη ή με τους τριπλά αρνητικούς για τις μεταλλάξεις οδηγούς, παρουσίαζαν μεγαλύτερο θρομβωτικό κίνδυνο (Campbell P J 2005) (Rumi E 2014) (Barbui T 2012) (Rumi 2014). Τα δεδομένα από 617 ασθενείς με PMF ανέδειξαν μεγαλύτερη επίπτωση θρομβωτικών επεισοδίων στους ασθενείς με JAK2V617F συγκριτικά με CALR μετάλλαξη (Rumi 2014).

Μελέτη ασθενών με PV στην Ιταλία από δύο κέντρα σε δύο κοόρτες, συγκέντρωσε 576 ασθενείς ως κοόρτη μελέτης και 289 ασθενείς ως κοόρτη επιβεβαίωσης (validation) (Guglielmelli P 2021). Οι ασθενείς της κοόρτης μελέτης είχαν JAK2V617F VAF με median ποσοστό 41,5%, λευκοκυττάρωση (>11.000/μL) στο 37,9% των ασθενών, και ψηλαφητή σπληνομεγαλία ή συστηματικά συμπτώματα σε 35,7% των ασθενών. Η κοόρτη επιβεβαίωσης (validation cohort) είχε διάμεση τιμή VAF 51%, ενώ λευκοκυττάρωση ήταν υπαρκτή σε 35,1% των ασθενών, όπως και συμπτώματα (ψηλαφητή σπληνομεγαλία, διαταραχές μικροκυκλοφορίας, συστηματικά, κνησμός) σε ποσοστό 35,1%. Το VAF >50% καθώς και το ιστορικό φλεβικής θρόμβωσης φάνηκε να αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες επεισοδίου φλεβικής θρόμβωσης στους ασθενείς με PV, σε low και σε high risk ασθενείς. Η ηλικία δε φάνηκε να επιβεβαιώνεται ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας, όπως σε παλιότερες μελέτες. Στα μειονεκτήματα της μελέτης ήταν ότι είναι αναδρομική, με μεγάλες όμως κοόρτες ασθενών.

Σε μελέτη του 2017 σε 477 ασθενείς με PV και ET μελετήθηκε η JAK2V617F ως προς τη συσχέτιση με θρομβώσεις, πρόοδο νόσου είτε θάνατο, σε συσχέτιση και με το VAF σε κάθε νόσημα (Lussana F 2017). Το status JAK2 ομοζυγωτίας αποτέλεσε βασικό παράγοντα κακής έκβασης, δηλαδή προόδου νόσου είτε θανάτου. Επίσης, οι JAK2V617 ομοζυγώτες ασθενείς με PV και ET φάνηκε να έχουν υψηλότερα επίπεδα της πρωτεΐνης οξείας φάσης πενταξίνης 3 (PTX3). Τα παραπάνω ευρήματα υποστηρίζουν τη συσχέτιση της JAK2V617F με τη βαρύτητα της νόσου αλλά και με τη συστηματική φλεγμονή.

Έτσι, τα δεδομένα πολλών μελετών οδήγησαν στο να θεωρηθεί η μετάλλαξη JAK2V617F ως ισχυρός προγνωστικός παράγων για θρομβωτικά επεισόδια και να συμπεριληφθεί στα κριτήρια του προγνωστικού score IPSET για την ET, λαμβάνεται δε υπόψη και στη διαστρωμάτωση κινδύνου για ασθενείς με PV (Barbui 2015).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει το εύρημα που υποστηρίζει, πέραν του ρόλου της μετάλλαξης JAK2V617F στα MYN, την επίδρασή του σε ασθενείς χωρίς κακόηθες

νόσημα με ανεύρεση κλώνου αιμοποιητικών κυττάρων (clonal hemopoiesis of indeterminate potential- CHIP).

Μεγάλες μελέτες ανάλυσης εξονίων έδειξαν ότι υγιή άτομα εμφανίζουν με μεγάλη συχνότητα σχετιζόμενη με την ηλικία κλωνική αιμοποίηση, με μεταλλάξεις που αποδεδειγμένα απαντώνται σε μυελοειδείς νεοπλασίες. Χωρίς δηλαδή τα άτομα να εκφράζουν κάποια νόσο, παρουσιάζουν έναν κλώνο αιμοποιητικών κυττάρων με συγκεκριμένες μεταλλάξεις, δυνητικά κακοήθους χαρακτήρα. Ενώ η κατάσταση δεν παρουσιάζεται σε άτομα ηλικίας κάτω από 50 ετών, ένα 10% των ατόμων άνω των 65 ετών εμφανίζει ανάλογα ευρήματα. Όλες οι μελέτες αναγνώρισαν βλάβες παρόμοιων γονιδίων, η πλειοψηφία των οποίων αφορούσε σε γονίδια που επιφέρουν επιγενετικές μεταβολές όπως το TET2, το DNMT3, το ASXL1, ενώ συχνή ήταν η μετάλλαξη γονιδίων που συμμετέχουν στο RNA splicing, όπως το SF3B1, και τη μετάδοση σήματος, όπως το CBL και το JAK2 (Jaiswal S 2014) (Xie M 2014). Τα γονίδια αυτά, όπως είδαμε στο κεφάλαιο 2, βλάπτονται ιδιαίτερα συχνά και στα MYN. Τέλος, στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί μία περίπτωση φυσιολογικού ατόμου με ευρήματα CHIP η οποία νόσησε στην πορεία από ET με παρουσία JAK2V617F μετάλλαξης (Busque L 2012).

Άλλα μονοπάτια που υπερλειτουργούν είναι προφλεγμονώδη μονοπάτια όπως του NF-κB, του MAPK και του TGF-β (Čokić 2015). Αυτό υποδεικνύεται από τη βιβλιογραφία, ως προς τα επίπεδα κυκλοφορούντων κυτταροκινών και κυτταροκινών με εντόπιση στο μυελό των οστών σε ασθενείς με MYN. Είναι άλλωστε γνωστό ότι τα μονοπάτια αυτά διασταυρώνονται (cross-talk) συμμετέχοντας συνολικά στη διαμόρφωση συστηματικής φλεγμονής σε νεοπλασίες (Zhang T 2021) (Fan Y 2013).

Πρωτεΐνες οξείας φάσης

Η αύξηση των επιπέδων πρωτεϊνών οξείας φάσης είναι τυπική έκφραση φλεγμονώδους κατάστασης, και εύκολο από άποψη μεθοδολογίας στο να μελετηθεί. Οι σωματικές μεταλλάξεις JAK2, CALR, MPL ενεργοποιώντας τα αιμοπετάλια, τα λευκά αιμοσφαίρια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως και μέσω της λευκοκυττάρωσης, φαίνεται να συντηρούν μία κατάσταση χρόνιας φλεγμονής η οποία μπορεί να ευθύνεται τόσο για το μεγαλύτερο καρδιαγγειακό κίνδυνο όσο και για τα θρομβωτικά γεγονότα στους ασθενείς με MYN.

Σε μελέτη σε 477 ασθενείς με ET και PV, 305 με ET και 172 με PV, με πρωτεύοντα καταληκτικά σημεία το θάνατο, την πρόοδο νόσου, το θρομβωτικό ή το αιμορραγικό

επεισόδιο, φάνηκε ότι τα επίπεδα των PTX3 και του αριθμού αλληλίων JAK2 ήταν όμοια σε ασθενείς με PV σε σύγκριση με εκείνους με ET, και τα επίπεδα της CRP ήταν όμοια σε ασθενείς με PV και ET με διαφορετικά JAK2 status (Lussana F 2017). Τα επίπεδα της PTX3 ήταν ωστόσο αντίστροφα ανάλογα με το θρομβωτικό κίνδυνο του ασθενούς, ενώ τα επίπεδα της CRP ήταν ανάλογα με το θρομβωτικό κίνδυνο του ασθενούς. Ακόμη, στους ασθενείς της μελέτης τα επίπεδα της CRP φάνηκε να συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εκτροπής του νοσήματος και θανάτου, καθώς και αυξημένο κίνδυνο adverse events ακόμη και ύστερα από στάθμιση για υψηλό VAF. Άρα φαίνεται σαφώς η θετική συσχέτιση της CRP και η αρνητική συσχέτιση της PTX3 με το θρομβωτικό κίνδυνο. Ενδιαφέρον ήταν ότι τα επίπεδα της PTX3, όπως αναφέρθηκε και προηγούμενα, ήταν σαφώς υψηλότερα στους ομόζυγους φορείς της JAK2V617F, όπως και στους ομόζυγους σε σύγκριση με τους ετερόζυγους φορείς της JAK2V617F με PV (Figure 1). Η συσχέτιση του ομόζυγου status της JAK2V617F με υψηλά επίπεδα PTX3 παρέμεινε σημαντική ύστερα στάθμιση για επιμέρους παράγοντες σε πολυπαραγοντικό μοντέλο ανάλυσης (odds ratio (OR) 1.93, 95% confidence interval (CI) 1.44–2.59, $p < 0.0001$).

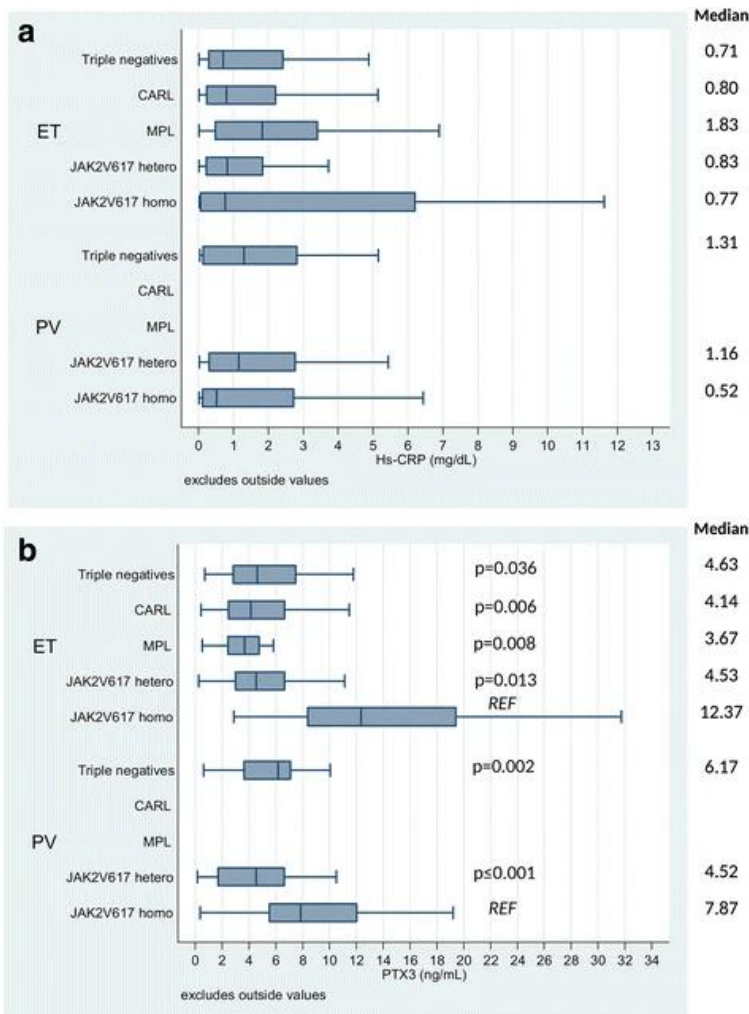


Figure 1. Στο γράφημα βλέπουμε τις υψηλές τιμές PTX3 σε ομόζυγους για τη μετάλλαξη JAK2V617F ασθενείς με PV είτε ET σε κάθε επιμέρους νόσημα. Driver mutations (JAK2V617F, MPLW515L/K or CALR), pentraxin-3 and C-reactive protein in essential thrombocythemia and polycythemia vera (Journal of Hematology and Oncology, 2017)

Η καλπροτεκτίνη αποτελεί πρωτεΐνη οξείας φάσης. Η μελέτη της στα κόπρανα αποτελεί διαγνωστικό εργαλείο στις ΙΦΝΕ, καθότι αντικατοπτρίζει φλεγμονή στον εντερικό σωλήνα και τα επίπεδά της είναι ενδεικτικά της ενεργότητας νόσου, της ανταπόκρισης στη θεραπεία, καθώς και της πρόγνωσης για την πιθανότητα υποτροπής.

Μελέτη σε 43 ασθενείς προσφάτως διαγνωσθέντες με MYN (13 με ET, 16 με PV και 14 με PMF), διαπίστωσε συσχέτιση των υψηλών επιπέδων καλπροτεκτίνης ορού με την ηλικία άνω των 60 ετών, την παρουσία συστηματικών συμπτωμάτων, το PS κατά ECOG (2-4), τα υψηλά επίπεδα CRP, την ανάγκη θεραπείας με υδροξυκαρβαμίδη, καθώς και το βαθμό ίνωσης στο μυελό. Δε διαπιστώθηκε συσχέτιση με τα επίπεδα αιμοσφαιρίων και την LDH, ούτε διαφορά στα επίπεδα αυτής στα διαφορετικά MYN. Κατά τη σύγκριση του πληθυσμού των ασθενών με επίπεδα καλπροτεκτίνης <1,1 μg/mL, επίπεδα δηλαδή όμοια με των υγιών controls, με τους ασθενείς με επίπεδα >1,1 μg/mL, παρατηρήθηκε ότι κανένας εκ των ασθενών με επίπεδα <1,1 μg/mL δεν παρουσίαζε συστηματικά συμπτώματα ούτε θρομβώσεις. Φάνηκε ότι με βάση την καμπύλη ROC τα επίπεδα καλπροτεκτίνης >1,1 μg/mL έχουν περίπου 81,4% ευαισθησία και 88,2% ειδικότητα για τη διάγνωση των MYN. Τονίστηκε όμως και από τους μελετητές η ανάγκη για τυχαιοποιημένες μελέτες που θα επιβεβαιώσουν τα ανωτέρω αποτελέσματα, καθότι ως πρωτεΐνη οξείας φάσης η καλπροτεκτίνη αυξάνεται και σε άλλες νόσους που χαρακτηρίζονται από φλεγμονή.

Κυτταροκίνες

Οι ιντερλευκίνες (interleukins- ILs), οι χημειοκίνες και οι διάφοροι αυξητικοί παράγοντες έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα στους ασθενείς με MYN. Οι κυτταροκίνες που παράγονται από τα σηματοδοτικά μονοπάτια JAK1/STAT1 και NF-κB περιλαμβάνουν τις IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-22, vascular endothelial growth factor (VEGF), TNF-α, TGF-β, platelet-derived growth factor- (PDGF-) BB, b-fibroblast growth factor (FGF), G-CSF, GM-CSF, IFN-α, macrophage inflammatory protein- (MIP-) 1α, MIP-1β, MIP-3α, HGF, IFN-γ-induced protein 10 (IP-10), monocyte chemotactic protein- (MCP-) 1, monokine induced by IFN-γ (MIG), και τον chemokine ligand 5 (CCL5 ή RANTES) (Hermouet 2015).

Η IL6 έχει φανεί να εκφράζεται σημαντικά σε καταστάσεις χρόνιας φλεγμονής. Παράγεται από ποικίλα κύτταρα, όπως μονοκύτταρα/ μακροφάγα, T λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα και ηπατοκύτταρα. Αποτελεί παράγοντα

μυελοποίησης σε χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένων των MYN. Η ενεργοποίηση του JAK STAT μονοπατιού οδηγεί σε παραγωγή IL6, με τη JAK2V617F να οδηγεί σε συνεχή ενεργοποίηση του, ενώ η αναστολή του μονοπατιού με τη χρήση των JAK1/2 αναστολέων εμποδίζει τη φωσφορυλίωση του STAT3 και την παραγωγή IL6.

Σε ανάλυση δειγμάτων από 92 ασθενείς με PV, 63 ασθενείς με ET και 50 ασθενείς με PMF, 12 υγιών και 10 ασθενών με δευτεροπαθή ερυθροκυττάρωση έγινε μελέτη των επιπέδων IL-6 στον ορό και το μυελό ανθρώπων με Ph(-) MYN, ανάλυση σε μικροσυστοιχίες του γονιδιακού προφίλ έκφρασης στα CD34 κύτταρα και των γονιδίων των σχετικών με το JAK/STAT σηματοδοτικό μονοπάτι, και περαιτέρω ανάλυση σε συσχέτιση με την JAK2V617F και τον αριθμό JAK2 αλληλίων (Čokić 2015). Από την ανάλυση σε μικροσυστοιχίες των CD34 κυττάρων φάνηκε σημαντική μεταβολή της έκφρασης 261 γονιδίων σε ασθενείς με PV, 82 σε ασθενείς με ET και 94 σε ασθενείς με PMF, άλλων σε αυξημένη έκφραση σε όλα τα MYN, και άλλων σε επιμέρους νόσημα, ενώ η έκφραση κάποιων γονιδίων συσχετιζόταν με την ύπαρξη της JAK2V617F (Figure 2).

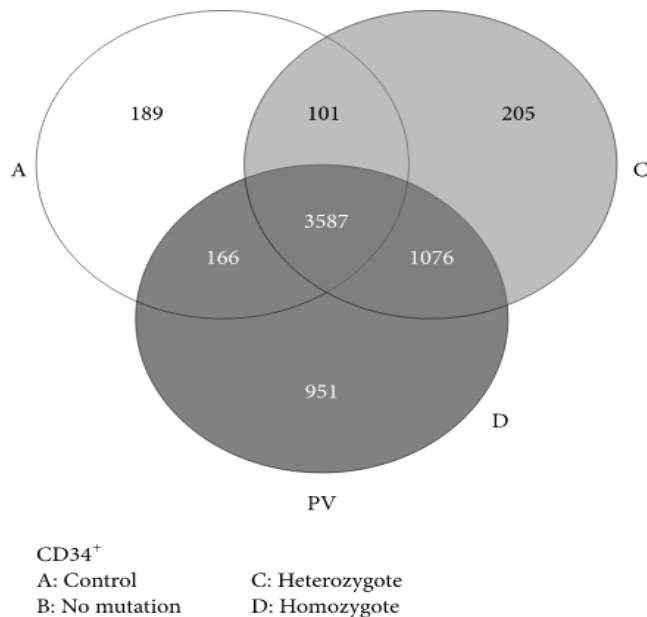


Figure 2. Με τη συγκεκριμένη σχηματική απεικόνιση φαίνονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση σε μικροσυστοιχίες της έκφρασης γονιδίων των CD34 κυττάρων ασθενών με ετερόζυγο σε σύγκριση με ομόζυγο PV. Μέσω διαγράμματος Venn εκφράζεται η ταύτιση των γονιδίων που εκφράζονται.

VP Čokić et al. Proinflammatory Cytokine IL-6 and JAK-STAT Signaling Pathway in Myeloproliferative Neoplasms (Mediators of Inflammation, 2015)

Στην ανάλυση των γονιδίων του JAK-STAT, η έκφραση γονιδίων όπως, ενδεικτικά, του colony stimulating factor 3 receptor (CSF3R) ήταν σημαντικά αυξημένη σε JAK2V617F θετικούς ασθενείς με ET και PV. Επίσης ενδεικτικά, το v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2 (AKT2) ήταν σημαντικά αυξημένο σε JAK2V617F ομόζυγους ασθενείς με PV και JAK2V617F θετικούς ασθενείς με PMF και η cyclin D3 (CCND3) παρουσιάζει αυξημένη έκφραση σε όλα τα MYN ανεξάρτητα από τη JAK2V617F. Τα STAT1 και STAT2 ήταν αυξημένα σε ετεροζυγους με ET και PV, το STAT3 μόνο σε ομόζυγους ασθενείς με PV και το STAT5A ήταν σημαντικά ελαττωμένο στους ασθενείς με ET και PMF χωρίς μετάλλαξη και στους ομόζυγους ασθενείς με PV.

Τα επίπεδα της IL-6 ανιχνεύθηκαν σε πλάσμα και μυελό, και έγινε ανάλυση σε συνάρτηση και με JAK2V617F VAF. Σχετικά με τα σηματοδοτικά μονοπάτια, ο IL6ST ήταν αυξημένος στα CD34 θετικά κύτταρα των JAK2V617F θετικών με ET και PV. Η MAP2K1 ήταν αυξημένη στους ασθενείς με PV. Άλλα προφλεγμονώδη μονοπάτια όπως του NF-κB και TGF-β έδειξαν διαφορετικά προφίλ έκφρασης σε κάθε επιμέρους νόσημα των πρωτεϊνών που μετέχουν στα μονοπάτια.

Σχετικά με τα επίπεδα της IL-6, η IL-6 ορού ήταν υψηλή σε όλους τους ασθενείς με MYN ανεξάρτητα και από το JAK2V617F VAF, υπήρχε δε θετική συσχέτιση της IL-6 με τα επίπεδα RBCs, Hb, και Ht στους ετεροζυγώτες με PV. Ακόμη, η IL-6 στο στρώμα του μυελού ήταν υψηλή σε όλους τους ασθενείς με MYN, και κυρίως στους JAK2V617F θετικούς ασθενείς με PMF και ET (συσχέτιση με την παρουσία της JAK2V617F) (Figure 3).

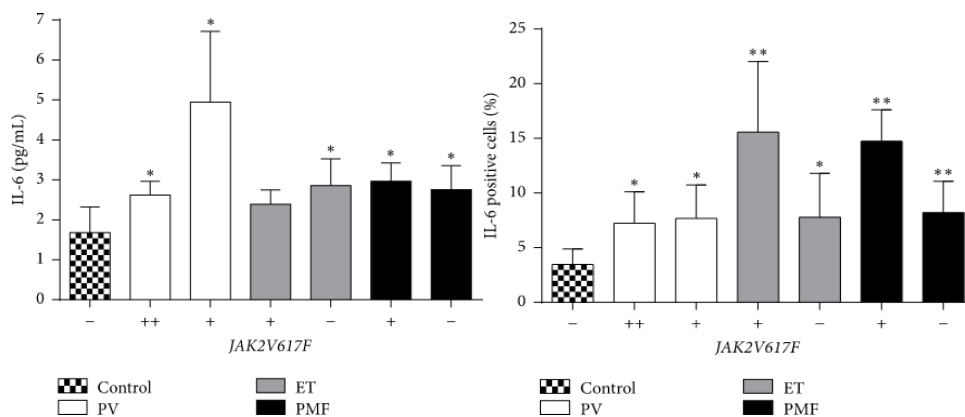


Figure 3. Τα επίπεδα IL-6 όπως προσδιορίστηκαν α) με ELISA στον ορό και β) με ανοσοϊστοχημεία στο μυελικό στρώμα σε ασθενείς με MYN. Με * οι ετεροζυγώτες και με ** οι ομοζυγώτες ως προς την JAK2V617F.

VP Čokić et al. Proinflammatory Cytokine IL-6 and JAK-STAT Signaling Pathway in Myeloproliferative Neoplasms (Mediators of Inflammation, 2015)

Ως προς λοιπές κυτταροκίνες πέραν της IL-6, η οποία έχει μελετηθεί εκτενώς και η συσχέτισή της με τα MYN έχει αποσαφηνιστεί, διάφορες μελέτες αποτυπώνουν διαφορετικά ευρήματα σχετικά με την έκφραση κυτταροκινών σε ασθενείς με διαφορετικά MYN. Μελέτη σε 38 ασθενείς με PV και ET, στους οποίους έγινε μέτρηση 13 κυτταροκινών με immunoassays (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, IFN- γ , MCP-1, PDGF-BB, TNF- α , VEGF και HGF), διαπίστωσε χαμηλότερα επίπεδα IL-12 και GM-CSF σε ασθενείς με θρομβωτικά επεισόδια, και στα δύο νοσήματα, σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς θρομβωτικά επεισόδια (Pourcelot E 2014). Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων κυτταροκινών των θετικών σε σύγκριση με τους αρνητικούς για τη JAK2V617F ασθενείς. Όμως, σε σχέση με το επιμέρους νόσημα, διαπιστώθηκαν χαμηλότερα επίπεδα TNF α στους JAK2V617F θετικούς με PV, και υψηλότερα επίπεδα IL4, IL8, PDGF-BB και IFN- γ στους JAK2V617F θετικούς με ET (Figure 4).

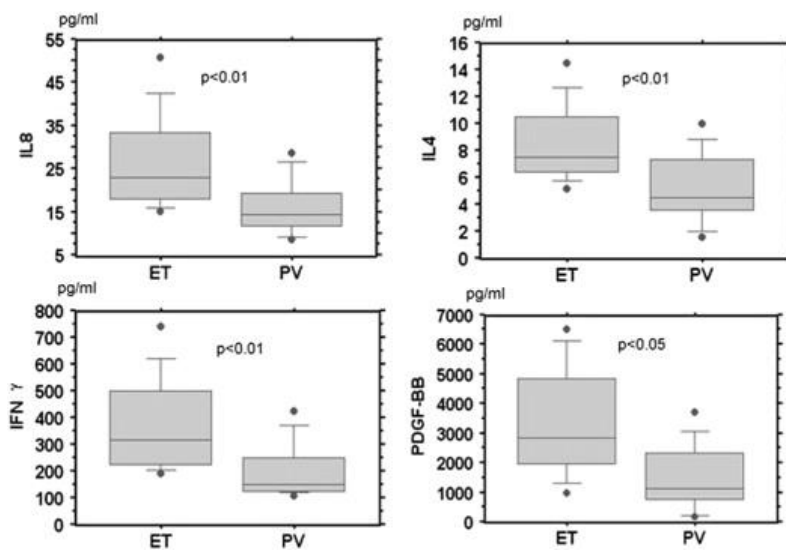


Figure 4. Box plot διάγραμμα. Φαίνονται τα υψηλότερα επίπεδα κυτταροκινών που διαπιστώθηκαν σε ασθενείς με ET συγκριτικά με ασθενείς με PV.

Pourcelot, Mondet, Mossuz et al. Cytokine profiles in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients: clinical implications (Experimental Haematology, 2014)

Ακόμη, διαφορές παρατηρούνται από τη βιβλιογραφία στα επίπεδα και των αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως των IL-10 και IL-4 (Mondet J 2015).

Σε μελέτη 83 ασθενών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με MYN μελετήθηκαν τα επίπεδα της IL-6, IL-2 και του διαλυτού υποδοχέα της sIL-2Ra, σε κάθε νόσημα, σε συσχέτιση και με την αγγειογενετική δραστηριότητα εκφραζόμενη ως bone marrow microvessel density (MVD) (Panteli KE 2005). Σε ασθενείς με ET τα επίπεδα IL-2 ήταν υψηλά σε ασθενείς με ίνωση του μυελού, ενώ τα αποτελέσματα ως προς τα επίπεδα της IL-6 ήταν διαφορετικά σε σύγκριση με τα επικρατούντα ευρήματα από τη βιβλιογραφία. Πρόκειται βέβαια για μικρή ομάδα ασθενών, με ετερογένεια ως προς το πρωτοπαθές νόσημα και το μέγεθος της κάθε υποομάδας ασθενών, όπως και ως προς τη στιγμή λήψης των δειγμάτων είτε στην αρχή της διάγνωσης είτε αργότερα στην πορεία της νόσου. Συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων των κυτταροκινών και του μεγέθους του σπληνός και του ήπατος, γεγονός που αναδεικνύει τη συσχέτισή φλεγμονής με υψηλό φορτίο της νόσου. Τα επίπεδα των κυτταροκινών φάνηκαν να συσχετίζονται και με την MVD. Γεννάται, παράλληλα, το ερώτημα αν η αύξησή τους αποτελεί τον πρωτογενή μηχανισμό στον οποίο οφείλεται η αυξημένη αγγειογένεση ή αν είναι δευτερογενής διαδικασία.

Το CXCL4 είναι μία χημειοκίνη που συντίθεται από τα MKK, έχει σημαντικούς ρόλους στη φυσιολογία των ΑΜΠ, και μπορεί να εκκρίνεται από μονοκύτταρα και T λεμφοκύτταρα. Έχει ποικίλα ανοσοτροποποιητικά αποτελέσματα στην αιμοποίηση και την αγγειογένεση, και ο ρόλος της έχει συζητηθεί στην παθογένεση και άλλων φλεγμονωδών νοσημάτων (πχ αθηρωμάτωση, PA) καθώς και αιματολογικών νοσημάτων. Η παρουσία CXCL4 στο μυελό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της φλεγμονής και έχει προϊνωτικές ιδιότητες, ενώ η απουσία της βελτιώνει το φαινότυπο των MYN και την ίνωση.

Μία ιδιαίτερη μελέτη που δημοσιεύτηκε στο ASH το 2020 περιλάμβανε in vitro μελέτη σε δείγματα από μυελό ποντικών που είχαν υποστεί ακτινοβολία για καταστροφή του μυελού και ύστερα μεταμόσχευση κυττάρων είτε με wild type CXCL4 είτε CXCL4 αρνητικών (Gleitz HFE 2020). Η εντοπισμένη αύξηση του CXCL4 συνδέεται με τη φλεγμονή και την ίνωση, συγκεκριμένα η έκφρασή του στα HSPCs είναι ένδειξη της έναρξης ινωτικής μετατροπής, ενώ η έκφραση σε μεταγενέστερα στάδια στα κύτταρα του στρώματος συνδέεται με πρόοδο της ίνωσης, και η έκφρασή του συνδέεται επίσης με τη φλεγμονή όπως εντοπίζεται στα αρχικά στάδια της νόσου. Αναγνωρίστηκαν 4 βαθμοί θρόμβωσης στο μυελό, grade 1 όπου η CLX4 εντοπίζεται στα MKK, grade 2 όπου η CLX4 εντοπίζεται εντόνως στα MKK και λιγότερο στα ενδοστεακά και στρωματικά κύτταρα περί των αγγείων, grade 3 όπου η CLX4 εντοπίζονται λιγότερα στα MKK και κυρίως στα ενδοστεακά και στρωματικά κύτταρα, grade 4 όπου η CLX4 εντοπίζεται σε παχέα ινωτικά

στρώματα του μυελού (Figure 5). Φάνηκε ότι υψηλότερα grades εντοπίζονταν σε ασθενείς με χαμηλότερες τιμές Hb και υψηλότερες τιμές WBCs, όπως και ότι υψηλότερα grades διαπιστώνονταν σε ασθενείς με MYN σε σχέση με controls. Βλέπουμε για μία ακόμη φορά την ενδιαφέρουσα συσχέτιση μεταξύ φλεγμονής (όπως εκφράζεται και από την αναιμία), ίνωσης, αλλά και τη συσχέτιση με υψηλότερες τιμές WBCs στους ασθενείς, γνωρίζοντας και ότι η λευκοκυττάρωση έχει ξεχωριστά συσχετιστεί με θρομβωτικά επεισόδια.

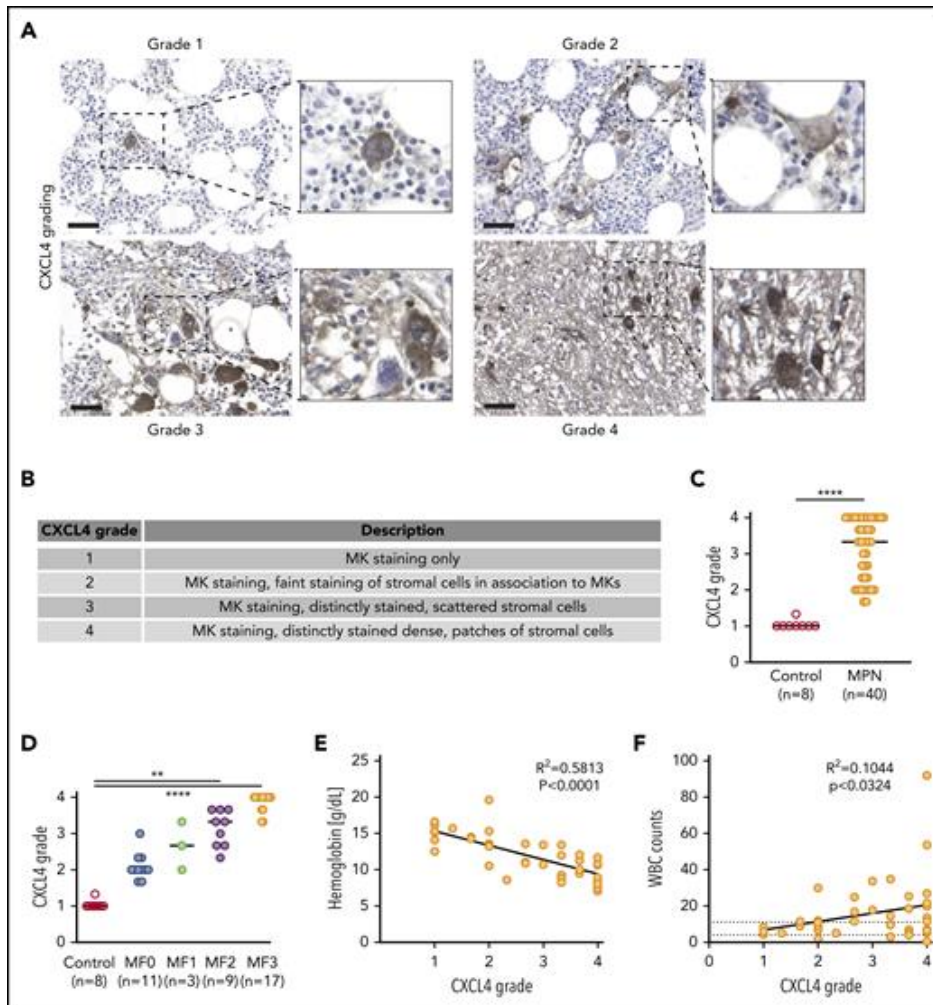


Figure 5. Η εντοπισμένη έκφραση της CXCL4 εντός του μυελού στα μεγακαρυοκύτταρα και στα στρωματικά κύτταρα εκφράζεται σε διαφορετικούς βαθμούς ίνωσης. Increased CXCL4 expression in hematopoietic cells links inflammation and progression of bone marrow fibrosis in MPN (ASH, 2020)

Συνοψίζοντας, οι διάφορες μελέτες στη βιβλιογραφία καταλήγουν στο ότι υπάρχει ένα διαφορετικό προφίλ έκφρασης γονιδίων και κυτταροκινών σε κάθε μυελούπερπλαστικό νόσημα, κάτι που μπορεί να ερμηνευτεί ως ένα ακόμη εύρημα που αντικατοπτρίζει την ετερογένεια των νοσημάτων (Panteli KE 2005) (Pourcelot E 2014) (Čokić 2015) (Mondet J 2015) (Vaidya 2012). Ακόμη, η παρουσία σε υψηλά επίπεδα κυτταροκινών στο μυελικό χώρο είναι ισχυρή ένδειξη του φλεγμονώδους υποβάθρου στο πλαίσιο της παθογένειας της νόσου, και τις θεραπευτικές δυνατότητες που διαφαίνονται. Η IL-6 παρουσιάζει μάλλον επιβεβαιωμένα υψηλά

επίπεδα στο πλάσμα ασθενών με MYN, όπως και στο μυελικό στρώμα, σε πιθανή συσχέτιση και με την παρουσία της JAK2V617F μετάλλαξης, ενώ τα διαφορετικά νοσήματα παρουσιάζουν διαφορετικά προφίλ έκφρασης κυτταροκινών, χωρίς να διαπιστώνεται ένα σταθερά παρατηρούμενο μοτίβο. Επιπροσθέτως, ενώ η ET και η PV μοιάζουν όταν χαρακτηρίζονται από τη JAK2V617F μετάλλαξη να εκφράζονται σε ένα συνεχές, έχουν ουσιαστικές διαφορές στο παθογενετικό προφίλ εκφραζόμενο ως ένα διαφορετικό βιοχημικό και ανοσολογικό προφίλ έκφρασης κυτταροκινών.

Αιμοσφαίρια

Ο διαχωρισμός του τρόπου που επιδρά κάθε κυτταρική σειρά στο θρομβωτικό κίνδυνο δεν είναι εύκολος, λόγω των πολλαπλών άλλων παραγόντων που τον επηρεάζουν, όπως η ηλικία, το φύλο, η φαρμακευτική αγωγή και οι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου.

Λευκά αιμοσφαίρια

Ο ρόλος της λευκοκυττάρωσης έχει μελετηθεί ιδιαίτερα ως προς τη συσχέτιση με αυξημένο κίνδυνο θρομβωτικών επεισοδίων στους ασθενείς με MYN, όπως περιεγράφηκε αναλυτικά στο κεφάλαιο 3. Θεωρείται βέβαιος ύστερα από πληθώρα αναδρομικών και τυχαιοποιημένων μελετών καθώς και μεταanalύσεων, σε μεγάλες κοόρτες ασθενών, όπου επιβεβαιώνεται η συσχέτιση της λευκοκυττάρωσης με την επίπτωση θρομβωτικών επεισοδίων στην PV και στην ET. Ύστερα από τις μελέτες που δείχνουν συσχέτιση της λευκοκυττάρωσης με τα θρομβωτικά επεισόδια σε ασθενείς με PV και ET, αναδεικνύεται η ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα σημασία της φυσικής ανοσίας στο πλαίσιο της ανοσοθρόμβωσης.

Αναδρομική single center μελέτη 487 ασθενών, 349 ασθενών με PV και 138 ασθενών με ET, έδειξε ότι ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων φάνηκε να σχετίζεται με αυξημένη επίπτωση φλεβικής θρόμβωσης σε ασθενείς τόσο με PV όσο και ET, ενώ δε φάνηκε να σχετίζεται με αυξημένη επίπτωση αρτηριακής θρόμβωσης, σε κανένα από τα δύο νοσήματα (Farrukh F 2021). Ο απόλυτος αριθμός μονοκυττάρων φάνηκε να σχετίζεται με αυξημένη επίπτωση φλεβικής θρόμβωσης σε ασθενείς με PV και ET μόνο για τα περιστατικά που σημειώθηκαν πριν ή κατά, αλλά όχι μετά τη διάγνωση. Τα ευρήματα ωστόσο δεν έχουν επιβεβαιωθεί στη βιβλιογραφία.

Ο λόγος απόλυτου αριθμού πολυμορφοπύρηνων προς λεμφοκυττάρων (neutrophil to lymphocyte ratio- NLR) έχει μελετηθεί ως προς την πιθανότητα να αποτελεί ένα δείκτη συσχέτισης με την πιθανότητα θρόμβωσης στο γενικό πληθυσμό. Η

παρακάτω προοπτική μελέτη, που δημοσιεύθηκε το 2022, έγινε σε 1508 ασθενείς με PV της μελέτης ECLAP ύστερα από follow up διάμεσης περιόδου τριών ετών (Carobbio A 2022). Η φλεβική θρόμβωση συσχετίστηκε με το ιστορικό φλεβικής θρόμβωσης και το αυξημένο NLR, το οποίο προέκυπτε τόσο από υψηλό αριθμό πολυμορφοπύρηνων όσο και χαμηλό αριθμό λεμφοκυττάρων. Η αρτηριακή θρόμβωση συσχετίστηκε με την ηλικία > 60 ετών, το ιστορικό αρτηριακής θρόμβωσης και έναν ή περισσότερους παράγοντες ΚΔ κινδύνου, ενώ καμία συσχέτιση δεν υπήρξε με το NLR ή τη baseline λευκοκυττάρωση. Κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση, το NLR παρέμεινε σημαντικός παράγοντας κινδύνου για φλεβική θρόμβωση, και το ιστορικό αρτηριακής θρόμβωσης και η ηλικία σαν παράγοντες για αρτηριακή θρόμβωση. Οι παράγοντες ΚΔ κινδύνου φάνηκαν να έχουν οριακά σημαντική επίδραση στους ασθενείς που παρουσίασαν αρτηριακή θρόμβωση.

Για να ποσοτικοποιήσουμε την χρησιμότητα του NLR ως προγνωστικού δείκτη, όταν το $NLR > 5$ προστίθετο στους υπάρχοντες παράγοντες κινδύνου για φλεβική θρόμβωση, η πιθανότητα αντιστοιχίας μεταξύ πρόβλεψης και τελικού αποτελέσματος αυξανόταν από 59,24 σε 65,09%. Επίσης η πιθανότητα της παραμέτρου χρονικό διάστημα- έως τη- φλεβική θρόμβωση (thrombosis- free survival- TFS) μειώθηκε σημαντικά κατά την προσθήκη ως παράγοντα του NLR (Figure 6).

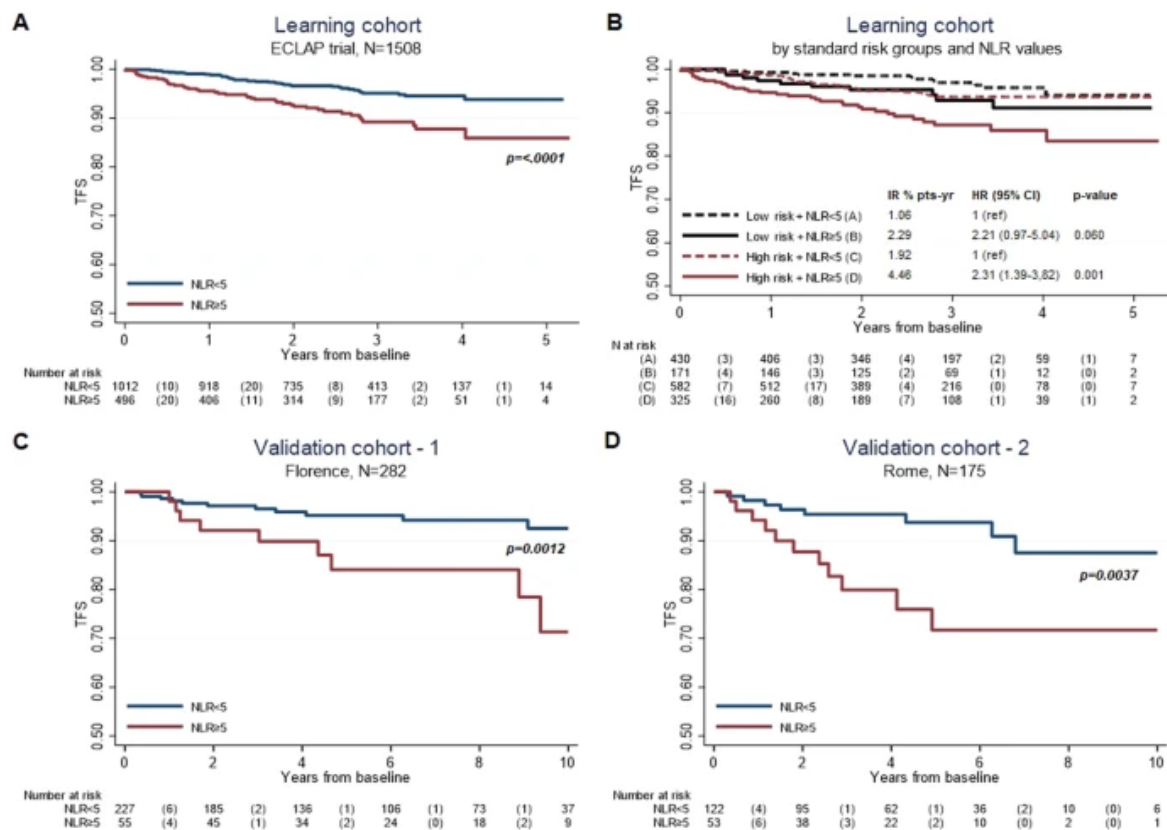


Figure 6. Καμπύλες Kaplan Meier για το TFS (φλεβική θρόμβωση) σε συνάρτηση με το χρονικό διάστημα από την έναρξη της παρακολούθησης της μελέτης, βάσει των διαφορετικών NLR τιμών <5 είτε >5. (A) Βλέπουμε τη σαφή άνοδο του TFS για ασθενείς με $NLR < 5$ (B) και τη σαφή άνοδο του κινδύνου φλεβικής θρόμβωσης όταν σε κάθε κατηγορία κινδύνου συνυπολογίζεται το NLR ratio (C, D) Τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν από τη μελέτη 2 ανεξάρτητων Ιταλικών κοορτών από τη Φλωρεντία και τη Ρώμη. A Carobbio et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio is a novel predictor of venous thrombosis in polycythemia vera (Blood Cancer Journal, 2022)

Τα ευρήματα που αναδεικνύουν το ρόλο των λευκών αιμοσφαιρίων στη θρόμβωση των MYN, από άποψη ποιοτικών διαφορών, είναι ποικίλα στη βιβλιογραφία.

Μία από τις πρώτες μελέτες με ενδείξεις υπέρ της λευκοκυτταρικής ενεργοποίησης, ταυτόχρονα με εργαστηριακά ευρήματα ενεργοποίησης του καταρράκτη της πήξης και του ενδοθηλίου σε 37 ασθενείς με ET και 34 με PV δημοσιεύτηκε το 2000 (Falanga A 2020). Στους ασθενείς μελετήθηκε μια σειρά δεικτών ενεργοποίησης των PMNs, δηλαδή ο δείκτης CD11b επιφανείας, η λευκοκυτταρική αλκαλική φωσφατάση (LAP), η ενδοκυττάρια ελαστάση, η ελαστάση του πλάσματος και η μυελοϋπεροξειδάση (MPO), καθώς και δείκτες ενδοθηλιακής βλάβης στο πλάσμα, δηλαδή η θρομβομοδουλίνη και το αντιγόνο vWF, και δείκτες ενεργοποίησης του

μηχανισμού πήξης, δηλαδή το σύμπλεγμα θρομβίνης- αντιθρομβίνης, τα prothrombin fragments 1+2, και τα D-dimers. Εκ των αποτελεσμάτων, φάνηκε αύξηση των δεικτών και στις δύο ομάδες ασθενών σε σύγκριση με τους υγιείς.

Άλλο ποιοτικό εύρημα σχετικά με τα λευκά αιμοσφαίρια ήταν, σε μελέτη *in vivo* και *in vitro* σε ποντίκια με knock-in JAK2V617F μετάλλαξη συγκριτικά με ποντίκια ελέγχου, η διαπίστωση αυξημένης έκφρασης β1 και β2 ιντεγκρινών στα κοκκιοκύτταρα, εύρημα που σχετίζεται με αυξημένη προσκόλληση και διαπίδυσή τους από τα αγγεία, όπως διαπιστώθηκε από την *in vitro* μελέτη σε επιφάνεια (Edelmann B 2019). Η δράση αυτή σχετίζεται με αυξημένη έκφραση του Rap1/ GTP μονοπατιού, εύρημα που δεν επαναλήφθηκε σε μετάλλαξη CALR. Στα κύτταρα μυελικής και λεμφικής σειράς του μυελού, διαπιστώθηκε ότι η β1 ιντεγκρίνη δεν εκφραζόταν σε διαφορετικά επίπεδα σε JAK2V617F θετικά συγκριτικά με φυσιολογικά JAK2 ποντίκια, όμως παρουσίαζαν διαφορά στην έκφραση μεταξύ των υποτύπων λευκών αιμοσφαιρίων. Η β1 ιντεγκρίνη ήταν σε αυξημένα επίπεδα στα T και B λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα, αλλά όχι στα πολυμορφοπύρηνα, ενώ η β2 ήταν αυξημένη σε όλα τα λευκά αιμοσφαίρια, αλλά όχι στα B λεμφοκύτταρα.

Δύο ακόμη σημαντικές λειτουργίες των PMNs που μελετήθηκαν σε ασθενείς με MYN στο πλαίσιο της αναζήτησης μηχανισμών ανοσοθρόμβωσης, είναι η παραγωγή ελευθέρων ριζών και η εξωκυττάρωση NETs.

Σε μελέτη δειγμάτων ασθενών με MYN JAK2V617F θετικών σε σύγκριση με αρνητικούς και υγιή άτομα, με τεχνική χημειοφωταύγειας, φάνηκε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών ύστερα από διέγερση και μη των PMNs στους ασθενείς με JAK2V617F μετάλλαξη, κάτι που φάνηκε να συνδέεται και με φωσφορυλίωση της NADPH οξειδάσης (Hurtado-Nedelec M 2013).

Η εξωκυττάρωση NETs, παρότι φαίνεται ένας θεωρητικά αναμενόμενος μηχανισμός που θα ενεργοποιείται στα MYN σε συνάρτηση και με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, δεν έχει αποδειχθεί ξεκάθαρα κατά πόσο συμμετέχει στο θρομβωτικό προφίλ των MYN. Φαίνεται να είναι κάτι αμφιλεγόμενο και διαφορετικές μέθοδοι πειραματικής μελέτης έχουν δώσει διαφορετικά αποτελέσματα. Ενώ από μελέτες έχει καταγραφεί αύξηση δεικτών NETs και δεικτών επιφανείας ενεργοποιημένων PMNs σε ασθενείς με σήψη και θρόμβωση, καθώς και αύξηση των δεικτών επιφανείας και επιβεβαίωση ποιοτικά NETοτικών μορφών ύστερα από διέγερση των πολυμορφοπύρηνων, τα ευρήματα αυτά δεν έχουν επιβεβαιωθεί στη βιβλιογραφία σε ασθενείς με MYN (K H Lee 2021).

Σε μελέτη του 2018 φάνηκε ότι η αυξημένη δραστηριότητα της JAK κινάσης σε ασθενείς με MYN συνδέθηκε με σχηματισμό NETs, ενώ ύστερα από την αναστολή της με ruxolitinib η συχνότητα θρομβώσεων μειώθηκε σε μοντέλα ποντικών (Wolach O 2018). Τα ποντίκια με knock- in μετάλλαξη JAK2V617F ύστερα από εφαρμογή του ruxolitinib παρουσίασαν ελάττωση παραγωγής NETs και ελάττωση θρομβώσεων σε μοντέλο στένωσης εν τω βάθει φλεβών. Επίσης, οι ερευνητές έδειξαν ότι η έκφραση της PAD4, πρωτεΐνης απαραίτητης για το σχηματισμό των NETs, είναι αυξημένη στα πολυμορφοπύρρηνα που εκφράζουν JAK2V617F, καθώς και ότι ήταν απαραίτητη για τον in vivo σχηματισμό NETs και τη θρόμβωση.

Στην πολυεπίπεδη μελέτη των Oyarzun et al, η διαδικασία της NETοσης μελετήθηκε σε δείγματα πλάσματος από 66 ασθενείς με PV, ET και PMF. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε ex vivo η NETοση ύστερα από ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων, και έγινε μέτρηση in vivo citH3, νουκλεοσωμάτων, ελεύθερου DNA, συμπλεγμάτων MPO-citH3 ως δείκτες ενεργοποίησης NETs, πρώτα σε σταθερές συνθήκες και στη συνέχεια μετά από διέγερση με HMA (Oyarzun M 2016). Οι δείκτες NETοσης των ουδετερόφιλων ex vivo ήταν η μικροσκοπική διαπίστωση σχηματισμού NETs ύστερα από διέγερση με IL8, TNFα και PMA και η ποσοτικοποίησή τους.

Τα αποτελέσματα έδειξαν μειωμένη NETοση σε PMNs σε σταθερές συνθήκες ex vivo στους ασθενείς, με ετερογένεια μεταξύ των διαφορετικών MYN. Η δημιουργία ROS, βασικό βήμα κατά τη δημιουργία των NETs, σε δείγματα ex vivo ήταν υψηλότερη στους ασθενείς συγκριτικά με τα controls, ιδίως σε ασθενείς με PV συγκριτικά με εκείνους με ET ή PF. Υπήρξε μία υποομάδα με ιδιαίτερα ψηλά επίπεδα ROS (>20%) στο οποίο παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές WBCs, τόσο σε ασθενείς με JAK2V617F όσο και με CALR μετάλλαξη. Ως προς την ex vivo μελέτη, κανένα ερέθισμα δεν προκάλεσε μεγαλύτερη NETοση στα PMN ασθενών σε σύγκριση με τα controls, και φάνηκε να αποτυπώνεται μειωμένη δυνατότητα NETοσης κατά τη διέγερση των PMNs με πιο ισχυρούς ενεργοποιητές. Σχετικά με τους δείκτες NETοσης, τα κυκλοφορούντα νουκλεοσώματα ήταν υψηλότερα στους ασθενείς με κάθε MYN σε σύγκριση με τους controls, χωρίς να αποδείχθηκε συσχέτιση με τη ύπαρξη θρομβωτικών επεισοδίων, ενώ μείωση συγκριτικά παρατηρήθηκε στους ασθενείς με MF υπό ruxolitinib. Το αντιγόνο vWF, τα συσσωματώματα PLTs- MPNs και τα d- dimers χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες ενδοθηλιακής, κυτταρικής και ενεργοποίησης της πήξης αντίστοιχα. Το αντιγόνο vWF και τα συσσωματώματα PLTs- MPNs ήταν αυξημένα, ενώ τα d- dimers ήταν αυξημένα χωρίς όμως στατιστική σημαντικότητα στους ασθενείς. Υψηλά επίπεδα MPO διαπιστώθηκαν σε όλους τους ασθενείς, ενώ τα συμπλέγματα MPO- ιστονών δεν ήταν αυξημένα παρά σε δύο ασθενείς με MF.

Εκ των αποτελεσμάτων της μελέτης, η ήδη γνωστή συστηματική φλεγμονή που χαρακτηρίζει τα MYN οδηγεί σε ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων, κάτι που στη μελέτη επιβεβαιώθηκε από τα υψηλά επίπεδα CD11b, χωρίς να επιβεβαιώνεται όμως η NETοση σαν κεντρικός μηχανισμός ενεργοποίησης των WBCs. Μία εξήγηση είναι ότι η ελαττωμένη NETοση θα μπορούσε να οφείλεται στο ότι πολλοί από τους ασθενείς βρίσκονταν υπό θεραπεία με HU. Επίσης, οι υπολογιζόμενοι κυκλοφορούντες δείκτες ενεργοποίησης των NETs, ελεύθερου DNA δε γίνεται να αποδειχθεί ότι συσχετίζονται με το υποκείμενο MYN και όχι με κάποια άλλη κατάσταση που προκαλεί κυτταρικό θάνατο και απελευθέρωση γενετικού υλικού στην κυκλοφορία. Τέλος, ο μικρός αριθμός ασθενών αποτελεί ένα ακόμη μειονέκτημα στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, κάτι που θα μπορούσαν να διαλευκάνουν περισσότερες τυχαιοποιημένες μελέτες

Τα μονοκύτταρα είναι βασικά κύτταρα που συμμετέχουν στη φλεγμονώδη απόκριση με αυξημένη έκφραση TF και κυτταροκινών, κάτι που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία να συμβαίνει σε μονοκύτταρα ασθενών με PMF (Fisher DAC 2019). Στη συγκεκριμένη μελέτη του 2019 που χρησιμοποίησε φασματομετρία μάζας ex vivo, οι περισσότερες κυτταροκίνες ήταν ιδιαίτερα αυξημένες, η πλειοψηφία εκ των οποίων παρουσίαζε υπερευαισθησία στη δράση της TPO, συνδετών του TLR υποδοχέα και στον TNF. Οι συγκεκριμένες κυτταροκίνες ήταν ευαίσθητες σε φαρμακολογική αναστολή των μονοπατιών NFκB ή και του MAPK.

Ο σχηματισμός συσσωματωμάτων με τα αιμοπετάλια αποτελεί έναν ακόμη μηχανισμό αλληλεπίδρασης στο πλαίσιο της συμμετοχής τους στη φλεγμονή, όπως θα αναλυθεί στο υποκεφάλαιο σχετικά με το ρόλο των αιμοπεταλίων.

Τα NK κύτταρα ωριμάζουν στο μυελό των οστών και, παράγοντας κυτταροκίνες όπως η IL-6 και ο TNF-α, οδηγούν στην εξουδετέρωση καρκινικών κυττάρων ή κυττάρων που έχουν προσβληθεί από ιό. Έχουν στην κυτταρική τους επιφάνεια ποικιλία υποδοχέων, κατασταλτικών είτε διεγερτικών. Η ισορροπία μεταξύ των διαφορετικών υποδοχέων καθορίζει τη δραστηριότητα των κυττάρων, μέσω της εξωκυττάρωσης λυτικών ενζύμων όπως περφορίνης και granzymes, την παραγωγή IFN-γ και την έκφραση death receptor ligands που οδηγούν σε απόπτωση. Η παραγωγή IL-15 από τα κύτταρα του στρώματος του μυελού είναι σημαντική για την ενεργοποίησή τους, μέσω του υποδοχέα της στην επιφάνειά τους. Κάτω από συνθήκες ομοιόστασης, τα NK κύτταρα παραμένουν ανενεργά μέσω ανασταλτικών υποδοχέων. Ως προς τη λειτουργία των κυττάρων, βάσει των βασικών υποδοχέων επιφανείας τους, διαχωρίζονται δύο ομάδες, τα CD16+ CD56dim, που εμφανίζουν κυτταροτοξική δράση, και τα CD56+ CD16dim, τα οποία έχουν ρυθμιστική δράση και βρίσκονται σε στενή σύνδεση με την αιμοποιητική φωλεά.

Στα MYN υπάρχουν λίγα και αντικρουόμενα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με τον αριθμό των NK κυττάρων στους ασθενείς αυτούς, άλλοτε υποστηρίζοντας ότι δεν υπάρχουν ποσοτικές διαφορές μεταξύ υγιών και ασθενών με MYN, άλλοτε υπέρ της ύπαρξης μικρότερου αριθμού NK κυττάρων στους ασθενείς με MYN (Riley C H 2015) (Schönberg K 2015).

Η θεραπεία με IFN-a φαίνεται να προκαλεί μείωση πληθυσμού CD56dim κυττάρων μετά από θεραπεία για διάστημα μεγαλύτερο από 12 μήνες με IFN-a. Ύστερα από διέγερση με κυτταροκίνες (IL12, IL15) παρατηρήθηκε παραγωγή IFN-γ αλλά κυρίως από CD56bright και όχι dim cells. (Riley C H 2015). Αντίστοιχα ύστερα από θεραπεία με HU δεν παρατηρήθηκε αλλαγή μεταξύ του πληθυσμού NK κυττάρων υγιών και ασθενών. Τέλος, ύστερα από αγωγή με ruxolitinib, διαπιστώθηκε μείωση των IL12 και IL15, που οδήγησε σε μειωμένη φωσφορυλίωση STAT5 και σε μειωμένη παραγωγή IFN-γ από τα NK κύτταρα (Schönberg K 2015) (Curran S A 2017).

Αιμοπετάλια

Η προφανής σκέψη για συσχέτιση της θρομβοκυττάρωσης με αυξημένα θρομβωτικά επεισόδια δε φαίνεται να επαληθεύεται από τη βιβλιογραφία. Το επίκεντρο σχετικά με την επίδραση των αιμοπεταλίων στο θρομβωτικό κίνδυνο και τη συσχέτιση με τη φλεγμονή φαίνεται να αφορά σε ποιοτικά χαρακτηριστικά των αιμοπεταλίων. Ποιοτικές διαφορές των αιμοπεταλίων, όπως και η αλληλεπίδραση με φλεγμονώδη κύτταρα, φαίνεται με πολλούς μηχανισμούς να συντελούν στο φλεγμονώδες υπόβαθρο των MYN.

Η δράση των αιμοπεταλίων ως φλεγμονωδών κυττάρων καθορίζεται από ιδιότητες των ιδίων, όπως και από την αλληλεπίδρασή τους με φλεγμονώδη κύτταρα με τα οποία σχηματίζουν συσσωματώματα (πολυμορφοπύρηνα και μονοπύρηνα). Ο υψηλός αιματοκρίτης οδηγεί σε αυξημένο margination και συγκέντρωση των αιμοπεταλίων στα σημεία ενδοθηλιακής βλάβης (Cecilia P. Marin Oyarzun 2019). Η απελευθέρωση από τα α κοκκία των αιμοπεταλίων PF4 και RANTES (CCL5) ενεργοποιεί τα πολυμορφοπύρηνα, ενώ, αντιστρόφως, τα PLTs ενεργοποιούνται από χημειοκίνες όπως η ελαστάση και η cathepsin G που εκκρίνεται από τα πολυμορφοπύρηνα (Ferrer Marin F 2021).

Τα αιμοπετάλια έχουν τη δυνατότητα in vivo να σχηματίζουν συσσωματώματα με λευκά αιμοσφαίρια, συγκεκριμένα μονοπύρηνα και πολυμορφοπύρηνα μέσω κυτταρικών υποδοχέων- δεικτών που αποτελούν δείκτες επιφανείας τους.

Σε μελέτη σε 80 ασθενείς, 46 με ET και 34 με PV, χρησιμοποιήθηκε κυτταρομετρία ροής για την αναζήτηση συσσωματωμάτων PMNs - PLTs μέσω της μέτρησης του ποσοστού του δείκτη επιφανείας CD11b των PMNs που να συνεκφράζει και έναν ειδικό δείκτη επιφανείας των αιμοπεταλίων (CD42b ή CD62p) (A Falanga 2005). Έγινε επίσης και *in vitro* μελέτη των συσσωματωμάτων για τη διαπίστωση της ενεργοποίησης των PMNs ύστερα από διέγερση με fMLP, ένα τριπεπτίδιο που αποτελεί ισχυρή χημειοκίνη για τα PMNs. Η διέγερση οδήγησε σε αυξημένη έκφραση CD11b/CD42b ή CD11b/CD62p, χωρίς μεταβολή των υποδοχέων επιφανείας των αιμοπεταλίων. Διαπιστώθηκε αυξημένο ποσοστό συσσωματωμάτων στους ασθενείς με PV και ET, ενώ στους ασθενείς υπό ασπιρίνη τα επίπεδα των συσσωματωμάτων ήταν σαφώς χαμηλότερα.

Πρόσφατη μελέτη του 2022 ανέλυσε τα επίπεδα συσσωματωμάτων λευκών αιμοσφαιρίων (PMNs, Mo) με PLTs, με δείκτες επιφανείας των μονοκυρήνων την ισχυρή έκφραση CD45 και των PLTs τα επίπεδα CD42b/CD61, όπως και τα επίπεδα των διαλυτών P, E, L selectins, σαν δείκτες ενεργοποίησης αιμοπεταλίων, στο πλάσμα ασθενών με MYN (D Šefer 2022). Τα αποτελέσματα ανέδειξαν υψηλότερες μέσες τιμές aggregates Leu- PLTs στους ασθενείς με MYN στο 66,3% των ασθενών, σε σύγκριση με τους υγιείς. Το σημαντικότερο ίσως εύρημα ήταν η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των συσσωματωμάτων Mo- PLTs και των θρομβώσεων, με ισχυρό προβλεπτικό ρόλο των επιπέδων συσσωματωμάτων Mo- PLTs για θρομβωτικά επεισόδια στους ασθενείς με MYN. Ακόμη, ο συνδυασμός συσσωματωμάτων Mo- PLTs και αρτηριακής υπέρτασης φάνηκε να έχει 1,975 φορές πιο ισχυρό προβλεπτικό ρόλο σε σύγκριση με τον υψηλά επίπεδα συσσωματωμάτων Mo- PLTs.

Η μέση τιμή διαλυτών P, E, και L selectins ήταν υψηλότερη στα MYN σε σύγκριση με τους υγιείς, ενώ οι τιμές της διαλυτής P- selectin ήταν σε υψηλότερα επίπεδα σε ασθενείς με θρόμβωση σε σχέση με όσους δεν υπέστησαν θρόμβωση, με στατιστική σημαντικότητα. Το τελευταίο εύρημα δεν επιβεβαιώνεται σε άλλη πηγή από τη βιβλιογραφία (A Falanga 2005).

Μελέτη με ποντίκια τροποποιημένα ώστε να φέρουν τη JAK2V617F, σε διαφορετικά ποσοστά, έτσι ώστε να προσομοιάζουν με διαφορετικά MYN, όπως συμβαίνει και στους ασθενείς, έδειξε ότι τα αιμοπετάλια ποντικών με PMF φαινότυπο και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία εμφάνιζαν μειωμένη συσσώρευση (aggregation) και σχηματισμό θρόμβου (Matsuura S 2020). Επίσης κατά την έκθεση σε κολλαγόνο και χαμηλές δόσεις ADP (αγωνιστής αιμοπεταλίων) φάνηκε και πάλι μειωμένη συσσώρευση, καθώς και υψηλότερο bleeding time. Στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων από ποντίκια JAK2 φάνηκαν μειωμένες συγκεντρώσεις υπομονάδας α1 ιντεγκρίνης και GPVI. Ύστερα από έκθεση σε κολλαγόνο φάνηκε ελαττωμένη

έξοδος ATP/ ADP από τα αιμοπετάλια, ενώ κατά την ηλεκτρονική μικροσκόπηση φάνηκαν στο εσωτερικό τους αραιά πυκνά κοκκία.

Συνοψίζοντας, τα δεδομένα από τη βιβλιογραφία αναδεικνύουν μία πιθανή κατάσταση παθολογικής ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, που οδηγεί σε αλληλεπίδραση με φλεγμονώδη κύτταρα μέσω αλληλεπίδρασης κυτταρικών υποδοχέων, και αποκοκκίωσή τους, με αποτέλεσμα την “εξάντλησή” τους και, ακολούθως, μειωμένη δυνατότητα για συσσώρευση και απρόβλεπτη συμπεριφορά στη δυνατότητα σχηματισμού θρόμβου. Τα παραπάνω θα μπορούσαν να αιτιολογήσουν και την αιμορραγική τάση που εμφανίζεται σε extreme θρομβοκυττάρωση ως έκφραση type 2 vWD.

Ερυθρά αιμοσφαίρια

Ο υψηλός αιματοκρίτης οδηγεί σε αυξημένη γλοιότητα του αίματος, τα ερυθρά αιμοσφαίρια στην PV παρουσιάζουν δε αυξημένη πρόσδεση στη λαμινίνη του ενδοθηλίου (Cecilia P. Marin Oyarzun 2019). Ωστόσο, ο ρόλος της ερυθροκυττάρωσης ή του υψηλού αιματοκρίτη στη συχνότητα θρομβωτικών επεισοδίων είχε υπάρξει αμφιλεγόμενος, βάσει διαφορετικών μελετών.

Η πρώτη μελέτη PVSG, η οποία τυχαιοποίησε 431 ασθενείς με PV να λάβουν θεραπεία με αφαιμάξη μόνο, ή σε συνδυασμό με δεύτερη θεραπεία με ραδιενεργό φώσφορο ή χλωραμβουκίλη, με ένα follow up 20 ετών εξήγαγε το συμπέρασμα ότι η θεραπεία με αφαιμάξη συνδέεται με αυξημένο αριθμό θρομβωτικών γεγονότων ιδιαίτερα στα πρώτα 3 έτη από τη διάγνωση (Berk PD 1986). Η μελέτη ECLAP δεν ανέδειξε διαφορά στην επίπτωση θρόμβωσης στα διαφορετικά group ασθενών με βάση τον αιματοκρίτη (Landolfi R 2007). Όμως η τυχαιοποιημένη μελέτη CYTO- PV δεν αναπαρήγαγε τα συμπεράσματα αυτά (Marchioli 2013). Σύμφωνα με τα αποτελέσματά της, φάνηκε ότι περισσότερα θρομβωτικά γεγονότα συνδέονται με τιμές Ht > 45%, ενώ ο έλεγχος Ht < 45% φάνηκε να συνδέεται με 4 φορές λιγότερα θρομβωτικά επεισόδια. Έγινε μελέτη του αριθμού αφαιμάξεων, ως ξεχωριστού δείκτη που θα μπορούσε να συνδέεται με επίπτωση περισσότερων θρομβωτικών επεισοδίων, χωρίς τα ευρήματα να επαναληφθούν.

Οι περισσότερες σε αριθμό αφαιμάξεις είναι πιθανό να αναδεικνύουν, εμμέσως, την ανάγκη εντατικότερης θεραπείας για έλεγχο του αιματοκρίτη και των υπόλοιπων κυτταρικών και μη στοιχείων, και πιθανότατα την ανάγκη για έναρξη κυτταρομειωτικής αγωγής για έλεγχο του νοσήματος (Barbui T 2017).

Σε μελέτη 205 ασθενών με MYN του 2015, όπου διερευνήθηκε η συσχέτιση των επιπέδων ιντερλευκινών και των τιμών αιμοσφαιρίων στους ασθενείς σε συνάρτηση και με το status της JAK2V617F μετάλλαξης και τον αριθμό αλληλίων, διαπιστώθηκε αυξημένος αιματοκρίτης σε συσχέτιση με το JAK2V617F VAF σε ασθενείς με ET που, όπως αναλυτικά αναφέρθηκε παραπάνω, αποτελεί ποιοτικά και ποσοτικά παράγοντα που σχετίζεται με θρομβωτικά επεισόδια (Čokić 2015).

Ενδοθήλιο

Η πρόσδεση των αιμοπεταλίων, μέσω των GPIIb/IX/V και GPVI υποδοχέων, και των πολυμορφοπύρηνων, μέσω των β1 και β2 ιντεγκρινών, στα ενδοθηλιακά κύτταρα αποτελεί αρχικό στάδιο στη διαδικασία σχηματισμού θρόμβου. Η έρευνα σχετικά με την παθολογία σε επίπεδο ενδοθηλίου και τη συμμετοχή αυτής στη θρόμβωση στα MYN παρουσιάζει ενδιαφέρον, ιδιαίτερος όσον αφορά στη συσχέτισή της με την αθηρωμάτωση και τις επιπτώσεις της.

Αρχικά, υπάρχουν αναφορές της έκφρασης JAK2V617F σε ενδοθηλιακά κύτταρα του ήπατος και του σπληνός ασθενών με μυελοϋπερπλαστικό νόσημα, και σε ασθενείς που είχαν ιστορικό συνδρόμου Budd- Chiari χωρίς να έχουν μυελοϋπερπλαστικό νόσημα (Sozer S 2009) (Rosti V 2013) (Helman R 2018).

Μελέτη των μηχανισμών πρόσδεσης *in vivo* και *in vitro* σε ποντίκια με knock-in JAK2V617F μετάλλαξη συγκριτικά με JAK2 wild type ποντίκια είχε ενδιαφέροντα ευρήματα (Edelmann B 2019). Στην *in vivo* μελέτη, εφαρμόστηκε πίεση στην κάτω κοίλη φλέβα με αποτέλεσμα την έναρξη σχηματισμού θρόμβου. Παρατηρήθηκε αυξημένο μέγεθος θρόμβου στα knock-in JAK2V617F ποντίκια, ενώ ύστερα από επώαση με αντισώματα αντι- ιντεγκρινών και αντιVLA-4, ενός υποδοχέα των λευκών αιμοσφαιρίων, παρατηρήθηκε μείωση μεγέθους του θρόμβου. Στη συνέχεια, μελέτη με κυτταρομετρία ροής έδειξε αυξημένη έκφραση VCAM και ICAM σε κύτταρα που διεγέρθηκαν με TNFα και IL-6, και ειδικότερα, στη διέγερση με IL-6 διαπιστώθηκε ειδική αύξηση της ICAM-1. Η αναστολή της έκφρασης β1 και β2 ιντεγκρινών συνδέθηκε με μείωση του μεγέθους του θρόμβου, ενώ παρατηρήθηκε αυξημένη συγκέντρωση και διακίνηση σημασμένων λευκών αιμοσφαιρίων JAKV617F (+) στο σπλήνα. Τα παραπάνω ευρήματα έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς φανερώνουν τη σύνδεση μεταξύ ιντερλευκινών που ανευρίσκονται σε υψηλά επίπεδα στα MYN λόγω της ενεργοποίησης του JAK-STAT μονοπατιού με την ενδοθηλιακή ενεργοποίηση και την αλληλεπίδραση με τα λευκά αιμοσφαίρια.

Η υψηλή CRP που αποτελεί ευαίσθητο δείκτη φλεγμονής, και έχει συσχετιστεί όπως αναφέρθηκε πιο πάνω σαφώς με τη θρόμβωση στα μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα,

έχει συσχέτιση με τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, την πήξη, την ινωδόλυση, αλλά και με την αθηροσκλήρυνση (Hasselbach 2012). Στη βιβλιογραφία έχει περιγραφεί έκφραση της CRP σε αθηρωματικές πλάκες, όπως σε συνθήκες οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, με μείωση αυτής ύστερα από αγωγή με ακετυλοσαλικυλικό οξύ και αναστολέα μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (Sattler K J 2005) (Lagrand W K 1997). Χρόνιες φλεγμονώδεις νόσοι όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ο συστηματικός ερυθριματώδης λύκος και η ψωρίαση, συνδέονται με αυξημένο αθηρωματικό κίνδυνο. Σε πληθυσμιακή μελέτη 11.039 ασθενών με MYN μαζί με matched υγιείς controls αναδείχθηκε με οριακή στατιστική σημαντικότητα συσχέτιση ιστορικού χρόνιων και αυτοανόσων νοσημάτων, όπως η γιγαντοκυτταρική αρτηρίτιδα, η νόσος Crohn και η ρευματική πολυμυαλγία, με αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη MYN (Kristinsson SY 2010). Οι ασθενείς με MYN έχουν ακόμη υψηλότερο κίνδυνο για την ανάπτυξη δεύτερης κακοήθειας (συμπαγούς όγκου είτε αιματολογικής κακοήθειας) κάτι που φαίνεται να οφείλεται στο JAK- STAT μονοπάτι και το cross-talk με έτερα σηματοδοτικά μονοπάτια και την ενεργοποίηση μορίων και μηχανισμών που ενισχύουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Vanucchi et al 2009).

Η συσχέτιση μεταξύ χρόνιων αυτοανόσων νοσημάτων, καρκίνου και μυελοειδών νεοπλασιών με τα MYN, δημιουργεί το ερώτημα του εάν η χρόνια φλεγμονή αποτελεί παράγοντα που προδιαθέτει σε ανάπτυξη MYN και όχι επίπτωση των παθογενετικών μηχανισμών τους.

Το κατά πόσον οι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου αποτελούν παράγοντα κινδύνου για θρόμβωση στα μυελοϊπερπλαστικά νοσήματα είναι επίσης ένα debate με αντικρουόμενα δεδομένα από τη βιβλιογραφία, στα οποία θα γίνουν ενδεικτικά κάποιες αναφορές.

Μελέτη 587 ασθενών σε ασθενείς διαγνωσθέντες με PV κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση αλλά και τη μονοπαραγοντική ανάλυση, έδειξε ότι η προηγούμενη θρόμβωση και η λευκοκυττάρωση συσχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο για οποιαδήποτε θρόμβωση, όπως είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία, ενώ η προηγούμενη αρτηριακή θρόμβωση και η δυσλιπιδαιμία φάνηκαν να αποτελούν παράγοντες κινδύνου για αρτηριακή θρόμβωση (Serquozzi S 2017). Επιμέρους φάνηκε ότι οι ασθενείς με ηλικία μεγαλύτερη των 60 ετών, με φυσιολογική κυτταρογενετική, υπερλιπιδαιμία, υπέρταση ή διαβήτη είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο για αρτηριακή θρόμβωση

Σε αναδρομική μελέτη 165 ασθενών με PV, τα αποτελέσματα έδειξαν σαφή συσχέτιση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου με την επίπτωση

θρομβωτικών επεισοδίων και την επιβίωση. Συγκεκριμένα, υπήρξε αύξηση των θρομβωτικών επεισοδίων βάσει του αριθμού παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, συγκεκριμένα παρατηρήθηκαν θρομβωτικά επεισόδια σε 8 εκ των 37 ασθενών χωρίς παράγοντες κινδύνου, σε 21 εκ των 66 ασθενών με έναν παράγοντα, και σε 26 εκ των 62 ασθενών με πάνω από έναν παράγοντες. Ακόμη, σημαντική ήταν η συσχέτιση των παραγόντων κινδύνου με την επιβίωση, όπως φαίνεται στο ανάλογο γράφημα (Figure 7).

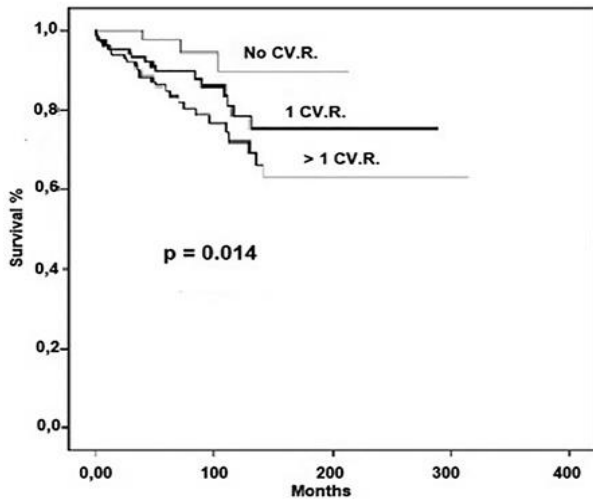


Figure 7. Συσχέτιση επιβίωσης με τους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου σε ασθενείς με PV

Mancuso et al. CV risk in PV; Thrombotic Risk and Survival; Can cytoreductive therapy be useful in patients with low-risk PV with CV risk factors (Oncology research and treatment, 2021)

Στην προοπτική μελέτη σε 1508 ασθενείς με PV της μελέτης ECLAP η φλεβική θρόμβωση συσχετίστηκε με το ιστορικό φλεβικής θρόμβωσης και το αυξημένο NLR, το οποίο προέκυπτε τόσο από υψηλό αριθμό πολυμορφοπύρηνων όσο και χαμηλό αριθμό λεμφοκυττάρων (Carobbio A 2022). Η αρτηριακή θρόμβωση συσχετίστηκε με την ηλικία άνω των 60 ετών, το ιστορικό αρτηριακής θρόμβωσης και την ύπαρξη ενός ή περισσότερων παραγόντων ΚΔ κινδύνου. Κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση, το ιστορικό αρτηριακής θρόμβωσης και η ηλικία διατήρησαν τη σημαντικότητά τους σαν παράγοντες κινδύνου για αρτηριακή θρόμβωση, ενώ οι παράγοντες ΚΔ κινδύνου φάνηκαν να έχουν οριακά σημαντική επίδραση στους ασθενείς που παρουσίασαν αρτηριακή θρόμβωση.

Κεφάλαιο 5: Σύγχρονη θεραπεία και νέες θεραπευτικές δυνατότητες

Η θεραπευτική αντιμετώπιση των MYN έχει ως στόχους τον έλεγχο και την πρόληψη εξέλιξης της νόσου, την πρόληψη των θρομβωτικών επεισοδίων και των υποτροπών τους, την ύφεση της συμπτωματολογίας και βελτίωση του επιπέδου ζωής των ασθενών. Η φαρμακευτική αγωγή που χορηγείται, βάσει της διαστρωμάτωσης κινδύνου, περιλαμβάνει αντιαιμοπεταλιακά και αντιπηκτικά φάρμακα, την αφαίμαξη, κυτταρομειωτική αγωγή, στην οποία περιλαμβάνεται κυρίως η HU, το ruxolitinib και η IFNα. Η έρευνα ετών έχει καθορίσει τις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες, βάσει μεγάλων συγκριτικών μελετών των διαφορετικών κυτταροστατικών φαρμάκων, και της επίδρασης των διαφορετικών παραγόντων στη μείωση των θρομβωτικών επεισοδίων και τη βελτίωση της επιβίωσης.

Τα δεδομένα σχετικά με την υπερλειτουργία του JAK/ STAT μονοπατιού, τη σημαντική αύξηση των κυτταροκινών στην κυκλοφορία και στους ιστούς, των ποσοτικών και ποιοτικών αλλαγών που φανερώνουν ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, των λευκών αιμοσφαιρίων και του ενδοθηλίου, ανοίγουν νέους δρόμους στη χρησιμότητα θεραπευτικών παραγόντων που δρουν σε οδούς της φλεγμονής, στο πλαίσιο της αντιμετώπισης της νόσου.

Στο κεφάλαιο αυτό θα γίνει μία συνοπτική αναφορά στις καθιερωμένες θεραπείες, σε νέα φάρμακα που έχουν εισαχθεί στη θεραπευτική φαρέτρα με υποσχόμενες δυνατότητες στην αντιμετώπιση ασθενών ιδιαίτερα αυξημένου κινδύνου, και πιθανούς νέους θεραπευτικούς στόχους βάσει νέων δεδομένων σχετικά με το φλεγμονώδες και ανοσολογικό υπόβαθρο των MYN.

Υπάρχουσες θεραπείες και φλεγμονή

Αντιαιμοπεταλιακά

Σε ασθενείς με PV και ET η χαμηλή δόση ασπιρίνης φαίνεται να προστατεύει από θρομβωτικά επεισόδια. Παθογενετικά, φαίνεται τα οφέλη της αναστολής της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, που οδηγεί σε ενίσχυση της ινωδόλυσης και αναστολής της παραγωγής θρομβίνης, να είναι χρησιμότερα από τις καθαρά αντιαιμοπεταλιακές ιδιότητες της ασπιρίνης. Σε ασθενείς με ET φάνηκε σε ασθενείς υπό ασπιρίνη να εντοπίζονται μέσω κυτταρομετρίας ροής χαμηλότερα επίπεδα CD42/CD62 με CD11b (συσσωματώματα PLTs- PMNs) όπως και χαμηλότερα επίπεδα CD11b ύστερα από διέγερση των PMNs (A Falanga 2005).

Αντίκτυπο στη θεραπευτική αντιμετώπιση θα μπορούσε να έχει το γεγονός ότι στους low risk ασθενείς εντοπίζεται αξιόλογη διαφορά στην επίπτωση θρομβωτικών επεισοδίων σε ασθενείς με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου και JAK2V617F μετάλλαξη σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς παράγοντες κινδύνου ή τη μετάλλαξη. Σύμφωνα με τα παραπάνω, μπορούμε να κατηγοριοποιήσουμε δύο group very low risk και low risk ασθενών, με βάση τους κοινούς παράγοντες αρνητικού ιστορικού θρόμβωσης και ηλικίας < 60 ετών, και τους επιπλέον παράγοντες του JAK2V617F (-) status και της απουσίας παραγόντων ΚΔ κινδύνου. Οι very low risk ασθενείς θα μπορούσαν να αντιμετωπίζονται μόνο με παρακολούθηση, ενώ οι low risk με ασπιρίνη χορηγούμενη μία φορά ημερησίως σε παρουσία είτε JAK2V617F (+) είτε ενός τουλάχιστον παράγοντα ΚΔ κινδύνου ή δύο φορές ημερησίως επί παρουσίας και των δύο παραγόντων (Ayalew Tefferi 2015).

Κυτταροστατική αγωγή

Η ΗU αποτελεί τον κλασικότερο κυτταροστατικό παράγοντα, με καλά αποτελέσματα και ιδιαίτερα ικανοποιητικό προφίλ ασφαλείας ύστερα από μακροχρόνια μελέτη χρήσης της. Σε ασθενείς υψηλού κινδύνου με ET η χορήγηση χαμηλής δόσης ασπιρίνης σε συνδυασμό με ΗU έχει φανεί ότι έχει καλύτερα αποτελέσματα ως προς το συνδυαστικό κίνδυνο για θρομβωτικά και αιμορραγικά επεισόδια σε σύγκριση με την αναγρελίδη (Bewersdorf 2020) (Harrison C N 2015).

Η συνδυαστική αγωγή συνδέεται με σημαντικότερη μείωση κινδύνου συγκριτικά με τη μονοθεραπεία με κυτταροστατικά. Δηλαδή τα κυτταροστατικά φάρμακα συνδέονταν με σημαντικότερη μείωση κινδύνου σε συνδυασμό με χορήγηση αντιαιμοπεταλιακού ή κουμαρινικού αντιπηκτικού, σε σύγκριση (η κάθε επιλογή) με τη χορήγηση κυτταρομειωτικού παράγοντα μόνου του (Stefano 2008). Η κυτταροστατική αγωγή σε ασθενείς με PV και ET συνδέεται με σημαντική μείωση κινδύνου σε ασθενείς με πρώτο επεισόδιο αρτηριακής θρόμβωσης (53%) και πολύ μικρότερη και μη στατιστικά σημαντική σε ασθενείς με πρώτο επεισόδιο φλεβικής θρόμβωσης (34%) Τέλος, έχει φανεί ότι η θεραπεία με χρήση κυτταροστατικών παραγόντων σχετίζεται με 49% μείωση του κινδύνου για επανεμφάνιση θρόμβωσης, ιδίως με σημαντική μείωση του κινδύνου σε ασθενείς που εμφάνισαν OEM (70%), ενώ η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή φάνηκε να σχετίζεται με σημαντική μείωση του κινδύνου σε ασθενείς που εμφάνισαν ισχαιμικό ΑΕΕ (67%).

JAK αναστολείς

Στη φαρμακολογική κατηγορία των JAK αναστολέων, το ruxolitinib και το fedratinib χρησιμοποιούνται ενεργά, με ικανοποιητικά αποτελέσματα συγκριτικά με άλλους παράγοντες και ανεπιθύμητες ενέργειες οι οποίες ελέγχονται. Το ruxolitinib

αποτελεί μη εκλεκτικό JAK1/2 αναστολέα, ενώ το fedratinib ημικλεκτικό JAK2 αναστολέα. Να σημειωθεί ότι υπάρχουν διαφορετικοί τύποι JAK2 αναστολέων, ανάλογα με την περιοχή του υποδοχέα στην οποία δρουν.

Οι JAK αναστολείς πέραν της βασικής δράσης της αναστολής του JAK/ STAT μονοπατιού και της παραγωγής IL-6 και άλλων κυτταροκινών, φαίνεται να ασκούν και άλλες δράσεις, όπως έναντι στις GPVI αιμοπεταλιακές λειτουργίες (Parra-Izquierdo I 2021). Αντικρουόμενα δεδομένα υπάρχουν σχετικά με την ελάττωση δεικτών NETs in vivo και το σχηματισμό NETs ex vivo σε ασθενείς υπό ruxolitinib, ενώ ελαττωμένα συγκριτικά επίπεδα κυκλοφορούντων νουκλεοσωμάτων παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με MF υπό ruxolitinib (Oyarzún M 2016) (Wolach O 2018).

Το ruxolitinib έχει ένδειξη στην PMF και στην MF μετά από PV ή μετά από ET από το 2012 από τον FDA και τον EMA ύστερα από τις COMFORT I και II μελέτες, για μεσαίου και υψηλού κινδύνου ασθενείς, έχοντας δείξει εξαιρετική αποτελεσματικότητα στις αιματολογικές παραμέτρους, τη μείωση του μεγέθους του σπλήνα και τη μείωση των συμπτωμάτων, και βελτίωση της επιβίωσης σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν placebo στην COMFORT I (S. Verstovsek 2012) (S. Verstovsek 2015) (Harrison 2012) (Vannucchi A M 2015). Το 2014 πήρε έγκριση από τον FDA για χρήση στην PV ύστερα από αποτυχία της αρχικής θεραπείας, ενώ δεν έχει ακόμη ένδειξη χρήσης στην ET διότι δεν έχει δείξει καλύτερα αποτελέσματα ή ανοχή σε σχέση με τις καλύτερες διαθέσιμες θεραπείες (Levy 2022).

Σχετικά με την αποτελεσματικότητα ως προς τη μείωση των θρομβωτικών επεισοδίων, δεδομένα από 2 μεταanalύσεις δεδομένων έδειξαν μείωση της επίπτωσης θρομβώσεων με τη χορήγηση ruxolitinib, με υπολογιζόμενη επίπτωση θρόμβωσης στην πρώτη μελέτη 3,09% έναντι 5,51% μεταξύ ruxolitinib και καλύτερης διαθέσιμης θεραπείας, διαφορά μη στατιστικά σημαντική, ενώ στη δεύτερη φάνηκε στατιστικά σημαντική μείωση θρομβωτικών επεισοδίων ασθενών με PV υπό ruxolitinib (Masciulli A 2020) (Samuelson BT 2016) (Figure 1).

Συνεπώς, η υπεροχή του ruxolitinib φάνηκε κυρίως σε επίπεδο μοριακής ανταπόκρισης και συνολικής αιματολογικής ανταπόκρισης, και νέες μελέτες ως προς τη μείωση του θρομβωτικού κινδύνου κρίνονται απαραίτητες για την εξαγωγή σαφών συμπερασμάτων. Στις συγκριτικές μελέτες των οποίων τα δεδομένα ασθενών ελήφθησαν υπόψιν η θρόμβωση δεν αποτελούσε βασικό καταληκτικό σημείο, τα δεδομένα αφορούσαν σε μικρό αριθμό θρομβωτικών επεισοδίων και, αρκετές φορές, κατά τη διάρκεια βραχείας περιόδου follow-up.

Does Ruxolitinib prevent thrombosis in patients with Polycythemia Vera?

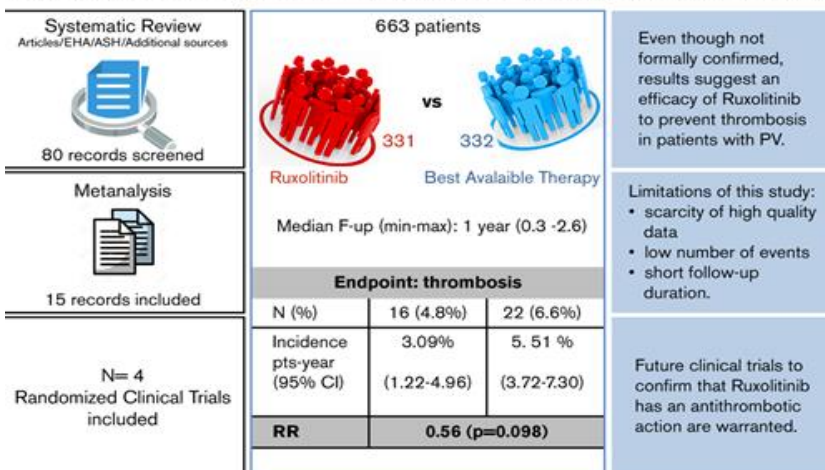


Figure 1. Ο σχεδιασμός και τα αποτελέσματα της μεταανάλυσης δεδομένων των Masciulli et al. που έδειξαν σημαντική μείωση των θρομβώσεων σε ασθενείς με PV υπό ruxolitinib.

A.Masciulli et al. Ruxolitinib for the prevention of thrombosis in PV; a systematic review

and meta- analysis (Blood Advances, 2020)

Ακόμη, μεταανάλυση τυχαιοποιημένων μελετών σχετικά με τη χορήγηση ruxolitinib σε ασθενείς με MF και PV, σε σύγκριση είτε με το standard of care είτε με placebo, ανέδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά στον κίνδυνο θρόμβωσης, ενώ στην επιμέρους ανάλυση στη μείωση επίπτωσης αρτηριακών και φλεβικών θρομβώσεων δε φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στους ασθενείς που έλαβαν ruxolitinib (Samuelson BT 2016).

Σχετικά με τη χορήγηση ύστερα από αποτυχία της θεραπείας με HU σε ασθενείς με PV, από τις μελέτες Response I και II φάνηκε πλεονέκτημα χορήγησης του ruxolitinib σε ασθενείς με σπληνομεγαλία ως προς τη συνολική αιματολογική ανταπόκριση (CHR), τον έλεγχο του αιματοκρίτη, τη μείωση συμπτωμάτων και τη μείωση μεγέθους του σπλήνα, και σε ασθενείς χωρίς σπληνομεγαλία φάνηκε πλεονέκτημα ως προς τον έλεγχο του αιματοκρίτη, σε σύγκριση με τη συνήθη αγωγή (Vannucchi A M 2015) (Passamonti F 2017).

Σε επιμονή συμπτωμάτων κατά τη θεραπεία με HU σε ασθενείς με PV, η τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή μελέτη RELIEF ανέδειξε υπεροχή της αλλαγής θεραπείας σε ruxolitinib ως προς τη βελτίωση συμπτωμάτων κατά 50% στο τέλος της περιόδου παρακολούθησης (που αποτέλεσε πρωτογενές καταληκτικό σημείο), σε σύγκριση με τη συνέχιση HU στην τυπικά καθορισμένη δόση, χωρίς όμως στατιστική σημαντικότητα. Η σύσταση κατά τη γνώμη ειδικών (expert opinion) του European Leukemia Net (ELN) παρέμεινε τότε στην επιλογή της IFN σαν θεραπεία δεύτερης γραμμής μετά από HU σε ασθενείς με PV (Mesa R 2017).

PegIFNα

Η pegIFNα χρησιμοποιείται στην ET και την PV, με ιδιαίτερα υποσχόμενο ρόλο λόγω των αντιφλεγμονωδών και ανοσοτροποποιητικών της ιδιοτήτων, της μείωσης των επιπέδων κυκλοφορούντων κυτταροκινών, της ενίσχυσης της απόπτωσης, καθώς και της απευθείας δράσης ελάττωσης των JAK2 αλληλίων δρώντας στον μεταλλαγμένο κλώνο. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται αναστολή της δράσης της τελομεράσης σε κακοήθη και μη πολυδύναμα αιμοποιητικά κύτταρα, όπως και τροποποίηση του JAK/STAT μονοπατιού μέσω της πρόσδεσης της ιντερφερόνης σε έναν υποδοχέα της και μετατόπιση μεταγραφικών παραγόντων εντός του πυρήνα (Xu D 2000) (Alfons Billiau 2006). Η ιντερφερόνη αποτελεί νέα επιλογή για ασθενείς νέους σε ηλικία, ενώ η χρήση της ενδείκνυται και σε περίπτωση εγκυμοσύνης, όπου η HU αντενδείκνυται.

Δεδομένα από φάσης II μελέτη σε ασθενείς με PV και ET με αποτυχία θεραπείας με HU, έχουν δείξει ότι απόλυτη αιματολογική ανταπόκριση ύστερα από 12 μήνες σημειώθηκε στο 69,2% των ασθενών με ET και στο 60% των ασθενών με PV, με ιδιαίτερη μάλιστα ανταπόκριση στους CALR θετικούς ασθενείς με ET (Yacoub A 2019). Επίσης σημαντική ανταπόκριση υπήρξε ως προς τη βελτίωση της συμπτωματολογίας.

Δυο συστηματικές ανασκοπήσεις και μεταanalύσεις παρουσίασαν και ανέλυσαν δεδομένα σχετικά με την επίπτωση θρομβοεμβολικών επεισοδίων σε ασθενείς υπό IFNα (Bewersdorf JP 2021) (Gu W 2021). Η πρώτη μετανάλυση 44 μελετών με 1359 ασθενείς με PV και ET κατέγραψε ότι οι ετήσιες επιπτώσεις θρομβοεμβολικών γεγονότων σε ασθενείς υπό non pegIFNα και pegIFNα ήταν ελαττωμένες, με τιμές 0,5 και 1,2 ανά 100 ανθρωποέτη αντίστοιχα, ενώ όμοια ήταν και τα αποτελέσματα της δεύτερης μετανάλυσης με επίπτωση θρομβωτικών επεισοδίων 0,42 ανά 100 ανθρωποέτη. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν τα ευρήματα των PROUD / CONTINUATION PV μελετών που συνέκριναν την χρήση ropegIFNα- 2b με την HU, οι οποίες έδειξαν υπερίσχυση της IFNα στην επίτευξη αιματολογικής ανταπόκρισης και στη διατήρηση και αύξηση της ανταπόκρισης μακροχρονίως σε διάστημα 36 μηνών (Gisslinger H 2020).

Συνολικά, τα δεδομένα δείχνουν ότι τόσο η IFN όσο και το ruxolitinib μπορούν να αποτελέσουν επιλογές για ανθεκτική/ υποτροπιάζουσα νόσο.

Αντιπηκτικά

Η λήψη αντιθρομβωτικής αγωγής ενδείκνυται ύστερα από επεισόδιο φλεβικής θρόμβωσης σε ασθενείς με MYN. Η αντιθρομβωτική αγωγή σε ασθενείς με ET και PV ύστερα από φλεβική θρόμβωση σχετίζεται με μείωση του κινδύνου για επανεμφάνιση θρόμβωσης κατά 68% ενώ η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή κατά 58% (Stefano 2008).

Η σύγχρονη τάση για χορήγηση νεότερων από του στόματος αντιπηκτικών (novel oral anticoagulants- NOACs) υφίσταται και στην περίπτωση των MYN, λαμβάνοντας υπόψιν την ύπαρξη συννοσηροτήτων ή αντενδείξεων που επιβάλλουν τη χορήγηση κουμαρινικών αντιπηκτικών ή, για βραχεία συνήθως διαστήματα, ηπαρινών χαμηλού μοριακού βάρους. Παρ' όλα αυτά τα έως τώρα δεδομένα δεν προσφέρουν ξεκάθαρη εικόνα σχετικά την επίπτωση αιμορραγικών επεισοδίων σε σύγκριση με άλλες κατηγορίες φαρμάκων, με αντικρουόμενα δεδομένα σχετικά τόσο με την αποτελεσματικότητά τους, όσο και την επίπτωση αιμορραγικών επεισοδίων σε σύγκριση με τα κλασικά χορηγούμενα κουμαρινικά αντιπηκτικά. Σε αναδρομική μελέτη 30 ασθενών από ένα δείγμα 545 ασθενών με ET και PV, δεν διαπιστώθηκε διαφορά μεταξύ της επίπτωσης αρτηριακών και φλεβικών θρομβώσεων ή αιμορραγικών επεισοδίων σε ασθενείς υπό κουμαρινικά συγκριτικά με ασθενείς υπό NOACs, όπως και σε αναδρομική μελέτη 442 ασθενών με MYN, κάτι που όμως δεν επιβεβαιώνεται από άλλη πηγή στη βιβλιογραφία (Fedorov K 2021) (Barbui T 2021) (How J 2021).

Νέες θεραπευτικές δυνατότητες

JAK αναστολή

Το fedratinib έλαβε αποδοχή από τον FDA το 2019 με ένδειξη χορήγησης στην MF είτε σαν πρώτη γραμμής είτε σα δεύτερης γραμμής θεραπεία ύστερα από αποτυχία του ruxolitinib, και ύστερα έλαβε αποδοχή από τον EMA το 2020, με τις ίδιες ενδείξεις. Αξιολογήθηκε ως πρώτη γραμμής θεραπεία στην MF στην placebo controlled φάσης III μελέτη JAKARTA, και ως θεραπεία δεύτερης γραμμής ύστερα από αποτυχία χορήγησης του ruxolitinib στην single arm, φάσης III μελέτη JAKARTA 2 (Harrison C N 2013) (Harrison C N 2019). Τα αποτελέσματα ήταν θετικά ως προς τη βελτίωση της σπληνομεγαλίας (μείωση $\geq 35\%$ του όγκου του σπλήνα) και τη βελτίωση της συμπτωματολογίας, με αποτελέσματα ιδιαίτερα θετικά και στους ασθενείς με θρομβοπενία με τιμές PLTs $<100.000/\mu\text{L}$.

Το Pacritinib είναι ένας JAK2 και FLT3 κυρίως αναστολέας, με ευρύτερη δράση πέραν της JAK2 αναστολής όπως η δράση αντι-IRAK1 και αντι-CSF1R, που παράλληλα δεν παρουσιάζει σημαντική μυελοκατασταλτική επίδραση. Ο μηχανισμός δράσης με αναστολή των JAK/STAT και RAS/ MAPK και MEK/ ERK μονοπατιών απεικονίζεται στο παρακάτω γράφημα (Figure 2).

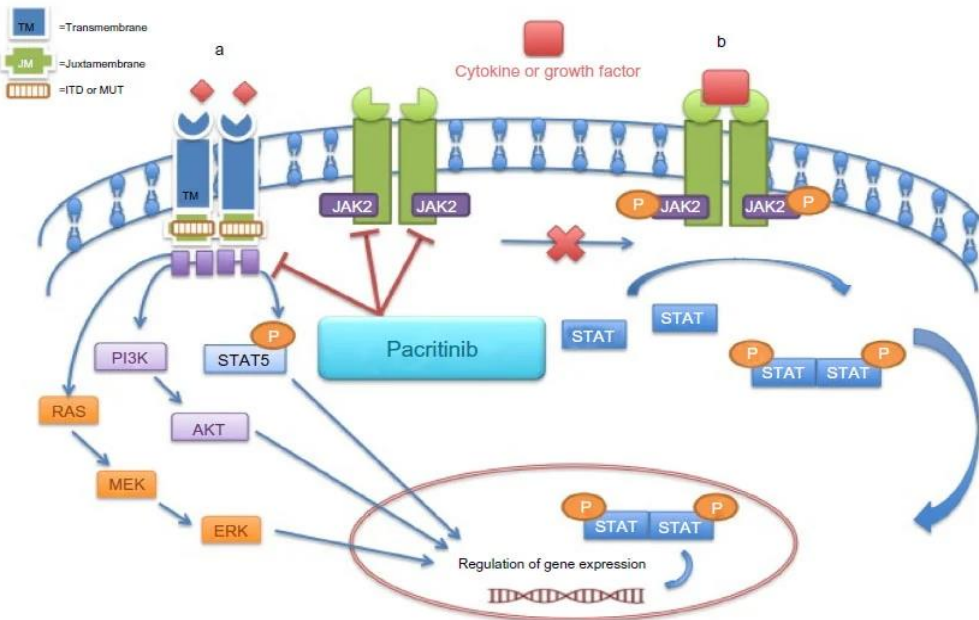


Figure 2. Ο μηχανισμός δράσης του Pacritinib. Το pacritinib αναστέλλει τόσο τη φωσφορυλίωση των STATs όσο και την ενεργοποίηση των μονοπατιών RAS/MAPK/ ERK και PI3K/AKT, τα οποία βρίσκονται σε συνεχή ενεργοποίηση λόγω των μεταλλάξεων του FLT3 υποδοχέα ανεξάρτητα από την ύπαρξη προσδέτη.

Hatzimichael E, Tsolas E, Briasoulis E. Profile of pacritinib and its potential in the treatment of hematologic disorders. Dovepress 2014, Volume 2014:5 Pages 143—152

Οι σύνθετες ιδιότητές του και τα θετικά αποτελέσματα ως προς τη μείωση του μεγέθους του σπληνός και την βελτίωση της κλινικής εικόνας και της συμπτωματολογίας σε δύο μελέτες φάσης III σε ασθενείς με MF (PERSIST 1, 2) οδήγησαν, ύστερα από επιτάχυνση της διαδικασίας, στην έγκρισή του τον Φεβρουάριο του 2022 από τον FDA ως θεραπεία σε ασθενείς με μεσαίου ή υψηλού κινδύνου PMF ή MF και σοβαρή θρομβοπενία grade 3 ή 4, δηλαδή τιμή PLT <50.000/ μL (Mascarenhas J 2018) (Mesa R A 2017) (Mesa R A 2022). Η χρήση του pacritinib δίνει τη δυνατότητα για θεραπεία μίας ιδιαίτερα δύσκολης ομάδας ασθενών με πλημμελή έως τώρα αντιμετώπιση λόγω της σημαντικής

μυελοκαταστολής και κυρίως θρομβοπενίας των JAK αναστολέων. Μελέτες παρακολούθησης των ασθενών αυτών θα χρειαστούν ώστε να κριθεί εάν το rascitininib έχει καλύτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με τους κλασικούς JAK αναστολείς ως προς την επιβίωση και την επίπτωση αιμορραγικών επεισοδίων.

Ακόμη, JAK2 αναστολείς τύπου II, οι οποίοι αλληλεπιδρούν με την ανενεργή μορφή του JAK2 υποδοχέα, και αλλοστερικοί υποδοχείς τύπου III και IV ίσως να έχει νόημα να χρησιμοποιηθούν σε αποτυχία ή αντίσταση σε αναστολείς τύπου I. Στόχος της θεραπείας είναι πάντοτε η αποφυγή της αναστολής του wild type JAK2, κάτι που θα επιφέρει επιδείνωση της αιματολογικής εικόνας λόγω αναστολής του φυσιολογικού JAK/STAT μονοπατιού.

Επιγενετική τροποποίηση, απόπτωση και κυτταρικός θάνατος

Η μεθυλίωση και του DNA, η αποακετυλίωση ιστονών και η απόπτωση είναι συνήθεις μηχανισμοί που φαίνεται να ενεργοποιούνται στα MYN.

Ένας παράγοντας η χρήση του οποίου έχει προταθεί στο πλαίσιο της τροποποίησης της διαδικασίας της απόπτωσης είναι το idasanutlin, το οποίο είναι αναστολέας της MDM2 πρωτεΐνης που αποτελεί αρνητικό ρυθμιστή της p53 και ως εκ τούτου οδηγεί σε σταθεροποίηση της p53. Το Φεβρουάριο του 2022 δημοσιεύτηκαν τα αποτελέσματα της single arm, φάσης II μελέτης χορήγησης του idasanutlin σε ασθενείς με PV, με θετικά αποτελέσματα ως προς την αιματολογική και μοριακή ανταπόκριση και τη βελτίωση των συμπτωμάτων, με μεγάλη όμως συχνότητα ανεπιθύμητων ενεργειών εκ του γαστρεντερικού συστήματος (Mascarenhas J 2022).

Ως προς τους αναστολείς αποακετυλάσης ιστονών, πιθανά φάρμακα που συναντούμε στη βιβλιογραφία είναι το givinostat και το panobinostat (Ayalew T 2021). Το givinostat μελετάται σε φάσης I και II μελέτες σε ασθενείς με PV με καλά αποτελέσματα ως προς τον έλεγχο της νόσου και τη διατήρηση αυτού (Chifotides H T 2020) (Rambaldi A 2021). Το panobinostat έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες φάσης I και II σε ασθενείς με MF πάντοτε μεσαίου ή υψηλού κινδύνου, είτε ως μονοθεραπεία, είτε (σε άλλες μελέτες) σε συνδυασμό με ruxolitinib σε ασθενείς με ή χωρίς προηγούμενη έκθεση σε JAK αναστολέα (Mascarenhas J 2013) (Mascarenhas J 2017) (Mascarenhas J 2020). Τα αποτελέσματα ανέδειξαν βελτίωση των συμπτωμάτων, της σπληνομεγαλίας, αιματολογικών και μοριακών δεικτών, καθώς και καλή ανοχή από τους ασθενείς, ανοίγοντας το δρόμο για διεξαγωγή φάσης III μελετών.

Άλλα φάρμακα υπό μελέτη είναι οι αναστολείς τελομεράσης, εκ των οποίων το imetelstat έχει χρησιμοποιηθεί με θετικά αποτελέσματα ως προς την αιματολογική

και μοριακή ανταπόκριση σε μία φάσης II μελέτη σε ασθενείς με ET, καθώς και σε μία μελέτη σε ασθενείς με MF ανθεκτικούς σε JAK αναστολείς ή σε υποτροπή νόσου ύστερα από χορήγηση JAK αναστολέων, με θετικά και πάλι αποτελέσματα ως προς τον έλεγχο της νόσου και τη βελτίωση της σπληνομεγαλίας (Baerlocher GM 2015) (J Mascarenhas 2021).

Κινητοποίηση σιδήρου

Η αιμοποίηση στο επίπεδο της κινητικής και διάθεσης του σιδήρου είναι ένας φυσιολογικός μηχανισμός που φαίνεται να έχει νόημα περαιτέρω μελέτης στην PV στο πλαίσιο του ελέγχου της παραγωγής ερυθροκυττάρων. Μία πιθανή θεραπευτική επιλογή στο πλαίσιο αυτό είναι το rufertide, μιμητικό εψιδίνης το οποίο μειώνει την κινητοποίηση του σιδήρου από τις αποθήκες του με σκοπό την ελάττωση παραγωγής ερυθρών αιμοσφαιρίων το οποίο βρίσκεται αυτή τη στιγμή σε μελέτη φάσης II σε ασθενείς με PV, με ανακοίνωση ελπιδοφόρων πρώτων αποτελεσμάτων το Δεκέμβριο του 2021 από τους ερευνητές ως προς την επίτευξη ελέγχου του αιματοκρίτη (Hoffman R 2021).

Ανοσοθεραπεία

Η ανοσοθεραπεία κερδίζει έδαφος στη θεραπεία κακοήθων και μη νοσημάτων λόγω των πολλαπλών δυνατοτήτων που προσφέρει και των οφελών σε σχέση με άλλες θεραπείες με υψηλής βαρύτητας ανεπιθύμητες ενέργειες.

Η υψηλή έκφραση PD-L1 που φαίνεται να υπάρχει στα MYN θα μπορούσε να αποτελέσει βάση για χρήση θεραπείας με anti PD-L1 αντισώματα (Prestipino A 2018) (Sørensen AL 2019). Μελέτες σχετικά με τη χρησιμοποίηση PD- L1 αναστολέων, όπως το nivolumab και το pembrolizumab, καθώς και anti CTLA-4, δηλαδή το ipilimumab, σχεδιάστηκαν, οι περισσότερες όμως διακόπηκαν πρώιμα λόγω ανεπιθύμητων ενεργειών, μη συγκέντρωσης ικανού αριθμού ασθενών ή μη επίτευξης κλινικού στόχου (Braun L M 2020). Μία μελέτη σχετικά με τη χορήγηση pembrolizumab σε μεσαίου και υψηλού κινδύνου ασθενείς με MF δεν έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα σχετικά με τους θεραπευτικούς στόχους (Hobbs G S 2020).

PAR αναστολείς

Στην αναζήτηση θεραπευτικών δυνατοτήτων με αντιαιμοπεταλιακή και αντιφλεγμονώδη δράση, οι PAR αναστολείς θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως

θεραπευτική επιλογή, δίνοντας τη δυνατότητα παρέμβασης στην αλληλεπίδραση PAR-2/PAR-1 και TGF- β /ALK-5 μονοπατιών. Παρ' όλα αυτά το voraparaxar, ο μοναδικός αναστολέας anti-PAR-1 που έχει μελετηθεί, συνδέεται ακόμη με αυξημένο αριθμό αιμορραγικών επεισοδίων, κυρίως ενδοκρανίου αιμορραγίας (Tricoci P 2012). Περισσότερες μελέτες, όπως και η μελέτη anti-PAR-4 φαρμάκων που δρουν πιθανώς σφαιρικότερα έναντι των PLTs λόγω της ιδιαίτερης δράσης τους στην αλληλεπίδραση με τη θρομβίνη, μπορεί να εξάγουν αποτελέσματα με κλινική σημασία (Rudinga G R 2018).

Αντιπηκτικά

Το dabigatran, παράγοντας αντί της θρομβίνης που ανήκει στην ομάδα NOACs, φαίνεται να έχει και anti-PAR1 δράση, έχει δηλαδή τόσο αντιπηκτικές όσο και αντιαιμοπεταλιακές ιδιότητες (Οι K 2021) (Chen B 2015). Βέβαια, ο αυξημένος αριθμός αιμορραγικών επεισοδίων αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα στην περαιτέρω διερεύνηση της χρήσης του, ειδικά στη μυελοίνωση η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλότερη επίπτωση αιμορραγικών επεισοδίων.

Τέλος, αντιφλεγμονώδεις θεραπείες με στόχους έναντι ιντερλευκινών και άλλων διαμεσολαβητών φλεγμονής θα μπορούσαν να έχουν θέση σε κλινικές μελέτες, πιθανόν επικουρικά σε JAK αναστολείς ή άλλους κυτταροστατικούς παράγοντες. Χαρακτηριστικά, η σημαντική αύξηση της IL-6 ως αποτέλεσμα της υπερλειτουργίας του JAK/STAT μονοπατιού θα μπορούσε να γίνει αντικείμενο περαιτέρω μελέτης καθότι δεν υπάρχουν ιδιαίτερες αναφορές στη βιβλιογραφία (Balliu M 2021).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα κλασικά μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα, δηλαδή η αληθής πολυκυτταραιμία, η ιδιοπαθής θρομβοκυττάρωση και η πρωτοπαθής μυελοϊνώση, ανήκουν στα μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα, και χαρακτηρίζονται από την απουσία του χρωμοσώματος philadelphia. Η κλινική εικόνα των ασθενών με MYN περιλαμβάνει συμπτώματα που οφείλονται στη διαταραχή των κυτταρικών σειρών του αίματος και τη σπληνομεγαλία, και, με ιδιαίτερη συχνότητα, θρομβωτικά επεισόδια. Οι θρομβώσεις, αρτηριακές, φλεβικές, και μικροαγγειακές, παρουσιάζονται με συχνότητα κατά πολύ μεγαλύτερη από τη συχνότητα θρομβώσεων στο γενικό πληθυσμό, και είναι στην πλειοψηφία τους αρτηριακές θρομβώσεις, η συχνότητά τους δε παραμένει υψηλή ακόμη και κατά την περίοδο παρακολούθησης των ασθενών μετά τη διάγνωση.

Ο κεντρικός άξονας της παθοφυσιολογίας των κλασικών MYN είναι η υπέρμετρη ενεργοποίηση του JAK/ STAT σηματοδοτικού μονοπατιού, γεγονός που προκύπτει παθογενετικά κυρίως από τη μετάλλαξη JAK2V617F, τη συχνότερη μετάλλαξη στην πλειοψηφία των ασθενών με PV και σε μικρότερα ποσοστά των ασθενών με ET και PMF. Η δεύτερη συχνότερη μετάλλαξη είναι αυτή του γονιδίου της CALR, πρωτεΐνης με δράση δέσμευσης του ασβεστίου, που οδηγεί σε ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων του JAK/STAT. Η τρίτη συχνότερα απαντούμενη μετάλλαξη είναι εκείνη του MPL γονιδίου που οδηγεί σε σταθεροποίηση του υποδοχέα θρομβοποιητίνης και συνεχή ενεργότητά του, διεγείροντας μέσω μεταβίβασης σήματος τα μονοπάτια JAK/ STAT, PI3K/ AKT, ERK, HIF και NF-kB.

Η έρευνα στο πεδίο της ανοσοθρόμβωσης και τα νεότερα δεδομένα σχετικά με τους μηχανισμούς της αιμόστασης, έχουν αναδείξει τη σημασία των αιμοσφαιρίων, των NETs και των μικροσωματιδίων ως επιφανειών έναρξης σχηματισμού θρόμβου. Η αλληλεπίδραση λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων, κυρίως η σύνδεσή τους μέσω κυτταρικών υποδοχέων και η έκκριση χημειοκινών από τα αιμοπετάλια που ενεργοποιούν τα λευκά αιμοσφαίρια, συμμετέχει στη δημιουργία ενός φλεγμονώδους υποβάθρου με τη συμμετοχή ανοσιακών μηχανισμών.

Ο ρόλος της φλεγμονής στα MYN έχει μελετηθεί εκτενώς, αποκαλύπτοντας συμμετοχή κυττάρων και μηχανισμών της φυσικής ανοσίας, ανάπτυξη φλεγμονής και ίνωσης στο μυελό των οστών και υψηλά επίπεδα κυτταροκινών τόσο στην κυκλοφορία όσο και σε επίπεδο μυελού. Η λευκοκυττάρωση, η παρουσία της JAK2V617F μετάλλαξης και η ποσοτική της έκφραση, ο μη ικανοποιητικός έλεγχος του αιματοκρίτη σε τιμές πάνω από 45% έχουν συσχετιστεί ξεκάθαρα με την εκδήλωση περισσότερων θρομβωτικών επεισοδίων στους ασθενείς με MYN. Σε ασθενείς με θρομβωτικά επεισόδια έχει γίνει συσχέτιση με υψηλά επίπεδα CRP και χαμηλά επίπεδα PTX3, ενώ μεγάλος αριθμός μελετών των επιπέδων κυτταροκινών

στην κυκλοφορία σε ασθενείς αναδεικνύουν ένα διαφορετικό, μη αποσαφηνισμένο, προφίλ έκφρασης σε κάθε μυελοϋπερπλαστικό νόσημα.

Άλλες παράμετροι, τόσο κλινικές, όπως οι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όσο και εργαστηριακές, όπως ο μηχανισμός της δημιουργίας NETs, δεν είναι ξεκάθαρο με τί μηχανισμούς μετέχουν στη θρόμβωση στα MYN, συνεπώς χρειάζονται περισσότερες πειραματικές και κλινικές μελέτες σε μεγάλες ομάδες ασθενών ώστε ο ρόλος τους να διασαφηνιστεί. Ερευνητικά δεδομένα σχετικά με την αλληλεπίδραση λευκών αιμοσφαιρίων με το ενδοθήλιο των αγγείων, το ρόλο της κλωνικής αιμοποίησης, την έκφραση υποδοχέων των αιμοπεταλίων, τη συμμετοχή των μονοπύρηνων και των κυττάρων NK στα νοσήματα, δίνουν ενδιαφέροντα αποτελέσματα και αναδεικνύουν νέα πεδία μελέτης.

Δεδομένης της συχνότητας των MYN, οι ερευνητικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται ενέχουν δυσκολίες στη μελέτη και την εξαγωγή συμπερασμάτων με σαφήνεια. Οι νεότερες σφαιρικές μέθοδοι και οι μέθοδοι μελέτης της λειτουργίας των αιμοπεταλίων δύνανται πιθανώς να δώσουν νέες πληροφορίες σχετικά με τους θρομβωτικούς μηχανισμούς.

Τέλος, ως προς τις θεραπευτικές παρεμβάσεις, η χρήση του ruxolitinib και της ιντερφερόνης-α έχει βελτιώσει τη δυνατότητα ελέγχου των νοσημάτων. Ωστόσο, η υψηλή θνητότητα, με σημαντική τη βαρύτητα της εκδήλωσης θρομβώσεων, και η δυσκολία στην αντιμετώπιση ομάδων ασθενών όπως οι ασθενείς με μυελοίνωση και σημαντικές πενίες, φανερώνει την ανάγκη για νέες θεραπευτικές επιλογές, πιθανόν συνδυαστικές, με κυτταρομειωτικούς και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες. Με αυτό το στόχο, η προσθήκη στις επιλογές νεότερων αναστολέων JAK, και του ruxolitinib, προσφάτως εγκριθέντος για την αντιμετώπιση ασθενών με PMF και σοβαρή θρομβοπενία, και, σε πιο πρώιμο επίπεδο, μελέτες σε αναστολείς αποακετυλάσης ιστονών, αναστολείς του μονοπατιού του NF-κB, αναστολείς τελομεράσης, μιμητικά εψιδίνης, δίνουν ελπίδες για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων. Νέες μελέτες σχετικά με την εφαρμογή των παραπάνω καθώς και άλλων αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, όπως αναστολέων κυτταροκινών, θα μπορέσουν να δώσουν νέες γνώσεις στην αντιμετώπιση των μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. A Carobbio, et al. «Leukocytosis and thrombosis in ET and PV; a systematic review and meta- analysis.» *Blood Advances*, 2019.
2. A Falanga, et al. « Leukocyte- platelet interaction in patients with ET and PV.» *Experimental Haematology*, 2005.
3. Alfons Billiau, et al. «Interferon: The pathways of discovery: I. Molecular and cellular aspects.» *Cytokine and growth factor reviews*, 2006: 381-409.
4. Andina N, et al. « Inflammasome Activation in Myeloid Malignancies—Friend or Foe? .» *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2022.
5. Arranz L, et al. «Neuropathy of Haematopoietic Stem Cell Niche Is Essential for Myeloproliferative Neoplasms.» *Nature*, 2014: 78–81.
6. Asada N, et al. «Complexity of Bone Marrow Hematopoietic Stem Cell Niche.» *International Journal of Haematology*, 2017: 45-54.
7. Aswad MH, Kissová J, Rihova L, Zavrelava J, Ovesná P, Penka M. «High level of circulating microparticles in patients with BCR/ABL negative myeloproliferative neoplasm a pilot study.» *Klinicka Onkologie*, 2019: 109-116.
8. Ayalew Tefferi, et al. «PV: historical oversights, diagnostic details and therapeutic views.» *Leukemia*, 2021.
9. Ayalew Tefferi, Tiziano Barbui. « New and treatment- relevant risk stratification for thrombosis in ET and PV.» *American Journal of Haematology*, 2015.
10. Baerlocher GM, et al. «Telomerase Inhibitor Imetelstat in Patients with Essential Thrombocythemia.» *NEJM*, 2015: 920–928.
11. Balliu M, et al. «Activated IL-6 signaling contributes to the pathogenesis of, and is a novel therapeutic target for, CALR-mutated MPNs.» *Blood Advances*, 2021: 2184-2195.
12. Barbui T, et al. «Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis).» *Blood*, 2012: 5128-5133.
13. Barbui T, et al. «No correlation of intensity of phlebotomy regimen with risk of thrombosis in PV evidence from European Collaboration on low dose aspirin in PV and cytoreductive therapy in PV clinical trials.» *Haematologica*, 2017.
14. Barbui T, et al. «Direct oral anticoagulants for myeloproliferative neoplasms: results from an international study on 442 patients.» *Leukemia*, 2021: 2989-2993.
15. Barbui, T et al. «Practice-relevant revision of IPSET-thrombosis based on 1019 patients with WHO-defined essential thrombocythemia.» *Blood Cancer Journal*, 2015.
16. Berk PD, et al. «Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols.» *Seminars in Hematology*, 1986: 132-143.

17. Bewersdorf JP, et al. «Interferon alpha therapy in essential thrombocythemia and polycythemia vera-a systematic review and meta-analysis». *Leukemia* 2021: 1643-1660.
18. Bewersdorf JP, Zeidan A M. «Novel and combination therapies for polycythemia vera and essential thrombocythemia: the dawn of a new era.» *Expert Review of Hematology*, 2020: 1189-1199.
19. Brandi N Reeves, Joan D Beckman. «Novel Pathophysiological Mechanisms of Thrombosis in Myeloproliferative Neoplasms.» *Current Haematologic Malignancy Reports*, 2021.
20. Braun L M, et al. « Immunotherapy in Myeloproliferative Diseases » *Cells*, 2020.
21. Brusson M, et al. «Impact of hydroxycarbamide and interferon-alpha on red cell adhesion and membrane protein expression in polycythemia vera.» *Haematologica*, 2018: 972- 981.
22. Budde U, et al. «Elevated platelet count as a cause of abnormal von Willebrand factor multimer distribution in plasma.» *Blood*, 1993: 1749–57.
23. Busque L, et al. «Recurrent somatic TET2 mutations in normal elderly individuals with clonal hematopoiesis.» *Nature Genetics*, 2012: 1179–1181.
24. Campbell P J, et al. «Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study.» *Lancet*, 2005: 1945-1953.
25. Campbell PJ, MacLean C, Beer PA, Buck G, Wheatley K, Kiladjian JJ. «Correlation of blood counts with vascular complications in essential thrombocythemia: analysis of the prospective PT1 cohort.» *Blood*, 2012: 1409-1411.
26. Carlos Galvez, Brady L Stein. «Thrombocytosis and Thrombosis; Is there really a correlation?» *Current Hematologic Malignancy Reports*, 2020.
27. Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. «Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia.» *Journal of Clinical Oncology*, 2008: 2732-2736.
28. Carobbio A, et al. «Neutrophil-to-lymphocyte ratio is a novel predictor of venous thrombosis in polycythemia vera.» *Blood Cancer Journal*, 2022.
29. Carobbio. « Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia.» *Blood*, 2018.
30. Carobbio, A., et al. «Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: An international study of 891 patients.» *Blood*, 2011: 5857–5859.
31. Cecilia P. Marin Oyarzun, Paula G. Heller. «Platelets as mediators of thromboinflammation in chronic inflammation.» *Frontiers in Immunology*, 2019.
32. Chen B, et al. «Characterization of Thrombin-Bound Dabigatran Effects on Protease-Activated Receptor-1 Expression and Signaling In Vitro.» *Molecular Pharmacology*, 2015: 95-105.
33. Chifotides H T, et al. « Givinostat: an emerging treatment for polycythemia vera.» *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2020: 525-536.
34. Čokić VP et al. «Proinflammatory Cytokine IL-6 and JAK-STAT Signaling Pathway in Myeloproliferative Neoplasms.» *Mediators of Inflammation*, 2015.

35. Cortelazzo S, et al. «Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis.» *NEJM*, 1995: 1132-1136.
36. Curran S A, et al. «Human dendritic cells mitigate NK-cell dysfunction mediated by nonselective JAK1/2 blockade.» *Cancer Immunology Research*, 2017: 52-60.
37. D Šefer, et al. «Correlation between leukocyte-platelet aggregates and thrombosis in myeloproliferative neoplasms.» *International Journal of Laboratory Hematology*, April 2022: 302-312.
38. de Mooij C E M, et al. «Targeting the Interleukin-1 Pathway in Patients with Hematological Disorders.» *Blood*, 2017: 3155–3164.
39. E Nguyen, et al. «Phenotypical differences and thrombosis rates in secondary erythrocytosis vs PV.» *Blood Cancer Journal*, 2021.
40. E Papadakis, et al. «Impact of Inherited Thrombophilia Factors On Thrombotic Risk in Patients with Newly Diagnosed BCR- Abl (-) Myeloproliferative Disorders ; Finally a Role of MTHFR- C677T Polymorphism?» *Blood*, 2012.
41. Eche N, et al. «Platelets in Myeloproliferative Disorders. Glycoprotein Profile in Relation to Platelet Function and Platelet Density.» *Scandinavian Journal of Haematology*, 2009: 123-129.
42. Edelmann B, et al. «JAK2-V617F promotes venous thrombosis through $\beta 1/\beta 2$ integrin activation.» *The Journal of Clinical Investigation*, 2019.
43. Falanga A, et al. «Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera.» *Blood*, 2020.
44. Falanga A, et al. «Prevention and Management of Thrombosis in BCR/ABL-Negative Myeloproliferative Neoplasms.» *Hamostaseologie*, 2021: 48-57.
45. Fan Y, et al. «NF- κ B and STAT3 signaling pathways collaboratively link inflammation to cancer.» *Protein Cell*, 2013.
46. Farrukh F, et al. «Deciphering the individual contribution of absolute neutrophil, lymphocyte and monocyte counts to thrombosis risk in patients with PV and ET.» *American Journal of Haematology*, 2021.
47. Fedorov K, et al. «Thrombosis in MPNs; treatment outcomes of direct oral anticoagulants and vitamin K antagonists.» *Research and practice in trombosis and hemostasis*, 2021.
48. Ferrer- Marin F, et al. «Emerging Role of Neutrophils in the Thrombosis of Chronic Myeloproliferative Neoplasms.» *International Journal of Molecular Sciences*, 2021.
49. Fisher DAC, et al. «Cytokine production in myelofibrosis exhibits differential responsiveness to JAK-STAT, MAP kinase, and NF κ B signaling.» *Leukemia*, 2019.
50. Florian Gaertner, Steffen Massberg. «Blood coagulation in immunothrombosis—At the frontline of intravascular immunity.» *Seminars in Immunology*, December 2016: 561-569.
51. Giaccherini C, Verzeroli C, et al. «PO-26—Whole Blood Rotational Thromboelastometry (ROTEM) to Detect Hypercoagulability in Patients with Myeloproliferative Neoplasms.» *Thrombosis Research*, 2016: 185–186.
52. Gisslinger H, et al. «Ropeginterferon 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 Haematology*, 2020: 196-208.

53. Gleitz HFE, et al. «Increased CXCL4 expression in hematopoietic cells links inflammation and progression of bone marrow fibrosis in MPN.» *ASH*, 2020.
54. Greenfield, G. «The ruxolitinib effect: understanding how molecular pathogenesis and epigenetic dysregulation impact therapeutic efficacy in myeloproliferative neoplasms.» *Journal of Translational Medicine*, 2018.
55. Gu W, Yang R, Xiao Z, Zhang L. «Clinical outcomes of interferon therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia: a systematic review and meta-analysis.» *International Journal of Hematology*, 2021: 342-354.
56. Gugliotta, L. «Unbiased pro-thrombotic features at diagnosis in 977 thrombocytopenic patients with Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms.» *Leukemia Research*, 2016: 18-25.
57. Hacibekiroglu T, et al. «Evaluation of Inflammation Parameters in Philadelphia Negative Chronic Myeloproliferative Neoplasia Patients.» *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2016.
58. Harrison C N, et al. «Efficacy and safety of fedratinib (SAR302503/TG101348) in patients with intermediate- or high-risk myelofibrosis (MF), post-polycythemia Vera (PV) MF, or post-essential thrombocythemia (ET) MF previously treated with ruxolitinib: interim results from a ph.» *Blood*, 2013.
59. Harrison C, et al. «Fedratinib induces spleen responses and reduces symptom burden in patients with myeloproliferative neoplasm (MPN)-associated myelofibrosis (MF) and low platelet counts, who were either ruxolitinib-Naïve or were previously treated with ruxolitinib.» *Blood*, 2019.
60. Harrison C, et al. «Hydroxyurea Compared with Anagrelide in High-Risk Essential Thrombocythemia.» *NEJM*, 2015: 33-45.
61. Harrison C, et al. «JAK Inhibition with Ruxolitinib versus Best Available Therapy for Myelofibrosis.» *NEJM*, 2012.
62. Hasselbach H C, et al. «Perspectives on chronic inflammation in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis: is chronic inflammation a trigger and driver of clonal evolution and development of accelerated atherosclerosis and second cancer?» *ASH*, 2012.
63. Helman R, et al. «Granulocyte whole exome sequencing and endothelial JAK2V617F in patients with JAK2V617F positive Budd-Chiari Syndrome without myeloproliferative neoplasm.» *British Journal of Haematology*, 2018: 443–5.
64. Hermouet, S. «Pathogenesis of Myeloproliferative Neoplasms: Role and Mechanisms of Chronic Inflammation.» *Mediators of Inflammation*, 2015.
65. Hobbs C M, et al. «JAK2V617F leads to intrinsic changes in platelet formation and reactivity in a knock-in mouse model of essential thrombocythemia.» *Blood*, 2013: 3787-3797.
66. Hobbs G S, et al. «Results of a Phase II Study of PD-1 Inhibition in Advanced Myeloproliferative Neoplasms.» *Blood*, 2020: 14-15.
67. Hoffman R, et al. «Rusfertide (PTG-300) Controls Hematocrit Levels and Essentially Eliminates Phlebotomy Requirement in Polycythemia Vera Patients. Abstract #388.» *Presented at the 2021 American Society of Hematology Annual Meeting*, 2021.

68. How J, et al. «Practice patterns and outcomes of direct oral anticoagulant use in myeloproliferative neoplasm patients.» *Blood Cancer Journal*, 2021.
69. Hurtado-Nedelec M, et al. «Increased reactive oxygen species production and p47phox phosphorylation in neutrophils from myeloproliferative disorders patients with JAK2 (V617F) mutation.» *Haematologica*, 2013: 1517–24.
70. I Horvat, et al. «Influence of Blood Count, Cardiovascular Risks, Inherited Thrombophilia, and JAK2 V617F Burden Allele on Type of Thrombosis in Patients With Philadelphia Chromosome Negative Myeloproliferative Neoplasms.» *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 2019.
71. Jaiswal S, et al. «Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes.» *NEJM*, 2014: 2488–2498.
72. Jensen M K, et al. «Increased Platelet Activation and Abnormal Membrane Glycoprotein Content and Redistribution in Myeloproliferative Disorders.» *British Journal of Haematology*, 2000: 116-124.
73. K H Lee, et al. «Quantification of NETs-associated markers by flow cytometry and serum assays in patients with thrombosis and sepsis.» *International Journal of Laboratory Haematology*, 2021.
74. Kristinsson SY, et al. «Autoimmunity and the risk of myeloproliferative neoplasms.» *Haematologica*, 2010.
75. Lagrand W K, et al. «C-reactive protein colocalizes with complement in human hearts during acute myocardial infarction.» *Circulation*, 1997.
76. Lamrani L, Lacout C, Ollivier V, Denis C.V, Gardiner E, Ho Tin Noe, B, Vainchenker W, Villeval J.L, Jandrot-Perrus M. «Hemostatic disorders in a JAK2V617F-driven mouse model of myeloproliferative neoplasm.» *Blood*, 2014: 1136-1145.
77. Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T. «European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP) Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera.» *Blood*, 2007: 2446-2452.
78. Levy, G. «Chapter Three - Targets in MPNs and potential therapeutics.» Στο *Cellular and Molecular aspects of Myeloproliferative Neoplasms/ International Review of Cell and Molecular Biology*. 2022.
79. Lim H Y, et al. «An Evaluation of Global Coagulation Assays in Myeloproliferative Neoplasm. Blood Coagul. Fibrinolysis.» *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 2018: 300-306.
80. Lucchesi A, et al. «Platelets Contribution to Thrombin Generation in Philadelphia-Negative Myeloproliferative Neoplasms: The "Circulating Wound" Model.» *International Journal of Molecular Sciences*, 2021.
81. Lussana F, et al. «Driver mutations (JAK2V617F, MPLW515L/K or CALR), pentraxin-3 and C-reactive protein in essential thrombocythemia and polycythemia vera.» *Journal of Haematology and Oncology*, 2017.
82. Marchioli R, et al. «Cardiovascular Events and Intensity of Treatment in Polycythemia Vera (CYTO-PV).» *NEJM*, 2013.
83. Martinez J et al. «Metabolism of Human Prothrombin and Fibrinogen in Patients With Thrombocytosis Secondary to Myeloproliferative States.» *Blood*, 1973.

84. Mascarenhas J, et al. «The MDM2 antagonist idasanutlin in patients with polycythemia vera: results from a single-arm phase 2 study.» *Blood Advances*, 2022: 1162–1174.
85. Mascarenhas J, et al. «A phase I study of panobinostat (LBH589) in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post-polycythaemia vera/essential thrombocythaemia myelofibrosis (post-PV/ET MF)» *British Journal of Hematology*, 2013.
86. Mascarenhas J, et al. «Pacritinib vs best available therapy, including ruxolitinib, in patients with myelofibrosis: a randomized clinical trial» *JAMA Oncology*, 2018.
87. Mascarenhas J, et al. «Randomized, Single- Blind, Multicenter Phase II study of Two Doses of Imetelstat in Relapsed or Refractory Myelofibrosis». *Journal of Clinical Oncology*, 2021
88. Mascarenhas J, et al. «A phase I study of panobinostat and ruxolitinib in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post-polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis (post-PV/ET MF).» *Leukemia Research*, 2020.
89. Mascarenhas J, et al. «A phase II study of panobinostat in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post-polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis (post-PV/ET MF)» *Leukemia Research*, 2017: 13-19.
90. 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*, 2020: 380-386.
91. Matsuura S, et al. «Platelet dysfunction and thrombosis in JAK2V617F- mutated primary myelofibrotic mice.» *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology*, 2020.
92. Mazzucato M, et al. «Platelet Membrane Abnormalities in Myeloproliferative Disorders: Decrease in Glycoproteins Ib and IIb/IIIa Complex Is Associated with Deficient Receptor Function.» *British Journal of Haematology*, 1989: 369-374.
93. Mesa RA, et al. «Pacritinib versus best available therapy for the treatment of myelofibrosis irrespective of baseline cytopenias (PERSIST-1): an international, randomised, phase 3 trial.» *Lancet Haematology*, 2017: 225-236.
94. Mesa R, et al. «Symptom burden in patients with myelofibrosis who have moderate or severe thrombocytopenia: a retrospective analysis of patients enrolled in the PERSIST-2 study.» *JNCCN*, 2022.
95. Mesa R, Vannucchi AM, Yacoub A, et al. «The efficacy and safety of continued hydroxycarbamide therapy versus switching to ruxolitinib in patients with polycythaemia vera: a randomized, double-blind, double-dummy, symptom study (RELIEF).» *British Journal of Haematology*, 2017: 76-85.
96. Elliott MA, et al. «Thrombosis in myelofibrosis: prior thrombosis is the only predictive factor and most venous events are provoked.» *Haematologica*, 2010.
97. Michiels JJ, et al. «The paradox of platelet activation and impaired function: platelet-von Willebrand factor interactions, and the etiology of thrombotic and hemorrhagic manifestations in essential thrombocythemia and polycythemia vera.» *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 2006: 589-604.
98. Mistry R, et al. «125I-Fibrinogen Binding to Platelets in Myeloproliferative Disease.» *Thrombosis and Haemostasis*, 1991: 329-333.

99. Mondet J, et al. «Circulating Cytokine Levels as Markers of Inflammation in Philadelphia Negative Myeloproliferative Neoplasms: Diagnostic and Prognostic Interest.» *Mediators of Inflammation*, 2015.
100. Moore S F, et al. «Dysfunction of the PI3 Kinase/Rap1/Integrin AIIb β 3 Pathway Underlies Ex Vivo Platelet Hypoactivity in Essential Thrombocythemia.» *Blood*, 2013: 1209-1219.
101. Ohyashiki K, et al. «Uncontrolled thrombocytosis in PV is a risk of thrombosis, regardless of JAK2V617F mutational status.» *Leukemia*, 2007.
102. Oi K, et al. «Influence of PAR-1 in Patients with Non-Valvular Atrial Fibrillation: The Antiplatelet Effect of Dabigatran.» *Thrombosis Research*, 2021: 123-130.
103. Oyarzún M, et al. «Neutrophil extracellular trap formation and circulating nucleosomes in patients with chronic myeloproliferative neoplasms.» *Scientific Reports*, 2016.
104. Palova M, et al. «Thrombin Generation Testing in Patients with Myelofibrosis.» *Clinical Laboratory*, 2018.
105. Panteli KE, et al. «Serum interleukin (IL)-1, IL-2, sIL-2Ra, IL-6 and thrombopoietin levels in patients with chronic myeloproliferative diseases.» *British Journal of Haematology*, 2005.
106. Parra-Izquierdo I, et al. «Janus Kinase Inhibitors Ruxolitinib and Baricitinib Impair Glycoprotein-VI Mediated Platelet Function.» *Platelets*, 2021: 1-12.
107. Passamonti F, et al. «Ruxolitinib for the treatment of inadequately controlled polycythaemia vera without splenomegaly (RESPONSE-2): a randomised, open-label, phase 3b study.» *The Lancet Oncology*, 2017.
108. Passamonti. «Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients.» *Haematologica*, 2008.
109. Pourcelot E, et al. «Cytokine profiles in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients: clinical implications.» *Experimental Haematology*, 2014.
110. Prestipino A, et al. «Oncogenic JAK2V617F causes PD-L1 expression, mediating immune escape in myeloproliferative neoplasms.» *Science Translational Medicine*, 2018.
111. Rai S, et al. «IL-1 β Secreted from Mutant Cells Carrying JAK2-V617F favors Early Clonal Expansion and Promotes MPN Disease Initiation and Progression.» *Blood*, 2019.
112. Rambaldi A, et al. « Long-term safety and efficacy of givinostat in polycythemia vera: 4-year mean follow up of three phase 1/2 studies and a compassionate use program.» *Blood Cancer Journal*, 2021.
113. Reikvam H, et al. «Venous thromboembolism in patients with ET and PV.» *Leukemia*, 2012.
114. Riley C H, et al. «Expansion of circulating CD56bright natural killer cells in patients with JAK2-positive chronic myeloproliferative neoplasms during treatment with interferon- α .» *European Journal of Haematology*, 2015: 227-234.
115. Rosti V, et al. «Spleen endothelial cells from patients with myelofibrosis harbor the JAK2 V617F mutation.» *Blood*, 2013: 360-368.

116. Rudinga G R, et al. «Protease-Activated Receptor 4 (PAR4): A Promising Target for Antiplatelet Therapy.» *International Journal of Molecular Science*, 2018.
117. Rumi E, et al. «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: 1544- 1551.
118. Rumi E, et al. «Clinical effect of driver mutations of JAK2 CALR or MPL in primary myelofibrosis.» *Blood*, 2014: 1062-1069.
119. Şahin D G, et al. «Use of Rotational Thromboelastometry for a Global Screening of Coagulation Profile in Patients of Myeloproliferative Neoplasms.» *Platelets*, 2021: 280-283.
120. Saliba, W. «Association between MF and thromboembolism; a population- based retrospective cohort study.» *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2020.
121. Samuelson BT, et al. «The impact of ruxolitinib on thrombosis in patients with polycythemia vera and myelofibrosis: a meta-analysis.» *Blood Coagulation Fibrinolysis*, 2016: 648-652.
122. Sattler K J, et al. «Concurrent treatment with renin-angiotensin system blockers and acetylsalicylic acid reduces nuclear factor kappaB activation and C-reactive protein expression in human carotid artery plaques.» *Stroke*, 2005: 14-20.
123. Schönberg K, et al. «JAK Inhibition Impairs NK Cell Function in Myeloproliferative Neoplasms.» *Cancer Research*, 2015: 2187–2199.
124. Serquozzi S, et al. «Risk factors for arterial vs venous thrombosis in PV; a single center experience in 587 patients.» *Blood Cancer Journal* , 2017.
125. Shallis RM, Wang R, Davidoff A. «Epidemiology of the classical myeloproliferative neoplasms: The four corners of an expansive and complex map.» *Blood Reviews*, 2020.
126. Sørensen AL, et al. «B-cell frequencies and immunoregulatory phenotypes in myeloproliferative neoplasms: Influence of ruxolitinib, interferon- α 2, or combination treatment.» *European Journal of Haematology*, 2019: 351–361.
127. Sørensen, A L. «Ruxolitinib and interferon- α 2 combination therapy for patients with polycythemia vera or myelofibrosis: a phase II study.» *Haematologica*, 2020.
128. 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: 5246-5249.
129. De Stefano V, et al. «Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments.» *Haematologica*, 2008.
130. Swerdlow HS, et al. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. IARC Publications, 2017.
131. T Barbui, et al. «Thrombosis in primary PMF; incidence and risk factors.» *Blood* , 2010.
132. Tan X, et al. «Role of erythrocytes and platelets in the hypercoagulable status in polycythemia vera through phosphatidylserine exposure and microparticle generation.» *Thrombosis and Haemostasis*, 2013: 1025-32.

133. Teofili L, et al. «Endothelial progenitor cells are clonal and exhibit the JAK2(V617F) mutation in a subset of thrombotic patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms.» *Blood*, 2011: 2700-2707.
134. Tong D, et al. «Phosphatidylserine-exposing blood and endothelial cells contribute to the hypercoagulable state in essential thrombocythemia patients.» *Annals of Hematology*, 2018: 605–16.
135. Trappenburg MC, et al. «Elevated procoagulant microparticles expressing endothelial and platelet markers in essential thrombocythemia.» *Haematologica*, 2009: 911-8.
136. Tricoci P, et al. «Thrombin-receptor antagonist vorapaxar in acute coronary syndromes.» *NEJM*, 2012: 20-33.
137. Tripodi A, et al. «Global Coagulation in Myeloproliferative Neoplasms.» *Annals of Hematology*, 2013: 1633-1639.
138. Vaidya, et al. «Plasma cytokines in polycythemia vera: Phenotypic correlates, prognostic relevance, and comparison with myelofibrosis.» *American Journal of Haematology*, 2012.
139. Vannucchi A M, et al. «Ruxolitinib versus Standard Therapy for the Treatment of Polycythemia Vera.» *NEJM*, 2015.
140. Vanucchi A et al. «Increased Risk of Lymphoid Neoplasms in Patients with Philadelphia Chromosome–Negative Myeloproliferative Neoplasms.» *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 2009.
141. Verstovsek S, et al. «Efficacy, safety and survival with ruxolitinib in patients with myelofibrosis: results of a median 3-year follow-up of COMFORT-I.» *Haematologica*, 2015.
142. Verstovsek S, et al. «A Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Ruxolitinib for Myelofibrosis.» *NEJM*, 2012.
143. VP Gordeuk, et al. «Re- evaluation of hematocrit as a determinant of thrombotic risk in erythrocytosis.» *Haematologica*, 2019.
144. William Vainchenker, Robert Kralovics. «Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms.» *ASH*, 2017.
145. Wolach O, et al. «Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms.» *Science Translational Medicine*, 2018.
146. Xie M, et al. «Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies.» *Nature Medicine*, 2014: 1472- 1478.
147. Xu D, et al. «Interferon alpha down-regulates telomerase reverse transcriptase and telomerase activity in human malignant and nonmalignant hematopoietic cells.» *Blood*, 2000.
148. Yacoub A, et al. «Pegylated interferon alfa-2a for polycythemia vera or essential thrombocythemia resistant or intolerant to hydroxyurea.» *Blood*, 2019: 1498–1509.
149. Zhang T, et al. «NF-κB signaling in inflammation and cancer.» *MedComm*, 2021: Pages 618-653.
150. Zhang Y, et al. «Thrombosis among 1537 patients with JAK2V617F-mutated myeloproliferative neoplasms: risk factors and development of a predictive model.» *Cancer Medicine*, 2020: 2096-2105.

ΓΛΩΣΣΑΡΙ

ADAMTS13 ADAM Metallopeptidase With Thrombospondin Type 1 Motif 13
ADP Adenosine Diphosphate
AKT Protein Kinase B
aPTT Activated partial thromboplastin clotting time
ASXL1 Putative polycomb group protein
ATII Antithrombin II
BCAM Basal cell adhesion molecule (=Lutheran)
Bcl-2 B- cell lymphoma 2
BCR Breakpoint cluster region protein
ABL Tyrosine- protein kinase
CALR Calreticulin
CCND3 G1/S-specific cyclin-D3
CHIP Clonal hematopoiesis of indeterminate potential
CHR Complete hematologic response
CI Confidence interval
CitH3 Citrullinated Histone H3
CNL Chronic Neutrophilic Leukemia
COX Cyclooxygenase
CRP C- reactive protein
CSF1R receptor of the colony-stimulating factor-1
CTLA4 Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4
CXCL4 Chemokine ligand 4 (γνωστό και ως PF4)
DAMP Damage- associated molecular pattern
DNMT3 DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A
DOAC Direct oral anticoagulant (γνωστό και ως NOAC)
ECLAP European collaboration on low dose aspirin in polycythaemia vera
ECOG European cooperative oncology group
ELN European leukaemia net
EPO Erythropoietin
ERK Extracellular signal- regulated kinases
ESMO European society for medical oncology
ET Essential thrombocythemia
ETP Endogenous thrombin potential
fV factor V (όμοια και οι λοιποί παράγοντες πήξης fVIII, fIX, fX κοκ)
FGF Fibroblast growth factor
FLT3 Fms Related Receptor Tyrosine Kinase 3
fMLP N-Formylmethionyl-leucyl-phenylalanine
G-CSF Granulocyte colony stimulating factor

GM-CSF Granulocyte- macrophage colony stimulating factor
HIF Hypoxia inducible factor
HSC Hemopoietic stem cell
Ht Hematocrit
HU Hydroxyurea
ICAM Intracellular adhesion molecule
IDH1/IDH2 Isocitrate dehydrogenase1/2
IFN α Interferon α
IL Interleukin
IP-10 Interferon gamma- induced protein 10 (γνωστή και ως CXCL10)
IPSET International prognostic score for essential thrombocythemia
IPSS International prognostic scoring system
IRAK1 Interleukin-1 receptor-associated kinase 1
JAK/ STAT Janus Kinase/ signal transducer and activator of transcription
LDH Lactate dehydrogenase
Lu Lutheran
Mac-1 Macrophage-1 antigen
MIP1 α Macrophage inflammatory protein
MAPK Mitogen- activated protein kinase
MCP Monocyte chemotactic protein
MIG Monokine induced by IFN- γ
MP Microparticle
MPL Myeloproliferative leukemia protein
MVD Bone marrow microvessel density
NET Neutrophil extracellular trap
NF- κ B Nuclear factor kappa beta
NLR Neutrophil to lymphocyte ratio
OPG Osteoprotegerin
p38 Mitogen-activated *protein* kinases
p53 Tumour protein 53
PAD4 Protein- arginin deiminase type 4
PAI Plasminogen activator inhibitor
PAMP Pathogen associated molecular pattern
PAR Protease activated receptor
PDGF Platelet derived growth factor
PD-L1 Programmed death ligand 1
PDY12 Platelet receptor for Adenosine Diphosphate
PF4 Platelet factor 4 (γνωστό και ως CXCL4)
PFA- 100 Platelet function assay
PFR Platelet fibrinogen receptor
PI3K Phosphatidyloinositol 3- kinase
PL Phospholipids
PLT Platelets
PMF Primary Myelofibrosis
PRR Pattern recognition receptor
PS Performance status

PSGL1 P- selectin glycoprotein ligand-1
PT Prothrombin time
PTX3 Pentraxin 3
PV Polycythemia Vera
PVSG Polycythemia Vera Study Group
RANTES (CCL5) Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted
(Chemokine ligand 5)
Rap1 RAS- related protein 1
ROC Receiver operating characteristic
SE Secondary erythrocytosis
SF3B1
sIL-2Ra
STAT
TET2 Tet methylcytosine dioxygenase 2
TF Tissue factor
TFPI Tissue factor pathway inhibitor
ALK5 Transforming growth factor beta receptor 1
TGF- β Transforming growth factor beta
TLR Toll- like receptor
tPA tissue type plasminogen activator
TPO Thrombopoietin
uPA urokinase type plasminogen activator
VAF Variant allele frequency
VCAM Vascular cell adhesion molecule
VEGF Vascular endothelial growth factor
VLA-4 Very late antigen-4 (Integrin $\alpha 4\beta 1$)
VWD Von Willebrand disease
vWF Von Willebrand factor
WBC White blood cells
WHO World health organization

ΑΜΑΚ Αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων
ΑΜΠ Αιμοπετάλια
ΜΔΣ/ΜΥΝ Μυελοδυσπλαστικά/ μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα
ΜΣΑΦ Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
ΙΦΝΕ Ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου
ΜΥΝ Μυελοϋπερπλαστικό νόσημα