



**T.C SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

**BCR-ABL NEGATİF MYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİ
HASTA GRUBUNDA HİDROKSİÜRE TEDAVİSİNİN
İNFLAMATUAR BELİRTEÇ VE İNDEKSLER ÜZERİNE
ETKİSİ**

Dr. Oğuz Altunok

(UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL 2023



**T.C SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

**BCR-ABL NEGATİF MYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİ
HASTA GRUBUNDA HİDROKSİÜRE TEDAVİSİNİN
İNFLAMATUAR BELİRTEÇ VE İNDEKSLER ÜZERİNE
ETKİSİ**

Dr. Oğuz ALTUNOK

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Osman YOKUŞ

(UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL 2023

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları asistanlığımın başlangıç döneminde kısa bir süre de olsa çalışma fırsatı bulduğum,engin tıbbi bilgi ve deneyimiyle bana kattıklarını asla unutamayacağım Doç. Dr. Füsün ERDENEN'e;

İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesinde asistanlığım süresince desteğini asla esirgemeyen gerek mesleki anlamda gerekse hayata dair bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım saygıdeğer hocam Uzm. Dr. Hayri POLAT'a;

Asistanlık süreci boyunca hematoloji alanında bilgi ve birikimlerinden birçok kez faydalandığım, asistanlarına her zaman samimiyet ve hoşgörü ile yaklaşan, tez danışmanım Hematoloji kliniği idari sorumlusu Doç. Dr. Osman YOKUŞ'a;

Asistanlık sürecinde aldığım dahiliye eğitime ve tez yapım aşamasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Hanife Usta ATMACA'ya, Doç. Dr. Feray AKBAŞ'a ve İç Hastalıkları Eğitim Şefi Doç. Dr. Mehmet Emin PİŞKİNPASA'ya;

Tez yazım aşamasında desteklerini esirgemeyen, birlikte çalışabilmekten ötürü kendimi şanslı hissettiğim hem abi hem de hoca olarak gördüğüm Uzm. Dr. Murat GÜNALTILI ve Uzm. Dr. İstemi SERİN'e;

Başta Dr.Yekta ARSLAN, Dr. Evrim GARİP, Dr. Yusuf AKBULUT, Dr. Aslı ŞİMSEK ve Dr. Songül GÜDER olmak üzere beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm 2 dahiliye asistan arkadaşlarıma;

Tezimin yapım aşamasında yardımlarını esirgemeyen hem meslektaşım hem de yakın arkadaşım Dr. Hakan AYYILDIZ'a;

Ve son olarak da en özel teşekkürleri borç bildiğim, hayatta her zaman desteklerini yanımda hissettiğim, en yorulduğum anlarda bana güç kaynağı olan sevgili ailem ve Şeyma DEMİR'e;

Minnet, saygı ve teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TABLO DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.1. KRONİK MYELOİD LÖSEMİ.....	3
2.2. POLİSTEMİ VERA	4
2.3. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ.....	6
2.4. PRİMER MYELOFİBROZİS.....	8
2.5. MYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA HİDROKSİÜRE TEDAVİSİ	12
3.HASTALAR VE YÖNTEM	14
3.1. ARAŞTIRMA AMACI	14
3.2.ARAŞTIRMANIN YERİ VE TARİHİ.....	14
3.3. ARAŞTIRMAYA DAHİL EDİLME VE EDİLMEME KRİTERLERİ.....	14
3.3.1. Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri	14
3.3.2. Araştırmaya Dahil Edilmeme Kriterleri	14
3.4 ARAŞTIRMANIN YÖNTEMİ.....	15
3.5 ARAŞTIRMANIN ETİK KURULU	15
3.6 İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	15
3.7 ARAŞTIRMANIN BÜTÇESİ.....	15
3.8 VERİ TOPLAMA FORMU.....	16
5.TARTIŞMA	23
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	27
KAYNAKÇA	29

ÖZET

BCR-ABL Negatif Myeloproliferatif Neoplazi Hasta Grubunda Hidroksiüre Tedavisinin İnflamatuvar Marker ve İndeksler Üzerine Etkisi

Dr. Oğuz Altunok

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İSTANBUL/2023

Amaç: Kronik myeloproliferatif neoplaziler (KMPN), kemik iliğindeki myeloid seri hücre dizilerinde görülen, anormal klonal proliferasyonla karakterize hastalık grubudur. Bu hastalıklar köken aldığı hücre serisine göre kronik myeloid lösemi (KML), polistemi vera (PV), esansiyel trombositemi (ET), primer myelofibrozis (PMF) şeklinde isimlendirilir. Philadelphia kromozomu (Ph) ve BCR-ABL geninin keşfi sonrasında KML dışındaki hastalıklar BCR-ABL negatif MPN şeklinde gruplandırılmıştır. Başta janus kinaz-2 (JAK-2) olmak üzere, trombopoetin reseptörü (MPL) ve kalretikülin (CALR) mutasyonları bu hastalarda sık görülür. Myeloproliferatif neoplazilerin progresyon ve konstitüsyonel semptomlarında kronik inflamasyon önemli rol oynar. Biz de çalışmamızda BCR-ABL negatif MPN hasta grubunda sitoredüktif tedavide sık kullanılan oral kemoterapötik bir ajan olan hidroksiürenin inflamasyon üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

Metod: PV, ET, PMF ve diğer (sınıflandırılmayan) olarak gruplandırılan BCR-ABL negatif MPN'li hastalar; tanı, tanı yaşı, cinsiyet, genetik mutasyon ve tedavi rejimleri kaydedildikten sonra 0-3-6 ve 12 aylardaki lökosit, nötrofil, trombosit, lenfosit, c reaktif protein (CRP) ve laktat dehidrogenaz enzim (LDH) değerleri karşılaştırıldı. Hidroksiüre tedavisi alan hasta grubunda lökosit, nötrofil, CRP, LDH ile nötrofil lenfosit oranı (NLO), sistemik immün inflamatuvar indeks (SIII) gibi inflamatuvar göstergelerinin değişimleri incelendi.

Bulgular: Çalışmamıza alınan 298 olgunun 177 tanesi erkek (%59,4), 121 tanesi kadın cinsiyetindeydi (%40,6). 97 hasta PV (%32,55), 105 hasta ET (%35,23), 26 hasta PMF (%8,72), 70 hasta ise sınıflandırılmayan (%23,49) tanı grubundaydı. 144 hastanın genetik mutasyonlarına ulaşılabilmiş olup ET grubunda 1 hasta MPL, sınıflandırılmayan grupta ise 1 hasta CALR mutasyonuna sahipken kalan 142 hasta JAK-2 mutasyonuna sahipti. Median yaş değerleri PV için 54, ET için 59, PMF için 61,5 bulunmuştur.

Araştırmaya alınan 298 hastanın %53'ü, sitoredüktif tedavi alan hastaların ise %92'si hidroksiüre tedavisi almaktaydı. ET grubunda 10 hasta (%3,36) anegralid tedavisi alırken PV, PMF ve sınıflandırılmayan grupta birer hasta ruksolitinin ile takip edilmekteydi. Hidroksiüre tedavisi alan hastalarda lökosit ve nötrofil değerlerinde 0-3, 0-6 ve 0-12. aylar arasında anlamlı düşüş saptandı ($p<0,001$). Yine hidroksiüre tedavisi alan hasta grubunda 0 ile 3 ($p=0,001$) ve 0 ile 6. aylar arasında ($p=0,01$) NLO'da anlamlı düşüş saptanırken, SIII'e bakıldığında 0-3,0-6,0-12. aylarda anlamlı gerileme saptanmıştır ($p<0,001$). Sistemik immün inflamatuvar indeksteki düşüş, nötrofil lenfosit oranına göre istatistiksel açıdan daha anlamlı bulundu. CRP ve LDH değerlerinde ise herhangi bir anlamlı değişim saptanmadı.

Sonuç: Çalışmamıza alınan hasta gruplarının demografik özelliklerine bakıldığında PV hastalarının erkek, ET hastalarının ise kadın yoğunlukta olması, hastalarda en sık görülen genetik mutasyonun Jak-2 olması literatürle uyumlu bulunmuştur. Hidroksiüre tedavisi alan hasta grubunda nötrofil, lökosit, NLO ve SIII'de anlamlı düşüş saptanmasına rağmen bu düşüşe CRP ve LDH değerlerinin eşlik etmediği görülmüştür. Bu sebepten hidroksiürenin inflamasyon üzerine baskılayıcı etkisinden bahsetmek için elimizde yeterli veri yoktur. Ek olarak tedavinin yan etkisi olarak; nötrofil ve trombosit sayısında myelosupresyona bağlı düşüş görüldüğü de bilinmektedir. Eldeki veriler bu indeks ve markerlardaki anlamlı düşüşün, tedavinin myelosupresif etkisi mi yoksa inflamasyon üzerine olası baskılayıcı etkisi mi ayrımı için yetersizdir. Hidroksiürenin inflamasyon üzerine etkisinden bahsedebilmek için bu çalışmaya inflamatuvar ve anti inflamatuvar sitokin değişimleri de dahil edilerek, genişletilmiş hasta grubunda tekrarlanması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Myeloproliferatif neoplazi, hidroksiüre, inflamasyon

ABSTRACT

Effect of Hydroxyurea Treatment on Inflammatory Markers in BCR-ABL Negative Myeloproliferative Neoplasia Patient Group

Oğuz Altunok, MD

Specialty Thesis, Department of Internal Diseases, İSTANBUL/2023

Aim: Chronic myeloproliferative neoplasms (CMPN) are group of disease that begin with a abnormal mutation in a myeloid stem cells in a bone marrow. These diseases are named as polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), primary myelofibrosis (PMF), chronic myeloid leukemia (CML) according to the myeloid cell line from which they originate. After the discovery of Philadelphia Chromosome (Ph), diseases except for CML were grouped as BCR-ABL negative MPN. Janus-kinase 2 (JAK-2), thrombopoietin receptor (MPL) and calreticulin (CALR) mutations are common in these patients. Chronic inflammation plays an crucial role in both progression and constitutional symptoms of myeloproliferative neoplasms. In our study, we wanted to show the possible effect of hydroxyurea on inflammation in the cytoreductive treatment of BCR-ABL negative MPN.

Method: BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasm were grouped as PV, ET, PMF and others. Firstly patients recorded according to diagnosis, age of diagnosis, gender, genetic mutations and treatment regimens and then leukocyte, neutrophil, thrombocyte, c-reactive protein (CRP) and lactate dehydrogenase enzyme (LDH) values at 0-3-6 and 12.months were compared. The changes in inflammatory indicators such as leukocytes, neutrophils, CRP, LDH, neutrophil- lymphocyte ratio (NLR) and systemic immune inflammatory index were examined in the patients who treated with hydroxyurea.

Findings: Total of 298 patients, 177 man (%59,4) and 121 women (%40,6) were included in our study. While 70 patients unclassifiable group (%23,49), 97 patients were in the PV (%32,55), 105 patients in ET (%35,23) and 26 patients in the PMF diagnosis group (%8,72). Genetic mutations of only 144 patients were found. In ET group, 1 patient had the MPL mutation and in the unclassified group 1 patient had the CALR mutation while the

remaining 142 patients had the JAK-2 mutation. Median age values were 54 for PV, 59 for ET and 61.5 for PMF patients.

53 percent of total patients and 92 percent of patients who had cytoreductive therapy regimen were receiving hydroxyurea therapy. While 10 patients (%3,36) in the ET group were treated with anegralide, one patient each in the PV, PMF and unclassified group was followed up with ruxolitinib. There was a considerable decrease neutrophil and leukocyte values between 0-3,0-6 and 0-12 months in patients receiving hydroxyurea treatment ($p<0,001$). Also in the same group, significant decrease in NLR was detected between 0-3 and 0-6 months ($p=0,001$ and $p=0,01$). When the systemic immune inflammatory index was examined, a significant regression was found between 0-3, 0-6 and 0-12 months ($p<0,001$). While the decrease in the systemic immune inflammatory index was found to be more evident then the neutrophil lymphocyte ratio. No major decrease was seen in the CRP and LDH values.

Result: When we compared our study with the literature, it was found that PV patients mostly male, ET patients mostly female and the JAK-2 mutation was seen in most of the patients, which all were compatible with the literature. In the patient group receiving hydroxyurea treatment significant decreases were found in neutrophils, leukocytes, NLR and SIII values but it is difficult to interpret these decreases as the effect of hydroxyurea on inflammation because of the fact that hydroxurea has side effects such as neutropenia and thrombocytopenia. As a result, we think that the study should be evaluated together with cytokines in a larger patient group in order to mention the effect of hydroxyurea on inflammation.

Key words; Myeloproliferative neoplasm, hydroxyurea, inflammation

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. PV hastalarında tedavi algoritması.....	6
Şekil 2. ET hastalarında tedavi algoritması.....	8
Şekil 3. PMF hastalarında risk faktörlerine göre sınıflama	11



TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Hastaların cinsiyete göre dağılımı.....	17
Tablo 2. Araştırmaya alınan hastaların tanılara göre dağılımı.	18
Tablo 3. Hastaların tanı yaşına göre dağılımları.....	18
Tablo 4. Hastaların taşıdıkları genetik mutasyonlara göre dağılımı	19
Tablo 5. Tanı gruplarına göre tedavi rejimleri.....	19
Tablo 6. Hidroksiüre alan ve almayan hastaların 1 yıllık lökosit sayılarındaki değişim.....	20
Tablo 7. Hidroksiüre alan ve almayan hastaların 1 yıllık nötrofil sayılarındaki değişim.	21
Tablo 8. Hidroksiüre alan ve almayan hastalarda NLO değişimi.	21
Tablo 9. Hidroksiüre alan ve almayan hastalarda SIII değişimi.	22

SİMGELER VE KISALTMALAR

ASA	Asetil salisilik asit
CALR	Kalretikülin
CRP	C Reaktif Protein
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EPO	Eritropoetin
ET	Esansiyel trombositemi
FISH	Florasın in situ hibridizasyon
GIPSS	Genetikten esinlenilmiş prognostik skor sistemi
HB	Hemoglobin
HMR	Yüksek riskli molekül
HCT	Hematokrit
IPSET	Esansiyel trombositemideki trombozlardaki uluslararası prognostik skor
JAK-2	Janus kinaz-2
KML	Kronik miyeloid lösemi
KMPH	Kronik myeloproliferatif Hastalıklar
LDH	Laktat dehidrogenaz
MIPSS	Mutasyonla geliştirilmiş uluslararası prognostik skor sistemi
MPL	Trombopoetin reseptörü
MPN	Myeloproliferatif neoplazi
NLO	Nötrofil/lenfosit oranı
PMF	Primer miyelofibroz
PNI	Prognostik nutrisyonel indeks

PV	Polisitemia vera
RT-PCR	Reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyon
SIII	Sistemik immün inflamatuvar indeks
SPSS	Statistical Package for Social Scienses
TKI	Tirozin kinaz inhibitörü
vWF	Von Willebrand Faktör
WBC	White blood cell
WHO	World Health Organisation



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik myeloproliferatif neoplaziler (KMPN), hematopoetik sistemin myeloid serisindeki kök hücre mutasyonuna bağlı olarak gelişen, genellikle bir bazen ise birden fazla hücre dizisinde kontrolsüz proliferasyonla seyreden malign neoplazilerdir [1]. Bu hastalık grubu köken aldığı hücre dizisine göre isimlendirilebilir. Eritrositer dizide proliferasyon hakimse polisitemi vera (PV), megakaryositer dizide proliferasyon hakimse esansiyel trombositemi (ET), granülositer dizide proliferasyon hakimse kronik myeloid lösemi (KML) ve kemik iliğinde fibrozis hakimiyeti mevcutsa primer myelofibrozis (PMF) adını alır. Hastalık karakterleri ve doğası her bir hastalık için farklı olsa da iç içe geçmiş tablolar da görülebilir [1]. Örneğin KML hastasında kemik iliğinde fibrozis, PV hastasında ise eritrositoza ek trombositoz da görülebilir. Hastalığa sahip bireyler anormal proliferasyonun yanında matür hücreler de ürettiği sürece asemptomatik kalabilir. Kemik iliğinin yeterli myeloid hücre üretememesi durumunda ise kompanzasyon amaçlı ekstramedüller hematopoez gelişmesi sonucu hepatosplenomegali saptanabilir [2]. Hastalığa sahip bireylerde yıllar içinde kemik iliğinin yeterli matür hücre üretememesi ve anormal proliferasyon gösteren immatür myeloid seri hücrelerinin kemik iliğini infiltre etmesi sonucu hücresel yetersizlikler görülebilir. Hastalarda matür hücre sayısındaki yetersizliklerine bağlı anemi, kanama ve enfeksiyona yatkınlık gibi tablolar görülebileceği gibi immatür hücrelerdeki aşırı proliferasyona bağlı olarak hiperviskozite sendromu, arteryel ve venöz trombozlar da görülebilir [3].

Dünya sağlık örgütünün (DSÖ/WHO) 2016'da yaptığı KMPN sınıflamasının içinde polistemi vera, esansiyel trombositemi, primer miyelofibrozis, kronik myeloid lösemi, kronik nötrofilik lösemi, kronik eozinofilik lösemi ve miyeloproliferatif neoplazi (MPN-sınıflandırılmayan) bulunmaktadır [4]. Kronik myeloid lösemide Philadelphia kromozomunun (Ph) ve BCR-ABL geninin öneminin keşfedilmesiyle, bu hastalıkların kategorizasyonu ve tedavisinde önemli gelişmeler sağlanmıştır. Ph kromozomuna ek olarak 2005 yılında önce Janus Kinaz 2 (JAK-2), sonrasında kalretikülin (CALR) ve trombopoetin reseptörü (MPL) mutasyonlarının keşfi, KML dışı hastalıkların BCR-ABL negatif MPN'ler olarak gruplandırılmasına ve yeni tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır [4,5]. BCR-ABL negatif MPN'ler çoğunlukla ileri yaş hastalıkları olarak tanımlanmakla birlikte ortalama tanı konulma yaşı 60 olup hastaların neredeyse yarısı 60 yaş üzerindedir [6].

Hasta grupları değerlendirildiğinde myeloid hücre dizilerinde artmış proliferasyona ek, ekstramedüller hematopoez, akut myeloid lösemi veya myelofibroze transformasyon ortak olarak görülebilir [6,7]. Hastalar uzun süre asemptomatik yaşayabilecekleri gibi kilo kaybı, gece terlemesi ve ateş gibi konstitüsyonel semptomların yanında ektramedüller hematopoez kaynaklı splenomegali ve yine hücre serilerindeki artışa bağlı trombotik hadiselerle başvurabilir [7]. Rutin kan sayımında artmış hücre serisi saptanabileceği gibi tanıda kemik iliği aspirasyon/ biyopsisi, EPO düzeyi, JAK-2 ve Ph kromozom araştırılması önemli rol oynar [8].

Lösemi dışı myeloproliferatif hastalık grubundaki hastalar ciddi sitopeni gelişmemiş ve asemptomatikse, tedavisiz izlem ya da ihtiyaç duyulduğunda destekleyici tedaviler ile takip edilebilir. Tromboz açısından riskli grupta yer alan hastalara ek proliferatif bulgular (lökositoz, ekstramedüller hematopoez) ve konstitüsyonel semptomları (halsizlik, kilo kaybı, ateş) olan hastalarda sitoredüktif tedaviye geçilir [7,8].

KMPN grubunda sitoredüktif tedavinin birinci basamağını hidroksiüre (HU) oluşturur. Bir ribonükleotid redüktaz enzim inhibitörü olan hidroksiüre, hücre döngüsünün S fazında DNA sentez prekürsörleri olan deoksiribonükleotid sayısını azaltarak hücre proliferasyonunda dramatik bir düşüş sağlar [9]. Ek olarak fetal hemoglobin (HbF) düzeyini arttırması sebebiyle orak hücreli anemi (OHA) ve beta talasemi gibi hemoglobinopatilerin tedavisinde de kullanılabilir [10]. Geri dönüşümlü myelosupresyon yapmasının yanında gastrointestinal yan etkiler (bulantı, kusma, iştahsızlık) ve cilt bulguları (hiperpigmentasyon, kuruluk, ülser) sık görülen istenmeyen etkilerdir [11].

Literatürde hidroksiüre tedavisinin myeloproliferatif hastalıklarda inflamatuvar sitokin ve markerlar üzerine etkisi tartışmalıyken, kronik inflamasyonun hastalığın patogenezindeki yeri birçok çalışmada gösterilmiştir [12]. BCR-ABL negatif MPN hasta grubunda JAK-2 V617F gen mutasyonlu hücreler, JAK-STAT yolak aktivasyonu ile proinflamatuvar özellikte TNF-alfa ve IL-6 gibi sitokinlerde artış yaparak hastalığın patogenezinde önemli rol oynar [12]. Myeloproliferatif neoplazilerde sitoredüktif tedavide önemli yeri olan hidroksiürenin ise bu inflamatuvar yanıtı olan etkisi net değildir [10,11,12]. Bu çalışmanın amacı da kronik myeloproliferatif hastalık grubunda çeşitli inflamatuvar göstergeler ve indeksler kullanarak hidroksiürenin inflamasyon üzerine anlamlı etkisi olup olmadığını gösterebilmektir. Eğer hidroksiüre tedavisinin kronik inflamasyon üzerine anlamlı etkisi ortaya konulabilirse, patofizyolojisinde inflamasyonun rol oynadığı gerek MPN hasta grubunda gerekse yeni endikasyonlarda kullanımına fayda sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK MYELOİD LÖSEMİ

KML; 22.kromozomdaki BCR ile 9.kromozomdaki ABL geninin bir araya gelmesiyle oluşan BCR-ABL füzyon geninin hücrelerde artan tirozin kinaz aktivitesini tetiklediği, myeloid serinin öncüllerinde anormal proliferasyonla kendini gösteren hastalıktır [13]. Kronik myeloid lösemide, hastalığının patogeneğinde önemli rol oynayan Philadelphia kromozomu, (9,22) translokasyonu sonucu BCR-ABL1 kimerik geninden oluşur. Ph kromozomunun ürünü olan protein ise sürekli aktif tirozin kinaz aktivitesiyle lökositoya sebep olur [14].

Erişkin yaş gruplarında lösemilerin yaklaşık %15'ini oluşturan KML, sıklıkla 40-60 yaş arasında görülmekte olup erkek popülasyonda kadınlara göre daha sıktır [15]. KML üç aşamalı olarak değerlendirilen bir hastalıktır ve hastaların çoğunluğu asemptomatik olarak kronik fazda tanı alır [14]. Bu fazda kemik iliğindeki blast sayısı %10'un altında olup tedaviye en iyi yanıt veren fazdır. Hastalar bu fazda tanı alıp tedavi edilemezse önce akselere faz sonrasında ise blastik faz gelişir. Blastik fazda blast oranı %20 'nin üzerine çıkmasına ek olarak sitopeni tabloları ve splenomegali belirginleşir.

Hastalar çoğunlukla asemptomatik evrede rutin tahliller esnasında görülen lökositoz ve sola kayma ile bazen de trombositozdan şüphelenilerek tanı alır. Gece terlemesi, ateş, splenomegali kaynaklı sol üst kadranda ağrısı, hiperviskozite semptomlarından olan baş ağrısı, görme problemleri, parestezi, kulak çınlaması ve hatta priapizm hastalığı akla getiren şikâyet ve bulgulardandır [14].

Yukarıda bahsedilen semptom ve bulgularla başvuran hastaların hemogram sonuçlarında nötrofilik lökositoz, trombositoz hatta bazofili ve eozinofili saptanabilir. Bazen asemptomatik olarak hastaneye başvuran kişilerde de istenilen tam kan tetkikinde yukarıda bahsedilen bulguların görülmesi hastalıktan şüphelenilmesine sebep olur. Sonrasında yapılan periferik yaymada ise granülositer serideki immatür hücrelerden matür hücrelere kadar olan tüm hücrelerin mevcut olması KML şüphesini artırır. Lökoeitroblastozis adı verilen bu tabloda periferik yayma kemik iliğini andırır görünümündedir [14,15]. Akabinde yapılan kemik iliği biyopsisinin hiperselüler olması tanıyı desteklese de kesin tanı sitogenetik inceleme ile konulur. Hastalığın gelişmesinde sorumlu olan BCR-ABL1 geninin reverse transkriptaz polimeraz zincir reaksiyon (RT-PCR) tekniği ile ya da Ph kromozomunun yani t (9,22)' nin

florasan in situ hibridizasyon (FISH) metodu ile gösterilmesi hastalığa kesin tanı koyulmasını sağlar [16,17].

KML tedavisinde BCR-ABL1 gen aktivitesini azaltan tirozin kinaz inhibitörlerinin (TKİ) keşfedilmesi ve özellikle kronik safhada başlanması hastalığın seyrini olumlu yönde etkilemiştir. İmatinib, nilotinib, dasatinib, T315I mutasyon varyantında ise ponatinib başlangıç tedavisi olarak kullanılabilir. Kronik fazda tedavi edilemeyen hastalar akselere ve blastik faza geçtiklerinde ise küratif tedavi seçeneği olarak allojenik kök hücre nakli değerlendirilmelidir [18].

2.2. POLİSTEMİ VERA

PV, BCR-ABL negatif MPN'lerde sıklık yüzdesi en fazla olan ve ön planda eritrositoz ile karakterize hastalıktır. Hastalıktan sıklıkla tam kan sayımında hemoglobin (hb) ve hematokrit (hct) seviyelerindeki yüksekliklerle şüphe edilir. Bunların dışında lökosit ve trombosit sayılarındaki yükseklikler, splenomegali, banyo sonrası kaşıntı (aquajenik pruritus) ve eritrositozun sebep olduğu hiperviskozite semptomları (baş ağrısı, görme bozuklukları, kulak çınlaması, vertigo, parestezi vb.) hastalıkta sık görülür [19].

Eritrositozun patogenezinde yatan temel sebep JAK-2 mutasyonu olup (sıklıkla V617F, nadir olarak da exon 12) eritropotein (EPO) reseptörleri üzerinde aktivasyona sebep olur. Hastalarda EPO düzeyi yüksek olmasa da reseptör düzeyindeki aktivasyon sebebiyle eritroid seride proliferasyon uyarılır. EPO seviyesinin yüksek olmaması hastalığın sekonder eritrositoz (KOA, sigara kullanımı, uyku apne sendromu, EPO salgılayan kitleler vb.) sebeplerinden ayrılmasında önemli olmakla birlikte minör tanı kriterleri içerisinde [20].

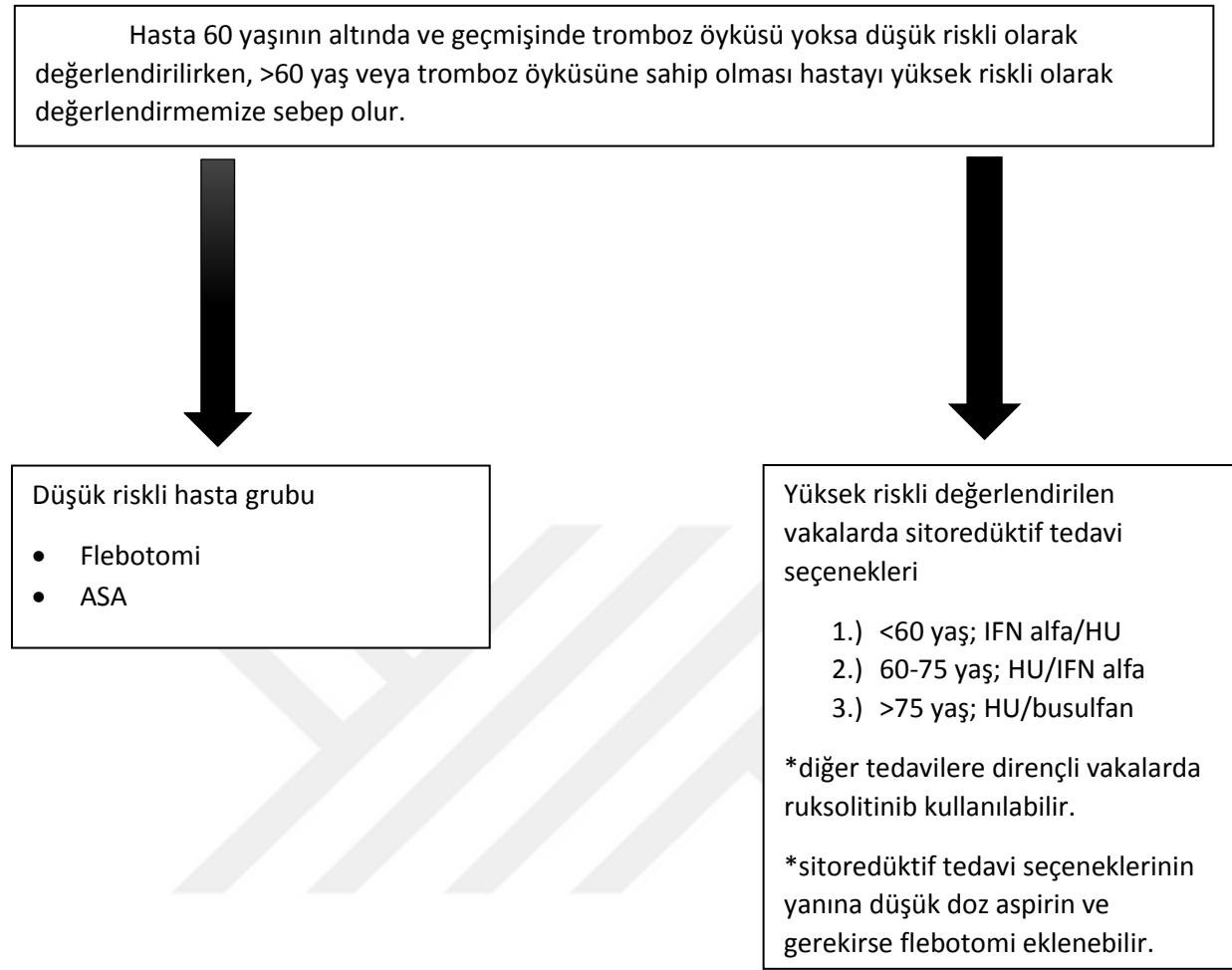
2016 yılında tanımlanmış DSÖ PV hastalık kriterleri;

- Major kriterler
 1. Erkeklerde hb değerinin 16,5 g/dl veya hct değerinin %49'un üzerinde olması, kadında ise hb değerinin 16 g/dl veya hct değerinin %48'in üzerinde olması.
 2. Yaşa göre karşılaştırılan kemik iliği örneklemeinin hiperselüler (pleomorfik, olgun megakaryositlerle birlikte her 3 seride proliferasyon görülmesi) olarak değerlendirilmesi.
 3. JAK-2 mutasyonu saptanması (V617F/ exon12)
- Minor kriterler
 1. Subnormal eritropoetin düzeyi

Hastalığın tanısında yukarıda tanımlanan kriterlerden 3 major kriter tamamı ya da ilk 2 major kriterin yanında minör kriterin bulunması gerekir.

PV hastalarında trombotik hadise görülme olasılığı artmış olup tedavide temel hedef hematokrit seviyesini %45'in altına düşürmek ve bu sayede hastalığın yarattığı trombotik komplikasyon riskini azaltmaktır [21]. Hastalığın tedavisi belirlenen risk gruplarına göre yapılır. 60 yaşın üzerinde olmak veya trombotik bir hadise öyküsü olması yüksek risk tanımlayıcılarıdır. Düşük riskli grupta değerlendirilen vakalar flebotomi ve düşük doz asetilsalisilik asit (ASA) ile takip edilirken, yüksek riskli hasta grubunda sitoredüktif tedavi gereksinimi vardır. Sitoredüktif tedavinin temelini hidroksiüre oluştururken seçili hasta gruplarında interferon alfa ve busulfan da kullanılabilir. Hidroksiüreye dirençli veya intoleransı olan grupta ise tedaviye bir JAK2 inhibitörü olan ruxsolutinib eklenebilir [22].

Şekil 1. PV hastalarında tedavi algoritması



2.3. ESANSİYEL TROMBOSİTEMİ

Esansiyel trombositemi (ET), megakaryositer seride artmış proliferasyona bağlı trombositozla seyreden myeloproliferatif neoplazi alt tipidir [20]. Diğer BCR-ABL negatif MPN'lerde görüldüğü gibi JAK2, MPL ve CALR mutasyonları hastalığın genetik alt yapısında önemli rol oynar. Hastalarda hem tromboz hem de artan trombositlerin tüketimini arttırdığı Von Willebrand Faktör (vWF) eksikliğine bağlı olarak kanama riski artar [23]. Genellikle rastlantısal olarak saptanan ve reaktif trombositoz yapıcı nedenler dışlandıktan sonra ET için şüphelenilen hastalar; asemptomatik olabilecekleri gibi halsizlik, yorgunluk, karın ağrısı gibi şikayetlerle de klinisyene başvurabilir [24].

2016 yılında tanımlanan DSÖ ET tanı kriterleri;

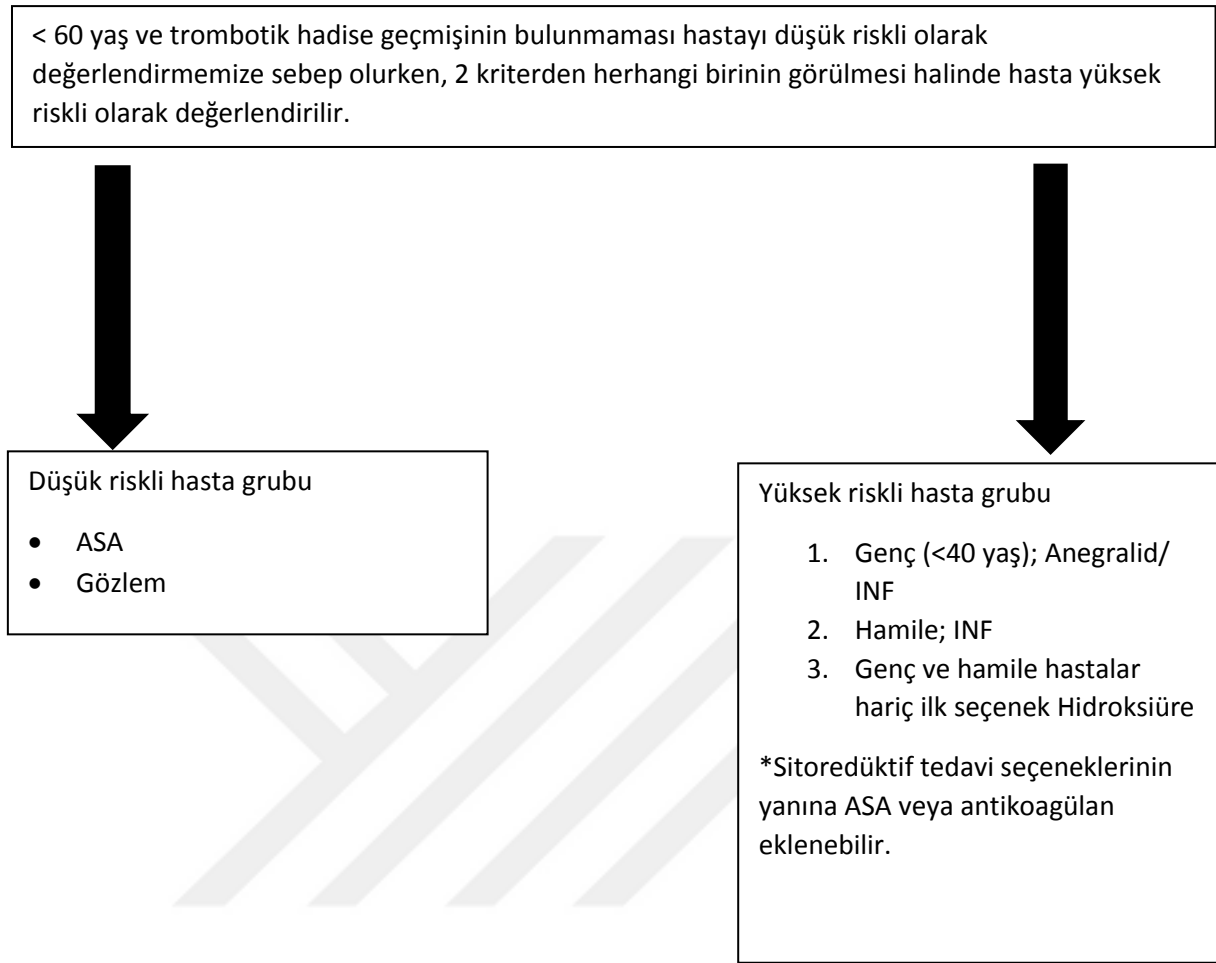
- Majör kriterler;
 1. Trombosit>450,000/mikrolitre

2. Kemik iliğinde olgun megakaryosit proliferasyonunun görülmesi
 3. Myelodisplastik sendrom, KML ve diğer BCR-ABL negatif MPN'lerin dışlanması
 4. Hastanın JAK2, MPL ya da CALR mutasyonu pozitif olması.
- Minör kriter;
 1. Reaktif trombositoz yapan sebeplerin olmaması ve klonal trombositozu sebep olacak mutasyonun gösterilmesi (SRF3B1, ASXL1, TET2, EZH2)

Majör kriterin tamamına sahip olan ya da ilk üç majör kritere ek minör kriteri de bulunduran hastalar ET tanısı alır.

Gerek ET gerekse PV hastalarında, artmış trombotik hadiselerin yanında zamanla myelofibroz ve akut lösemi gibi neoplazilerin de gelişme riski artmıştır [25]. Tedavide esas amaç vasküler komplikasyonların önüne geçmek olduğu için risk sınıflamasına göre sitoredüktif tedavi endikasyonu alabilir [26]. Yaştan bağımsız tromboz öyküsü, >60 yaşında olma, JAK-2 genine sahip olma ve kardiyovasküler risk faktörlerine sahip olma, hastayı yüksek risk sınıflamasına dahil ettiği için sitoredüktif tedavi kullanmak gerekir. Kanama riski olmadığı sürece tüm hastalarda düşük doz ASA önerilmekle birlikte tromboz öyküsüne bağlı olarak antikoagülan tedavi de eklenebilir. Yüksek riskli hasta grubunda, sitoredüktif tedavi de ilk seçenek tıpkı polistemi verada olduğu gibi hidroksiüredir. 40 yaş altı vakalarda, hidroksiüre dirençli veya intolerans gösteren hastalarda anegralid ve interferon-alfa diğer sitoredüktif tedavi seçenekleridir. Hamilelikte de hidroksiüre yerine interferon tedavisi tercih edilir [25,26].

Şekil 2. ET hastalarında tedavi algoritması



2.4. PRİMER MYELOFİBROZİS

Primer myelofibrozis, megakaryositer seride proliferasyonla birlikte kemik iliğinde gelişen fibrozisin sonucu olarak ekstramedüller hematopoez ile prezentasyon gösteren diğer bir myeloid kök hücre hastalığıdır. Hastalık primer olarak görülebildiği gibi vakaların %15'i PV ve ET sonrası transformasyon olarak da görülebilir [27]. Hastaların yaklaşık yarısı JAK-2 mutasyonuna sahipken diğer MPN'lerde olduğu gibi MPL ve CALR mutasyonları da görülebilmektedir [28]. Hastalık, tanımlanan ölçütlere göre erken PMF ve bariz PMF olarak ikiye ayrılır.

Erken PMF için DSÖ 2016 tanı kriterleri;

- Majör ölçütler
 1. Kemik iliği biyopsi örneklemesinde evre 1 retiküler fibrozise eşlik eden artmış selülarite (yaşa göre), granülositer proliferasyon, azalmış eritropoeze ek olarak megakaryositer atipi ve proliferasyon.
 2. Myelodisplastik sendrom (MDS), KML, ET ve PV gibi diğer bütün myeloid neoplazilerin ekarte edilmesi.
 3. JAK2, CALR, MPL mutasyonları veya IDH1-2, TET2, EZH2, SF3B1, SRSF2, ASXL1 gibi klonalite göstergelerinin varlığı ya da kemik iliğinde reaktif retiküler fibrozisin yokluğu.
- Minör ölçütler
 1. Başka bir hastalığa bağlanamayan, sebebi bilinmeyen anemi.
 2. Palpabl splenomegali
 3. Lökositoz ($\geq 11000/\mu\text{l}$)
 4. LDH yüksekliği

Bariz PMF için DSÖ ölçütleri;

- Majör ölçütler
 1. Kemik iliği biyopsisinde megakaryositer proliferasyon ve atipiyeye eşlik eden kollojen fibrozis ve/veya evre 2, evre 3 retikülin.
 2. MDS, KML, ET, PV gibi diğer bütün myeloid neoplazilerin ekarte edilmesi.
 3. JAK2, CALR, MPL mutasyonları veya IDH1-2, TET2, EZH2, SF3B1, SRSF2, ASXL1 gibi klonalite göstergelerinin varlığı ya da kemik iliğinde reaktif retiküler fibrozisin yokluğu.
- Minör ölçütler
 1. Başka bir hastalığa bağlanamayan, sebebi bilinmeyen anemi.
 2. Palpabl splenomegali
 3. Lökositoz ($\geq 11000/\mu\text{l}$)
 4. LDH yüksekliği
 5. Lökoeitroblastozis

Hem erken hem de bariz PMF tanısı için yukarıda sayılan tanı kriterlerinden major ölçütlerin tamamına ek bir veya daha fazla minör ölçüt bulunması gerekir [29].

Hastalığın kliniğinde ağır anemi, splenomegali ve konstitüsyonel semptomlar (yorgunluk, gece terlemesi, ateş) görülebilir. Anemi etyolojisini aydınlatmak için yapılan periferik yaymada diğer myeloproliferatif hastalıklarda görüldüğü gibi lökoeritroblastik kan tablosuna ek olarak gözyaşı damlası şeklinde eritrositler (dakriosit) görülebilir. Tanı için kemik iliği biyopsisinde fibrozis görülmesi ve fibrozisin derecelendirilmesi gereklidir. Hastalardan kemik iliği aspirasyonu sıklıkla fibrozis sebebiyle yapılamaz. İleri fibrozise bağlı gelişen bu duruma dry-tap denir [27,28,29].

PMF tedavisi için hastaları öncelikle risk gruplarına göre sınıflamak gerekir. Hastalar IPSS (International Prognostic Scoring System), DIPSS (Dynamic International Prognostic Scoring System) ve DIPSS-Plus skorumlarına göre düşük, orta 1, orta 2 ve yüksek riskli olarak sınıflandırılır [27]. IPSS ve DIPSS skorumlarında kabaca yaş, konstitüsyonel semptomların varlığı, hemoglobin, lökosit ve periferdeki blast sayısı dikkate alınırken DIPSS-plus skorumlarında ise bunlara ek olarak trombosit sayısı, transfüzyon ihtiyacı ve karyotip özellikleri (-5/5q-, -7/7q-, +8, 11q23, 12p-, i17q, inv3 içeren bir veya iki anormallik) de dahil edilir [30]. BCR-ABL negatif MPN'lere bakıldığında en nadir görüleni olan PMF en kötü prognoza sahiptir. Kemik iliğinde ilerleyen fibrozis zamanla kemik iliğini tüketerek pansitopeni tablosuna yol açar [31].

Düşük risk kategorisine dahil edilen hastalar (yukarıdaki skorumlarında düşük ve orta 1 grubuna dahil olup kötü karyotipik özellikler göstermiyorsa) semptomatik tedavi ve hidroksiüre ile takip edilebilir. Hidroksiüre tedavisine dirençli, semptomatik splenomegalisi olan ve ileri konstitüsyonel semptomlar gösteren hastalarda ise ruksolitinib kullanılabilir [32]. Hastalar eğer yukarıda bahsedilen skorumlarında yüksek riskli (orta 2, yüksek veya kötü moleküler risk) grupta değerlendirilirse, küratif tedavi seçeneği olarak allojenik kök hücre nakli değerlendirilebilir. Hasta nakil için uygun bulunmazsa semptomatik tedavinin yanında hidroksiüre ruksolitinib ve fedratinib kullanılabilir [32].

Şekil 3. PMF hastalarında risk faktörlerine göre sınıflama

Primer myelofibrozis hastalarının risk gruplarına göre değerlendirilmesi.

RİSK FAKTÖRLERİ	IPSS	DIPSS	DIPSS PLUS
65 yaş üstü olmak	X	X	X
Konstitüsyonel semptomlar	X	X	X
Hemoglobin<10 gr/dl	X	X	X
Lökosit>25.000 mcL	X	X	X
Periferde blast oranı>%1	X	X	X
Trombosit<100.000mcL			X
Kötü karyotipik özellik			X
Eritrosit replasman ihtiyacı göstermek			X

- IPSS için her kriter 1 puan, DIPPS için hb<10 gr/dl kriteri 2 puan değerindedir.
- IPSS için 0 puan düşük, 1 puan orta-1, 2 puan orta-2,> 2 ise yüksek risk kategorisindedir.
- DIPSS için 0 puan düşük, 2 puana kadar orta-1 risk, 4 puana kadar orta-2 risk, >4 ise yüksek risk kategorisindedir.
- DIPSS PLUS için 0 puan düşük, 1 puan alanlar orta-1, 3 puana kadar orta-2, >3 puan ise yüksek risk kategorisindedir.
- Hastalar indekslerden herhangi birinde yüksek veya orta-2 risk grubunda yer alırsa allojenik kök hücre nakli adayı olur. Hasta transplanta uygun değilse hidroksiüre, rüksolitinib gibi medikal tedavi seçeneklerinin yanında klinik çalışmalara yönlendirilebilir.

2.5. MYELOPROLİFERATİF HASTALIKLARDA HİDROKSİÜRE TEDAVİSİ

Hidroksiüre hem myeloproliferatif hastalıkların sitoredüktif tedavisinde hem de orak hücreli anemi tedavisinde sık kullanılan sitotoksik bir ajandır. Hücre siklusunu ribonükleotid redüktaz enzimi üzerinden S fazında inhibe eder. Ribonükleotid redüktazın inhibe olması ile ribonükleotidler deoksiribonükleotidlere dönüşemez ve DNA prekürsörlerinin azalmasına sebep olur [33]. Bu sayede replikasyon geri dönüşümlü olarak inhibe edilirken bir taraftan da hasarlı DNA molekülleri ortaya çıkar [33]. Ek olarak gama globulin gen sentezini indüklediği için fetal hemoglobin (HbF) düzeyini arttırarak orak hücreli anemi tedavisinde de kullanılabilir [34]. Vasküler endotelden nitrik oksit (NO) salınması, kan hücrelerinin adezyonunu azaltması ve vasküler dilatasyonu sağlaması ise bilinen diğer etkilerindendir [35]. Hidroksiürenin yüksek doz veya uzamış maruziyetlerinde hem hasarlı DNA moleküllerini hem de reaktif oksijen moleküllerini arttırarak oksidatif stresi tetiklediği bilinmektedir. Gelişen bu oksidatif stres zamanla kemik iliği toksisitesine sebep olabilir. Gerek hücre siklusunu baskılaması gerekse de oksidatif stresin yol açtığı kemik iliği toksisitesi sebebiyle hastalarda başta nötropeni olmak üzere sitopeni tabloları görülebilir [36,37]. Bu sitotoksik etki hidroksiüreye bağlı oluşan hasarlı DNA moleküllerinin ve reaktif oksijen moleküllerinin birikimi ile orantılıdır [33,36,37].

BCR-ABL negatif myeloproliferatif hastalıklarda önerilen hidroksiüre başlangıç dozu 500-1000 mg/gün olup devamında önerilen günlük doz 10-30mg/kg/gün arasındadır [38]. Hidroksiüre tedavisi altında hastalarda gastrointestinal semptomlar (bulantı, kusma, diyare), kutanöz yan etkiler (kserozis, hiperpigmentasyon, bacak ülser, oral ülser, tırnak anomalileri), ateş, makrositoz ve nötropeni sık görülür [39]. Tedaviye ara verilmesi çoğunlukla yan etkilerin geri dönüşümü açısından yeterlidir. Uzun süreli tedavi altındaki hastalarda sık olmamakla birlikte multipl cilt kanserleriyle de ilişkili olduğu düşünülmektedir [40].

Tıp pratiğinde uzun yıllardır psöriazis, orak hücreli anemi, myeloproliferatif hastalıklar gibi farklı endikasyonlarla kullanımı olan hidroksiürenin inflamasyon üzerine etkisi net olmamakla birlikte tartışmalı sonuçlar mevcuttur. Özellikle orak hücreli anemi hasta grubunda inflamasyonun hastalığın kliniğini belirleyici vazo oklüzyonlara sebep olması sebebiyle hidroksiürenin inflamasyon üzerine etkileri araştırılmıştır [41]. Carolina ve arkadaşlarının orak hücreli anemi hasta grubunda yaptığı çalışmada, hidroksiüre tedavisinin proinflamatuvar TNF-alfa sitokin seviyesinde azalma yaparken, anti inflamatuvar IL-10 seviyesinde artış yaptığı gösterilmiştir [41]. Myeloproliferatif neoplazili hasta grubunda ise hidroksiürenin inflamasyon üzerine etkisi çok fazla araştırılmamış olmasına rağmen hastalığın

patofizyolojisinde kronik inflamasyonun rolü önemlidir [12,42]. Manshouri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada JAK-2 V617F mutasyonlu hematopoetik hücrelerin, IL-6 ve FGF-beta gibi inflamatuvar sitokinlerde artış yaptığını gösterilmiştir [42].

İnflamasyon, myeloproliferatif neoplazilerin gerek oluşumunda gerekse hastalarda konstitüsyonel semptomların görülmesinde etkin rol oynar. JAK2-V617F mutant hematopoetik hücrelerde JAK-STAT reseptör sinyal yolak aktivasyonu; IL-1, IL-6 ve TNF-alfa gibi sitokinlerde artışa yol açmaktadır [43]. Kronik inflamasyon bu heterojen hastalık grubunda gelişen splenomegali, konstitüsyonel semptomlar ve kemik iliği fibrozisinin en önemli sebeplerindendir [43].

Myeloproliferatif neoplazilerin tedavisinde kullanılan oral JAK-2 inhibitörü olan ruxsolutinibin, inflamatuvar sitokinlerde azalma yaparak konstitüsyonel semptomlara ve hastalığın progresyonuna olan sınırlayıcı etkisi literatürde mevcuttur [44]. Fakat ruxsolutinibin ağır immünsupresyon ve sitopeni tablolarına yol açması, sekonder enfeksiyon sıklığını arttırması ve yüksek maliyeti, hidroksiüre gibi daha düşük riskli başlangıç tedavilerinin, myeloproliferatif hastalık grubunda inflamasyon üzerine etkisinin araştırılmasını gerekli kılmaktadır.

3.HASTALAR VE YÖNTEM

3.1. ARAŞTIRMA AMACI

Araştırmamız BCR-ABL negatif myeloproliferatif hastalık tanısı almış hasta grubunda sitoredüktif tedavi rejimi olarak hidroksiüre kullanımının başlangıçtan sonraki bir yıllık takipte inflamatuvar belirteç ve indeksler üzerine etkisini göstermeyi amaçlayan retrospektif bir klinik çalışmadır. Araştırmamızda kullanılan inflamatuvar belirteçler; nötrofil sayısı, lökosit sayısı, C Reaktif Protein (CRP) ve Laktat Dehidrogenaz (LDH) iken inflamatuvar indeksler ise nötrofil/lenfosit oranı (NLO), sistemik immün inflamatuvar indeks (SIII) ve prognostik nutrisyonel indekstir (PNI).

3.2.ARAŞTIRMANIN YERİ VE TARİHİ

Araştırmaya 01.01.2010-01.01.2022 tarihleri arasında İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji polikliniğinde 2016 WHO tanı kriterlerine göre BCR-ABL negatif myeloproliferatif hastalık tanısı almış 298 hasta dahil edilmiştir. Hastaların aldıkları tanılar ve tanı yaşları, cinsiyeti, genetik mutasyonları belirlenerek kullandıkları sitoredüktif tedavi rejimine göre inflamatuvar belirteç (lökosit, nötrofil, CRP, LDH) ve indeksler (nötrofil/lenfosit oranı, sistemik immün inflamatuvar indeks, prognostik nutrisyonel indeks) üzerinden bir yıllık takipleri incelenmiştir.

3.3. ARAŞTIRMAYA DAHİL EDİLME VE EDİLMEME KRİTERLERİ

3.3.1. Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri

- >18 yaş
- Merkezimizde BCR-ABL negatif klasik myeloproliferatif neoplazi tanısı almış olmak
- Tanı sonrası takip ve tedavisinin en az 1 yılının merkezimizde yapılmış olması

3.3.2. Araştırmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- <18 yaş
- Gebelik
- Hastada sistemik inflamasyon yanıtını etkileyecek başka bir hastalık veya ilaç kullanımı olması
- BCR-ABL pozitif genetik mutasyona sahip olmak

3.4 ARAŞTIRMANIN YÖNTEMİ

Araştırmamız retrospektif klinik çalışma olup merkezimizde BCR-ABL negatif myeloproliferatif hastalık tanısı alan 298 hastanın, tanı sonrası ilk bir yıl içinde takiplerinde lökosit, nötrofil, C-reaktif protein (CRP), laktat dehidrogenaz (LDH) gibi inflamatuvar belirteçlerin yanında nötrofil/lenfosit oranı (NLO), sistemik immün inflamatuvar indeks (SII), prognostik nutrisyonel indeks (PNI) gibi inflamatuvar indeksler hesaplanarak sitoredüktif tedavide hidroksiüre kullanımının inflamasyon üzerine etkisi araştırılmıştır.

Araştırmada kullanılan inflamatuvar indeksler;

- NLO: nötrofil sayısı/ lenfosit sayısı
- SII: (nötrofil sayısı x trombosit sayısı) / lenfosit sayısı
- PNI: serum albümin(gr/dl) + 5 x lenfosit sayısı/mm³

3.5 ARAŞTIRMANIN ETİK KURULU

Araştırmamızın etik kurulu, Sağlık Bilimler Üniversitesi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan alınmıştır. (Kabul tarihi: 27.10.2022, Karar no:328) (EK-1).

3.6 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin analizleri Statistical Package for Social Scienses (SPSS) 25.0 ile yapıldı. Hasta verilerinin normallik testleri Shapiro-Wilk ile yapıldı. İkili hasta gruplarının karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi, üç veya daha fazla olan grupların karşılaştırılması ise Kruskal-Wallis testi ardından Dunn-Bonferroni düzeltmesi yapılarak değerlendirildi.

3.7 ARAŞTIRMANIN BÜTÇESİ

Araştırma bütçesi tamamen araştırmacılar tarafından karşılanmış olup teknik olanaklar için herhangi kişi veya kuruluştan destek alınmamıştır.

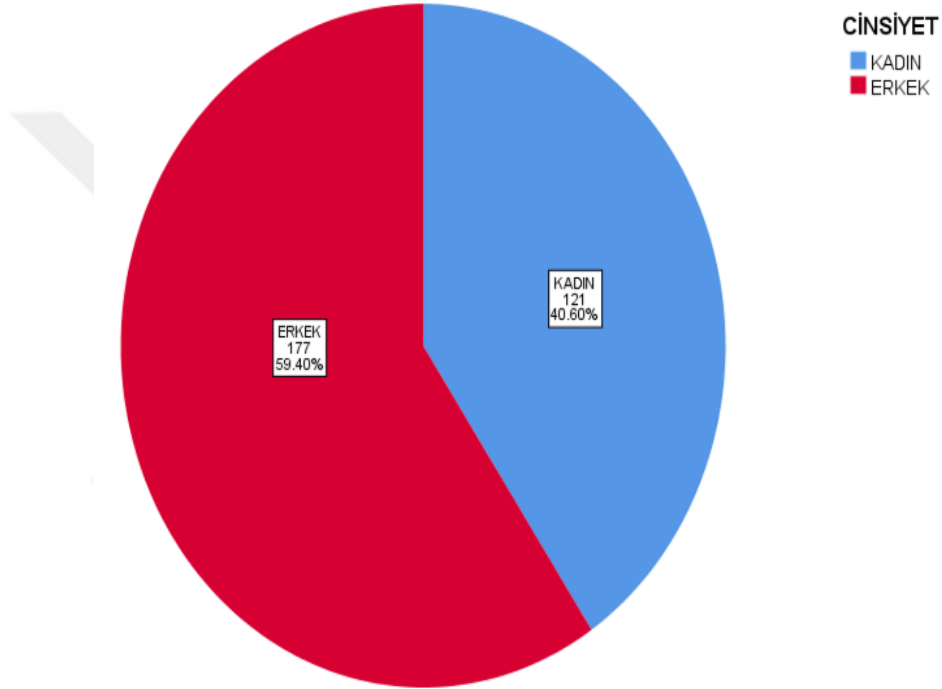
3.8 VERİ TOPLAMA FORMU

2016 WHO kriterlerine göre BCR-ABL negatif myeloproliferatif hastalık tanısı alan hastalar; PV, ET, PMF ve diğer (sınıflandırılmayan) olarak gruplandırılmış, cinsiyet ve tanı yaşı gibi demografik bilgilerin yanında hastane kayıtlarından protokol numarası, genetik mutasyonu ve tanı sonrası 0-3-6-12. aylardaki lökosit, nötrofil, trombosit, lenfosit, CRP, LDH değerleri ile hastanın son muayene tarihi bulunmaktadır. (EK-2)

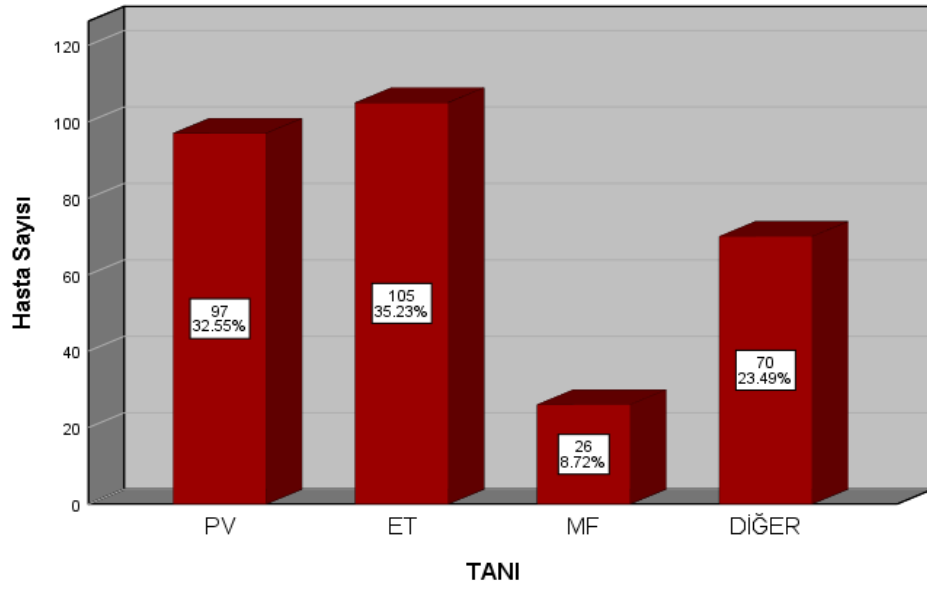


4.BULGULAR

Araştırmamıza alınan total 298 hastanın 177'si erkek, 121'i ise kadın cinsiyetindedir. 298 hastanın %32,5'i PV, %35.23'ü ET, %8.72'si PMF ve %23'49 u sınıflandırılmayan olarak gruplandırılmıştır.

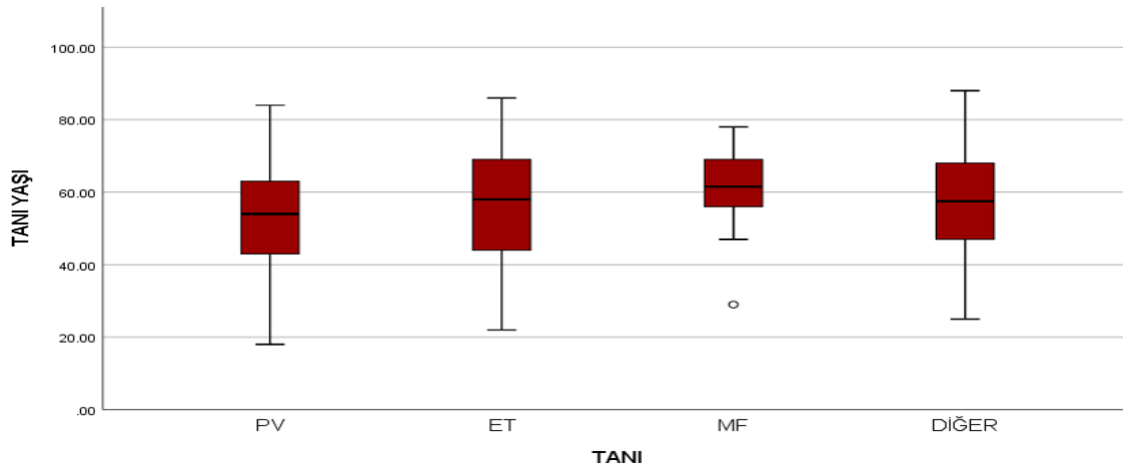


Tablo 1. Hastaların cinsiyete göre dağılımı

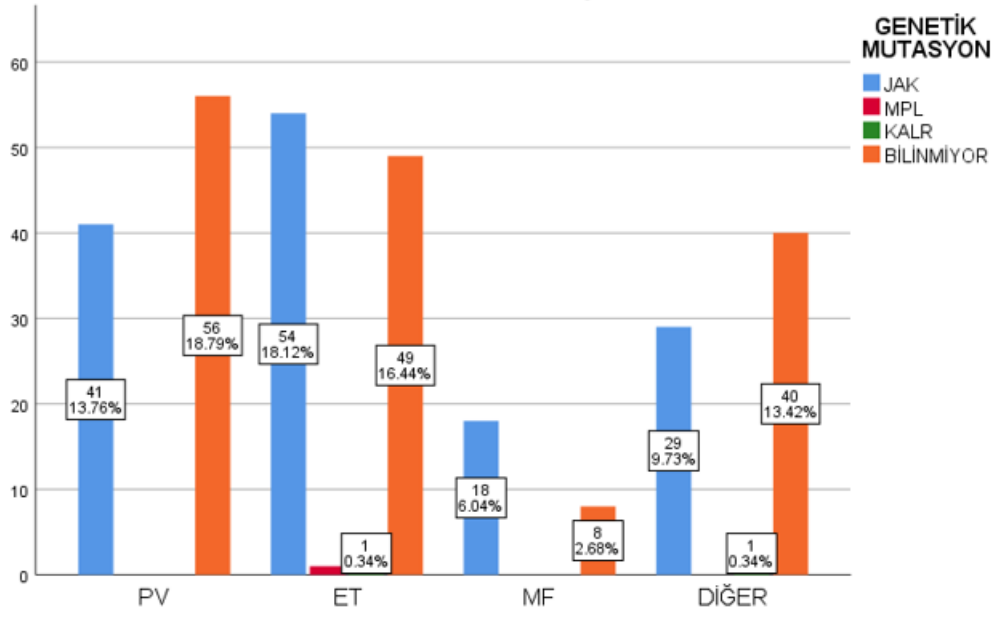


Tablo 2. Araştırmaya alınan hastaların tanılara göre dağılımı.

Araştırmaya dahil edilen 298 hastanın median tanı yaşı 57 bulunmuştur. PV hasta grubu için 54, ET 58, MF 61.5, sınıflandırılmayan grup içinse 57.5'tir. Hastaların taşıdığı genetik mutasyonlara bakıldığında ise 144 hastanın genetik mutasyonlarına ulaşılırken 142'si JAK-2 V617F mutasyonu taşıırken ET grubunda 1 hasta MPL, sınıflandırılmayan grupta ise 1 hastanın CALR mutasyonu taşıdığı görüldü.

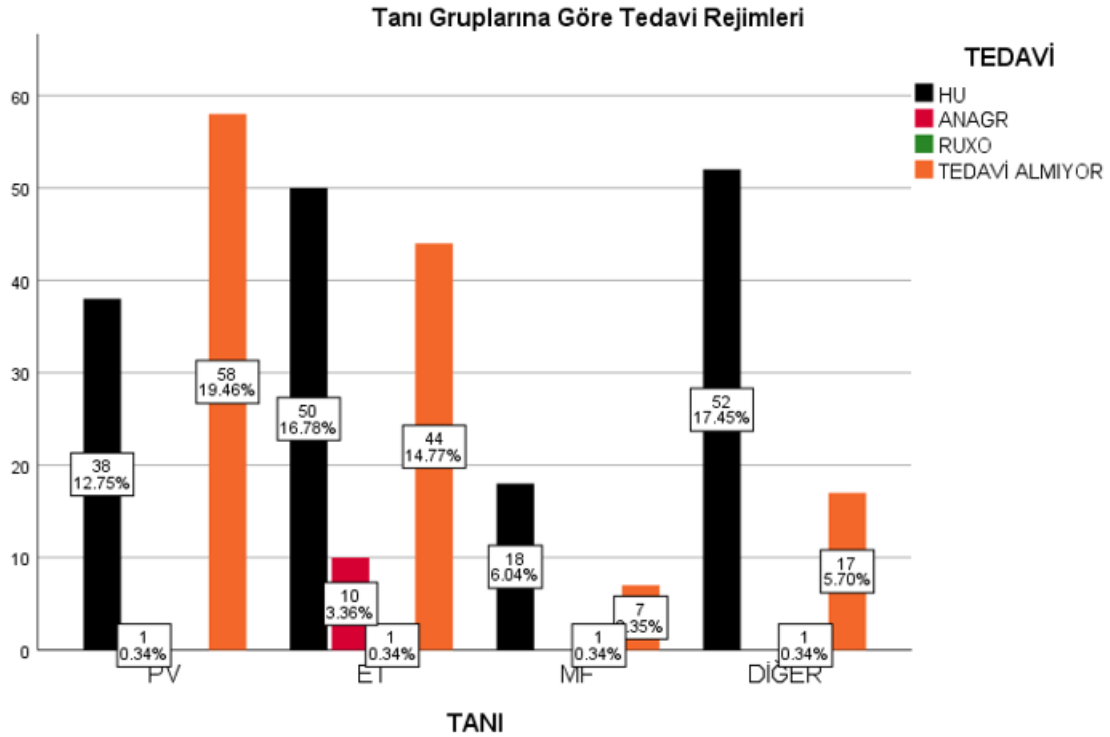


Tablo 3. Hastaların tanı yaşına göre dağılımları



Tablo 4. Hastaların taşıdıkları genetik mutasyonlara göre dağılımı

Hastaların tedavi rejimleri incelendiğinde 126 hastanın sitoredüktif tedavi almadan takip edildiği, 158 hastanın hidroksiüre, 11 hastanın aneğralid, 3 hastanın ise rüksolitinib tedavisi aldığı görüldü.



Tablo 5. Tanı gruplarına göre tedavi rejimleri

Sitoredüktif tedavi rejimi olarak hidroksiüre tedavisi alan ve almayan hasta grupları Shapiro-Wilk testine göre karşılaştırılmış olup veriler non parametrik olarak değerlendirildi. Ardından Kruskal Wallis testi ve Dunn-Bonferroni düzeltmeleri yapıldı; lökosit ve nötrofil sayısında 0-3, 0-6 ve 0-12. aylar arasında anlamlı azalma saptanırken ($p<0,001$), 3-6, 3-12 ve 6-12. aylar arasında anlamlı bir düşüş görülmedi ($p=1$).

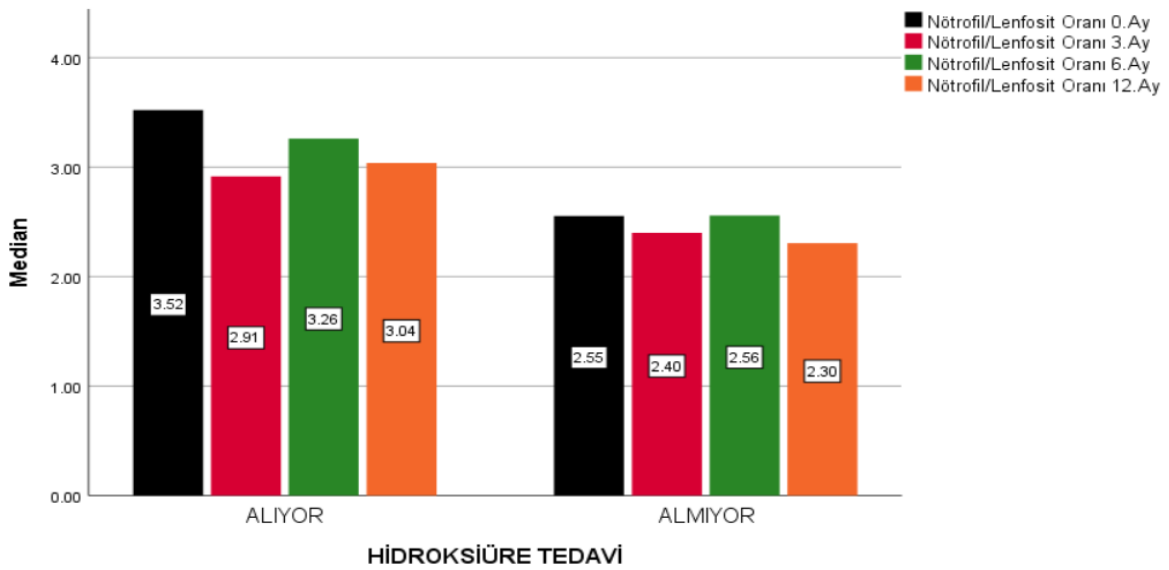


Tablo 6. Hidroksiüre alan ve almayan hastaların 1 yıllık lökosit sayılarındaki değişim.

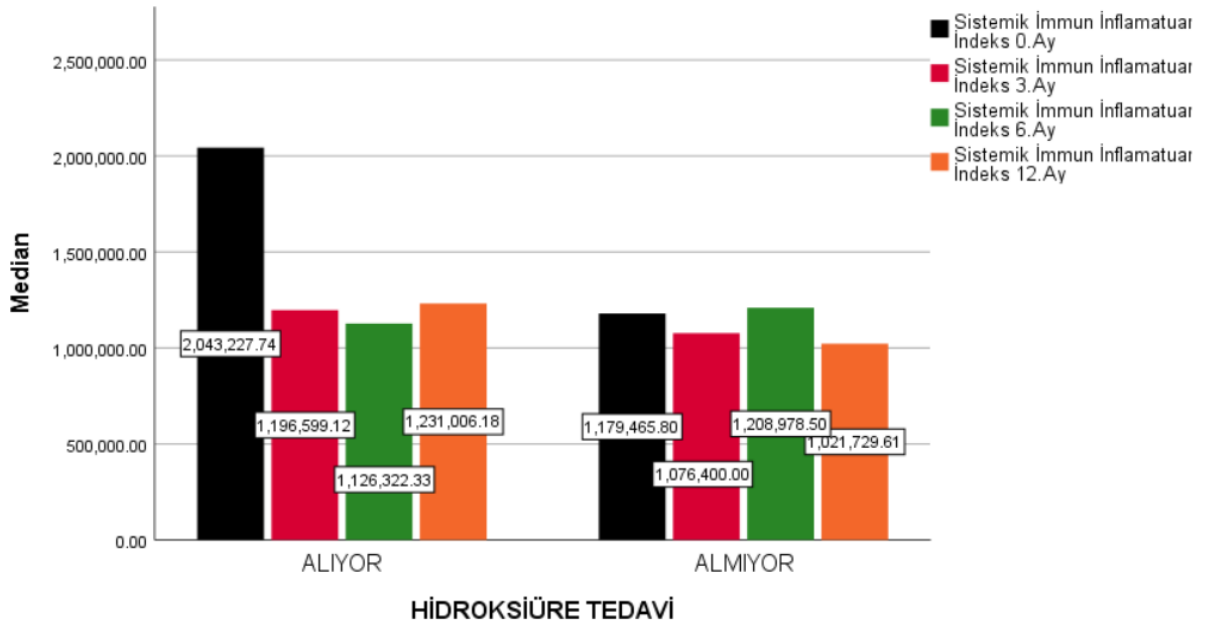


Tablo 7. Hidroksiüre alan ve almayan hastaların 1 yıllık nötrofil sayılarındaki değişim.

Hidroksiüre tedavi alan grupta NLO, 0-3. ay ($p=0,001$) ve 0-6.ay ($p=0,01$) arasında anlamlı düşüş gösterdi. SIII'e bakıldığında ise 0-3,0-6 ve 0-12. aylar arasında yine anlamlı düşüş görüldü ($p<0,001$). CRP, LDH ve PNI değerlerinde herhangi bir anlamlı değişiklik görülmedi ($p>0,05$).



Tablo 8. Hidroksiüre alan ve almayan hastalarda NLO değişimi.



Tablo 9. Hidroksiüre alan ve almayan hastalarda SIII değişimi.

Hidroksiüre tedavisi almayan hasta grubunda lökosit, nötrofil, CRP, LDH, NLO, SIII değerlerinde anlamlı değişiklik görülmezken ($p>0,05$), PNI 0 ve 6. aylar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gösterdi ($p=0,004$).

5.TARTIŞMA

Myeloproliferatif hastalıkların temelini oluşturan anormal klonal proliferasyonun patofizyolojisinde kronik inflamatuvar mikroçevre önemli rol oynar [12]. Anormal klonal proliferasyonun altında yatan JAK-2 (V617F ve exon12), MPL ve CALR gibi somatik mutasyonlar inflamatuvar yanıtları tetikleyici reseptör sinyal yollarını kesintisiz olarak aktive eder [45]. Bu reseptör sinyal yollarının sürekli aktive olması gerek neoplastik hücrelerden gerekse de normal hücrelerden inflamatuvar sitokin salınımını tetikleyerek hastalığın progresyonunda ve konstitüsyonel semptomlarda önemli rol oynayan inflamatuvar mikroçevrenin oluşmasına sebep olur [46]. Ek olarak myeloproliferatif neoplazilerde görülen prematür ateroskleroz ve tromboz gibi vasküler hadiselerin de altında yatan sebeplerden biridir [12,45,46]. Bu klonal proliferasyonla seyreden heterojen hastalık grubunda somatik mutasyonların tetiklediği artan inflamatuvar sitokin sekresyonu (TNF-alfa, IL-1, IL-6, VEGF, TGF-beta) myeloid proliferasyona ek olarak mezenkimal ve endotelial hücrelerde de artışa yol açar [47]. Bu sebepten ötürü hastalığın ileri safhalarında kemik iliği fibrozisi ve hatta AML'ye dönüşüm görülebilir. Dolayısıyla inflamatuvar mikroçevrenin kontrol altına alınması myeloproliferatif neoplazilerde önemli tedavi amaçlarındandır.

Myeloproliferatif hastalıklarında tedavisinde kullanılan ruxolitinib; JAK-STAT yolağını inhibe ederek hastalığın patogenezinde rol oynayan kronik inflamasyonu kontrol altına almayı hedefleyen oral JAK-1 ve 2 inhibitörüdür [48]. Primer myelofibrozis ve hidroksiüreye dirençli ya da intolerans gösteren olgularda polistemi vera tedavisinde kullanılan ruxolitinib gerek konstitüsyonel semptomları ve splenomegaliyi azaltması gerekse de sağkalımı arttırması sebebiyle sitoredüktif tedavi de önemli bir seçenektir [48]. İlacın yüksek maliyetine ek olarak doz bağımlı myelosupresyon yapması ve immünsupresif etkisiyle sekonder enfeksiyonlara yol açması ruxolitinib tedavisinin olumsuz yönleridir [49]. Bu sebepten hastalığın patogenezindeki kronik inflamasyonu baskılamak için yan etki profili açısından daha güvenli ve daha uygun maliyetli tedavi seçenekleri oluşturmak önemlidir.

1960'lı yıllardan itibaren psöriazis, HIV, orak hücreli anemi gibi farklı endikasyonlarla tıp pratiğinde kullanılan bir ajan olan hidroksiüre, myeloproliferatif hastalıkların sitoredüktif tedavisinde önemli rol oynar [50]. Etkisini DNA sentezinin S fazında, ribonükleotid redüktaz enzimini inhibe ederek deoksiribonükleotid oluşumunu engelleyerek sağlar [51]. Genellikle iyi tolere edilebilen bir ajan olan hidroksiüre, sitoredüktif

etkisi ile lökositoz, konstitüsyonel semptomlar ve splenomegaliyi iyileştirirken, bulantı-kusma, mukokutanöz ülser ve sitopeni tabloları gibi yan etkiler gösterebilir [52].

Literatüre bakıldığında hidroksiüre tedavisinin inflamasyon üzerine etkisi ile ilgili karışık sonuçlar mevcuttur. Orak hücreli anemi hasta grubunda Carolina ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışma ile Rhiannon ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalarda hidroksiüre tedavisi ile TNF-alfa düzeyinde anlamlı derece azalma saptanmıştır [41]. Navarra ve arkadaşlarının fareler üzerinde gerçekleştirdiği bir çalışmada ise hidroksiürenin, proinflamatuvar özellik gösteren IL-1 ve TNF-alfa gibi sitokinlerin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir [53]. Laurence ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hidroksiürenin erişkin hasta grubunda IL-1, IL-6 ve IL-8 düzeyini arttırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir [54]. Sonuç olarak hidroksiürenin inflamatuvar sitokinler üzerine olan etkisi hakkında bir konsensus sağlanamadığı görülmüştür.

Hidroksiüre tedavisi altındaki hastalarda, ilacın doz bağımlı sitotoksik etkisi sebebiyle özellikle nötrofilik seride belirgin olmak üzere lökopeni sık görülmektedir [55]. Yapılan çalışmalarda hidroksiürenin sitotoksik etki ile lökopeni yapmasına rağmen lökositlerin mikrobisidal aktivitelerine karşı olumsuz bir etkisi olmadığı gösterilmiştir [56]. Biz de çalışmamızda hidroksiüre tedavisinin inflamasyon üzerine etkisini araştırmak için hastalarda tanı sonrası 0-3-6 ve 12.aylarda lökosit, nötrofil, trombosit, CRP ve LDH değerlerine ek NLO, SIII ve PNI gibi inflamatuvar indekslerin değişimlerini değerlendirdik.

Araştırmamıza alınan 298 hastanın %59,4'ü erkek, %40,6'sı kadın cinsiyetinde olup literatüre baktığımızda BCR-ABL negatif myeloproliferatif hastalıkların erkek popülasyonda görülme oranının daha fazla olduğu bilinirken (erkek/kadın oranı 1.3-1.6) özellikle polistemi verada bu oran 1.6-2.5 katına kadar çıkabilmektedir. [57]. Sadece ET'de kadın popülasyon baskın olup erkek/kadın oranı 0,5- 0,7 arasında değişmektedir [57]. Bizim çalışmamızda ise PV hastalarının %73'ü erkek, ET hastalarının ise %54'ü kadın cinsiyetinde saptanmış olup literatürle uyumlu olarak değerlendirildi.

Çalışmamıza alınan myeloproliferatif neoplazili hastaların %32,55'i PV, %35,23'ü ET, %8,72'si PMF, %23,49'u ise sınıflandırılmayan grupta yer almıştır. Mayo klinik verilerine göre yıllık PV insidansı 1.3-2.8/100.000 iken ET' un yıllık insidansı 1-2.5/100.000'dir [58]. Myeloproliferatif neoplaziler genel olarak ileri yaş hastalığı olarak tanımlanmakla beraber Amerika'da Ulusal Kanseri Enstitüsü (NCI) tarafından yapılan SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) çalışmasında median yaş değerleri PV

hastalarında 65, ET hastalarında 67, PMF hastaları içinse 69 olarak bulunmuştur [57, 58]. Bizim yaptığımız çalışmada ise median yaş değerleri 97 PV hastası için 54, 105 ET hastası için 59, 26 PMF hastası içinse 61,5 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda 144 hastanın genetik mutasyonlarına ulaşılmış olup ET grubunda 1 hastanın MPL, sınıflandırılmayan grupta ise 1 hastanın CALR mutasyonu taşıdığı diğer 142 hastanın ise JAK-2 mutasyonu taşıdığı görülmüştür. Literatüre baktığımızda PV hastalarının %98'i, ET ve PMF hastalarının ise yaklaşık yarısında JAK-2 mutasyonu pozitif saptanmıştır [59]. Hem ET hem de PMF hastalarının %5-10 kadarında MPL mutasyonu görülürken hem JAK-2 hem de MPL negatif hasta grubunda CALR mutasyonu ve diğer klonal belirteçlerin araştırılması önerilir (TET2, ASXL1, EZH2, IDH1/2, SR3B1) [60].

Araştırmamızdaki 172 hastaya tanı sonrası sitoredüktif tedavi başlandığı görüldü. Sitoredüktif tedavi rejimi altındaki hastaların %92'si, tüm hastaların ise %53'ü hidroksiüre tedavisi ile takip edilmiştir. Bu sonuç BCR-ABL negatif klasik myeloproliferatif neoplazilerin sitoredüktif tedavisinde ilk seçenek olarak hidroksiüre kullanılmasıyla uyumludur [61]. Genç hasta (<40 yaş), gebelik ve hamilelik gibi özel durumlara ek hidroksiüre tedavisine direnç veya intolerans gösteren hastalarda anegralid, IFN ve ruksolitinib gibi diğer seçenekler düşünülebilir [62]. Çalışmamızda ET tanılı hastaların %3,36'sı anegralid tedavisi alırken, PV, PMF ve sınıflandırılmayan gruptan birer hasta sitoredüktif tedavi rejimi olarak ruksolitinib ile takip edilmekteydi. Bir faz 3 çalışması olan COMFORT-II'ye göre ruksolitinibin BCR-ABL negatif MPN'lerde konstitüsyonel semptomlar, splenomegali ve hatta kemik iliği fibrozisinde diğer sitoredüktif tedavi seçeneklerinden üstün olduğu gösterilmiştir [63]. Ülkemizde Aktimur ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 1987-2015 arası Ph-myeloproliferatif neoplazi tanısı alan ve ruksolitinib ile tedavi edilen hastalar retrospektif olarak incelendiğinde, tedavi ile hastalarda splenomegali ve konstitüsyonel semptomlarda anlamlı gerileme saptandığı görülmüştür [64].

Çalışmamızda hidroksiüre tedavisinin başlangıcından itibaren lökosit ve nötrofil değerlerinde 0-3 ve 0-6 ve 0-12. aylar arasında istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,001$) düşüş saptanırken 3-6,3-12 ve 6-12. aylar arasında anlamlı bir düşüş görülmedi. Hidroksiüre tedavisinin yapmış olduğu hematolojik supresyonun ilk ve en sık görülen etkisi nötropeni olmakla birlikte anemi ve trombositopeni daha nadir görülüp genellikle nötropeniden sonra ortaya çıkar [65]. Tedaviye ara vermek çoğunlukla myelosupresyonun ortadan kalkması için yeterlidir [65]. Hastalarda 0-3, 0-6 ve 0-12. aylarda nötrofil sayısında anlamlı düşüş

saptanmışken 3-6,3-12, 6-12. aylarda nötrofil sayısında anlamlı düşüş olmaması, tedavinin başlangıç aşamasında nötropeni etkisinin daha belirgin olduğunu gösterdi.

Hidroksiüre tedavisi altındaki hastalarda CRP, LDH ve PNI değerlerinde anlamlı bir düşüş saptanmadı. NLO'da ise 0-3 ($p=0,001$) ve 0-6.aylar ($p=0,01$) arasında anlamlı düşüş saptanırken, SIII de ise 0-3, 0-6 ve 0-12. aylar arasında daha yüksek güven aralığında değerlendirilebilecek bir anlamlı düşüş görüldü ($p<0,001$). SIII deki düşüş NLO'a göre daha anlamlı bulundu. Trombosit değerinin de değişken olarak dahil olduğu SIII düşüşünün NLO' a göre daha anlamlı bulunmasına rağmen diğer inflamatuvar göstergeler olan CRP ve LDH değerlerinin eşlik etmemesi; bu düşüşün myelosupresyondan mı yoksa hidroksiürenin inflamasyon üzerine olası etkisinden mi kaynaklandığını söylemek için sitokin çalışmalarını gerekli kılmaktadır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Kronik myeloproliferatif neoplazi hasta grubunda inflamatuvar mikroçevrenin kontrol edilmesi önemli tedavi amaçlarından biridir. Bu amaçla kullanılan oral JAK-2 inhibitörü olan ruxsoltibin kronik inflamasyon yolağını baskılaması sebebiyle gerek hastalığın progresyonuna gerekse konstitüsyonel semptomlara olumlu etkisi bilinmekle birlikte aynı farmakolojik etkiyi sağlayabilecek daha uygun maliyetli ve daha güvenli yan etki profiline sahip bir tedavi seçeneği oluşturmak önemlidir. Bu nedenle çalışmamızda kronik myeloproliferatif neoplazili hasta grubunda sitoredüktif tedavide ilk seçenek olan hidroksiürenin inflamasyon ile ilişkisi araştırılmıştır. İnflamatuvar göstergeler olarak nötrofil sayısı, CRP ve LDH gibi belirteçlerin yanında NLO, SIII ve PNI kullanılmıştır. Literatüre bakıldığında BCR-ABL negatif MPN’lerde inflamatuvar aktivasyonu gösteren çok sayıda çalışma mevcutken, inflamasyonun hidroksiüre tedavisi ile değişimi ve inflamatuvar indeksler üzerinden yorumlanmasına ait çalışma bulunamamıştır.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde tedavi sonrasında nötrofil sayısı, nötrofil/lenfosit oranı ve trombosit sayısının da dahil olduğu SIII de tedavinin başlangıcına göre anlamlı düşüşler saptanmıştır. Buna ek olarak NLO daki düşüş, NLO’nun trombosit sayısı ile çarpımı olan SIII deki düşüşe göre daha zayıf düzeyde anlamlılık göstermiştir. Çalışmamızda hidroksiüre ile takip edilen hasta grubunda belirtilen zaman aralıklarında CRP ve LDH düzeylerinde anlamlı bir gerileme saptanmamıştır.

Araştırmamızda sitoredüktif tedavi rejimi olarak hidroksiüre ile takip edilen hasta gruplarında nötrofil, lenfosit, NLO ve SIII’de anlamlı düşüşler saptanmış hatta içinde değişken olarak trombosit sayısının da bulunduğu SIII değişim NLO’a göre daha yüksek bir güven aralığında anlamlı bulunmuştur. Yine hidroksiüre tedavisi alan hastalarda CRP ve LDH ölçümlerine bakıldığında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Çalışmamızdaki sonuçlar literatürle birlikte değerlendirildiğinde elde edilen veriler; hidroksiüre tedavisi sonrası görülen bu inflamatuvar indekslerdeki düşüşlerin, sitopeni kaynaklı mı yoksa tedavinin inflamasyon üzerine olası baskılayıcı etkisi mi olduğunu söylemek için yetersizdir. Bu iki durum arasındaki ayrımı ortaya çıkarabilmek için indeksleri daha geniş hasta grubunda inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerdeki değişimleri de baz alarak değerlendirmenin daha doğru sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz. Hidroksiürenin inflamasyon üzerine anlamlı baskılayıcı etkisinin ortaya konulması başta OHA ve myeloproliferatif neoplaziler olmak üzere patofizyolojisinde inflamasyonun önemli rol oynadığı endikasyonlar için kullanımını

yaygınlaştıracaktır. Hidroksiüre tedavisinin myeloproliferatif neoplazili hasta grubunda inflamasyon üzerine olan etkisini araştırdığımız bu retrospektif çalışmada elde edilen verilerin ileriye yönelik yeni araştırmalara katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.



KAYNAKÇA

1. Spivak JL: Myeloproliferative Neoplasms. N Engl J Med 376 (22): 2168-2181, 2017.
2. Brian J. Chernak, Raajit K. Rampal, Chapter Three - Extramedullary hematopoiesis in myeloproliferative neoplasms: Pathophysiology and treatment strategies
3. Hultcrantz M, Björkholm M, Dickman PW, et al.: Risk for Arterial and Venous Thrombosis in Patients With Myeloproliferative Neoplasms: A Population-Based Cohort Study. Ann Intern Med 168 (5): 317-325, 2018
4. Vahap O. Kronik Myeloproliferatif Hastalıkların Sınıflandırılması. Türkiye Klinikleri J Hematol-Special Topics. 2013;6(2):1-3
5. Bahsi, Taha & Yiğenoğlu, Tuğçe. (2019). CALR, JAK2 and MPL Genes Mutations in Myeloproliferative Neoplasms, Single Center Experience. 52. 388-392. 10.5505/aot.2019.03521.
6. Atilla FD, Şahin F, Saydam G. Yaşlı Hastada Kronik Miyeloid Lösemi Dışı Kronik Miyeloproliferatif Hastalıklar. Nalçacı M, editör. Hematolojide Geriatrik Yaklaşım. Ankara:Türkiye Klinikleri; 2018.
7. Ferrari A, Carobbio A, Masciulli A, Ghirardi A, Finazzi G, De Stefano V, Vannucchi AM, Barbui T. Clinical outcomes under hydroxyurea treatment in polycythemia vera: a systematic review and meta-analysis. Haematologica. 2019 Dec;104(12):2391-2399. doi: 10.3324/haematol.2019.221234. Epub 2019 May 23. PMID: 31123026; PMCID: PMC6959178.
8. Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Griesshammer M et al. Ruxolitinib proves superior to best available therapy in a prospective, randomized, phase 3 study (RESPONSE) in patients with polycythemia vera resistant to or intolerant of hydroxyurea. EHA Annual Meeting 2014; LB2436.
9. Kapor S, Čokić V, Santibanez JF. Mechanisms of Hydroxyurea-Induced Cellular Senescence: An Oxidative Stress Connection? Oxid Med Cell Longev. 2021 Oct 18;2021:7753857. doi: 10.1155/2021/7753857. PMID: 34707779; PMCID: PMC8545575.
10. Nevitt SJ, Jones AP, Howard J. Hydroxyurea (hydroxycarbamide) for sickle cell disease. Cochrane Database Syst Rev. 2017 Apr 20;4(4):CD002202. doi: 10.1002/14651858.CD002202.pub2. Update in: Cochrane Database Syst Rev. 2022 Sep 1;9:CD002202. PMID: 28426137; PMCID: PMC6478259.,
11. Starmans-Kool MJ, Fickers MM, Pannebakker MA. An unwanted side effect of hydroxyurea in a patient with idiopathic myelofibrosis. Ann Hematol. 1995 May;70(5):279-80. doi: 10.1007/BF01784049. PMID: 7599291.
12. Lussana F, Rambaldi A. Inflammation and myeloproliferative neoplasms. J Autoimmun. 2017 Dec;85:58-63. doi: 10.1016/j.jaut.2017.06.010. Epub 2017 Jun 30. PMID: 28669446.
13. Heim D, Ebnöther M, Favre G. Chronische Myeloische Leukämie – Update 2020 [Chronic myeloid leukemia - update 2020]. Ther Umsch. 2019;76(9):503-509. German. doi: 10.1024/0040-5930/a001124. PMID: 32157969.

14. Cortes J, Pavlovsky C, Sauße S. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2021 Nov 20;398(10314):1914-1926. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01204-6. Epub 2021 Aug 20. PMID: 34425075.
15. Hughes TP, Hochhaus A, Branford S, Muller MC, Kaeda JS, Foroni L, Druker BJ, Guilhot F, Larson RA, O'Brien SG, Rudoltz MS, Mone M, Wehrle E, Modur V, Goldman JM, Radich JP, investigators I. Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS). *Blood* 2010;116:3758-3765.
16. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, Cervantes F, Clark RE, Cortes JE, Guilhot F, Hjorth-Hansen H, Hughes TP, Kantarjian HM, Kim DW, Larson RA, Lipton JH, Mahon FX, Martinelli G, Mayer J, Müller MC, Niederwieser D, Pane F, Radich JP, Rousselot P, Saglio G, Sauße S, Schiffer C, Silver R, Simonsson B, Steegmann JL, Goldman JM, Hehlmann R. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013 Aug 8;122(6):872-84. doi: 10.1182/blood-2013-05-501569. Epub 2013 Jun 26. PMID: 23803709; PMCID: PMC4915804.
17. Minciacchi VR, Kumar R, Krause DS. Chronic Myeloid Leukemia: A Model Disease of the Past, Present and Future. *Cells*. 2021 Jan 10;10(1):117. doi: 10.3390/cells10010117. PMID: 33435150; PMCID: PMC7827482.
18. Apperley JF. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2015 Apr 11;385(9976):1447-59. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62120-0. Epub 2014 Dec 5. PMID: 25484026.
19. Meier B, Burton JH. Myeloproliferative Disorders. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2017 Dec;31(6):1029-1044. doi: 10.1016/j.hoc.2017.08.007. PMID: 29078922.
20. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, Orazi A, Tefferi A. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer J*. 2018 Feb 9;8(2):15. doi: 10.1038/s41408-018-0054-y. PMID: 29426921; PMCID: PMC5807384.
21. Prchal J, Prchal J. Polycythemia vera. Chapter 86. In: Prchal JT, Kaushansky K, Lichtman MA, et al, editors. *Williams hematology*. 8th edition. New York: McGraw-Hill; 2010. p. 1223–36
22. Finazzi G. Risk stratification, staging, and treatment of patients with polycythemia vera: Italian and European collaboration on low-dose aspirin in polycythemia data. *Semin Thromb Hemost*. 2006 Apr;32(3):276-82. doi: 10.1055/s-2006-939439. PMID: 16673282.
23. Tefferi A, Pardanani A. Essential Thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2019 Nov 28;381(22):2135-2144. doi: 10.1056/NEJMcp1816082. PMID: 31774958.
24. Rokkam VR, Kotagiri R. Secondary Thrombocytosis. 2022 Aug 1. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 32809645.
25. Besses C, Alvarez-Larrán A. How to Treat Essential Thrombocythemia and Polycythemia Vera. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2016 Aug;16 Suppl:S114-23. doi: 10.1016/j.clml.2016.02.029. PMID: 27521307.
- 26.

27. Sever M, Newberry KJ, Verstovsek S. Therapeutic options for patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia refractory/resistant to hydroxyurea. *Leuk Lymphoma*. 2014 Dec;55(12):2685-90. doi: 10.3109/10428194.2014.893310. Epub 2014 Mar 17. PMID: 24524340; PMCID: PMC4835800.
28. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2021 Jan;96(1):145-162. doi: 10.1002/ajh.26050. Epub 2020 Dec 2. PMID: 33197049.
29. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, George G, Begna K, Schwager S, Van Dyke D, Hanson C, Wu W, Pardanani A, Cervantes F, Passamonti F, Tefferi A. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol* 2011;29:392-397.
30. Cervantes F, Mesa R, Barosi G. New and old treatment modalities in primary myelofibrosis. *Cancer J* 2007;13:377-383.
31. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Rumi E, Pereira A, Guglielmelli P, Pungolino E, Caramella M, Maffioli M, Pascutto C, Lazzarino M, Cazzola M, Tefferi A. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood* 2010;115:1703- 1708.
32. Genthon A, Killian M, Mertz P, Cathebras P, Gimenez De Mestral S, Guyotat D, Chalayer E. Les myélofibroses [Myelofibrosis: A review]. *Rev Med Interne*. 2021 Feb;42(2):101-109. French. doi: 10.1016/j.revmed.2020.08.018. Epub 2020 Nov 23. PMID: 33243417.
33. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines - Myeloproliferative Neoplasms Version 1.2017 https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/mpn.pdf
34. Musiałek MW, Rybaczek D. Hydroxyurea-The Good, the Bad and the Ugly. *Genes (Basel)*. 2021 Jul 19;12(7):1096. doi: 10.3390/genes12071096. PMID: 34356112; PMCID: PMC8304116.
35. McGann PT, Ware RE. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. *Expert Opin Drug Saf*. 2015;14(11):1749-58. doi: 10.1517/14740338.2015.1088827. Epub 2015 Sep 14. PMID: 26366626; PMCID: PMC5868345.
36. Cokic VP, Smith RD, Beleslin-Cokic BB, et al. Hydroxyurea induces fetal hemoglobin by the nitric oxide--dependent activation of soluble guanylyl cyclase. *J Clin Invest* 2003;111(2):231-9
37. Bridges KR, Barabino GD, Brugnara C, et al. A multiparameter analysis of sickle erythrocytes in patients undergoing hydroxyurea therapy. *Blood* 1996;88(12):4701-10
38. Huang, M.E.; Facca, C.; Fatmi, Z.; Baille, D.; Bénakli, S.; Vernis, L. DNA replication inhibitor hydroxyurea alters Fe-S centers by producing reactive oxygen species in vivo. *Sci. Rep*. 2016, 6, 29361.
39. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, Wilkins BS, van der Walt JD, Reilly JT, Grigg AP, Revell P, Woodcock BE, Green AR; United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005;353(1):33-45.

40. Randi ML, Ruzzon E, Tezza F, Luzzatto G, Fabris F. Toxicity and side effects of hydroxyurea used for primary thrombocythemia. *Platelets*. 2005 May-Jun;16(3-4):181-4. doi: 10.1080/09537100400020179. PMID: 16011962.
41. Multiple Skin Cancers Associated With Hydroxyurea Therapy. Best, Patricia J.M. et al. *Mayo Clinic Proceedings*, Volume 73, Issue 10, 961 – 963
42. Carolina Lanaro, Carla F. Franco-Penteado, Nicola Conran, Sara T.O. Saad, Fernando F. Costa; Anti-Inflammatory Effect of Hydroxyurea Therapy in Sickle Cell Disease.. *Blood* 2006; 108 (11): 3806.
43. Manshouri T., Estrov Z., Quintás-Cardama A., et al. Bone marrow stroma-secreted cytokines protect JAK2^{V617F}-mutated cells from the effects of a JAK2 inhibitor. *Cancer Research*. 2011;71(11):3831–3840. doi: 10.1158/0008-5472.can-10-4002.
44. Mendez Luque LF, Blackmon AL, Ramanathan G, Fleischman AG. Key Role of Inflammation in Myeloproliferative Neoplasms: Instigator of Disease Initiation, Progression, and Symptoms. *Curr Hematol Malig Rep*. 2019 Jun;14(3):145-153. doi: 10.1007/s11899-019-00508-w. PMID: 31119475; PMCID: PMC7746200.
45. Fisher DAC, Miner CA, Engle EK, Hu H, Collins TB, Zhou A, et al. Cytokine production in myelofibrosis exhibits differential responsiveness to JAK-STAT, MAP kinase, and NFkappaB signaling. *Leukemia*. 2019.
46. T. Klampfl, H. Gisslinger, A.S. Harutyunyan, H. Nivarthi, E. Rumi, J.D. Milosevic, et al., Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms, *N. Engl. J. Med.* 369 (2013) 2379e2390.
47. P.J. Campbell, L.M. Scott, G. Buck, K. Wheatley, C.L. East, J.T. Marsden, et al., Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study, *Lancet* 366 (2005) 1945e1953.
48. A.G. Fleischman, Inflammation as a driver of clonal evolution in myeloproliferative neoplasm, *Mediat. Inflamm.* 2015 (2015) 606819.
49. Ajayi S, Becker H, Reinhardt H, Engelhardt M, Zeiser R, von Bubnoff N, Wäsch R. Ruxolitinib. *Recent Results Cancer Res*. 2018;212:119-132. doi: 10.1007/978-3-319-91439-8_6. PMID: 30069628.
50. Bryan JC, Verstovsek S. Overcoming treatment challenges in myelofibrosis and polycythemia vera: the role of ruxolitinib. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016 Jun;77(6):1125-42. doi: 10.1007/s00280-016-3012-z. Epub 2016 Mar 26. PMID: 27017614; PMCID: PMC4882345.
51. Marahatta A, Ware RE. Hydroxyurea: Analytical techniques and quantitative analysis. *Blood Cells Mol Dis*. 2017 Sep;67:135-142. doi: 10.1016/j.bcmd.2017.08.009. Epub 2017 Aug 8. PMID: 28847416.
52. Krakoff IH, Brown NC, Reichard P. (1968) Inhibition of ribonucleotide diphosphate reductase by hydroxyurea. *Cancer Res* 28: 1559-1565

53. Mascarenhas J, Kosiorek HE, Prchal JT, Rambaldi A, Berenzon D, Yacoub A, Harrison CN, McMullin MF, Vannucchi AM, Ewing J, O'Connell CL, Kiladjian JJ, Mead AJ, Winton EF, Leibowitz DS, De Stefano V, Arcasoy MO, Kessler CM, Catchatourian R, Rondelli D, Silver RT, Bacigalupo A, Nagler A, Kremyanskaya M, Levine MF, Arango Ossa JE, McGovern E, Sandy L, Salama ME, Najfeld V, Tripodi J, Farnoud N, Penson AV, Weinberg RS, Price L, Goldberg JD, Barbui T, Marchioli R, Tognoni G, Rampal RK, Mesa RA, Dueck AC, Hoffman R. A randomized phase 3 trial of interferon- α vs hydroxyurea in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood*. 2022 May 12;139(19):2931-2941. doi: 10.1182/blood.2021012743. PMID: 35007321; PMCID: PMC9101248.
54. Navarra P, Grohmann U, Nocentini G, Tringali G, Puccetti P, Riccardi C, Preziosi P. Hydroxyurea induces the gene expression and synthesis of proinflammatory cytokines in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997 Jan;280(1):477-82. PMID: 8996231.
55. Laurance, Sandrine & Pellay, Francois-Xavier & Dossou-Yovo, Omer & Verger, Emmanuelle & Krishnamoorthy, Rajagopal & Lapoumeroulie, Claudine & Benecke, Arndt & Elion, Jacques. (2010). Hydroxycarbamide stimulates the production of proinflammatory cytokines by endothelial cells: Relevance to sickle cell disease. *Pharmacogenetics and genomics*. 20. 257-68. 10.1097/FPC.0b013e32833854d6.
56. Benkerrou M, Delarche C, Brahimi L, Fay M, Vilmer E, Elion J, Gougerot-Pocidalo MA, Elbim C. (2002) Hydroxyurea corrects the dysregulated L-selectin expression and increased H2O2 production of polymorphonuclear neutrophils from patients with sickle cell anemia. *Blood* 99: 2297-2303
57. Winterbourn CC, Vissers MCM, Kettle AJ. (2000) Myeloperoxidase. *Curr Opin Hematol* 7:53-58.
58. Shallis RM, Zeidan AM, Wang R, Podoltsev NA. Epidemiology of the Philadelphia Chromosome-Negative Classical Myeloproliferative Neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2021 Apr;35(2):177-189. doi: 10.1016/j.hoc.2020.11.005. Epub 2021 Jan 4. PMID: 33641862
59. Ania BJ, Suman VJ, Sobel JL, et al. Trends in the incidence polycythemia vera among Olmsted County, Minnesota residents. *Am J Hematol*. 1994;47:89-93.
60. James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythemia vera. *Nature*. 2005;434:1144-1148.
61. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ. Somatic CALR Mutations in Myeloproliferative Neoplasms with Nonmutated JAK2. *N Eng J Med*. 2013;369:2391-2405
62. Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, Spinelli O, Delaini F, Marchioli R, Borrelli G, Rambaldi A, Barbui T. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood* 2007;109:2310-2313.
63. Guidelines for the diagnosis, investigation and management of polycythaemia/ Erythrocytosis. British Committee for Standards in Haematology (2010). www.bcshguidelines.com/pdf/.
64. Cervantes F, Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Sirulnik A, Stalbovskaya V, et al. Three-year efficacy, safety, and survival findings from COMFORT-II, a phase 3 study comparing ruxolitinib with best available therapy for myelofibrosis. *Blood*. 122: 4047-4053, 2013.

65. Aktimur, S. (2016). The Impact of Jak1/Jak2 Inhibitor Ruxolitinib on the Spleen Size and Symptom Burden in Myeloproliferative Diseases. *International Journal of Hematology and Oncology*, 26(3), 153–158.
66. Ware RE. Hydroxycarbamide: clinical aspects. *C R Biol.* 2013 Mar;336(3):177-82. doi: 10.1016/j.crv.2012.09.006. Epub 2012 Nov 9. PMID: 23643402; PMCID: PMC4629816.

