

**Thrombotikus szövődmények vizsgálata essentiális
thrombocytaemiában és a főbb mutációk szerepének
értékelése**

Dr. Pósfai Éva

PhD értekezés tézisei

Témavezető: Prof. Dr. Borbényi Zita

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. számú
Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Haematológiai Osztály

SZEGED

2015.

A DISSZERTÁCIÓ TÉMÁJÁBAN KÖZLÉSRE ELFOGADOTT KÖZLEMÉNYEK

Posfai E, Marton I, Szoke A, Borbenyi Z, Vecsei L, Csomor A, Sas K: **Stroke in essential thrombocythemia**. J Neurol Sci 2014;336(1-2): 260-262. **IF 2.243**

Posfai E, Marton I, Kiss-Laszlo Z, Kotosz B, Szell M, Borbenyi Z: **Thrombosis and risk factors in female patients with a rare acquired thrombophilia: chronic myeloproliferative disorder - polycythaemia vera and essential thrombocythaemia**. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2014;18(24): 3810-3818. **IF 0.988**

Posfai E, Marton I, Kiraly PA, Kotosz B, Kiss-Laszlo Z, Szell M, Borbenyi Z: **JAK2 V617F, MPL, and CALR Mutations in Essential Thrombocythaemia and Major Thrombotic Complications: A Single-Institute Retrospective Analysis**. Pathol Oncol Res 2015. DOI 10.1007/s12253-014-9885-4. **IF 1.806**

Posfai E, Marton I, Balázs K, Borbenyi Z: **Contribution of cardiovascular risk factors in the thrombotic complications of essential thrombocythaemia: a Hungarian single-institute retrospective analysis**. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2015;19: 1258-1263. **IF 0.988**

Pósfai E, Marton I, Nemes A, Borbenyi Z: **Thromboticus események és az IPSET thrombosis rizikóbecslő pontrendszer jelentősége essentialis thrombocytaemiában**. Orv.Hetil 2015;156(14): 558–563. DOI: 10.1556/OH.2015.30117

A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBEN ELHANGZOTT ELŐADÁSOK ÉS POSZTEREK

Pósfai E, Marton I, Adamkovich N, Borbenyi Z.: **Rizikófaktorok szerepének vizsgálata essentialis thrombocytaemia thrombotikus szövődményeiben - Magyar Hematológiai és Transzfuziológiai Társaság XXV. Kongresszusa, 2015. Budapest - poszter -**

Pósfai E, Marton I, László Zs, Széll M, Borbenyi Z.: **JAK2 V617F, MPL and CALR mutations in essential thrombocythaemia and their clinicohaematological role - Euroregional conference for PHD students and young researchers in biomedicine, 2015. Timisoara**

Pósfai E, Marton I, László Zs, Széll M, Kotosz B, Borbenyi Z.: **Thrombotikus események előfordulásának vizsgálata essentialis thrombocytaemiás betegekben a szegedi hematológia centrumban - Magyar Thrombosis és Haemostasis Társaság XII. Kongresszusa, 2014. Szilvásvárad, METABOLIZMUS 12.évf. 4.szám.: pp.258-259. HU-ISSN 1589-7311**

Pósfai E, Marton I, László Zs, Széll M, Adamkovich N, Borbenyi Z.: **MPL mutációk JAK2 V617F negatív essentialis thrombocytaemiás betegekben - Magyar Hematológiai és Transzfuziológiai Társaság XXIV. Kongresszusa, 2013. Debrecen, HEMATOLÓGIA TRANSZFUZIOLÓGIA 46:(suppl.) pp. 96-97. ISSN: 0324-7309**

Pósfai E, Marton I, Széll M, László Zs, Borbenyi Z: **Risk-stratification of essential thrombocythemia patients for arterial, venous thromboses and for microcirculatory disturbances - XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, 2013. Amsterdam, Journal of Thrombosis and Haemostasis 2013, 11 Suppl 2:1-1322. ISSN 1538–7933, ISSN 1538–7933 page: 907 - poszter -**

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	1
2. CÉLKITŰZÉSEK	2
3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	3
3.1. A betegcsoport	3
3.2. Statisztikai módszerek	4
3.3. Laboratóriumi módszerek	6
4. EREDMÉNYEK	7
5. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	11
6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	14

1. BEVEZETÉS

Az essentialis thrombocythemia (ET) a Philadelphia kromoszóma negatív, krónikus myeloproliferatív megbetegedések csoportjába tartozó kórkép, melyre a csontvelői megakaryocyták hyperplasiája és thrombocytosis jellemző¹⁻⁴. A nemzetközi adatok alapján a betegek mortalitását és morbiditását elsősorban a thrombotikus szövődmények befolyásolják, melyek kockázatát 11-25% körülire becsülik⁴⁻⁷. Jelenleg a betegek alacsony és magas thrombosis rizikócsoporthoz szerinti elkülönítésére van lehetőség, mely mindössze két rizikófaktor megléte vagy hiánya alapján történik: a 60 évet meghaladó életkor, és az ET diagnózisát megelőző thrombotikus esemény előfordulása. Az irányelveknek megfelelően, ezen rizikó besorolás alapján a betegek thrombocytá-aggregáció gátló, illetve cytoereduktív kezelése javasolt^{4, 8, 9}.

Az elmúlt évek során az ET betegek kezelésében egyre jobban előtérbe került egy részletgazdagabb thrombosis rizikóhoz adaptált terápiás kezelési szemléletmód igénye. Ennek megfelelően jelenleg az egyik fontos klinikai kérdés az, hogy a thrombotikus események szempontjából milyen egyéb rizikótényezőket kellene figyelembe venni. Nagy esetszámú ET betegcsoport klinikai és laboratóriumi paramétereinek elemzése alapján az eddigi ismert két rizikófaktor mellett új rizikótényezők, pl. *JAK2 V617F*, *MPL*, *CALR* mutáció, leukocytosis, illetve a főbb cardiovascularis rizikófaktorok megfontolása jött szóba^{4, 5, 8, 10-18}. *Barbui és munkatársai* egy 2012-ben megjelent vizsgálatában a kor és az előzetes thrombotikus események szerepe mellett már a cardiovascularis rizikófaktorok (dohányzás, magas vérnyomás, diabetes mellitus) és a *JAK2 V617F* mutáció fontos szerepét írta le, amelyeket egy új thrombosis rizikóbecslő pontrendszerbe integrált. Az ún. IPSET-et (International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization–essential thrombocythemia) pontrendszer újdonsága már nem csak az, hogy új tényezőket épít be a rizikóbecslés rendszerébe, hanem, hogy a jelenleg is érvényben lévő kétlépcsős (alacsony és magas rizikó) besorolástól eltérően, három prognosztikus (alacsony, intermediér és magas) csoport megkülönböztetésére ad lehetőséget¹¹. Ugyanakkor egyes tényezők megítélése - például a diagnózis idején észlelt fehérvérsejt szám emelkedés, vagy a *JAK2 V617F*, *MPL*, *CALR* mutációk önmagukban vagy együttesen jelentenek-e thrombotikus kockázatot vagy csak az egyéb kockázati tényezőkkel együtt - még nem egyértelműen tisztázott kérdés az irodalmi adatok alapján^{4, 11, 19-24}.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A jelen PhD munka célja, hogy a Szegedi Tudományegyetem II. számú Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ Haematológiai Osztályán 1999-2014 között diagnosztizált retrospektív vizsgálati ET betegcsoport kialakítását követően, a betegpopuláció adatait figyelembe véve értékeljük, elemezzük:

- I. az ET betegek thrombotikus előzményeinek és a haematológiai diagnózist követő thrombotikus szövődményeinek az előfordulását;
- II. a haematológiai diagnózis idején észlelt fehérvérsejtszám jelentőségét egy későbbi thrombotikus szövődmény szempontjából;
- III. mutáció-analízis vizsgálatokat követően a *JAK2 V617F*, az *MPL (W515L, W515K, W515R, W515A és S505N)* és a *CALR* mutációk előfordulását, és azok klinikoheamatológiai szerepét;
- IV. a hematológiai diagnózis idején fennálló főbb cardiovascularis rizikófaktorok szerepét (hypertonia, hyperlipidaemia, diabetes mellitus, obesitás, dohányzás) egy későbbi thrombotikus szövődmény előfordulása szempontjából;
- V. külön kiemelve a cerebrovasculáris és cardiovascularis szövődményeket, arra keresve a választ, hogy vannak-e olyan klinikai és morfológiai eltérések ezen szövődmények esetén, melyek speciálisan jellemzőek lehetnek az ET betegségre;
- VI. a nemzetközi irodalomban viszonylag kevés külső validálási adattal rendelkező új prognosztikus rendszer, az IPSET-Score használhatóságát a betegek thrombosismentes túlélése szempontjából, magyarországi viszonylatban elsőként a szegedi ET betegcsoporton.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. A BETEGCSOPORT

A Szegedi Tudományegyetem II. számú Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ Haematológiai osztályán diagnosztizált ET betegek esetében tudományos kutatási céllal retrospektív adatbázis került létrehozásra. Első lépésben egy alap adatbázis (“*database 99-11*”), mely az 1999 és 2011 között diagnosztizált elérhető adatokkal rendelkező ET betegeket foglalja magába. A kutatás és az idő előrehaladtával ez az alap adatbázis kiegészítésre került, létrejött a “*database 99-14*”, mely már az 1999 és 2014. július között diagnosztizált ET betegeket foglalja magába.

A *database 99-11* alapján 101 ET beteg (72 nő; 29 férfi; átlagéletkor: 61 év; medián követési idő: 30,4 hónap) esetében volt lehetőség elemezni: a) a haematológiai diagnózis idején észlelt fehérvérsejtszám jelentőségét egy későbbi thrombotikus szövődmény előfordulása szempontjából, illetve b) a hematológiai diagnózis idején fennálló főbb cardiovascularis rizikófaktorok szerepét. A *JAK2 V617F*, az *MPL* és a *CALR* mutáció-analízis vizsgálatok, illetve a mutációk klinikoheamatológiai szerepének elemzése is ezen adatbázis adatait alapul véve történtek meg. Továbbá ez az adatbázis adott lehetőséget arra, hogy a thrombotikus komplikációk közül a cerebrovasculáris szövődmények részletes elemzésre kerülhessenek. A *database 99-11* kiegészítését követően, a *database 99-14* alapján már összesen 155 ET beteg (106 nő; 49 férfi; átlagéletkor: 61 év; medián követési idő: 27,9 hónap) esetében volt lehetőség részletesen bemutatni és elemezni a thrombotikus komplikációk közül a cardiovascularis szövődményeket, illetve a nemrégiben bemutatott új prognosztikus rendszer, az IPSET-Score használhatóságát a betegek thrombosis-mentes túlélése szempontjából.

A retrospektív vizsgálatokhoz szükséges klinikai adatok a MedSolution informatikai rendszerből és a betegek osztályos kórlapjaiból kerültek kigyűjtésre; a genetikai laboratóriumi vizsgálatokhoz szükséges DNS a Szegedi Tudományegyetem Orvosi Genetikai Intézet DNS bankjából volt hozzáférhető, melyek tudományos céllal történő további vizsgálatát a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ Regionális Humán Orvosbiológiai Kutatás-Értékelési Bizottsága jóváhagyta.

3.2. STATISZTIKAI MÓDSZEREK

A statisztikai vizsgálatok elvégzésekor a Statsoft Statistica v 9.1 (Statsoft) és a SPSS 20 szoftvert (IBM) használtuk. A statisztikai analízisek során statisztikailag szignifikáns eredmény 5%-os szignifikanciaszinten került megállapításra, illetve a betegpopuláció nagysága miatt a 10%-os szignifikanciaszinten kapott eredményeket is figyelembe vettük ²⁵.

A leukocytaszám szerepének elemzése egy későbbi thrombotikus komplikáció előfordulása szempontjából

A leukocytaszám (az ET hematológiai diagnózisa idején mért értékek) későbbi thrombotikus eseményekre gyakorolt lehetséges hatásainak ellenőrzésére először cut-off értéket határoztunk meg bináris logisztikus regresszió segítségével. Az optimumot az a regresszió jelentette, amely az előrejelzés során a legkiegyensúlyozottabban viselkedett. Thrombotikus szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező betegek esetében a vizsgált változók (a) a fentiek szerint meghatározott cut-off érték és (b) a leukocytosis (medián fehérvérsejtszám legalább 11,1 giga/L esetén), melyek teljes hatásának vizsgálatára Mann-Whitney tesztet, a thrombotikus események valószínűségének becslésére többváltozós bináris logisztikus regressziós modellt alkalmaztunk. A többváltozós bináris logisztikus regressziós modell ezen vizsgálat során kiegészítésre került a konvencionális rizikófaktorok (a 60 évet meghaladó életkor, az ET diagnózist megelőző thrombotikus esemény előfordulása), a *JAK2 V617F* mutáció és az alkalmazott terápia (hydroxyurea és aspirin) változókkal a leukocytaszám szerepének részletgazdagabb megítélése érdekében. A betegek thrombosis-mentes túlélését a fentiek szerint meghatározott cut-off érték és a leukocytosis figyelembevételével Kaplan-Meier görbék segítségével elemeztük, a csoportok túlélési rátái közötti különbséget log-rank teszttel vizsgáltuk ²⁵.

JAK2 V617F mutáció klinikoheamatológiai szerepének elemzése

A változók teljes hatásának vizsgálatára Mann-Whitney tesztet alkalmaztunk, a *JAK2 V617F* mutációval rendelkező és nem rendelkező betegek esetében. A vizsgált változók a következők voltak: (a) a haematológiai diagnózist követő összes thrombotikus szövődmény, és külön kiemelten vizsgálva a cardiovascularis (myocardiális infarctus), cerebrovasculáris (TIA or stroke) és a vénás thrombotikus események (mélyvénás thrombosis, pulmonális embolia); (b) kor; (c) a főbb klinikai jellemzők: a haematológiai diagnózis idején észlelt

medián fehérvérsejtszám; medián thrombocytaszám; medián hemoglobin érték; medián vörösvértest; hepatomegalia; splenomegalia és hepatosplenomegalia. A thrombotikus események valószínűségének becslésére többváltozós bináris logisztikus regressziós modellt alkalmaztunk. A betegek thrombosis-mentes túlélését Kaplan-Meier görbék segítségével elemeztük, a csoportok túlélési rátái közötti különbséget log-rank teszttel vizsgáltuk. A vizsgálat során 4 alcsoport került összehasonlításra: (a) *JAK2 V617F(+)* alacsony rizikócsoportba sorolt betegek; (b) *JAK2 V617F(+)* magas rizikócsoportba sorolt betegek; (c) *JAK2 V617F(-)* alacsony rizikócsoportba sorolt betegek; (d) *JAK2 V617F(-)* magas rizikócsoportba sorolt betegek²⁵.

Cardiovasculáris rizikófaktorok szerepének elemzése egy későbbi thrombotikus komplikáció előfordulása szempontjából

A változók teljes hatásának vizsgálatára Mann-Whitney tesztet, a thrombotikus események valószínűségének becslésére többváltozós bináris logisztikus regressziós modellt alkalmaztunk. A vizsgált főbb változók a következők voltak: (a) magasvérnyomás (> 140/80 mmHg), (b) hyperlipidaemia (hypercholesterolaemia és/vagy hypertriglyceridaemia), (c) dohányzás, (d) diabetes mellitus, (e) obesitás (BMI > 30 kg/m²), illetve (f) egy cardiovasculáris rizikófaktor és (g) egy vagy több cardiovasculáris rizikófaktor együttes jelenléte. A többváltozós bináris logisztikus regressziós modellbe ebben az esetben beépítésre kerültek a konvencionális rizikófaktorok (a 60 évet meghaladó életkor, az ET diagnózist megelőző thrombotikus esemény előfordulása), a *JAK2 V617F* mutáció és az alkalmazott terápia (hydroxyurea és aspirin) is, a cardiovasculáris rizikófaktorok részletgazdagabb szerepének megítélése érdekében. A betegek thrombosis-mentes túlélését Kaplan-Meier görbék segítségével elemeztük, a csoportok túlélési rátái közötti különbséget log-rank teszttel vizsgáltuk. Jelen esetben összehasonlításra került (a) cardiovasculáris rizikófaktorokkal nem rendelkező és a legalább egy cardiovasculáris rizikófaktorral rendelkező ET betegek, illetve (b) a legfeljebb egy cardiovasculáris rizikófaktorral rendelkező és kettő vagy több cardiovasculáris rizikófaktorral rendelkező betegek thrombosis-mentes túlélése.

A betegek thrombosis-mentes túlélésének vizsgálata IPSET alapján

Az IPSET pontrendszer többváltozós elemzéssel számított hazard arányok alapján eltérő súllyal veszi figyelembe a betegségben - a már ismert - a 60 évet meghaladó életkort, és az ET diagnózist megelőző, anamnesztikus thrombotikus esemény előfordulását és a cardiovasculáris (dohányzás, magasvérnyomás, diabetes mellitus), illetve *JAK2 V617F* mutáció jelenlétét. Ezek alapján az IPSET pontrendszerben 1-1 pontot jelent a 60 évet meghaladó életkor, illetve a cardiovasculáris rizikófaktorok megléte, míg 2-2 pontot jelent a haematológiai diagnózist megelőző thrombotikus esemény és a *JAK2 V617F* mutáció pozitivitása. Ezek alapján alacsony IPSET rizikócsoportba sorolandóak azon betegek, akik kevesebb, mint 2 ponttal rendelkeznek. Intermediér IPSET rizikócsoportba kerülnek a 2 ponttal, míg magas IPSET thrombotikus rizikócsoportba a 2-nél több ponttal rendelkező betegek ¹¹. A betegek thrombosis-mentes túlélése az egyes IPSET csoportok szerint Kaplan-Meier görbék segítségével került elemzésre és összehasonlításra, a csoportok túlélési rátái közötti különbség log-rank teszt segítségével került megállapításra.

3.3. LABORATÓRIUMI MÓDSZEREK

ET-ben jelenleg a *JAK2 V617F* mutáció vizsgálata allél-specifikus polimeráz lánreakcióval (PCR) ²⁶ a haematológiai diagnosztikus protokoll alapját képezi. Azon betegek mintái, akik a *JAK2 V617F* mutáció vizsgálatának diagnosztikai protokollba való bekerülése előtt kerültek diagnosztizálásra, utólagosan - pótlólagosan - kerültek összegyűjtésre és analízisre. Azon esetekben, ahol a *JAK2 V617F* mutáció jelenléte nem volt igazolható, *MPL* mutáció ²⁷ vizsgálat történt allél-specifikus PCR segítségével. Kontrollvizsgálatként a minták szekvenálása elvégzésre került (ABI PRISM 310, Applied Biosystems, Life Technologies). A *JAK2 V617F* mutációt nem hordozó rendelkezésre álló minták további vizsgálatakor fragmens-analízis során FAM-jelölt oligonukleotidokkal, illetve kétirányú Sanger szekvenálással (BigDye 3.1 Terminator szekvenáló kit) a CALR mutáció analízis is megtörtént.

4. EREDMÉNYEK

A leukocytaszám szerepének elemzése egy későbbi thrombotikus komplikáció előfordulása szempontjából

Az ET diagnózis idején mért leukocytaszám lehetséges előrejelző hatásának meghatározásához az optimális határértéknek (cut-off) a 9,15 giga/L érték bizonyult, amelynek előrejelző képessége mindkét betegcsoportban kiegyensúlyozott volt. A thrombotikus szövődménnyel rendelkező és nem rendelkező beteg alcsoportok összehasonlításakor - 9,15 giga/L határérték esetén - a teljes hatás vizsgálatára használt egyváltozós Mann–Whitney teszt és a többváltozós bináris logisztikus regresszió csak nem szignifikáns tendenciákat mutatott (Mann-Whitney teszt: $p=0,813$; többváltozós bináris logisztikus regresszió: relatív rizikó: 0,528, 95% CI 0,156-1,785; $p=0,304$). A leukocytosis szerepének meghatározásakor szintén nem szignifikáns eredmények voltak tapasztalhatóak (Mann-Whitney teszt: $p=0,525$; többváltozós bináris logisztikus regresszió: relatív rizikó: 0,325, 95% CI 0,071-1,487; $p=0,147$). A Kaplan-Meier görbék és az azokra alapozott log-rank (Mantel-Cox) teszt, melyekkel a thrombosis-mentes túlélést hasonlítottuk össze, nem mutattak szignifikáns eltérést sem a 9,15 giga/L ($p=0,728$), sem a medián 11,1 giga/L ($p=0,478$) leukocytaszám mellett.

A JAK2 V617F, MPL, CALR mutációk előfordulása és azok klinikoheamatológiai szerepe

A JAK2 V617F mutáció

A *JAK2 V617F* mutáció jelenléte 61 (60,39%) beteg esetében volt kimutatható. A mutációval rendelkező és nem rendelkező betegek összehasonlításakor első lépésben Mann-Whitney teszt került alkalmazásra. Szignifikáns különbséget nem mutattak az alábbi vizsgált változók a két összehasonlított beteg csoportban: (a) az összes thrombotikus komplikáció ($p=0,651$), illetve külön vizsgálva (b) a cardiovascularis thrombotikus komplikációk ($p=0,849$), (c) cerebrovasculáris komplikációk ($p=0,558$) és a (d) vénás események ($p=0,849$). Szignifikáns különbség volt megfigyelhető a 60 évet meghaladó életkor ($p=0,060$), a medián thrombocytaszám ($p=0,042$), a medián haemoglobin szint ($p=0,000$), a medián vörösvértest szám ($p=0,000$) és a medián haematocrit érték ($p=0,000$) esetében a *JAK2 V617F(+)* és a *JAK2 V617F(-)* csoportok összehasonlításakor. A haematológiai diagnózis idején mért medián fehérvérszám értékek összehasonlításakor szignifikáns különbség nem mutatkozott ($p=0,401$). Az ET haematológiai diagnózisa idején észlelt hepatomegalia előfordulása

szignifikáns különbséget mutatott a két vizsgálati csoport esetében ($p=0,045$), még a splenomegalia ($p=0,973$), illetve a hepatosplenomegalia ($p=0,383$) előfordulása a *JAK2 V617F(+)* csoport, valamint a *JAK2 V617F(-)* csoport esetében nem mutatott szignifikáns különbséget. A többváltozós bináris logisztikus regressziós elemzés során a thrombotikus események bekövetkezésének kockázatát az anamnesztikus ET diagnózisát megelőző thrombotikus esemény jelenléte szignifikánsan emelte (relatív rizikó: 2,876, 95% CI 0,847-9,774; $p=0,090$), ugyanakkor a *JAK2 V617F* mutáció jelenléte (relatív rizikó: 1,297, 95% CI 0,395-4,258; $p=0,668$) és a 60 évet meghaladó életkor (relatív rizikó: 0,981, 95% CI 0,316-3,048; $p=0,974$) nem emelte szignifikánsan.

A négy alcsoportba sorolt (a) *JAK2 V617F(+)* alacsony rizikójú betegek; (b) *JAK2 V617F(+)* magas rizikójú betegek; (c) *JAK2 V617F(-)* alacsony rizikójú betegek; (d) *JAK2 V617F(-)* magas rizikójú betegek thrombosis-mentes túlélése szignifikánsan nem különbözött ($p=0,548$)²⁸.

Az MPL és a CALR mutációk

Az *MPL W515L/K/R/A* és az *S505N* mutációk analízise során az *MPL W515L* mutáció jelenléte volt igazolható 4 beteg esetében. A *JAK2 V617F(-)*, az *MPL W515L(+)* és az *MPL W515L(-)* betegek klinikai jellemzői összehasonlításakor az *MPL W515L* mutáció jelenléte esetében nagyobb volt a női betegek aránya. Magasabb medián életkor (70 év), illetve magasabb haematológiai diagnózis idején mért medián thrombocytaszám (845,5 giga/L) volt észlelhető, mint a *JAK2 V617F(-)* és az *MPL W515L(-)* betegek (585 giga/L) esetében. A *JAK2 V617F(-)*, *MPL W515L(+)* betegek esetében kevesebb volt az észlelt thrombotikus események száma, mint a *JAK2 V617F(-)*, *MPL W515L(-)* betegek esetében²⁸.

A *CALR* mutáció vizsgálatakor a mutáció egy bizonyos típusát (c.1154_1155insTTGTC) 3 beteg esetében lehetett kimutatni. Összehasonlítva ezen mutációval rendelkező betegek klinikai paramétereit a *JAK2 V617F(-)*, az *MPL W515L(-)* és a *JAK2 V617F(-)*, az *MPL W515L(+)* betegekével, megfigyelhető volt a *CALR* mutációt hordozó betegek alacsonyabb medián életkora (49 év), illetve magasabb medián thrombocytaszáma (951 giga/L) a haematológiai diagnózis idején. Thrombotikus komplikáció ezen betegeknél a követési idő alatt nem került regisztrálásra²⁸.

Cardiovasculáris rizikófaktorok szerepe a thrombotikus komplikációk előfordulása szempontjából

A későbbi thrombotikus események bekövetkezése szempontjából - a vizsgált cardiovascularis rizikófaktorok közül - a magas vérnyomás (Mann-Whitney teszt: $p=0,092$; többváltozós bináris logisztikus regresszió: relatív rizikó: 2,174, 95% CI 0,531-8,899; $p=0,280$) és a hyperlipidaemia (Mann-Whitney teszt: $p=0,011$; többváltozós bináris logisztikus regresszió: relatív rizikó: 3,511, 95% CI 0,77-15,47; $p=0,097$) szerepe volt statisztikailag szignifikáns. A dohányzás (Mann-Whitney teszt: $p=0,545$; többváltozós bináris logisztikus regresszió: relatív rizikó: 0,971 95% CI 0,193-4,890; $p=0,971$), a diabetes mellitus (Mann-Whitney teszt: $p=0,965$; többváltozós bináris logisztikus regresszió: relatív rizikó: 0,735 95% CI 0,063-8,555; $p=0,806$) és az obezitás (Mann-Whitney teszt: $p=0,634$; többváltozós bináris logisztikus regresszió: relatív rizikó: 0,835, 95% CI 0,175-3,990; $p=0,821$) esetében szignifikáns különbségek nem voltak megfigyelhetőek sem 5%-os sem 10%-os szignifikanciaszinten. Ugyanakkor szignifikáns kockázati tényezőnek bizonyult bármely cardiovascularis rizikófaktor jelenléte (Mann-Whitney teszt: $p=0,096$), illetve kettő vagy több cardiovascularis rizikófaktor együttes jelenléte szintén szignifikánsan (Mann-Whitney teszt: $p=0,025$) emelte egy thrombotikus esemény bekövetkezésének kockázatát (többváltozós bináris logisztikus regresszió: relatív rizikó: 2,862, 95% CI 0,852-9,614 $p=0,089$). A betegek thrombosis-mentes túlélésének összehasonlításakor szignifikánsan különbözött (a) cardiovascularis rizikófaktorokkal nem rendelkező és a legalább egy cardiovascularis rizikófaktorral rendelkező ET betegek ($p=0,011$), illetve (b) a legfeljebb egy cardiovascularis rizikófaktorral rendelkező és kettő vagy több cardiovascularis rizikófaktorral rendelkező betegek ($p=0,002$) thrombosis-mentes túlélése ²⁹.

A cerebrovasculáris és cardiovascularis szövődmények

Cerebrovasculáris szövődmények

A 2012-ben elvégzett vizsgálatunk alapján stroke, TIA (transiens ischaemiás attack), illetve vertebrobasiláris insufficiencia lezajlása 4 férfi és 7 nő esetében volt igazolható. Az ET haematológiai diagnózisa idején mért medián thrombocytaszám ezen betegek esetében 658 giga/L [range: 514-1157 giga/L], még a cerebrovasculáris esemény lezajlása kezdetén 450 giga/L [range: 320-885 giga/L] medián thrombocytaszám volt megfigyelhető. A *JAK2 V617F* mutáció az összes fenti beteg esetében kimutatható volt. A fenti betegeknél dominálón TIA és minor stroke eseményeket észleltünk. Az esetek döntő többségében (8/11; 73%) képalkotó

eljárásokkal (koponya CT és/vagy MRI) periventricularis és/vagy subcorticalis és/vagy basalis ganglion területi lakunákat vagy infarctusokat, valamint összefolyó krónikus fehérállományi ischaemiás lesiókat észleltünk. Emellett gyakori volt a különböző fokú és súlyosságú atrophia (7/11; 64%). Négy esetben észleltünk nagyobb kiterjedésű infarktust, melyek az arteria cerebri media és az arteria cerebri posterior ellátási területében voltak megfigyelhetőek, illetve három esetben a hátsó határterületen. Két esetben maga a stroke esemény hívta fel a figyelmet a háttérben húzódó ET betegségre. Visszatérő stroke, illetve vertebrobasiláris insufficiencia az alkalmazott kezelések ellenére több beteg esetében megfigyelhető volt. Nem találtunk összefüggést a thrombocytaszám, a cerebrovasculáris komplikációk előfordulása és típusa között, bár ezen betegek esetében döntően domináltak a supratentoriális lacunáris infarctusok és a krónikus fehérállományi leziók. Fontos megjegyezni, hogy a betegek nagy része rendelkezett legalább kettő vagy több cardiovascularis rizikófaktorral, amelyek jelenléte feltételezhetően hatással volt a klinikai lefolyásra/kimenetelre és az agyi képalkotó eljárásokon látott morfológiai eltérésekre ³⁰. A betegek részletes ismertetését bemutató táblázat a disszertációban található.

Cardiovasculáris szövődmények

2014-ben elvégzett vizsgálatunk alapján myocardialis infarctus az ET haematológiai diagnózisát követően 3 férfi és 4 nő esetében volt igazolható. Az ET haematológiai diagnózisa idején mért medián thrombocytaszám ezen betegek esetében 647 giga/L [range: 562-732 giga/L], még a cardiovascularis eseménykor 630 giga/L [range: 346-1190 giga/L] medián thrombocytaszám volt megfigyelhető. A *JAK2 V617F* mutáció jelenléte 4 esetben (57,1%) igazolódott. A fenti betegek esetében, a haematológiai diagnózist követően - egy eset kivételével - 12 hónapon belül jelentkezett a cardiovascularis szövődmény. A coronaria-angiográfiás eredmények alapján 4 esetben ST-elevációs myocardialis infarctus (1 subacut STEMI, 2 anterior STEMI és 1 inferior STEMI), 3 esetben ST-elevációval nem járó myocardialis infarctus (NSTEMI) igazolódott. Recurrens myocardialis infarctus az adott betegek esetében a követési idő alatt nem volt észlelhető. A betegek nagyrésze (85.7%) rendelkezett legalább egy cardiovascularis rizikófaktorral. Nem találtunk összefüggést a thrombocytaszám és a cardiovascularis komplikációk között. A betegek részletes ismertetését bemutató táblázat a disszertációban található.

A betegek thrombosis-mentes túlélése IPSET alapján

Az IPSET thrombosis rizikóbecslő pontrendszer alapján a vizsgált betegpopulációból alacsony IPSET rizikócsoportha 26 fő (16,8%), intermedier IPSET rizikócsoportha 36 fő (23,2%), míg magas IPSET rizikócsoportha 93 fő (60,0%) került besorolásra. A főbb klinikohaematologiai paraméterek megoszlását és az egyes alcsoportokba sorolt betegek bemutatását a disszertációban foglalt táblázat mutatja be. A betegek thrombosis-mentes túlélési görbéi az egyes IPSET rizikócsoporthokban szignifikáns különbséget mutattak ($p=0,002$)³¹.

5. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

- I. *Thrombotikus szövődmények:* Az ET betegek mortalitását és morbiditását elsősorban a betegség során előforduló thrombotikus szövődmények befolyásolják, melyek kockázata a nemzetközi adatok alapján 11-25% körülire becsülhető⁴⁻⁷. A thrombotikus szövődmények - jelen betegpopuláció 1999-2014 közötti retrospektív vizsgálata során – 14,83%-os előfordulást mutattak, melyek esetében a nemzetközi irodalom adatait alátámasztva az artériás oldalt (80%) érintő thrombotikus események száma magasabb volt, mint a vénás oldalt érintő (20%).

- II. *Leukocytaszám:* A nemzetközi irodalmi adatok alapján a haematológiai diagnózis idején mért leukocytaszám, leukocytosis feltételezett összefüggése egy későbbi thrombotikus szövődmény szempontjából erősen vitatott^{19, 20, 32-35}. Jelen betegpopuláción végzett vizsgálatok alapján szignifikáns összefüggés nem volt kimutatható. Jelen vizsgálat eredményei és egyéb nemzetközi centrumok eredményeit figyelembe véve feltételezhető, hogy az ET diagnózisa idején mért leukocytaszám nem elég szenzitív marker egy későbbi thrombotikus esemény bekövetkezésének a megítélése szempontjából.

- III. *JAK2 V617F, MPL és CALR mutációk:* A JAK2 V617F mutáció szerepe a thrombotikus szövődményekben feltételezett, ugyanakkor önálló szignifikáns hatása még nem tisztázott egyértelműen²⁴. Jelen vizsgálatban a thrombotikus események valószínűségének becslésére alkalmazott modell relatív rizikó értéke, habár jelezte a mutáció enyhe mértékben thrombosis emelő hatását, ugyanakkor szignifikáns

mértékben nem volt megerősíthető. A medián thrombocytaszám, haemoglobin szint, vörösvértest szám, haematocrit érték és a haematológiai diagnózis idején észlelt hepatomegáliás esetek száma szignifikánsan különbözőséget mutatott a *JAK2 V617F(+)* és a *JAK2 V617F(-)* csoportok összehasonlításakor. A *JAK2 V617F* mutációt nem hordozó esetek további vizsgálata során a vizsgált MPL mutációk közül 4 esetben az *MPL W515L*, még a *CALR* mutáció egy bizonyos típusának jelenléte 3 esetben került kimutatásra. Az *MPL W515L* mutáció jelenléte esetében magasabb haematológiai diagnózis idején mért medián thrombocytaszám volt észlelhető, és kevesebb volt a thrombotikus események száma, mint a *JAK2 V617F(-)* és az *MPL W515L(-)* betegeknél.

A *CALR* mutáció esetében - összehasonlítva ezen mutációval rendelkező betegek klinikai paramétereit - szintén magasabb medián thrombocytaszám volt észlelhető a *JAK2 V617F(-)*, az *MPL W515L(-)* és a *JAK2 V617F(-)*, *MPL W515L(+)* betegek értékeihez viszonyítottan, még thrombotikus komplikáció a *CALR(+)* betegeknél a követési idő alatt nem került regisztrálásra.

- IV. *Cardiovascularis rizikófaktorok*: Szignifikáns kockázati tényezőnek bizonyult bármely egy cardiovascularis rizikófaktor (magasvérnyomás, hyperlipidaemia, diabetes mellitus, obesitás, dohányzás) jelenléte, illetve kettő vagy több cardiovascularis rizikófaktor együttes megléte a haematológiai diagnózis idején. Egy későbbi thrombotikus esemény bekövetkezése szempontjából - külön értékelve az egyes vizsgált cardiovascularis rizikófaktorok szerepét - jelen betegpopulációban a magas vérnyomás és a hyperlipidaemia szerepe emelhető ki. A betegek thrombosis-mentes túlélésének vizsgálata során szignifikáns különbség volt megfigyelhető cardiovascularis rizikófaktorokkal nem rendelkező és a legalább egy cardiovascularis rizikófaktorral rendelkező ET betegek, illetve a legfeljebb egy cardiovascularis rizikófaktorral rendelkező és kettő vagy több cardiovascularis rizikófaktorral rendelkező betegek thrombosis-mentes túlélése között. Ezen eredmények felhívják a figyelmet arra, és megerősítik más kutatócsoportok eredményeit ^{4, 11, 13, 36, 37}, hogy az egyénre szabott rizikó adaptált kezeléshez a cardiovascularis rizikófaktorok értékelése és figyelembe vétele is fontos szempont.

- V. *Cerebrovasculáris és cardiovascularis szövődmények*: Nem találtunk összefüggést a haematológiai diagnózis, illetve a thrombotikus esemény idején észlelt thrombocytaszám és a cerebro/cardiovasculáris komplikációk között. Érdekesség, hogy a cardiovascularis szövődmények döntő többsége 12 hónapon belül volt megfigyelhető a haematológiai diagnózist követően, még ez a tendencia cerebrovasculáris szövődmények esetében nem volt megfigyelhető. Ugyanakkor több esetben maga a thrombotikus szövődmény hívta fel a figyelmet a háttérben húzódó haematológiai betegsége. További érdekesség, hogy recurrens myocardiális infarctus az adott betegek esetében a követési időtartam alatt nem volt észlelhető. Ugyanakkor a cerebrovasculáris szövődményekkel rendelkező betegek esetében recurrens stroke, illetve vertebrobasiláris insufficiencia az alkalmazott kezelések ellenére több beteg esetében megfigyelhető volt.
- VI. *IPSET Score*: Elsőként vizsgáltuk az IPSET modell alkalmazhatóságát egy magyar haematológiai centrum ET-s betegpopulációja esetén. Az általunk végzett vizsgálatban a betegek thrombosis-mentes túlélése szignifikánsan különbözött az IPSET thrombosis rizikóbecslő pontrendszer használata mellett. Jelenleg csak kevés centrum eredményeit ismerjük, így további vizsgálatok szükségesek a pontrendszer klinikai jelentőségének tisztázására. Az, hogy a mindennapi gyakorlatban a betegek szempontjából az IPSET thrombosis rizikóbecslő pontrendszernek milyen előnyei lehetnek, mely IPSET csoportok esetében szükséges cytoreduktív kezelés, és származik-e a betegnek ebből előnye, további prospektív kutatások elvégzését igényli. Minezek ellenére eredményeink felvetik annak a lehetőségét, hogy ez a pontrendszer több információval szolgálhat a konvencionális thrombosis rizikóbecsléshez képest.

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet és nagyrabecsülésemet fejezem ki témavezetőmnek, Prof. Dr. Borbényi Zita egyetemi tanárnak, aki nagy szakmai tudásával folyamatosan támogatta kísérletes és elméleti kutatómunkám, valamint a PhD disszertációm elkészülését.

Köszönet illeti Dr. Marton Imelda doktornőt, amiért értékes tanácsaival segítette tevékenységem és támogatott munkám elkészülésében. Köszönetemet fejezem ki a hematológiai osztályon dolgozó munkatársaknak is. Köszönöm Prof. Dr. Széll Márta és Dr. László Zsuzsanna segítségét, illetve köszönettel tartozom az Országos Vérellátó Szolgálatnak, a Molekuláris Diagnosztikai Laboratóriumnak és a Semmelweis Egyetem I. Sz. Patológiai Intézetének, akik molekuláris vizsgálataink kivitelezésében nyújtottak segítséget. A munka során a cerebrovasculáris és cardiovascularis szövődmények elemzésében nélkülözhetetlen szakmai konzultáció során köszönöm a segítségét Dr. Sas Katalin doktornőnek és Dr. Nemes Attilának. A megfelelő statisztikai tesztek kiválasztásában és az eredmények validálásában, értékelésében nagyban segítette a munkám statisztikusunk, Dr. Kotosz Balázs közreműködése.

Köszönet illeti a családomat, a szüleimet, de erre nincsenek megfelelő szavak.

A TÉZISBEN FELHASZNÁLT IRODALMAK JEGYZÉKE

1. Barbui T, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Boveri E, Ruggeri M, Rodeghiero F, d'Amore ES, Randi ML, Bertozzi I, et al. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. *J Clin Oncol* 2011, 29:3179-3184.
2. Chim CS, Kwong YL, Lie AK, Ma SK, Chan CC, Wong LG, Kho BC, Lee HK, Sim JP, Chan CH, et al. Long-term outcome of 231 patients with essential thrombocythemia: prognostic factors for thrombosis, bleeding, myelofibrosis, and leukemia. *Arch Intern Med* 2005, 165:2651-2658.
3. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008, 22:14-22.
4. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2013, 88:507-516.
5. Falanga A, Marchetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012, 2012:571-581.
6. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2012, 87:285-293.
7. Hermanns B, Handt S, Kindler J, Fuzesi L. Coronary vasculopathy in polycythemia vera. *Pathol Oncol Res* 1998, 4:37-39.
8. Barbui T, Barosi G, Grossi A, Gugliotta L, Liberato LN, Marchetti M, Mazzucconi MG, Rodeghiero F, Tura S. Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 2004, 89:215-232.
9. Lehoczky D, ed. *Hematológiai betegségek korszerű kezelése - A Magyar Transzfuziológiai és Hematológiai Szakmai Kollégium és a Tudományos Társaság kezelési irányelvei* Budapest: Zafir Press; 2011, 750.
10. Birgegard G. Pharmacological management of essential thrombocythemia. *Expert Opin Pharmacother* 2013, 14:1295-1306.
11. Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood* 2012, 120:5128-5133; quiz 5252.
12. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, Hehlmann R, Hoffman R, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2011, 29:761-770.
13. Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, Vannucchi AM, Antonioli E, et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood* 2011, 117:5857-5859.
14. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *American Journal of Hematology* 2012, 87:284-293.
15. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin Thromb Hemost* 2007, 33:313-320.
16. Tefferi A, Barbui T. Personalized management of essential thrombocythemia-application of recent evidence to clinical practice. *Leukemia* 2013.
17. Lee HS, Park LC, Lee EM, Lee SJ, Shin SH, Im H, Do KM, Kim EJ, Ye BJ, Song MK, et al. Incidence rates and risk factors for vascular events in patients with essential thrombocythemia: a multicenter study from Korea. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2012, 12:70-75.
18. Andrikovics H, Meggyesi N, Szilvasi A, Tamaska J, Halm G, Lueff S, Nahajevszky S, Egyed M, Varkonyi J, Mikala G, et al. HFE C282Y mutation as a genetic modifier influencing disease susceptibility for chronic myeloproliferative disease. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009, 18:929-934.
19. Palandri F, Polverelli N, Catani L, Ottaviani E, Baccarani M, Vianelli N. Impact of leukocytosis on thrombotic risk and survival in 532 patients with essential thrombocythemia: a retrospective study. *Ann Hematol* 2011, 90:933-938.
20. Gangat N, Wolanskyj AP, Schwager SM, Hanson CA, Tefferi A. Leukocytosis at diagnosis and the risk of subsequent thrombosis in patients with low-risk essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Cancer* 2009, 115:5740-5745.
21. Tefferi A. Leukocytosis as a risk factor for thrombosis in myeloproliferative neoplasms-biologically plausible but clinically uncertain. *Am J Hematol* 2010, 85:93-94.
22. Barbui T, Carobbio A, Rambaldi A, Finazzi G. Perspectives on thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: is leukocytosis a causative factor? *Blood* 2009, 114:759-763.
23. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2014, 123:3714-3719.
24. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2015 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2015, 90:162-173.
25. AB.Hill, ed. *A short textbook of medical statistics*. London: Hodder and Stoughton; 1984: 170.
26. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, Vassiliou GS, Bench AJ, Boyd EM, Curtin N, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005, 365:1054-1061.
27. Bergamaschi GM, Primignani M, Barosi G, Fabris FM, Villani L, Reati R, Dell'era A, Mannucci PM. MPL and JAK2 exon 12 mutations in patients with the Budd-Chiari syndrome or extrahepatic portal vein obstruction. *Blood* 2008, 111:4418.
28. Posfai E, Marton I, Kiraly PA, Kotosz B, Kiss-Laszlo Z, Szell M, Borbenyi Z. JAK2 V617F, MPL, and CALR Mutations in Essential Thrombocythaemia and Major Thrombotic Complications: A Single-Institute Retrospective Analysis. *Pathol Oncol Res* 2015.
29. Posfai E MI, Balázs K, Borbényi Z. Contribution of cardiovascular risk factors in the thrombotic complications of essential thrombocythaemia: a Hungarian single-institute retrospective analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015:1258-1263
30. Posfai E, Marton I, Szoke A, Borbenyi Z, Vecsei L, Csomor A, Sas K. Stroke in essential thrombocythemia. *J Neurol Sci* 2014, 336:260-262.

31. Posfai E, Marton I, Nemes A, Borbenyi Z. [Thrombotic events and importance of IPSET thrombosis risk evaluation score in essential thrombocythaemia]. *Orv Hetil* 2015, 156:558-563.
32. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Delaini F, Guerini V, Ruggeri M, Rodeghiero F, Rambaldi A, et al. Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood* 2008, 112:3135-3137.
33. Passamonti F, Rumi E, Pascutto C, Cazzola M, Lazzarino M. Increase in leukocyte count over time predicts thrombosis in patients with low-risk essential thrombocythemia. *J Thromb Haemost* 2009, 7:1587-1589.
34. Campbell PJ, MacLean C, Beer PA, Buck G, Wheatley K, Kiladjian JJ, Forsyth C, Harrison CN, Green AR. Correlation of blood counts with vascular complications in essential thrombocythemia: analysis of the prospective PT1 cohort. *Blood* 2012, 120:1409-1411.
35. Montanaro M, Latagliata R, Cedrone M, Spadea A, Rago A, Di Giandomenico J, Spirito F, Porrini R, De Muro M, Leonetti SC, et al. Thrombosis and survival in essential thrombocythemia: a regional study of 1,144 patients. *Am J Hematol* 2014, 89:542-546.
36. Fu R, Xuan M, Zhang L, Li H, Sun T, Zhang D, Zhang X, Lyu C, Xue F, Liu X, et al. [Clinical characteristics and risk factors for major thrombosis in 604 Chinese patients with low-risk essential thrombocythemia]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi* 2014, 35:785-790.
37. Lekovic D, Gotic M, Milic N, Miljic P, Mitrovic M, Cokic V, Elezovic I. The importance of cardiovascular risk factors for thrombosis prediction in patients with essential thrombocythemia. *Med Oncol* 2014, 31:231.