



UNIVERZITET U NOVOM SADU

MEDICINSKI FAKULTET



**JAK2V617F MUTACIJA I NASTANAK  
TROMBOZNIH KOMPLIKACIJA KOD  
BOLESNIKA SA ESENCIJALNOM  
TROMBOCITEMIJOM  
DOKTORSKA DISERTACIJA**

Mentori:

prof. dr Ivana Urošević

prof. dr Biljana Vučković

Kandidat:

dr Marina Dokić

Novi Sad, 2022. godine

## ZAHVALNOST

*Dragim mentorima, profesorki Ivani Urošević i profesorki Biljani Vučković na strpljenju, podršci i savetima tokom izrade disertacije.*

*Dragim članovima kolektiva sa Klinike za hematologiju i Centra za laboratorijsku medicinu na pomoći i podršci tokom izvođenja teze.*

*Svojoj porodici na razumevanju i ljubavi.*

*Veseli na bezuslovnoj pomoći, onda kad mi je ona bila najpotrebnija.*

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА<sup>1</sup>

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Марина Докић
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	Ивана Урошевић, редовни професор, Медицински факултет у Новом Саду, Интерна медицина, Хематологија, Клиника за хематологију, Универзитетски клинички центар Војводине Биљана Вучковић, ванредни професор, Медицински факултет у Новом Саду, Патолошка физиологија и лабораторијска медицина, Центар за лабораторијску медицину, Универзитетски клинички центар Војводине
Наслов рада:	„ ЈАК2V617F мутација и настанак тромбозних компликација код болесника са есенцијалном тромбоцитемијом,,
Језик публикације (писмо):	Српски језик - латиница
Физички опис рада:	Унети број: Страница : 122 Поглавља: 7 Референци: 205 Табела: 29 Слика: 9 Графикона: 3 Прилога/
Научна област:	Медицинске науке
Ужа научна област (научна дисциплина):	Хематологија
Кључне речи / предметна одредница:	есенцијална тромбоцитемија + компликације; тромбозе; фактори ризика; Janus kinaza2 + генетика; мутација; хиперлиппротеинемије; шећерна болест; хипертензија; ћелије крви; тромбофилија
Резиме на језику рада:	<b>УВОД:</b> Тромбозне компликације представљају један од водећих узрока морбидитета и морталитета код оболелих од есенцијалне тромбоцитемије. Артеријске тромбозе доминирају по учесталости у односу на венске. До сада најчешће испитивани фактори ризика који утичу на настанак тромбозних компликација су старост, историја тромбоза, ЈАК2V617F мутација, кардиоваскуларни фактори ризика, ћелије крви и маркери тромбофилије. Значај ЈАК2V617F мутације у настанку тромбозних компликација у популацији оболелих од есенцијалне тромбоцитемије је варијабилан у односу на резултате

<sup>1</sup> Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штапане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штапаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

досадашњих студија.

**ЦИЉЕВИ.** Утврдити учесталост тромбозних компликација код болесника са есенцијалном тромбоцитемијом и присутном ЈАК2V617F мутацијом у односу на болеснике код којих мутација није доказана, као и учесталост врсте тромбозних догађаја код ЈАК2V617F позитивних болесника. Проценити повезаност клиничких фактора ризика и лабораторијских параметара са настанком тромбозних компликација код болесника са есенцијалном тромбоцитемијом код којих је присутна ЈАК2V617F мутација.

**МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.** Истраживање је спроведено ретроспективно-проспективно, у периоду од 2016.-2021. године у Клиници за хематологију и Центру за лабораторијску медицину, Клиничког центра Војводине и обухватило је 95 болесника који се лече од есенцијалне тромбоцитемије, подељених у две групе у односу на присуство/одсуство ЈАК2V617F мутације. Свим болесницима је узимана детаљна анамнеза, након чега су попуњавали упитник који се односио на факторе ризика (пушење, хиперлипипропротеинемију, хипертензију, шећерну болест и терапију коморбидитета) за настанак тромбозних компликација и претходне тромбозе. Потом им је узоркована крв за предвиђене лабораторијске анализе (седиментација еритроцита, комплетна крвна слика са тромбоцитним параметрима, биохемијске анализе, електрофореза серумских протеина, липидни статус, липопротеин А, хемостазни механизми и маркери тромбофилије (протеин Ц, протеин С, антитромбин, резистенција на активисани протеин Ц, антикардиолипинска антитела класе имуноглобулина М и имуноглобулина Г, анти-бета2-гликопротеин антитела класе имуноглобулина М и имуноглобулина Г, лупусни антикоагуланс и молекуларне анализе на присуство фактора V Leiden мутације, мутације у гену за синтезу протромбина G20210A и мутације метилен тетрахидрофолат редуктазе)). Сви тромбозни догађаји су подељени у три категорије: на претходне тромбозе, тромбозе при дијагнози и тромбозе настале у периоду праћења и лечења болесника. Статистичка обрада је извршена уз помоћ статистичког пакета IBM SPSS Statistics, верзија 26.0.

**РЕЗУЛТАТИ.** Тромбозни догађаји верификовани су код 26 (28.4%) оболелих од есенцијалне тромбоцитемије у обе групе. Артеријске тромбозе су верификоване код 19 (20%) болесника, док су венске тромбозе забележене код 10 (10.5%) болесника са есенцијалном тромбоцитемијом. Разлике у учесталости појаве тромбозних догађаја код болесника са присутном ЈАК2V617F мутацијом и код болесника без мутације, могу се уочити у случају свих тромбозних догађаја ( $p < 0.05$ ), свих венских тромбозних догађаја ( $p < 0.05$ ) и претходних тромбоза ( $p < 0.05$ ). У нашим резултатима није се доказала статистички значајност у поређењу учесталости јављања артеријских и венских тромбозних догађаја у испитиваној групи ЈАК2V617F позитивних болесника ( $p > 0.05$ ), као ни у контролној групи ЈАК2V617F негативних болесника са есенцијалном тромбоцитемијом ( $p > 0.05$ ). Испитивани клинички фактор ризика (хиперлипипропротеинемија) значајно је доприносио настанку тромбоза при постављању дијагнозе, и то артеријских, код ЈАК2V617F позитивних болесника. Клинички фактори ризика (хипертензија и шећерна болест) значајно су доприносили настанку тромбоза, при постављању дијагнозе болести, и то артеријских, код ЈАК2V617F негативних болесника. Од испитиваних лабораторијских параметара, хипертриглицидемија је доприносила настанку тромбозних догађаја при постављању дијагнозе болести независно од присуства/одсуства ЈАК2V617F мутације, док је хиперхолестеролемија (повишене вредности нонХДЛ холестерола) доприносила настанку артеријских тромбозних

	<p>догађаја при постављању дијагнозе болести независно од присуства/одсуства JAK2V617F мутације. У испитиваној и контролној групи није било лабораторијских параметара који су доприносили испољавању тромбоза током лечења, као и испољавању артеријских и венских тромбоза током лечења.</p> <p><b>ЗАКЉУЧАК.</b> Присуство JAK2V617F мутације, значајно доприноси настанку тромбозних компликација код оболелих од есенцијалне тромбоцитеније. Кардиоваскуларни фактори ризика као и лабораторијски утврђена хиперлиппротеинемичија, доприносе настанку тромбоза, и то артеријских, у моменту постављања дијагнозе код болесника са есенцијалном тромбоцитенијом. Одређивање лабораторијских анализа као што су број леукоцита, број тромбоцита, генетских мутација за наследну тромбофилију и других маркера тромбофилије, није се показало значајним у настанку тромбозних компликација током праћења оболелих од есенцијалне тромбоцитеније.</p>
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	10.09.2019.
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	
Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	
Напомена:	

**UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OR CENTER**

**KEY WORD DOCUMENTATION<sup>2</sup>**

Document type:	Monograph documentation
Author:	Marina Dokić, MD
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Prof. Ivana Urošević, MD, PhD - Assistant Professor at the Faculty of Medicine Novi Sad, University of Novi Sad, Clinic of Hematology, University Clinical Center of Vojvodina  Prof. Biljana Vučković, MD, PhD - Assistant Professor at the Faculty of Medicine Novi Sad, University of Novi Sad, Center of Laboratory Medicine, University Clinical Center of Vojvodina
Thesis title:	JAK2V617F mutation and thrombotic complications in patients with essential thrombocythaemia
Language of text (script):	Serbian language (latin script)
Physical description:	Number of: Pages 122 Chapters 7 References 205 Tables 29 Illustrations 9 Graphs 3 Appendices /
Scientific field:	Medical sciences
Scientific subfield (scientific discipline):	Hematology
Subject, Key words:	Thrombocytopenia, Essential + complications; Thrombosis; Risk Factors; Janus Kinase 2 + genetics; Mutation; Hyperlipoproteinemias; Diabetes Mellitus; Hypertension; Blood Cells; Thrombophilia
Abstract in English language:	<b>INTRODUCTION.</b> Trombotic complications are one of the leading causes of morbidity and mortality in patients with essential thrombocythaemia. When we compare arterial and venous thrombosis, arterial thrombosis are more frequent. The most investigated risk factors for thrombosis are age, history of thrombosis, JAK2V617F mutation, cardiovascular risk factors, blood cells and markers of thrombophilia. To the present day, role of JAK2V167F mutation in patogenesis of thrombosis in patients with essential thrombocythaemia is variable. <b>AIMS OF THE STUDY.</b> Investigate frequency of thrombotic complications in patients with essential thrombocythaemia who had detected JAK2V617F mutation and compare with the frequency of thrombotic complications in

<sup>2</sup> The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

56 – Statement on the authority,

5b – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5r – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty and are not included into the printed thesis.

patient with essential thrombocythaemia who had not detected JAK2V617F mutation. Investigate frequency of different type thrombosis, arterial and venous, in JAK2V617F positive patients with essential thrombocythaemia. Examine correlations clinical risk factors and laboratory parameters with occurrence of thrombotic complications in JAK2V617F positive patients with essential thrombocythaemia.

**MATERIAL AND METHODS.** Research was retrospective-prospective, in period between 2016-2021, situated in Clinic of Hematology and in Center of Laboratory Medicine in Clinical Center of Vojvodina. In research participate 95 patients with ET, who were divided into two groups according to presence or absence of JAK2V617F mutation. All patients were required to fill anamnesis and questionnaire which included data about risk factors (smoking, hyperlipoproteinaemia, hypertension, diabetes and treatment of comorbidity) for occurrence thrombotic complications and history of thrombosis. After this part, blood was sampled from all patients for laboratory analysis (ESR, CBC with platelets parameters, biochemical analysis, electrophoresis serum proteins, lipid status, lipoprotein A, hemostasis mechanism and markers of thrombophilia (protein C, protein S, antithrombin, resistance of activated protein C, anticardiolipin antibodies IgM, IgG, antitbetaglycoproteins antibodies IgM, IgG, lupus anticoagulants and molecular analysis with PCR method for determining factor V Leiden, prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase)). All thrombotic incidents are divided into three groups: historic thrombosis, thrombosis at diagnosis and thrombosis during follow up. Statistical analyses were performed by IBM SPSS Statistics, Version 26.0.

**RESULTS:** Thrombotic complications were registered in 26 (28.4%) patients with essential thrombocythaemia in both cohorts together. Arterial thrombosis was verified in 19 (20%) patients and venous thrombosis in 10 (10.5%) patients with essential thrombocythamia.

All thrombotic complications, all venous thrombotic complications and historical venous thrombosis are more frequent in JAK2V617F positive patients with essential thrombocythaemia in comparison with JAK2V617F negative patients ( $<0.05$ ). We did not confirm differences in frequency in arterial and venous thrombotic events in JAK2V617F positive patients ( $>0.05$ ), neither in JAK2V617F negative patients with essential thrombocythaemia ( $>0.05$ ). In analysis of cardiovascular risk factors (hypertension, hyperlipoproteinaemia, diabetes, smoking and presence at least on cardiovascular risk factor), hyperlipoproteinaemia was contributed to the occurrence of all thrombosis at diagnosis, especially arterial thrombosis in JAK2V617F mutation positive patients with essential thrombocythaemia. Hypertension and diabetes were contributed to the occurrence of all thrombosis at diagnosis, especially arterial thrombosis in JAK2V617F negative patients with essential thrombocythaemia. In analysis of laboratory parameters, hypertriglicidaemia positively correlated with occurrence of all thrombosis at diagnosis, regardless of presence JAK2V617F mutation. Hypercholesterolaemia (elevated nonHDL cholesterol) contributed occurrence of arterial thrombosis at diagnosis regardless of presence JAK2V617F mutation. There is no laboratory parameters that positively correlated with occurrence any thrombosis during follow up in patients with essential thrombocythaemia.

**CONCLUSIONS:** JAK2V617F mutation has important role in occurrence of thrombotic complications. Cardiovascular risk factors and laboratory finding of hyperlipoproteinaemia significantly affect on occurrence of thrombotic complications, especially arterial at diagnosis in patients with essential thrombocythaemia. Role of laboratory analysis such as count of white blood cells, count of platelets, genetic mutations for inherited thrombophilia and

	other markers of thrombophilia, do not have role in occurrence of thrombotic complications during follow up in patients with essential thrombocythaemia.
Accepted on Scientific Board on:	10.09.2019.
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	
Note:	



## SADRŽAJ:

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Esencijalna trombocitemija .....	1
1.1.1. Definicija .....	1
1.1.2. Istorijat .....	1
1.1.3. Epidemiologija .....	1
1.1.4. Klinička slika .....	2
1.1.5. Dijagnoza .....	2
1.1.6. Diferencijalna dijagnoza .....	4
1.1.7. Tromboembolijske komplikacije kod obolelih od ET.....	4
1.2. Molekularska regulacija mijelopoeze, JAK/STAT signalni put i JAK2 mutacije .....	6
1.2.1. Molekulaka regulacija mijelopoeze i JAK/STAT signalni put .....	6
1.2.2. JAK2V617F mutacija .....	9
1.2.3. Kvantifikacija mutacije V617F kod bolesnika sa Filadelfija negativnim mijeloproliferativnim neoplazmama .....	11
1.3. Patogeneza tromboznih događaja u esencijanoj trombocitemiji .....	11
1.3.1. Trombociti .....	12
1.3.2. Eritrociti .....	13
1.3.3. Leukociti .....	14
1.3.4. Endotelne ćelije .....	14
1.3.5. Angiogeneza.....	15
1.4. Faktori rizika za nastanak tromboznih komplikacija kod obolelih od ET .....	16
1.4.1. Životno doba .....	16
1.4.2. Prethodne tromboze .....	17
1.4.3. JAK2V617F i ostale mutacije .....	17
1.4.3.1. JAK2V617F mutacije .....	17
1.4.3.2. MPL mutacija .....	18
1.4.3.3. CALR mutacija .....	18
1.4.3.4. „Triple negative“ bolesnici .....	18
1.4.3.5. „Nefenotipske drajver mutacije“ .....	18
1.4.4. Kardiovaskularni faktori rizika .....	19
1.4.5. Broj ćelija u krvi .....	19
1.4.6. Marker trombofilije .....	20
1.4.6.1. Protein C, protein S, rezistencija na aktivisani	

protein (APC-R) i antitrombin .....	20
1.4.6.2. Faktor V Leiden mutacija, mutacija u genu za sintezu protrombina G20210A .....	20
1.4.6.3. D-dimer .....	22
1.4.6.4. Antifosfolipidna antitela .....	22
1.4.7. Mutacija gena za enzim metilen tetrahidrofolat reduktazu .....	23
1.5. JAK2V617F mutacija i protrombozni kliničko-laboratorijski fenotip.....	24
1.5.1. JAK2V617F mutacija i klinički fenotip obolelih od ET .....	24
1.5.2. JAK2V617F i laboratorijski fenotip obolelih od ET .....	24
1.6. Stratifikacija obolelih od ET na osnovu rizika za trombozu .....	26
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE.....</b>	<b>29</b>
2.1. Ciljevi istraživanja .....	29
2.2. Hipoteze istraživanja .....	29
<b>3. ISPITANICI I METODE .....</b>	<b>30</b>
3.1. Ispitivana i kontrolna grupa .....	30
3.2. Metode ispitivanja .....	31
3.2.1. Upitnik o prethodnim trombozama, faktorima rizika za nastanak tromboza, mikrocirkulatornim poremećajima i modalitetu lečenja ET .....	32
3.2.2. Uzorkovanje krvi za laboratorijske analize.....	33
3.2.3. Statistička obrada podataka .....	35
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>37</b>
4.1. Demografski podaci ispitivane i kontrolne grupe .....	37
4.2. Trombozni događaji, vrsta i lokalizacija .....	38
4.2.1. Učestalost tromboznih događaja u ispitivanoj i kontrolnoj grupi .....	39
4.2.2. Lokalizacija tromboznih događaja .....	40
4.2.3. Razlike u učestalosti vrsta tromboznih događaja kod obolelih od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom .....	43
4.2.4. Razlike u učestalosti vrsta tromboznih događaja kod obolelih od ET bez prisutne JAK2V617F mutacije .....	44
4.3. Učestalost kliničkih faktora rizika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi .....	45
4.3.1. Prethodni trombozni događaji i starost kao standardni faktori rizika za trombozu kod obolelih od ET.....	45
4.3.2. Kardiovaskularni faktori rizika za trombozu kod obolelih od ET .....	45
4.4. Povezanost tromboznih događaja sa ispitivanim kliničkim parametrima .....	46
4.4.1. Povezanost ispitivanih kliničkih parametara kod obolelih od ET	

sa prisutnom JAK2V617F mutacijom .....	46
4.4.2. Povezanost ispitivanih kliničkih parametara kod obolelih od ET bez JAK2V617F mutacije.....	47
4.5. Laboratorijski parametri kod obolelih od ET sa prisutnom i bez JAK2V617F mutacije ...	48
4.6. Povezanost tromboznih događaja sa ispitivanim laboratorijskim parametrima .....	56
<b>5. DISKUSIJA .....</b>	<b>82</b>
5.1. Demografske karakteristike ispitivane i kontrolne grupe .....	84
5.2. Učestalost, vrsta i lokalizacija tromboznih događaja .....	85
5.3. Učestalost i povezanost kliničkih faktora rizika sa tromboznim događajima kod obolelih od ET .....	89
5.4. Laboratorijske karakteristike (fenotip) kod obolelih od ET u odnosu na JAK2V617F mutaciju .....	91
5.5. Povezanost tromboznih događaja sa ispitivanim laboratorijskim parametrima u odnosu na JAK2 mutaciju .....	95
5.6. Nedostaci istraživanja .....	99
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>101</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>103</b>

# **1. UVOD**

## **1.1. ESENCIJALNA TROMBOCITEMIJA**

### **1.1.1. DEFINICIJA**

Esencijalna trombocitemija (ET) je Filadelfija hromozom (Ph) negativna hronična mijeloproliferativna maligna bolest (MPB), koja se karakteriše nekontrolisanom proliferacijom diferentovanih ćelija krvi u koštanoj srži. Fenotip esencijalne trombocitemije određen je klonskom proliferacijom dominantne vrste ćelija-trombocita [1].

### **1.1.2. ISTORIJAT**

Esencijalna trombocitemija je prvi put opisana kao „hemoragijska trombocitemija“ 1934. godine od strane Epstein i Goedel-a koji su je definisali kao „permanetno trostruko povećanje broja trombocita u odnosu na normalne vrednosti, hiperplaziju megakariocita i sklonost ka venskoj trombozi i spontanim krvarenjima“. Tek 1960. godine, Ozer i Gunz su definisali esencijalnu trombocitemiju, kao nezavisni klinički entitet. Poslednjih 40 godina, posvećeno je razumevanju ET, patogenezi nastanka bolesti, kliničkim karakteristikama bolesti i faktorima rizika koji utiču na pojavu bolesti i komplikacije, primeni dijagnostičkih testova, pronalasku različitih modaliteta lečenja i prognozi ishoda lečenja [2].

### **1.1.3. EPIDEMIOLOGIJA**

Incidencija nastanka esencijalne trombocitemije je 1,2-3,0 bolesnika na 100.000 stanovnika godišnje [3]. Medijana starosti bolesnika pri postavljanju dijagnoze je 58 godina (18-96 godina) i češće se javlja kod žena (67%) [3].

Medijana preživljavanja bolesnika sa ET je 20 godina, kod bolesnika starijih od 60 godina, odnosno 33 godine kod bolesnika mlađih od 60 godina [4]. Na dužinu životnog veka utiču trombozne komplikacije koje se javljaju kako na početku same bolesti, tako i u kasnijem kliničkom toku [5], transformacija u akutnu leukemiju i druge mijeloproliferativne bolesti (policitemiju rubru veru i mijelofibrozu) [4].

#### 1.1.4. KLINIČKA SLIKA

Trećina bolesnika je asimptomatična pri postavljanju dijagnoze esencijalne trombocitemije. Bolest počinje postepeno i nekada se otkriva slučajnim pregledom broja trombocita, najčešće kod bolesnika mlađe životne dobi. Kod bolesnika koji imaju simptome, oni su porekla poremećaja cirkulacije, tromboze ili krvarenja i često ove komplikacije budu prvi znak postojanja bolesti. Konstitucionalni (opšti) simptomi se pojavljuju u oko 20-30% pacijenata. Najčešće uključuju pojačano znojenje, blago povišenu telesnu temperature i svrab kože. Gubitak u telesnoj masi ne javlja se često [6]. Krvarenje je danas vrlo redak početni simptom javljanja bolesti. Javlja se kod bolesnika koji imaju velik broj trombocita (preko  $1500 \times 10^9/l$ ) i u većini slučajeva se javlja krvarenje u koži ili sluznicama, ali mogu biti zahvaćeni i drugi organi, poput očiju, desni, zglobova i mozga [6,7,8]. Krvarenja po težini ne spadaju u teška krvarenja i vrlo retko zahtevaju transfuzije. Osim gore pomenutih prezentacija ET, u fizikalnom nalazu kod obolelih, splenomegalija je prisutna u oko 17-50% [3,6].

#### 1.1.5. DIJAGNOZA

Dijagnoza esencijalne trombocitemije se postavlja na osnovu važećih kriterijuma Svetske zdravstvene organizacije iz 2016. godine:

Glavni kriterijumi:

- a) Održavanje broja trombocita  $\geq 450 \times 10^9/l$ ,
- b) Patohistološki nalaz biopsije koštane srži koji pokazuje proliferaciju prevashodno megakariocitne loze sa povećanim brojem velikih, zrelih i hiperlobuliranih megakariocita, bez ili sa blagom granulocitnom hiperplazijom, uz odsustvo fibroze ili retko minimalnom fibrozom stepena 1
- c) Odsustvo kriterijuma za policitemiju rubru veru, primarnu mijelofibrozu, hroničnu mijeloidnu leukemiju, mijelodisplastični sindrom ili druge mijeloidne maligne neoplazme prema SZO iz 2016. godine.
- d) Prisustvo JAK2V617F mutacije ili drugog klonalnog markera (kalretikulin gena - CALR ili trombopoetin receptor gena - MPL).

Drugi kriterijumi:

- a) Prisustvo drugog klonalnog markera ili odsustvo dokaza za reaktivnu

trombocitozu.

Za potvrdu dijagnoze potrebna su sva četiri glavna kriterijuma ili tri glavna i jedan drugi kriterijum [9].

Revizijom mijeloproliferativnih neoplazmi SZO iz 2016. godine, jasno su definisani entiteti esencijalne trombocitemije i prefibrotičnog stadijuma mijelofibroze, iako postoje značajna preklapanja u kliničkim, patohistološkim i molekularnim karakteristikama obe bolesti (slika 1).

<b>ESENCIJALNA TROMBOCITEMIJA</b>	<b>PREFIBROTIČNA/RANA FAZA MIJELOFIBROZE</b>
Za postavljanje dijagnoze neophodni su svi glavni kriterijumi ili prva tri glavna i drugi kriterijum	Za postavljanje dijagnoze neophodni su svi glavni kriterijumi i najmanje jedan drugi kriterijum
<b>Glavni kriterijumi:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Održavanje broja trombocita <math>&gt; 450 \times 10^9/l</math>,</li><li>- Patohistološki nalaz biopsije koštane srži koji pokazuje proliferaciju prevashodno megakariocitne loze sa povećanim brojem velikih, zrelih i hiperlobulisanih megakariocita, bez ili sa blagom granulocitnom hiperplazijom, uz odsustvo fibroze ili retko minimalnom fibrozom stepena 1</li><li>- Odsustvo kriterijuma za policitemiju rubru veru, primarnu mijelofibrozu, hroničnu mijeloidnu leukemiju, mijelodisplastični sindrom ili druge mijeloidne maligne neoplazme prema SZO iz 2016. godine.</li><li>- Prisustvo JAK2V617F mutacije ili drugog klonalnog markera (kalretikulin gena - CALR ili trombopoetin receptor gena - MPL).</li></ul> <b>Drugi kriterijumi:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>-Prisustvo drugog klonalnog markera ili odsustvo dokaza za reaktivnu trombocitozu</li></ul>	<b>Glavni kriterijumi:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Megakariocitna proliferacija i atipija, bez retikulinske fibroze <math>&gt; gr 1</math>, praćena povećanom celularnošću koštne srži, granulocitnom proliferacijom i u većini slučajeva smanjenom eritropoezom</li><li>- Odsustvo kriterijuma za bcr-abl 1 pozitivnu hroničnu mijeloidnu leukemiju, policitemiju rubru veru, esencijalnu trombocitemiju, mijelodisplastični sindrom ili druge mijeloidne maligne neoplazme</li><li>- Prisustvo JAK2V617F, CALR ili MPL mutacije ili prisustvo drugog klonskog markera ili reaktivna fibroza retikulina u kostnoj srži</li></ul> <b>Drugi kriterijumi:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>-Anemija koja nije uzrokovana ostalim bolestima</li><li>- Leukocitoza (<math>\geq 11\ 000/mm^3</math>)</li><li>- Palpabilna splenomegalija</li><li>- LDH iznad gornje granice</li></ul>

***Slika 1. Dijagnostički kriterijumi za ET i prefibrozni/rani stadijum mijelofibroze prema SZO iz 2016. godine***

### **1.1.6. DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA**

Diferencijalna dijagnoza ET se odnosi na druge hematološke bolesti sa klonskom proliferacijom trombocita (mijeloproliferativne neoplazme, mijelodisplazni sindrom, POEMS (paraneoplastični sindrom koji karakteriše poliradikuloneuropatija (P), organomegalija (O), endokrinopatija (E), klonski poremećaj plazma ćelija (M) i promene na koži (S)) i familijarnu trombocitozu) i sekundarne (reaktivne) trombocitoze [10]. U retrospektivnoj studiji koja je uključivala 801 hospitalno lečenog pacijenta sa trombocitozom, primarna trombocitoza (u mijeloproliferativnih neoplazmi) je dokazana kod 5,2% bolesnika; sekundarna trombocitoza (drugi uzroci) je dokazana kod infekcija (47,9%), trauma ili postoperativnih stanja (24,5%) i kod sideropenijske anemije (7,4%) [11]. Studija koja je uključivala 305 ispitanika kojima je verifikovana ekstremna trombocitoza (trombociti preko  $1000 \times 10^9/l$  u dva uzastopna merenja u periodu od 30 dana), takođe je potvrdila najčešće uzroke reaktivnih trombocitoza (hirurške komplikacije, splenektomija, infekcije i deficit gvožđa) [12].

Druga stanja u kojima vidamo reaktivne trombocitoze su maligniteti, hemoliza eritrocita i primena lekova [10]. Od lekova zbog kojih se može javiti reaktivna trombocitoza navode se niskomolekularni heparin, transretinoična kiselina, antibiotici, klozapin, epinefrin, gemcitabin i vinka alkaloidi [13].

### **1.1.7. TROMBOEMBOLIJSKE KOMPLIKACIJE KOD OBOLELIH OD ET**

Trombozne komplikacije u obolelih od ET su česte. Prema jednoj studiji koja je obrađivala registar obolelih od MPN, dobijeni su rezultati da se trombozne komplikacije javljaju u oko više od 30% bolesnika tokom praćenja i lečenja bolesti [14]. Incidencija tromboznih događaja pri dijagnozi ET kreće se od 9,7 do 29,4%, dok je incidencija nastalih tromboza tokom daljeg praćenja i lečenja od 8% do 30,75% [15]. Kumulativna godišnja stopa tromboza u ET je oko 2-4% [16,17], dok je su fatalni trombozni događaji zabeleženi u oko 2,5% bolesnika [16]. Arterijske tromboze dominiraju po učestalosti u odnosu na venske, i do 3 puta su češće [18].

Klinička slika arterijskih tromboza zavisi od organa u kojem su nastale. Arterijske tromboze u krvnim sudovima mozga daju različite manifestacije, od kliničke slike tranzitorne ishemije do cerebrovaskularnog inzulata; u krvnim sudovima srca manifestuju se kao nestabilna angina pektoris ili infarkt miokarda; u mezenterijalnim krvnim sudovima tromboza daje kliničku sliku akutnog

abdomena; u perifernim arterijama ekstremiteta daju kliničku sliku intermitentnih klaudikacija ili nekroze i gangrene prstiju i stopala nogu. Venske tromboze najčešće zahvataju duboke vene, a lokalizacije su različite i prate ih simptomi vezani za poremećaje venske cirkulacije u pogođenim organima i regijama. Najčešće lokalizacije su duboke vene donjih i gornjih ekstremiteta, ali karakteristično je da se kod obolelih od ET javljaju i atipične lokalizacije kao što su zahvatanje vena splahnhične regije, cerebralnih vena i sinusa [7]. Incidencija atipičnih tromboza je značajno veća kod obolelih od MPN u odnosu na opštu populaciju i javlja se kod 1-10% u ovoj populaciji bolesnika [18]. Takođe, 5-70% bolesnika sa dijagnostikovanom trombozom vena splahnhične regije ima podležuću MPN [19].

Poremećaji u mikrocirkulaciji su česte pojave u bolesnika sa ET i javljaju se u oko 40% svih obolelih. Simptomi porekla poremećaja mikrocirkulacije su rekurentne glavobolje, poremećaji vida i sluha, Rejnoov fenomen, eritromelalgija i periferne parestezije.

Kod žena obolelih od ET veća je učestalost spontanih pobačaja u prvom trimestru trudnoće, što se objašnjava stvaranjem trombova u malim krvnim sudovima posteljice [7,8].

<b>ARTERIJSKE TROMBOZE</b>	<b>VENSKE TROMBOZE</b>	<b>MIKROCIRKULATORNI POREMEĆAJI</b>
Infarkt miokarda	Duboke venske tromboze ruku i nogu	Eritromelalgija
Nestabilna angina pectoris	Tromboembolija pluća	Konvulzije
Tranzitorni ishemijski atak	Venske tromboze neuobičajene lokalizacije (splanhnična venska tromboza, tromboza cerebralnih vena i sinusa)	Migrena
Ishemijski moždani udar	Površinske venske tromboze	Vrtoglavica
Akutni periferni i visceralni tromboembolizam		Zujanje u ušima
		Ispadi u vidnom polju
		Privremeni gubitak vida na jednom ili oba oka

*Slika 2. Spektar tromboznih komplikacija kod obolelih od PV i ET [20]*

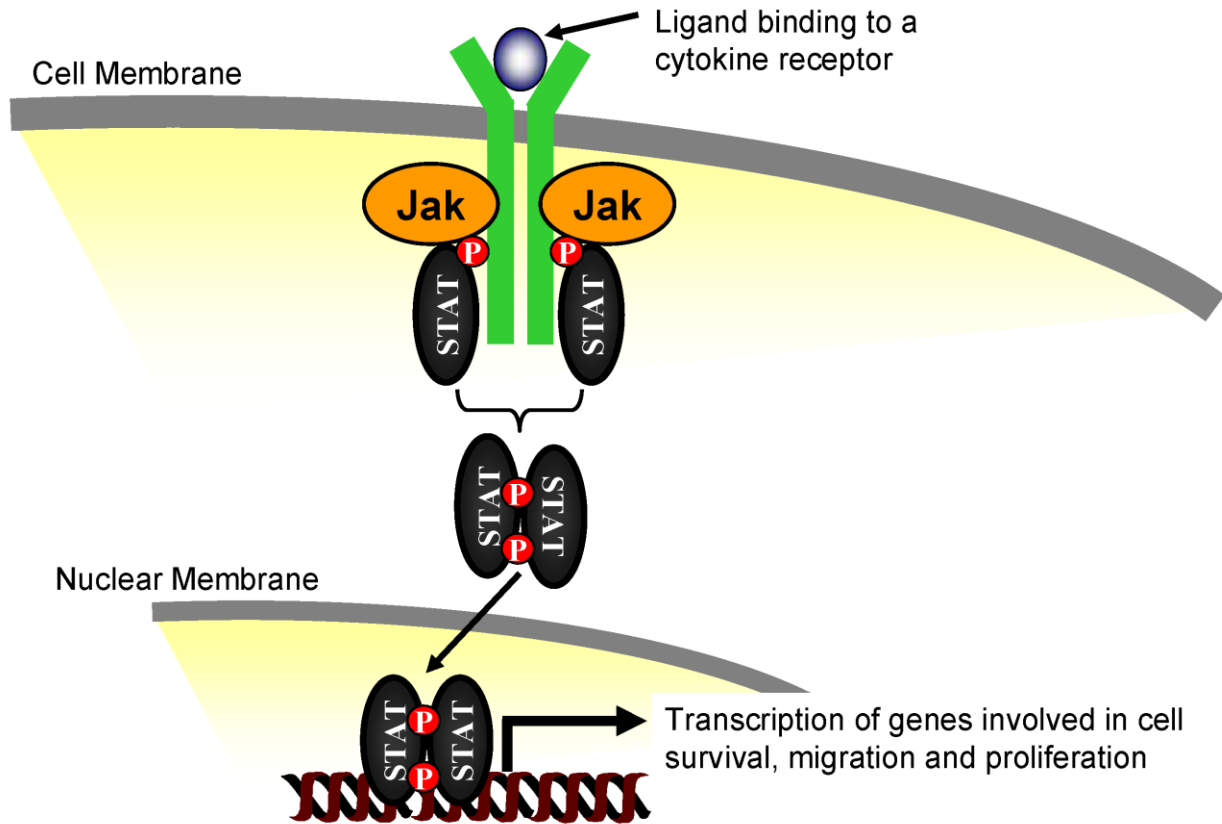


## **1.2. MOLEKULSKA REGULACIJA MIJELOPOEZE, JAK/STAT SIGNALNI PUT I JAK2 MUTACIJE**

### **1.2.1. MOLEKULSKA REGULACIJA MIJELOPOEZE I JAK/STAT SIGNALNI PUT**

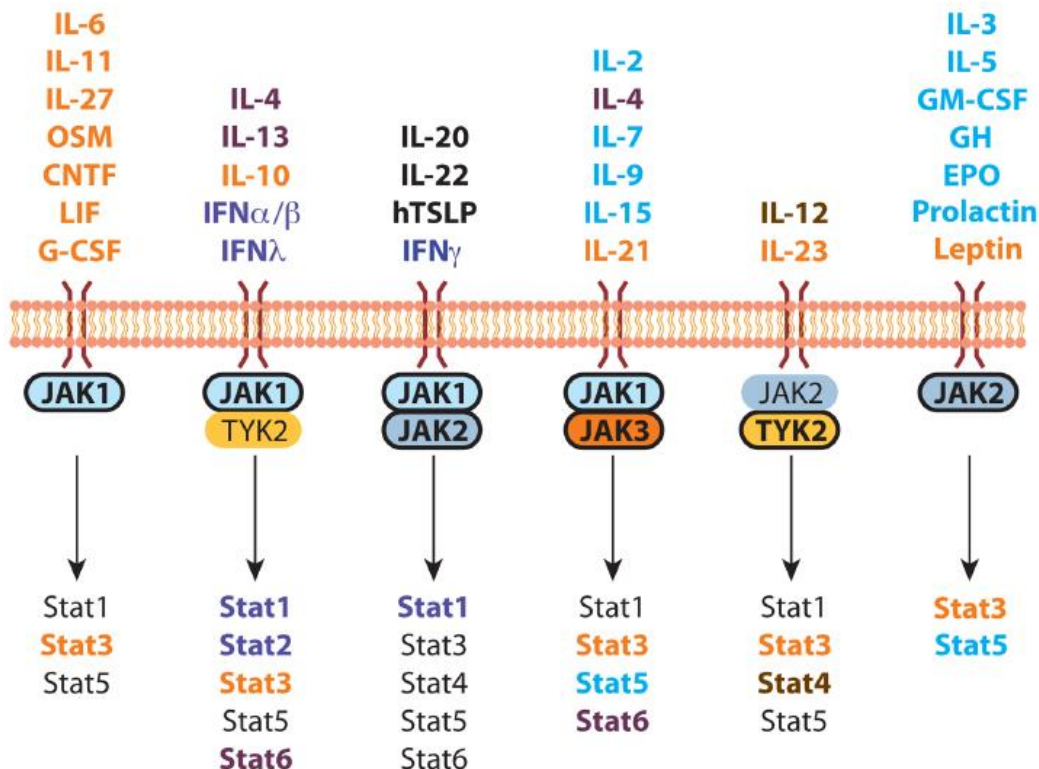
JAK molekule (Janus Kinase) su proteini koji pripadaju porodici nereceptorskih citoplazmatskih proteina, tirozin kinaza, koje su u direktnoj vezi sa citokinskim receptorima na ćelijskoj membrani. Njihova funkcija je da prenose signale od membranskih receptora do jedra posredstvom signalnih prenosilaca i regulatora transkripcije STAT molekula (engl. Signaling Transducer and Activator of Transcription), čime se formira JAK-STAT signalni put, koji reguliše aktivaciju, proliferaciju i diferencijaciju ćelija hematopoeze, pre svega mijelopoeze [21,22].

Sam proces aktivacije JAK molekula odvija se tako što se na citoplazmatske domene receptora za citokine tipa I i II vezuju nekovalentno inaktivni enzimi JAK. Usled vezivanja citokina na vanćelijski deo receptora, receptorske molekule se približe što uzrokuje aktivaciju JAK molekula. Aktivirane JAK tirozin kinaze fosforilišu se međusobno, te fosforilišu tirozinske ostatke u citoplazmatskim domenima receptora (slika 2). Fosfotirozinske ostatke prepoznaju i na njih se vezuju SH2 domeni (engl. SRC homology 2) monomernih STAT molekula. Janus kinaze vezane za receptore fosforilišu tirozinski ostatak u SH2 domeni molekule STAT. Zatim se formiraju STAT dimeri koji ulaze u jedro gde se vezuju za specifični deo u molekulama DNK i regulišu ekspresiju određenih gena. Na taj način transkripcijski faktor STAT služi kao veza između citokinskih receptora na površini ćelije i regulacije ekspresije gena u jedru (slika 3) [23].



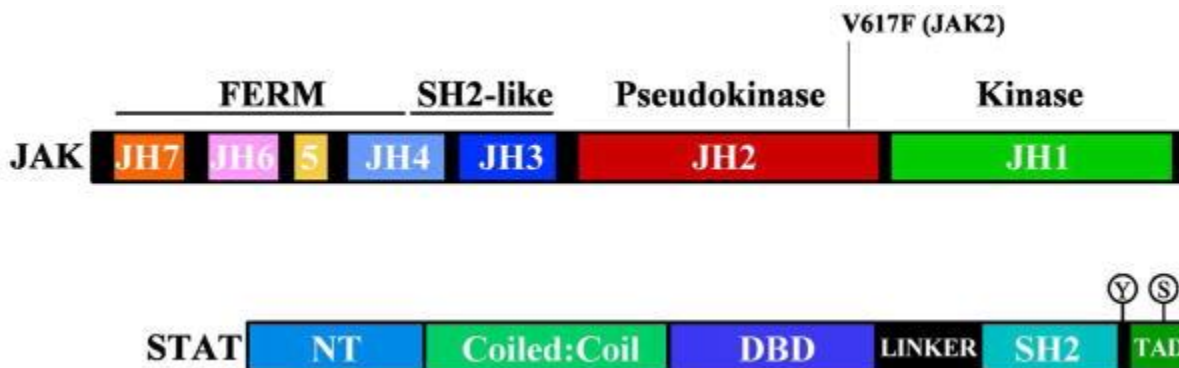
*Slika 3. Aktivacija JAK2-STAT puta [23]*

Do danas su poznate 4 Janus kinaze JAK1, JAK2, JAK3 i TYK2 (Tirozin kinaza 2) i sedam aktivatora transkripcije (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b i STAT6).



*Slika 4. Shematski su prikazane relacije citokina/faktora rasta i različitih molekula Janus kinaza (JAK1, JAK2, JAK3 I TYR2) i aktivatora transkripcija (STAT), rađene u genskim studijama na miševima [24] (uz dozvolu izdavača)*

Svi članovi JAK familije poseduju sedam homolognih domena (engl. JH-JAK Homology) organizovanih u četiri regiona: kinazni domen-JH1, regulatorni pseudokinazni domen-JH2, SH2 i FERM domen (slika 5).

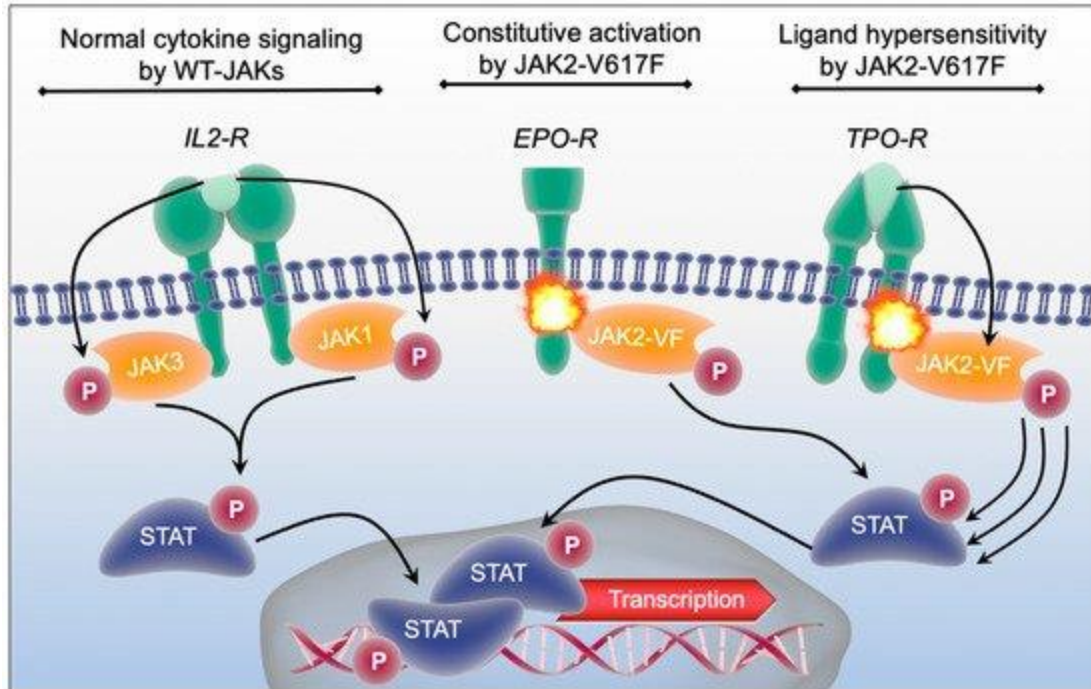


*Slika 5. Shematski prikaz strukture JAK molekule [24] (uz dozvolu izdavača)*

Na C-kraju JAK molekula nalazi se JH1 domen koji ima tirozin kinaznu aktivnost. Pseudokinazni domen 2 (JH2; engl. pseudokinase domain 2) za koji se do nedavno smatralo da je enzimski inaktivan, ima nisku jačinu katalitičke aktivnosti prema rezultatima novijih studija. Ovaj domen reguliše aktivnost JH1 domena preko inhibitorne uloge koju ispoljava u normalnim fiziološkim uslovima a samim tim negativno reguliše kinaznu funkciju JAK2 [25]. Domeni JH3-JH4 strukturno predstavljaju SH2. Amino terminalni kraj JAK proteina obuhvata homologe od JH5 do JH7, naziva se FERM domen i odgovoran je za asocijaciju JAK kinaze sa citokinim receptorima i sa drugim enzimima.

### **1.2.2. JAK2V617F MUTACIJA**

JAK2 mutacije predstavljaju jedno od najznačajnijih molekularnih otkrića u patogenezi mijeloproliferativnih bolesti. Otkrivene su 2005. godine u četiri nezavisne laboratorije [26,27,28,29] i od tada se utvrđuje njihova važnost, značaj i uticaj na prognozu, tok i lečenje Filadelfija negativnih mijeloproliferativnih bolesti. Gen za JAK2 mutaciju nalazi se na kratkom kraku hromozoma 9 (9p24). Mutacija gena JAK2V617F je stečena somatska mutacija koja dovodi do promene guanina u timin (G > T) na 1849-toj poziciji u egzonu 14 koja rezultira zamenom valina fenilalaninom (V > T) u 617-om kodonu [28, 29, 30, 31]. Zamenjena aminokiselina nalazi se na mestu kontakta između katalitičkog i pseudokinaznog domena, na mestu JH2 proteina JAK2 molekule. Mutirani protein hiperfosforilira i stabilizuje druge proteine uključene u signalne puteve što produžava trajanje signala. Ova mutacija dovodi do popuštanja autoregulacije (autoinhibicije) proteina JAK2, njegove konstitutivne aktivacije i aktivacije ostalih signalnih puteva, nezavisno od prisustva liganada (citokina, faktora rasta,...) ali i do preosteljivosti receptora citokina na ligande (eritropoetin, trombopoetin, granulocitni factor rasta, interleukin 3 (IL-3)) [27, 32]. Rezultat ovih procesa je proliferacija i klonska ekspanzija hematopoetskih progenitora, koje dovode do nastanka mijeloproliferativnih bolesti.



**Slika 6. Shematski prikaz normalneog i aberantnog provođenja JAK signala (interleukinski 2 receptor povezan je sa JAK1 i JAK3 molekulom i predstavlja fiziološku transdukciju signala zavisnu od vezivanja citokina, dok JAK2V167F mutacija nakon vezivanja eritropoetinskog i trombopoetinskog receptora dovodi do stalne aktivacije i pojačane osetljivosti za vezivanje ovih liganada) [33]**

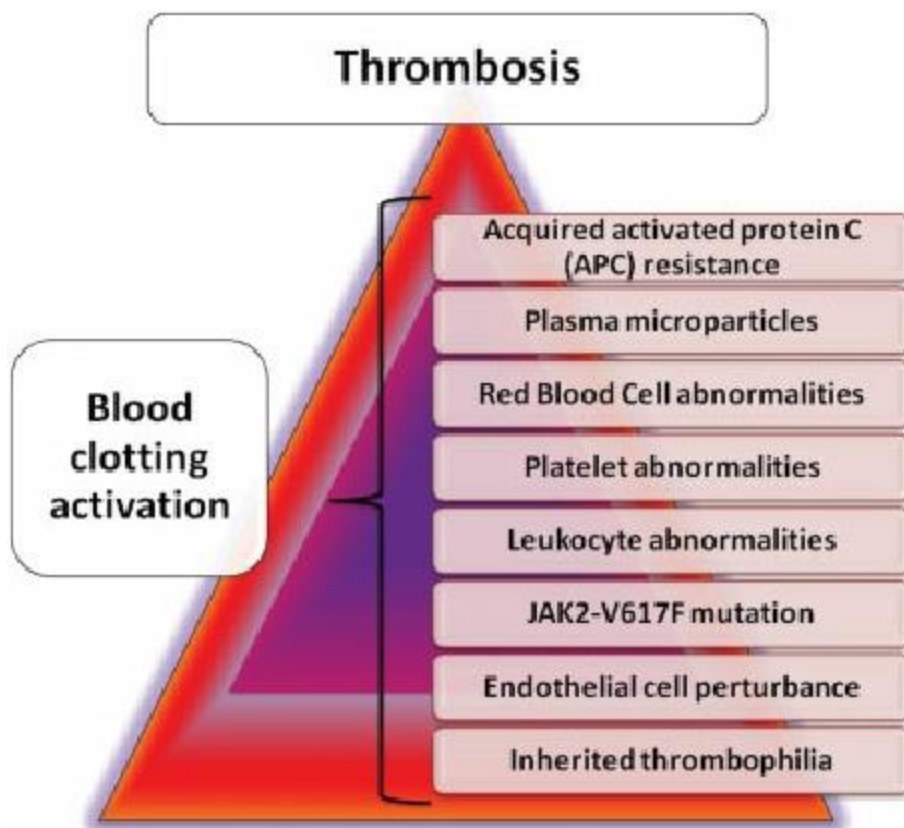
JAK2V617F mutacija takođe utiče na ekspresiju gena modifikujući strukturu hromatina a uz to negativno utiče na apoptozu omogućujući preživljavanje ćelija sa oštećenom DNK i tako uzrokuje gensku nestabilnost. JAK2V617F mutacija nastaje u multipotentnim hematopoeznim progenitorskim ćelijama i prisutna je u svim ćelijama mijeloidne loze, ali isto tako može biti detektovana u limfoidnim ćelijama, pre svega B limfocitima i NK ćelijama, a značajno ređe u T limfocitima [34]. Vrlo retko može nastati u ćelijama koje nisu hematopoeznog porekla, ali je moguće i to u endotelnim ćelijama slezine i splahnhičnim venama pacijenata sa MF i/ili splahnhičnom trombozom kod Budd-Chiari sindroma [35]. Prema poslednjim istraživanjima, manje od 1%, mutacija se detektuje u zdravoj populaciji, uključujući i neonatuse [36, 37,38]. Mutacija JAK2V617F je jedna od najčešćih mutacija koje se javljaju tokom starenja organizma [39]. Ova mutacija najviše je prisutna kod bolesnika sa PV (oko 95%), dok je kod bolesnika sa ET i PMF njena učestalost oko 50% [40].

### **1.2.3 KVANTIFIKACIJA MUTACIJE V617F KOD BOLESNIKA SA FILADELFIJA NEGATIVNIM MIJELOPROLIFERATIVNIM NEOPLAZMAMA**

Svaka hematopoezna ćelija s jedrom ima dva alela gena JAK2. Ako stečena mutacija V617F nastane samo na jednom alelu, takva vrsta ćelije je heterozigot za mutaciju V617F. Obzirom na to da ova mutacija nastaje najčešće na nivou progenitorne usmerene matične ćelije koja se deli mitotičkom rekombinacijom, očekuje se nakon dužeg vremena, da će većina mijeloidnih ćelija zahvaćenih mutacijom, steći mutaciju V617F i na drugom alelu. Takva ćelija s oba mutirana alela je homozigot za mutaciju V617F [41]. Postupak u kojem u uzorku granulocitne ili leukocitne DNK kvantitativno određujemo broj kopija mutiranog alela V617F nazivamo „opterećenje mutiranim alelom (“allele burden”). U toj analizi kvantifikuje se broj mutiranih alela u odnosu na ukupan broj alela u uzorku (mutiranih i nemutiranih -,divlji tip“ (“wild type”). Ako je rezultat  $< 50\%$  mutiranih alela takvo opterećenje nazivamo heterozigotom za mutaciju, dok rezultat  $> 50\%$  ukazuje na homozigota za mutaciju. Istraživanja su pokazala da većina PV i PMF bolesnika imaju homozigotni status mutacije V617F, dok kod ET prevladavaju heterozigoti [42]. Značaj opterećenja mutiranim alelom, ogleda se u tome da oboleli od ET i PV koji su homozigoti za JAK2V617F mutaciju imaju stimulisanu eritropoezu, mijelopoezu, niži broj trombocita, splenomegaliju, veći rizik za transformaciju u fibrozu, kao i potrebu za citoreduktivnom terapijom u odnosu na heterozigote [43].

### **1.3. PATOGENEZA TROMBOZNIH DOGAĐAJA U ESENCIJALNOJ TROMBOCITEMIJI**

Tromboze su najčešće komplikacije koje se javljaju u toku lečenja pacijanata obolelih od ET, ali i u momentu postavljanja dijagnoze. Njihov mehanizam nastanka je kompleksan, zavisi od mnogobrojnih faktora i još uvek nije u potpunosti razjašnjen. Čak i u odsustvu tromboznih događaja, oboleli od ET imaju hiperkoagulabilno stanje, koje se manifestuje aktivacijom hemostaznog sistema. Mogući mehanizmi nastanka prikazani su na slici 7.



*Slika 7. Mogući patofiziološki mehanizmi nastanka tromboza u mijeloproliferativnim bolestima [44] (uz dozvolu izdavača)*

U patogenezi tromboznih komplikacija od značaja su:

### 1.3.1 TROMBOCITI

Kod obolelih od ET dolazi do poremećaja na membrani i strukturi trombocita, agregaciji i adheziji trombocita. Aktivisani trombociti nastaju zbog poremećaja u samoj strukturi trombocita koji potiče od izmenjene funkcije hematopoezne matične ćelije koja je uslovljena prisutnim „driver” mutacijama i hiperaktivne JAK2 signalizacije, ali i pod uticajem spoljašnjih faktora kao što su ćelijska interakcija sa aktivisanim leukocitima, endotelnim ćelijama i solubilnim medijatorima, koji mogu biti okidači aktivacije trombocita koji su nastali ne samo iz klonskih ćelija, već i iz zdravih megakariocita. Studija Arrelano Rodrigo i saradnika dokazala je da je povećan „promet“ trombocita značajan, nezavisan marker tromboze kod pacijenata sa ET, verovatno uzrokovan autonomnom trombocitopoezom i povećanom potrošnjom trombocita, a posledica je aktivacije trombocita tokom trombocitogeneze [45]. Retikulisani trombociti, koji nastaju u ovom procesu (u

poređenju sa zrelim trombocitima) imaju veći volumen, više granula i pokazuju veću sposobnost za agregaciju, oslobađanje alfa granula i ekspresiju P selektina na membrani [45,46]. U istoj studiji dokazana je povećana ekspresija retikulisanih trombocita, sP-selektina i sCD40L kod bolesnika obolelih od ET koji su imali trombozne događaje [45]. Solubilni CD40L takođe povedava ekspresiju P selektina na površini trombocita, agregaciju, aktivaciju leukocita, trombocitno-leukocitnu reakciju i oslobađanje slobodnih radikala iz trombocita čime se favorizuje proces trombogeneze [47,48,49,50]. Aktivisani trombociti oslobađaju svoje produkte u plazmu, pa se kod ovih bolesnika u plazmi može dokazati povećano prisustvo beta-tromboglobulina i trombocitnog faktora 4, a u urinu tromboksana A [51,52].

Prokoagulantni potencijal trombocita ogleda se kroz aktivaciju koagulacionog sistema koju odlikavaju povećani nivoi trombin-antitrombin (TAT) kompleksa, protrombinskih fragmenata F1+2 i D-dimera [53]. Aktivisani trombociti koji pojačano ekspresuju fosfatidil serin na svojoj membrani, predstavljaju katalizni supstrat za stvaranje trombina [54].

### **1.3.2. ERITROCITI**

Protrombozni efekat povećanog hematokrita je dokazan u studijama koje su prevažno rađene kod obolelih od PV. Vrednosti hematokrita koje su na gornjoj granici dovode do povećane viskoznosti krvi i značajan su uzrok okluzivne vaskularne bolesti, posebno u moždanoj cirkulaciji. Povećan broj eritrocita, biohemijske promene na njihovoj membrani i intracelularnom sadržaju takođe se mogu naći kod obolelih od ET i PV [55]. Ove promene u ćelijama krvi takođe smanjuju protok krvi u malim krvnim sudovima i omogućavaju trombocitno-leukocitnu interakciju koja kao rezultat daje ishemijske i infarkte, posebno kad se radi o cerebralnom krvotoku [20].

U *in vivo* uslovima, dolazi do aksijalne migracije eritrocita, sa izmeštanjem trombocita u plazmu prema zidu krvnih sudova, gde su izloženi maksimalnoj sili porekla smicanja krvnih sudova [56]. Povišen hematokrit sužava zonu plazme i dolazi do bliskog kontakta trombocita i endotelnih ćelija, kao i međusobne interakcije trombocita [57]. Na mestima gde su sile smicanja krvnog suda veće (arteriole i kapilari) povećano je vezivanje GPIb receptora trombocita za von Willebrandov faktor (vWF) i aktivacija GPIIb/GPIIIa receptora. Uz povećan broj trombocita u plazmi i povećane vrednosti hematokrita, interakcija trombocit-trombocit je još izraženija [58].



### **1.3.3. LEUKOCITI**

Leukociti učestvuju u inflamatornom odgovoru u stvaranju aterosklerotskog plaka, te na taj način povećavaju mogućnost nastanka vaskularnih događaja. Do sada je najviše ispitivana uloga neutrofilnih granulocita u inflamatornom odgovoru i aktivaciji koagulacionog mehanizma [59]. Jednom aktivisani neutrofili, stvaraju reaktivne vrste kiseonika, oslobađaju proteolitičke enzime iz citoplazmatskih azurofilnih granula (elastaze, katepsin G i mijeloperoksidazu) i eksprimuju više i funkcionalne nivoe beta 2 integrina Mac (CD11b) na svojoj ćelijskoj površini [20]. Aktivisani neutrofili dovode do hiperkoagulabilnog stanja [60] i endotelne disfunkcije, a nekoliko studija je pokazalo i značaj leukocitno-trombocitnih agregata u aktivaciji trombocita i leukocita [61, 62]. Pozitivnost na JAK2V617F mutaciju kod obolelih od ET takođe korelira sa određenim fenotipom neutrofila, kao npr. povećanom ekspresijom CD14 i leukocitne alkalne fosfataze dok je nivo CD11b i elastaze jednako povišen i kod bolesnika obolelih od ET sa prisutnom i sa odsutnom JAK2V617F mutacijom [63]. Poslednjih 10 godina otkriveno je da neutrofili u određenim uslovima, imaju sposobnost da eksprimuju svoju nuklearnu dezoksiribonukleinsku kiselinu (DNK) i sa ostalim markerima formiraju neutrofilnu ekstracelularnu zamku (NET) [64,65]. Ovakva formacija, nije samo zamka za bakterije, već promovise aktivaciju trombocita, unutrašnjeg i spoljašnjeg puta koagulacije i inhibiše fibrinolizu, te sledstveno dovodi do povišenog rizika za nastanka tromboze. Studija Guy-a i saradnika analizirala je novodijagnostikovane bolesnike sa mijeloproliferativnim bolestima i koncentracije NET formacija, DNK mijeloperoksidaze (MPO), reaktivna kiseonikova jedinjenja (ROS) leukocita u odnosu na kontrolnu grupu zdrave populacije [65]. Studijom je dokazano da oboleli od MPN, imaju pojačanu ekspresiju NET formacija u leukocitima, povećanu koncentraciju cirkulišuće DNK i MPO DNA kao i povećane koncentracije ROS u leukocitima u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika. Poređenjem pacijenata obolelih od MPN koji su imali podatak o prethodnoj trombozi i onih koji nisu imali ovu komplikaciju, nije otkrivena statistički značajna razlika u ekspresiji NET formacija, cirkulišuće DNK i ROS, ali je zato koncentracija MPO DNK kompleksa statistički značajno veća kod bolesnika sa prethodnim podatkom o trombozama (posebno tromboze vene porte) [65].

### **1.3.4. ENDOTELNE ĆELIJE**

U fiziološkim uslovima, endotel obezbeđuje normalan protok krvi kroz krvne sudove, ostvarujući svoje osnovne funkcije inhibicije adhezije trombocita i aktivacije koagulacionih mehanizama.

Nekoliko faktora utiče na gubitak osnovnih funkcija endotela kod obolelih od MPN i promene koje nastaju na njemu čine da dobija protrombogena svojstva.

Reaktivna kiseonikova jedinjenja i intracelularne proteaze oslobođene iz neutrofila, prekidaju kontinuitet endotela i vrše lizu endotelih ćelija iz kojih se oslobađaju trombozne materije (trombomodulin, selektini i vWF). Istraživanjima su dokazane povišene koncentracije plazmatskog i vezanog P-, E- i L-selektina, kao i trombomodulina kod obolelih od ET i PV [62, 63, 66] koje ukazuju na permanentnu aktivaciju endotela i trombocita, kao mogući mehanizam nastanka tromboznih događaja [67]. Aktivisane endotelne ćelije pored toga što eksprimuju E selektin (CD62E), na svojoj površini imaju i CD42 (trombocitni marker). Prisustvo ova dva markera na površini endotelih ćelija (CD62E/CD41) moglo bi objasniti interakciju između endotelih ćelija i trombocita, a njihova povećana ekspresija povećava stvaranje trombina i povećava rizik od tromboze [54].

Smanjene koncentracije azot monoksida (NO) u plazmi kod obolelih od ET dovode se u vezu sa nastankom tromboznih stanja, jer je poznato da je NO jedan od glavnih medijatora koji utiču na inhibiciju adhezije trombocita, njihovu aktivaciju, sekreciju i agregaciju [20].

### **1.3.5. ANGIOGENEZA**

Angiogeneza ima važnu ulogu u patogenezi hematoloških bolesti, pa tako i u MPN, ali poslednjih godina je prepoznata i kao značajan faktor u patogenezi tromboznih komplikacija. Broj endotelih ćelija u cirkulaciji je značajno veći kod obolelih od ET i PV, nezavisno od JAK2 mutacije u porođenju sa kontrolnom grupom zdravih ispitanika. Značajno veće koncentracije endotelnog faktora rasta VEGF u plazmi se javljaju kod bolesnika obolelih od ET u odnosu na PV, dok se povećane koncentracije endotelnog faktora rasta 1 i 2, D-dimera i TAT kompleksa javljaju i kod obolelih od ET i PV u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika [68]. Studija rađena poslednjih godina, ispitala je ulogu vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF-A) u procesu trombogeneze, stimulisanog ekspresijom tkivnog faktora u endotelnim ćelijama. Cilj studije je bio da se utvrdi koncentracija TF u odnosu na VEGF-A u krvi bolesnika obolelih od ET. Srednja koncentracija TF Ag bila je 3x veća i TF aktivnost 15x veća kod obolelih od ET u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika. Nije postojala statistički značajna razlika u koncentraciji i aktivnosti inhibitora puta TF (TFPI) između obolelih od ET i zdravih ispitanika, dok je VEGF-A bio značajno povišen kod obolelih od ET ( $p < 0.000001$ ). Analizom je ustanovljeno da istovremeno

povećanje koncentracije TF, njegove aktivnosti i VEGF-A u krvi bolesnika sa ET, kao i pozitivna korelacija između TF i VEGF-A objašnjavaju koegzistenciju TF zavisne koagulacije i aktivaciju angiogeneze [69].

#### **1.4. FAKTORI RIZIKA ZA NASTANAK TROMBOZNIH KOMPLIKACIJA KOD OBOLELIH OD ET**

Stalni su pokušaji definisanja činitelja koji bi mogli imati prognozni značaj za nastanak tromboznih komplikacija kod bolesnika sa ET i koji bi pomogli u formiranju smernica za individualizaciju terapije. Faktori rizika za nastanak tromboze obuhvataju faktore vezane za samog bolesnika (pol, prethodne tromboze, kardiovaskularni faktori rizika i prisustvo nasledne trombofilije), faktore vezane za bolest (JAK2V617F mutacija i broj ćelija u krvi) i druge faktore vezane i za bolesnika iza bolesti (fibroza koštane srži, izmenjen odnos citokina i hemokina, genetske karakteristike klona bolesti) [70]. Prediktivni i nezavisni faktori rizika za nastanak tromboznih komplikacija do 2012. godine bili su životno doba iznad 60 godina i prethodne tromboze kod obolelih od ET. Nakon sprovedene studije Barbui-a i saradnika ustanovljen je IPSET skor (International Prognostic Score for Thrombosis in Essential Thrombocythemia) koji je u faktore rizika za nastanak tromboznih komplikacija uvrstio i prisustvo JAK2V617F mutacije i kardiovaskularne faktore rizika [71]. Češka grupa za mijeloproliferativne bolesti, CZEMP (Czech Group for Ph- Myeloproliferative Disorders), je svrstala trombofilne markere (mutaciju u genu za sintezu protrombina G20210A, Faktor V Leiden mutaciju i deficit prirodnih inhibitora koagulacije - proteina C i S) u faktore rizika za nastanak venskih tromboza u mijeloproliferativnim bolestima ( $p=0.009$ , OR 1.797, CI 95% 1.159-2.786) [72]. Stalni su naponi da se definišu grupe bolesnika koje su u riziku za nastanak tromboembolijskih komplikacija, stoga su različite studije upravo usmerene na ispitivanje značaja JAK2V617F mutacije, kardiovaskularnih faktora rizika, trombofilnih markera, leukocitoze i drugih genskih mutacija (MPL, CALR, TET2) u nastanku tromboza. Do sada ispitivani faktori rizika za nastanak tromboza u obolelih od ET su životno doba bolesnika, prethodne tromboze, JAK2V617F mutacija i ostale mutacije, kardiovaskularni faktori rizika, broj ćelija krvi, markeri trombofilije i mutacije gena za metilentetrahidrofolat reduktazu.

##### **1.4.1. ŽIVOTNO DOBA BOLESNIKA**

Životno doba bolesnika je nezavisni faktor rizika za nastanak tromboza kod obolelih od MPN [17,73,74,75]. U studiji rađenoj na 100 obolelih od ET utvrđeno je da je incidencija tromboze 1,7%

po obolelom godišnje, u starosnoj grupi bolesnika mlađih od 40 godina, 6,3% u grupi bolesnika od 40-60 godina i 15,1% kod starijih od 60 godina [76]. U studiji koja je obuhvatila 148 obolelih od ET učestalost pojave vaskularnih komplikacija unutar 6 godina praćenja, iznosila je 35,6% kod starijih od 60 godina, u odnosu na 21,4% kod bolesnika mlađih od 60 godina, i 2,8% kod mlađih od 45 godina [77]. U studiji Carobbio i saradnika starosna dob iznad 60 godina predstavljala je jedan od prediktivnih faktora rizika za arterijske tromboze ( $p=0,03$ ,  $HR=1,7$ ) [17]. Životna dob iznad 60 godina predstavlja jedan od potvrđenih, prediktivnih, nezavisnih faktora rizika za trombozu [20].

#### **1.4.2. PRETHODNE TROMBOZE**

Prethodni trombozni događaji predstavljaju nezavisne i prediktivne faktore rizika za nastanak novih tromboza kod obolelih od MPN [17,73,20]. U studiji u kojoj je ispitivano 100 obolelih od ET, rizik od nastanka tromboznih komplikacija bio je 3,4% po obolelom godišnje, kod ispitanika koji nisu imali prethodne tromboze u odnosu na 31,4% po obolelom godišnje, kod ispitanika koji su imali trombozu [76]. U studijama rađenim na većem broju ispitanika, dobijeni su konzistentni rezultati vezani za istoriju tromboza kao faktor rizika u nastanku novih tromboembolijskih komplikacija (17, 75, 78, 79).

Više studija utvrdilo je značaj zajedničkog uticaja starijeg životnog doba (više od 60 godina) i prethodnih tromboza, na nastanak novih tromboza tokom perioda praćenja i lečenja obolelih od ET [77, 80].

Kod bolesnika starijih od 60 godina i podatkom o prethodnim trombozama, postoji jasna preporuka i indikacija da se započne sa primenom citoreduktivne terapije, bez obzira na ostale faktore rizika [20].

#### **1.4.3. JAK2V617F I OSTALE MUTACIJE**

JAK2V617F, MPL i CALR spadaju u fenotipske “drajver” mutacije koje su povezane sa hiperproliferacijom hematopoeznih ćelija.

##### **1.4.3.1. JAK2V617F MUTACIJA**

Genetska analiza JAK2V617F mutacije je neizostavni dijagnostički i prognostički parametar kod obolelih od ET. Stalni su pokušaji da se objasni uloga JAK2V617F mutacije u nastanku

tromboznih komplikacija kod obolelih od ET. Brojne studije prikazale su prognostički značaj prisustva JAK2V617F mutacije i uvrstile je u faktor rizika za nastanak tromboznih komplikacija i u bodovne sisteme (IPSET, CZEMP) [71,72,81,82]. Meta analizama rađenim poslednjih godina, dobijeni su konzistentni rezultati koji ukazuju na pozitivan doprinos JAK2V617F mutacije u nastanku tromboznih događaja [83,84,85,86].

#### **1.4.3.2. MPL MUTACIJA**

Somatska mutacija za trombopoetinski receptor – MPL mutacija prisutna je u oko 3-15% obolelih od ET [87]. Podaci u kojima je utvrđivan njen značaj u tromboznim događajima su oskudni i prvenstveno se odnose na njenu učestalost (petogodišnja kumulativna incidence tromboza je oko 9%) [88]. Studije u kojima je analizirana njena prediktivna uloga u tromboznim događajima imaju oprečne rezultate [89,90].

#### **1.4.3.3. CALR MUTACIJA**

Somatska mutacija u kalretikulinu - CALR prisutna je u oko 20-25% obolelih od ET [91], a u oko 67-71% JAK2V617F i MPL negativnih bolesnika sa ET [92,93]. Studija rađena na 576 obolelih od ET, prikazala je da je u 15,5% CALR mutacija bila prisutna, i da je kod njih desetogodišnja kumulativna incidencija tromboza bila 5%, za razliku od JAK2V617F pozitivnih bolesnika kod kojih je desetogodišnja kumulativna incidencija bila 14,5% [94]. Slični rezultati su dobijeni i u drugim studijama, te je poznato da nosioci CALR mutacije imaju nižu kumulativnu incidenciju tromboznih komplikacija tokom praćenja i lečenja osnovne bolesti [95,96].

#### **1.3.4.4. „TRIPLE NEGATIVE“ BOLESNICI**

Oboleli od ET kod kojih se ne detektuje ni jedna od prethodno navedenih mutacija, nazivaju se „trostruko negativni bolesnici“ i čine oko 10% svih bolesnika. Kod njih je rizik za nastanak tromboznih komplikacija manji u odnosu na JAK2V617F pozitivne bolesnike [87].

#### **1.3.4.5. „NEFENOTIPISKE DRAJVER MUTACIJE“**

Ostale somatske mutacije koje su detektovane kod bolesnika sa Ph-MPN, ne deluju primarno na proliferaciju hematopoeznih ćelija, već mogu da modifikuju i pojačaju efekte fenotipskih drajver mutacija [97]. Njihova učestalost kod bolesnika sa ET je 28-46% [87] i to su sledeće mutacije: TET2 (ten eleven ten 2), ASXL1 (Additional sex combs like 1), EZN2 (enhancer of zeste

homolog2), IDH1/2 (isocitrate dehydrogenase 1 and 2), DNMT 3A(DNA methyltransferase 3A), SH2B3 (SHB2 adaptor protein 3, CBL (Casitas B-cell lymphoma), IKZF1 (Ikaros family zinc-finger protein1, HMGA2 (High-mobility group AT-hook2, TP53 (Tumor Protein 53) i NRAS/KRAS. Ove mutacije utiču na tok i prognozu bolesti, pa je tako u jednoj od studija dokazano da prisustvo ASXL1 i JAK2 mutacije statistički značajno povećava rizik od arterijskih tromboznih komplikacija [98].

#### **1.4.4. KARDIOVASKULARNI FAKTORI RIZIKA**

Značaj kardiovaskularnih faktora rizika, među kojima su pušenje, hiperlipoproteinemije, hipertenzija i šećerna bolest, u nastanku tromboznih događaja kod obolelih od ET ispitivan je u brojnim studijama. Krajem XX veka, u studiji rađenoj na 148 obolelih od ET od varijabli koje su bile povezane sa razvojem tromboza, izdvojile su se starost preko 60 godina, prethodne tromboze i hiperholesterolemija [77]. Kasnije rađene studije na većem broju ispitanika potvrdile su značaj kardiovaskularnih faktora rizika u patogenezi vaskularnih komplikacija u lečenju ET i svrstali ih u nezavisne faktore rizika za nastanak istih [17, 79, 99]. Kardiovaskularni faktori rizika su od 2012. godine svrstani među parametre koji su značajno povezani sa povećanim brojem tromboza kod obolelih od ET, te su uvršteni u IPSET skor (International Prognostic Score for Thrombosis in Essential Thrombocythemia) [71].

#### **1.4.5. BROJ ČELIJA KRVI**

Leukocitoza je jedan od potencijalnih faktora rizika za arterijske i venske tromboze kod pacijenta sa ET. Međutim, istraživanja koja su rađena do sada su nekonzistentna u definiciji leukocitoze, njenim graničnim vrednostima i standardizaciji metoda za procenu leukocitoze, te ona do sada nije svrstana u modele rizika i prognostičke skorove. Meta analizom dokazana je signifikantna veza leukocitoze i tromboza sa RR od 1,6 (95% CI, 1,4-1,8), posebno kod arterijskih događaja sa RR 1,45 (95%CL, 1,13-1,86) ali nisu mogle da se predvide granične vrednosti za broj leukocita koji bi mogao da predvidi vaskularne komplikacije. U istoj studiji dokazano je da leukocitoza nije povezana sa venskim trombozama (RR 1,14, 95%CI, 0,65-1,98), te je razumljivo da leukocitoza nije uvrštena u IPSET prognostički model, obzirom da se u njemu ne pravi razlika između arterijskih i venskih tromboza [100].

Broj trombocita sam po sebi ne korelira značajno sa rizikom od tromboze [77, 101, 102] ali

održavanje broja trombocita ispod  $400 \times 10^9/l$ , kod visokorizičnih bolesnika, smanjuje incidenciju tromboznih događaja [103,104]. S druge strane, ekstremna trombocitoza povezana je sa krvarenjem kod obolelih od ET, a objašnjava se pojavom stečenog von Willebrandovog sindroma [105,106,107].

#### **1.4.6. MARKERI TROMBOFILIJE**

##### **1.4.6.1. PROTEIN C, PROTEIN S, REZISTENCIJA NA AKTIVISANI PROTEIN C (APC-R) I ANTITROMBIN**

Učestalost nedostatka proteina C u zdravoj populaciji je između 0,2%-0,5%, a među bolesnicima sa venskim trombozama između 3%-5% dok je učestalost nedostatka proteina S u zdravoj populaciji je 0.03 – 0.13 %, a kod bolesnika sa venskim trombozama 1 – 5 % [108].

Jensen i saradnici su 2002. godine analizirali su koncentracije proteina C i S kod obolelih od MPN u odnosu na kontrolnu grupu i dokazali da su kod obolelih od MPN značajno niže koncentracije ovih inhibitora koagulacije (za slobodni protein S 0,27 vs 0,38 arbitrarnih jed;  $p < 0,001$  i za protein C 0,86 vs 0,99 arb. jed.;  $p < 0,001$ ) [109]. Smanjene koncentracije proteina C i S mogući su uzrok pojave APC rezistentnog fenotipa kod obolelih od MPN i pojave tromboznih komplikacija [110]. Deficit antitrombina se manifestuje venskim trombozama različitih lokalizacija. Kod obolelih od mijeloproliferativnih bolesti sa tromboznim komplikacijama, u laboratorijskim nalazima vrednosti antitrombina mogu biti snižene [110], dok su nivoi kompleksa TAT često povišeni [68,112].

##### **1.4.6.2. FAKTOR V LEIDEN MUTACIJA, MUTACIJA U GENU ZA SINTEZU PROTROMBINA G20210A**

Mutacija na genu za faktor V (faktor V Leiden) najčešći je uzrok APC rezistencije koja uzrokuje hiperkoagulabilna stanja [111]. Učestalost faktor V Leiden mutacije u opštoj populaciji je od 1-15% [108]. FV Leiden mutacija se detektuje u oko 15-20% svih bolesnika u toku prve epizode tromboze dubokih vena i čak do 50% kod bolesnika sa rekurentnim venskim trombozama ili sa trombozama povezanim sa upotrebom preparata estrogena [113]. Kod heterozigotnih nosilaca FV Leiden mutacije rizik za nastanak tromboza je 3-8 puta veći, dok je kod homozigota viši 9-80 puta [113,114].

Mutacija na genu za sintezu protrombina G20210A nastaje usled zamene guanina adeninom na mestu 20210 gena i dovodi do nastanka proteina koji ima veću koncentraciju od normalnog. U

krvnoj plazmi nosioca ove mutacije, nalazi se blago povišeni nivo protrombina koji se smatra nezavisnim faktorom rizika za nastanak venskih i arterijskih tromboza. Učestalost ove mutacije u zdravoj populaciji je oko od 1-3% [108]. Učestalost ove mutacije među bolesnicima sa venskim trombozama je oko 6,2%, dok je kod bolesnika sa ponovljenim trombozama i potvrđenom pojavom tromboza u porodici učestalost oko 18%. Kod heterozigota rizik za nastanak tromboza je 2,8 puta veći [115].

Studije koje su do sada objavljene, a koje su analizirale povezanost tromboznih događaja, nasledne trombofilije i mijeloproliferativnih događaja, nemaju koherentne rezultate.

U studiji Horvat i saradnika incidencija mutacija heterozigota FV Leiden i protrombina G20210A kod obolelih od MPN-a, se ne razlikuje od one u zdravoj populaciji. Takođe, incidencija prisustva pomenutih mutacija u obolelih od MPN-aje slična kod bolesnika koji su imali trombozne događaje i onih bez tromboza [116].

U studiji Doroteya i saradnika na uzorku od 108 ispitanika obolelih od MPN i 143 kontrolnih, zdravih ispitanika analizirana je učestalost tromboznih komplikacija, u odnosu na prisustvo genetskih mutacija faktora V Leiden i protrombina G20210A. U ispitivanoj grupi obolelih od MPN, nije pronađena veću učestalost faktora V Leiden mutacije u odnosu na kontrolnu grupu (3,7% vs 4,76%), niti je pronađena veća učestalost tromboza kod bolesnika obolelih od MPN koji su nosioci mutacije faktor V Leiden. Takođe su utvrdili da je učestalost heterozigotnog nosilaštva mutacije gena za protrombin G20210A veća kod bolesnika sa MPN u odnosu na ispitivanu grupu (7,41% vs 2,04%,  $p=0,037$ ), ali da ova mutacija nije predstavljala faktor rizika za nastanak tromboznih komplikacija [117].

Istraživanjima na većim uzorcima koja su obuhvatila 304 obolelih od PV i ET, Ruggeri i saradnici su 2002. godine prikazali da je prevalencija mutacije FV Leiden u ovoj populaciji bolesnika 4,6% i da je slična prevalenciji u opštoj populaciji. Međutim studija je prikazala značajnu razliku u prevalenciji mutacije faktora V Leiden kod obolelih od MPN koji su imali trombozne komplikacije (16%) u odnosu na bolesnike koji nisu imali tromboze (3%), kao i da je opterećenost mutacijom faktora V Leiden povezana sa pojavom rekurentnih tromboza tokom perioda praćenja (prevalencija od 3,6% kod asimptomatskih bolesnika; 6,9% sa prethodnim jednim tromboznim događajem i 18,1% kod bolesnika sa rekurentnim trombozama) [118].

De Stefano i saradnici analizirali su prisutvo faktora V Leiden mutacije i mutacije protrombina G20210A kod 132 pacijenta obolelih od ET. Prevalencija heterozigota za faktor V Leiden je bila



3% a heterozigota za protrombin G20210A 2,3%, gotovo ista kao u opštoj populaciji. Međutim ove dve mutacije su povećavale rizik od tromboza za 2,7 puta (kao nezavisan faktor rizika), dok je prisustvo gena za ove nasledne trombofilije uz JAK2V617F mutaciju povećavalo rizik za trombozu 5 puta u poređenju sa bolesnicima kod kojih nisu detektovane ove mutacije [119]. U studiji Trifa i saradnika koja je obuhvatila 181 obolelog od MPN, od svih ispitivanih mutacija, jedino mutacija FV Leiden je imala veću učestalost među bolesnicima sa tromboznim komplikacijama u odnosu na bolesnike bez tromboza ((OR=4.3, 95 %, CI=1.5–12.5, p=0.008) te je svrstana u značajne faktore rizika za nastanak tromboza [120].

Gisslinger i saradnici su u retrospektivnoj studiji uradili testiranje 214 bolesnika sa ET i PV na trombofiliju sa fokusom na mutaciju protrombina G20210A i dokazali da je prisustvo mutacije povezano sa pojavom venskih tromboza/tromboembolizma, posebno sa splanhičnim venskim trombozama [121].

Grupa autora iz Češke, Schwarz i saradnici 2016. godine, u univarijantnoj analizi dobili da je nekoliko trombofilnih faktora (protein C, protein S, faktor V Leiden, FII G20210A) značajno povezano sa tromboznim događajima, prvenstveno venskim [72].

#### **1.4.6.3. D-DIMER**

D-dimer je direktni pokazatelj nivoa stimulacije fibrinoliznog mehanizma a indirektni pokazatelj stimulacije trombinske aktivnosti. D-dimer je verodostojni marker aktivacije koagulacionog sistema i fibrinolize u velikom broju kliničkih stanja. Ograničenje eseja za određivanje D-dimera ogleda se u niskoj specifičnosti, obzirom da je povišen i u brojnim drugim stanjima i bolestima kao što su: starost, trudnoća, maligniteti, traume, krvarenja, hirurške procedure. Kod obolelih od mijeloproliferativnih bolesti sa tromboznim komplikacijama, u laboratorijskim nalazima, vrednosti D-dimera u plazmi su često povišene [63,111,112, 122].

#### **1.4.6.4. ANTIFOSFOLIPIDNA ANTITELA**

Prisustvo antifosfolipidnih antitela predstavlja faktor rizika za arterijske i venske trombozne događaje [123]. O njihovom prisustvu kod obolelih od ET i značaju u nastanku tromboznih komplikacija još uvek ne postoje konzistentni stavovi. Nekoliko studija je potvrdilo veću prevalenciju antifosfolipidnih antitela kod obolelih od ET, pretežno antitela IgM klase [2,109,124], ali i vezu između antifosfolipidnih antitela i tromboza [2,124]. Druge rađene studije nisu utvrdile

veću prevalenciju antifosfolipidnih antitela kod obolelih od ET niti njihov značaj u tromboznim komplikacijama [125,126].

#### **1.4.7. MUTACIJA GENA ZA ENZIM METILEN TETRAHIDROFOLAT REDUKTAZU (MTHFR)**

Mutacija na genu za MTHFR dovodi do smanjenja produkcije enzima koji reguliše nivo homocisteina u organizmu. Učestalost mutacije MTHFR C677T kod Angloamerikanaca bele rase je 69.5%, kod Angloamerikanaca crne rase 17.9%, i kod Hispanoamerikanaca 3.2%, u proseku oko 50% [127]. Prema podacima Danskog registra, učestalost mutacije je oko 52% u opštoj populaciji [129]. U našoj populaciji incidencija u zdravoj populaciji je oko 56,3%, s tim da heterozigoti čine oko 45.5% a homozigoti 10.9% [130]. Prisustvo ove mutacije dovodi do redukovane enzimske funkcije - oko 65% je očuvana kod heterozigota i oko 30% kod homozigota. Incidencija mutacije MTHFR A1298C je oko 54.6% u našoj populaciji, s tim da se kod heterozigota javlja u 39.3% a kod homozigota u 15.3% [130]. U homozigota sa mutacijom MTHFR A1298C, njena enzimska funkcija smanjena na oko 60% u odnosu na normalnu. Mutacije gena za MTHFR, u odsustvu povišenog nivoa homocisteina, nisu faktor rizika za kardiovaskularne bolesti, DVT, PE, niti spadaju u grupu oboljenja trombofilija. Poslednjih 20 godina brojne su studije koje pokušavaju da dovedu u vezu nivo homocisteina sa trombozama, kardiovaskularnim faktorima rizika, rizikom za nastanak maligniteta i komplikacijama u trudnoći. Rezultati su nekonzistentni, i u mnogome zavise od etničkih i geografskih osobina populacije ali i dalje su predmet istraživanja mnogih studija.

Hiperhomocisteinemija je takođe dokazana među bolesnicima obolelim od MPN [131,132,133]. Studija Amitrano i saradnici iz 2003. godine, je dokazala vezu između hiperhomocisteinemije i arterijskih tromboza [133], dok druge studije nisu to dokazale [120, 131, 132].

Papadakis i saradnici dokazali su mutiplom regresijom kod 68 bolesnika, da je MTHFR-C677T genetski polimorfizam nezavistan faktor za trombozne događaje kod bolesnika sa MPN [134].

U randomizovanim kliničkim ispitivanjima, dokazano je da hiperhomocisteinemija nije faktor rizika za trombozne incidente. Suplementacijom vitaminima iz B grupe (folnom kiselinom, vitaminima B6 i B12) redukuje se nivo homocisteina ali ne i rizik za nastanak tromboze, što ukazuje na to da je hiperhomocisteinemija posledica najverovatnije endotelne disfunkcije a ne nezavisni faktor rizika za trombozu [135,136].

## **1.5. JAK2V617F MUTACIJA I PROTROMBOZNI KLINIČKO-LABORATORIJSKI FENOTIP**

### **1.5.1. JAK2V617F MUTACIJA I KLINIČKI FENOTIP OBOLELIH OD ET**

Mnogobrojne studije impliciraju da JAK2V617F mutacija određuje klinički fenotip u obolelih od ET. Prema rezultatima ovih studija, JAK2V617F mutacija je češće prisutna u starijem životnom dobu, bolesnici imaju više nivoa hemoglobina i hematokrita, viši broj leukocita, niži broj trombocita, češću potrebu za citoreduktivnom terapijom i veću senzitivnost na istu, kao i veću tendenciju da se transformišu u PV [87, 137, 138, 139].

Protrombozni potencijal JAK2V617F mutacije manifestuje se mnogo češće tokom praćenja i lečenja bolesti, nego na početku bolesti [87]. U studiji Carrobio i saradnika, koja je imala 869 obolelih od ET i 415 od PV, učestalost arterijskih i venskih tromboza kod JAK2V617F negativnih obolelih od ET i JAK2V617F pozitivnih obolelih od ET i PV, bila je slična u prvih 5 godina praćenja, ali je nakon tog perioda značajno rasla u grupi JAK2 pozitivnih obolelih od ET i PV, u odnosu na obolele od ET koji nisu imali JAK2 mutaciju [42].

Iz meta analize koja je rađena u cilju utvrđivanja uloge JAK2V617F mutacije u pojavi venskih tromboza na atipičnim lokalizacijama (splanhnični venski sistem ili cerebralni venski sistem) kod obolelih od MPN, zaključeno je da navedena mutacija značajno povećava rizik za njihov nastanak (OR 53.98; 95% CI, 13.10-222.45). Isto tako, kod bolesnika koji su imali trombozu atipične lokalizacije, a nemaju dijagnozu MPN (bolesnici sa odsustvom simptoma i znakova bolesti i normalnom krvnom slikom) značajno je utvrditi prisustvo/odsustvo JAK2V617F mutacije [140].

### **1.5.2. JAK2V617F I LABORATORIJSKI FENOTIP OBOLELIH OD ET**

Dokazano je da homozigoti za JAK2V617F mutaciju (učestalost im je samo oko 2-4% kod obolelih od ET), imaju veći rizik za trombozne događaje u odnosu na heterozigote za JAK2V617F mutaciju [141].

Metodom protočne citometrije otkrivene su promene na trombocitima (povećana ekspresija CD62P, P-selektina, CD63 i tkivnog faktora), leukocitima (povećana ekspresija CD11b) i trombocitno-leukocitni agregati kod obolelih od ET. Sve ove promene su značajno izraženije kod pacijenata koji imaju opterećenje mutiranim alelom za JAK2V617F veće od 50% [87]. Protočnom

citometrijom i konfokalnom mikroskopijom dokazano je da je povećana ekspresija fosfatidil serina na eritrocitima, trombocitima, leukocitima i endotelnim ćelijama kod JAK2V617F i CALR pozitivnih bolesnika, kao i kod triple negativnih bolesnika. Oboleli od ET sa JAK2V617F pozitivnom mutacijom takođe pokazuju veći nivo ekspresije fosfatidil serina na krvnim i endotelnim ćelijama u odnosu na CALR pozitivne i triple negativne ispitanike. Ovakva ekspresija fosfatidil serina sračuje aktivirano parcijalno tromboplastinsko vreme (aPTT) i protrombinsko vreme (PT), ali i dramatično povećava nivo FXa, trombina i produkata fibrina [142].

Poslednjih godina objavljene su studije u kojima se pojačana ekspresija proteina na eritrocitima može dovesti u vezu sa kliničkim fenotipom. Studija je analizirala proteome eritrocita obolelih od MPN i identifikovala 51 prekomerno eksprimovan protein kod obolelih od PV i 86 kod obolelih od ET u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika. IQGAP1 je jedan od prekomerno eksprimovanih gena obolelih od MPN u odnosu na kontrolnu grupu i kod JAK2V617F pozitivnih pacijenata može da veže RhoA, Rac1 i Cdc42 i nakon toga aktivira GTP-Rac 1 i motilitet proteina citoskeleta PAK1. Ove promene u IQGAP1/Rho GTPase signalizaciji u eritrocitima obolelih od MPN u zavisnosti od JAK2V617F statusa, podržavaju hipotezu da modifikovani signalni putevi u eritrocitima participiraju u patogenezi tromboznih događaja [143].

Pored ćelija krvi, prisustvo JAK2V617F mutacije dokazano je i u endotelnim ćelijama krvnih sudova [35,144, 145]. Ovakav fenotip endotela sa proadhezivnim svojstvima, objašnjen je povećanom ekspresijom P-selektina na površini endotelnih ćelija i degranulacijom Vajbel-Paladovih telašaca. U studiji je dokazano da lečenje hidroksiureom smanjuje rizik od tromboza i patološku interakciju između leukocita i JAK2V617F pozitivnih endotelnih ćelija putem direktnog smanjanja ekspimovanog P selektina [65].

Koristeći analizu stvaranja trombina – thrombin generation assay (TGA) (koja je određena prisustvom ili odsustvom aktivisanog proteina C i APC rezistencijom), dokazan je fenotip obolelih od ET i PV koji se odlikuje pojavom APC rezistencije i hiperkoagulabilnim stanjem. U studiji su poređeni TGA kod obolelih od ET i PV u odnosu na prisustvo JAK2 mutacije i kontrolnu grupu zdravih ispitanika i zaključeno je da se kod JAK2 pozitivnih bolesnika češće registruje APC rezistencija u odnosu na JAK2V617F negativne bolesnike. Koncentracije FII, FV, slobodnog PS i inhibitora puta tkivnog faktora (TFPI) su snižene kod ovih bolesnika, posebno kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika. Multiplom regresijom dobijeno je da je nizak nivo slobodnog PS glavna

determinanta APC rezistencije, posebno kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika [146]. Ziolkowska i saradnici su u svom istraživanju potvrdili značajno manju aktivnost proteina C i proteina S kod obolelih od ET, ali veću aktivnost TFPI u odnosu na kontrolnu grupu. Značajno manja aktivnost proteina C je pronađena kod bolesnika koji su nosioci JAK2V617F mutacije u odnosu na bolesnike bez mutacije, dok je aktivnost TFPI značajno povećana kod žena u odnosu na muškarce, kod pacijenata preko 60 godina sa leukocitozom od preko  $11 \times 10^9/l$  i pretpostavlja se da je kompenzatorni mehanizam koji nastaje zbog protrombogenog stanja uslovljenog sniženim koncentracijama proteina C i S [147].

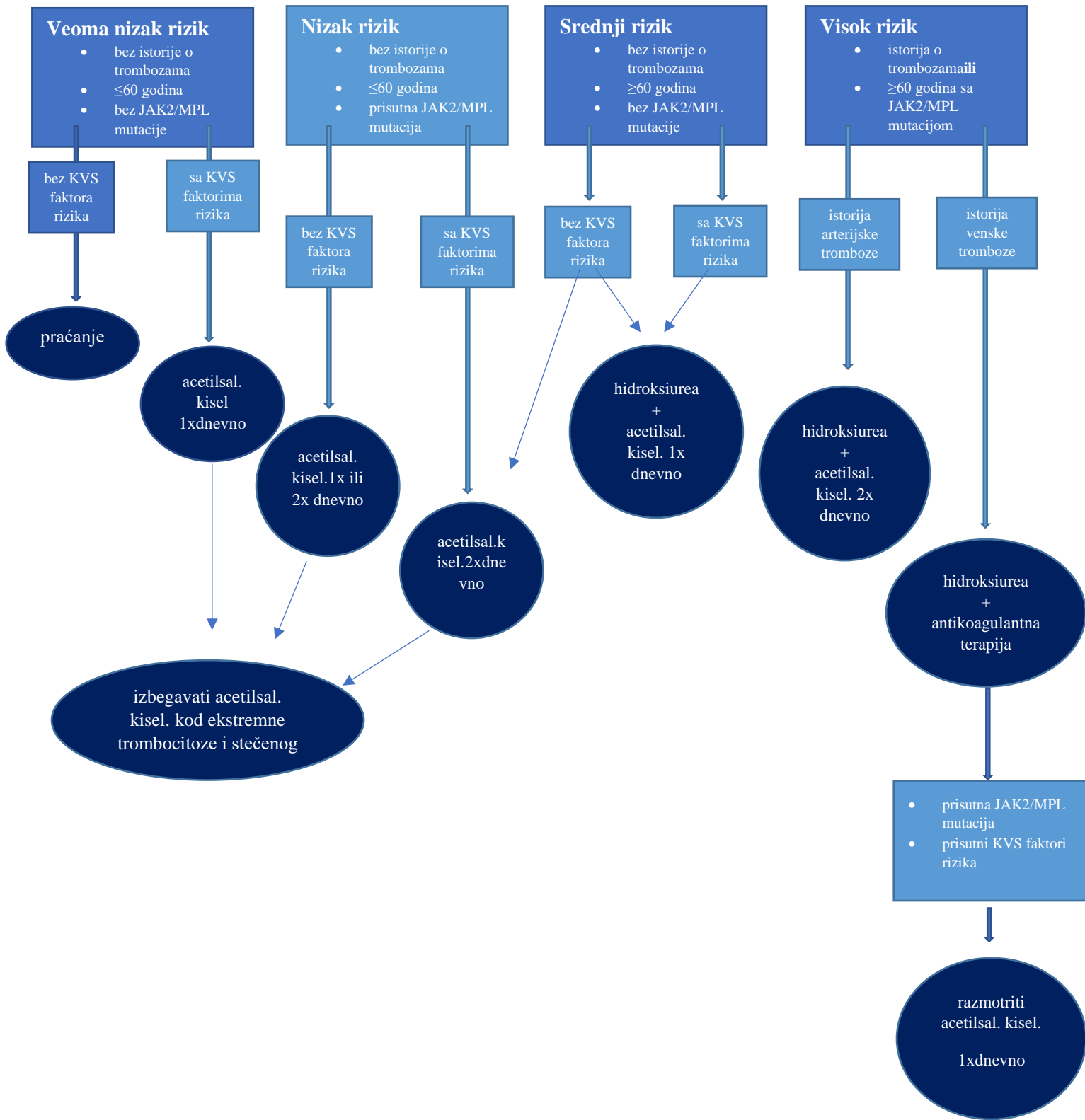
Već pomenuta studija De Stefano i saradnika utvrdila je da je prisustvo gena za nasledne trombofilije, uz JAK2V6217F mutaciju povećavalo rizik za trombozu 5 puta u poređenju sa bolesnicima kod kojih nisu detektovane ove mutacije [119].

## **1.6. STRATIFIKACIJA OBOLELIH OD ET NA OSNOVU RIZIKA ZA TROMBOZU**

Kategorizacija obolelih od ET prema riziku za trombozne komplikacije već je neko vreme predmet interesovanja istraživača. Barbui i saradnici predložili su podelu obolelih od ET prema riziku za tromboze na grupe sa visokim i niskim rizikom, u odnosu na starost i istoriju o prethodnim trombozama. Bolesnici su prema ovim kriterijumima smatrani niskorizičnim, ukoliko su bili mlađi od 60 godina i nisu imali prethodnih tromboza, a visokorizičnim, ukoliko su bili stariji od 60 godina i/ili su imali prethodne tromboze [148].

Prognozni bodovni sistem objavljen 2012. godine, IPSET score, uvrstio je JAK2V617F mutaciju i kardiovaskularne faktore rizika u prognozne parametre za nastanak tromboznih komplikacija kod obolelih od ET. U IPSET-tromboza prognoznom bodovnom sistemu, bodovi se dodeljuju na osnovu rezultata primene multivarijantne hazard analize: starost preko 60 godina (1 bod), istoriji tromboza (2 boda), kardiovaskularnim faktorima rizika (hiperholesterolemija, hipertenzija, šećerna bolest i pušenje) (1 bod), i JAK2V617F mutacionom statusu (2 boda). Prema IPSET prognoznom bodovnom sistemu, postoji podela na bolesnike sa ET sa niskim rizikom (0 ili 1 bod), srednjim (2 boda) i visokim (3 boda i više) rizikom za nastanak tromboznih komplikacija [71]. Hajder i saradnici 2016. godine su objavili revidirani IPSET prognozni sistem, koji je bolesnike sa ET podelio u 4 grupe u odnosu na rizik za nastanak tromboznih komplikacija: veoma nizak, nizak, srednji i visoki rizik [82].

Iz navedenih prognoznih modela, proizašle su preporuke za lečenje ovih bolesnika. Kod veoma niskog rizika od tromboza, obolelima od ET predlažu se redovne kontrole ili upotreba acetilsalicilne kiseline jednom dnevno (ukoliko su prisutni KVS faktori rizika), kod niskog rizika, acetilsalicilna kiselina dva puta dnevno, kod srednjeg rizika, acetilsalicilna kiselina jednom dnevno uz citoreduktivnu terapiju (individualni pristup u odnosu na KV rizik) i kod visokog rizika, citoreduktivna terapija uz antikoagulantnu terapiju i acetilsalicilnu kiselinu jednom dnevno (u odnosu na prisustvo KV faktora rizika) [149].



Slika 9. Revidirani IPSET prognozni sistem [82]

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE**

### **2.1. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

1. Utvrditi učestalost tromboznih komplikacija kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i prisustvom JAK2V617F mutacije u odnosu na bolesnike sa ovim oboljenjem kod kojih navedena mutacija nije dijagnostikovana.
2. Utvrditi učestalost vrste tromboznih komplikacija kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i prisutnom JAK2V617F mutacijom.
3. Proceniti povezanost kliničkih faktora rizika sa rizikom od nastanka tromboznih komplikacija kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom kod kojih je prisutna JAK2V617F mutacija (kardiovaskularni faktori rizika, starost ispitanika, prethodne tromboze).
4. Proceniti povezanost laboratorijskih parametara sa rizikom od nastanka tromboznih komplikacija kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom kod kojih je prisutna JAK2V617F mutacija (broj leukocita, trombocita, markeri trombofilije).

### **2.2. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

1. Kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i dokazanom JAK2V617F mutacijom postoji statistički značajna veća učestalost pojave tromboznih komplikacija u odnosu na bolesnike sa ovim oboljenjem kod kojih navedena mutacija nije detektovana.
2. Kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i dokazanom JAK2V617F mutacijom postoji veća učestalost pojave arterijskih tromboznih komplikacija u odnosu na venske trombozne komplikacije.
3. Nastanak tromboznih komplikacija kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i prisutnom JAK2V617F mutacijom je povezan sa ispitivanim kliničkim faktorima rizika (kardiovaskularni faktori rizika, starost ispitanika, prethodne tromboze).
4. Nastanak tromboznih komplikacija kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i prisutnom JAK2V617F mutacijom je povezan sa brojem leukocita, brojem trombocita i markerima trombofilije.



### **3. ISPITANICI I METODE**

Istraživanje je sprovedeno retrospektivno-prospektivno u periodu od 2016. do 2021. godine u Klinici za hematologiju i Centru za laboratorijsku medicinu, Kliničkog centra Vojvodine. Istraživanjem je obuhvaćeno 95 ispitanika, oba pola, uzrasta preko 18 godina, kod kojih je ustanovljena patohistološka dijagnoza esencijalne trombocitemije na osnovu kriterijuma SZO 2016. godine. Oboleli od ET su podeljeni u dve grupe, tako da je prvu grupu ispitanika sa JAK2V617F mutacijom činilo 48 bolesnika, dok je drugu grupu činilo 47 bolesnika bez JAK2V617F mutacije.

Pre uključivanja u istraživanje, bolesnici koji su ispunjavali kriterijume za uključivanje, bili su informisani o detaljima istraživanja i svoj pristanak su potvrdili potpisivanjem pristanka informisanog ispitanika.

Podaci o bolesnicima, kao što su: patohistološki nalaz bioptata kostne srži, molekularni nalaz JAK2V617F mutacije, demografski podaci, anamneza (sa posebnim osvrtom na glavne tegobe, ranije bolesti i ličnu anamnezu) i klinički pregled, preuzeti su iz postojeće medicinske dokumentacije (polikliničkih kartona) Klinike za hematologiju.

#### **3.1. ISPITIVANA I KONTROLNA GRUPA**

Ispitanici i kontrolna grupa su birani metodom slučajnog stratifikovanog uzorkovanja, u odnosu na JAK2V617 mutaciju.

##### **ISPITIVANA GRUPA**

Ispitivanu grupu činilo je 48 obolelih od ET sa pozitivnom JAK2V617F mutacijom dijagnostikovanih i lečenih u ambulanti ili Klinici za hematologiju u periodu od 2016.-2021. godine.

Kriterijumi za uključivanje u ispitivanu grupu bili su:

- priložen nalaz JAK2V617F mutacije rađen u referentnoj ustanovi (Vojnomedicinska akademija, Beograd) u medicinskoj dokumentaciji
- postavljena dijagnoza esencijalne trombocitemije (revidirana prema kriterijumima SZO iz 2016. godine)
- potpisan pristanak informisanog ispitanika

Kriterijumi za isključivanje ispitanika iz ovog istraživanja:

- ispitanici kojima je prethodno dokazan poremećaj funkcionalnosti hemostaznog mehanizma
- akutna bolest u momentu uzorkovanja krvi ili 6 nedelja pre toga
- bolesti jetre i bubrega
- ispitanici za dokazanim malignitetom
- trudnoća kod ispitanica
- duševne bolesti
- odbijanje bolesnika da potpiše pristanak informisanog ispitanika

## KONTROLNA GRUPA

Kontrolnu grupu činilo je 47 obolelih od ET bez JAK2V617F mutacije, dijagnostikovanih i lečenih u ambulanti ili Klinici za hematologiju u periodu od 2016.-2021. godine.

Kriterijumi za uključivanje u kontrolnu grupu bili su

- priložen negativan nalaz određivanja JAK2V617F mutacije rađen u referentnoj ustanovi (Vojnomedicinska akademija, Beograd) u medicinskoj dokumentaciji
- postavljena dijagnoza esencijalne trombocitemije (prema kriterijumima SZO iz 2016. godine)
- potpisan pristanak informisanog ispitanika

Kriterijumi za isključivanje kontrolnih ispitanika iz ovog istraživanja bili su identični kriterijumima za isključivanje bolesnika kao u ispitivanoj grupi.

## 3.2. METODE ISPITIVANJA

Prilikom posete lekaru, u ambulanti Klinike za hematologiju, a nakon potpisivanja pristanka informisanog ispitanika, svim ispitanicima je uzimana detaljna anamneza, a potom su bolesnici popunjavali upitnik koji se odnosio na faktore rizika za nastanak tromboznih komplikacija (pušenje, hiperlipoproteinemija, hipertenzija, šećerna bolest i terapija navedenih oboljenja) kao i na prethodne tromboze. Nakon uzimanja anamneze i popunjavanja upitnika, bolesnicima je uzrokovana krv iz periferne vene za predviđene laboratorijske analize.

### **3.2.1. UPITNIK O PRETHODNIM TROMBOZAMA, FAKTORIMA RIZIKA ZA NASTANAK TROMBOZA, MIKROCIRKULATORNIM POREMEĆAJIMA, KOMORBIDITETIMA I MODALITETU LEČENJA ET**

Nakon potpisivanja pristanka informisanog ispitanika, svaki ispitanik je popunjavao priloženi upitnik koji se odnosio na faktore rizika za nastanak tromboza, prethodne tromboze, tegobe porekla mikrocirkulatornih promena i druge komorbiditete.

Podaci o prethodnim trombozama dokumentovani su propratnim izveštajem specijaliste u određenoj oblasti i dokazani metodom EHO Doppler pregleda, angiografije ili CT angiografije. Tromboembolijski događaji koji nisu dokumentovani na ovaj način, nisu uzimani u obzir.

U faktore rizika za nastanak tromboza svrstani su kardiovaskularni faktori rizika: pušenje, povišen krvni pritisak (HTA), šećerna bolest (DM) i hiperlipoproteinemije (HLP). Ukoliko bi bolesnik imao neki od faktora rizika, neophodno je bilo da navede koliko dugo se leči, da li je bolest kontrolisana i da li redovno uzima preporučenu terapiju. Svi bolesnici uključeni u istraživanje a koji su imali podatak da se leče od povišenog krvnog pritiska, šećerne bolesti ili hiperlipoproteinemija bili su pod terapijom i redovnim kontrolama nadležnih inetrnista.

Tegobe porekla mikrocirkulatornog sistema odnosile su se na ponavljajuće glavobolje, poremećaje vida (prolazno slepilo, prolazno zamućenje vida), poremećaje sluha (prolazna naglupost, zujanje u ušima), utrnulost i bledilo prstiju šaka i stopala na hladnoći i u stresu, žareću bolnost, crvenilo i povišenu temperaturu kože šaka i stopala, utrnulost i bolnost u rukama i nogama. Ukoliko je bolesnik imao jednu ili više prisutnih tegoba, označeno je da ima mikrocirkulatorne promene krvnih sudova.

Podaci o komorbiditetima su dobijeni posredstvom upitnika, uz propratnu medicinsku dokumentaciju i odnosili su se na pridružene ranije ili aktuelne bolesti i njihovu terapiju.

Upitnikom i iz medicinske dokumentacije dobijen je podatak o modalitetu lečenja osnovnog oboljenja, esencijalne trombocitemije, kao i dužina trajanja terapije.

U trombozne komplikacije su svrstane arterijske tromboze (akutni infarkt miokarda, cerebrovaskularni insult, tranzitorni ishemijski atak, arterijske tromboze gornjih i donjih ekstremiteta) i venske tromboembolije (tromboze dubokih vena nogu i ruku, plućne embolije,

splanhnične venske tromboze, tromboze cerebralnih sinusa, tromboze portnih vena, tromboze hepatičnih vena, tromboze vena retine i površinske venske tromboze) [20].

Svi trombozni događaji su podeljeni u tri kategorije u odnosu na vreme postavljanja dijagnoze esencijalne trombocitemije, na sledeći način:

- a. Prethodne tromboze - trombozni događaj koji se dogodio pre postavljanja dijagnoze esencijalne trombocitemije. Prethodne tromboze su standardni faktor rizika za nastanak novih tromboza tokom praćenja i lečenja obolelih od ET.
- b. Tromboze pri dijagnozi bolesti – trombozni događaji nastali u vreme hematološkog ispitivanja trombocitoze i sprovođenja hematološke dijagnostike.
- c. Tromboze nastale u periodu praćenja i lečenja bolesnika.

Svaki od ovih događaja morao je da bude dokumentovan propratnim izveštajem specijaliste u određenoj oblasti i dokazan metodom EHO Doppler pregleda, angiografije ili CT angiografije. Tromboembolijski događaji koji nisu dokumentovani na ovaj način, nisu uzimani u obzir.

### **3.2.2. UZORKOVANJE KRV I ZA LABORATORIJSKE ANALIZE**

Bolesnicima sa ET, iz ispitivane i kontrolne grupe, je nakon adekvatne pripreme u vidu dvanaestočasovnog gladovanja, izvršeno uzimanje uzoraka kubitalne venske krvi. Krv je uzimana između 7 i 9 časova pre podne, našte, nakon petnaestominutnog odmora, u sedećem položaju, sa posebnom pažnjom da se ne izazove duža venostaza. Uzorkovanje krvi je vršeno u 8 epruveta. Uzorci krvi sa K2-EDTA kao antikoagulansom su uzimani za analizu krvne slike, izolaciju DNK u cilju detekcije genskih mutacija (FII G20210A, FV Leiden, MTHFRA1298C i MTHFRC677T). Uzorci krvi sa Na-citrat-om kao antikoagulansom su korišćeni za određivanje brzine sedimentacije eritrocita i hemostazne testove. Uzorci krvi sa heparinom kao antikoagulansom korišćeni su za analizu homocisteina. Uzorci krvi bez antikoagulansa (serum) su korišćeni za biohemijske analize krvi, određivanje lipidskog statusa, antikardiolipinskih i anti-beta2-glikoproteinskih (anti-beta2-GP) antitela. Od laboratorijskih analiza rađene su: sedimentacija eritrocita (SE), kompletna krvna slika sa trombocitnim parametrima (MPV, PCT, PDW), C-reaktivni protein (CRP), šećer u krvi, aspartat aminotransferaza (AST), alanin aminotransferaza (ALT), gama glutamil transpeptidaza (GGT), alkalna fosfataza (ALP), laktat dehidrogenaza (LDH), bilirubin ukupni i direktni, urea, kreatinin, mokraćna kiselina, natrijum

(Na), kalijum (K), hlor (Cl), kalcijum (Ca), fosfor (P), elektroforeza serumskih proteina, vreme krvarenja, aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme (aPTT), protrombinsko vreme (PT), trombinsko vreme (TT), fibrinogen, euglobulinsko vreme lize koaguluma, protein C, protein S, antitrombin (AT), rezistencija na aktivisani protein C (APC rezistencija), antikardiolipinska antitela klase IgM i IgG, antibeta2 ( $\beta$ 2) glikoprotein (GP) antitela klase IgM i IgG, D-dimer, lupus antikoagulans, lipidski status, lipoprotein a (Lp(a)), folna kisleina, homocistein i molekularne analize metodom lančanepolimeraze na prisustvo faktor V Leiden mutacije, mutacije u genu za sinetzu protrombina G20210A i mutacije metilentetrahidrofolat reduktaze. Na osnovu urađenih planiranih laboratorijskih analiza i anamnestičkih podataka, iz istraživanja su isključeni oboleli od ET koji su imali akutnu bolest u momentu uzorkovanja krvi ili 6 nedelja pre toga, kako bi se eliminisao potencijalni uticaj reakcije akutne faze, kao i bolesti jetre i bubrega.

Parametri kompletne krvne slike, broj leukocita, broj trombocita, MPV, PCT i PDW su određivani na automatizovanim hematološkim brojačima ABH Pentra HL (Horiba, Japan) i XN-1000 SA-01 (Sysmex, Germany) uz upotrebu komercijalnih setova istog proizvođača.

Biohemijske analize (glikemija, urea, kreatinin, mokraćna kiselina, aspartat aminotransferaza, alanin aminotransferaza, gama-glutamil transferaza, alkalna fosfataza, bilirubin ukupni i direktni, laktat dehidrogenaza, natrijum, kalijum, hlor, kalcijum, fosfor, folna kisleina, homocistein) su određivane standardnim biohemijskim metodama: spektrofotometrijski, odnosno enzimatskim metodama na biohemijskom analizatoru ADVIA 1800, uz korišćenje komercijalnih setova proizvođača Simens, Nemačka.

Marker inflamacije (CRP) je određivan imunoturbidimetrijskom metodom, na biohemijskom analizatoru ADVIA 1800, uz korišćenje komercijalnih setova proizvođača Simens, Nemačka.

Parametri lipidskog statusa određivani su standardnim enzimskim biohemijskim metodama, a relevantni lipidski odnosi izračunavanjem. Lipoprotein A je određivan imunoturbidimetrijskom metodom. Navedene analize izvršene su na automatizovanom biohemijskom analizatoru Architect ci4100 firme Abbott.

Funkcionalnost hemostaznog mehanizma procenjivana je koagulometrijskim metodama (aPTT, PT, TT, fibrinogen i APC rezistencija); manuleno (vreme krvarenja po Ivy-ju), korišćenjem vodenog kupatila (euglobulinsko vreme lize koaguluma); imunoturbidimetrijskom metodom (D-

dimer i protein S) i hromogenom metodom (protein C i antitrombin). Svi testovi, osim manuelnih i rađenih u vodenom kupatilu, rađeni su na automatizovanom koagulometru marke BCS XP Siemens.

Elektroforeza serumskih proteina rađena je metodom razdvajanja pod dejstvom električne struje na aparatu Hydrasus 2 Scan Sebia.

Antikardiolipinska antitela IgM i IgG, anti-beta2-GP antitela IgM i IgG određivana su ELISA metodom na CHORUS aparatu.

Analiza genetičkog određivanja markera trombofilije rađena je metodom alelske diskriminacije na aparatu ABI PRISM 7000 SEQUENCE DETECTION SYSTEM.

Uzorkovanje krvi za navedene laboratorijske analize, kod obolelih od ET u ispitivanoj i kontrolnoj grupi, vršeno je najmanje 6 meseci nakon postavljanja dijagnoze osnovne bolesti i lečenja.

### **3.2.3. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA**

Za statističku obradu podataka korišten je softver IBM SPSS Statistics, verzija 26.0. Pri statističkoj obradi podataka korištene su metode deskriptivne statistike (prosečna vrednost ( $\bar{x}$ ), standardna devijacija (SD), najmanja vrednost (min), najveća vrednost (max), broj (n) i procenat (%) u zavisnosti od vrste podataka).

Za određivanje statističke značajnosti razlika u učestalosti pojava tromboza u odnosu na vreme nastanka i vrstu tromboza u ispitivanoj i kontrolnoj grupi, korišćen je hi-kvadrat test za nezavisne uzorke. Za određivanje statističke značajnosti razlika za ostale kategorijske varijable u ispitivanoj i kontrolnoj grupi (starost, prethodne tromboze, hipertenzija, diabetes melitus, hiperlipoproteinemija, pušenje, kardiovaskularni faktori rizika, genske mutacije, lupusni antikoagulans, antikardiolipinska antitela, antibeta2 glikoproteinska i antitela) takođe je korišćen hi-kvadrat test za nezavisne uzorke.

Za ispitivanje povezanosti tromboznih događaja sa ispitivanim kliničkim parametrima, korišten je Pirsonov test korelacije, obzirom da su ispitivani odnosi kategorijskih varijabli. Jedino u slučaju starosti koja je kontinuirana varijabla, rađena je point-biserijalna korelacija.

Za određivanje statističke značajnosti razlika vrednosti kontinuiranih varijabli između ispitanika i kontrola, korišćen je Studentov t-test za nezavisne uzorke kada su skupovi imali normalnu

raspodelu, odnosno Man-Whitney U test kada nisu imali normalnu raspodelu. Za ispitivanje normalnosti raspodele korišćen je Kolmogorov-Smirnov test.

Korelacije između vrsta tromboznih događaja i ispitivanih laboratorijskih parametara određivane su point-biserijalnim koeficijentom korelacije. Nakon što su dobijeni parametri koji su značajno povezani sa trombozama u ispitivanoj i kontrolnoj grupi, rađena je dvofaktorska analiza ANOVA (multivarijatna analiza) kojom smo proverili doprinos laboratorijskih parametara nastanku određenih tromboznih komplikacija u zavisnosti od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije. Po dobijanju nezavisnih varijabli u prethodnoj analizi, dalje je korišćena kondicionalna logistička regresija kako bi se dobili konkretni doprinosi određenih parametara.

Hipoteze su prihvaćene ili odbačene sa rizikom  $p < 0.05$ , odnosno sa verovatnoćom 95 %.

Podaci su prikazani tekstualno, tabelarno i grafikonima.

## 4. REZULTATI

### 4.1. DEMOGRAFSKI PODACI ISPITIVANE I KONTROLE GRUPE

Tabela 1. Demografske karakteristike ispitivane i kontrolne grupe

<i>Karakteristike</i>	<i>Ispitivana grupa (JAK2V617F+)</i>	<i>Kontrolna grupa (JAKV617F-)</i>	<i>Statistička značajnost (p)</i>
<i>Pol, n (%)</i>			
<i>Muški</i>	17 (35.4)	13 (27.7)	0.41
<i>Ženski</i>	31 (64.6)	34 (72.3)	
<i>Starost u momentu postavljanja dijagnoze, (godine <math>\bar{x}(SD)</math> min-max</i>	50.3 ( $\pm$ 13.3) 25-79	52.3 ( $\pm$ 14.6) 19-76	0.32
<i>Starost u momentu uključivanja u istraživanje, godine <math>\bar{x}(SD)</math> min-max</i>	54.04 ( $\pm$ 13.05) 28-80	56.04 ( $\pm$ 14.02) 25-82	0.47
<i>Vreme praćenja, godine <math>\bar{x}(SD)</math> min-max</i>	5.96 ( $\pm$ 3.2) 1-16	5 ( $\pm$ 3.9) 1-19	0.054
<i>Citoreduktivna terapija, n (%)</i>			
<i>Ne</i>	18 (37.5)	19 (40.4)	0.77
<i>Da</i>	30 (62.5)	28 (59.6)	
<i>Mikrocirkulatorni poremećaji, n (%)</i>			
<i>Ne</i>	19 (39.6)	22 (46.8)	0.48
<i>Da</i>	29 (60.4)	25 (53.2)	
<i>Ukupni trombozni događaji, n (%)</i>			
<i>Ne</i>	29 (60.4)	40 (85.1)	<b>0.01</b>
<i>Da</i>	19 (39.6)	8 (17)	

Prema podacima iz tabele, prosečna starost pri postavljanju dijagnoze bolesti u ispitivanoj grupi je bila 50.3 ( $\pm$ 13.3) godina, dok je kontrolna grupa bila nešto starija, sa prosečnom starosti 52.3 ( $\pm$ 14.6) godina, bez statistički značajne razlike ( $p=0.32$ ). Prema polnoj strukturi, u istraživanju su dominirale osobe ženskog pola koje su činile ukupno 68,4 % ispitivane i kontrolne grupe. Nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na pol između ispitivane i kontrolne grupe ( $p = 0.41$ ). Period praćenja bolesnika u ispitivanoj grupi bio je 5.96 ( $\pm$ 3.2) godina, dok je u kontrolnoj bio 5 ( $\pm$ 3.9) godina, bez statistički značajne razlike ( $p=0.054$ ).

Bolesnici u ispitivanoj i kontrolnoj grupi su u momentu uključivanja u istraživanje imali terapiju



propisanu od strane nadležnog hematologa. U ispitivanoj i kontrolnoj grupi 100% bolesnika je u terapiji redovno uzimalo acetilsalicilnu kiselinu u dozi od 100 mg/dan. Citoreduktivnom terapijom hidroksiureom lečeno je 62.5% bolesnika u ispitivanoj grupi i 59.6% u kontrolnoj grupi, bez statistički značajne razlike ( $p=0.77$ ). Mikrocirkulatorne poremećaje imali su bolesnici u obe grupe, 60.4% u ispitivanoj grupi, u odnosu na 53.2% bolesnika u kontrolnoj ( $p=0.48$ ). Trombozni događaji verifikovani su kod 39.6% bolesnika sa prisutnom JAK2V617F mutacijom, u odnosu na 17% bolesnika bez mutacije, sa statistički značajnom razlikom ( $p=0.01$ ).

#### 4.2. TROMBOZNI DOGAĐAJI, VRSTA I LOKALIZACIJA

**Tabela 2. Učestalost i vrste tromboznih događaja u zavisnosti od vremena nastanka**

<i>Populacija obolelih od ET, n=95</i>	<i>Svi trombozni događaji</i>	<i>Arterijski trombozni događaji</i>	<i>Venski trombozni događaji</i>
<i>Prethodne tromboze n, (%)</i>	13 (13.7)	9 (9.5)	5 (5.3)
<i>Tromboze pri dijagnozi n, (%)</i>	12 (12.6)	7 (7.4)	5 (5.3)
<i>Tromboze tokom lečenja n, (%)</i>	7 (6.3)	6 (5.3)	1 (1)

U tabeli 2. su prikazani trombozni događaji u celoj populaciji obolelih od ET (ispitivana i kontrolna grupa) u odnosu na vreme nastanka i vrstu tromboznih događaja.

#### 4.2.1. UČESTALOST TROMBOZNIH DOGAĐAJA U ISPITIVANOJ I KONTROLNOJ GRUPI

Tabela 3. Učestalost određenih vrsta tromboznih događaja u odnosu na vreme nastanka

<i>Vrsta tromboznih događaja</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+) n=48</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-) n=47</i>	<i>Statistička značajnost (p)</i>
<b><i>Svi trombozni događaji n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	29 (60.4)	40 (85.1)	<b>0.01*</b>
<i>Da</i>	19 (39.6)	8 (17)	
<b><i>Sve arterijske tromboze n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	37 (77.1)	39 (83)	0.47
<i>Da</i>	11 (22.9)	8 (17)	
<b><i>Sve venske tromboze n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	39 (81.3)	46 (97.9)	<b>0.01*</b>
<i>Da</i>	9 (18.8)	1 (2.1)	
<b><i>Prethodne tromboze n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	39 (81.30)	43 (91.5)	0.15
<i>Da</i>	9 (18.8)	4 (8.5)	
<b><i>Prethodne arterijske tromboze n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	43 (89.6)	43 (91.8)	0.75
<i>Da</i>	5 (10.4)	4 (8.5)	
<b><i>Prethodne venske tromboze n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	43 (89.6)	47 (100)	<b>0.02*</b>
<i>Da</i>	5 (10.4)	0 (0)	
<b><i>Tromboze pri dijagnozi n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	40 (83.3)	43 (91.5)	0.23
<i>Da</i>	8 (16.7)	4 (8.5)	
<b><i>Arterijske tromboze pri dijagnozi n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	44 (91.7)	44 (93.6)	0.72
<i>Da</i>	4 (8.3)	3 (6.4)	
<b><i>Venske tromboze pri dijagnozi n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	44 (91.7)	46 (97.9)	0.18
<i>Da</i>	4 (8.3)	1 (2.1)	
<b><i>Tromboze tokom lečenja n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	43 (89.6)	46 (97.9)	0.1
<i>Da</i>	5 (10.4)	1 (2.1)	
<b><i>Arterijske tromboze tokom lečenja n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	44 (91.7)	46 (97.9)	0.18
<i>Da</i>	4 (8.3)	1 (2.1)	
<b><i>Venske tromboze tokom lečenja n, (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	47 (97.9)	47 (100)	0.32
<i>Da</i>	1 (2.1)	0 (0)	

Napomena. \*  $p < .05$

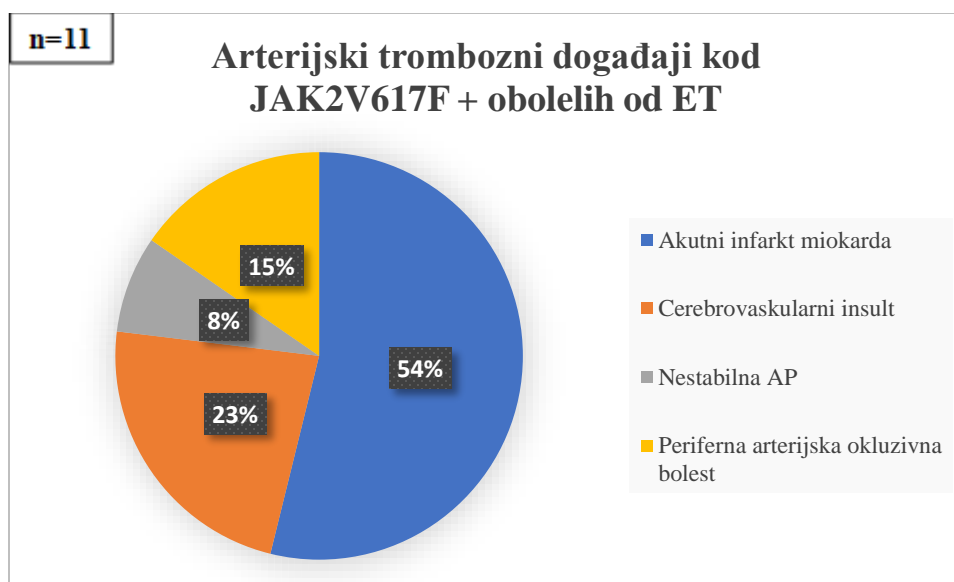
Arterijski trombozni događaji su registrovani kod 22.9% bolesnika sa prisutnom JAK2V617F mutacijom i u 17% bolesnika bez mutacije, bez statistički značajne razlike ( $p=0.47$ ). Venske tromboze imalo je 18.8% ispitanika i 2.1% bolesnika u kontrolnoj grupi sa statističkom značajnošću od  $p=0.01$ . Prethodni trombozni događaji registrovani su kod 9 (18.8%) bolesnika sa prisutnom mutacijom JAK2V617F, od kojih je 1 bolesnik preležao i arterijsku i vensku trombozu, tako da su se prethodni arterijski trombozni događaji zabeleženi kod 5 bolesnika i venski kod takođe 5 (10.4%) bolesnika. U kontrolnoj grupi bolesnika bez JAK2V617F mutacije, prethodne tromboze su zabeležene kod 4 (8.5%) bolesnika, i sve četiri su bile arterijske tromboze.

Statistički značajna razlika je postojala samo u slučaju prethodnih venskih tromboza poredeći ispitivanu i kontrolnu grupu ( $p=0.02$ ).

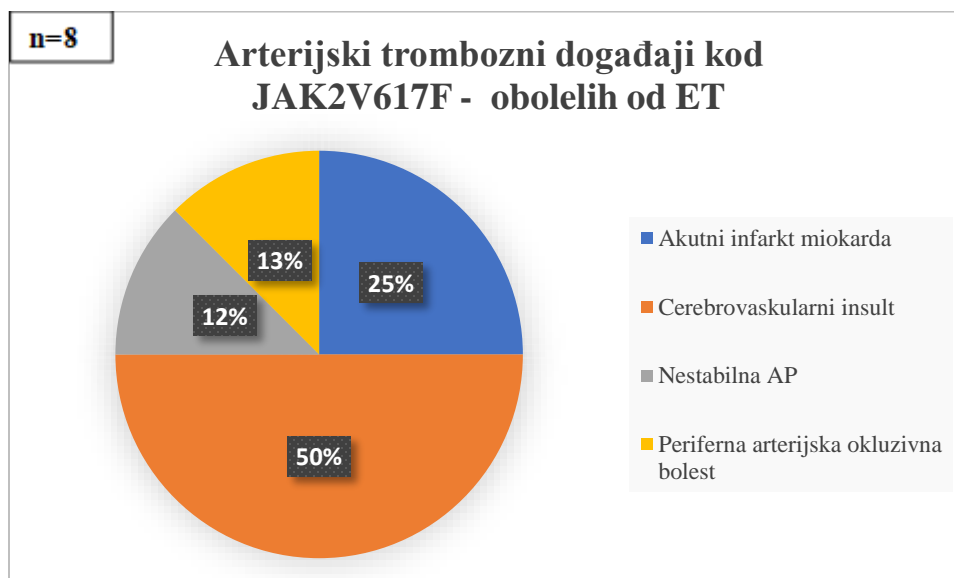
Uvidom u tabelu zaključuje se da se razlike u učestalosti pojava tromboznih događaja kod bolesnika sa prisutnom JAK2V617F mutacijom i bez nje, mogu uočiti u slučaju svih tromboznih događaja ( $p<0.05$ ), na račun svih venskih tromboznih događaja ( $p<0.05$ ) i prethodnih venskih tromboznih događaja ( $p<0.05$ ).

#### 4.2.2. LOKALIZACIJA TROMBOZNIH DOGAĐAJA

**Grafikon 1. Arterijski trombozni događaji kod obolelih od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom**



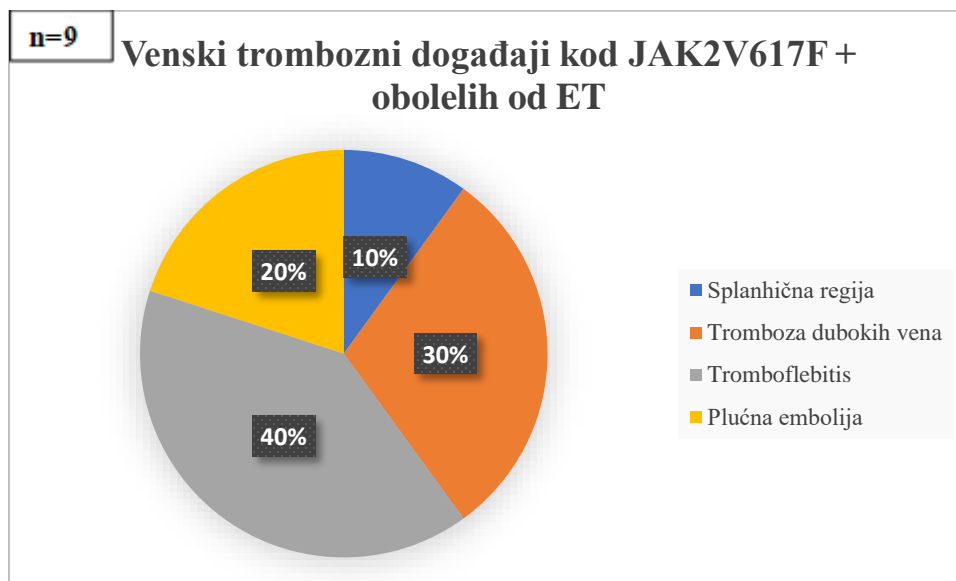
**Grafikon 2. Arterijski trombozni događaji kod obolelih od ET sa odsutnom JAK2V617F mutacijom**



U ispitivanoj grupi registrovano je ukupno 13 arterijskih tromboznih događaja kod 11 bolesnika. Kod 2 bolesnika arterijski trombozni događaji su se dva puta dogodili, prvi put pri postavljanju dijagnoze osnovne bolesti, drugi put tokom lečenja i praćenja bolesnika. Akutni infarkt miokarda je kod ispitivane grupe registrovan 7 puta (54%), cerebrovaskularni insult 3 puta (23%), periferna okluzivna arterijska bolest 2 puta (15%) i nestabila angina pektoris jednom (8%).

Među arterijskim tromboznim događajima, kod obolelih bez JAK2V617F mutacije, cerebrovaskularni insult je registrovan 4 puta (50%), akutni infarkt miokarda 2 puta (25%), periferna okluzivna arterijska bolest jednom (12.5%) i nestabila angina pektoris jednom (12.5%).

**Grafikon 3. Venski trombozni događaji kod obolelih od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom**



U ispitivanoj grupi registrovano je 10 tromboznih događaja kod 9 bolesnika. Jedan bolesnik u ispitivanoj grupi je imao dva trombozna događaja, jedan u momentu postavljanja dijagnoze esencijalne trombocitemije, a drugi tokom praćenja i lečenja. Tromboflebitisi su registrovani 4 puta (40%), tromboza dubokih vena 3 puta (30%), plućna embolija 2 puta (20%) i tromboza vene splanhinčnog sistema jednom (10%).

U kontrolnoj grupi registrovan je jedan trombozni događaj, plućna embolija u momentu postavljanja dijagnoze osnovne bolesti.

#### 4.2.3. RAZLIKE U UČESTALOSTI VRSTA TROMBOZNIH DOGAĐAJA KOD OBOLELIH OD ET SA PRISUTNOM JAK2V617F MUTACIJOM

**Tabela 4. Razlike u učestalosti vrsta tromboznih događaja u ispitivanoj grupi u odnosu na vreme nastanka**

<i>Vrsta tromboznih događaja</i>	<i>f</i> kod bolesnika sa mutacijom n=48	$\chi^2$ ( <i>df</i> = 5)	<i>p</i>
<i>Prethodne arterijske tromboze, n (%)</i>	5 (10.41%)	2.83	.73
<i>Prethodne venske tromboze, n (%)</i>	5 (10.41%)		
<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi, n (%)</i>	4 (8.33%)		
<i>Venske tromboze pri dijagnozi, n (%)</i>	4 (8.33%)		
<i>Arterijske tromboze tokom lečenja, n (%)</i>	4 (8.33%)		
<i>Venske tromboze tokom lečenja, n (%)</i>	1 (2.08%)		

*Napomena.* *f* – frekvencija tromboze;  $\chi^2$  – vrednost hi-kvadrat testa; *df* – stepen poverenja; *p* – nivo značajnosti.

Uvidom u tabelu 4. zaključuje se da se razlike u učestalosti pojava arterijskih i venskih događaja kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i dokazanom JAK2V617F mutacijom ne mogu uočiti u slučaju ispitivanih varijabli ( $\chi^2 = 2.83$ ,  $p = .73$ ). Tačnije, može se zaključiti da su sve ispitivane tromboze podjednako zastupljene kod ove grupe bolesnika i da se statistički značajne razlike u njihovoj frekventnosti ne mogu detektovati.

#### 4.2.4. RAZLIKE U UČESTALOSTI VRSTA TROMBOZNIH DOGAĐAJA KOD OBOLELIH OD ET BEZ PRISUTNE JAK2V617F MUTACIJE

Tabela 5. Razlike u učestalosti vrsta tromboznih događaja u kontrolnoj grupi u odnosu na vreme nastanka

<i>Vrsta tromboznih događaja</i>	<i>f kod bolesnika bez mutacije</i> n=47	$\chi^2$ ( <i>df</i> = 5)	<i>p</i>
<i>Prethodne arterijske tromboze, n (%)</i>	4 (8.51%)	9.00	.11
<i>Prethodne venske tromboze, n (%)</i>	0 (0%)		
<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi, n (%)</i>	3 (6.38%)		
<i>Venske tromboze pri dijagnozi, n (%)</i>	1 (2.13%)		
<i>Arterijske tromboze tokom lečenja, n (%)</i>	1 (2.13%)		
<i>Venske tromboze tokom lečenja, n (%)</i>	0 (0%)		

Napomena. *f* – frekvencija tromboze;  $\chi^2$  – vrednost hi-kvadrat testa; *df* – stepen poverenja; *p* – nivo značajnosti

Uvidom u tabelu 5. zaključuje se da se razlike u učestalosti pojave arterijskih i venskih događaja kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i bez dokazane JAK2V617F mutacije ne mogu uočiti u slučaju ispitivanih varijabli ( $\chi^2 = 9.00$ ,  $p = .11$ ). Tačnije, može se zaključiti da su sve ispitivane varijable podjednako zastupljene kod ove grupe bolesnika i da se statistički značajne razlike u njihovoj frekventnosti ne mogu detektovati.

### 4.3. UČESTALOST KLINIČKIH FAKTORA RIZIKA U ISPITIVANOJ I KONTROLNOJ GRUPI

#### 4.3.1. PRETHODNI TROMBOZNI DOGAĐAJI I STAROST KAO STANDARDNI FAKTORI RIZIKA ZA TROMBOZU KOD OBOLELIH OD ET

Tabela 6. Učestalost standardnih faktora rizika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

<i>Standardni faktori rizika</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>	<i>Kontrolna grupa (JAKV617F-)</i>	<i>p</i>
<i>Starost, n, (%)</i>			
< 60 godina pri dg	36 (75)	30 (63.8)	0.24
≥ 60 godina pri dg	12 (25)	17 (36.2)	
<i>Prethodne tromboze n, (%)</i>			
Ne	39 (81.30)	43 (91.5)	0.15
Da	9 (13.7)	4 (8.5)	

U momentu postavljenja dijagnoze 22.9% bolesnika sa JAK2V617F mutacijom je bilo starije od 60 godina, u odnosu na 36.2% bolesnika bez JAK2V617F mutacije, ali bez statistički značajne razlike ( $\chi^2 = 1.4$ ,  $p=0.24$ ). Učestalost prethodnih tromboza u ispitivanoj grupi je bila 13.7%, u kontrolnoj 8.5%, bez statistički značajne razlike ( $\chi^2 = 2.1$ ,  $p=0.15$ ).

#### 4.3.2. KARDIOVASKULARNI FAKTORI RIZIKA ZA TROMBOZU KOD OBOLELIH OD ET

Tabela 7. Učestalost kardiovaskularnih faktora rizika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

<i>Kardiovaskularni faktori rizika</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>	<i>Kontrolna grupa (JAKV617F-)</i>	<i>p</i>
<i>Hipertenzija n, (%)</i>			
Ne	26 (54.2)	25 (53.2)	0.92
Da	22 (45.8)	22 (46.8)	
<i>Diabetes mellitus n, (%)</i>			
Ne	45 (93.8)	45 (89.4)	0.44
Da	3 (6.2)	5 (10.6)	
<i>Dislipidemija n, (%)</i>			
Ne	22 (44.7)	21 (44.7)	0.91
Da	26 (54.2)	26 (55.3)	
<i>Pušači n, (%)</i>			
Ne	26 (54.2)	37 (78.7)	<b>0.01*</b>
Da	22 (45.8)	10 (21.3)	
<i>Kardiovaskularni faktori rizika n, (%)</i>			
Ne	10 (20.8)	14 (29.8)	0.31
Da	38 (79.2)	33 (70.2)	

Napomena. \*  $p < .05$



Iz tabele se uočava da nema razlike u učestalosti prisustva hipertenzije, diabetesa mellitusa i dislipidemija u ispitivanoj i kontrolnoj grupi ( $p=0.92$ ,  $p=0.44$ ,  $p=0.91$ ). Pušenje kao kardiovaskularni faktor rizika, je češće prisutno u ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu, sa statistički značajnom razlikom ( $p<0.05$ ).

Prisustvo bar jednog kardiovaskularnog faktora rizika ima približno istu učestalost u ispitivanoj i kontrolnoj grupi ( $p=0.31$ ).

#### 4.4. POVEZANOST TROMBOZNIH DOGAĐAJA SA ISPITIVANIM KLINIČKIM PARAMETRIMA

##### 4.4.1. POVEZANOST ISPITIVANIH KLINIČKIH PARAMETARA KOD OBOLELIH OD ET SA PRISUTNOM JAK2V617F MUTACIJOM

Tabela 8. Povezanost kliničkih parametara sa tromboznim događajima u ispitivanoj grupi

<i>Standardni kardiovaskularni faktori rizika kod obolelih od ET</i>	<i>Tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Tromboze tokom lečenja</i>	<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<i>Venske tromboze tokom lečenja</i>
<i>HTA</i>	0.15	0.18	0.03	-0.04	0.03	-0.13
<i>HLP</i>	<b>0.30*</b>	<b>0.28*</b>	0.13	-0.23	-0.18	-0.16
<i>DM</i>	-0.12	-0.08	-0.08	-0.09	-0.08	-0.04
<i>Pušački status</i>	0.04	0.18	-0.13	-0.04	0.03	-0.13
<i>Kardiovaskularni faktor rizika (1 i više)</i>	0.09	0.15	-0.03	0.01	0.15	-0.28
<i>Starost</i>	-0.08	0.01	-0.11	0.01	0.11	-0.18
<i>Prethodne tromboze</i>	-0.07	0.05	-0.15	-0.16	-0.15	-0.07

Napomena. \*  $p<.05$

Kada se trombozni događaji posmatraju prema vremenu nastanka, zaključuje se da hiperlipoproteinemija ostvaruje značajne pozitivne veze niskog intenziteta sa trombozama pri dijagnozi, kao i sa arterijskim trombozama pri dijagnozi. Dakle, postojanje hiperlipoproteinemije značajno je povezano sa nastankom svih tromboza pri dijagnozi isključivo na račun arterijskih

tromboza. Preostale ispitivane varijable kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom koji imaju prisutnu JAK2V617F mutaciju, nisu pokazale značajnu povezanost.

#### 4.4.2. POVEZANOST ISPITIVANIH KLINIČKIH PARAMETARA KOD OBOLELIH OD ET BEZ JAK2V617F MUTACIJE

Tabela 9. Povezanost kliničkih parametara sa tromboznim događajima u kontrolnoj grupi

<i>Standardni i kardiovaskularni faktori rizika kod obolelih od ET</i>	<i>Tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Tromboze tokom lečenja</i>	<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<i>Venske tromboze tokom lečenja<sup>1</sup></i>
<i>HTA</i>	<b>0.33*</b>	<b>0.28*</b>	0.16	0.16	0.16	-
<i>HLP</i>	0.27	0.24	0.13	0.13	0.13	-
<i>DM</i>	<b>0.39**</b>	<b>0.47**</b>	-0.05	-0.05	-0.05	-
<i>Pušački status</i>	0.03	0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-
<i>Kardiovaskularni faktor rizika (1 i više)</i>	0.19	0.16	0.09	0.09	0.09	-
<i>Starost</i>	0.06	0.06	0.01	0.01	0.01	-
<i>Prethodne tromboze</i>	-0.09	-0.08	-0.05	-0.05	-0.05	-

Napomena. \*  $p < .05$

Oboleli od ET bez JAK2V617F mutacije nisu imali venske trombozne komplikacije tokom lečenja, te se stoga korelacija sa ostalim varijablama ne može izračunati.

Kada se trombozni događaji posmatraju prema vremenu nastanka, zaključuje se da su tromboze pri dijagnozi značajno i pozitivno povezane sa hipertenzijom i dijabetes melitusom. Na isti način su ove dve varijable povezane i sa arterijskim trombozama pri dijagnozi. Dakle, postojanje hipertenzije i dijabetes mellitusa značajno je povezano sa nastankom svih tromboza pri dijagnozi i to isključivo na račun arterijskih tromboza. Preostale ispitivane varijable kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom bez prisutne JAK2V617F mutacije nisu ostvarile značajnu povezanost.

**4.5. LABORATORIJSKI PARAMETRI KOD OBOLELIH OD ET SA PRISUTNOM I BEZ JAK2V617F MUTACIJE**

**Tabela 10. Parametri krvne slike u ispitivanoj i kontrolnoj grupi**

<i>Parametri krvne slike</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+) n=48</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-) n=47</i>	<i>Statistička značajnost (p)</i>
<i>Erci, x10<sup>12</sup>/l x̄(SD); min-max</i>	4.7 (0.76) 2.6-6.5	4.2 (0.76) 2.7-6.4	<b>0.003*</b>
<i>Hgb, g/l x̄(SD); min-max</i>	144.9 (14.7) 103-171	133.6 (12.37) 110-171	<b>0.00*</b>
<i>Hct, l/l x̄(SD); min-max</i>	0.45 (0.04) 0.13-0.54	0.41 (0.04) 0.32-0.54	<b>0.00*</b>
<i>MCV, fl x̄(SD); min-max</i>	97.2 (10.1) 77.8-121.6	99.5 (13.3) 83.3-131.3	0.68
<i>MCH, pg x̄(SD); min-max</i>	31.6 (4.1) 22.9-41.4	32.5 (5.1) 26.7-44.7	0.68
<i>MCHC, g/l x̄(SD); min-max</i>	24.3 (12.7) 295-352	325.6 (11.5) 302-349	0.58
<i>Lkci, x10<sup>9</sup>/l x̄(SD); min-max</i>	8.1 (3.1) 3.2-18.9	6.8 (2.2) 2.7-12.5	0.07
<i>Neu, % x̄(SD); min-max</i>	63.7 (8.9) 45.8-79.3	63 (6.1) 48.6-74.4	0.51
<i>ABNeu, x10<sup>9</sup>/l x̄(SD); min-max</i>	5.2 (2.4) 1.65-15	4.3 (1.5) 1.6-8	0.07
<i>Limf, % x̄(SD); min-max</i>	25.3 (8.5) 12.1-46.1	25.9 (5.8) 15.7-39.3	0.57
<i>ABLim, x10<sup>9</sup>/l x̄(SD); min-max</i>	2.0 (0.8) 0.7-4.2	1.8 (0.7) 0.8-3.5	0.26
<i>Mono, % x̄(SD); min-max</i>	7.5 (2.2) 4.3-17	7.6 (1.9) 4.8-14	0.95
<i>ABMono, x10<sup>9</sup>/l x̄(SD); min-max</i>	0.6 (0.2) 0.2-1.5	0.5 (0.1) 0.8-1.0	<b>0.04*</b>
<i>Eosin, % x̄(SD); min-max</i>	2.4 (1.3) 0.6-6.2	2.5 (2) 0-8.4	0.51

<i>Parametri krvne slike</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+) n=48</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-) n=47</i>	<i>Statistička značajnost (p)</i>
<i>ABEosin, x10<sup>9</sup>/l x̄(SD); min-max</i>	0.2 (0.2) 0.02-0.74	0.2 (0.2) 0-0.88	0.3
<i>Baso, % x̄(SD); min-max</i>	1.0 (0.4) 0.3-1.8	1.0 (0.5) 0.2-3	0.37
<i>ABBaso, x10<sup>9</sup>/l x̄(SD); min-max</i>	0.09 (0.05) 0.01-0.25	0.07 (0.04) 0.01-0.23	<b>0.04*</b>
<i>Trci, x x10<sup>9</sup>/l x̄(SD); min-max</i>	677.7 (258.5) 266-1327	684.5 (266) 224-1326	0.81
<i>MPV, fl x̄(SD); min-max</i>	9.7 (0.6) 8.7-11.2	9.8 (1.6) 8.4-19.3	0.36
<i>PDW, % x̄(SD); min-max</i>	10.9 (1.2) 9.4-15.6	10.6 (1.6) 8.5-17.5	0.15
<i>PCT, % x̄(SD); min-max</i>	0.7 (0.25) 0.27-1.24	0.7 (0.25) 0.25-1.3	0.84

*Napomena. \* p < .05*

Uvidom u tabelu 10.

zaključuje se da ispitanici, odnosno oboleli od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom u toku lečenja imaju veći broj eritrocita, veće koncentracije hemoglobina i hematokrita u odnosu na kontrolnu grupu obolelih od ET bez JAK2V617F mutacije ( $p < 0.05$ ). Ispitanici takođe, imaju veći apsolutni broj monocita i bazofila u odnosu na obolele iz kontrolne grupe ( $p < 0.05$ ), dok su ostale apsolutne i relativne vrednosti parametara diferencijalne krvne slike bez statistički značajnih razlika u ispitivanim grupama. Vrednosti trombocita i trombocitni parametri ne pokazuju statistički značajne razlike u ispitivanim grupama.

**Tabela 11. Lipidni status u ispitivanoj i kontrolnoj grupi**

<i>Lipidni status</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+) n=48</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-) n=47</i>	<i>Statistička značajnost (p)</i>
<i>Hol uk, mmol/l <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	4.98 (1.08) 2.73-7.92	5.32 (0.81) 3.90-7.89	0.09
<i>Trig, mmol/l <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	1.27 (0.71) 0.32-4.6	1.43 (0.76) 0.35-4.49	0.28
<i>HDL hol, mmol/l <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	1.39 (0.39) 0.83-2.44	1.43 (0.34) 0.76-2.43	0.32
<i>LDL hol, mmol/l <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	3.03 (0.85) 1.35-4.86	3.22 (0.70) 2.11-4.53	0.28
<i>Non HDL hol, mmol/l <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	3.61 (0.91) 1.84-5.56	3.88 (0.87) 2.28-6.57	0.13
<i>LDL/HDL hol, indeks <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	2.29 (0.8) 1.16-4.43	2.39 (0.74) 0.85-3.75	0.34
<i>Non HDL/HDL hol, indeks <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	2.76 (0.99) 1.27-5.11	2.91 (0.96) 0.92-4.98	0.4
<i>Uk/HDL hol, indeks <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	3.76 (0.99) 2.27-6.11	3.89 (0.97) 1.92-5.98	0.46
<i>Lipoprotein (a), g/l <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	0.27 (0.39) 0.02-2.13	0.22 (0.25) 0.01-1.29	0.69

Uvidom u tabelu 11, koncentracije parametara lipidnog statusa i indeksi lipidnog statusa, ne pokazuju statistički značajne razlike u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.

Tabela 12. Biohemijski parametri u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

<i>Biohemijski parametri</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+) n=48</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-) n=47</i>	<i>Statistička značajnost (p)</i>
<i>SE, f (%)</i> <i>Normalna</i> <i>Ubrzana</i>	40 (83.3) 8 (16.7)	33 (70.2) 14 (29.8)	0.13
<i>Ukupni proteini, g/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	73.65 (4.77) 64-83	73.77 (4.74) 66-89	0.9
<i>Albumini, g/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	65.43 (3.59) 58.8-72.5	62.96 (7.01) 43-73.9	0.14
<i>Glukoza, mmol/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	5.27 (1.1) 3.8-10.2	5.59 (1.53) 4.3-11.9	0.36
<i>Urea, mmol/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	5.26 (1.19) 3.5-9.6	5.97 (1.96) 2.7-13.3	<b>0.03*</b>
<i>Kreatinin, umol/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	73.63 (15.89) 51-124	74.19 (18.69) 50-142	0.95
<i>Mokraćna kiselina, umol/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	296.27 (83.21) 133-524	280.04 (66.44) 150-452	0.3
<i>Bilirubini uk, umol/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	11.31 (5.95) 5-33	9.66 (3.91) 4-21	0.26
<i>Bilirubini dir, umol/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	4.11 (1.71) 1.5-9.1	3.5 (1.29) 1.4-7.3	0.06
<i>AST, U/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	23.74 (10.6) 11-78	20.83 (4.38) 13-35	0.06
<i>ALT, U/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	25.43 (13.62) 9-86	22.31 (10.1) 10-61	0.15
<i>GGT, U/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	22.48 (12.0) 6-55	26.25 (28.07) 8-136	0.98
<i>LDH, U/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	225.74 (58.99) 130-455	222.61 (53.73) 137-380	0.95
<i>ALP, U/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	67.17 (21.13) 31-145	79.44 (39.29) 27-207	0.6
<i>Natrijum, mmol/l</i> $\bar{x}(SD)$ ; <i>min-max</i>	139.67 (2.67) 136-153	140.17 (2.95) 136-149	0.18

<b>Biohemijski parametri</b>	<b>Ispitativana grupa (JAK2V617F+) n=48</b>	<b>Kontrolna grupa (JAK2V617F-) n=47</b>	<b>Statistička značajnost (p)</b>
<b>Kalijum, mmol/l</b> $\bar{x}(SD)$ ; <b>min-max</b>	4.84 (0.55) 2.27-5.7	4.9 (0.53) 3.8-6.4	0.92
<b>Hlor, mmol/l</b> $\bar{x}(SD)$ ; <b>min-max</b>	103.72 (2.69) 100-114	103.92 (3.03) 94-110	0.13
<b>Kalcijum, mmol/l</b> $\bar{x}(SD)$ ; <b>min-max</b>	2.46 (0.13) 2.1-2.85	2.47 (0.1) 2.23-2.66	0.43
<b>Fosfor, mmol/l</b> $\bar{x}(SD)$ ; <b>min-max</b>	1.14 (0.16) 0.82-1.47	1.13 (0.18) 0.75-1.44	0.89
<b>CRP, mg/l</b> $\bar{x}(SD)$ ; <b>min-max</b>	2.02 (2.04) 0-12.6	3.41 (5.8) 0.2-32.6	0.4
<b>Folna kiselina, nmol/l</b> $\bar{x}(SD)$ ; <b>min-max</b>	29.36 (15.18) 4.1-45.3	28.62 (14.3) 7.3-45.3	0.82
<b>Homocistein, umol/l</b> $\bar{x}(SD)$ ; <b>min-max</b>	11.5 (12.99) 5.3-97	10.14 (2.8) 4.9-16.8	0.38

Napomena. \*  $p < .05$

Uvidom u tabelu 12, koncentracije ispitivanih biohemijskih parametara u ispitivanoj i kontrolnoj grupi, većinom nisu imale statistički značajne razlike. Jedino u slučaju koncentracije uree u serumu, postoji razlika koja je statistički značajna ( $p < 0.05$ ). Oboleli od ET koji nisu nosioci JAK2V617F mutacije imali su statistički značajno više koncentracije uree u serumu u odnosu na obolele od ET koji su nosioci JAK2V617F mutacije.

Tabela 13. Hemostazni parametri u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

<i>Hemostazni parametri</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+) n=48</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-) n=47</i>	<i>Statistička značajnost (p)</i>
<i>aPTT, R <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	1.05 (0.12) 0.85-1.69	1.02 (0.1) 0.86-1.32	0.13
<i>PTT, R <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	1.03 (0.09) 0.89-1.34	0.99 (0.08) 0.87-1.28	<b>0.01*</b>
<i>TT, R <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	1.0 (0.05) 0.85-1.08	0.97 (0.06) 0.86-1.17	<b>0.01*</b>
<i>Fibrinogen, g/l <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	2.94 (0.81) 1.31-5.41	3.4 (0.79) 2.17-5	<b>0.006*</b>
<i>D-dimer, mg/l <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	0.42 (0.48) 0.17-3.32	0.42 (0.42) 0.17-2.8	0.75
<i>Euglobulinško vreme lize koaguluma, sec <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	118.8 (7.25) 80-121	118.0 (9.26) 70-121	0.97
<i>Antitrombin, % <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	100.02 (11.2) 51-112	103.64 (8.28) 83-113	0.1
<i>APC rezistencija, R <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	4.03 (0.96) 2.07-6.98	4.44 (1.16) 1.39-8.02	0.06
<i>Protein C, % <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	109.9 (16.79) 60-130	115,47 (15.72) 69-130	0.1
<i>Protein S, % <math>\bar{x}</math>(SD); min-max</i>	86.03 (20.68) 45.3-139	87.15 (16.89) 53.9-139	0.63
<i>Lupus antikoagulans, % Ne Da</i>	46 (95.8) 2 (4.2)	46 (97.9) 1 (2.1)	1.0
<i>Antikardiolipinska antitela IgM Negativna Granično pozitivna Pozitivna</i>	45 (93.8) 2 (4.2) 1 (2.1)	42 (89.4) 2 (4.3) 3 (6.4)	0.58
<i>Antikardiolipinska antitela IgG Negativna Granično pozitivna Pozitivna</i>	46 (95.8) 1 (2.1) 1 (2.1)	47 (100)	0.37



<i>Hemostazni parametri</i>	<i>Ispitivanina grupa (JAK2V617F+) n=48</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-) n=47</i>	<i>Statistička značajnost (p)</i>
<i>Antibeta2glikoproteinska antitela IgM</i>			
<i>Negativna</i>	45 (93.8)	46 (97.9)	0.31
<i>Granično pozitivna</i>	2 (4.2)	0 (0)	
<i>Pozitivna</i>	1 (2.1)	1 (2.1)	
<i>Antibeta2glikoproteinska antitela IgG</i>			
<i>Negativna</i>	46 (97.9)	48 (100)	0.31
<i>Pozitivna</i>	1 (2.1)	0 (0)	

*Napomena. \* p < .05*

Uvidom u tabelu 13, zaključuje se da oboleli od ET bez prisutne JAK2V617F mutacije u toku lečenja, imaju kraće protrombinsko i trombinsko vreme, kao i veće vrednosti fibrinogena u odnosu na ispitivanu grupu obolelih od ET sa JAK2V617F mutacijom ( $p < 0.05$ ). Razlike u vrednostima aktivisanog parcijalnog tromboplastinskog vremena, euglobulinskog vremena lize koaguluma, antitrombina, APC rezistencije, kao i koncentracijama proteina S, proteina C, antitrombina i D-dimera nisu pokazivale statističku značajnost ( $p > 0.05$ ).

Učestalost prisustva antikardiolipinskih antitela

IgM i IgG, kao i antibeta2glikoproteinskih antitela kod ispitivane i kontrolne grupe, takođe je bila bez statistički značajnih razlika.

**Tabela 14. Genetske mutacije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi**

<i>Genetske mutacije</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>	<i>Kontrolna grupa (JAKV617F-)</i>	<i>p</i>
<b><i>F II G20210A, f (%)</i></b>			
<i>Bez mutacije</i>	46 (97.9)	44 (93.6)	0.68
<i>Heterozigoti</i>	2 (4.2)	3 (6.4)	
<i>Homozigoti</i>	0 (0)	0 (0)	
<b><i>FV Leiden, f (%)</i></b>			
<i>Bez mutacije</i>	45 (93.8)	46 (97.9)	0.62
<i>Heterozigoti</i>	3 (6.3)	1 (2.1)	
<i>Homozigoti</i>	0 (0)	0 (0)	
<b><i>MTHFR C677T, f (%)</i></b>			
<i>Bez mutacije</i>			0.23 (df 2)
<i>Heterozigoti</i>	16 (33.3)	19 (40.4)	
<i>Homozigoti</i>	28 (58.3) 4 (8.3)	20 (42.6) 8 (17)	
<b><i>MTHFR A1298C, f (%)</i></b>			
<i>Bez mutacije</i>			<b>0.049*</b>
<i>Heterozigoti</i>	21 (43.8)	30 (63.8)	
<i>Homozigoti</i>	25 (52.1) 2 (4.2)	13 (27.7) 4 (8.5)	
<b><i>Urođena trombofilija, f (%)</i></b>			
<i>Ne</i>	43 (89.6)	43 (91.5)	1.0
<i>Da</i>	5 (10.4)	4 (8.5)	

*Napomena. \* p < .05*

Uvidom u tabelu 14, među učestalostima ispitivanih mutacija ne postoje statistički značajne razlike kod ispitivane i kontrolne grupe, osim u slučaju MTHFR A1298C mutacije koja ima veću učestalost u ispitivanoj grupi, posebno kada se radi o heterozigotima za ovu mutaciju ( $p < 0.05$ ).

#### 4.6. POVEZANOST TROMBOZNIH DOGAĐAJA SA ISPITIVANIM LABORATORIJSKIM PARAMETRIMA

**Tabela 15. Povezanost laboratorijskih parametara sa nastankom tromboznih komplikacija kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i prisutnom JAK2V617F mutacijom**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Tromboze tokom lečenja</i>	<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<i>Venske tromboze tokom lečenja</i>
Ukupni holesterol	0,203	0,291*	-0,017	-0,204	-0,102	-0,240
Trigliceridi	0,379**	0,130	0,381**	-0,151	-0,082	-0,165
Holesterol HDL	-0,135	-0,021	-0,161	-0,057	-0,065	0,003
Holesterol LDL	0,173	0,323*	-0,090	-0,185	-0,077	-0,246
Holesterol non HDL	0,245	0,363*	-0,058	-0,221	-0,094	-0,291*
LDL/HDL holesterol, indeks	0,253	0,365*	-0,048	-0,038	0,066	-0,210
Non HDL/HDL holesterol, indeks	0,348*	0,340*	0,119	-0,067	0,039	-0,219
Ukupni/HDL holesterol, indeks	0,348*	0,340*	0,119	-0,067	0,039	-0,219
Lipoprotein (a)	0,002	0,026	-0,022	0,085	0,107	-0,025
Ukupni proteini	-0,192	-0,233	-0,025	0,011	0,102	-0,175
Albumini	-0,099	-0,306*	0,173	-0,067	-0,160	0,167
SE	0,100	0,067	0,067	0,030	0,067	-0,065
Eritrociti	-0,237	-0,060	-0,260	-0,005	0,023	-0,054
Hemoglobin	-0,040	0,095	-0,148	-0,045	-0,024	-0,049
Hematokrit	-0,138	0,066	-0,252	-0,019	0,032	-0,104
MCV	0,266	0,182	0,177	-0,014	0,001	-0,032
MCH	0,278	0,184	0,191	-0,052	-0,047	-0,020
MCHC	0,243	0,095	0,233	-0,067	-0,144	0,136
Trombociti	-0,080	-0,068	-0,039	0,018	-0,061	0,157
MPV	0,154	0,172	0,035	0,291*	0,319*	0,005
PDW	0,253	0,130	0,210	0,179	0,211	-0,011
PCT	-0,056	-0,037	-0,037	0,057	-0,019	0,158
Leukociti	0,069	0,220	-0,127	0,219	0,248	-0,012
Neutrofili%	-0,176	-0,058	-0,179	0,222	0,182	0,122
Neutrofil#	0,013	0,173	-0,155	0,250	0,266	0,021
Limfociti%	0,264	0,098	0,259	-0,229	-0,223	-0,058
Limfocit#	0,252	0,271	0,069	0,014	0,037	-0,043

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Tromboze tokom lečenja</i>	<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<i>Venske tromboze tokom lečenja</i>
Monociti%	-0,153	-0,068	-0,138	-0,114	-0,036	-0,174
Monociti#	-0,080	0,110	-0,218	0,110	0,187	-0,127
Eozinofili%	-0,171	-0,118	-0,113	0,176	0,245	-0,099
Eozinofili#	-0,097	0,027	-0,159	0,212	0,275	-0,079
Bazofili%	-0,285*	-0,016	-0,368**	-0,089	0,023	-0,234
Bazofili#	-0,113	0,126	-0,278	0,081	0,170	-0,156
Glukoza	-0,169	-0,097	-0,131	-0,306*	-0,270	-0,131
Urea	0,056	-0,100	0,176	0,063	0,009	0,116
Kreatenin	-0,199	-0,060	-0,209	0,173	0,285*	-0,182
Mokraćna kiselina	-0,107	0,001	-0,146	0,146	0,254	-0,179
Bilirubin ukupni	0,014	-0,106	0,125	-0,122	-0,183	0,091
Bilirubin direktni	-0,089	-0,162	0,042	-0,139	-0,220	0,128
AST	0,229	-0,081	0,390**	0,114	0,140	-0,029
ALT	0,138	-0,089	0,275	-0,094	-0,072	-0,061
GGT	0,046	-0,017	0,080	0,016	0,073	-0,108
LDH	-0,244	-0,125	-0,204	0,233	0,310*	-0,101
ALP	0,111	0,084	0,066	0,216	0,183	0,108
Natrijum	-0,021	-0,058	0,029	0,033	-0,029	0,125
Kalijum	-0,233	-0,122	-0,192	-0,336*	-0,422**	0,098
Hlor	0,063	0,071	0,014	0,074	-0,071	0,295*
Kalcijum	-0,096	-0,097	-0,033	-0,126	-0,120	-0,038
Fosfor	0,109	0,169	-0,023	0,239	0,141	0,238
CRP	0,10	0,21	-0,07	0,38**	0,51**	-0,13
Folna kiselina	0,24	0,17	0,15	-0,20	-0,14	-0,17
Homocistein	-0,094	-0,052	-0,074	0,049	0,070	-0,029
aPTT	-0,14	-0,23	-0,05	-0,05	-0,16	0,19
PT	-0,25	-0,14	-0,19	0,07	0,03	0,09
TT	-0,18	-0,31*	0,08	0,29*	0,21	0,21
Fibrinogen	-0,035	0,108	-0,156	-0,087	-0,006	-0,174
Euglobulinsko vreme lize koaguluma	-0,135	-0,091	-0,091	-0,103	-0,091	-0,044
D-dimer	0,314*	0,512**	-0,089	0,434**	0,502**	-0,044
Antitrombin	-0,354*	-0,082	-0,395**	-0,019	0,095	-0,224
APC-rezistencija	0,015	0,043	-0,023	-0,021	0,025	-0,092
Slobodan proteinS Ag	0,019	-0,012	0,038	-0,131	-0,077	-0,130

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Tromboze tokom lečenja</i>	<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<i>Venske tromboze tokom lečenja</i>
Protein C aktivnost	0,053	0,142	-0,071	-0,015	0,060	-0,149
LA1(dRVVT)	-0,093	-0,063	-0,063	0,270	0,314*	-0,030
Antikardiolipinska At IgM	-0,108	-0,073	-0,073	-0,083	-0,073	-0,035
Antikardiolipinska At IgG	0,265	-0,060	0,417**	-0,067	-0,060	-0,029
Antibeta2 GPI IgM	0,217	-0,073	0,366*	0,116	-0,073	0,389**
Antibeta2 GPI IgG	.	.	.	.	.	.
F II G20210A	-0,095	-0,064	-0,064	-0,064	-0,055	-0,031
MTHFR C677T	-0,108	-0,008	-0,137	-0,008	0,103	-0,191
MTHFR A1298C	0,106	0,072	0,072	0,072	0,023	0,100
F V Leiden	-0,118	-0,080	-0,080	-0,080	-0,068	-0,038

Napomena. \*  $p < .05$

**Tabela 16. Povezanost laboratorijskih parametrov nastankom tromboznih komplikacij kod bolesnika sa esencijalnom trombocitemijom i odsutnom JAK2V617F mutacijom**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Tromboze tokom lečenja</i>	<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<i>Venske tromboze tokom lečenja</i>
Ukupni holesterol	0,358*	0,352*	0,096	0,096	0,096	. <sup>c</sup>
Trigliceridi	0,434**	0,455**	0,068	0,068	0,068	. <sup>c</sup>
Holesterol HDL	-0,103	-0,068	-0,083	-0,083	-0,083	. <sup>c</sup>
Holesterol LDL	0,259	0,222	0,123	0,123	0,123	. <sup>c</sup>
Holesterol non.HDL	0,379**	0,359*	0,124	0,124	0,124	. <sup>c</sup>
LDL/HDL holesterol, indeks	0,230	0,185	0,133	0,133	0,133	. <sup>c</sup>
NonHDL/HDL holesterol, indeks	0,289*	0,257	0,123	0,123	0,123	. <sup>c</sup>
Ukupni/HDL holesterol, indeks	0,292*	0,260	0,124	0,124	0,124	. <sup>c</sup>
Lipoprotein (a)	-0,180	-0,153	-0,088	-0,088	-0,088	. <sup>c</sup>
Ukupni proteini	0,194	0,273	-0,087	-0,087	-0,087	. <sup>c</sup>
Albumin	-0,047	-0,071	0,031	0,031	0,031	. <sup>c</sup>
SE	0,135	0,211	-0,096	-0,096	-0,096	. <sup>c</sup>
Eritrociti	-0,152	-0,257	0,142	0,142	0,142	. <sup>c</sup>
Hemoglobin	-0,196	-0,223	-0,001	-0,001	-0,001	. <sup>c</sup>
Hematokrit	-0,098	-0,184	0,122	0,122	0,122	. <sup>c</sup>
MCV	0,145	0,231	-0,111	-0,111	-0,111	. <sup>c</sup>
MCH	0,080	0,185	-0,159	-0,159	-0,159	. <sup>c</sup>
MCHC	-0,214	-0,061	-0,310*	-0,310*	-0,310*	. <sup>c</sup>
Trombociti	-0,059	-0,017	-0,085	-0,085	-0,085	. <sup>c</sup>
MPV	0,120	0,029	0,180	0,180	0,180	. <sup>c</sup>
PDW	-0,005	-0,052	0,080	0,080	0,080	. <sup>c</sup>
PCT	-0,062	-0,031	-0,067	-0,067	-0,067	. <sup>c</sup>
Leukociti	-0,104	0,046	-0,279	-0,279	-0,279	. <sup>c</sup>
Neutrofili%	0,127	0,193	-0,082	-0,082	-0,082	. <sup>c</sup>
Neutrofil#	-0,062	0,087	-0,268	-0,268	-0,268	. <sup>c</sup>
Limfociti%	-0,128	-0,226	0,134	0,134	0,134	. <sup>c</sup>
Limfocit#	-0,170	-0,076	-0,199	-0,199	-0,199	. <sup>c</sup>
Monociti%	0,086	0,159	-0,103	-0,103	-0,103	. <sup>c</sup>
Monociti#	0,012	0,205	-0,324*	-0,324*	-0,324*	. <sup>c</sup>
Eozinofili%	-0,195	-0,114	-0,184	-0,184	-0,184	. <sup>c</sup>

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Tromboze tokom lečenja</i>	<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<i>Venske tromboze tokom lečenja</i>
Eozinofili#	-0,162	-0,093	-0,155	-0,155	-0,155	. <sup>c</sup>
Bazofili%	0,388**	0,117	0,552**	0,552**	0,552**	. <sup>c</sup>
Bazofili#	0,139	0,129	0,049	0,049	0,049	. <sup>c</sup>
Glukoza	0,526**	0,623**	-0,038	-0,038	-0,038	. <sup>c</sup>
Urea	0,524**	0,601**	-0,005	-0,005	-0,005	. <sup>c</sup>
Kreatenin	0,450**	0,520**	-0,010	-0,010	-0,010	. <sup>c</sup>
Mokraćna kiselina	0,243	0,320*	-0,072	-0,072	-0,072	. <sup>c</sup>
Bilirubin ukupni	-0,013	0,068	-0,139	-0,139	-0,139	. <sup>c</sup>
Bilirubin direktni	-0,080	-0,007	-0,142	-0,142	-0,142	. <sup>c</sup>
AST	-0,158	-0,164	-0,029	-0,029	-0,029	. <sup>c</sup>
ALT	-0,113	-0,067	-0,104	-0,104	-0,104	. <sup>c</sup>
GGT	-0,072	-0,020	-0,105	-0,105	-0,105	. <sup>c</sup>
LDH	-0,032	0,014	-0,085	-0,085	-0,085	. <sup>c</sup>
ALP	-0,099	-0,064	-0,082	-0,082	-0,082	. <sup>c</sup>
Natrijum	-0,060	-0,126	0,096	0,096	0,096	. <sup>c</sup>
Kalijum	0,252	0,307*	-0,033	-0,033	-0,033	. <sup>c</sup>
Hlor	-0,007	-0,098	0,153	0,153	0,153	. <sup>c</sup>
Kalcijum	0,177	0,190	0,020	0,020	0,020	. <sup>c</sup>
Fosfor	0,010	0,000	0,017	0,017	0,017	. <sup>c</sup>
CRP	-0,08	-0,04	-0,09	-0,09	-0,09	. <sup>c</sup>
Folna kiselina	0,23	0,19	0,12	0,12	0,12	. <sup>c</sup>
Homocistein	0,447**	0,527**	-0,029	-0,029	-0,029	. <sup>c</sup>
aPTT	0,19	0,15	0,11	0,11	0,11	. <sup>c</sup>
PT	0,12	0,17	0,53**	0,53**	0,53**	. <sup>c</sup>
TT	-0,04	-0,10	0,09	0,09	0,09	. <sup>c</sup>
Fibrinogen	0,125	0,099	0,074	0,074	0,074	. <sup>c</sup>
Euglobulinsko vreme lize koaguluma	0,112	0,161	-0,056	-0,056	-0,056	. <sup>c</sup>
D-dimer	0,099	0,080	0,055	0,055	0,055	. <sup>c</sup>
Antitrombin	0,160	0,134	0,084	0,084	0,084	. <sup>c</sup>
APC-rezistencija	0,263	0,357*	-0,097	-0,097	-0,097	. <sup>c</sup>
Slobodan protein S Ag	0,105	0,292*	-0,292*	-0,292*	-0,292*	. <sup>c</sup>
Protein C aktivnost	-0,058	0,037	-0,175	-0,175	-0,175	. <sup>c</sup>
LA1(dRVVT)	-0,045	-0,038	-0,022	-0,022	-0,022	. <sup>c</sup>

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<i>Tromboze tokom lečenja</i>	<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<i>Venske tromboze tokom lečenja</i>
Antikardiolipinska At IgM	-0,100	-0,086	-0,048	-0,048	-0,048	. <sup>c</sup>
Antikardiolipinska At IgG	. <sup>c</sup>	. <sup>c</sup>	. <sup>c</sup>	. <sup>c</sup>	. <sup>c</sup>	. <sup>c</sup>
Antibeta2 GP I IgM	-0,045	-0,038	-0,022	-0,022	-0,022	. <sup>c</sup>
Antibeta2 GP I IgG	-0,045	-0,038	-0,022	-0,022	-0,022	. <sup>c</sup>
F II G20210A	-0,080	-0,068	-0,038	-0,038	-0,038	. <sup>c</sup>
MTHFR C677T	-0,218	-0,157	-0,157	-0,157	-0,157	. <sup>c</sup>
MTHFR A1298C	0,143	0,224	-0,102	-0,102	-0,102	. <sup>c</sup>
F V Leiden	-0,045	-0,038	-0,022	-0,022	-0,022	. <sup>c</sup>

*Napomena. \* p < .05*

Iz tabela 15. i 16. se zaključuje se da je u ispitivanoj i kontrolnoj grupi moguće definisati laboratorijske parametre koji su povezani sa tromboznim događajima. U tabeli 17. prikazane su relacije između određenih vrsta tromboznih događaja u odnosu na vreme nastanka i ispitivanih laboratorijskih parametara.



**Tabela 17. Laboratorijski parametri povezani sa određenim vrstama tromboznim događajima, u odnosu na vreme njihovog nastanka**

<i>Vrsta tromboznih događaja</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>	<i>Kontrolna grupa (JAKV617F-)</i>
<i>Sve tromboze pri dijagnozi</i>	<b>Više vrednosti</b> triglicerida, indeksa nonHDL/HDL holesterola, indeksa ukupnog holesterola/HDL, D-dimera <b>Niže vrednosti</b> relativnog broja bazofila i antitrombina	<b>Više vrednosti</b> relativnog broja bazofila, ukupnog holesterola, triglicerida, nonHDL holesterola, indeksa nonHDL/HDL holesterola, indeksa ukupnog holesterola/HDL, glukoze, uree, kreatinina, homocisteina
<i>Arterijske tromboze pri dijagnozi</i>	<b>Više vrednosti</b> ukupnog holesterola, LDL holesterola, nonHDL holesterola, indeksa holesterola LDL/HDL, indeksa ukupni holesterol/HDL i D-dimera <b>Niže vrednosti</b> albumina, TT	<b>Više vrednosti</b> glukoze, uree, kreatinina, mokraćne kiseline, kalijuma, homocisteina, APC rezistencije i proteina S
<i>Venske tromboze pri dijagnozi</i>	<b>Više vrednosti</b> triglicerida, AST, antikardiolipinskih IgG i antibeta2glikoproteinskih IgM <b>Niže vrednosti</b> relativnog broja bazofila i antitrombina	<b>Više vrednosti</b> apsolutnog broja bazofila, PT <b>Niže vrednosti</b> MCHC, apsolutnog broja monocita, proteina S
<i>Sve tromboze tokom lečenja</i>	<b>Više vrednosti</b> MPV, D-dimera, CRP, TT <b>Niže vrednosti</b> glukoze i kalijuma	<b>Više vrednosti</b> apsolutnog broja bazofila, PT <b>Niže vrednosti</b> MCHC, apsolutnog broja monocita, proteina S
<i>Arterijske tromboze tokom lečenja</i>	<b>Više vrednosti</b> MPV, CRP, kreatinin, LDH, D-dimer, prisutvo LA <b>Niže vrednosti</b> kalijuma	<b>Više vrednosti</b> apsolutnog broja bazofila, PT <b>Niže vrednosti</b> MCHC, apsolutnog broja monocita, proteina S
<i>Venske tromboze tokom lečenja</i>	<b>Više vrednosti</b> anti-beta2-glikoproteinskih antitela IgM i hlora <b>Niže vrednosti</b> nonHDL holesterola	-

Nakon identifikovanja laboratorijskih parametara i njihovih veza sa pojavom tromboznih događaja kod ispitanivane i kontrolne grupe, urađena je dvofaktorska analiza varijanse (multivarijatna analiza) kako bismo proverili uticaj laboratorijskih parametara na nastanak tromboza u zavisnosti od prisustva/odsustva mutacije. Nakon izvedene analize dobijene su 4 grupe bolesnika u odnosu na ostvarene interakcije: bolesnici ispitanivane grupe (JAK2V617F pozitivni) kod kojih se nisu dogodili

trombozni incidenti, bolesnici ispitivane grupe (JAK2V617F pozitivni) koji su imali trombozne incidente, bolesnici kontrolne grupe (JAK2V617F negativni) kod kojih se nisu dogodili trombozni incidenti i bolesnici ispitivane grupe (JAK2V617F negativni) koji su imali trombozne incidente.

**Tabela 18. Uticaj laboratorijskih parametara na nastanak tromboza pri dijagnozi u zavisnosti od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<i>Trigliceridi</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	1.32	0.62	Mutacija	3.20	.03
		Sa trombozom	2.49	1.34			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	1.16	0.48	Tromboza	<b>18.25**</b>	.17
		Sa trombozom	1.87	1.24			
<i>Holesterol, NonHDL/HDL, indeks</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	2.81	0.90	Mutacija	0.42	.01
		Sa trombozom	3.79	1.22			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	2.62	0.85	Tromboza	<b>9.79**</b>	.10
		Sa trombozom	3.58	1.40			
<i>Holesterol, Ukupni/HDL, indeks</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	3.79	0.91	Mutacija	0.39	.01
		Sa trombozom	4.79	1.22			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	3.62	0.85	Tromboza	<b>9.92**</b>	.10
		Sa trombozom	4.58	1.40			
<i>D-dimer</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.41	0.43	Mutacija	0.22	.00
		Sa trombozom	0.56	0.30			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0.36	0.22	Tromboza	3.61	.04
		Sa trombozom	0.75	1.05			
<i>Bazofili, %</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.93	0.47	Mutacija	<b>6.78*</b>	.07
		Sa trombozom	1.68	0.89			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	1.07	0.37	Tromboza	2.40	.03
		Sa trombozom	0.78	0.44			
<i>Antitrombin</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	100.54	17.63	Mutacija	3.72	.04
		Sa trombozom	110.25	2.22			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	101.78	6.60	Tromboza	0.01	.00
		Sa trombozom	91.25	22.24			
<i>Ukupni holesterol</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	5.25	0.70	Mutacija	3.38	.04
		Sa trombozom	6.26	1.30			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	4.91	1.01	Tromboza	<b>7.02**</b>	.07
		Sa trombozom	5.49	1.40			
<i>Holesterol, nonHDL</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	3.79	0.75	Mutacija	3.63	.04
		Sa trombozom	4.94	1.38			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	3.52	0.82	Tromboza	<b>9.89**</b>	.10
		Sa trombozom	4.13	1.25			
					Interakcija	0.91	.01

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	$\eta^2$
<i>MPV</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	9.67	0.80	Mutacija	0.23	.00
		Sa trombozom	9.8	0.47			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	9.71	0.59	Tromboza	0.77	.01
		Sa trombozom	9.98	0.63			
		Interakcija			0.09	.00	
<i>Glukoza</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	5.35	0.96	Mutacija	<b>17.94**</b>	.17
		Sa trombozom	8.20	3.61			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	5.35	1.16	Tromboza	<b>9.03**</b>	.09
		Sa trombozom	4.86	0.65			
		Interakcija			<b>18.13**</b>	.13	
<i>Urea</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	5.66	1.46	Mutacija	<b>20.55**</b>	.18
		Sa trombozom	9.30	3.57			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	5.24	1.26	Tromboza	<b>16.17**</b>	.15
		Sa trombozom	5.41	0.75			
		Interakcija			<b>13.31**</b>	.13	
<i>Kreatinin</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	71.65	14.79	Mutacija	<b>8.81**</b>	.09
		Sa trombozom	101.50	34.78			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	75.03	16.34	Tromboza	<b>4.09*</b>	.04
		Sa trombozom	66.63	11.86			
		Interakcija			<b>12.99**</b>	.13	
<i>Homocistein</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	9.76	2.48	Mutacija	0.26	.00
		Sa trombozom	14.20	3.21			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	12.04	14.19	Tromboza	0.24	.00
		Sa trombozom	8.80	1.55			
		Interakcija			1.55	.02	

*Napomena.* M – aritmetička sredina, SD – standardna devijacija, F – vrednost F-testa,  $\eta^2$  – veličina efekta.

Uvidom u tabelu 18, više vrednosti laboratorijskih parametara *triglicerida* ( $OR = 1.75$  ( $1.20-3.04$ ),  $p < .01$ ), *ukupnog holesterola*, *nonHDL holesterola*, *indeksa holesterol*, *nonHDL/HDL* i *holesterol*, *ukupni/HDL* imaju bolesnici ispitivane i kontrolne grupe koji su imali tromboze pri dijagnozi u odnosu na bolesnike obe grupe bez tromboznih incidenata pri dijagnozi (nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije).

Više vrednosti laboratorijskih parametara *relativni broj bazofila*, *glukoza*, *urea* i *kreatinin*, zabeležene su kod bolesnika koji su imali dijagnostikovanu trombozu pri dijagnozi u kontrolnoj grupi, u odnosu na bolesnike ispitivane grupe koji su imali trombozu pri dijagnozi, ispitivane bolesnike koji nisu imali trombozne incidente, kao i bolesnike koji su u kontrolnoj grupi i nisu imali trombozne incidente.

Kada se govori o vrednostima laboratorijskih parametara *antitrombina*, *d-dimera* i *homocisteina*, rezultati su ukazali na to da oni ne doprinose nastanku tromboza u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.

**Tabela 19. Uticaj laboratorijskih parametara na nastanak arterijskih tromboza pri dijagnozi u zavisnosti od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<i>Ukupni holesterol</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	5.26	0.70	Mutacija	0.96	.01
		Sa trombozom	6.40	1.56			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	4.91	1.03	Tromboza	<b>9.77**</b>	.10
		Sa trombozom	6.04	1.31			
		Interakcija			0.00	.01	
<i>LDL holesterol</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	3.19	0.64	Mutacija	0.01	.00
		Sa trombozom	3.81	1.23			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	2.97	0.83	Tromboza	<b>7.26**</b>	.07
		Sa trombozom	3.96	0.63			
		Interakcija			0.37	.00	
<i>Non HDL holesterol</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	3.80	0.75	Mutacija	1.03	.01
		Sa trombozom	5.05	1.67			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	3.51	0.86	Tromboza	<b>13.34**</b>	.13
		Sa trombozom	4.68	0.71			
		Interakcija			0.02	.00	
<i>Holesterol, LDL/HDL, indeks</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	2.35	0.70	Mutacija	0.11	.00
		Sa trombozom	2.90	1.16			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	2.20	0.73	Tromboza	<b>7.26**</b>	.08
		Sa trombozom	3.24	1.04			
		Interakcija			0.69	.01	
<i>Holesterol, nonHDL /HDL, indeks</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	2.83	0.91	Mutacija	0.03	.00
		Sa trombozom	3.83	1.49			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	2.66	0.91	Tromboza	<b>8.87**</b>	.09
		Sa trombozom	3.86	1.28			
		Interakcija			0.07	.00	
<i>Holesterol, Ukupni/HDL, Indeks</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	3.81	0.91	Mutacija	0.03	.00
		Sa trombozom	4.83	1.49			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	3.66	0.91	Tromboza	<b>8.76**</b>	.09
		Sa trombozom	4.85	1.28			
		Interakcija			0.06	.00	
<i>D-dimer</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.41	0.43	Mutacija	3.27	.04
		Sa trombozom	0.53	0.37			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0.35	.21	Tromboza	<b>9.27**</b>	.09
		Sa trombozom	1.22	1.41			
		Interakcija			<b>4.93*</b>	.05	
<i>Albumini</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	63.09	7.18	Mutacija	0.61	.01
		Sa trombozom	61.07	4.22			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	65.76	3.49	Tromboza	1.83	.02
		Sa trombozom	61.83	2.99			
		Interakcija			0.19	.00	

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<i>Glukoza</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	5.34	0.95	Mutacija	<b>22.09**</b>	.20
		Sa trombozom	9.20	3.69			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	5.31	1.11	Tromboza	<b>14.36**</b>	.14
		Sa trombozom	4.93	0.87			
					Interakcija	<b>21.31**</b>	.19
<i>Urea</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	5.66	1.45	Mutacija	<b>28.43**</b>	.24
		Sa trombozom	10.43	3.38			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	5.30	1.23	Tromboza	<b>15.33**</b>	.14
		Sa trombozom	4.88	0.45			
					Interakcija	<b>21.91**</b>	.19
<i>Kreatinin</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	71.68	14.61	Mutacija	<b>9.00**</b>	.09
		Sa trombozom	111.00	35.68			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	73.91	16.08	Tromboza	<b>7.93**</b>	.08
		Sa trombozom	70.50	15.42			
					Interakcija	<b>11.22**</b>	.11
<i>Morkaćna kiselina</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	274.55	63.70	Mutacija	0.51	.01
		Sa trombozom	360.67	62.31			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	296.25	86.68	Tromboza	2.12	.02
		Sa trombozom	296.50	28.31			
					Interakcija	2.10	.02
<i>Kalijum</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	4.87	0.44	Mutacija	<b>4.49*</b>	.05
		Sa trombozom	5.47	0.81			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	4.86	0.56	Tromboza	0.82	.01
		Sa trombozom	4.63	0.30			
					Interakcija	<b>4.34*</b>	.05
<i>Homocistein</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	9.76	2.44	Mutacija	0.36	.00
		Sa trombozom	15.73	1.16			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	11.70	13.56	Tromboza	0.22	.00
		Sa trombozom	9.28	1.34			
					Interakcija	1.25	.01
<i>APC rezistencija</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	4.34	1.11	Mutacija	<b>6.99**</b>	.07
		Sa trombozom	6.02	0.77			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	4.02	0.99	Tromboza	<b>4.98*</b>	.05
		Sa trombozom	4.17	0.51			
					Interakcija	3.49	.04
<i>Protein S</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	85.87	15.63	Mutacija	1.89	.02
		Sa trombozom	105.93	28.71			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	86.11	21.52	Tromboza	1.65	.02
		Sa trombozom	85.20	7.73			
					Interakcija	1.97	.02
<i>TT</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.97	0.06	Mutacija	5.66*	.06
		Sa trombozom	0.95	0.05			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0.99	0.04	Interkacija	0.06	.01
		Sa trombozom	0.99	0.06			

Napomena. M – aritmetička sredina, SD – standardna devijacija, F – vrednost F-testa,  $\eta^2$  – veličina efekta.

Uvidom u tabelu 19., povišene vrednosti laboratorijskih parametara *ukupnog holesterola, LDL holesterola, non HDL holesterola i indeksa LDL/HDL holesterol, holesterola, nonHDL/HDL i holesterola, ukupni/HDL* imaju bolesnici ispitivane i kontrolne grupe koji su imali arterijske tromboze pri dijagnozi u odnosu na bolesnike obe grupe bez tromboznih incidenata pri dijagnozi (nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije).

Povišene vrednosti laboratorijskih parametara *glukoze, uree i kreatinina*, zabeležene su kod bolesnika koji su dijagnostikovani arterijsku trombozu pri dijagnozi u kontrolnoj grupi, u odnosu na bolesnike ispitivane grupe koji su imali trombozu pri dijagnozi, ispitivane bolesnike koji nisu imali trombozne incidente, kao i bolesnike koji su u kontrolnoj grupi i nisu imali trombozne incidente.

Vrednosti laboratorijskog parametra *D-dimera* će biti više kod bolesnika koji imaju JAK2V617F mutaciju, a ujedno su imali arterijsku trombozu pri postavljanju dijagnoze bolesti, u odnosu na JAK2V617F pozitivne bolesnike bez arterijske tromboze pri dijagnozi, kao i u odnosu na JAK2V617F negativne bolesnike koji su imali i koji nisu imali arterijsku trombozu pri dijagnozi. Vrednosti laboratorijskog parametra *kalijuma* će biti više vrednosti kod bolesnika bez detektovane JAK2V617F mutacije, a koji su imali arterijsku trombozu pri postavljanju dijagnoze osnovne bolesti, u odnosu na sve ostale grupe (JAK2V617F bolesnike bez mutacije koji nisu imali trombozu, kao i u odnosu na JAK2V617F bolesnike sa mutacijom koji su imali i koji nisu imali arterijsku trombozu pri dijagnozi).

Dodatno, odsustvo JAK2V617F mutacije, kao zaseban faktor, doprinosi ispoljavanju viših vrednosti *RDW-SV parametra i APC rezistencije*. Oba ova parametra imaju više vrednosti kod osoba koje imaju arterijsku trombozu pri dijagnozi i nemaju mutaciju JAK2V617F gena, u odnosu na ostale grupe bolesnika.

Vrednosti TT više su kod bolesnika ispitivane grupe, bez obzira na prisustvo ili odsustvo arterijskih tromboznih incidenata pri dijagnozi.

Kada se govori o vrednostima parametara *albumina, mokraćne kiseline, homocisteina i proteina S*, rezultati su ukazali na to da oni ne doprinose nastanku tromboza u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.

**Tabela 20. Uticaj laboratorijskih parametara na nastanak venskih tromboza pri dijagnozi u zavisnosti od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<i>Antitrombin</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	101.15	17.00	Mutacija	2.46	.03
		Sa trombozom	111.00	17.07			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	101.34	8.31	Tromboza	0.14	.00
		Sa trombozom	85.50	25.87			
		Interakcija			2.54	.03	
	<i>Relativni broj bazofila</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.95	0.46	Mutacija	<b>24.35**</b>
Sa trombozom			3.00	0.55			
Sa mutacijom		Bez tromboze	1.06	0.36	Tromboza	<b>10.35**</b>	.11
		Sa trombozom	0.55	0.44			
		Interakcija			<b>29.37**</b>	.25	
<i>AST</i>		Bez mutacije	Bez tromboze	21.07	5.51	Mutacija	<b>4.54*</b>
	Sa trombozom		20.00	5.45			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	22.84	7.29	Tromboza	2.28	.02
		Sa trombozom	37.75	27.40			
		Interakcija			3.04	.03	
	<i>Trigliceridi</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	1.42	0.77	Mutacija	0.05
Sa trombozom			1.77	0.76			
Sa mutacijom		Bez tromboze	1.20	0.49	Tromboza	2.61	.03
		Sa trombozom	2.16	1.76			
		Interakcija			0.55	.01	
<i>AB Bazofila</i>		Bez mutacije	Bez tromboze	0.07	0.04	Mutacija	0.12
	Sa trombozom		0.08	0.04			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0.09	0.05	Tromboza	0.51	.01
		Sa trombozom	0.04	0.03			
		Interakcija			1.54	.02	
	<i>MPV</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	9.67	0.77	Mutacija	0.27
Sa trombozom			10.03	0.04			
Sa mutacijom		Bez tromboze	9.75	0.61	Tromboza	0.75	.01
		Sa trombozom	9.80	0.50			
		Interakcija			0.54	.01	
<i>Protein S</i>		Bez mutacije	Bez tromboze	87.87	16.43	Mutacija	2.32
	Sa trombozom		53.90	17.57			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	85.80	20.96	Tromboza	2.12	.02
		Sa trombozom	88.60	19.85			
		Interakcija			2.95	.03	



<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	$\eta^2$
<i>AB monocita</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.51	0.15	Mutacija	2.51	.03
		Sa trombozom	0.17	0.05			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0.63	0.26	Tromboza	<b>5.15*</b>	.05
		Sa trombozom	0.43	0.13			
				Interakcija	0.34	.00	
<i>MCHC</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	326.15	10.92	Mutacija	<b>4.78*</b>	.05
		Sa trombozom	302.00	12.70			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	323.39	12.94	Tromboza	1.02	.01
		Sa trombozom	334.00	2.16			
				Interakcija	<b>6.75*</b>	.07	
<i>PT</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.98	0.06	Mutacija	7.28**	.07
		Sa trombozom	1.28	0.09	Tromboza	6.35**	.07
	Sa mutacijom	Bez tromboze	1.03	0.09	Interakcija	15.08**	.14
		Sa trombozom	0.98	0.06			

*Napomena.* M – aritmetička sredina, SD – standardna devijacija, F – vrednost F-testa,  $\eta^2$  – veličina efekta.

Uvidom u tabelu 20., niže vrednosti *apsolutnog broja monocita* imaju bolesnici ispitivane i kontrolne grupe koji su imali venske tromboze pri dijagnozi u odnosu na bolesnike obe grupe bez tromboznih incidenata pri dijagnozi (nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije).

U slučaju venskih tromboza pri dijagnozi, značajne veze su ostvarane sa *antikardiolipinskim IgG antitelima* i *anti-beta2-glikoproteinskim antitelima IgM*. Ispitivanjem vrednosti parametara antikardiolipinskih antitela IgG ( $\chi^2 = 1.09$ ,  $p = .36$ ) i anti-beta2-glikoproteinskih antitela IgM ( $\chi^2 = 0.37$ ,  $p = .62$ ) rezultati su ukazali da oni ne doprinose nastanku tromboza u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.

Više vrednosti laboratorijskog parametra *relativni broj bazofila*, kao i niže vrednosti *MCHC*, zabeleženi su kod bolesnika koji su imali dijagnostikovanu vensku trombozu pri dijagnozi u kontrolnoj grupi, u odnosu na bolesnike ispitivane grupe koji su imali trombozu pri dijagnozi, ispitivane bolesnike koji nisu imali trombozne incidente, kao i bolesnike koji su u kontrolnoj grupi i nisu imali trombozne incidente. Više vrednosti *PT* zabeležene su kod bolesnika koji su imali dijagnostikovanu vensku trombozu pri dijagnozi u ispitivanoj grupi, u odnosu na bolesnike kontrolne grupe koji su imali trombozu pri dijagnozi, bolesnike ispitivane grupe koji nisu imali trombozne incidente, kao i bolesnike koji su u kontrolnoj grupi i nisu imali trombozne incidente.

Kada se govori o JAK2V617F mutaciji, on kao samostalan faktor doprinosi ispoljavanju parametara *MCHC* i *AST* i to u smeru da je kod bolesnika koji imaju mutaciju ovog gena ujedno

detektovan značajno viši nivo ova dva parametra u odnosu na bolesnike koji nemaju mutaciju ovog gena.

Vrednosti parametara *proteina S*, *apsolutnog broja bazofilnih granulocita*, *antitrombina* i *triglicerida* ne doprinose nastanku tromboza u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.

**Tabela 21. Uticaj laboratorijskih parametara na nastanak tromboza tokom lečenja u zavisnosti od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<i>MCHC</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	326.15	10.93	Mutacija	1.87	.02
		Sa trombozom	302.00	11.70			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	324.56	13.11	Tromboza	<b>4.08*</b>	.04
		Sa trombozom	321.80	9.68			
		Interakcija			2.58	.03	
<i>AB monocita</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0,50	0,15	Mutacija	<b>6.80**</b>	.07
		Sa trombozom	0,17	0,15			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0,60	0,25	Tromboza	1.09	.01
		Sa trombozom	0,69	0,34			
		Interakcija			3.31	.04	
<i>Protein S</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	87,87	16,43	Mutacija	1.23	.01
		Sa trombozom	53,90	17,87			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	86,94	21,55	Tromboza	<b>4.18*</b>	.04
		Sa trombozom	78,18	7,87			
		Interakcija			1.45	.02	
<i>MPV</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	9,66	0,77	Mutacija	0.00	.00
		Sa trombozom	10,30	0,52			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	9,69	0,58	Tromboza	2.46	.03
		Sa trombozom	10,26	0,54			
		Interakcija			0.01	.00	
<i>AB bazofila</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0,06	0,04	Mutacija	0.45	.01
		Sa trombozom	0,08	0,04			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0,08	0,05	Tromboza	0.27	.00
		Sa trombozom	0,09	0,07			
		Interakcija			0.00	.00	
<i>Glukoza</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	5,59	1,54	Mutacija	0.57	.01
		Sa trombozom	5,20	1,51			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	5,38	1,10	Tromboza	1.01	.01
		Sa trombozom	4,30	0,30			
		Interakcija			0.28	.00	
<i>Kalijum</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	74,22	18,89	Mutacija	0.13	.00
		Sa trombozom	73,00	18,49			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	72,70	14,48	Tromboza	0.16	.00
		Sa trombozom	81,60	25,96			
		Interakcija			0.27	.00	
<i>D-dimer</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0,42	0,42	Mutacija	0.60	.01
		Sa trombozom	0,58	0,40			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0,35	0,18	Tromboza	2.99	.03
		Sa trombozom	1,02	1,34			
		Interakcija			1.14	.01	
<i>PT</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.98	.07	Mutacija	3.86	.04
		Sa trombozom	1.28	.09	Tromboza	12.00**	.12
	Sa mutacijom	Bez tromboze	1.03	.09	Interakcija	9.00*	.09
		Sa trombozom	1.05	.09			

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<i>TT</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.97	.06	Mutacija	0.68	.01
		Sa trombozom	1.01	.04	Tromboza	1.99	.02
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0.99	.05	Interakcija	0.03	.00
		Sa trombozom	1.04	.06			
<i>CRP</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	3.43	5.78	Mutacija	0.38	.01
		Sa trombozom	0.30	5.63	Tromboza	0.00	.00
	Sa mutacijom	Bez tromboze	1.75	5.81	Interakcija	1.75	.02
		Sa trombozom	4.95	5.43			

*Napomena.* M – aritmetička sredina, SD – standardna devijacija, F – vrednost F-testa,  $\eta^2$  – veličina efekta

Uvidom u tabelu 21., niže vrednosti laboratorijskog parametra *MCHC* i proteina *S* imaju bolesnici ispitivane i kontrolne grupe koji su imali tromboze tokom lečenja u odnosu na bolesnike obe grupe bez tromboznih incidenata tokom lečenja (nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije).

Više vrednosti laboratorijskog parametra *PT* zabeležene su kod bolesnika koji su imali dijagnostikovane tromboze tokom lečenja u kontrolnoj grupi, u odnosu na bolesnike ispitivane grupe koji su imali trombozu tokom lečenja, ispitivane bolesnike koji nisu imali trombozne incidente, kao i bolesnike koji su u kontrolnoj grupi i nisu imali trombozne incidente.

Vrednosti apsolutnog broja monocita niže su kod bolesnika kontrolne grupe, bez obzira na prisustvo ili odsustvo tromboznih incidenata tokom lečenja.

**Tabela 22. Uticaj laboratorijskih parametara na nastanak arterijskih tromboza tokom lečenja u zavisnosti od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<i>MPV</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	9,66	0,77	Mutacija	0.03	.00
		Sa trombozom	10,30	0,50			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	9,69	0,57	Tromboza	2.97	.03
		Sa trombozom	10,40	0,51			
					Interakcija	0.08	.00
<i>Kreatinin</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	74,22	18,89	Mutacija	0.48	.01
		Sa trombozom	73,00	18,45			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	72,27	14,59	Tromboza	0.59	.01
		Sa trombozom	88,50	24,11			
					Interakcija	0.79	.01
<i>LDH</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	235,28	66,15	Mutacija	1.39	.01
		Sa trombozom	197,00	64,00			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	223,91	54,50	Tromboza	0.18	.01
		Sa trombozom	293,00	111,55			
					Interakcija	2.24	.01
<i>D-dimer</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0,42	0,42	Mutacija	1.35	.02
		Sa trombozom	0,58	0,40			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0,35	0,18	Tromboza	<b>4.51*</b>	.05
		Sa trombozom	1,20	1,48			
					Interakcija	2.14	.02
<i>Kalijum</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	4,90	0,48	Mutacija	1.60	.02
		Sa trombozom	4,80	0,48			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	4,90	0,39	Tromboza	2.73	.03
		Sa trombozom	4,09	1,22			
					Interakcija	1.60	.02
<i>MCHC</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	326,15	10,92	Mutacija	1.22	.01
		Sa trombozom	302,00	12,07			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	324,82	13,06	Tromboza	<b>5.18*</b>	.05
		Sa trombozom	318,25	6,39			
					Interakcija	1.69	.02
<i>AB monocita</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0,50	0,14	Mutacija	<b>8.28**</b>	.08
		Sa trombozom	0,17	0,16			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0,59	0,24	Tromboza	0.49	.01
		Sa trombozom	0,77	0,34			
					Interakcija	<b>4.57*</b>	.05
<i>Protein S</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	87,87	16,43	Mutacija	1.42	.02
		Sa trombozom	53,90	17,60			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	86,51	21,49	Tromboza	3.45	.04
		Sa trombozom	80,77	6,15			
					Interakcija	1.74	.02

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<i>Relativni broj bazofila</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0,06	0,04	Mutacija	0.91	.01
		Sa trombozom	0,08	0,04			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	0,08	0,05	Tromboza	0.72	.01
		Sa trombozom	0,12	0,08			
				Interakcija	0.10	.00	
<i>CRP</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	3.43	5.78	Mutacija	0.88	.01
		Sa trombozom	0.30	5.63	Tromboza	0.13	.00
	Sa mutacijom	Bez tromboze	1.75	1.81	Interakcija	2.70	.03
		Sa trombozom	4.95	5.43			
<i>PT</i>	Bez mutacije	Bez tromboze	0.98	.07	Mutacija	4.05*	.04
		Sa trombozom	1.28	.09	Tromboza	10.74**	.11
	Sa mutacijom	Bez tromboze	1.03	.09	Interakcija	9.32**	.09
		Sa trombozom	1.04	.09			

*Napomena.* M – aritmetička sredina, SD – standardna devijacija, F – vrednost F-testa, η<sup>2</sup> – veličina efekta.

Više vrednosti *D-dimera* i niže vrednosti *MCHC* zabeležene su kod bolesnika koji su imali arterijsku trombozu tokom lečenja nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije.

Niže vrednosti *apsolutnog broja monocita* zabeležene su kod bolesnika koji su imali dijagnostikovanu arterijsku trombozu tokom lečenja u kontrolnoj grupi, u odnosu na bolesnike ispitivane grupe koji su imali arterijsku trombozu tokom lečenja, ispitivane bolesnike koji nisu imali trombozne incidente, kao i bolesnike koji su u kontrolnoj grupi i nisu imali trombozne incidente.

Prisutvo lupusnog antikoagulansa nije ostavilo značajne veze sa JAK2V617F mutacijom niti sa pojavom arterijskih tromboza tokom lečenja.

**Tabela 23. Uticaj laboratorijskih parametara na nastanak venskih tromboza tokom lečenja u zavisnosti od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>JAK2V617F mutacija</i>	<i>Trombozni događaj</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>FAKTOR</i>	<i>F</i>	<i>η<sup>2</sup></i>
<b><i>Hlor</i></b>	Bez mutacije	Bez tromboze	104,06	2,86	Mutacija	0.95	.01
		Sa trombozom	104,06	2,86			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	103,51	2,59	Tromboza	<b>3.95*</b>	.04
		Sa trombozom	109,00	2.77			
		Interakcija	-	-			
<b><i>Non HDL holesterol</i></b>	Bez mutacije	Bez tromboze	3,88	0,85	Mutacija	1.72	.01
		Sa trombozom	3,88	0,85			
	Sa mutacijom	Bez tromboze	3,64	0,87	Tromboza	<b>4.24*</b>	.04
		Sa trombozom	1,84	0.93			
		Interakcija	-	-			

*Napomena.* M – aritmetička sredina, SD – standardna devijacija, F – vrednost F-testa, η<sup>2</sup> – veličina efekta.

Više vrednosti laboratorijskog parametra *hlora* i niže vrednosti *nonHDL holesterola* zabeležene su kod bolesnika koji su imali vensku trombozu tokom lečenja nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije.

Anti-beta2-glikoproteinska antitela klase IgM nisu ostvarila značajne veze sa JAK2V617F mutacijom niti sa pojavom venskih tromboza tokom lečenja.

**Tabela 24. Doprinos laboratorijskih parametara predviđanju pripadnosti pacijenta grupama sa i bez JAK2V617F mutacije – slučaj tromboza pri dijagnozi**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Smer</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-)</i>				<i>Smer</i>	<i>Ispitativana grupa (JAK2V617F+)</i>			
		OR	L95%	U95%	p		OR	L95%	U95%	p
<i>Trigliceridi</i>	+	4.72	1.13	19.72	<b>.03</b>	+	3.61	1.01	12.88	<b>.05</b>
<i>Holesterol, nonHDL/HDL, Indeks</i>	+	3.32	0.90	12.21	.07	+	2.59	1.10	6.08	<b>.03</b>
<i>Holesterol, Ukupni/HDL, Indeks</i>	+	3.32	0.91	12.08	.07	+	2.59	1.11	6.08	<b>.03</b>
<i>Relativni broj bazofila</i>	+	6.87	1.16	40.64	<b>.03</b>	+	0.12	0.01	0.09	.06
<i>Ukupni holesterol</i>	+	4.43	1.08	18.18	<b>.04</b>	+	1.67	0.80	3.49	.17
<i>Holesterol, nonHDL</i>	+	4.47	1.13	17.60	<b>.03</b>	+	2.24	0.84	5.99	.11
<i>Glukoza</i>	+	2.00	1.17	3.44	<b>.01</b>	-	0.46	0.12	1.64	.23
<i>Urea</i>	+	2.17	1.16	4.05	<b>.02</b>	+	1.12	0.61	2.07	.70
<i>Kreatinin</i>	+	1.06	1.01	1.11	<b>.02</b>	-	0.95	0.88	1.02	.18

*Napomena.* OR – odd ratio, L-U 95% - gornja i donja kritična vrednost, p – nivo značajnosti.

Uvidom u rezultate iz tabele 24. može se zaključiti da su kod bolesnika koji si imali trombozne događaje pri postavljanju dijagnoze osnovne bolesti, u kontrolnoj grupi obolelih od ET, verifikovane *više vrednosti koncentracija triglicerida, ukupnog holesterola, nonHDL holesterola, glukoze, uree, kreatina i relativnog broja bazofila*. Navedeni parametri ostvarili su značajan i pozitivan doprinos ispoljavanju trombozama pri dijagnozi kod JAKV617F negativnih bolesnika.

Uvidom u rezultate iz tabele 24. može se zaključiti da su kod bolesnika koji si imali trombozne događaje pri postavljanju dijagnoze osnovne bolesti, u ispitivanoj grupi obolelih od ET, verifikovane *više vrednosti triglicerida, holesterola HDL/nonHDL indeksa i holesterola, ukupnog/HDL*. Navedeni parametri ostavrili su značajan i pozitivan doprinos ispoljavanju tromboza pri dijagnozi kod pacijenata sa pozitivnom JAK2V617F mutacijom.



**Tabela 25. Doprinos laboratorijskih parametara predviđanju pripadnosti pacijenta grupama sa i bez JAK2V617F mutacije – slučaj arterijskih tromboza pri dijagnozi**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Smer</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-)</i>				<i>Smer</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>			
		OR	L95%	U95%	p		OR	L95%	U95%	p
<i>Ukupni holesterol</i>	+	4.97	1.04	23.80	<b>.05</b>	+	2.85	0.92	8.80	.07
<i>Holesterol LDL</i>	+	3.93	0.58	26.26	.16	+	5.67	1.01	31.72	<b>.05</b>
<i>Holesterol, nonHDL</i>	+	4.68	1.05	20.92	<b>.04</b>	+	6.43	1.15	35.92	<b>.03</b>
<i>Holesterol, LDL/HDL, indeks</i>	+	3.00	0.50	17.19	.23	+	4.74	1.15	19.51	<b>.03</b>
<i>Holesterol, nonHDL/HDL, indeks</i>	+	3.36	0.77	14.78	.11	+	3.20	1.06	9.64	<b>.04</b>
<i>Holesterol, Ukupni/HDL, indeks</i>	+	3.36	0.77	14.59	.11	+	3.20	1.06	9.64	<b>.04</b>
<i>D-dimer</i>	+	1.70	0.24	12.11	.60	+	12.72	0.45	360.09	.14
<i>RDW-SW</i>	+	1.13	1.00	1.26	<b>.04</b>	+	1.12	0.95	1.32	.19
<i>Glukoza</i>	+	2.38	1.25	4.53	<b>.01</b>	-	0.59	0.12	2.75	.50
<i>Urea</i>	+	2.81	1.18	6.66	<b>.02</b>	-	0.67	0.21	2.11	.67
<i>Kreatinin</i>	+	1.08	1.02	1.14	<b>.01</b>	-	0.98	0.91	1.06	.68
<i>Kalijum</i>	+	8.19	0.92	73.01	.06	-	0.54	0.13	2.36	.42
<i>APC rezistencija</i>	+	3.05	1.07	8.63	<b>.04</b>	+	1.17	0.42	3.31	.77
<i>TT</i>	-	0.00	0.00	6849.46	.24	-	0.01	0.00	970.49	.33

*Napomena.* OR – odd ratio, L-U 95% - gornja i donja kritična vrednost, p – nivo značajnosti.

Uvidom u rezultate iz tabele 25. može se zaključiti da su kod bolesnika koji su imali arterijske trombozne događaje pri postavljanju dijagnoze osnovne bolesti, u kontrolnoj grupi obolelih od ET, verifikovane *više vrednosti koncentracija ukupnog holesterola, non HDL holesterola, DRW-SW, glukoze, uree, kreatinina i APC rezistencije*. Navedeni paraometri ostvarili su značajan i pozitivan doprinos ispoljavanju arterijskim trombozama pri dijagnozi kod JAKV617F negativnih bolesnika.

Uvidom u rezultate iz tabele 25. može se zaključiti da su kod bolesnika koji si imali arterijske trombozne događaje pri postavljanju dijagnoze osnovne bolesti, u ispitivanoj grupi obolelih od ET, verifikovane *više vrednosti koncentracija LDL holesterola, non HDL holesterola, holesterola LDL/HDL (indeks), holesterola non HDL/HDL (indeksa) i holesterola ukupni/HDL (indeks)*. Navedeni parametri ostvarili su značajan i pozitivan doprinos ispoljavanju arterijskim trombozama pri dijagnozi kod JAKV617F pozitivnih bolesnika.

**Tabela 26. Doprinos laboratorijskih parametara predviđanju pripadnosti pacijenta grupama sa i bez JAK2V617Fmutacije – slučaj venskih tromboza pri dijagnozi**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Smer</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-)</i>				<i>smer</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>			
		OR	L95%	U95%	p		OR	L95%	U95%	p
<i>Relativan broj bazofila</i>	+	2.24	0.00	4.48	.99	-	0.01	0.00	0.65	<b>.03</b>
<i>AST</i>	-	0.95	0.59	1.53	.84	+	1.08	1.00	1.17	.06
<i>AB monocita</i>	-	0.00	0.00	0.98	.99	-	0.01	.00	4.72	.13
<i>MCHC</i>	-	0.03	0.00	0.99	.99	+	1.07	0.98	1.17	.12
<i>PT</i>	+	3.12	0.00	6.96	.99	-	0.00	0.00	160.39	.19

*Napomena.* OR – odd ratio, L-U 95% - gornja i donja kritična vrednost, p – nivo značajnosti.

Uvidom u rezultate iz tabele 26. može se zaključiti da *niži relativan broj bazofila* doprinosi značajno ispoljavanju venskih tromboza pri postavljanju dijagnoze kod pacijenata sa JAK2V617F mutacijom, dok kod pacijenata bez mutacije uključene varijable nisu značajno doprinele ispoljavanju venskih tromboza pri dijagnozi.

**Tabela 27. Doprinos laboratorijskih parametara predviđanju pripadnosti pacijenta grupama sa i bez JAK2V617F mutacije – slučaj tromboza tokom lečenja**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Smer</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-)</i>				<i>smer</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>			
		OR	L95%	U95%	p		OR	L95%	U95%	p
<i>MCHC</i>	-	0.03	0.00	2.26	.99	-	0.98	0.91	1.06	.64
<i>AB monocita</i>	-	0.00	0.00	1.12	.99	+	3.41	0.14	84.36	.45
<i>Protein S</i>	-	0.00	0.00	5.86	.99	-	0.98	0.93	1.03	.37
<i>PT</i>	+	3.16	0.00	7.04	.99	+	11.12	0.00	168607.18	0.62

*Napomena.* OR – odd ratio, L-U 95% - gornja i donja kritična vrednost, p – nivo značajnosti.

Uvidom u rezultate iz tabele 27.može se zaključiti da i kod ispitivane i kontrolne grupe, uključene varijable nisu značajno doprinele ispoljavanju tromboza tokom lečenja.

**Tabela 28. Doprinos laboratorijskih parametara predviđanju pripadnosti pacijenta grupama sa i bez JAK2V617F mutacije – slučaj arterijskih tromboza tokom lečenja**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Smer</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-)</i>				<i>smer</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>			
		OR	L95%	U95%	p		OR	L95%	U95%	p
<i>D-dimer</i>	+	1.75	0.09	35.99	.72	+	10.77	0.45	258.04	.14
<i>MCHC</i>	-	0.03	0.00	2.26	.99	-	0.96	0.88	1.04	.33
<i>AB monocita</i>	-	0.00	0.00	1.12	.99	+	8.24	0.29	234.03	.22
<i>PT</i>	+	3.13	0.00	71.00	.99	+	3.38	0.00	178379.1	.83

*Napomena.* OR – odd ratio, L-U 95% - gornja i donja kritična vrednost, p – nivo značajnosti.

Uvidom u rezultate iz tabele 28.može se zaključiti da i kod ispitivane i kontrolne grupe, uključene varijable nisu značajno doprinele ispoljavanju arterijskih tromboza tokom lečenja.

**Tabela 29. Doprinos laboratorijskih parametara predviđanju pripadnosti pacijenta grupama sa i bez JAK2V617F mutacije – slučaj venskih tromboza tokom lečenja**

<i>Laboratorijski parametri</i>	<i>Smer</i>	<i>Kontrolna grupa (JAK2V617F-)</i>				<i>smer</i>	<i>Ispitanivana grupa (JAK2V617F+)</i>			
		OR	L95%	U95%	p		OR	L95%	U95%	p
<i>Hlor</i>	+	8.24	0.29	234.03	.22	+	1.50	0.95	2.46	.11
<i>Holesterol non HDL</i>	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.01	.97

*Napomena.* OR – odd ratio, L-U 95% - gornja i donja kritična vrednost, p – nivo značajnosti.

Uvidom u rezultate iz tabele 29. može se zaključiti da i kod ispitivane kao i kod kontrolne grupe uključene varijable nisu značajno doprinele ispoljavanju venskih tromboza tokom lečenja.

## 5. DISKUSIJA

Esencijalna trombocitemija ima najpovoljniji klinički tok među svim mijeloproliferativnim bolestima. Trombozne komplikacije predstavljaju jedan od vodećih uzroka morbiditeta i mortaliteta kod obolelih od ET. Značaj JAK2V617F mutacije u nastanku tromboznih komplikacija je varijabilan u populaciji obolelih od ET u odnosu na rezultate dosadašnjih studija.

U dosadašnjim istraživanjima, analizirani su različiti klinički, laboratorijski i genetski parametri koji bi mogli uticati na tok bolesti i pojavi tromboznih događaja u ovoj populaciji bolesnika. Među njima najčešće ispitivani parametri su bili broj krvnih ćelija, činioci hemostaze, prisustvo mutacije u genu za sintezu protrombina G20210A i faktor V Leiden mutacija, kardiovaskularni faktori rizika, a poslednjih godina i genetske „fenotipske i nefenotipske” mutacije kod Filadelfija negativnih mijeloproliferativnih neoplazmi.

Dosadašnje studije prepoznale su i definisale faktore rizika za nastanak tromboembolijskih komplikacija kod obolelih od ET, među kojima se izdvajaju standardni faktori rizika (godine života bolesnika i prethodni trombozni događaji), kardiovaskularni faktori rizika i prisustvo JAK2V617F mutacije, ali je i pored toga ostalo pitanje zbog čega kod određenih bolesnika ovi faktori dovode do nastanka tromboznih komplikacija, dok kod većine drugih to nije slučaj.

Posmatrajući našu populaciju obolelih od ET, želeli smo da ispitamo postojanje statistički značajnih razlika u demografskim parametrima, učestalosti, vrsti i lokalizaciji tromboznih događaja i laboratorijskim parametrima kod bolesnika koji imaju prisutnu JAK2V617F mutaciju i kod kojih je JAK2V617 mutacija odsutna a sve u cilju praktične primene rezultata istraživanja u svakodnevnom kliničkom radu. Iz dobijenih rezultata istraživanja, ukoliko bi se definisali i prepoznali faktori rizika, mogli bi da preveniramo tromboembolijske komplikacije tokom lečenja, predvidimo klinički tok bolesti, utičemo na kvalitet života i preživljavanje obolelih od ET.

Istraživanje je obuhvatilo 48 obolelih od ET, sa dokazanom prisutnom JAK2V617F mutacijom, koji su činili ispitivanu grupu i 47 obolelih od ET, sa odsutnom JAK2V617F mutacijom, koji su činili kontrolnu grupu. Ispitivanu i kontrolnu grupu su činili bolesnici sa prethodno postavljenom dijagnozom ET, koji su lečeni u ambulanti Klinike za hematologiju, najmanje 6 meseci pre uključenja u istraživanje. Izbor bolesnika za uključivanje u istraživanje, vršen je u odnosu na prisustvo dostupnosti kompletne medicinske dokumentacije (polikliničkih kartona koji su sadržali

patohistološki nalaz biopsije kostne srži i laboratorijski nalaz prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije). Svim ispitanicima i kontrolama, rađene su laboratorijske analize u vremenu dolaska na redovne kontrole kod hematologa. Srednja vrednost praćenja i lečenja bolesnika bila je 5.96 godina kod ispitivane grupe odnosno 5 godina kod kontrolne grupe. Obzirom da vremenski momenat uzorkovanja analiza nije bio konzistentan za sve ispitanike i kontrole, kriterijumi za isključivanje bili su strogo kontrolisani i primenjeni na obe grupe, kako bi na vrednosti parametara dobijenih laboratorijskim analizama, što manji efekat imali drugi doprinoseći faktori koji bi mogli da utiču na njih (akutna inflamatorna stanja, maligniteti, trudnoća, poremećaj funkcionalnosti hemostaznog sistema, bolesti jetre i bubrega). Prosečna starost ispitanika iznosila je 54.04 godine u odnosu na kontrole kod kojih je bila 56.04 godine starosti u momentu uključivanja u istraživanje i uzorkovanje krvi za potrebne laboratorijske analize. Tromboembolijske komplikacije su u odnosu na vreme nastanka podeljene u tri kategorije: prethodne tromboze, koje su se dogodile (2 i više godina) pre postavljanja dijagnoze ET; tromboze koje su se javile u momentu postavljanja dijagnoze i tromboze koje su nastale u toku praćenja i lečenja bolesnika. U odnosu na vrstu tromboza podeljene su na arterijske, venske i mikrocirkulatorne poremećaje, ali u istraživanju su analizirani samo arterijski i venski trombozni događaji. Svim ispitanicima pored laboratorijskih analiza, utvrđeno je prisustvo ili odsustvo kardiovaskularnih faktora rizika, koji su dobijeni na osnovu upitnika i prateće medicinske dokumentacije. Ukoliko su kardiovaskularni faktori rizika bili prisutni kod bolesnika obe grupe (hipertenzija, hiperlipoproteinemija, diabetes mellitus, pušenje), putem upitnika je zabeležena terapija istih. Svi bolesnici ispitivane i kontrolne grupe, u momentu uzorkovanja krvi za laboratorijske analize, imali su odgovarajuću terapiju za određene komorbiditete (hipolipemike, antihipertenzive, oralne antidijabetike/insulin).

U skladu sa aktuelnim istraživačkim dilemama iz oblasti tromboznih komplikacija u mijeloproliferativnim bolestima, pitanja na koje smo pokušali da pružimo odgovor su bila: Da li je prisustvo JAK2V617F mutacije u našoj populaciji bolesnika sa ET ima ulogu u nastanku tromboznih komplikacija? Da li prisustvo JAK2V617F mutacije doprinosi vremenu nastanka i vrsti tromboznih komplikacija kod obolelih od ET? Da li kardiovaskularni faktori rizika, starost i prethodni trombozni događaji u odnosu na prisustvo/odsustvo JAK2V617F mutacije, doprinose nastanku tromboznih komplikacija? Da li ispitivani laboratorijski parametri u odnosu na prisustvo/odsustvo JAK2V617F mutacije doprinose nastanku tromboznih komplikacija i da li je opravdana njihova upotreba u svakodnevnom kliničkom radu?

## 5.1. DEMOGRAFSKE KARAKTERISTIKE ISPITIVANE I KONTROLNE GRUPE

U istraživanje je metodom slučajnog stratifikovanog uzorka uključeno 53 obolelih od ET u grupi ispitanika i 47 obolelih od ET u kontrolnoj grupi. Od 100 bolesnika sa ET kriterijume za uključivanje je imalo 48 obolelih od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom u ispitivanoj grupi i 47 obolelih od ET sa odsustvom JAK2V617F mutacije u kontrolnoj grupi. Kod bolesnika koji nisu uključeni u istraživanje četvero nisu imali kompletnu medicinsku dokumentaciju, dok je kod jednog bolesnika u momentu pregleda utvrđena transformacija u akutnu leukemiju.

Prosečna starost pri postavljanju dijagnoze osnovne bolesti u ispitivanoj grupi bila je 50.3 ( $\pm$ 13.2) godina, dok je kontrolna grupa bila nešto starija, sa prosečnom starosti 52.3 ( $\pm$ 14.6) godina. Prema spolnoj strukturu, u istraživanju su predominirale žene koje su činile 68.4% ispitivane i kontrolne grupe. U ispitivanoj grupi žene su činile 64.6% svih ispitanika, u kontrolnoj grupi 72.3% svih kontrola. U studijama rađenim krajem XX i početkom XXI veka, prosečna starost je bila 68 godina života i predominirale su i tada osobe ženskog pola (56%) [150]. Prema jednoj od poslednjih studija koja je uključivala veći broj bolesnika, 1076 obolelih od ET, prosečna starost pri postavljanju dijagnoze bila je 58 (18-96) godina, dok su žene činile 63% [151]. Naša populacija prema demografskim karakteristikama odgovara literaturnim podacima.

Mikrocirkulatorne tegobe pri postavljanju dijagnoze i tokom lečenja registrovane su u ispitivanoj grupi u 60.4% bolesnika dok je u kontrolnoj grupi 53.2% imalo navedene tegobe. Prema dosadašnjim studijama tegobe porekla mikrocirkulatornih poremećaja ima oko 40% obolelih od mijeloproliferativnih bolesti [7,8], dok je u našoj populaciji ispitanika učestalost navedenih tegoba veća. Tegobe porekla mikrocirkulatornih poremećaja su zastupljenje i u ispitivanoj i u kontrolnoj grupi, bez statistički značajne razlike ( $p > 0.05$ ) što bi impliciralo da JAK2V617F mutacija nije uticala u našoj populaciji na pojavu navedenih tegoba. U studijama rađenim na manjem broju ispitanika, dobijeni su slični rezultati, bez razlike u pojavi tegoba kod JAK2V617F pozitivnih i negativnih bolesnika [152, 153]. Međutim u nedavno rađenoj metaanalizi, prisustvo JAK2V617V mutacije kod obolelih od ET doprinosilo je češćoj pojavi tegoba porekla mikrovaskularnih poremećaja [OR = 1.50 (0.97-2.32)] [84].

Bolesnici u ispitivanoj i kontrolnoj grupi su u momentu uključivanja u istraživanje imali terapiju propisanu od nadležnog hematologa. I u ispitivanoj i u kontrolnoj grupi 100% bolesnika je u terapiji redovno uzimalo acetilsalicilnu kiselinu u dozi od 100 mg/dan. Citoreduktivnom terapijom

hidroksiureom je lečeno 62.5% bolesnika u ispitivanoj grupi i 59.6% u kontrolnoj grupi. Citoreduktivna terapija hidroksiureom propisana od nadležnog hematologa, uz acetilsalicilnu kiselinu, bila je jedini modalitet lečenja u našoj populaciji obolelih od ET i pretpostavljamo da je značajno uticala na ukupan broj tromboznih incidenata tokom lečenja kod svih obolelih od ET (6.3%).

## **5.2. UČESTALOST, VRSTA I LOKALIZACIJA TROMBOZNIH DOGAĐAJA**

Trombozni događaji, bez obzira na vreme nastanka, verifikovani su kod 26 obolelih od ET u obe grupe, što je činilo 28.4% ukupne populacije. Arterijske tromboze su verifikovane kod 19 (20%) bolesnika, dok su venske tromboze zabeležene kod 10 (10.5%) svih obolelih od ET. Dva bolesnika su imala i arterijsku i vensku trombozu. Iako je učestalost arterijskih tromboznih događaja bila oko 2 puta veća u odnosu na venske u celoj populaciji obolelih od ET, nije postojala statistički značajna razlika ( $p > 0.05$ ). Prema dostupnim literarnim podacima, teško je precizno proceniti incidenciju tromboznih događaja u mijeloproliferativnim bolestima [154]. Dizajn studija koje su rađene i incidencija tromboznih događaja u mijeloproliferativnim bolestima pa samim tim i u esencijalnoj trombocitemiji se razlikuju, pa je često teško ustanoviti tačnu učestalost prema uniformnim kriterijumima koji se najčešće odnose na vreme nastanka tromboza. Kada govorimo o obolelima od ET koji su u bilo kom vremenskom periodu imali jedan ili više tromboznih događaja, podaci u literaturi su limitirani i datiraju iz vremena otkrića JAK2V617F mutacije. Procenat obolelih od ET koji su u nekom momentu života imali trombozne događaje kreće se od 20-43% [139, 155, 156]. U novijem istraživanju nemačkog registra mijeloproliferativnih bolesti, ustanovljeno je da su se vaskularni događaji javili u 33.6% svih obolelih od mijeloproliferativnih neoplazmi, i u 25% obolelih od ET, nezavisno od vremena njihove pojave. Arterijske i venske tromboze su u ovoj populaciji obolelih od ET imale sličnu učestalost [157]. Slični podaci su objavljeni i iz švedskog registra, u kojem je praćena učestalost tromboznih događaja, bez obzira na vreme nastanka, koje je bila 35% [158], kao i u meta analizi Dahabreh i saradnika, gde je ukupna incidencija tromboza bila 26.4%, arterijskih 18.9% i venskih 8.3% [83]. Naši rezultati i učestalost javljanja tromboza kod obolelih od ET odgovaraju podacima iz literature.

U našoj populaciji obolelih od ET, 26 bolesnika je imalo trombozne incidente. U ispitivanoj grupi 19 bolesnika je imalo trombozne incidente (39.6%), dok je u kontrolnoj grupi tromboze imalo 7 bolesnika (14.9%), sa statistički značajnom razlikom ( $< 0.05$ ). Dobijeni rezultati u našoj populaciji



su u saglasnosti sa postojećim studijama u kojima su bolesnici posmatrani i obrađivani na isti način kao u našoj studiji [155, 156,157]. Meta-analizama [83, 84, 159, 160] potvrđeno je da oboleli od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom imaju češće trombozne komplikacije u odnosu na bolesnike bez mutacije. Zato je određivanje JAK2V617F mutacije u postupku postavljanja dijagnoze esencijalne trombocitemije neophodno, te treba insistirati na ovoj molekularnoj analizi a sve u cilju daljeg kliničkog praćenja i lečenja ovih bolesnika.

Arterijski trombozni događaji javili su se kod 11 obolelih od ET (22.9%) u ispitivanoj grupi, i kod 8 bolesnika (17%) u kontrolnoj grupi, te nije postojala statistički značajna među grupama. Za razliku od arterijskih tromboza, venske tromboze su imale veću učestalost kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika, njih 9 (18.8%) je imalo događaj, za razliku od kontrolne grupe JAK2V617F negativnih bolesnika, kod kojih je događaj registrovan kod samo jednog bolesnika, te je postajala statistički značajna razlika ( $p < 0.05$ ). U prethodno pomenutim meta-analizama je potvrđeno da prisustvo JAK2V617F mutacije doprinosi nastanku arterijskih i venskih tromboznih komplikacija kod obolelih od ET, u odnosu na bolesnike kod kojih je mutacija odsutna. Snažniji doprinos prisustva JAK2V617F mutacije je kod nastanka venskih tromboza [83, 84, 159].

Kada smo ukupne trombozne događaje, podelili u odnosu na vreme nastanka, na prethodne tromboze, tromboze pri dijagnozi i tromboze tokom lečenja, dobili smo da je ukupna učestalost prethodnih tromboza 13.7% (arterijske 9.5% i venske 5.3%; jedan bolesnik je imao prethodnu arterijsku i vensku trombozu), tromboza pri dijagnozi 12.6% (arterijskih 7.4% i venskih 5.3% ) i tromboza tokom lečenja 6.3% (arterijskih 5.3% i venskih 1%). Prema literaturnim podacima, učestalost tromboznih komplikacija pri postavljanju dijagnoze bolesti kreće se od 9.7-29.4%, a tokom lečenja od 8-30.7% [15]. Nedavno objavljenom meta-analizom dobijeni su slični rezultati učestalosti tromboza pri dijagnozi u mijeloproliferativnim neoplazmama od oko 20% (9.5-38.6%), od kojih je prevalencija arterijskih tromboza bila 16.2% a venskih tromboza 6.2% [162]. U studijama koje su imale isti dizajn i koje su posmatrale učestalost prethodnih tromboza i tromboza pri dijagnozi zajedno, dobijeno je da se one kreću od 9.6-41% a tokom praćenja i lečenja 7.9-21% (75, 151, 162, 163). Naši rezultati se uklapaju u rezultate dosadašnjih istraživanja sa izuzetkom učestalosti tromboza tokom praćenja i lečenja bolesnika, čija je stopa nešto niža u odnosu na postojeće studije. Pravovremeno lečenje antiagregacionom i citoreduktivnom terapijom hidroksiureom, moguće je objašnjenje niže prevalencije tromboznih događaja tokom lečenja kod

naše grupe obolelih od ET. Efekti hidroksiuree sa niskim dozama acetilsalicilne kiseline na smanjen broj arterijskih i venskih tromboznih događaja kod obolelih od ET prikazani su u randomizovanom istraživanju koje je poredilo efekat lečenja hidroksiureom sa niskim dozama acetilsalicilne kiseline i anagrelid sa niskim dozama acetilsalicilne kiseline [16]. Značajan antitrombozni efekat hidroksiuree objašnjava se njegovim dejstvom na leukocite, pri čemu se smanjuje njihov broj i aktivacija [164].

U daljoj analizi, trombozni događaji su podeljeni prema vremenu nastanka i u odnosu na prisustvo/odsustvo JAK2V617F mutacije. U našim rezultatima nije se dokazala statistička značajnost u učestalosti u tromboznim komplikacijama u odnosu na vreme nastanka i JAK2V617F mutaciju, izuzev u slučaju svih venskih tromboza ( $p < 0.05$ ), i to na račun prethodnih venskih tromboza koje su bile prisutne samo u ispitivanoj grupi ( $p < 0.05$ ). Slični rezultati dobijeni su u studiji Campbella i saradnika, u kojoj takođe nije postojala razlika u učestalosti arterijskih tromboza kod JAK2V617F pozitivnih i JAK2V617F negativnih bolesnika pre i posle postavljanja dijagnoze osnovne bolesti, već je jedina statistički značajna razlika dokazana kod prethodnih venskih tromboza JAK2V617F pozitivnih bolesnika, u odnosu na bolesnike bez dokazane mutacije [163].

Pojava venskih tromboza pre postavljanja dijagnoze ET, posebno u populaciji JAK2V617F pozitivnih bolesnika, predstavlja važnu sferu interesovanja naučnika, ali je od značaja i za svakodnevni rad kliničara. Kada pristupamo bolesnicima sa venskom trombozom, cilj je da definišemo faktore rizika koji su do nje doveli, obzirom da je njen nastanak multikauzalan. Do sada poznati faktori rizika za nastanak venskih tromboza u opštoj populaciji su nasledni (deficit prirodnih inhibitora koagulacije, faktor V Leiden, protrombin 20210A, novootkrivene genske mutacije, krvna grupa), stečeni (životno doba, imobilizacija, trudnoća i puerperijum, hirurške intervencije, trauma, malignitet, antifosfolipidna antitela, duža putovanja, životne navike, hormonska terapija) i ostali faktori rizika (povišen nivo faktora koagulacije, poremećaj fibrinoliznog mehanizma) [165]. Ukoliko isključimo sve poznate faktore rizika za nastanak venskih tromboza, ostaje nejasan mehanizam njihovog nastanka. Atipične lokalizacije venskih tromboza, kao što su tromboze splanhničkih vena i venskih sinusa javljaju se kod bolesnika koji još uvek nemaju postavljenu dijagnozu MPN i često predstavljaju prvu kliničku manifestaciju bolesti [166]. Skrining na JAK2V617F mutaciju se preporučuje kod tromboza ovih lokalizacija,

posebno kada se u slučaju splahnčnih tromboza isključe ciroza jetre, maligniteti i intraabdominalne infekcije [167]. Tada je učestalost JAK2V617F mutacije 15.4% kod tromboze vene porte i 17.1% kod Budd Chiari sindroma. Definisani su i fenotipi bolesnika koji pripadaju grupi kod koje se MPN manifestuju na ovaj način i to su žene, mlađe životne dobi, sa trombozom atipičnih lokalizacija pre koje se mogu javiti odstupanja u kompletnoj krvnoj slici [166]. Nedavno objavljeni rezultati Danskog registra ukazali su takođe na značaj JAK2V617F mutacije u venskim trombozama. Učestalost JAK2V617F mutacije u opštoj populaciji od 19958 ispitanika bila je 613 (3.1%), od kojih je samo 14 (2.3%) imalo dijagnozu MPN. U istoj studiji dokazana je veća učestalost venskih tromboza kod ispitanika koji su imali gensko opterećenje JAK2V617F alelom veće od 1%, iako nisu imali dijagnozu MPN ali i kod bolesnika koji su imali postavljenu dijagnozu MPN [168]. Ovakvi rezultati studija na velikom uzorku, ali i naše studije, upravo nam ukazuju na to da JAK2V617F mutacija treba biti uvrštena u laboratorijski panel kad pred sobom imamo bolesnika sa venskom trombozom bez jasnih faktora rizika za njen nastanak.

Obzirom na veću učestalost arterijskih tromboznih događaja u odnosu na venske kod obolelih od ET, koja je prema literaturnim podacima 2-3 puta veća [16, 17], očekujemo da se isti odnos javlja i u našoj populaciji JAK2V617F pozitivnih bolesnika. U našim rezultatima nije se dokazala statistička značajnost u poređenju učestalosti javljanja arterijskih i venskih tromboznih događaja u ispitivanoj grupi JAK2V617F pozitivnih bolesnika. Studija Vanucchi i saradnika, prikazala je da je učestalost arterijskih događaja oko dva puta veća u odnosu na venske događaje u momentu postavljanja dijagnoze (14.7% vs 7.9%) kod bolesnika sa dokazanom JAK2V617F mutacijom, da bi se tokom perioda praćenja učestalost javljanja arterijskih i venskih događaja izjednačila (6.3% vs 6.3%) [141]. Takođe u našoj kontrolnoj grupi, JAK2V617F negativnih bolesnika, nije se dokazala statistička značajnost u poređenju učestalosti javljanja arterijskih i venskih tromboznih događaja. U istoj studiji, Vanucchi et al, učestalost arterijskih i venskih događaja u momentu postavljanja dijagnoze kod bolesnika sa odsutnom JAK2V617F mutacijom, bila je približno jednaka (5.5% vs 4.7%), dok su se tokom perioda praćenja arterijski događaji češće javljali u odnosu na venske (5.6% vs 2.7%) [141]. Ovakav odnos arterijskih i venskih tromboza u obe grupe, potvrđen je i u studiji Campbela i saradnika 2005.[163], dok je u studiji Zhang i saradnika, 2020. utvrđena značajno veća učestalost arterijskih tromboznih događaja u odnosu na venske u obolelih od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom [169]. Meta-analiza Lussane i saradnika takođe je ustanovila veću učestalost arterijskih tromboza u odnosu na venske kod JAK2V617F pozitivnih

bolesnika (22% vs 11%), ali i kod obolelih od ET bez prisutne mutacije, dominirale su arterijske tromboze u odnosu na venske (14% vs 4%) [159]. Obzirom da u našoj populaciji razlike između učestalosti arterijskih i venskih tromboznih događaja nisu značajne, pretpostavljamo da je prosečna starost bolesnika pri postavljanju dijagnoze osnovne bolesti (50.3 vs 52.3 godina) i u momentu uključivanja u istraživanje (54.04 vs 56.04 godina), u ispitivanoj i kontrolnoj grupi uticala na manju pojavu arterijskih događaja u obe populacije. Ove pretpostavke su donete u odnosu na podatke Američke asocijacije kardiologa (American Heart Association, AHA). Incidence kardiovaskularnih bolesti u Sjedinjenim Američkim Državama je oko 40% u populaciji od 40-59 godina, oko 75% u populaciji od 60-79 godina i oko 86% kod bolesnika starijih od 80 godina [170].

Kada je u pitanju lokalizacija tromboza kod obolelih kod ET u našoj populaciji, od arterijskih tromboza su registrovani akutni infarkt miokarda, cerebrovaskularni inzult, periferna okluzivna arterijska bolest i nestabilna angina pectoris. Od venskih tromboznih događaja verifikovani su tromboza dubokih vena, plućna embolija, tromboza splanhnične regije i tromboflebitisi, koji su uključeni u ovu grupu incidenata. Lokalizacije tromboza u našoj populaciji su tipične lokalizacije koje se javljaju u mijeloproliferativnim bolestima, a samim tim i u esencijalnoj tromocitemiji [20].

### **5.3. UČESTALOST I POVEZANOST KLINIČKIH FAKTORA RIZIKA SA TROMBOZNIH DOGAĐAJIMA KOD OBOLELIH OD ET**

Analizirajući učestalost standardnih faktora rizika, životno doba od 60 i više godina i prethodne tromboze, u ispitivanoj i kontrolnoj grupi nije bilo statistički značajne razlike u njihovoj učestalosti javljanja, iako je kontrolna grupa imala veću učestalost populacije starije od 60 godina (36.2%) u odnosu na ispitanu (25%), dok je ispitanu grupa imala veću učestalost javljanja prethodnih tromboza (13.7%) u odnosu na kontrolnu (8.5%). Standardni faktori rizika u našem istraživanju nisu ostvarili pozitivnu korelaciju sa nastankom tromboznih komplikacija koje su se javile pri dijagnozi i tokom lečenja ni u ispitivanoj ni u kontrolnoj grupi. Moguće objašnjenje je što je naša populacija bolesnika u proseku imala manje od 60 godina (ispitivana grupa 50.3 godina vs kontrolna grupa 52.3 godine) u momentu postavljanja dijagnoze ali i u momentu uključivanja u istraživanje (54.04 vs 56.04 godina). Samo dva bolesnika, jedan u ispitivanoj, drugi u kontrolnoj grupi imali su prisutna oba pomenuta standardna faktora (starost veću od 60 godina i prethodne tromboze) rizika za nastanak tromboznih komplikacija, i oboje su trombozne komplikacije tokom

lečenja.

U analizi prisustva kardiovaskularnih faktora rizika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi, učestalost javljanja hipertenzije, hiperlipoproteinemije, šećerne bolesti i prisustva bar jednog kardiovaskularnog faktora rizika bila je približno ista, bez statistički značajne razlike. Jedino kada je u pitanju pušački status, ostvarena je statistički značajna razlika između pušača u ispitivanoj i kontrolnoj grupi, gde su bolesnici sa prisutnom JAK2V617F mutacijom bili brojniji u odnosu na bolesnike bez mutacije (22% vs 10%). U dosada objavljenim studijama, predstavljena je signifikantna veza između pušenja i MPN [171, 172]. Prema skoro objavljenoj studiji, između pušenja i prisustva JAK2V617F mutacije takođe je ustanovljena značajna veza. Pretpostavka je da pušenje predstavlja snažan inflamatorni stimulus, a prisustvo JAK2V617F mutacije samo “prekusorsko” stanje za nastanak manifestne MPN. Takođe se pretpostavlja da dugotrajna upotreba cigareta dovodi do povećanja broja krvnih ćelija ali i nastanka JAK2V617F mutacije, a samim tim i do nastanka mijeloproliferativnih neoplazmi [168].

Kada posmatramo KVF rizika pojedinačno, najzastupljeniji u obe grupe, bili su hipertenzija i hiperlipoproteinemija, sa podjednakom učestalošću u obe grupe od oko 50%.

Analizom kardiovaskularnih faktora rizika (hipertenzija, hiperlipoproteinemija, šećerna bolest, pušački status kao i prisustvo bar jednog kardiovaskularnog faktora rizika) u ispitivanoj grupi bolesnika dobijena je pozitivna korelacija između prisustva hiperlipoproteinemije i svih tromboza pri dijagnozi kao i sa arterijskim trombozama pri dijagnozi. Prisustvo hiperlipoproteinemije je inače jedan od osnovnih konvencionalnih faktora rizika arterijskih tromboza, te je očekivano da hiperlipoproteinemije doprinose nastanku tromboznih događaja.

Analizom kardiovaskularnih faktora rizika (hipertenzija, hiperlipoproteinemija, šećerna bolest, pušački status kao i prisustvo bar jednog kardiovaskularnog faktora rizika) u kontrolnoj grupi dobijena je pozitivna korelacija između prisustva hipertenzije i šećerne bolesti i svih tromboza pri dijagnozi kao i sa arterijskim trombozama pri dijagnozi. Obzirom da su i hipertenzija i šećerna bolest, verifikovani kao faktori rizika za nastanak arterijskih tromboza, očekivano je da doprinose nastanku tromboznih događaja.

Finazzi i saradnici su 2005. godine u svom radu sugerisali da hipertenzija, hiperholesterolemija, šećerna bolest i pušenje povećavaju rizik od nastanka tromboznih komplikacija u obolelih od ET

[173], ali rezultati do tada objavljenih studija nisu bili konzistentni. Kardiovaskularni faktori rizika u obolelih od ET su od 2012. godine zvanično uvedeni u prognosni IPSET skor. Brojne studije su svrstale KVF rizika u snažne prediktore tromboze i potvrdile njihov značaj u kraćem preživljavanju ovih bolesnika, dok je poseban akcenat stavljen na prisustvo više od jednog KVF rizika [17, 75, 79, 163, 174].

#### **5.4. LABORATORIJSKE KARAKTERISTIKE (FENOTIP) KOD OBOLELIH OD ET U ODNOSU NA JAK2V617F MUTACIJU**

Analizom parametara krvne slike, kod obolelih od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom u toku lečenja zapaženo je da imaju veći broj eritrocita, veće koncentracije hemoglobina i hematokrita u odnosu na kontrolnu grupu obolelih od ET bez JAK2V617F mutacije ( $p < 0.05$ ). Ispitanici takođe, imaju veći apsolutni broj monocita i bazofilnih granulocita u odnosu na obolele iz kontrolne grupe ( $p < 0.05$ ), dok su ostale apsolutne i relativne vrednosti parametara diferencijalne krvne slike bez statistički značajnih razlika u ispitivanim grupama. Parametri kao što su broj trombocita, trombocitni i eritrocitni indeksi, nisu pokazali statistički značajne razlike u ispitivanim grupama. Prema literaturnim podacima bolesnici sa prisutnom JAK2V617F mutacijom imaju više nivoa hemoglobina, veći broj leukocita i niži broj trombocita [137, 139, 155, 156, 163, 175]. Naši rezultati u potpunosti odgovaraju prethodno navedenim studijama koje su poredile bolesnike sa prisutnom JAK2V617F mutacijom i bez nje, s tim da nije dokazana statistički značajna razlika u broju leukocita i trombocita kod naše populacije ispitanika i kontrola. Studija Arellana-Rodríguez ukazala je na značaj pojačane ekspresije molekula CD11b i tkivnog faktora na površini membrana monocita kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika koji participiraju u nastanku tromboznih događaja [45]. Poslednjih godina, u fokusu istraživača je utvrđivanje značaja bazofilije u neoplastičnim bolestima. Tako je do sada već dobro istražena uloga bazofilije kod obolelih od hronične mijeloidne leukemije, gde je procenat bazofilnih granulocita u perifernoj krvi i kostnoj srži nezavistan prognostički faktor preživljavanja ovih bolesnika [176] te je uvršten u nekoliko prognostičkih skorova, Sokalov, Hasfordov i EUTOS skor. Ispitivanjem genskih mutacija u uzorcima krvi u kojima je ustanovljena bazofilija, učestalost genetskih mutacija je bila sledeća: u 84,7% uzoraka je detektovan bcr/abl rearanžman, u 15,2% JAK2V617F mutacija i u 12,5% CALR mutacija [177], ali je još uvek nejasno kako je broj bazofilnih granulocita povezan sa specifičnim drajver mutacijama. Nedavno objavljena studija Lucijanica i sardanika, prikazala je kako apsolutni

broj bazofilnih granulocita kod bolesnika sa mijelofibrozom korelira sa težinom bolesti i sa dinamičkim internacionalnim prognostičkim skor sistemom (DIPSS), kao i trend porasta broja bazofilnih granulocita kroz DIPSS kategorije [178]. Umereno povećan broj bazofilnih granulocita ustanovljen je kod bolesnika sa PV i ET i najčešće je taj broj ispod  $1 \times 10^9/l$  [179]. Povećan broj aktivisanih bazofilnih granulocita i značajna ekspresija CD63 kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika, dokazani su u populaciji obolelih od PV, koji imaju veće genetsko opterećenje JAK2V617F mutacijom [180]. Veći broj bazofilnih granulocita u JAK2V617F pozitivnih bolesnika u odnosu na negativne u populaciji obolelih od mijeloproliferativnih bolesti, potvrdile su i druge studije [181,182]. Naši rezultati odgovaraju do sada poznatim činjenicama vezanim za bazofilne granulocite i njihovu korelaciju sa JAK2V617F mutacijom, ali i dalje ostaje nejasan njihov značaj na tok i ishod lečenja bolesnika sa ET.

Leukocitoza se među svim parametrima krvne slike smatra značajnim faktorom za nastanak tromboznih događaja, nezavisno od prisustva ili odsustva JAK2V617F mutacije. Međutim u našoj populaciji, srednje vrednosti broja leukocita u obe grupe bile su u referentnim vrednostima, i nije dobijena statistička značajnost razlike, iako je broj leukocita bio veći u ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu (8.1 vs 6.8,  $p=0.07$ ). Kada su u pitanju neutrofilni granulociti, čiji je broj prema literaturnim podacima, uvek veći kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika u odnosu na negativne, u našoj populaciji dobijeni su slični rezultati, ali bez statističke značajnosti (5.2 vs 4.3,  $p=0.07$ ). Moguće objašnjenje naših rezultata, je dobra terapijska pokrivenost i pravovremeno lečenje naše populacije bolesnika citoreduktivnom terapijom, koja je uticala na niže vrednosti sve tri krvne loze.

Analizom koncentracija frakcija lipidnog statusa (ukupni holesterol, HDL holesterol, LDL holesterol, non HDL holesterol) i indeksa lipidnog statusa (LDL/HDL holesterol, nonHDL/HDL holesterol, ukupni/HDL holesterol) u populaciji ispitanika i kontrola, nisu dobijene statistički značajne razlike. U našim rezultatima se zapaža, da su koncentracije frakcija lipidnog statusa manje u ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu (ukupni holesterol 4.98 vs 5.32 mmol/l,  $p=0.09$ , HDL holesterol 1.39 vs 1.43 mmol/l,  $p=0.32$ , LDL holesterol 3.03 vs 3.22,  $p=0.28$ ). U nedavno objavljenoj studiji, u kojem je ispitivana učestalost JAK2V617F mutacije u opštoj populaciji Danske na 19958 ispitanika, analiziran je fenotip bolesnika kod kojih je mutacija prisutna, te je dobijeno da su vrednosti koncentracija holesterola kod populacije sa prisutnom

mutacijom niže u odnosu na deo populacije koji nema prisutnu mutaciju [168]. Niže vrednosti holesterola, LDL holesterola, apolipoproteina A i B dokazane su i kod bolesnika obolelih od PV, nosioca JAK2V617F mutacije, u odnosu na bolesnike koji su imalu eritrocitozu, ali bez dokazane PRV i JAK2V167F mutacije [183]. Ovakvi rezultati odgovaraju našim, ali uz ograničenje da u našoj populaciji nije postojala statistički značajna razlika između grupa. Vrednosti triglicerida u ispitivanoj grupi, takođe su bile niže u odnosu na kontrolnu (1.27 vs 1.43,  $p=0.28$ ), što je takođe odgovaralo gore pomenutoj studiji rađenoj na obolelima od PV [183]. Ovakav lipidni status u kom su verifikovane niže vrednosti holesterola, njegovih frakcija i indeksa kod bolesnika sa prisutnom JAK2V617F mutacijom je u skladu sa do sada postojećim rezultatima analiza kod obolelih od MPN ali i drugih maligniteta [184, 185, 186]. Moguće objašnjenje je da holesterol promoviše rast malignih ćelija, izazivajući tako smanjenje holesterola u plazmi [187]. I pored ovakve pretpostavke, bolesnici obe grupe, kod kojih je pre uključivanja u naše istraživanje ustanovljena hiperlipoproteinemija, prethodno su lečeni hipolipemicima, tako da su u kod njih u laboratorijskim analizama očekivano verifikovane niže vrednosti frakcija lipida.

Analizirajući ostale biohemijske parametre, jedina statistički značajna razlika javila se kod bolesnika sa odsutnom JAK2V617F mutacijom koji su imali veće koncentracije uree u odnosu na bolesnike sa dokazanom mutacijom (5.97 vs 5.26,  $p=0.03$ ). Literaturni podaci koji se odnose na biohemijske karakteristike obolelih od ET u odnosu na prisustvo JAK2V617F mutacije, su oskudni, posebno što na merenja biohemijskih laboratorijskih parametara u krvi utiču različiti faktori (hidriranost bolesnika, prethodno konzumirana hrana i piće, konkomitantna terapija, fizička aktivnost, kao i postojeći komorbiditeti) zbog čega i nisu bile predmet naučnog interesovanja. U studiji Cetin i saradnika koja je analizirala gotovo sve laboratorijske parametre (koji su rađeni i kod naših bolesnika), nije postojala korelacija između JAK2V617F mutacije i ispitivanih parametara, osim u slučaju viših koncentracija kreatinina i direktnog bilirubina kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika [182]. U studijama rađenim na većem broju ispitanika, uglavnom su od biohemijskih parametara analizirane koncentracije laktat dehidrogenaze i alkalne fosfataze, te je kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika, dokazan viši nivo u serumu u odnosu na JAK2V617F negative ispitanike [183, 188]. Hiperurikemija, pseudohiperkalijemija i pseudohiperfosfatemija takođe se mogu registrovati u obolelih od ET [6]. U obe grupe naših bolesnika, prosečne vrednosti svih rađenih biohemijskih analiza bile su u referentnom opsegu.



U analizi hemostaznih parametara, prosečne vrednosti u obe grupe svih ispitivanih parametara (aPTT, PT, TT, fibrinogen, euglobulinsko vreme lize koaguluma, D-dimer, antitrombin, APC rezistencija, protein C i protein S) bile su u referentnim vrednostima u obe grupe. Daljom analizom, dobili smo da je vrednost protrombinskog i trombinskog vremena duža, a koncentracija fibrinogena niža u ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu. Slični rezultati objavljeni su u studijama na malom broju ispitanika koje su istraživale koagulacioni status u odnosu na JAK2V617F mutaciju [189, 190]. Važno je napomenuti da prema literaturnim podacima, nezavisno od JAK2V617F mutacije, aPTT, PT, TT i fibrinogen se u ovoj populaciji bolesnika najčešće nalaze u referentnom opsegu.

Niže vrednosti proteina C, proteina S, antitrombina i APC rezistencija kod obolelih od ET verifikovane su kroz više objavljenih studija [110, 146, 191]. Daljim istraživanjima, kod bolesnika sa prisutnom JAK2V617F mutacijom, nađeno je da su koncentracije proteina S niže i APC rezistencija izraženija u odnosu na bolesnike bez mutacije [45]. U našoj populaciji bolesnika, zabeleženi su niži nivoi antitrombina, proteina C i proteina S, kao i APC rezistencije kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika, ali bez statističke značajnosti, u odnosu na JAK2V617F negativne bolesnike.

D-dimer čije su vrednosti povišene kod obolelih od ET u odnosu na opštu populaciju [68, 22, 142], ali i kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika u odnosu na negativne [45, 142], u našoj populaciji ispitanika i kontrola nije pokazao statistički značajnu razliku.

Rezultati studija nisu konzistentni kada je u pitanju prisustvo antifosfolipidnih antitela kod obolelih od ET i njihov uticaj na nastanak tromboza [2, 109, 124, 125, 126, 192]. Prisustvo antifosfolipidnih antitela u našoj populaciji obolelih od ET, nije pokazalo značajnu razliku u učestalosti u grupi obolelih sa prisutnom JAK2V617F mutacijom u odnosu na bolesnike bez mutacije.

Učestalost genetskih mutacija vezanih za trombofiliju u našoj populaciji obolelih od ET je 9,47%, od čega je mutacija protrombina G20210A zastupljena u 5,26% a mutacija faktora V Leiden 4,21%. Učestalost ovih mutacija u našoj populaciji obolelih od ET uglavnom odgovara učestalosti u zdravoj populaciji [108]. Kada je reč o mutacijama MTHFR C677T, učestalost u populaciji obolelih od ET, je iznosila 63,16%, što odgovara literaturnim podacima [127,130], kao i učestalost mutacija MTHFR A1298C koja je u našoj populaciji bila zastupljena u 46,31% i takođe je

odgovarala incidenci navedene mutacije u našoj populaciji [130]. Kada smo analizirali prisustvo genetskih mutacija kod obolelih od ET, u grupi bolesnika sa prisutnom JAK2V617F mutacijom, učestalost svih mutacija za urođenu trombofiliju bila je 10.4%, u odnosu na 8.5% kod bolesnika sa odsutnom JAK2V617F mutacijom. Mutacija za protrombin G20210A javila se u 4.2% bolesnika, koji su prethodno imali i prisutnu JAK2V617F mutaciju, dok se mutacija za faktor V Leiden javila u 6.3% ovih bolesnika. U grupi kontrolnih bolesnika, kojima nije dokazana JAK2V617F mutacija, mutacija za protrombin G20210A javila se u 6.4% a mutacija za faktor V Leiden u 2.1% ovih bolesnika. U odnosu na literaturne podatke, u našoj populaciji veća je učestalost mutacija gena za urođenu trombofiliju (mutacija gena za G20210A i faktor V Leiden) kod nosioca JAK2V617F mutacije u odnosu na bolesnike sa odsutnom JAK2V617F mutacijom [5]. Mutacija MTHFR C677T verifikovana je u 66.6% bolesnika sa prisutnom i JAK2V617F mutacijom, a mutacija MTHFR A1298C u 56.3% bolesnika ispitivane grupe. U grupi kontrolnih bolesnika, kojima nije dokazana JAK2V617F mutacija, mutacija za MTHFR C677T javila se u 59.6% a mutacija za MTHFR A128C u 36.2% ovih bolesnika. U grupi ispitanika bilo je statistički značajno više bolesnika koji su imali prisutnu i MTHFR A1298C mutaciju u odnosu na kontrolnu grupu. Analizom dostupnih literaturnih podataka, malo je studija koje su analizirale istovremeno prisustvo JAK2V617F mutacije i mutacija MTHFR gena. U studiji Sokolovska i saradnika učestalost ove dve mutacije u populaciji ispitanika bilo je oko 33% [193]. U studiji Trifa i saradnika, nije dokazana signifikantna razlika u učestalosti mutacije MTHFR u odnosu na prisustvo ili odsustvo JAK2V617F mutacije obolelih od MPN [194].

## **5.5. POVEZANOST TROMBOZNIH DOGAĐAJA SA ISPITIVANIM LABORATORIJSKIM PARAMETRIMA U ODNOSU NA JAK2 MUTACIJU**

U našoj populaciji obolelih od ET, analizom varijanse (multivarijantnom analizom) a potom binarnom logističkom regresijom, identifikovani su laboratorijski parametri koji statistički značajno ostvaruju veze sa JAK2V617F mutacijom i trombozama (u odnosu na vreme nastanka), kao i njihova interakcija.

U ispitivanoj grupi JAK2V617F pozitivnih bolesnika, značaj doprinosa nastanka tromboza pri dijagnozi pokazale su više vrednosti koncentracije triglicerida, viši indeksi holesterola nonHDL/HDL i holesterola, ukupni/HDL, dok su u JAK2V617F negativnih bolesnika doprinosa nastanka tromboza pri dijagnozi pokazale više vrednosti relativnog broja bazofila, koncentracije

holesterola, koncentracije triglicerida, indeksa nonHDL/HDL holesterola, glukoze, uree i kreatinina.

Iz naših rezultata se uočava da su laboratorijski verifikovane više vrednosti određenih frakcija lipida i njihovih indeksa, bile povezanosa nastankom tromboznih komplikacija u grupi tromboza pri dijagnozi bez obzira na prisustvo/odsustvo JAK2V617F mutacije. Prema dosadašnjim literaturnim podacima, hiperlipoproteinemije su ustanovljene kao nezavisni, kardiovaskularni faktor rizika za nastanak arterijskih tromboza [195], dok je njihov značaj u nastanku venskog tromboembolizma i dalje nepoznanica. Prema dosadašnjim meta-analizama, nekonzistentne su veze između ukupne koncentracije holesterola, HDL holesterola i venskog tromboembolizma (OR:1.17, 95% CI 0.37-2.02). Kod muškaraca je ustanovljeno da više koncentracije LDL holesterola povećavaju rizik od VTE za oko 2-4 puta, dok kod žena to nije slučaj. Takođe je utvrđeno da pacijenti sa neprovociranim VTE su verovatniji nosioci faktora rizika za aterosklerozu u odnosu na one koji su imali provocirane VTE, što bi moglo da objasni veću incidenciju arterijskih događaja nakon neprovociranih VTE [196]. Upravo su mijeloproliferativne neoplazme bolesti u kojima se manifestuju i arterijske i venske tromboze, te je utvrđivanje uticaja faktora rizika na njihov nastanak i bio jedan od ciljeva našeg istraživanja. Povišene koncentracije triglicerida koje su dobijene kao jedan od laboratorijskih parametara u ispitivanoj grupi, nisu svrstane u KVF rizika [195]. Iz prethodnih analiza u kojima smo utvrđivali uticaj KVF rizika na nastanak tromboznih incidenata, dobijena je takođe pozitivna korelacija između hiperlipoproteinemija i tromboznih incidenata pri dijagnozi kod bolesnika sa prisutnom JAK2V617F mutacijom, dok kod bolesnika sa odsustvom mutacije ta veza nije ostvarena. Iako se prosečne vrednosti lipidnih frakcija i njihovih indeksa u prikazanim rezultatima nalaze uglavnom u referentnom opsegu, ipak je potvrđen njihov doprinos nastanku tromboznih incidenata pri dijagnozi. Iz naših prikazanih rezultata kao i iz literaturnih podataka, određivanje lipidnog statusa treba da predstavlja deo laboratorijskog panela tokom rutinskih kontrola obolelih od ET. Striktna regulacija hiperlipoproteinemija i edukacija bolesnika o značaju kontrole i lečenja nakon što se postavi dijagnoza esencijalne trombocitemije, nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije, predstavljale bi meru prevencije nastanka tromboznih događaja.

U kontrolnoj grupi, JAK2V617F negativnih bolesnika, dobijene više vrednosti glukoze, uree i kreatinina, dopinosile su nastanku tromboznih događaja pri dijagnozi, što je u skladu sa postojećim literaturnih podacima u kojima prisustvo šećerne bolesti jeste KVF rizika, ali i postojanje hronične

bubrežne insuficijencije merene prema procenjenoj brzini glomerulske filtracije (eGFR). Ograničenje naše studije je što nije rađena procena eGFR, ali se može pretpostaviti da bolesnici sa većim vrednostima koncentracija uree i kreatinina imaju smanjenu eGFR. Treba naglasiti da u momentu uključenja u naše istraživanje nije bilo bolesnika sa prethodno postavljenom dijagnozom hronične bubrežne insuficijencije. U slučaju VTE nailazi se na podatke u kojima su vrednosti eGFR i odnos albumin i kreatinin predstavljeni faktorima rizika za VTE u opštoj populaciji, čak i kada su njihove vrednosti u referentnom opsegu [197]. Prethodnom analizom u kojoj smo utvrđivali uticaj KVF rizika za nastanak tromboznih incidenata pri dijagnozi, šećerna bolest je izdvojena kao jedan od doprinosećih faktora u bolesnika obolelih od ET sa odsutnom JAK2V617F mutacijom. Laboratorijski verifikovane više vrednosti glukoze kod ovih bolesnika, samo su potvrdile prethodne rezultate. Obzirom da su bolesnici sa odsutnom JAK2V617F mutacijom kod kojih su se dogodili trombozni incidenti, imali pored glikemije, i više vrednosti uree i kreatinina, može se pretpostaviti da su one posledica šećerne bolesti ali i hipertenzije, koja je izdvojena kao doprinoseći KVF rizika u ovoj grupi bolesnika. Adekvatna glikoregulacija, uz redovne laboratorijske kontrole, prevencija nastanka komplikacija šećerne bolesti, kao i dobra regulacija hipertenzije, predstavljale bi način smanjenja rizika od nastanka tromboznih incidenata.

U ispitivanoj grupi JAK2V617F pozitivnih bolesnika, uočavaju se više vrednosti koncentracija LDL holestrola, non HDL holesterola, viši indeksi holesterola LDL/HDL, holestrola nonHDL/HDL i holesterola, ukupni/HDL koje značajno doprinose pojavi arterijskih tromboza pri dijagnozi. U JAK2V617F negativnih bolesnika, više vrednosti koncentracije ukupnog holesterola, nonHDL holesterola, glukoze, uree, kreatinina i APC rezistencije, doprinose pojavi arterijskih tromboza pri dijagnozi.

Kada smo izdvojili grupu arterijskih tromboza pri dijagnozi, hiperlipoproteinemije su se jasnije izdvojile kao faktor rizika za njihov nastanak, ponovo nezavisno od prisustva/odustva JAK2V617F mutacije. Kod kontrolne grupe, laboratorijski parametri koji su se izdvojili su povišene vrednosti glukoze, uree i kreatinina, koji su pozitivno i značajno doprinosili nastanku arterijskih tromboza pri dijagnozi. Rezultati su u skladu sa literaturnim podacima objašnjeni u komentaru relacije tromboza pri dijagnozi i povišenih vrednosti glukoze, uree i kreatinina.

U ispitivanoj i kontrolnoj grupi nije bilo laboratorijskih parametara koji su doprinosili ispoljavanju venskih tromboza pri dijagnozi.

U ispitivanoj i kontrolnoj grupi nije bilo laboratorijskih parametara koji su doprinosili ispoljavanju svih tromboza tokom lečenja, kao i ispoljavanju arterijskih i venskih tromboza tokom lečenja.

Do sada je poznato da povećan broj leukocita, povišeni markeri inflamacije, niži nivoi proteina C, proteina S, antitrombina, viši nivoi D-dimera i fibrinogena, kod JAK2V617F pozitivnih bolesnika imaju aditivan učinak na nastanak tromboznih incidenata. Međutim rezultati laboratorijskih ispitivanja navedenih analiza u našoj ispitivanoj grupi obolelih od ET, nisu doprineli nastanku određenih tromboznih incidenata.

Moguće objašnjenje ovakvih rezultata nalazi se pravovremenoj terapiji hidroksiureom i acetilsalicilnom kiselinom. Efekti hidroksiuree se ogledaju u njenoj mijelosupresivnoj aktivnosti (smanjenje broja krvnih ćelija sve tri loze, s posebnim osvrtom na aktivisane leukocite) i smanjenju leukocitno-trombocitne aktivacije. Poznato je da hidroksiurea prevenira interakcije između selektina trombocita i integrina leukocita vodeći ka smanjenoj ekspresiji tkivnog faktora, vezivanja fibrinogena i degranulaciji polimorfonukleara [198, 199, 200]. Uvođenjem hidroksiuree u terapiju, na indirektni način koagulacija je regulisana i suprimirana prvenstveno smanjenjem broja aktivisanih leukocita koji dalje dovode i do smanjene ekspresije tkivnog faktora i aktivacije FX. Stvaranje trombina koje je indukovano od strane trombocita, takođe je smanjeno kod bolesnika koji su na terapiji hidroksiureom u odnosu na bolesnike koji su bez citoreduktivne terapije i predstavlja još jedan mehanizam pomoću koga hidroksiurea ostvaruje antikoagulantni efekat. Poslednjih godina dokazani su efekti hidroksiuree na smanjenje ekspresije P-selektina na endotel krvnih sudova u miševa [201], ali i na povećano oslobađanje azot monoksida, tonus i funkcije krvnih sudova [202].

Efekat lečenja acetilsalicilnom kiselinom kod obolelih od ET ogleda se u supresiji primarne hemostaze a ostvaruje se na više načina, pre svega neselektivnom i ireverzibilnom inhibicijom ciklooksigenaze 1 i 2 i redukcijom stvaranja tromboksana. Redovna upotreba acetilsalicilne kiseline u obolelih od ET dovodi do smanjanja trombocitno-polimorfonuklearnih i trombocitno-monocitnih agregata [203]. Prema do sada poznatim patofiziološkim mehanizmima, u obolelih od ET stvaranje fibrinskog ugruška je izmenjeno i zbog toga je on manje osetljiv na fibrinolizu [204]. Povišeni nivoi PAI-1, cirkulišućeg trombocitnog faktora 4 i trombocitnih specifičnih proteina i oštećenja fibrinoliza, dovode do formiranja kompaktne mreže fibrina i fibrinskog ugruška, čije stvaranje može da poveća rizik od tromboznih epizoda [205]. Redovna upotreba acetilsalicilne

kiseline acetelira fibrinogen i popravljaju funkciju fibrina, uspostavljajući bolju funkciju fibrinoliznog sistema i na taj način prevenira nastanak tromboznih događaja.

Ispitivane genetske mutacije za naslednu trombofiliju (G20210A i faktor V Leiden), ali i ostali markeri trombofilije (protein C, protein S, AT, antifosfolipidna antitela) u našoj populaciji obolelih od ET nisu se pokazale značajnim u nastanku tromboznih komplikacija tokom praćenja bolesnika. Iako je njihova učestalost u populaciji obolelih od ET sa prisustvom JAK2V617F mutacijom bila veća, ali ne i statistički značajna u odnosu na JAK2V617F negativne bolesnike, nije dokazano da njihovo prisustvo utiče na nastanak tromboznih komplikacija. Iz našeg istraživanja, možemo zaključiti da određivanje markera trombofilije tokom perioda praćenja i lečenja bolesnika, nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije, nema prediktivni značaj u nastanku tromboza.

Na kraju, posmatrajući rezultate našeg istraživanja, možemo reći da je značaj utvrđivanja prisustva ili odsustva JAK2V617F mutacije, postojećih komorbiditeta (hipertenzija, šećerna bolest, hiperlipoproteinemija), životnih navika (pušenje) kao i sprovođenje određenih laboratorijskih analiza (lipidni status, biohemijske analize, koagulacioni mehanizam) od značaja u praćenju i lečenju obolelih od ET a sve u cilju prevencije tromboznih incidenata. Stroga kontrola KV faktora rizika, redukcija štetnih navika kod bolesnika i redovna terapija osnovne bolesti, predstavljale bi ciljeve u svakodnevnom kliničkom radu. Određivanje laboratorijskih analiza kao što su genetske mutacije za naslednu trombofiliju i drugi markeri trombofilije, ne bi trebalo da su deo svakodnevne kliničke prakse kod obolelih od ET. Bolesnike sa venskim tromboznim incidentima, u odsustvu jasnog faktora rizika za njihov nastanak, trebalo bi testirati na JAK2V617F mutaciju.

## **5.6. NEDOSTACI ISTRAŽIVANJA**

Naše istraživanje je imalo svoja ograničenja. Nedostaci našeg istraživanja bili su pre svega mali broj ispitanika koji su tokom perioda praćenja i lečenja imali trombozne incidente. Istraživanje je rađeno kao retrospektivno-prospektivno, te je period praćenja, trombozni incidenti i vreme uzorkovanja krvi za analize, bilo različito među bolesnicima i moglo je uticati na profile biohemijskih, hemostaznih i genetskih analiza. Obzirom da je prosečna starost naših bolesnika sa trombozama bila je ispod 60 godina, zaključuje se da su mlađi pacijenti sa trombozama i suspektim mijeloproliferativnim bolestima češće upućivani hematologu u našu ustanovu u odnosu na pacijente starije životne dobi.

Kao zanimljiva tema za dalja istraživanja na osnovu rezultata ove studije, nametnulo se detaljnije ispitivanje značaja bazofilnih granulocita u prognozi lečenja kod obolelih od esencijalne trombocitemije, kao i potreba za sprovođenjem populacione studije u cilju određivanja JAK2V617F mutacije i njenog značaja u opštoj populaciji, a posebno populaciji bolesnika koji su u nekom momentu života imali venske trombozne incidente.

## 6. ZAKLJUČCI

Rezultati ispitivanja kliničkih i laboratorijskih parametara na populaciji obolelih od ET, su ukazali na pozitivan doprinos JAK2V617F mutacije u nastanku tromboznih komplikacija. Rezultatima sprovedenog ispitivanja potvrđena je radna hipoteza. Na osnovu dobijenih rezultata možemo izvesti sledeće zaključke:

1. Tromboembolijske komplikacije češće se javljaju kod obolelih od ET koji imaju potvrđenu JAK2V617F mutaciju u odnosu na bolesnike bez mutacije. Kod obolelih od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom, utvrđena je veća učestalost venskih tromboza u odnosu na bolesnike koji nemaju detektovanu mutaciju i to na račun venskih tromboza iz prošlosti, nastalih pre postavljanja dijagnoze ET.
2. Kod obolelih od ET sa potvrđenom JAK2V617F mutacijom nije dokazana veća učestalost arterijskih tromboznih događaja u odnosu na venske tromboze. Kod bolesnika kod kojih je JAK2V617F mutacija odustna, takođe nije dokazana veća učestalost arterijskih tromboznih događaja u odnosu na venske.
3. Ispitivani klinički parametri (kardiovaskularni faktori rizika) doprinosili su nastanku tromboza pri postavljanju dijagnoze, i to arterijskih tromboza, kod obolelih od ET nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije. Hiperlipoproteinemija je doprinosila nastanku tromboza koje su javile pri postavljanju dijagnoze bolesti, i to arterijskih tromboza, kod obolelih od ET sa prisutnom JAK2V617F mutacijom, dok su hipertenzija i dijabetes melitus doprinosili nastanku tromboza koje su javile pri postavljanju dijagnoze bolesti, i to arterijskih tromboza, kod obolelih od ET kod kojih JAK2V617F mutacija nije dokazana.
4. Od svih ispitivanih laboratorijskih parametara, hipertrigliceridemija je doprinosila nastanku tromboznih događaja pri postavljanju dijagnoze bolesti kod obolelih od ET nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije, dok je hiperholesterolemija (povišene vrednosti nonHDL holesterola) doprinosila nastanku arterijskih tromboznih događaja pri postavljanju dijagnoze bolesti nezavisno od prisustva/odsustva JAK2V617F mutacije.
  - a) Oboleli od ET sa potvrđenom JAK2V617F mutacijom, u laboratorijskim nalazima su imali su više vrednosti eritrocita, hemoglobina i hematokrita, veći apsolutni broj monocita i bazofilnih granulocita, dok su kod bolesnika sa odsutnom JAK2V617F



mutacijom zabeležene više vrednosti uree, skraćene vrednosti PT i TT, kao i više koncentracije fibrinogena.

- b) Broj leukocita, broj trombocita, markeri trombofilije, kao i ostali ispitivani laboratorijski parametri, nisu statistički značajno povezani sa nastankom tromboznih komplikacija kod bolesnika sa JAK2V617F mutacijom.

## 7. LITERATURA:

1. Harrison CN, Keohane Clodagh. Myeloproliferative neoplasms. *Medicine (United Kingdom)* 2013; 41(5):265-268.
2. Harrison CN. Current trends in essential thrombocythaemia. *British Journal of Haematology* 2002; 117(4):796-808.
3. Szuber N, Mudireddy M, Nicolosi M, Penna D, Vallapureddy RR, Lasho TL, et al. 3023 Mayo Clinic Patients With Myeloproliferative Neoplasms: Risk-Stratified Comparison of Survival and Outcomes Data Among Disease Subgroups. *Mayo Clin Proc* 2019;94(4):599-610.
4. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2017;92(1):94-108.
5. De Stefano V, Za T, Rossi E, Vannucchi AM, Ruggeri M, Elli E et al. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica* 2008;93(3):372-80.
6. Asheesh Lal, Essential Thrombocytosis Clinical Presentation. Medscape Reference. [Internet] 22 November 2021. [cited 22 November 2021] Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/206697-clinical>.
7. Pejcin D, urednik. Interna medicina. Medicinski fakultet, Novi Sad, 2006.
8. Vrhovac B, Jaksic B, Reiner Ž, Vucelic, B, urednici. Interna medicina. Četvrto promjenjeno i dopunjeno izdanje. Naklada Ljevak, Zagreb, 2008.
9. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Finazzi G, Vannucchi AM, Tefferi A. The 2016 revision of WHO classification of myeloproliferative neoplasms: Clinical and molecular advances. *Blood Rev.* 2016;30(6):453-459.
10. Harrison CN, Bareford D, Butt N, Campbell P, Conneally E, Drummond M et al. Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *Br J Haematol* 2010;149(3):352-75.
11. Rose SR, Petersen NJ, Gardner TJ, Hamill RJ, Trautner BW. Etiology of thrombocytosis in a general medicine population: analysis of 801 cases with emphasis on infectious causes. *J Clin Med Res* 2012;4(6):415-423.
12. Hsieh RW, Ravindran A, Hook CC, Begna KH, Ashrani AA, Pruthi RK et al. Etiologies of Extreme Thrombocytosis: A Contemporary Series. *Mayo Clin Proc* 2019;94(8):1542-

- 1550.
13. Vo QT, Thompson DF. A Review and Assessment of Drug-Induced Thrombocytosis. *Ann Pharmacother* 2019;53(5):523-536.
  14. Kaifie A, Kirschner M, Wolf D, Maintz C, Hänel M, Gattermann N et al. Bleeding, thrombosis, and anticoagulation in myeloproliferative neoplasms (MPN): analysis from the German SAL-MPN-registry. *J Hematol Oncol* 2016;9:18.
  15. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin Thromb Hemost* 2007;33(4):313-20.
  16. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D et al. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005;353(1):33-45.
  17. Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood* 2011; 117 (22): 5857–5859.
  18. Martin K. Risk Factors for and Management of MPN-Associated Bleeding and Thrombosis. *Curr Hematol Malig Rep* 2017;12(5):389-396.
  19. Sekhar M, McVinnie K, Burroughs AK. Splanchnic vein thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Br J Haematol*. 2013;162(6):730-47.
  20. Falanga A, Marchetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:571-81.
  21. Mertens C, Darnell JE Jr. SnapShot: JAK-STAT signaling. *Cell*. 2007;131(3):612.
  22. Schindler C, Levy DE, Decker T. JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *J Biol Chem*. 2007;282(28):20059-63.
  23. Kirabo A, Sayeski PP. Jak2 Tyrosine Kinase: A Potential Therapeutic Target for AT1 Receptor Mediated Cardiovascular Disease. *Pharmaceuticals*. 2010; 3(11):3478-3493.
  24. Kiu H, Nicholson SE. Biology and significance of the JAK/STAT signalling pathways. *Growth Factors*. 2012;30(2):88-106.
  25. Ungureanu D, Wu J, Pekkala T, et al. The pseudokinase domain of JAK2 is a dual-specificity protein kinase that negatively regulates cytokine signaling. *Nat Struct Mol Biol*. 2011;18(9):971-976.

26. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*. 2005;7(4):387-97.
27. James C, Ugo V, Le Couédic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*. 2005;434(7037):1144-8.
28. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005 Apr 28;352(17):1779-90.
29. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*. 2005;365(9464):1054-61.
30. Zhao R, Xing S, Li Z, Fu X, Li Q, Krantz SB et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem*. 2005;280(24):22788-92.
31. Ma W, Kantarjian H, Zhang X, Yeh CH, Zhang ZJ, Verstovsek S, Albitar M. Mutation profile of JAK2 transcripts in patients with chronic myeloproliferative neoplasias. *J Mol Diagn*. 2009;11(1):49-53.
32. Dupont S, Massé A, James C, Teyssandier I, Lécuse Y, Larbret F et al. The JAK2 617V>F mutation triggers erythropoietin hypersensitivity and terminal erythroid amplification in primary cells from patients with polycythemia vera. *Blood*. 2007;110(3):1013-21.
33. Perner F, Perner C, Ernst T, Heidel FH. Roles of JAK2 in Aging, Inflammation, Hematopoiesis and Malignant Transformation. *Cells*. 2019;8(8).
34. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017;129(6):667-679.
35. Sozer S, Fiel MI, Schiano T, Xu M, Mascarenhas J, Hoffman R. The presence of JAK2V617F mutation in the liver endothelial cells of patients with Budd-Chiari syndrome. *Blood*. 2009;113(21):5246-9.
36. Hinds DA, Barnholt KE, Mesa RA, Kiefer AK, Do CB, Eriksson N et al. Germ line variants predispose to both JAK2V617F clonal hematopoiesis and myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2016;128(8):1121-8.

37. Hirsch P, Mamez AC, Belhocine R, Lapusan S, Tang R, Suner L et al. Clonal history of a cord blood donor cell leukemia with prenatal somatic JAK2 V617F mutation. *Leukemia*. 2016;30(8):1756-9.
38. McKerrell T, Park N, Moreno T, Grove CS, Ponstingl H, Stephens J et al. Leukemia-associated somatic mutations drive distinct patterns of age-related clonal hemopoiesis. *Cell Rep*. 2015;10(8):1239-45.
39. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, Ebert BL. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2015;126(1):9-16.
40. Nguyen HM, Gotlib J. Insights into the molecular genetics of myeloproliferative neoplasms. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2012:411-8.
41. Horvat I, Radić Antolić M, Zadro R. Klinička značajnost kvantifikacije mutacije V617F u bolesnika s Ph(-) MPN. *Bilten Crohema*, 2016. 8 (1):3.
42. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, et al. JAK2V617F allele burden and thrombosis: a direct comparison in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol*. 2009;37(9):1016-1021.
43. Vannucchi AM, Pieri L, Guglielmelli P. JAK2 Allele Burden in the Myeloproliferative Neoplasms: Effects on Phenotype, Prognosis and Change with Treatment. *Ther Adv Hematol*. 2011;2(1):21-32.
44. Falanga A, Marchetti M. Thrombosis in Myeloproliferative Neoplasms. *Semin Thromb Hemost* 2014; 40(03): 348-358.
45. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A, Reverter JC, Colomer D, Villamor N, Bellosillo B, Cervantes F. Platelet turnover, coagulation factors, and soluble markers of platelet and endothelial activation in essential thrombocythemia: relationship with thrombosis occurrence and JAK2 V617F allele burden. *Am J Hematol*. 2009;84(2):102-8.
46. Panova-Noeva M, Marchetti M, Spronk HM, Russo L, Diani E, Finazzi G et al. Platelet-induced thrombin generation by the calibrated automated thrombogram assay is increased in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Am J Hematol*. 2011;86(4):337-42.
47. Inwald DP, McDowall A, Peters MJ, Callard RE, Klein NJ. CD40 is constitutively expressed on platelets and provides a novel mechanism for platelet activation. *Circ Res*.

- 2003;92(9):1041-8.
48. Prasad KS, Andre P, He M, Bao M, Manganello J, Phillips DR. Soluble CD40 ligand induces beta3 integrin tyrosine phosphorylation and triggers platelet activation by outside-in signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(21):12367-12371.
  49. Chakrabarti S, Varghese S, Vitseva O, Tanriverdi K, Freedman JE. CD40 ligand influences platelet release of reactive oxygen intermediates. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(11):2428-34.
  50. Khan SY, Kelher MR, Heal JM, Blumberg N, Boshkov LK, Phipps R. Soluble CD40 ligand accumulates in stored blood components, primes neutrophils through CD40, and is a potential cofactor in the development of transfusion-related acute lung injury. *Blood*. 2006;108(7):2455-62.
  51. Jensen MK, de Nully Brown P, Lund BV, Nielsen OJ, Hasselbalch HC. Increased platelet activation and abnormal membrane glycoprotein content and redistribution in myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 2000;110(1):116-24.
  52. Landolfi R, Ciabattini G, Patrignani P, Castellana MA, Pogliani E, Bizzi B, Patrono C. Increased thromboxane biosynthesis in patients with polycythemia vera: evidence for aspirin-suppressible platelet activation in vivo. *Blood*. 1992; 15;80(8):1965-71.
  53. Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, Vignoli A, Licini M, Balicco M et al. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood*. 2000;96(13):4261-6.
  54. Trappenburg MC, van Schilfhaarde M, Marchetti M, Spronk HM, ten Cate H, Leyte A, et al. Elevated procoagulant microparticles expressing endothelial and platelet markers in essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2009;94:911–8.
  55. Turitto VT, Weiss HJ. Red blood cells: their dual role in thrombus formation. *Science*. 1980;207(4430):541-3.
  56. Beck, Jr M.R., & Eckstein, E.C. Preliminary report on platelet concentration in capillary tube flows of whole blood. *Biorheology*.1980;17, 455–464.
  57. Turitto, V.T. & Weiss, H.J. Platelet and red cell involvement in mural thrombogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1983;416, 363–376.
  58. Huang, P.Y. & Hellums, J.D. Aggregation and disaggregation kinetics of human blood platelets: Part III. The disaggregation under shear stress of platelet aggregates.

- Biophysical Journal, 1993;65, 354–361.
59. Falanga A, Marchetti M, Barbui T, Smith CW. Pathogenesis of thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: the role of neutrophils. *Semin Hematol.* 2005;42(4):239-47.
  60. Afshar-Kharghan V, Thiagarajan P. Leukocyte adhesion and thrombosis. *Curr Opin Hematol.* 2006;13(1):34-39.
  61. Marchetti M, Falanga A. Leukocytosis, JAK2V617F mutation, and hemostasis in myeloproliferative disorders. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2008;36(3-4):148-59.
  62. Šefer D. Značaj leukocitno-trombocitnih interakcija za nastanak tromboembolijskih komplikacija kod bolesnika sa Filadelfija-negativnim mijeloproliferativnim neoplazmama (doktorska disertacija). Univerzitet u Beogradu; 2016.
  63. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Russo L, Guerini V, Barbui T. V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. *Exp Hematol.* 2007;35(5):702-11.
  64. Wolach O, Sellar RS, Martinod K, Cherpokova D, McConkey M, Chappell RJ et al. Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Sci Transl Med.* 2018;10(436):8292.
  65. Guy A, Favre S, Labrousse-Colomer S, Deloison L, Gourdou-Latyszenok V, Renault MA et al. High circulating levels of MPO-DNA are associated with thrombosis in patients with MPN. *Leukemia.* 2019;33(10):2544-2548.
  66. Cella G, Marchetti M, Vianello F, Panova-Noeva M, Vignoli A, Russo L et al. Nitric oxide derivatives and soluble plasma selectins in patients with myeloproliferative neoplasms. *Thromb Haemost.* 2010;104(1):151-6.
  67. Karakantza M, Giannakoulas NC, Zikos P, Sakellaropoulos G, Kouraklis A, Aktypi A et al. Markers of endothelial and in vivo platelet activation in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Int J Hematol.* 2004;79(3):253-9.
  68. Trelínski J, Wierzbowska A, Krawczyńska A, Sakowicz A, Pietrucha T, Smolewski P et al. Circulating endothelial cells in essential thrombocythemia and polycythemia vera: correlation with JAK2-V617F mutational status, angiogenic factors and coagulation activation markers. *Int J Hematol.* 2010;91(5):792-8.

69. Gadomska G, Ziołkowska K, Boinska J, Filipiak J, Rość D. Activation of TF-Dependent Blood Coagulation Pathway and VEGF-A in Patients with Essential Thrombocythemia. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(2):54.
70. Casini A, Fontana P, Lecompte TP. Thrombotic complications of myeloproliferative neoplasms: risk assessment and risk-guided management. *J Thromb Haemost*. 2013;11(7):1215-27.
71. Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood*. 2012; 120 (26): 5128-33.
72. Schwarz, J. The impact of thrombophilia in the management of MPN. *Leukemia Research*, 2016; 44(1), S6–S7.
73. Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, Kutti J, Gisslinger H, Patrono C et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol*. 2005;23(10):2224-32.
74. Rosendaal, F.R. Risk factors for venous thrombosis: prevalence, risk, and interaction. *Seminars in Hematology*. 1997;4,171–187.
75. Montanaro M, Latagliata R, Cedrone M, Spadea A, Rago A, Di Giandomenico J et al. Thrombosis and survival in essential thrombocythemia: a regional study of 1,144 patients. *Am J Hematol*. 2014;89(5):542-6.
76. Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol*. 1990;8(3):556-62.
77. Besses, C., Cervantes, F., Pereira, A., Florensa, L., Sole, F., Hernandez-Boluda et al. Major vascular complications in essential thrombocythemia: a study of the predictive factors in a series of 148 patients. *Leukemia*. 1999;13,150–154.
78. Radaelli F, Colombi M, Calori R, Zilioli VR, Bramanti S, Iurlo A, Zanella A. Analysis of risk factors predicting thrombotic and/or haemorrhagic complications in 306 patients with essential thrombocythemia. *Hematol Oncol*. 2007;25(3):115-20.
79. 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



- thrombocytopenia. *Med Oncol*. 2014 Oct;31(10):231.
80. Colombi M, Radaelli F, Zocchi L, Maiolo AT. Thrombotic and hemorrhagic complications in essential thrombocytopenia. A retrospective study of 103 patients. *Cancer*. 1991;67(11):2926-30.
  81. Barbui T, Vannucchi AM, Buxhofer-Ausch V, De Stefano V, Betti S, Rambaldi A et al. Practice-relevant revision of IPSET-thrombosis based on 1019 patients with WHO-defined essential thrombocytopenia. *Blood Cancer J*. 2015;27;5(11):e369.
  82. Haider M, Gangat N, Lasho T, Abou Hussein AK, Elala YC, Hanson C, Tefferi A. Validation of the revised International Prognostic Score of Thrombosis for Essential Thrombocytopenia (IPSET-thrombosis) in 585 Mayo Clinic patients. *Am J Hematol*. 2016;91(4):390-4.
  83. Dahabreh IJ, Zoi K, Giannouli S, Zoi C, Loukopoulos D, Voulgarelis M. Is JAK2 V617F mutation more than a diagnostic index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocytopenia. *Leuk Res*. 2009;33(1):67-73.
  84. Qin Y, Wang X, Zhao C, Wang C, Yang Y. The impact of JAK2V617F mutation on different types of thrombosis risk in patients with essential thrombocytopenia: a meta-analysis. *Int J Hematol*. 2015;102(2):170-80.
  85. Saki N, Shirzad R, Rahim F, Saki Malehi A. Estimation of diagnosis and prognosis in ET by assessment of CALR and JAK2V617F mutations and laboratory findings: a meta-analysis. *Clin Transl Oncol*. 2017;19(7):874-883.
  86. Hannah Kaizer, Rakhi P. Naik, Katie Lobner, Alison R. Moliterno; JAK2 V617F Prevalence Study: Associations in the General Population and Vascular Disease Populations. *Blood* 2020; 136 (Supplement 1): 36.
  87. Falchi L, Kantarjian HM, Verstovsek S. Assessing the thrombotic risk of patients with essential thrombocytopenia in the genomic era. *Leukemia*. 2017;31(9):1845-1854.
  88. Rumi E, Pietra D, Guglielmelli P, Bordoni R, Casetti I, Milanesi C et al. Acquired copy-neutral loss of heterozygosity of chromosome 1p as a molecular event associated with marrow fibrosis in MPL-mutated myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2013;121(21):4388-95.
  89. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Guerini V, Barosi G, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential

- thrombocythemia. *Blood*. 2008;112(3):844-7.
90. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, Bench AJ, Erber WN, Bareford D et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood*. 2008 Jul 1;112(1):141-9.
  91. Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms: A decade of discoveries and treatment advances. *Am J Hematol*. 2016;91(1):50-8.
  92. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2391–2405.
  93. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2379–2390.
  94. Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P, Pacilli A, Pancrazzi A, Pieri L et al. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in essential thrombocythemia. *Blood*. 2014;123(10):1552-5.
  95. Torregrosa JM, Ferrer-Marín F, Lozano ML, Moreno MJ, Martínez C, Anton A et al. Impaired leucocyte activation is underlining the lower thrombotic risk of essential thrombocythaemia patients with CALR mutations as compared with those with the JAK2 mutation. *Br J Haematol*. 2016;172(5):813-5.
  96. Palandri F, Latagliata R, Polverelli N, Tieghi A, Crugnola M, Martino B et al. Mutations and long-term outcome of 217 young patients with essential thrombocythemia or early primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2015;29(6):1344-9.
  97. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, Bernard OA. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2011;118(7):1723-35.
  98. Yonal-Hindilerden I, Daglar-Aday A, Akadam-Teker B, et al. Prognostic significance of ASXL1, JAK2V617F mutations and JAK2V617F allele burden in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *J Blood Med*. 2015;6:157-175.
  99. Jantunen R, Juvonen E, Ikkala E, Oksanen K, Anttila P, Ruutu T. The predictive value of vascular risk factors and gender for the development of thrombotic complications in essential thrombocythemia. *Ann Hematol*. 2001;80(2):74-8.
  100. Carobbio A, Ferrari A, Masciulli A, Ghirardi A, Barosi G, Barbui T. Leukocytosis and

- thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: a systematic review and meta-analysis. *Blood Adv.* 2019;3(11):1729-1737.
101. Wehmeier A, Tschöpe D, Esser J, Menzel C, Nieuwenhuis HK, Schneider W. Circulating activated platelets in myeloproliferative disorders. *Thromb Res.* 1991;61(3):271-8.
  102. Lengfelder E, Hochhaus A, Kronawitter U, Höche D, Queisser W, Jahn-Eder M et al. Should a platelet limit of  $600 \times 10^9/l$  be used as a diagnostic criterion in essential thrombocythaemia? An analysis of the natural course including early stages. *Br J Haematol.* 1998;100(1):15-23.
  103. Regev A, Stark P, Blickstein D, Lahav M. Thrombotic complications in essential thrombocythemia with relatively low platelet counts. *Am J Hematol.* 1997;56(3):168-72
  104. Storen EC, Tefferi A. Long-term use of anagrelide in young patients with essential thrombocythemia. *Blood.* 2001;97(4):863-6.
  105. Buss DH, Stuart JJ, Lipscomb GE. The incidence of thrombotic and hemorrhagic disorders in association with extreme thrombocytosis: an analysis of 129 cases. *Am J Hematol.* 1985;20(4):365-72.
  106. Bellucci S, Janvier M, Tobelem G, Flandrin G, Charpak Y, Berger R, Boiron M. Essential thrombocythemias. Clinical evolutionary and biological data. *Cancer.* 1986;58(11):2440-7.
  107. van Genderen PJ, Michiels JJ. Erythromelalgic, thrombotic and haemorrhagic manifestations of thrombocythaemia. *Presse Med.* 1994;23(2):73-7.
  108. Koenderman JS, Reitsma PH. Inherited Thrombophilia: Past, Present, and Future Research. In: Prof. Andrea Tranquilli (Ed.). *Thrombophilia.* InTech, 2011, p 3-22.
  109. Jensen MK, de Nully Brown P, Thorsen S, Hasselbalch HC. Frequent occurrence of anticardiolipin antibodies, Factor V Leiden mutation, and perturbed endothelial function in chronic myeloproliferative disorders. *Am J Hematol.* 2002;69(3):185-91.
  110. Bucalossi A, Marotta G, Bigazzi C, Galieni P, Dispensa E. Reduction of antithrombin III, protein C, and protein S levels and activated protein C resistance in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with thrombosis. *Am J Hematol.* 1996;52(1):14-20.
  111. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, Reitsma PH. High risk of thrombosis in

- patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance) [see comments]. *Blood*. 1995; 85(6):1504–1508.
112. Marin Oyarzún CP, Heller PG. Platelets as Mediators of Thromboinflammation in Chronic Myeloproliferative Neoplasms. *Front Immunol*. 2019;14:10:1373.
113. Kujovich JL. Factor V Leiden Thrombophilia. 1999 May 14 [Updated 2018 Jan 4]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1368/>.
114. Rosendaal FR, Reitsma PH. Genetics of venous thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2009;7 Suppl 1:301-4.
115. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*. 1996;88(10):3698-703.
116. Horvat I, Boban A, Zadro R, Antolic MR, Serventi-Seiwerth R, Roncevic P et al. Influence of Blood Count, Cardiovascular Risks, Inherited Thrombophilia, and JAK2 V617F Burden Allele on Type of Thrombosis in Patients With Philadelphia Chromosome Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2019;19(1):53-63.
117. Todorieva-Todorova DK, KovachevaKS, TzvetkovNT, Trifonov SV, Stavreva GT, Rashev TR et al. A Study on the Role of Thrombophilic Genetic Disorders as a Risk Factor for Thrombotic Complications in Patients with Myeloproliferative Disorders. *Journal of Biomedical and Clinical Research*, 2019;12(1)19-26.
118. Ruggeri M, Gisslinger H, Tositto A, Rintelen C, Mannhalter C, Pabinger I et al. Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol*. 2002;71(1):1-6.
119. De Stefano V, Za T, Rossi E, et al. Influence of the JAK2 V617F mutation and inherited thrombophilia on the thrombotic risk among patients with essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2009;94(5):733-737.
120. Trifa AP, Cucuianu A, Popp RA, Coadă CA, Costache RM, Militaru MS et al. The relationship between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and MTHFR mutations and the first major thrombotic episode in polycythemia vera and essential

- thrombocytopenia. *Ann Hematol.* 2014;93(2):203-9.
121. Gisslinger H, Mullner M, Pabinger I, Heis-Vahidi-Fard N, Gisslinger B, Brichta A et al. Mutation of the prothrombin gene and thrombotic events in patients with polycythemia vera or essential thrombocytopenia: a cohort study. *Haematologica* 2005;90(3):408-410.
  122. Gadomska G, Roś D, Stankowska K, Boinska J, Ruszkowska-Ciastek B, Wieczór R. Selected parameters of hemostasis in patients with myeloproliferative neoplasms. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2014;25(5):464-70.
  123. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Anti-beta 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood.* 2003;102(8):2717-23.
  124. Bidot CJ, Jy W, Horstman LL, Ahn ER, Bidot L, Fontana V, Ahn YS. Antiphospholipid antibodies and platelet activation as risk factors for thrombosis in thrombocythaemia. *Hematology.* 2005 ;10(6):451-6.
  125. Kornblihtt LI, Heller PG, Correa G, Castañón M, Genoud V, Vassallu P et al. Associated thrombophilic defects in essential thrombocythaemia: their relationship with clinical manifestations. *Thromb Res.* 2003;112(3):131-5.
  126. Robertson B, Urquhart C, Ford I, Townend J, Watson HG, Vickers MA, Greaves M. Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases: relationships with JAK2 V617 F status, clonality, and antiphospholipid antibodies. *J Thromb Haemost.* 2007;5(8):1679-85.
  127. Yang Q, Bailey L, Clarke R, Flanders WD, Liu T, Yesupriya A et al. Prospective study of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) variant C677T and risk of all-cause and cardiovascular disease mortality among 6000 US adults. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2012;95(5):1245–1253.
  128. Frederiksen J, Juul K, Grande P, Jensen GB, Schroeder TV, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (C677T), hyperhomocysteinemia, and risk of ischemic cardiovascular disease and venous thromboembolism: prospective and case-control studies from the Copenhagen City Heart Study. *Blood.* 2004;104(10):3046-51.

129. Wilcken B, Bamforth F, Li Z, et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *Journal of Medical Genetics*. 2003;40:619-625.
130. Đurović J, Stojković O, Todorović J, Savić K, Stamenković G et al. "Should MTHFR 1298 A> C be tested together with MTHFR 677 C> T polymorphism in women with reproductive challenges?." *Genetika*.2017; 49(2):377-386.
131. Gisslinger H, Rodeghiero F, Ruggeri M, Heis-Vahidi Fard N, Mannhalter C, Papagiannopoulos M et al. Homocysteine levels in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 1999;105(2):551-5.
132. Faurschou M, Nielsen OJ, Jensen MK, Hasselbalch HC. High prevalence of hyperhomocysteinemia due to marginal deficiency of cobalamin or folate in chronic myeloproliferative disorders. *Am J Hematol*. 2000;65(2):136-40.
133. Amitrano L, Guardascione MA, Ames PR, Margaglione M, Antinolfi I, Iannaccone L et al. Thrombophilic genotypes, natural anticoagulants, and plasma homocysteine in myeloproliferative disorders: relationship with splanchnic vein thrombosis and arterial disease. *Am J Hematol*. 2003;72(2):75-81.
134. Papadakis E, Papageorgiou V, Tsepanis K, Theocharidou D, Papadopoulos V, Georgiou E et al. Impact of Inherited Thrombophilia Factors On Thrombotic Risk in Patients with Newly Diagnosed BCR- Abl (-) Myeloproliferative Disorders; Finally a Role of MTHFR- C677T Polymorphism? *Blood*. 2012;120 (21):p5065.
135. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJO, Sheridan P, McQueen M.J, Pogue J et al. Homocysteine Lowering with Folic Acid and B Vitamins in Vascular Disease. *N Engl J Med*. 2006; 354:1567-1577.
136. den Heijer M, Willems HP, Blom HJ, Gerrits WB, Cattaneo M, Eichinger S, Rosendaal FR, Bos GM. Homocysteine lowering by B vitamins and the secondary prevention of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Blood*. 2007;1;109(1):139-44.
137. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ, Gilliland DG, Tefferi A. JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol*. 2005;131(2):208-13.
138. Rudzki Z, Sacha T, Stój A, Czekalska S, Wójcik M, Skotnicki AB et al. The gain-of-

- function JAK2 V617F mutation shifts the phenotype of essential thrombocythemia and chronic idiopathic myelofibrosis to more "erythremic" and less "thrombocytic": a molecular, histologic, and clinical study. *Int J Hematol.* 2007;86(2):130-6.
139. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bogani C, Verrucci M, Ponziani V et al. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia.* 2005;19(10):1847-9.
140. Dentali F, Squizzato A, Brivio L, Appio L, Campiotti L, Crowther M et al. JAK2V617F mutation for the early diagnosis of Ph- myeloproliferative neoplasms in patients with venous thromboembolism: a meta-analysis. *Blood.* 2009;113(22):5617-23.
141. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Rambaldi A, Barosi G, Marchioli R et al. Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood.* 2007;110(3):840-6.
142. Tong D, Yu M, Guo L, Li T, Li J, Novakovic VA et al. Phosphatidylserine-exposing blood and endothelial cells contribute to the hypercoagulable state in essential thrombocythemia patients. *Ann Hematol.* 2018;97(4):605-616.
143. Socoro-Yuste N, Dagher MC, Gonzalez De Peredo A, Mondet J, Zaccaria A et al. Ph (-) myeloproliferative neoplasm red blood cells display deregulation of IQGAP1-Rho GTPase signaling depending on CALR/JAK2 status. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1863(11):2758-2765.
144. Rosti V, Villani L, Riboni R, Poletto V, Bonetti E, Tozzi L et al. Spleen endothelial cells from patients with myelofibrosis harbor the JAK2V617F mutation. *Blood.* 2013;121(2):360-8.
145. Teofili L, Martini M, Iachininoto MG, Capodimonti S, Nuzzolo ER, Torti L, Cenci T, Larocca LM, Leone G. Endothelial progenitor cells are clonal and exhibit the JAK2(V617F) mutation in a subset of thrombotic patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2011;117(9):2700-7.
146. Marchetti M, Castoldi E, Spronk HM, van Oerle R, Balducci D, Barbui T, Rosing J, Ten Cate H, Falanga A. Thrombin generation and activated protein C resistance in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood.* 2008;112(10):4061-8.
147. Ziołkowska K, Boinska J, Gadomska G, Wiczór R, Rość D. Inhibitors of the blood

- coagulation process in patients with essential thrombocythemia, *Blood Coagulation & Fibrinolysis*. 2020;31(3):p219-224.
148. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2011;29(6):761-70.
  149. Tefferi, A., Vannucchi, A.M, Barbui, T. Essential thrombocythemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*.2018;8,2.
  150. Girodon F, Bonicelli G, Schaeffer C, et al. Significant increase in the apparent incidence of essential thrombocythemia related to new WHO diagnostic criteria: a population-based study. *Haematologica*. 2009;94(6):865-869.
  151. Szuber N, Mudireddy M, Nicolosi M, et al. 3023 Mayo Clinic patients with myeloproliferative neoplasms: risk-stratified comparison of survival and outcomes data among disease subgroups. *Mayo Clin Proc*. 2019;94:599-610.
  152. Urian L, Trifa A., Petrov L, Pațiu M. Clinical, laboratory and molecular features in essential thrombocythemia. *Revista Română de Medicină de Laborator*. 2011;19(2/4).
  153. Larsen T, Pallisgaard N, Møller M, Hasselbalch H. High prevalence of arterial thrombosis in JAK2 mutated essential thrombocythaemia: independence of the V617F allele burden. *Hematology*.2008; 13(2):71-76.
  154. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2005; 33(4):313-320.
  155. Heller P, Lev P, Salim J, Kornblihtt L, Goette N, Chazarreta C et al. JAK2V617F mutation in platelets from essential thrombocythemia patients: correlation with clinical features and analysis of STAT5 phosphorylation status. *European journal of haematology*. 2006;77(3), 210-216.
  156. Cheung B, Radia D, Pantelidis P, Yadegarfar G, Harrison C. The presence of the JAK2 V617F mutation is associated with a higher haemoglobin and increased risk of thrombosis in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 2006; 132:244-245.
  157. Kaifia A, Kirschner M, Wolf D, Maintz C, Hänel M, Gattermann N. Bleeding, thrombosis, and anticoagulation in myeloproliferative neoplasms (MPN): analysis from



- the German SAL-MPN-registry. *J Hematol Oncol*. 2016;9(1), 1-11.
158. Abdulkarim K, Samuelsson J, Johansson P, Andréasson B. Risk factors for vascular complications and treatment patterns at diagnosis of 2389 PV and ET patients: Real-world data from the Swedish MPN Registry. *European journal of haematology*. 2017;98(6), 577-583.
159. Lussana F, Caberlon S, Pagani C, Kamphuisen PW, Büller HR, Cattaneo, M. Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis: a systematic review. *Thrombosis research*. 2009;124(4):409-417.
160. Ziakas PD. Effect of JAK2 V617F on thrombotic risk in patients with essential thrombocythemia: measuring the uncertain. *Haematologica*. 2008; 93(9):1412-1414.
161. Rungjirajittranon T, Owattanapanich W, Ungprasert P, Siritanaratkul N, Ruchutrakool T. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of thrombosis and bleeding at diagnosis of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *BMC cancer*. 2019;19(1): 1-9.
162. Seguro FS, Teixeira LLC, da Rosa LI, da Silva WF, Nardinelli L, Bendit I, Rocha V. Risk factors and incidence of thrombosis in a Brazilian cohort of patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2020;49(4):667-672.
163. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *The Lancet*. 2005; 366(9501): 1945-1953.
164. Maugeri N, Giordano G, Petrilli MP, Fraticelli V, de Gaetano G, Cerletti C et al. Inhibition of tissue factor expression by hydroxyurea in polymorphonuclear leukocytes from patients with myeloproliferative disorders: a new effect for an old drug? *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2593–2598.
165. Vučković B. Poremećaj funkcionalnosti fibrinoliznog mehanizma kod bolesnika sa venskom trombozom (Doktorska disertacija). Novi Sad: Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu; 2014: 20-24.
166. Kelliher S, Falanga A. Thrombosis in myeloproliferative neoplasms: A clinical and

- pathophysiological perspective. *Thrombosis Update*. 2021;5:100081.
167. Ageno W, Riva N, Schulman S, Beyer-Westendorf J, Bang SM, Senzolo M et al. Long-term clinical outcomes of splanchnic vein thrombosis. *JAMA Intern Med* 2015;175:1474-80.
  168. Cordua S, Kjaer L, Skov V, Pallisgaard N, Hasselbalch HC, Ellervik C. Prevalence and phenotypes of JAK2 V617F and calreticulin mutations in a Danish general population. *Blood*. 2019;134(5), 469-479.
  169. Zhang Y, Zhou Y, Wang Y, Teng G, Li D, Wang Y et al. Thrombosis among 1537 patients with JAK2V617F-mutated myeloproliferative neoplasms: Risk factors and development of a predictive model. *Cancer medicine*. 2020; 9(6):2096-2105.
  170. Rodgers JL, Jones J, Bolleddu SI, et al. Cardiovascular Risks Associated with Gender and Aging. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2019;6(2):19.
  171. Pedersen KM, Bak M, Sørensen AL, et al. Smoking is associated with increased risk of myeloproliferative neoplasms: A general population-based cohort study. *Cancer Med*. 2018;7(11):5796-5802.
  172. Lindholm Sørensen A, Hasselbalch HC. Smoking and philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Eur J Haematol*. 2016;97(1):63-69.
  173. Finazzi G, Barbui T. Risk-adapted therapy in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood reviews*. 2005;19(5): 243-252.
  174. Accurso V, Santoro M, Mancuso S, Contrino AD, Casimiro P, Sardo M. et al. Cardiovascular risk in essential thrombocythemia and polycythemia vera: thrombotic risk and survival. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2020;12(1).
  175. Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, Spinelli O, Delaini F, Marchioli R et al. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood*. 2007;109(6): 2310-2313.
  176. Jabour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. *Am J Hematol*. 2018;93:442-459.
  177. Langabeer SE, Haslam K. Molecular Investigation of a Suspected Myeloproliferative Neoplasm in Patients with Basophilia. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(4):EL01.

178. Lucijanic M, Livun A, Stoos-Veic T, et al. High absolute basophil count is a powerful independent predictor of inferior overall survival in patients with primary myelofibrosis. *Hematology*. 2018;23:201-207.
179. Ferial J, Depasse F, Geneviève F. How I investigate basophilia in daily practice. *Int J Lab Hematol*. 2020 Jun;42(3):237-245.
180. Pieri L, Bogani C, Guglielmelli P, et al. The JAK2V617 mutation induces constitutive activation and agonist hypersensitivity in basophils from patients with polycythemia vera. *Haematologica*. 2009;94(11):1537-1545.
181. Wong WJ, Hasserjian RP, Pinkus GS, Breyfogle LJ, Mullally A, Pozdnyakova O. JAK2, CALR, MPL and ASXL1 mutational status correlates with distinct histological features in Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2018;103(2):e63-e68.
182. Cetin G, Ozkan T, Turgut S, Cikrikcioglu MA, Cem Ar M, Ayer M et al. Evaluation of clinical and laboratory findings with JAK2 V617F mutation as an independent variable in essential thrombocythosis. *Mol Biol Rep* 41. 2014;6737–6742.
183. Fujita H, Hamaki T, Handa N, Ohwada A, Tomiyama J, Nishimura S. Hypocholesterolemia in patients with polycythemia vera. *J Clin Exp Hematop*. 2012;52(2):85-9.
184. Gilbert HS, Ginsberg H, Fagerstrom R, Brown WV. Characterization of hypocholesterolemia in myeloproliferative disease. Relation to disease manifestations and activity. *Am J Med*. 1981;71(4):595-602.
185. Mesa RA, Huang J, Schwager S, et al. Hypocholesterolemia is independently associated with decreased survival in patients with primary myelofibrosis: an analysis of lipid profiles in 558 myeloproliferative patients. *Blood*. 2007;110(11):3.
186. Iso H, Ikeda A, Inoue M, Sato S, Tsugane S; JPHC Study Group. Serum cholesterol levels in relation to the incidence of cancer: the JPHC study cohorts. *Int J Cancer*. 2009; 125(11):2679-2686.
187. Pugliese L, Bernardini I, Pacifico N, et al. Severe hypocholesterolaemia is often neglected in haematological malignancies. *Eur J Cancer*. 2010;46(9):1735-1743.
188. Antonioli E, Guglielmelli P, Poli G, Bogani C, Pancrazzi A, Longo G et al. Influence of JAK2V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythemia.

- Haematologica. 2008;93(1):41-48.
189. Hu L, Pu L, Ding Y, Li M, Cabanero M, Xie J et al. Relationship between JAK2V617F mutation, allele burden and coagulation function in Ph-negative myeloproliferative neoplasms. *Hematology*. 2016;22(6):354-360.
  190. Li ZC., Fu HJ, Wang ZM, Yang S, Xu HZ. Correlative study between the JAK2V617F mutation and thrombosis in patients with myeloproliferative neoplasm. *Genetics and molecular research: GMR*. 2016;15(3).
  191. Tripodi A, Chantarangkul V, Gianniello F, Clerici M, Lemma L, Padovan L et al. Global coagulation in myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol*. 2013; 92:1633–1639 (2013).
  192. Sayar Z, Nallamilli S, Efthymiou M, Lambert J, Cohen H. Coexistent antiphospholipid syndrome and myeloproliferative neoplasm. *Lupus*. 2021;30(9):1502-1508.
  193. Sokołowska B, Nowaczyńska A, Bykowska K, Chocholska S, Wejsza K, Walter-Croneck A et al. JAK2 mutation status, hemostatic risk factors and thrombophilic factors in essential thrombocythemia (ET) patients. *Folia histochemica et cytobiologica*. 2011;49(2): 267-271.
  194. Trifa AP, Cucuianu A, Popp RA, Costache RM, Coadă CA, Sarca AD et al. Analysis of the MTHFR (methylenetetrahydrofolate reductase) 677 C> T and 1298 A> C polymorphisms in BCR–ABL-negative myeloproliferative neoplasms. *International journal of laboratory hematology*. 2013;35(1):9-12.
  195. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts). Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR), *European Heart Journal*. 2016;37(29)2315–2381.
  196. Delluc A, Lacut K, Rodger MA. Arterial and venous thrombosis: What's the link? A narrative review. *Thromb Res*. 2020;191:97-102.
  197. Mahmoodi BK, Gansevoort RT, Næss IA, Lutsey PL, Brækkan SK, Veeger NJ et al. Association of mild to moderate chronic kidney disease with venous thromboembolism:

- pooled analysis of five prospective general population cohorts. *Circulation*. 2012;126(16):1964-71.
198. Evangelista V, Manarini S, Rotondo S, Martelli N, Polischuk R, McGregor JL, et al. Platelet/polymorphonuclear leukocyte interaction in dynamic conditions: evidence of adhesion cascade and cross talk between P-selectin and beta 2 integrin CD11b/CD18. *Blood* 1996; 88:4183–4194.
  199. Yarbrow JW. Mechanism of action of hydroxyurea. *Semin Oncol* 1992;19:1–10.
  200. Piccardoni P, Sideri R, Manarini S, Piccoli A, Martelli N, de Gaetano G, et al. Platelet/polymorphonuclear leukocyte adhesion: a new role for SRC kinases in MAC-1 adhesive function triggered by P-selectin. *Blood* 2001;98:108–116.
  201. Guy A, Gourdou-Latyszenok V, Le Lay N, Peghaire C, Kilani B, Dias JV, et al. Vascular endothelial cell expression of JAK2(V617F) is sufficient to promote a pro-thrombotic state due to increased P-selectin expression. *Haematologica*. 2019;104(1):70–81.
  202. Cokic VP, Beleslin-Cokic BB, Tomic M, Stojilkovic SS, Noguchi CT, Schechter AN. Hydroxyurea induces the eNOS-cGMP pathway in endothelial cells. *Blood*. 2006;108(1):184–91.
  203. Trelinski J, Tybura M, Smolewski P, Robak T, Chojnowski K. The influence of low-dose aspirin and hydroxyurea on platelet-leukocyte interactions in patients with essential thrombocythemia. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2009;20(8):646-51.
  204. Malecki R, Gacka M, Kuliszkiewicz-Janus M, Jakobsche-Policht U, Kwiatkowski J, Adamiec R et al. Altered plasma fibrin clot properties in essential thrombocythemia. *Platelets*. 2016; 272:110–116.
  205. Brogren H, Wallmark K, Deinum J, Karlsson L, Jern S. Platelets retain high levels of active plasminogen activator inhibitor 1. *PLoS ONE*. 2011; 6(11):e26762.

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укоричити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

## План третмана података

<b>Назив пројекта/истраживања</b>
<b>ЈАК2V617F мутација и настанак тромбозних компликација код болесника са есенцијалном тромбоцитенијом</b>
<b>Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање</b>
а) Клинички центар Војводине, Клиника за хематологију б) Клинички центар Војводине, Центар за лабораторијску медицину
<b>Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање</b>
Докторске академске студије, смер клиничка медицина
<b>1. Опис података</b>
<i>1.1 Врста студије</i> <i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i> <b>Циљеви докторске дисертације усмерени су на утврђивање учесталости тромбозних компликација код болесника са есенцијалном тромбоцитенијом и присутном ЈАК2V617F мутацијом у односу на болеснике код којих мутација није доказана, као и утврђивање учесталости врсте тромбозних догађаја код ЈАК2V617F позитивних болесника. Такође, посматрана је повезаност клиничких фактора ризика и лабораторијских параметара са настанком тромбозних компликација у односу на присуство ЈАК2V617F мутације код болесника са есенцијалном тромбоцитенијом. Дакле, ова докторска дисертација ће омогућити да се утврди да ли присуство ЈАК2V617F мутације, одређених клиничких и лабораторијских параметара доприносе настанку тромбозних компликација код оболелих од есенцијалне тромбоцитеније.</b>
<i>1.2 Врсте података</i> а) квантитативни б) квалитативни
<i>1.3. Начин прикупљања података</i> а) анкете, упитници, тестови

б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи

в) генотипови: навести врсту \_\_\_\_\_

г) административни подаци: навести врсту \_\_\_\_\_

д) узорци ткива: навести врсту: **крв узоркована из периферне вене**

ђ) снимци, фотографије: навести врсту \_\_\_\_\_

е) текст, навести врсту: **литературни изводи**

ж) мапа, навести врсту \_\_\_\_\_

з) остало: описати \_\_\_\_\_

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

**Формат података: табеларан**

**Количина унетих података: 10 735**

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Excel фајл, датотека \_\_\_\_\_

б) SPSS фајл, датотека **1 SPSS фајл, IBM SPSS Statistics, Version 26.0, конвертован у csv. формат**

в) PDF фајл, датотека \_\_\_\_\_

г) Текст фајл, датотека \_\_\_\_\_

д) JPG фајл, датотека \_\_\_\_\_

е) Остало, датотека \_\_\_\_\_

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли **113**

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) **95 испитаника**

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

**б) не**

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак измедју поновљених мера је \_\_\_\_\_

б) варијабле које се више пута мере односе се на \_\_\_\_\_

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као \_\_\_\_\_

Напомене: \_\_\_\_\_

*Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?*

а) *Да*

б) *Не*

*Ако је одговор не, образложити \_\_\_\_\_*

## 2. Прикупљање података

### 2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

#### 2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип \_\_\_\_\_

б) **корелационо истраживање, навести тип: трансверзално корелационо истраживање, ретроспективно-проспективно истраживање**

ц) анализа текста, навести тип: **прикупљање података из литературе**

д) остало, навести шта \_\_\_\_\_

*2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).*

### 2.2 Квалитет података и стандарди

#### 2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да Не

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) Колики је број недостајућих података? **18**

б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да **Не**

в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

#### 2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

**Подаци прикупљени упитником, проверавани су са одговарајућом пратећом медицинског документацијом који је сваки испитаник приложио уз упитник.**

**Узорковање крви за лабораторијске анализе вршено је уз адекватну припрему, након чега су лабораторијске анализе рађене стандардизованим техникама и методама у аутоматизованим уређајима (хематолошким бројачима, анализаторима, коагулометрима и апаратима). Квалитет лабораторијских резултата је контролисан у складу са стандардима добре лабораторијске праксе и по стандардној лабораторијској процедури валидације добијених резултата.**

#### 2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

**Подаци о испитаницима у матрици су шифровани. Подаци добијени путем анамнезе и упиника, као и резултати лабораторијских анализа придруживани су одговарајућим шифрама које су додељене испитаницима. Унос података у матрицу контролисан је двоструким прегледом.**



### 3. Третман података и пратећа документација

#### 3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у репозиторијуму докторских дисертација Универзитета у Новом Саду.

3.1.2. URL адреса <https://cris.uns.ac.rs/searchDissertation.jsf>

3.1.3. DOI \_\_\_\_\_

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

а) Да, са сваком појединачном публикацијом

б) Да, али после ембарга који ће трајати до \_\_\_\_\_

в) Не

Ако је одговор не, навести разлог \_\_\_\_\_

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

---

---

#### 3.2. Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен?

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

---

---

---

---

#### 3.3. Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? **Неограничено**

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да, након дозволе аутора  
Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

---

#### 4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

##### 4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности ([https://www.paragraf.rs/propisi/zakon\\_o\\_zastiti\\_podataka\\_o\\_licnosti.html](https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html)) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

##### 4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

**23.02.2016. године, Етички одбор Клиничког центра Војводине, број 00-81/155**

##### 4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
- б) Подаци су анонимизирани
- ц) Остало, навести шта

#### 5. Доступност података

##### 5.1. Подаци ће бити

а) **јавно доступни, након објављивања појединачних публикација**

б) *доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области*

ц) *затворени*

*Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:*

*Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:*

*5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.*

**Ауторство-некомерцијално-без прераде.** Дозвољава се умножавање, дистрибуција и јавно саопштавање дела, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

## **6. Улоге и одговорност**

*6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података*

**Марина Докић,**

**marinadokic7@gmail.com**

*6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима*

**Марина Докић,**

**marinadokic7@gmail.com**

*6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима*

**Марина Докић,**

**marinadokic7@gmail.com**