



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİ HASTA
GRUBUNDA ASPİRİN ETKİNLİĞİ VE ASPİRİN DİRENCİ**

Dr. Ilgın KOÇAK GÖKTÜRK

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL
Ağustos, 2020

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
GÖZTEPE EĞİTİM ve ARAŞTIRMA HASTANESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİ HASTA
GRUBUNDA ASİRİN ETKİNLİĞİ VE ASİRİN
DİRENCİ**

Dr. Iğın KOÇAK GÖKTÜRK
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Erman ÖZTÜRK

İSTANBUL
Ağustos, 2020

ONAY

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi'nde Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Yönetmeliği hükümlerine göre uzmanlık eğitimi gören Dr. Ilgın KOÇAK GÖKTÜRK'ün hazırladığı ve jüri önünde savunduğu “KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİ HASTA GRUBUNDA ASİRİN ETKİNLİĞİ VE ASİRİN DİRENCİ” başlıklı tez başarılı kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

İMZA

Tez Danışmanı:

Dr. Öğr. Üyesi Erman ÖZTÜRK

.....

Üyeler:

.....

.....

.....

Tez Savunma Tarihi: 11/08/2020

Yazar Bildirimi

“KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİ HASTA GRUBUNDA ASİRİN ETKİNLİĞİ VE ASİRİN DİRENCİ” isimli uzmanlık tezinde Dr. Ilgın KOÇAK GÖKTÜRK

- Bu tezin kabulünden önce nerede ve ne kadarının yayınlandığını “Bilgilendirme” bölümünde belirtmiştir.
- Tezin hazırlanmasında katkısı olanları “Bilgilendirme” bölümünde eksiksiz olarak belirtmiştir.
- Bu tez ile ilgili çıkar çatışması olup olmadığını “Bilgilendirme” bölümünde belirtmiştir.
- Tez içerisinde başkalarının yayınlanmış veya yayınlanmamış çalışmalarından yapılan alıntılar için gerekli kaynakları açıkça belirtmiştir.
- Tez içerisinde başka kaynaklardan kopyalanmış olan kısımları tırnak içerisinde alarak ve izin alınan kaynağı belirterek kullanmıştır.

Ağustos, 2020

İmza:

- Bu çalışmada adı geçen ilaç, tıbbi cihaz ve laboratuvar malzemelerinin üreticileri ile herhangi bir çıkar ilişkim yoktur.
- Bu tez daha önce herhangi bir yerde yayınlanmamıştır.

Dr. Iğın KOÇAK GÖKTÜRK



İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca, hem akademik hem manevi anlamda desteğini her daim hissettiren, her daim yol gösterici olan, engin bilgi ve tecrübesine sonsuz güvendiğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aytekin Oğuz'a;

Tez sürecimin her anında yanımda olan, her türlü sorumu sabır ve ilgiyle dinleyip cevaplayan, samimiyetine her zaman inandığım ve hiçbir desteğini benden esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Erman Öztürk'e;

Uzmanlık eğitimim sırasında, gelişimime olan katkıları nedeniyle değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Uzunlulu, Prof. Dr. Banu Mesçi, Prof. Dr. Sabahat Alışır Ecder, Prof. Dr. Mahmut Gümüş, Prof. Dr. İlyas Tuncer ve Prof. Dr. Ebubekir Şenates'e;

Tez hazırlık sürecimdeki sonsuz yardımseverliğinden dolayı değerli Biyokimya Uzm. Dr. Fatih Yeşildal'a; bu süreçte birçok sıkıntıyı birlikte aştığımız çok sevgili ve değerli hemşire arkadaşım Özlem Gönen'e ve yine tez sürecime olan katkılarından dolayı bilgilerine ve çalışkanlıklarına sonsuz güvendiğim çok sevgili Hematoloji Uzm. Dr. Işıl Erdoğan Özunal ve Uzm. Dr. Miraç Vural Keskinler'e;

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca hep bir arada olduğum ve sohbetiyle beni her daim rahatlatan Dr. Elif Uzuner'e; uzmanlık eğitimime dört yıl önce birlikte başlayıp birlikte çok şey öğrendiğim Dr. Zeynep Beşışık Yılmaz'a; Dr. Neslihan Hatunoğlu, Dr. Murat Özer ve Dr. Esennur Holoğlu başta olmak üzere beraber çalışma fırsatı bulup birlikte çalışmayı çok sevdiğim arkadaşlarım Dr. Taner Tan, Dr. Gamze Yanaş, Dr. Gülçin Halise Görgülü, Dr. Ece Arbabı ve Dr. Ertuğrul İnekçioğlu'na; bilgi, tecrübe ve desteklerini bana aktaran, gelişimime büyük katkıları olan Dr. Yusuf Kılıç ve Dr. Hüseyin Aykut'a;

Tez hazırlık sürecimdeki destekleri ve asistanlık süresinceki arkadaşlıklarından dolayı çok sevgili Dr. Banu Çelik Yılmaz, Dr. Beyza Kabayuka, Dr. Şehnaz Kaya, Dr. Cansu Kadirli, Dr. Muhammet Mikdat Akbaş ve tüm intörn doktor arkadaşlarıma;

Beni her daim seven, arkadaştan öte kardeşlerim Nazan Ekinci ve Göze Arukaslan'a;

Ve hayatımın her anında yanımda olan, hayatımı güzelleştiren canım eşim Alican Göktürk'e; sevgisini ve desteğini her zaman hissettiren, birtanecik ablam Yelin Koçak'a; beni bugünlere getiren, hayattaki en büyük şanslarım olan canım annem Zeynep Koçak ve canım babam Çetin Koçak'a;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Iğın KOÇAK GÖKTÜRK

kocakilgin@gmail.com



Özet

KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİ HASTA GRUBUNDA ASİRİN ETKİNLİĞİ VE ASİRİN DİRENCİ

AMAÇ: Kronik Miyeloproliferatif Neoplazi (KMPN) hasta grubunda, tromboz riskini azaltmak amacıyla verilen aspirin tedavisi altında bile trombotik komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bu çalışmanın yapılmasının amacı, KMPN tanılı hastalarda kullanılan aspirinin etkinliğini ve artmış trombosit üretimi sebebiyle olduğu düşünülen aspirin direncini laboratuvar yöntemlerle incelemek ve aspirin tedavisine rağmen gelişebilen trombozların sebebinin aydınlatılmasına katkı sağlamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER: Kontrollü, prospektif, kesitsel bir araştırma olan bu çalışmada hasta ve kontrol grupları, 116 hasta ve 82 kontrol grubu arasından seçildi. Çalışmaya onam veren ve çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan 27'si Esansiyel Trombositemi (ET) ve 11'i Polisitemia Vera (PV) olmak üzere, 100 mg/gün aspirin kullanan 38 kişi hasta grubu olarak; KMPN tanısı olmayan, 100 mg/gün aspirin kullanan 30 kişi kontrol grubu olarak belirlendi. Çalışma için bütün numuneler, hastaların günlük 100 mg aspirin ilaçlarını almadan hemen önce toplandı. Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin immatür trombosit fraksiyonu (Immature Platelet Fraction: IPF), serum Tromboksan B2 (TXB2) ve idrar 11-dehidro TXB2 düzeyleri ölçüldü. Işık transmisyon agregometride (Light Transmission Aggregometry: LTA) Araşidonik Asit (AA) ve Adenozin Difosfat (ADP) ile agregasyon testleri çalışıldı. LTA-AA ile rezidü trombosit agregasyonu >%20 ve/veya LTA-ADP ile rezidü trombosit agregasyonu >%50 olan hastalar, aspirin dirençli olarak kabul edildi.

BULGULAR: Olguların yaşları, cinsiyet dağılımları, vücut kitle indeksleri ve sigara kullanım oranları benzer olup hasta grubunun IPF mutlak değer ölçümleri, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p=0,008$). Hidroksiüre kullanım oranları arttıkça, IPF mutlak değerleri ($p=0,001$) ve MPV değerlerinin ($p=0,018$) azaldığı yönünde bir ilişki olduğu gözlemlendi. Hastaların IPF mutlak değeri arttıkça MPV değerinin de arttığı ($p<0,001$) ve hasta yaşı ile IPF ($p=0,011$) ve MPV ($p=0,016$) değerleri arasında negatif yönlü anlamlı bir ilişki olduğu görüldü. IPF mutlak değeri ile serum TXB2 düzeyi

arasında bir korelasyon saptanmadı ($p=0,271$). Hasta grubunun TXB2 değeri, kontrol grubuna göre yüksek saptanırken ($p=0,003$); tromboz öyküsü olan ET grubu olguların TXB2 değeri, tromboz öyküsü olmayan ET grubu olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p=0,031$). Tüm olguların Nötrofil/Lenfosit oranları ile TXB2 ölçümleri arasındaki pozitif yönlü ilişki ($p=0,039$) ve hasta grubu olguların Monosit/Lenfosit oranları ile tromboz varlığı arasındaki korelasyon anlamlı bulundu ($p=0,047$). LTA yöntemi ile yapılan agregasyon testlerinde ise, gruplar arasında aspirin direnci açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,528$).

SONUÇ: KMPN tanılı hasta grubunda IPF mutlak değeri, kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde ($p=0,008$) yüksek olup; günlük pratikte IPF mutlak değeri ölçümü her zaman mümkün olmayacağı için, immatür trombosit fraksiyonu hakkında yol göstermesi adına IPF mutlak değeri yerine, aralarında çok güçlü pozitif yönlü ilişki bulunan MPV değeri dikkate alınabilir. MPV ve IPF mutlak değerlerinin, hidroksiüre kullanan ve/veya yaşlı hastalarda anlamlı ölçüde daha düşük olduğu görüldü. Hastaların yaşları ile IPF ($p=0,011$) ve MPV ($p=0,016$) değerleri arasında negatif yönlü istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcut olup, gençlerdeki bu yüksek IPF ve MPV değerlerinin, aspirin direncini etkileyen faktörlerden biri olabileceği düşünüldü. Yani MPV değeri yüksek olan genç hastalarda aspirinin bölünmüş dozlarda verilmesinin değerlendirilmesi gerektiği kanaatine vardık.

Tromboz öyküsü olan ET grubunun TXB2 değerini, tromboz öyküsü olmayanlara göre anlamlı düzeyde yüksek saptadık ($p=0,031$). Tromboz öyküsü ile Monosit/Lenfosit oranının ise, anlamlı ölçüde ($p=0,047$) korele olduğunu gördük. Hastaların trombotik komplikasyonların gelişimi yönünden takibinde, Monosit/Lenfosit oranı bakılmasının da yol gösterici olacağını düşündük. LTA yöntemi ile yapılan agregasyon testlerinde de, gruplar arasında aspirin direnci açısından fark saptamadık ($p=0,528$).

ET tanılı hastalarda aspirin tedavisine rağmen trombotik komplikasyonların yaşanmasının nedeni, aspirine karşı artmış yanıtsızlıktır. Bunun da artmış trombosit yapımına bağlı olduğu görülmektedir. Aspirinin düşük ve günde tek doz uygulama pratiğine karşın, güncel çalışmalar ile günde iki kez uygulama yönünde veriler elde edilmektedir. Fakat bu alanda yüksek doz aspirin, bölünmüş doz aspirin veya diğer tromboprofilaksi ajanları arasında

karşılaştırmalı çalışmalar bulunmamaktadır. Bu alanda iyi dizayn edilmiş randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: tromboz; aspirin direnci; immatür trombosit fraksiyonu; IPF; serum tromboksan B2; idrar 11-dehidro tromboksan B2; ışık transmisyon agregometri; LTA



Abstract

ASPIRIN EFFICACY AND ASPIRIN RESISTANCE IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

OBJECTIVE: Patients with Chronic Myeloproliferative Neoplasms are in general susceptible to thrombosis. Thrombosis risk of these patients are higher than the healthy population even if these patients receive aspirin treatment to reduce the risk of thrombosis. These patients have increased thrombocyte production than the normal population. The purpose of this research is to study aspirin efficacy and aspirin resistance in chronic myeloproliferative neoplasm patients which have this increased thrombocyte production. We also aim to find out the reasons of thrombotic events in these patients that are receiving aspirin treatment.

MATERIAL AND METHOD: This study is a controlled, prospective study. Initially the study had 198 patients in total, 116 of these patients were diagnosed with Chronic Myeloproliferative Neoplasm and 82 of them were receiving aspirin for other indications. Only 68 of these patients were fulfilling the required criteria to participate in this study so the initial number is lowered to 68. In the end, 38 of these people were patients with Chronic Myeloproliferative Neoplasms and received aspirin treatment during the study, 30 of these people didn't had Chronic Myeloproliferative Neoplasm but were receiving aspirin treatment for other indications. 27 of these Chronic Myeloproliferative Neoplasm patients were diagnosed with Essential Thrombocythemia, 11 of them were diagnosed with Polycythemia Vera. All of the 68 participants were receiving 100 mg aspirin every day. The samples were collected right before the patients took their daily dose of aspirin. The participants IPF, blood TXB2 and urine 11-dehydro TXB2 levels were tested. To analyze the aspirins effect on human body, we tested for blood TXB2 and urine 11-dehydro TXB2 levels. We also ran thrombocyte aggregation tests in LTA by using AA (Arachidonic Acid) and ADP (Adenosine diphosphate) as thrombocyte activators. Patients with residue thrombocyte aggregation more than 20% by LTA-AA and/or more than 50% with LTA-ADP were considered as aspirin resistant.

RESULTS: The patients had similar distributions of age, gender and BMI (Body Mass Index). The ratio of smokers/non-smokers was also similar in both of the study groups. In the end, IPF values of patients that were diagnosed with Myeloproliferative Neoplasm (MPN) were higher when compared to our control group ($p=0,008$). We also found out that IPF values ($p=0,001$) and MPV values ($p=0,018$) decrease with the use of hydroxyurea. It was observed that the patients MPV increases ($p<0,001$) as the patients definitive IPF increase. It was also found out that the IPF ($p=0,011$) and MPV ($p=0,016$) values decrease as the patients get older. In this study, we also observed that there is no significant correlation between IPF and blood TXB2 ($p=0,271$). Blood TXB2 levels of the patients with MPN were higher than our control group ($p=0,003$). Blood TXB2 levels of ET patients with a history of a thrombotic episode were found out to be significantly higher than ET patients without a history of a thrombotic episode ($p=0,031$). All the participants had a positive correlation between their blood neutrophil/lymphocyte ratio and their TXB2 blood levels ($p=0,039$). Blood Monocyte/Lymphocyte ratio and the presence of at least one thrombosis also found out to had a positive correlation according to our study ($p=0,047$). We also observed that there is no significant difference in aspirin resistance between the groups, when we ran thrombocyte aggregation tests by using LTA ($p=0,528$).

CONCLUSION: Although patients that are diagnosed with MPN had a higher IPF value than our control group ($p=0,008$), it is not possible in our regular practice to measure the patients IPF levels. That is why instead of measuring IPF, we can try to measure MPV levels in our daily practice which has a strong correlation with IPF. MPV and IPF values are found out to be significantly lower in patients that are receiving hydroxyurea treatment and/or in elderly patients. We found out a negative correlation between the patients ages and IPF ($p=0,011$) and MPV ($p=0,016$) levels. We think that one of the important factors that effect the aspirin resistance is the high IPF levels in younger patients. We also think that it might be beneficial to divide the daily aspirin dose in 2 parts in such patients.

When we check out the blood TXB2 levels of the ET patients with a thrombotic event and without a thrombotic event, we found out that the patients with a thrombotic event has a significantly higher TXB2 blood level ($p=0,031$). In our

study, Monocyte/Lymphocyte ratio of patients with MPN is found to be correlated with the patients past thrombotic events ($p=0,047$). We have come to the conclusion that Monocyte/Lymphocyte ratio is valuable to screen any future thrombotic event in these patients. We also observed that there is no significant difference in aspirin resistance between the groups, when we ran thrombocyte aggregation tests by using LTA ($p=0,528$).

The reason why thrombotic events still occur in aspirin treatment receiving ET patients is aspirin non-responsiveness. This resistance is resulting from increased thrombocyte production. Despite the currently accepted “once daily” aspirin treatment, recent studies show that taking aspirin “twice daily” might become the new treatment regimen, but we are lacking comparative studies between higher daily dosages of aspirin, divided daily aspirin dosage and other thromboprophylactic agents in this field.

Key words: thrombosis; aspirin resistance; immature platelet fraction; IPF; blood Thromboxane B₂; urinary 11-dehydro Thromboxane B₂; light transmission aggregometry; LTA

İçindekiler

Şekil Listesi	xiii
Tablo Listesi	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİLER.....	2
2.1.1 Polisitemia Vera	3
2.1.2 Esansiyel Trombositemi	6
2.1.3 Primer Miyelofibrozis	9
2.2 KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİLERDE KOMPLİKASYONLAR	11
2.3 TROMBOSİTLER VE TROMBOSİT AGREGASYON MEKANİZMASI ..	13
2.4 ASPİRİN VE ETKİ MEKANİZMASI	14
2.5 ASPİRİN DİRENCİ VE ASPİRİN DİRENCİ ÖLÇÜM TEKNİKLERİ	16
2.5.1 Aspirin Direnci Ölçüm Teknikleri	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1 ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLME KRİTERLERİ	21
3.2 ÇALIŞMADAN DIŞLANMA KRİTERLERİ	21
3.3 ÇALIŞMANIN DİZAYNI	21
3.4 İSTATİSTİK	27
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
5.1 TARTIŞMA	38
5.2 TEZİN KISITLILIKLARI	41
5.3 SONUÇ	42
Kaynaklar	43
Ek A. Etik Kurul Onay Formu	53
Ek B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi Proje Kabul Onay Formu	55

Şekil Listesi

2.1:	Trombosit Agregasyonu ve Trombosit Agonistleri	14
2.2:	Tromboksen Üretim Yolağı ve Aspirin Etki Mekanizması	15
3.1:	Değerlendirilen ve Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar	22
3.2:	Mindray BC-6800 Auto Hematology Analyzer Cihazında İmmatür Trombosit Fraksiyonu (IPF)	23
3.3:	Işık Transmisyon Agregometri (Light Transmission Aggregometry: LTA)	24
3.4:	Çalışmanın 11 dehidro TXB2 Kalibrasyon Eğrisi	26
3.5:	Çalışmanın TXB2 Kalibrasyon Eğrisi	26
4.1:	Tanılara Göre Dağılımlar	29

Tablo Listesi

2.1:	Dünya Sağlık Örgütü Polisitemia Vera Tanı Ölçütleri (2016)	4
2.2:	Dünya Sağlık Örgütü Esansiyel Trombositemi Tanı Ölçütleri (2016) ...	6
2.3:	Esansiyel Trombositemi Hastalarının Sınıflandırılması	7
2.4:	Dünya Sağlık Örgütü Primer Miyelofibrozis Tanı Ölçütleri (2016)	10
4.1:	Gruplara Göre Tanımlayıcı Özelliklerin Değerlendirilmesi	30
4.2:	Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı	31
4.3:	Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı	31
4.4:	Gruplara Göre Aspirin Etkinlik Durumlarının Değerlendirilmesi	32
4.5:	Tanılara Göre Aspirin Etkinlik Durumlarının Değerlendirilmesi	32
4.6:	JAK2 Varlığına Göre Aspirin Etkinlik Durumlarının Değerlendirilmesi	33
4.7:	JAK2 Varlığına Göre Değerlendirmeler	33
4.8:	Hidroksiüre Kullanımına Göre Değerlendirmeler	33
4.9:	Yaş, IPF Mutlak Değeri, MPV ve TXB2 Değeri Korelasyonları	34
4.10:	Hastalar Grubunda Aspirin Etkinliği ve Tromboz Öyküsüne İlişkin Değerlendirmeler	34
4.11:	Tüm gruptaki Nötrofil/Lenfosit ile Aspirin Etkinliğine İlişkin Değerlendirmeler	35
4.12:	Hasta Grubunda Tromboz Hikayesine Göre Karşılaştırmalar	35
4.13:	ET Grubu Olgularda Tromboz Hikayesine Göre Karşılaştırmalar	36
4.14:	Aspirin Direncine İlişkin Değerlendirmeler	37

AA.....	Araşidonik Asit
ADP	Adenozin Difosfat
AML.....	Akut Miyeloid Lösemi
BAP	Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
BMI.....	Body Mass Index
COX.....	Siklooksijenaz
DSÖ.....	Dünya Sağlık Örgütü
ECLAP	The European Collaboration on low-dose aspirin
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EPO	Eritropoetin
ET.....	Esansiyel Trombositemi
GFR.....	Glomerular Filtration Rate
G-CSF.....	Granülosit-Koloni stimülan Faktör
GM-CSF.....	Granülosit Makrofaj-Koloni Stimülan Faktör
HRP	Horseradish Peroxidase
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü – 1
IPSET.....	International Prognostic Score for ET
IPF.....	Immature Platelet Fraction
JAK2.....	Janus Kinaz 2
Hb	Hemoglobin
Hct.....	Hematokrit
IL.....	İnterlökin
KEL	Kronik Eozinofilik Lösemi
KML.....	Kronik Miyeloid Lösemi
KMPN	Kronik Miyeloproliferatif Neoplazi
KNL	Kronik Nötrofilik Lösemi
LDH.....	Laktat Dehidrogenaz
LTA	Light Transmission Aggregometry
MDS	Miyelodisplastik Sendrom
MPN.....	Miyeloproliferatif Neoplaziler
NCSS	Number Cruncher Statistical System
NSAİ	Non-steroidal anti-inflamatuar ilaç
PFA-100.....	Platelet Function Analyser-100
PLT	Trombosit

PMF	Primer Miyelofibrozis
PPP	Platelet-Poor Plasma
Pre-PMF	Prefibrotik Primer Miyelofibrozis
PRP	Platelet-Rich Plasma
PV	Polisitemia Vera
RPM	Revolution Per Minute
SSRI	Selektif Serotonin re-uptake inhibitörleri
TPO	Trombopoetin
TRAP-6	Trombin Reseptör Aktivatör Protein-6
TX.....	Tromboksan
TXA2.....	Tromboksan A2
TXB2	Tromboksan B2
RPFA.....	Ultegra Rapid Platelet Function Assay
vWF	von Willebrand Faktör
VTE	Venöz Tromboemboli
WBC	Lökosit Sayısı

GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik Miyeloproliferatif Neoplaziler (KMPN) lösemik transformasyon ve fibrozis gelişimi ile karakterize olup, bu hasta grubunda esas sorun tromboz riskinin diğer popülasyona göre artmış olmasıdır. Bu hastalara tromboz riskini azaltmak amacıyla antiagregan tedavi olarak en sık aspirin verilmektedir. Ancak ne yazık ki, aspirin tedavisi altında bile hastalarda tromboz geliştiği gözlenmektedir. Yarılanma ömrü 20 dakika olan aspirin, alımını takiben trombositlerle karşılaşmakta ve trombosit aktivatörü olan Tromboksan A2 (TXA2)'yi geri dönüşümsüz olarak inhibe etmektedir. TXA2'nin kararlı metabolitleri olan Tromboksan B2 (TXB2) serumda, 11-dehidro TXB2 ise idrarda saptanabilmekte olup bu metabolitlerin ölçümü ile ya da trombosit agregasyon testleri ile trombositlerin fonksiyonları ölçülebilmektedir. KMPN'lerdeki aspirin etkisizliğinin (direncinin), artmış trombosit üretimi sebebiyle veya intrensek olabileceği öne sürülmektedir. Aspirini bölünmüş dozlarda vermek gibi basit yöntemlerle bu direncin üstesinden gelinebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmanın yapılmasının amacı, KMPN tanılı hastalardaki aspirin etkinliğini ve aspirine karşı direnci laboratuvar yöntemlerle incelemek, aspirin tedavisine rağmen gelişebilen trombozların sebebinin aydınlatılmasına katkı sağlamak ve aspirin direnci varlığında direnci aşma yönünde mekanizma dinamiklerini incelemektir.

GENEL BİLGİLER

2.1 KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİLER

Kronik Miyeloproliferatif Neoplaziler, hematopoietik progenitör hücrelerin anormal proliferasyonu sonucu granülosit, eritrosit, trombosit serilerinin bir veya daha fazlasında artış ile karakterize pluripotent kök hücre bozukluklarıdır (1). Miyeloproliferatif bozukluklardan sorumlu moleküler mekanizmalarla ilgili çalışmalar yapılırken, bunların aktive tirozin kinaz enzimi ile ilişkisi bulunmuş ve Kronik Miyeloid Lösemi (KML), Mastositoz, Kronik Miyelomonositik Lösemi ve Kronik Eozinofilik Lösemi'li hastalarda disregüle tirozin kinaz genleri gösterilmiştir. Philadelphia kromozomunda translokasyon ile oluşan BCR-ABL füzyon geni ile tanımlanan bir Miyeloproliferatif Neoplazi (MPN) olan KML patogenezinin aydınlatılmasıyla, "imatinib" isimli selektif tirozin kinaz inhibitörü ilaç keşfedilmiştir. BCR-ABL negatif diğer MPN'lerde de benzer moleküler çalışmalar yapılmış ve 2005 yılında Janus Kinaz 2 (JAK2 V617F) gen mutasyonu gösterilmiştir (2-7). JAK2; eritropoetin, trombopoetin, interlökin-3, granülosit koloni stimülan faktör (G-CSF) ve granülosit makrofaj koloni stimülan faktör (GM-CSF) reseptörlerinden uyarı algılanmasında görevli bir tirozin kinaz enzimidir. JAK2 V617F mutasyonu ise, büyüme faktörlerinden bağımsız olarak anormal hematopoeze sebep olmaktadır. Polisitemia Vera (PV) hastalarının %95'inden fazlasında, Esansiyel Trombositemi (ET) ve Primer Miyelofibrozis (PMF) hastalarının ise yaklaşık %50-60'ında JAK2 V617F mutasyonu bulunur (5, 8). Bu mutasyonun, hastalık tiplerinin klinik yansımaları üzerine etkilerini gösteren çalışmalarda, JAK2 V617F mutasyonu bulunan ET hastalarında PV benzeri bir kliniğin ortaya çıktığı, PMF hastalarında ise daha belirgin bir miyeloproliferasyon olduğu gözlenmiştir (5, 6). CALR ve MPL mutasyonları da ET başta olmak üzere, KMPN'lerde görülebilmektedir.

2008 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasına göre miyeloproliferatif bozukluklar olarak kabul edilen, Philadelphia kromozomu negatif üç ana non-lösemik KMPN'ler; PV, ET ve PMF olarak tanımlanmaktaydı (6). Eylül 2017'de ise, DSÖ sınıflandırma sisteminin resmi belgesi olan 2016 revize Mavi Kitap yayınlanmış olup PV, ET ve PMF; BCR-ABL negatif, JAK2 / MPL / CALR mutasyonları ile ilişkili klasik KMPN'ler olarak sınıflandırılmıştır. Belge, MPN'ler kategorisi altında yedi alt sınıf içermekte olup belgede Mastositöz'un artık MPN'ler kategorisi altında yer almadığı görülmektedir (9).

1. Kronik Miyeloid Lösemi (KML),
2. Kronik Nötrofilik Lösemi (KNL),
3. Polisitemia Vera (PV),
4. Primer Miyelofibrozis (PMF),
5. Esansiyel Trombositemi (ET),
6. Kronik Eozinofilik Lösemi (KEL) – aksi belirtilmedikçe,
7. Miyelodisplastik Sendrom (MDS) – sınıflandırılmayan.

2.1.1 Polisitemia Vera

Polisitemia Vera (PV); morfolojik olarak normal, beyaz küre, trombosit ve kırmızı kan hücrelerinin aşırı üretimi ile karakterize, edinsel klonal hematopoietik kök hücre hastalığıdır. Bu aşırı üretim, herhangi bir uyaran olmadan ve ekstramedüller hematopoeze eğilim yaratmadan gerçekleşir (10). Erken yetişkinlik dahil olmak üzere her yaşta görülür. Ortalama tanı yaşı yaklaşık 60'tır (11-15). Kadınlar için ortalama yaş 50, erkekler için ortalama yaş 60 olmakla birlikte, hastalık daha çok erkeklerde görülmektedir (16, 17).

PV, eritrositözün ön planda olduğu bir MPN'dir (18). Diğer eritrositöz nedenlerinden farklı olarak, PV'de serum eritropoetin (EPO) düzeyleri düşük olup eritropoezin otonom olduğu gösterilmiştir. Büyüme faktörü reseptör biyolojisi alanında yapılan çalışmalarda insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve MPL dikkati çekmiştir (19). PV'de eritroid progenitör hücrelerinin, IGF-1'e aşırı duyarlı olduğu (20) ve pluripotent hematopoietik progenitör hücrelerde eksprese edilen, ligandı trombopoetin (TPO) olan MPL'nin ekspresyonunun ise PV'li hastalarda belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir. MPL protein ekspresyonunun azalması, PV'lilerin çoğunda mevcuttur ve

ekspresyon kaybının derecesi, hastalık süresi ve ekstramedüller hematopoezin derecesi ile ilişkilidir (21, 22). MPN'ler ile en fazla ilişkili olan genetik mutasyon, Ekzon 14'teki JAK2 V617F mutasyonu olup PV'de görülen JAK2 mutasyonlarının %97'sinden sorumludur. PV'deki JAK2 mutasyonlarının kalan %3'ü ise ekzon 12, 13 ve 14'te görülmektedir (23).

Kırmızı kan hücre kütlesi veya hemoglobin / hematokrit artışı olan herhangi bir hastada PV'den şüphelenilir. Tanı için, erkeklerde hemoglobin düzeyi en az 16,5 g/dL veya hematokrit düzeyi >%49, kadınlarda ise hemoglobin düzeyi en az 16 g/dL veya hematokrit düzeyi >%48 olmalıdır. 2016'da DSÖ tarafından belirlenen revize kriterlerdeki eşik değerine göre JAK2 mutasyonu saptanmalıdır (24). PV'yi, JAK2 mutasyonu taşıyan ET'den ayırmak ve prognostik bilgi edinmek amacıyla kemik iliği morfolojik değerlendirilmesi de önerilmektedir (23). DSÖ 2016 revize PV tanı ölçütlerine göre, 3 majör ölçütün tamamı veya ilk 2 majör ölçüt ile minör ölçütün varlığı tanı için gereklidir (Tablo 2.1) (18).

Tablo 2.1: Dünya Sağlık Örgütü Polisitemia Vera Tanı Ölçütleri (2016)

Majör Ölçütler
1. Hemoglobin erkek için >16,5 g/dL, kadın için >16 g/dL veya hematokrit erkek için >%49, kadın için >%48 veya artmış eritrosit kütlesi
2. Yaşa göre hipersellüler ve pleomorfik, olgun megakaryositler (büyüklüklerinde farklılıklar) ile birlikte üç serinin miyeloproliferasyonu ile karakterize kemik iliği
3. JAK2 mutasyonu varlığı
Minör ölçütler
1. Subnormal serum eritropoetin düzeyi
Tanı için 3 majör ölçütün tamamı veya ilk 2 majör ölçüt ile minör ölçütün varlığı gerekir.

PV'deki klinik özellikler arasında; yorgunluk ve kaşıntı gibi hafif-orta dereceli konstitüsyonel semptomlar, hafif-orta dereceli splenomegali, hiperviskozite semptomları, mikrovasküler semptomlar (baş ağrısı, baş dönmesi, görme bozuklukları, atipik göğüs ağrısı, eritromelalji, parestezi), tromboz ve kanama komplikasyonları, lösemik transformasyon ve fibrozis gelişimi sayılabilir (23). Ek olarak, Budd-Chiari Sendromu ve portal, dalak veya mezenterik ven trombozu olan hastalarda (özellikle 45 yaşın altında ve kadın ise), PV'den

şüphelenilmeli ve bu durumlarda sonradan gelişen portal hipertansiyon ve hipersplenizm sebebiyle kan hücre sayısındaki artışın maskelenebileceği akılda tutulmalıdır (25-28). PV'de tromboz ve kanama riski artmakta olup serebrovasküler olay, miyokard enfarktüsü, yüzeysel tromboflebit, derin ven trombozu ve pulmoner emboli, görülebilen trombotik komplikasyonlardandır. Tefferi ve arkadaşlarının yaptığı uluslararası bir çalışmada tanı öncesi veya sırasında, PV hastalarının %16'sında arteriyel trombotik bir komplikasyon, %7'sinde venöz tromboz ve %4'ünde majör kanama kaydedilmiştir (29). Kanama ve tromboz komplikasyonları, hastalığın seyrinde ve optimize tedavinin belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde optimal tedavinin belirlenebilmesi için hastalar, yaş (yani, ≤ 60 yaş ya da >60 yaş) ve önceki tromboz öykülerine göre risk gruplarına ayrılarak tedavi edilmektedirler. Tromboz öyküsü olmayan ve ≤ 60 yaş grubundaki hastalar düşük riskli olarak sınıflandırılırken, diğerlerinin tamamı yüksek riskli kabul edilirler. Daha önce yapılmış çalışmalarda, trombotik komplikasyonların hematokrit değeri %45'in üzerinde olan hastalarda daha sık görüldüğünün saptanması sebebiyle düşük veya yüksek riskli erkek ve kadın hastalarda flebotomi yapılarak hematokritin %45'in altında tutulması hedeflenmektedir (30, 31). Düşük veya yüksek risk grubundaki her hastaya, kontrendikasyon bulunmuyor ise düşük doz aspirin tedavisi verilmektedir. Mikrovasküler bozukluklardan kaynaklanan akut semptomların (özellikle eritromelalji) kontrolü için aspirin daha yüksek dozlarda da verilebilir (32). Aspirinin PV hastalarında trombotik komplikasyonları önlediği gösterilmiştir (33). Ek olarak bu hasta grubunda kardiyovasküler risk faktörlerinin (kan basıncı kontrolü, kilo kaybı, fiziksel aktivite) değerlendirilmesi ve yönetimine dikkat edilmeli, hastalara sigara bırakma danışmanlığı yapılmalıdır. Düşük riskli PV hastalarının çoğunda sitoredüktif tedaviye ihtiyaç duyulmaz. Ancak kontrolsüz PV ilişkili semptomların varlığında, lökosit ve/veya trombosit sayılarının giderek artması, semptomatik veya progresif splenomegali, flebotominin tolere edilememesi veya çok sık flebotomi ihtiyacı olması gibi durumlarda hidroksiüre ve busulfan gibi ilaçlarla sitoredüktif tedavi gerekebilir (31, 33-37). PV'de, bugüne kadar hiçbir ilacın Miyelofibrozis, Akut Miyeloid Lösemi (AML) ya da MDS'ye dönüşüm riskini azalttığı gösterilememiştir; ancak

flebotomi, aspirin ve sitoredüktif ilaçlarla tedavilerin, trombozsuz sağ kalımı olumlu etkilediği gösterilmiştir (23).

2.1.2 Esansiyel Trombositemi

Esansiyel Trombositemi (ET), megakaryositlerin devamlı proliferasyonu sonucu dolaşımda trombosit sayısının artmasına yol açan KMPN'dir (18). BCR-ABL negatif MPN'lerin yaklaşık üçte birini oluşturmaktadır (38, 39). Hastalığın görülme insidansı, ortalama 2:1 oranla kadın popülasyonda yüksektir. Yaş arttıkça hastalığın görülme insidansı artmakla birlikte, ortalama görülme yaşı 60'tır (39).

Açıklanamayan, kalıcı trombositozu olan hastalarda ET'den şüphelenilmelidir. 2016'da revize edilen DSÖ tanı ölçütlerine göre, ET tanısı için $\geq 450 \times 10^9$ trombosit sayısı, JAK2 / MPL / CALR mutasyonlarından birinin varlığı veya bu mutasyonların yokluğunda diğer trombositoz nedenlerinin dışlanmış olması gerekir. Ayrıca ET'yi, prefibrotik PMF ve maskeli PV'den ayırmak için kemik iliği biyopsi değerlendirilmesi önerilmektedir (9, 40, 41). 2016 DSÖ majör kriterlerinden dördünün veya ilk üç ana kriterin yanı sıra minör kriterin varlığı tanı için gereklidir (Tablo 2.2) (18).

Tablo 2.2: Dünya Sağlık Örgütü Esansiyel Trombositemi Tanı Ölçütleri (2016)

Majör Ölçütler
1. Trombosit sayısının sürekli olarak $\geq 450\ 000/\mu\text{L}$ olması
2. Büyük ve olgun morfolojideki megakaryositlerin proliferasyonu ile karakterize kemik iliği. Nötrofilik granülopoezde sola kaymanın ve eritropoezde artışın olmaması. Ancak nadiren retikülin liflerinde minör artış (derece 1) olabilir
3. PV, PMF, BCR-ABL pozitif KML, MDS veya diğer miyeloid neoplazilerin DSÖ tanı ölçütlerinin bulunmaması
4. JAK 2, CALR veya MPL mutasyonu varlığı
Minör Ölçütler
1. Klonal bir marker varlığı (örneğin anormal karyotip) veya reaktif trombositoz bulgusu olmaması
Tanı için 4 majör ölçütün tamamının olması veya 3 majör ölçütle minör ölçütün birlikteliği gerekir.

ET hastalarının klinik özellikleri arasında, hafif splenomegali, mikrovasküler semptomlar, ilk trimester düşüklüğü, ilerleyen zamanlarda lösemik transformasyon ve fibrozis gelişimi ile en önemlisi tromboz ve kanama komplikasyonları sayılabilir (40, 42). ET'lerde tedavi, hastaların %10-20'sinde ortaya çıkabilecek trombotik komplikasyonları önlemek için gereklidir (40). Günümüzde ET hastalarının tedavisi, hastaların tromboz riskleri hesaplanarak planlanmaktadır. Geleneksel risk sınıflaması, iki risk parametresini (>60 yaş ve tromboz öyküsü) göz önünde bulundurarak hastaları iki risk grubuna ayırmaktaydı. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda JAK2 ve MPL mutasyonlarının varlığının, ET'de tromboz için bağımsız risk faktörleri olduğu gösterilmiştir. Tromboz öyküsü, 60 yaşın üzerinde olmak, JAK2 V617F, lökositoz ve kardiyovasküler risk faktörlerinin bulunması arteriyel tromboz için risk faktörleri iken; erkek cinsiyet ise venöz tromboz için risk faktörü olarak belirlenmiştir. Aşırı trombositozu olan ve CALR mutasyonu taşıyan hastalarda ise daha düşük tromboz riski gösterilmiştir (43-45). Bu çıkarımlar sonucu DSÖ, ET hastalarını IPSET (International Prognostic Score Of Thrombosis for ET) tromboz skoruna göre sınıflandırmıştır (Tablo 2.3). Kardiyovasküler risk faktörleri (diyabetes mellitus, hipertansiyon ve mevcut sigara içimi), IPSET tromboz skoruna dahil edilmese de, aspirin kullanımına ilişkin öneriler de dahil olmak üzere genel tedavi stratejisine karar verirken bu faktörler göz önünde bulundurulmaktadır (46).

Tablo 2.3: Esansiyel Trombositemi Hastalarının Sınıflandırılması

Yüksek Riskli	Orta Riskli	Düşük Riskli	Çok Düşük Riskli
>60 yaş ve JAK2 V617F mutasyonu var	>60 yaş ve JAK2 V617F mutasyonu yok ve tromboz öyküsü yok	≤60 yaş ve JAK2 V617F mutasyonu var ve tromboz öyküsü yok	≤60 yaş ve JAK2 V617F mutasyonu yok ve tromboz öyküsü yok
herhangi bir yaşta ve tromboz öyküsü var			

Yüksek riskli grupta olup venöz tromboz öyküsü olan hastaların çoğuna sitoredüktif tedaviye ek olarak uzun süreli antikoagülasyon önerilmektedir. Aynı zamanda bu gruba kardiyovasküler risk faktörlerinin veya JAK2 mutasyonunun varlığında günde tek doz aspirin eklenmesi de düşünülebilir. Sitoredüksiyon tedavi ile düşük doz aspirin kombinasyonu veya tek başına antikoagülasyon bu popülasyon için yeterli değildir. Aspirinin günde tek doz kullanılması önerilirken bazı yayınlar, günde tek doz aspirinin yetersiz kalabileceğini belirterek bölünmüş dozlarda aspirin kullanılmasını önermektedir (42). Yüksek riskli grupta olup arteriyel tromboz öyküsü olan hastalara ise sitoredüksiyona ek olarak günde çift doz aspirin tedavisi önerilmektedir (40). Orta riskli gruptaki hastalara ise günümüzde kardiyovasküler risk faktörleri olsun veya olmasın, sitoredüksiyon ve günde tek doz aspirin kombinasyon tedavisi verilmektedir. Orta riskli grupta olup kardiyovasküler risk faktörü bulunmayan hastalara, sadece günde çift doz aspirin tedavisi de düşünülebilir. Kardiyovasküler risk faktörü bulunmayan düşük riskli grupta ise günde tek doz veya çift doz aspirin tedavisi önerilirken, kardiyovasküler risk faktörleri bulunan düşük riskli grupta günde çift doz aspirin tedavisi önerilmektedir. Çok düşük riskli grupta olup kardiyovasküler riski de bulunmayan hastalar sadece izleme alınırken, kardiyovasküler risk faktörlerine sahip çok düşük riskli hastalara günde tek doz aspirin verilmektedir.

ET tedavisi sırasında, eş zamanlı olarak tüm hastalar sigarayı bırakmalı ve kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altına alınması hedeflenmelidir. Aspirin, tekrarlayan arteriyel tromboz riskini azaltarak kardiyovasküler risk faktörleri olan hastalara fayda sağlayabildiği gibi, ET'de sık görülen vazomotor semptomlar genellikle düşük doz aspirin (günde 40-100 mg/gün, günde 1-2 kere) ile kontrol altına alınabilmektedir (47-49). ET hastalarında sitoredüktif tedavi için ise ilk tercih edilecek ajan hidroksiüre olup, hidroksiüre intoleransı veya yanıtıslığı durumunda ikinci basamak tedavide INF- α veya busulfan verilebilir. Ancak 40 yaşın altındaki hastalarda hidrüksüreye alternatif INF- α ve hamilelerde ise sadece IFN- α önerilmektedir. Yapılan çalışmalarda hidroksiüre kullanımı olan yüksek riskli yaşlı hastalarda, tekrarlayan tromboz insidansının daha düşük olduğu gösterilmiştir (50). Ayrıca literatürde trombosit sayısının yeterli kontrolü ile

tromboz insidansının azaldığını gösteren çalışmalar mevcut olup hastalarda trombosit yüzdesi 100.000-400.000/microL olarak hedeflenmiştir (51).

2.1.3 Primer Miyelofibrozis

Primer Miyelofibrozis (PMF), miyeloid dizide neoplastik artış ile seyreden bir hastalık olup MPN'ler arasında en az rastlanılanıdır. Esas olarak orta ve ileri yaşlı erişkinlerde görülmektedir (52). PMF'de en sık başvuru şikayeti hastaların %50-70'inde meydana gelen şiddetli yorgunluktur. Splenomegaliye bağlı semptomlar hastaların %25-50'sinde görülürken diğer semptomlar arasında başlıca, kaşıntı, ateş, gece terlemesi, kilo kaybı, kemik ağrısı sayılabilir (52, 53).

PMF, MPN'ler arasında en kötü prognoza sahip hastalıktır. Hastalar, hastalık ilerlemesi, lösemik transformasyon, trombo-hemorajik komplikasyonlar ve enfeksiyonlar nedeniyle erken ölüm riski altındadır. Cervantes ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, lösemik dönüşüm PMF hastalarında en sık saptanan ölüm nedeni olup ölümlerin %17'sinin lösemik dönüşüm, %10'unun hastalığın kendisi, %7'sinin tromboz ve kardiyovasküler komplikasyonlar sebebiyle olduğu gösterilmiştir (54). Literatürde, PMF'de arteriyel ve venöz trombotik olay insidansının ET hastalarında görülenle yaklaşık olarak aynı, PV hastalarında görülen trombotik olaylardan ise belirgin düşük olduğu görülmüştür (55).

İtalyan Hematoloji Derneği, Dünya Sağlık Örgütü ve diğer birçok dernek tarafından tanı için kriterler önerilmiş olsa da PMF tanısı için "altın standart" yoktur (24, 56). DSÖ 2016 revizyonunda, prefibrotik PMF (pre-PMF) ve bariz-PMF için tanı kriterleri belirtilmiştir (Tablo 2.4) (18, 24, 57). Erken pre-PMF, ET'yi taklit edebileceği için tanısı zor olabilmektedir (24).

Tablo 2.4: Dünya Sağlık Örgütü Primer Miyelofibrozis Tanı Ölçütleri (2016)

Pre-PMF	Bariz-PMF
Majör Ölçütler	Majör Ölçütler
1. Yaşa göre hücreliliği artmış kemik iliği, granülositik proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoezin eşlik ettiği, grade 1'den fazla retikülin fibrozis** olmaksızın, megakaryositik proliferasyon ve atipi*	1. Retikülin ve/veya kollojen fibrozisin (grade 2-3) eşlik ettiği megakaryosit proliferasyon ve atipi*
2. BCR-ABL pozitif KML, PV, ET, MDS veya diğer miyeloid neoplaziler için WHO ölçütlerinin karşılanmaması	2. BCR-ABL pozitif KML, PV, ET, MDS veya diğer miyeloid neoplaziler için WHO ölçütlerinin karşılanmaması
3. JAK2, CALR veya MPL mutasyonlarının varlığı veya bu mutasyonların yokluğunda, diğer klonalite markerlarının*** varlığı veya minör reaktif kemik iliği retikülin fibrozis yokluğu	3. JAK2, CALR veya MPL mutasyonlarının varlığı veya bu mutasyonların yokluğunda, diğer klonalite markerlarının varlığın veya reaktif kemik iliği retikülin fibrozisi yokluğu
Minör Ölçütler	Minör Ölçütler
Aşağıdakilerden ≥ 1 'inin varlığı**** a. Ek bir hastalığa bağlanmayan anemi b. Palpabl splenomegali c. Lökositoz ($\geq 11\ 000/\mu\text{l}$) d. LDH yüksekliği	Aşağıdakilerden ≥ 1 'inin varlığı**** a. Ek bir hastalığa bağlanmayan anemi b. Palpabl splenomegali c. Lökositoz ($\geq 11\ 000/\mu\text{l}$) d. LDH yüksekliği e. Lökoeritroblastozis
Her ikisinin tanısı için, 3 majör ölçütün tamamı ve en az bir minör ölçüt gerekir. *Çekirdek/sitoplazma oranı bozuk, hiperkromatik, düzensiz büklümlü çekirdek, yoğun kümeleşmelerle kendini gösteren değişik çapta megakaryositler. **Grade 1 retikülin fibrozis olgularında, megakaryosit değişiklikleri, artmış hücresellik, granülositik proliferasyon ve sıklıkla azalmış eritropoez bulunmalıdır. ***ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1 ****İki ardışık çalışmada tespit edilmelidir.	

PMF hastalarının tedavisi sırasında, hastalar risklerine göre sınıflandırılarak tedavi planları yapılmaktadır. MIPSS70'in en son uyarlamasına dayanan MIPSS70+ v2.0 ve kullanımı daha kolay olan GIPSS skor sistemlerine göre hastalar sınıflandırılmakta ve tedavileri verilmektedir (58).

2.2 KRONİK MİYELOPROLİFERATİF NEOPLAZİLERDE

KOMPLİKASYONLAR

Kronik Miyeloproliferatif Neoplaziler, sekonder miyelo fibrozis ve nadiren lösemik transformasyon gelişimi ile karakterizedir (1). Bunun yanında; splanknik alan, serebral venler gibi beklenmedik bölgelerde venöz trombozlar ile arteriyel trombozlar ve kanamaya eğilim KMPN'lerin en yaygın komplikasyonlarıdır (59-61). ET ve PV hastalarında trombotik olayların kanama olaylarından daha fazla görüldüğü ve bildirilen arteriyel tromboz vakalarının, venöz tromboz vaka sayılarından daha fazla olduğu gösterilmiştir (62, 63). MPN'lerde trombozun patogenezi multifaktöryel olmakla birlikte, kan hücresi sayısında artış (lökositoz, eritrositoz ve trombositoz) ve JAK2 mutasyonunun varlığı ile yaş, geçirilmiş tromboz öyküsü, altta yatan hipertansiyon, hiperlipidemi, obezite, genetik yatkınlık, Faktör V Leiden ve protrombin gen mutasyonu varlığı, östrojen içerikli hormon replasman tedavisi ya da kombine oral kontraseptif kullanımı olması patogeneizde etkili bulunmuştur (61).

Miyeloproliferatif Neoplaziler ile ilişkili tromboz ile başvuran hastaların önemli bir ayırt edici özelliği de, hem arteriyel hem venöz trombozlar ile güçlü ilişkisi bulunan JAK2 V617F mutasyonunun varlığıdır. JAK2 V617F mutasyonu, PV hastalarının büyük çoğunluğunda; ET ve PMF hastalarının ise yaklaşık yarısından fazlasında bulunmaktadır. PV hastalarının kalan az bir kısmında JAK2 somatik mutasyonları saptanırken; MPL ekzon 10 mutasyonları, ET veya PMF hastalarının yaklaşık %5'inde saptanmıştır. JAK2 veya MPL mutasyonu olmayan ET ve PMF'lerde ise CALR mutasyonu gösterilmiştir (64). Rumi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 1235 adet ardışık ET veya PV tanısı alan hastaların tromboz insidansı ile JAK2 mutasyonu bulunan ET veya PV tanılı hastaların tromboz insidansı karşılaştırılmış ve benzer görülmüştür (sırasıyla %7,1 ve %10,5) ve yine bu hastalarda tromboz insidansı, CALR mutasyonu bulunan ET hastalarının tromboz insidansının (%2,8) iki katı saptanmıştır. Çalışmada, JAK2 ekzon 12 ve MPL mutasyonları ile ilişkili tromboz insidansı, bu mutasyonları taşıyan az sayıda hasta olması nedeniyle değerlendirilememiştir (65).

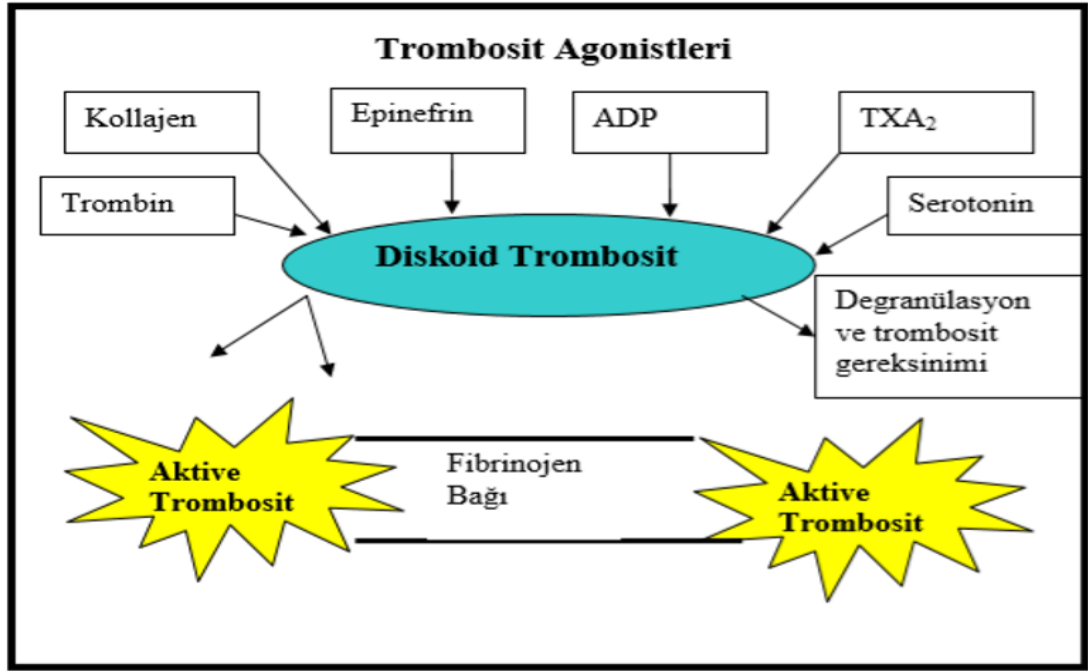
“The European Collaboration on low-dose aspirin” (ECLAP) çalışması, bugüne kadar PV ile ilgili yapılan en büyük epidemiyolojik çalışma olup, PV’deki ölümlerin %41’inden trombozun sorumlu olduğu ve bu ölümlerin de %37’sinin koroner kalp hastalığı, %19’unun konjestif kalp yetmezliği, %19’unun hemorajik olmayan inme ve %8’inin pulmoner emboli sebebiyle olduğu gösterilmiştir (66). Bu insidansın, genel popülasyonda görülen majör venöz tromboemboli (VTE) sıklığı olan % 0,1-0,2’den oldukça yüksek olduğu görülmektedir (67, 68). ECLAP çalışmasında; yaş ≥ 65 olması ve geçirilmiş tromboz öyküsü varlığı, kardiyovasküler olay gelişiminde en etkin prediktif faktörler olarak görülmüş ve aynı zamanda lökositozun ($>15 \times 10^9/L$) miyokard infarktüsü riskini arttırdığı saptanmıştır. Kardiyovasküler olaylar, kötü hematokrit kontrolü olan ve lökositozu kontrol altına alınamayan ($>11 \times 10^9/L$ olarak kalan) PV hastalarında daha sık görülmüştür. Ancak trombosit sayısının PV hastalarında trombotik risk ile ilişkisi saptanamamış olup, çok yüksek trombosit değerlerinin ($\geq 1500 \times 10^9/L$) ise edinsel von Willebrand Faktör (vWF) hastalığı sebepli oluşan kanama ile ilişkisi gösterilmiştir (68). Trombosit sayısının sitoredüksiyon ile kontrol altına alınmasının, trombozsuz sağ kalımı azaltıp azaltmadığı net olmayıp, bazı çalışmalarda trombosit sayılarının normalleştirilmesinin hemorajik olay riskini azaltabileceği gösterilmiştir (69). Farklı sitoredüktif tedavilerin trombotik olaylardaki önemli farklılıklar ile ilişkili olmadığı gözlenirken, çıkarılabilecek en önemli sonuç aspirinin trombotik olaylara karşı önemli bir koruma sağladığının görülmesidir (33, 70).

Krink Miyeloproliferatif Neoplazilerde tromboz ve kanama komplikasyonları göz önüne alındığında, vasküler olayların önlenmesi için önerilen aspirin tedavisi sırasında dikkatli olunması gerektiği ortadadır (69). Aspirinin faydası PV hastalarında net gösterilmiş olmasına rağmen, ET hastalarında bu konuda kesin olmayan bulgular mevcuttur (71). De Stefano ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, anti-platelet tedavi ile trombotik riskin azalmadığı, hatta düşük riskli CALR mutasyonlu ET hastalarında kanama riskini büyük oranda artırdığı bildirmiştir (72). Aspirin tedavisi primer ve sekonder koruma amaçlı önerilse bile, ideal doz konusunda günümüzde hala soru işaretleri mevcuttur (69). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda; günde tek doz verilen düşük doz aspirin tedavisi yerine, günde çift doz verilen düşük doz aspirin

tedavi rejiminin, daha başarılı COX-1 enzim inhibisyonu yaptığı TXA2'nin serum ve idrar metabolitleri ile gösterilmiştir (73).

2.3 TROMBOSİTLER VE TROMBOSİT AGREGASYON MEKANİZMASI

Trombositler, megakaryositlerin sitoplazmasından oluşan, çapı 2-4 µm, hacmi 5-8 fl olan bikonveks, çekirdeksiz hücreler olup, hemostazın ilk evresi olan primer hemostazdan sorumludur (74). Dolaşımdaki ömrü 9-10 gün olan her bir trombosit, normalde vasküler endotel altındaki bağ dokusu matrisi ile karşılaşmaz, ancak vasküler bütünlüğün bozulması halinde trombositler kolajen fibrillere maruz kalır. Kolajen ve trombosit etkileşimi hem trombosit adezyonu için bir yüzey sağlar, hem de trombosit aktivasyonu için uyaran görevi görür. Sonuçta TXA2 ve ADP dolaşıma salgılanır. Serbest kalan TXA2 ve ADP, diğer trombositleri de uyararak onların da aktive olmalarını, ilave TXA2 ve ADP salgılanmasını sağlarlar. Aktive trombositler aynı zamanda, trombosit integrin glikoprotein IIb/IIIa aracılığıyla fibrinojene doğrudan bağlanırlar. Aynı anda iki glikoprotein IIb/IIIa reseptörünü bağlayabilen fibrinojen iki trombosit arasında bir bağlantı olarak işlev görür ve bu trombosit-fibrinojen-trombosit bağlantısı, trombosit agregasyonu sürecini başlatır (Şekil 2.1). Son olarak çapraz bağlı fibrin pıhtısı, büyüyen trombosit agregatını stabilize eder (74-76). Kolajen, ADP ve TXA2'ye ek olarak diğer agonistler de bütünlüğü bozulmuş endotel bölgelerinde trombositleri aktive ederler. Doku faktörü, lokal pıhtılaşmayı ve trombosit agonistlerinden olan trombinin oluşumunu teşvik etmek için faktör VIIa ile etkileşime girer. Trombositler, trombin oluşumunu hızlandıran prokoagülan fosfolipidleri sağlayarak bu durumu kolaylaştırır (77).



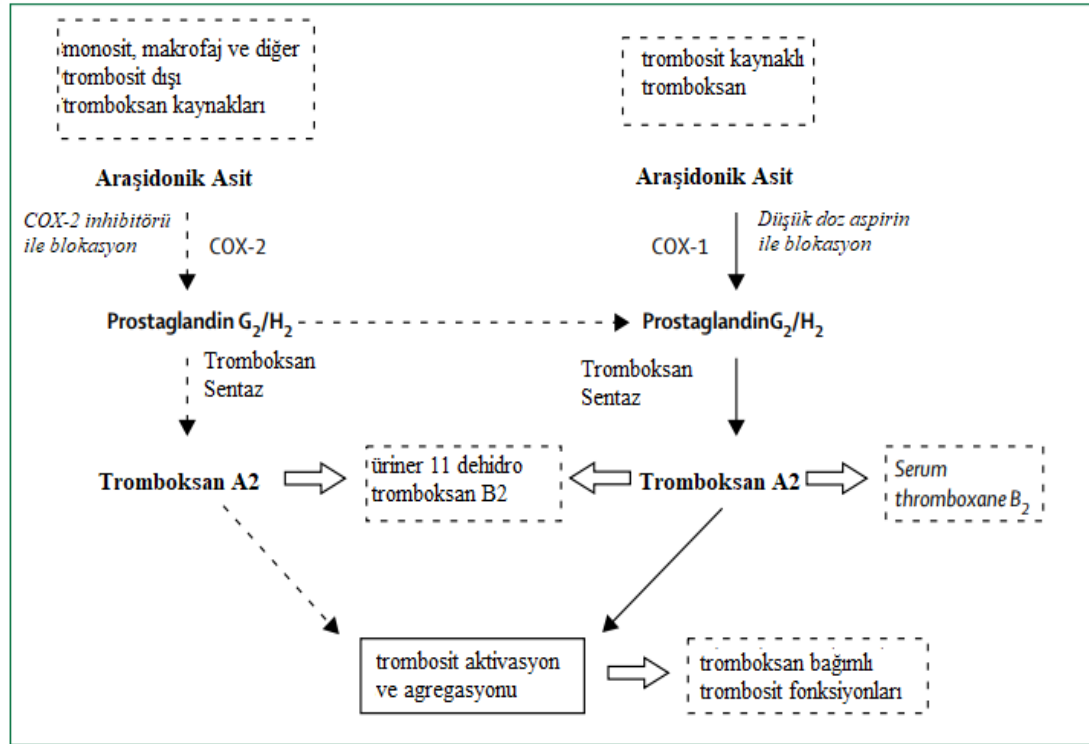
Şekil 2.1: Trombosit Agregasyonu ve Trombosit Agonistleri

Trombin, ADP, epinefrin ve TXA2 dahil olmak üzere çoğu trombosit agonisti, trombosit hücre yüzeyindeki reseptörleri uyarır. TXA2, diğer trombositleri de tromboksan reseptörü yoluyla aktive eder, yani ADP gibi diğer trombositlerin uyarılmasına yardımcı olur. Lokal olarak etkili olan bu durum, TXA2'nin kısa yarı ömrü ile sınırlı kalır. Trombosit kaynaklı TXA2, aspirine duyarlı siklooksijenaz-1 (COX-1) yolu ile trombositlerde araşidonik asitten (AA) üretilir ve bu yol, non-selektif COX inhibitörleri dışında seçici, güçlü ve irreversibl olarak aspirin tarafından inhibe edilir (78).

2.4 ASİRİN VE ETKİ MEKANİZMASI

Aspirin (asetilsalisilik asit), anti-inflamatuar, analjezik, antipiretik ve anti-trombotik aktiviteleri olan sentetik salisilik asit türevi bir ilaçtır. Mide ve ince bağırsağın üst kısımlarında hızla emilir ve karaciğerde metabolize edilerek idrarla atılır. Aspirinin yarı ömrü 20 dakikadır, ancak COX-1'i kalıcı olarak inhibe ettiği göz önüne alınırsa anti-trombosit etkisi dolaşımdaki trombositlerin ömrü olan 9-10 gün boyunca devam eder.

Trombositlerdeki araşidonik asit, COX-1 ve tromboksan sentaz tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile TXA2'ye dönüştürülür (Şekil 2.2). Aspirin, COX-1'i irreversibl olarak asetile ederek trombositler tarafından üretilen TXA2'yi azaltır ve böylece trombositlerin aktivasyonunu azaltmış olur. Aspirinin sağladığı ve trombositlerin ömrü boyunca kalıcı olan bu COX-1 inhibisyonu, hızlı başlangıçlı bir etkiye sahiptir (79, 80). Günde tek ve düşük doz alınan aspirin (0,45 mg/kg), yaklaşık 5 gün içerisinde en az %95 oranında serum tromboksan B2 (TXB2: TXA2'nin stabil bir metaboliti) oluşumunu baskılar ve bu baskılanma uzun süreli günlük aspirin kullanımı ile korunur (81). Aspirinin trombositlerde COX-1 inhibisyonu yaptığı, serum TXB2 ve idrar TXB2 metabolitlerinin ölçümleri yoluyla keşfedilmiştir (82-84).



Şekil 2.2: Tromboksan Üretim Yolağı ve Aspirin Etki Mekanizması

2.5 ASPIRİN DİRENCİ VE ASPIRİN DİRENCİ ÖLÇÜM TEKNİKLERİ

Aspirin, trombositlerde COX-1 inhibisyonu yaparak TXA2 üretimini baskılamakta, dolayısıyla trombositleri inhibe etmektedir. Ancak her hasta, aspirin tedavisine etkili bir şekilde cevap verememektedir. Aspirin tedavisi altında hastaların yeni trombotik lezyonlar geliştirmesi “klinik aspirin direnci” olarak tanımlanırken, aspirinin trombosit kaynaklı TXA2 üretimini veya trombosit fonksiyon testlerini inhibe edememesi “laboratuvar aspirin direnci” olarak tarif edilmiştir. Bu durum gündeme ilk geldiğinde aspirin direnci olarak nitelendirilse de, günümüzde “aspirin yanıtısızlığı” olarak adlandırılmaktadır. Aspirin etkisizliğinin sebepleri arasında vasküler patolojiler olduğu kadar, aspirinin beklenen etkisini gösterememesi de sayılmakta olup günümüzde aspirin direnci in vitro olarak tespit edilmeye çalışılmaktadır. Laboratuvar olarak tespit edilen aspirin direnci prevalansının %5,5 ile %61 arasında değişmekte olduğu tahmin edilmektedir, ancak bu tahminler çalışmalardaki küçük örneklem boyutları, çalışılan hastaların farklı yaş, cinsiyet, etnik kökünde oluşu, aspirin direncinin farklı tanımları ve farklı trombosit fonksiyon testleri arasındaki uyumsuzluklar sebebiyle tam güvenilir değildir (78). Literatürde Diyabetes Mellitus tanılı hastalarda aspirin etkinliğinin azaldığını gösteren çalışmalar mevcut olup, aspirin direnci prevalansının bu hasta grubunda %10 ile %40 arasında değişmekte olduğu görülmüştür. Diyabetli hastalarda azalmış olan zayıf aspirin yanıtının sebebini gösteren mekanizmalar net değildir; ancak yüksek kan glukoz seviyeleri sebebiyle glikasyona uğrayan trombosit proteinlerinin asetilasyon için daha az erişilebilir hale gelmesinin aspirin direncinden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (85). Çeşitli kardiyovasküler hastalığı bulunan hastalarda ise farklı laboratuvar yöntemleri ile %5,5 ile %45 arası değişen oranlarda bir aspirin direnci prevalansı bildirilmiş olup, stabil koroner arter hastalığı olan ≥ 7 gündür 325 mg/gün aspirin kullanmakta olan 325 hastadan oluşan bir kohortta, deneklerin %5,5'inde optik agregometri ile, %9,5'inde PFA-100 (Platelet Function Analyser-100) ile aspirin direnci saptanmıştır (86). Literatürde inme öyküsü olan hastalarda da aspirin direnci araştırıldığı görülmüş ve inme öyküsü olan 180 hastadan oluşan bir kohortta, hastaların % 33'ünün aspirine yanıtısız olduğu gösterilmiştir (87).

Kronik Miyeloproliferatif Neoplazilerde ise artmış trombosit turnover ve aşırı trombosit üretimi sebebiyle aspirin yanıtı azlığı olduğu düşünülmektedir. 20 dakika olan kısa yarı ömür süresi nedeniyle, 24 saat aralıklarla alınan iki aspirin alımı arasında üretilen fazla sayıda trombositin, aspirine maruz kalamayıp inhibe olamadığı düşünülmektedir. Bu aktif trombositlere naif trombositler denilmekte olup KMPN hastalarında çok sayıda trombosit üretilmekte ve çok sayıda trombosit naif kalmaktadır (88). Ajzenberg ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada KMPN tanılı 75 mg/gün aspirin ile tedavi edilen 53 hastanın 12'sinde (%23'ünde), KMPN tanılı 100 mg/gün aspirin ile tedavi edilen 24 hastanın 2'sinde (%8'inde) aspirin direnci tespit edilmiştir. 75 mg/gün aspirin tedavisi altında direnç saptanan 12 hastanın 8'inin aspirin dozu 100 mg'a çıkarılarak 7 günlük tedavi sonrası tekrar test edildiğinde 8'inde de direncin önüne geçilebildiği gözlenmiştir. Başlangıçta 100 mg/gün aspirin tedavisi altında direnç saptanan 2 hastada ise, dozu 160 mg/gün'e çıkarmakla herhangi bir değişiklik elde edilemezken, bu grupta günde 2 defa 75'er mg dozlama stratejisiyle direncin üstesinden gelindiği gözlenmiştir (89). İki aspirin alımı arasında üretilen, aspirin etkisine maruz kalamayan bu aktif ve naif trombositler, KMPN'lerdeki aspirin direnci mekanizmasını açıklamakta olup direncinin üstesinden gelmek için günde iki kez aspirin alımını öneren birçok çalışma mevcuttur (73, 88, 90, 91). Bu konu günümüzde hala geniş bir çalışma alanı bulamamış ve otoriteler tarafından daha sık gündeme getirilmektedir.

Literatürde ayrıca aspirin direncinin, aşırı trombosit üretiminden veya farmakokinetik sorunlardan kaynaklanmayıp aspirinin anti-trombosit fonksiyonunun inhibe olması dolayısıyla da (örneğin, COX mutasyonları) görülebileceği belirtilmektedir (92). Aspirin direncinin potansiyel nedenleri arasında; yetersiz doz, ilaç etkileşimleri, COX-1'in ve TX biyosentezinde yer alan diğer genlerin genetik polimorfizmleri, trombosit turnoverinin artması, trombosit dışı TX biyosentez yolağında değişiklikler sayılabilir (78). Ayrıca hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi varlığı ve sigara içiciliğinin de aspirin direncine sebep olduğu düşünülmektedir (93, 94). Bazı non-steroidal anti-inflamatuar (NSAİ) ilaçlar ise, aspirinin COX-1'e bağlanmasını engelleyerek aspirin cevapsızlığına yol açmaktadır (95). Ayrıca selektif serotonin re-uptake inhibitörlerinin (SSRI) artan kanama riski ile ilişkili olduğu düşünülmekte ve

SSRI'ların, trombosit aktivatörlerinden biri olan serotoninin trombositlere alımını inhibe edebileceği ve trombosit agregasyonunu etkileyebilecek serotonin konsantrasyonlarını azaltabileceği gösterilmiştir (96-98). Labos ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada akut miyokard enfarktüsü sonrası aspirin veya ikili anti-platelet tedavi ile birlikte SSRI alan hastalarda kanama riskinin arttığı; Oka ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da, SSRI ve NSAİ kombinasyonunun üst gastrointestinal sistem kanama riski ile belirgin ilişkisi olduğu saptanmıştır (99, 100).

2.5.1 Aspirin Direnci Ölçüm Teknikleri

Aspirin direnci, TXA2 üretiminin veya bu üretime dayanarak trombosit fonksiyonlarının ölçümü ile tespit edilebilir. TXA2 üretimi, serumda (veya plazmada) TXB2 ve idrarda 11-dehidro TXB2 gibi, TXA2'nin kararlı metabolitlerinin ölçümü ile belirlenebilir (101). Trombosit kaynaklı TXA2'nin üretimine bağlı trombosit fonksiyon testleri arasında, agonist kaynaklı ışık transmisyon agregometri (Light Transmission Aggregometry: LTA) veya optik agregometri (trombositten zengin plazmada türbidimetrik agregometri), elektriksel empedans agregometri (tam kan trombosit agregometri) ve yarı otomatik trombosit agregometri (örneğin; Platelet Function Analyser: PFA-100, VerifyNow [Ultegra Rapid Platelet Function Assay: RPFA]) sayılabilir. Kanama zamanı ölçümü ise, yüksek oranda yapan kişiye bağımlı, in vivo bir trombosit fonksiyon testidir (78).

Işık Transmisyon Agregometri (Light Transmission Aggregometry: LTA); çeşitli zar reseptörlerini ve sinyal yollarını aktive eden farklı agonistlere trombosit cevabını inceleyen tarihsel olarak altın standart kabul edilen testtir. Trombositlerin bir trombosit süspansiyonu yoluyla TXA2, ADP veya kolajen gibi bir agonist tarafından agregate oldukları sırada, ışık transmisyonundaki artışı ölçer. Bir trombosit agregometresi, trombosit agregasyonuna bağlı ışık iletimindeki artış yoluyla agregasyon hızının ve derecesinin in vitro olarak ölçülmesine olanak tanır ve bu da numune bulanıklığında bir azalmaya neden olur. Trombositlerin aktivasyonu, trombosit granül içeriğinin açığa çıkmasını ve TXA2 oluşumunu indükleyerek agregasyon sürecini agree eder. Araşidonik asit (AA), kolajen ve TRAP-6 (trombin reseptör aktivatör peptid-6) gibi agonistler, tek bir geri dönüşümsüz

agregasyon dalgasıyla sonuçlanan büyük bir cevap oluşumunu indükler. ADP ve epinefrin gibi zayıf agonistler ise iki aşamalı bir cevap oluştururlar. Agonist içeriği, trombosit granül içeriğinin serbest bırakılmasını ve TXA2 oluşumunu sağlamak için yeterince yüksek ise, ilk geri dönüşümlü dalga gelirden sonra ikinci bir geri dönüşümsüz dalga gelir (102). Bu yöntemde, aspirinin etkilerini araştırmak için kullanılan TXA2'nin öncüsü olan araşidonik asitin, TX üretimi ile ilişkisi düşük olan ADP ve kolajen gibi agregasyon indükatörlerinden daha uygun bir trombosit agonisti olduğu düşünülmektedir (78, 103).

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, kontrollü, prospektif, kan ve idrar gibi biyokimya materyalleri ile yapılmış kesitsel ve deneysel bir araştırmadır. Çalışmaya, KMPN tanısı almış ve aspirin kullanmakta olan gönüllü hastalar ile kontrol grubu olarak aspirin kullanan ancak KMPN tanısı olmayan gönüllüler alınmıştır. Çalışmanın süresi, hasta ve kontrol gruplarının toplanabilmesi için 6 ay olarak belirlenmiş olup, çalışmaya dahil edilme ve dışlanma kriterlerine göre hasta ve kontrol grupları oluşturulmuştur. Aspirin etkinliği ve direncinin belirlenmesine yönelik, serum TXB2 ve idrar 11-dehidro TXB2 düzeylerinin ölçümü ile ışık transmisyon agregometride agregasyon testlerinin çalışılması planlanmıştır.

Aspirin etkinliği ve direncinin belirlenmesine yönelik planlanan testler için gerekli ödeneğin sağlanabilmesi amacıyla İstanbul Medeniyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)'ne başvurulmuştur. Proje No: T-UZM-2019-1568 olan proje, BAP birimi tarafından 18/10/2019 tarihinde yürürlüğe girmiş olup, serum TXB2 ve idrar 11-dehidro TXB2 düzeylerinin ölçümü için gerekli ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) kitleri ile agonist kaynaklı ışık transmisyon agregometri cihazında kullanılmak üzere ADP ve Araşidonik Asit kitlerinin satın alımı BAP birimi tarafından yapılmıştır. İmmatür trombosit fraksiyonunu (IPF) belirlemek amacıyla ise "Auto Hematology Analyzer" cihazında hemogram çalışılması, hastanemizin biyokimya laboratuvarında yapılmış ve kitlerin alımı hibe yoluyla yapılmıştır.

Çalışma için İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu (tarih: 22 Mayıs 2019, karar no:

2019/0230) onayı alınmış olup çalışma süresince Helsinki Deklarasyonu prensiplerine uyulmuştur.

3.1 ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLME KRİTERLERİ

Çalışmaya, 18-80 yaş aralığında bulunan, en az 2 hafta süreyle 100 mg/gün aspirin kullanan, glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ≥ 30 ml/dk, trombosit sayısı $\geq 150.000/\text{mm}^3$, Hb ≥ 10 gr/dL olan gönüllüler alındı.

3.2 ÇALIŞMADAN DIŞLANMA KRİTERLERİ

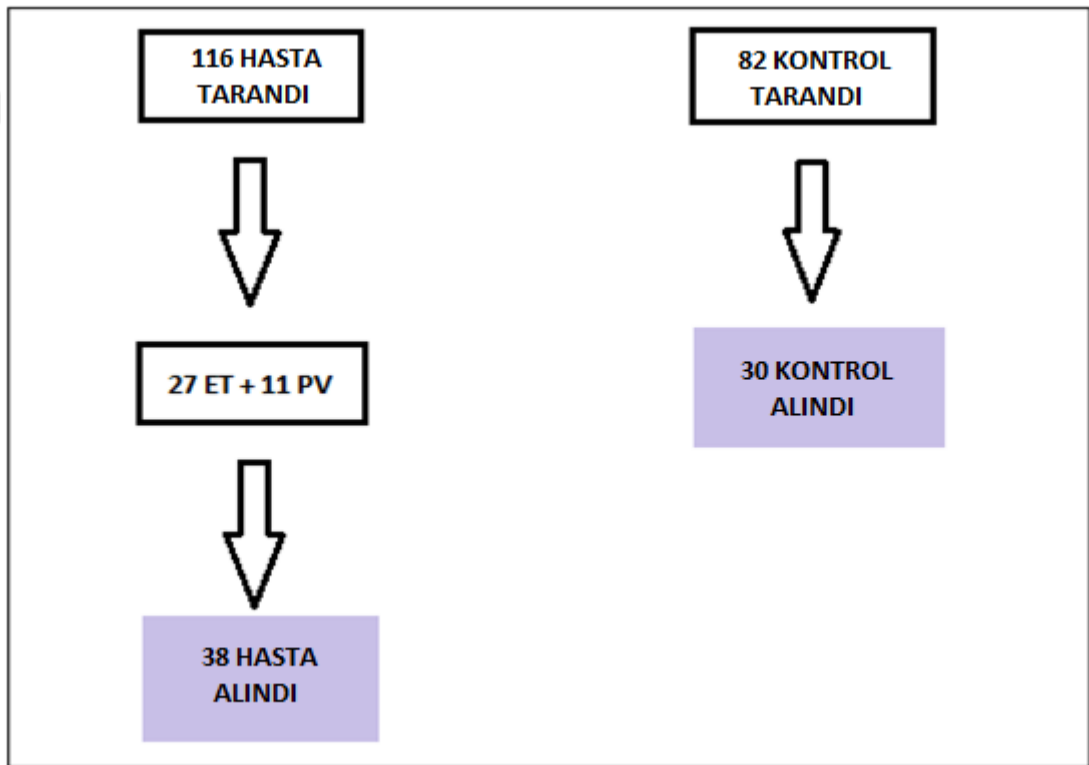
Çalışmaya katılım oluru vermeyen, gebe olan, son 7 gün içerisinde NSAİ ilaç, SSRI ya da ek antiagregan/antikoagülan kullanımı olan, kronik karaciğer hastalığı bulunan, glomerüler filtrasyon hızı < 30 ml/dk olan, aspirin 81 mg/gün ya da 150 mg/gün ya da 300 mg /gün kullanan hastalar çalışmadan çıkarıldı.

3.3 ÇALIŞMANIN DİZAYNI

Hasta grubunu belirlemek için, 01.10.2019 ile 01.07.2020 tarihleri arasında İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları ve/veya Hematoloji poliklinik başvuruları olan hastalara ek olarak daha önceden Hematoloji poliklinik başvuruları olan hastalar, hastane otomasyon sistemi (Nucleus Medikal Bilgi Sistemi) üzerinden tarandı. ET veya PV tanısı olan 116 hasta arasından, çalışmaya katılım oluru veren ve çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan 11 PV, 27 ET olmak üzere toplam 38 KMPN tanılı hasta çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak ise, 01.10.2019 ile 01.07.2020 tarihleri arasında İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları ve/veya Kardiyoloji poliklinik başvuruları olan hastalara ek olarak daha önceden İç Hastalıkları poliklinik başvuruları olan hastalar hastane otomasyon sistemi (Nucleus Medikal Bilgi Sistemi) üzerinden tarandı. 18-80 yaş aralığında bulunan, aspirin kullanan ancak KMPN tanısı olmayan 82 hasta değerlendirildi. Çalışmaya katılım oluru veren ve çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan 30 hasta, kontrol grubu olarak belirlendi (Şekil 3.1).

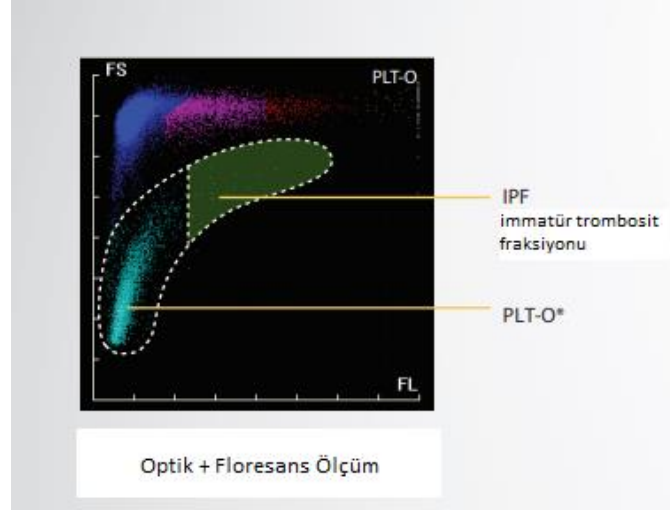
Çalışmanın süresi, hasta ve kontrol gruplarının toplanabilmesi için 6 ay olarak belirlenmişti, ancak araya giren Covid-19 pandemisi sebebiyle çalışma

9 aylık bir sürede gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen gönüllülerin, demografik verileri, komorbiditeleri, tedavi özellikleri, sigara, alkol ve ilaç alışkanlıkları ile mevcut olan biyokimyasal, hematolojik, patolojik verilerinin kayıt altına alınması, aydınlatılmış onam belgelerinin imzalatılması ve bir örneklerinin kendilerine teslim edilmesi, fizik muayenelerinin yapılması, antropometrik ölçülerinin (boy, kilo) alınması ve aspirin etkinliği/direncinin belirlenmesine yönelik serum TXB2, idrar 11-dehidro TXB2 düzeylerinin ölçümü ile ışık transmisyon agregometride agregasyon testlerinin çalışılması için hastaneye bir kere gelmeleri istendi.



Şekil 3.1: Değerlendirilen ve Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar

Çalışma için bütün numuneler, hastalar günlük 100 mg aspirin ilaçlarını almadan hemen önce toplandı. İmmatür trombosit fraksiyonunu (IPF: Immature Platelet Fraction) belirlemek amacıyla “Mindray BC-6800 Auto Hematology Analyzer” cihazında hemogram sayımı yapıldı. Floresans boyama sayesinde mikrositik, parçalanmış eritrositlerden ve büyük trombositlerden kaynaklanan parazitlerden bağımsız bir trombosit sonucu elde edildi (Şekil 3.2). Cihazda PLT-O* sayma modu kullanılarak trombosit sayısal sonucu otomatik olarak düzeltildi (104).



Şekil 3.2: Mindray BC-6800 Auto Hematology Analyzer Cihazında IPF

Işık Transmisyon Agregometride (LTA) (Şekil 3.3) AA ve ADP olmak üzere trombosit agonistlerine trombosit cevabını incelemek amacıyla kan numuneleri, hastalar günlük 100 mg aspirin ilaçlarını almadan hemen önce toplandı. Örneklerin hazırlanması sırasında trombosit aktivasyonundan kaçınmak için; kan numuneleri alımını takiben 18-25°C'de saklandı, alınan kan numunelerinin kan alımını takiben bir saat içerisinde hazırlanmasına dikkat edildi, numuneler %3,2 (0,109 M) trisodyum sitrat tüpünde örneklendirildi (9 hacim kan için 1 hacim sitrat) ve örnek, 4-5 defa yavaş ve tam tersine çevrilerek çalkalamadan homojenize edildi. Trombositten zengin plazma (PRP: platelet-rich plasma) elde etmek amacıyla tam kan, 200 g'de frensiz 18-25°C'de 10 dakika santrifüj edildi. PRP'de kırmızı kan hücreleri veya hemoliz olup olmadığını kontrol edildi. Hücre peletine dokunmadan elde edilen PRP yavaşça geri çekilerek önceden tanımlanmış bir tüpe (PRP) aktarılarak tüp kapatıldı. Trombositten fakir plazma (PPP: platelet-poor plasma) elde etmek amacıyla hücre peleti, 2000-2500 g'de 18-25°C'de 10 dakika santrifüj edildi. PPP'de hemoliz olup olmadığı kontrol edildi. Hücre peletine dokunmadan elde edilen PPP geri çekilerek daha önceden tanımlanmış bir tüpe (PPP) aktarılarak tüp kapatıldı. Örnekler 18-25°C'de saklandı ve test prosedürlerine başlamadan önce 30 dakika bekletildi. PRP'nin trombosit sayısı $500 \times 10^9/L$ 'yi aşarsa PRP, $300 \times 10^9/L$ otolog PPP kullanılarak yeniden düzenlendi. Tüm testler, kan alımını takip eden 3 saat içerisinde yapıldı. Bu sırada agregometre, 37°C'ye önceden ısıtıldı. PRP

kullanarak %0 ve otolog PPP kullanarak %100 agregatlar oluşturulup agregometre için önerilen hacimlerde pipetlendi. Gerekli miktarda reaktif (seyreltilmiş veya seyreltilmemiş) doğrudan PRP'ye ilave edildi (daha öncesinde 37°C'de 3-5 dakika inkübe edildi ve 1 hacim reaktif için 9 hacim PRP oranı korundu. Reaktifin kap duvarlarına temas etmemesine dikkat edildi. Reaktifleri seyreltmek için %0,9 Sodyum Klorür çözeltisi kullanıldı. Toplanan örneklerde agregasyon profili 5-10 dakika süreyle kaydedildi. Sonuçlar, agregasyon eğrisi, amplitüd (maksimum agregasyon yüzdesi), hız (birim zaman başına agregasyon yüzdesi) ve gecikme süresi (reaktif eklenmesi ile agregasyon başlangıcı arasındaki süre) ile yorumlandı. En önemli parametreler agregasyon eğrisinin amplitüdü ve agregasyon görünümü olarak belirlendi (102).

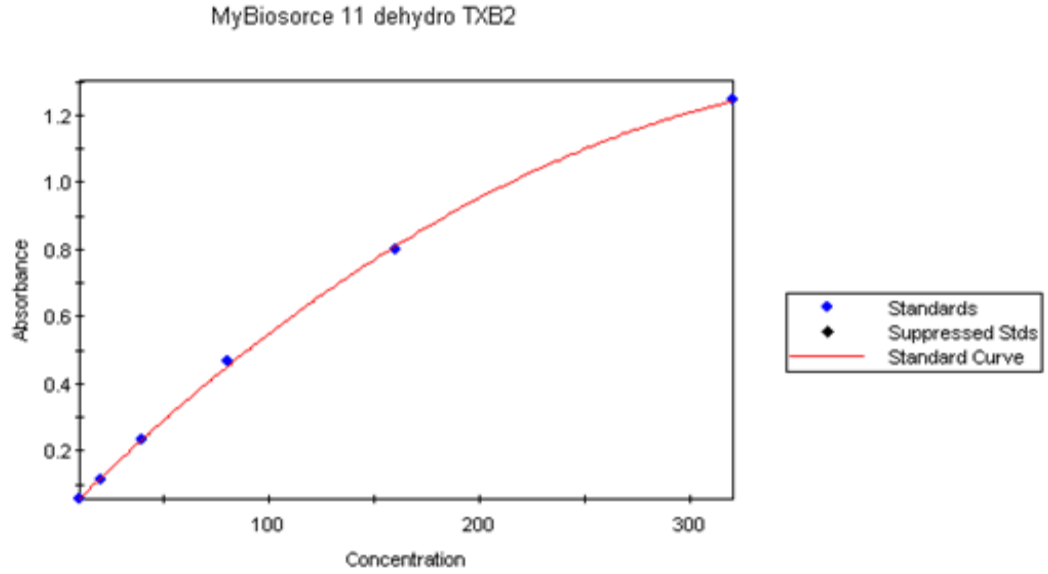


Şekil 3.3: Işık Transmisyon Agregometri (LTA)

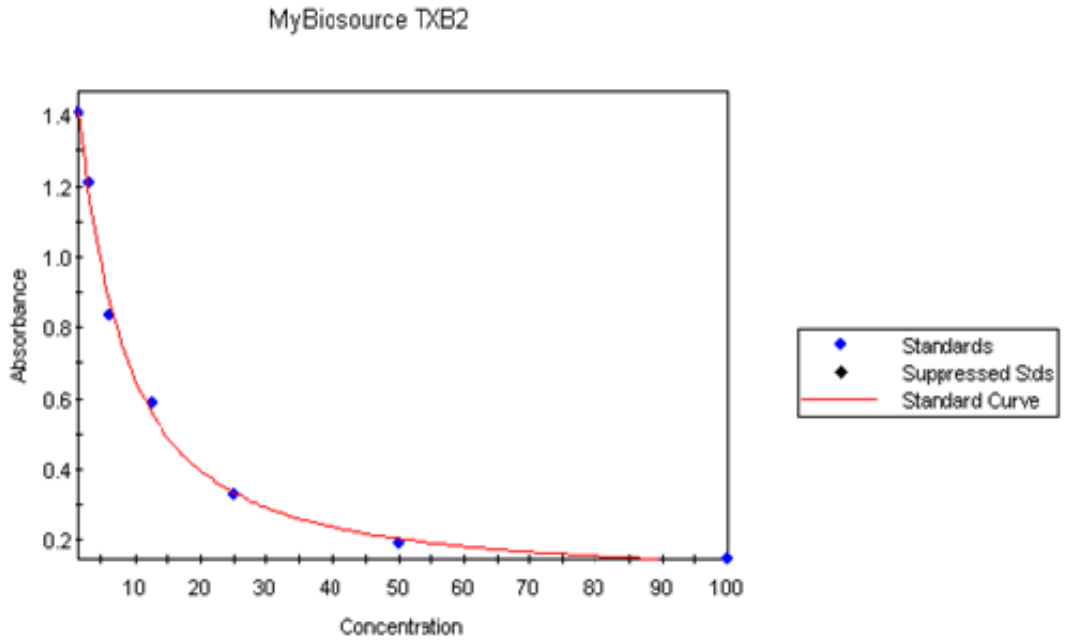
İdrarda 11-dehidro TXB2 düzeyini belirlemek amacıyla, günlük 100 mg aspirin ilaçlarını almadan hemen önce steril tüp ile toplanan idrar numuneleri -80°C'de, 6 ay içerisinde kullanılmak üzere saklandı. Teste başlamadan önce numuneler oda sıcaklığına getirildi ve 2000-3000 RPM'de (Revolutions Per Minute) yaklaşık 20 dakika santrifüj edildi. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Deney, oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Test için kullanılacak şeritler çerçevelere yerleştirildi. Standart kuyucuğa 50µl standart eklendi (Standart çözelti biyotinile antikor içerdiğinden, standart kuyucuğa antikor eklenmedi). Örnek kuyucuklarına 40µl numune ve sonra numuneye 10µl anti 11-dehidro TXB2 antikor eklendi. Daha sonra numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50µl streptavidin-HRP (horseradish peroxidase) eklendi. Karıştırıldıktan sonra plaka bir sızdırmazlık maddesi ile kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Sızdırmazlık çıkarıldıktan sonra plaka yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Her kuyucuğa 50µl substrat solüsyonu A ve sonra her kuyucuğa 50µl substrat solüsyonu B eklendi. Yeni bir sızdırmazlık maddesi ile kaplı plaka, karanlıkta 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Sonrasında kuyucuklara 50µl durdurma solüsyonu eklenmesiyle, mavi renk sarıya dönüştü. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisi ilave edilip sona erdirildi. Asidik durdurma çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içerisinde optik dansite (absorbans), 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanılarak ölçüldü (105). Dikey (Y) eksenindeki her standart için ortalama optik dansiteyi, yatay (X) eksenindeki konsantrasyona göre çizerek standart bir eğri oluşturuldu (Şekil 3.4).

Serum TXB2 düzeyini belirlemek amacıyla da, toplanan kan numuneleri 6 ay içerisinde kullanılmak üzere -80°C'de saklandı. Önceden kaplanmış plaka üzerinde standart, test numuneleri ve kontrol (boş) kuyucukları ayarlanarak konumları kaydedildi. Her kuyucuğa 50µl Standart veya Numune, sonrasında her kuyucuğa 50µl Biyotin etiketli antikor eklendi. Karıştırıldıktan sonra 37°C'de 45 dakika inkübe edildi. Sonrasında plaka, yıkama tamponu ile 3 defa yıkandı. Yıkama tamponunun, kuyucuklarda her seferinde 1 dakika kalmasına dikkat edildi. Son yıkamadan sonra, aspire edilerek yıkama tamponu çıkarıldı. Her kuyucuğa 100µl SABC çalışma solüsyonu (HRP-Streptavidin Conjugate) eklenip yeni bir plaka mühürleyici

ile kaplandı, 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra plaka 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı (106). Dikey (Y) eksenindeki her standart için ortalama optik dansiteyi, yatay (X) eksenindeki konsantrasyona göre çizerek standart bir eğri oluşturuldu (Şekil 3.5).



Şekil 3.4: Çalışmanın 11-dehidro TXB2 Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 3.4: Çalışmanın 11-dehidro TXB2 Kalibrasyon Eğrisi

Çalışmamızda, aspirin etkinliği ve direncinin belirlenmesinde serum TXB2, idrar 11-dehidro TXB2 düzeyleri ölçümü ile LTA yöntemlerini kullandık. Daha önceki çalışmaları referans alınarak LTA-AA ile rezidü trombosit agregasyonu >%20 ve/veya LTA-ADP ile rezidü trombosit agregasyonu >%50 olan hastaları aspirin dirençli olarak kabul ettik (86, 107-110).

3.1 İSTATİSTİK

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınanmıştır. Normal dağılım gösteren nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student-t testi, normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann-Whitney U test kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test ve Fisher's exact test kullanıldı. Nicel değişkenler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon analizi ve Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Parametreler için kestirim değeri belirlemede tanı tarama testleri (duyarlılık, özgüllük, PKD, NKD) ve ROC analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

Duyarlılık (Sensitivity): Gerçek hastalar içinden testin hastaları belirleyebilme özelliğidir.

Özgüllük (Specificity): Gerçek sağlamlar içinden testin sağlamları belirleyebilme özelliğidir.

Pozitif Kestirim Değeri: Test pozitif (hasta) sonucu verdiği zaman, olgunun gerçekten hasta olması durumunun koşullu olasılığının ölçüsüdür.

Negatif Kestirim Değeri: Test negatif (sağlam) sonucu verdiği zaman, olgunun gerçekten sağlıklı olma olasılığıdır.

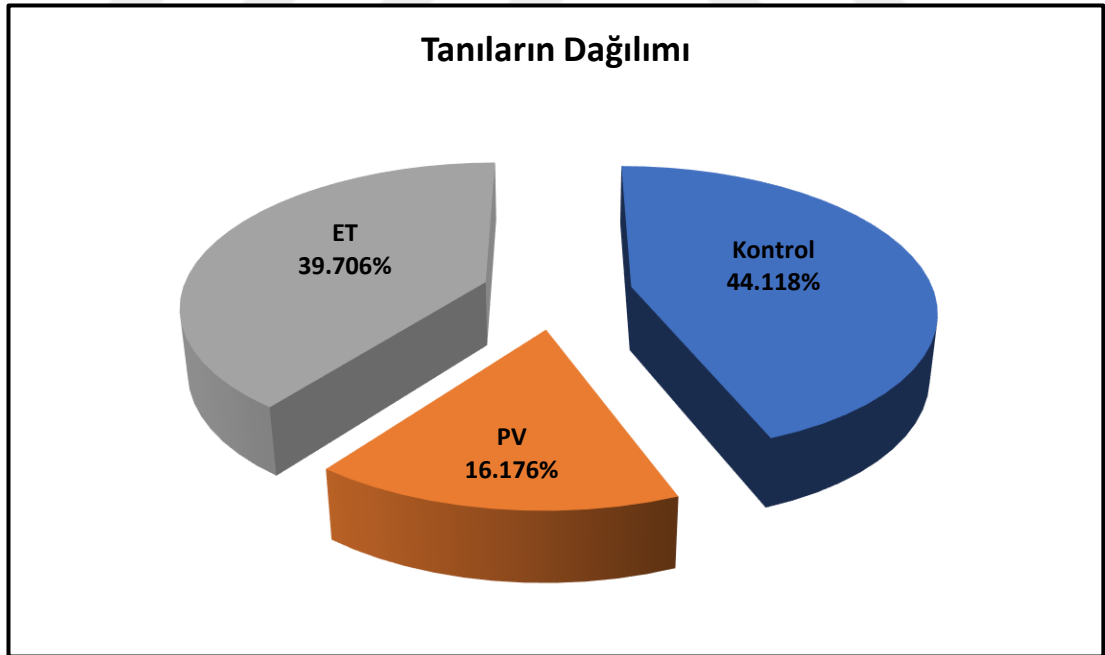
Evans, J. D. (1996). Straightforward statistics for the behavioral sciences. Pacific Grove, CA: Brooks/Cole Publishing

r	Yorum
0.00 — 0.19	Çok Zayıf
0.20 — 0.39	Zayıf
0.40 — 0.59	Orta
0.60 — 0.79	Güçlü
0.80 — 1.00	Çok Güçlü

Serum TXB2 için; Kohen etki büyüklüğü 0.63 olarak bulundu. Post hoc güç analizinde; α hata 0.05 iken 40 adet hasta ve 35 adet kontrol verisi kullanıldığında, çalışmanın istatistiksel gücü %85.3 olarak hesaplandı (G*Power 3.1.9.4).

BULGULAR

Çalışma; 01.10.2019 ile 01.07.2020 tarihleri arasında, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde, %50'si (n=34) kadın ve %50'si (n=34) erkek toplam 68 olguyla yapılmıştır. Çalışmaya katılan olguların yaşları 30 ile 76 arasında değişmekte olup, ortalama $54,27 \pm 11,05$ yaş olarak saptanmıştır. Olguların %44,1'i (n=30) KMPN tanısı olmayıp, 100 mg/gün aspirin kullanırken, %16,2'sinin (n=11) tanısının Polisitemia Vera, %39,7'sinin (n=27) tanısının Esansiyel Trombosemi olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Tanılara Göre Dağılımlar

Tablo 4.1: Gruplara Göre Tanımlayıcı Özelliklerin Değerlendirilmesi

		Grup		P
		Kontrol	Hasta	
Yaş	Min-Maks (Medyan) Ort±Ss	33-72 (54,5) 54,03±10,80	30-76 (57) 54,45±11,39	^a 0,879
Cinsiyet	Kadın Erkek	16 (53,3) 14 (46,7)	18 (47,4) 20 (52,6)	^b 0,625
BMI	Min-Maks (Medyan) Ort±Ss	20,2-39,9 (29,4) 29,31±5,05	21,4-39,7 (27,6) 28,43±5,27	^a 0,493
Sigara Kullanımı	Yok Var	23 (76,7) 7 (23,3)	30 (78,9) 8 (21,1)	^b 0,822
Alkol Kullanımı	Yok Var	23 (76,7) 7 (23,3)	33 (86,8) 5 (13,2)	^b 0,274
Hipertansiyon	Yok Var	9 (30,0) 21 (70,0)	19 (50,0) 19 (50,0)	^b 0,096
Diyabet	Yok Var	12 (40,0) 18 (60,0)	28 (73,7) 10 (26,3)	^b 0,005**
Hiperlipidemi	Yok Var	9 (30,0) 21 (70,0)	33 (86,8) 5 (13,2)	^b 0,001**
Splenomegali	Yok Var	30 (100,0) 0 (0,0)	27 (71,1) 11 (28,9)	^c 0,002**
IPF (%)	Min-Maks (Medyan) Ort±Ss	2,2-22,7 (3,95) 5,59±4,92	0,9-15,2 (3,8) 4,36±3,30	^a 0,173
IPF mutlak değer	Min-Maks (Medyan) Ort±Ss	271-5175 (945) 1208±984	328-5432 (1789) 1967±1208	^a 0,008**

^aStudent-t Test
Whitney U Test

^bPearson Chi-Square test
**p<0,01

^cFisher's Exact Test ^dMann

Gruplara göre olguların yaşları, cinsiyet dağılımları, BMI ölçümleri, sigara ve alkol kullanım oranları ve hipertansiyon görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05). Hasta grubu olgularda diyabet ve hiperlipidemi görülme oranları, kontrol grubu olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır (p=0,001). Hasta grubu olguların IPF mutlak değer ölçümleri ise, kontrol grubu olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,008) (Tablo 4.1).

Olguların %63,6'sında JAK2 pozitifliği, %27,9'unda hidrokşiüre, %1,5'inde thromboreductin, %1,5'inde (n=1) interferon kullanımı olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı

JAK2	Negatif	12 (36,4)
	Pozitif	21 (63,6)
JAK2 Ekzon 12	Negatif	1 (100,0)
	Pozitif	0 (0,0)
CALR	Negatif	2 (50,0)
	Pozitif	2 (50,0)
MPL	Negatif	4 (100,0)
	Pozitif	0 (0,0)
Hidroksiüre		19 (27,9)
Thromboreductin		1 (1,5)
İnterferon		1 (1,5)

Çalışmaya katılan olguların biyokimya sonuçlarının dağılımları Tablo 4.3'te görülmektedir.

Tablo 4.3: Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı

Kreatinin	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	0,56-2,22 (0,81)
	<i>Ort±Ss</i>	0,88±0,24
GFR	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	30,1-116,56 (88,15)
	<i>Ort±Ss</i>	88±17,24
CRP	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	0,1-3,11 (0,2)
	<i>Ort±Ss</i>	0,5±0,67
Sedimentasyon	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	2-60 (11)
	<i>Ort±Ss</i>	14,97±12,63
LDH	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	105-644 (206,5)
	<i>Ort±Ss</i>	224,48±83,63
	Normal	36 (58,1)
	Yüksek	24 (38,7)
HbA1c	Bakılmamış	25 (36,8)
	5-7	28 (41,2)
	7-9	11 (16,2)
	>9	4 (5,9)
Lökosit (WBC)	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	4,24-15,86 (7,37)
	<i>Ort±Ss</i>	7,66±2,44
Nötrofil	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	2,17-10,86 (4,4)
	<i>Ort±Ss</i>	4,81±1,94
Lenfosit	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	0,97-4,97 (2,04)
	<i>Ort±Ss</i>	2,17±0,78
Monosit	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	0,2-0,91 (0,39)
	<i>Ort±Ss</i>	0,44±0,16
Hb	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	10,3-18,7 (14,3)
	<i>Ort±Ss</i>	14,36±1,65
MCV	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	65,2-134,1 (90,15)
	<i>Ort±Ss</i>	92,78±12,06
PLT	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	151-1055 (288,5)
	<i>Ort±Ss</i>	384,44±206,69
MPV	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	6,6-13,4 (9,65)
	<i>Ort±Ss</i>	9,86±1,23
IPF (%)	<i>Min-Maks (Medyan)</i>	0,9-22,7 (3,8)
	<i>Ort±Ss</i>	4,78±3,92

Tablo 4.4: Gruplara Göre Aspirin Etkinlik Durumlarının Değerlendirilmesi

		Grup		p
		Kontrol	Hasta	
TXB2	Min-Maks (Medyan)	9,2-35,7 (17,8)	14,0-64,5 (23,0)	^a0,003**
	Ort±Ss	19,78±6,96	25,35±8,57	
11-dehidro TXB2	Min-Maks (Medyan)	57,7-154,9 (99,9)	32-149,7 (107,5)	^a0,450
	Ort±Ss	102,30±23,13	106,56±22,78	

^aStudent-t Test^dMann Whitney U Test

**p<0,01

Tablo 4.4'te görüldüğü gibi, hasta grubu olguların TXB2 ölçümleri, kontrol grubu olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,003).

Ayrıca hasta grubunun LTA-ADP değerleri [4,1-156,4 (33,4)] ile kontrol grubunun LTA-ADP değerleri [15,0-58,6 (34,8)] arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamışken (p=0,513), hasta grubunun LTA-AA değeri [1,2-84,8 (5,6)], kontrol grubuna göre [2,9-15,6 (8,3)] istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır (p=0,024). LTA yöntemi ile yapılan agregasyon testlerinde, gruplar arasında aspirin direnci açısından fark saptanmamıştır (p=0,528).

Tablo 4.5: Tanılara Göre Aspirin Etkinlik Durumlarının Değerlendirilmesi

		Tanılar		p
		PV (n=11)	ET (n=27)	
TXB2	Min-Maks (Medyan)	14,0-38,9 (23,51)	17,5-64,5 (22,6)	^a0,760
	Ort±Ss	24,19±6,27	25,82±9,42	
11-dehidro TXB2	Min-Maks (Medyan)	88,6-146,2 (103,8)	32,0-149,7 (107,9)	^a0,676
	Ort±Ss	111,50±18,36	104,55±24,38	

^cFisher's Exact Test^dMann Whitney U Test

Tanılara göre olguların TXB2 ve 11-dehidro TXB2 ölçümlerinin, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği görülmüştür (p>0,05) (Tablo 4.5).

Tablo 4.6: JAK2 Varlığına Göre Aspirin Etkinlik Durumlarının Değerlendirilmesi

		JAK-2		p
		Negatif (n=12)	Pozitif (n=21)	
TXB2	<i>Min-Maks</i>	17,75-34,94 (25,59)	14,02-38,89 (22,99)	^a0,574
	<i>(Medyan)</i>			
	<i>Ort±Ss</i>	25,67±6,64	23,37±5,05	
11-dehidro TXB2	<i>Min-Maks</i>	32,03-120,57	56,24-146,21	^a0,410
	<i>(Medyan)</i>	(107,46)	(103,85)	
	<i>Ort±Ss</i>	98,03±24,18	108,16±20,92	

^cFisher's Exact Test ^dMann Whitney U Test

JAK-2 varlığına göre olguların TXB2 ve 11-dehidro TXB2 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.7: JAK2 Varlığına Göre Değerlendirmeler

	Yaş	IPF mutlak değeri	MPV	TXB2	Hidroksiüre kullanımı
JAK2 varlığı	0,459	0,776	0,732	0,344	0,041*

Spearman's rho korelasyon analizi * $p<0,05$

Çalışmaya katılan olguların JAK2 değeri ile yaş ($p=0,459$), IPF mutlak değeri ($p=0,776$), MPV ($p=0,732$) ve TXB2 ($p=0,344$) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır; ancak olguların JAK2 değeri ile hidroksiüre kullanım oranları ($p=0,041$) arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Tablo 4.7).

Tablo 4.8: Hidroksiüre Kullanımına Göre Değerlendirmeler

	Yaş	IPF mutlak değeri	MPV
Hidroksiüre Kullanımı	0,004**	-0,000**	-0,016*

Spearman's rho korelasyon analizi * $p<0,05$ ** $p<0,01$

Hidroksiüre kullanımı ile hastaların yaşları arasında pozitif yönlü istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,004$) bir ilişki saptanmıştır. Çalışmaya katılan olguların hidroksiüre kullanım oranları ile IPF mutlak değeri ($p=-0,000$) ve MPV değerinin ($p=-0,016$) azaldığı yönünde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.9: Yaş, IPF Mutlak Değeri, MPV ve TXB2 Değeri Korelasyonları

	IPF mutlak değeri	Yaş	TXB2
MPV	0,00**	-0,016*	0,229
IPF mutlak değeri	1	-0,011*	0,271
<i>Pearson korelasyon analizi</i> * $p<0,05$ ** $p<0,01$			

Hastaların IPF mutlak değeri arttıkça MPV değerinin de arttığı ($p=0,00$) görülmüş olup, yaş ile IPF mutlak değeri ($p=0,011$) ve yaş ile MPV değeri ($p=0,016$) arasında negatif yönlü (gençlerde MPV ve IPF yüksek) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. IPF mutlak değeri ile serum TXB2 düzeyi arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (Tablo 4.9).

Tablo 4.10: Hastalar Grubunda Aspirin Etkinliği ve Tromboz Öyküsüne İlişkin Değerlendirmeler

		Tromboz öyküsü	TXB2
Yaş	r	0,038	0,080
	p	0,819	0,631
LDH	r	0,000	0,235
	p	1,000	0,155
WBC	r	-0,085	0,016
	p	0,610	0,924
Nötrofil/Lenfosit	r	0,094	0,106
	p	0,574	0,525
Monosit/Lenfosit	r	0,324	0,012
	p	0,047*	0,921

Spearman's rho korelasyon analizi * $p<0,05$

Tablo 4.10'da görüldüğü gibi, hasta grubunda tromboz öyküsü varlığı ile Monosit/Lenfosit oranları arasında 0,047 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.11: Tüm gruptaki Nötrofil/Lenfosit ile Aspirin Etkinliğine İlişkin Değerlendirmeler

		TXB2	11 Dehidro TXB2
Nötrofil/Lenfosit	r	0,251	0,222
	p	0,039*	0,069

^er=Spearman's Korelasyon Katsayısı^fr=Pearson Korelasyon Katsayısı

*p<0,05

Tablo 4.11'de görüldüğü gibi, hasta ve kontrol gruplarının tamamında bakılan, aspirin etkinliğinin bir göstergesi olan TXB2 ölçümleri ile Nötrofil/Lenfosit oranları arasında ise pozitif yönlü 0,251 düzeyinde (p=0,039) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

Tablo 4.12: Hasta Grubunda Tromboz Hikayesine Göre Karşılaştırmalar

Hasta Grubu		Tromboz Hikayesi		
		Negatif	Pozitif	p
Hidroksiüre	Almayan	16 (53,3)	3 (37,5)	^c0,693
	Alan	14 (46,7)	5 (62,5)	
WBC	<i>Min-Maks</i>	4,8-15,9 (7,4)	4,3-13,6 (7,5)	^d0,604
	<i>(Medyan)</i>			
	<i>Ort±Ss</i>	8,07±2,71	7,63±3,19	
PLT	<i>Min-Maks</i>	199-880 (457,5)	215-1055	^d0,747
	<i>(Medyan)</i>		(531,5)	
	<i>Ort±Ss</i>	486,03±178,09	551,38±322,31	
JAK-2	Negatif	8 (32,0)	4 (50,0)	^c0,420
	Pozitif	17 (68,0)	4 (50,0)	
CALR	Negatif	1 (50,0)	1 (50,0)	^c1,000
	Pozitif	1 (50,0)	1 (50,0)	

^cFisher's Exact Test^dMann Whitney U Test

Hasta grubunda tromboz hikayesine göre olgularda hidroksiüre kullanma oranları, WBC ve PLT ölçümleri, JAK2 ve CALR mutasyonları görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.12).

Tablo 4.13: ET Grubu Olgularda Tromboz Hikayesine Göre Karşılaştırmalar

		Tromboz Hikayesi		p
		Negatif (n=20)	Pozitif (n=7)	
ADP	<i>Min-Maks</i>	4,1-74,6 (32,3)	10,2-83,0 (24,4)	^a0,439
	<i>(Medyan)</i>			
	<i>Ort±Ss</i>	35,40±16,61	32,86±25,08	
Araşidonik Asit	<i>Min-Maks</i>	1,2-12,3 (5,5)	1,96-84,8 (3,01)	^a0,268
	<i>(Medyan)</i>			
	<i>Ort±Ss</i>	5,76±2,64	15,22±30,75	
TXB2	<i>Min-Maks</i>	17,5-64,5 (21,97)	21,1-34,9 (28,6)	^a0,031*
	<i>(Medyan)</i>			
	<i>Ort±Ss</i>	24,80±10,35	28,74±5,63	
11-dehidro TXB2	<i>Min-Maks</i>	56,2-149,7 (112,2)	32,0-125,3 (100,1)	^a0,224
	<i>(Medyan)</i>			
	<i>Ort±Ss</i>	108,78±20,98	92,46±30,83	

^aMann Whitney U Test

*p<0,05

Tromboz hikayesi olan ET grubu olguların TXB2 değeri, tromboz hikayesi olmayan ET grubu olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,031) (Tablo 4.13).

Tablo 4.14'te görüldüğü üzere; sigara kullanımına, hipertansiyon ve diyabet varlığına, hidroksiüre kullanımına, tromboz varlığına göre olguların LTA-ADP, LTA-AA, TXB2 ve 11-dehidro TXB2 ölçümleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiyorken (p>0,05), hiperlipidemi görülen olguların LTA-AA değeri, hiperlipidemi olmayan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,037).

Tablo 4.14: Aspirin Direncine İlişkin Değerlendirmeler

			ADP	Araşidonik Asit	TXB2	11-dehidro TXB2
Sigara kullanımı	Yok	Min-Maks (Medyan)	8,5-156,4 (34,4)	1,2-84,8 (5,9)	9,2-64,5 (22,4)	32-154,9 (106,4)
		Ort±Ss	37,2±22,68	8,09±11,36	23,36±8,66	106,68±23,32
	Var	Min-Maks (Medyan)	4,1-60,3 (29,3)	2,5-81,7 (6,7)	10,8-35,7 (21,9)	56,2-125,3 (101,1)
		Ort±Ss	31,31±14,92	12,3±19,4	21,24±7,05	97,63±20,32
		p	^a0,492	^a0,232	^a0,442	^a0,178
DM	Yok	Min-Maks (Medyan)	4,1-156,4 (35,1)	1,2-84,8 (6,3)	10,8-64,5 (22)	56,2-154,9 (103,2)
		Ort±Ss	38,5±24,79	10,34±17,2	23,22±9,39	105±23,77
	Var	Min-Maks (Medyan)	10,2-74,6 (31,6)	2,8-15,6 (6,1)	9,2-34,9 (22,7)	32-139,7 (107,1)
		Ort±Ss	32,19±14,46	7,11±3,65	22,42±6,66	104,24±21,92
		p	^a0,232	^a0,975	^a0,876	^a0,894
HT	Yok	Min-Maks (Medyan)	4,1-156,4 (33,6)	1,2-11,2 (5,7)	13,2-64,5 (22,2)	57,7-154,9 (102,6)
		Ort±Ss	36,11±27,42	6,01±2,49	24,56±10,43	105,44±24,17
	Var	Min-Maks (Medyan)	10,2-83 (33,4)	2,2-84,8 (6,3)	9,2-34,9 (22,7)	32-146,2 (104)
		Ort±Ss	35,75±15,99	11,21±17,35	21,72±6,35	104,15±22,2
		p	^a0,699	^a0,122	^a0,583	^a0,821
HL	Yok	Min-Maks (Medyan)	4,1-156,4 (32,7)	1,2-84,8 (5,6)	9,2-64,5 (22,9)	59,9-154,9 (107,5)
		Ort±Ss	37,49±25,49	9,54±16,88	24,15±9,04	109,09±21,19
	Var	Min-Maks (Medyan)	10,2-56,6 (34,4)	2,5-15,6 (8,5)	10,8-34,9 (20,4)	32-131 (99,9)
		Ort±Ss	33,33±11,59	8,18±3,76	20,86±6,7	97,57±24,07
		p	^a0,990	^a0,037*	^a0,105	^a0,043*
Hidroksiüre	Yok	Min-Maks (Medyan)	4,1-74,6 (32,6)	1,2-81,7 (6,6)	9,2-64,5 (21,9)	32-154,9 (101,3)
		Ort±Ss	33,02±14,31	8,52±11,32	22,6±9,22	103,02±23,22
	Var	Min-Maks (Medyan)	12,6-156,4 (33,7)	2,4-84,8 (5,6)	14-34,6 (23,4)	56,2-146,2 (107,9)
		Ort±Ss	43,33±32,48	10,33±18,24	23,63±5,54	108,97±21,92
		p	^a0,416	^a0,621	^a0,265	^a0,340
Tromboz Varlığı	Yok	Min-Maks (Medyan)	4,1-74,6 (33)	1,2-81,7 (6,1)	10,8-64,5 (22,4)	56,2-149,7 (105,1)
		Ort±Ss	34,68±15,03	8,44±11,37	23,21±8,70	106,97±20,69
	Var	Min-Maks (Medyan)	10,2-156,4 (34,5)	1,96-84,8 (5,9)	9,2-34,9 (22,6)	32,03-154,9 (101,1)
		Ort±Ss	38,63±31,35	10,44±17,85	22,17±7,57	99,57±26,96
		p	^a0,796	^a0,701	^a0,873	^a0,220

^aStudent-t Test ^aMann Whitney U Test ^er=Spearman's Korelasyon Katsayısı

fr=Pearson Korelasyon Katsayısı *p<0,0

TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1 TARTIŞMA

Laboratuvar yöntemlerle tespit edilen aspirin direnci prevalansının %5.5 ile %61 arasında değişmekte olduğu ve bu prevalansın çalışmalardaki küçük örneklem boyutları, çalışılan hastaların farklı yaş, cinsiyet, etnik kökünde oluşu, aspirin direncinin farklı tanımları ve farklı trombosit fonksiyon testleri arasındaki uyumsuzluklar sebebiyle tam güvenilir olmadığı görülmektedir (78). Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grupları, yaş ve cinsiyet olarak eşit dağılımdaydı. Fakat aspirin kullanım endikasyonları gereği, kontrol grubumuzda hiperlipidemi ve diyabet görülme oranları anlamlı ölçüde yüksekti. Çalışmamızda hasta grubunun IPF mutlak değerini 328-5432 (1789), kontrol grubunun IPF mutlak değerini 271-5175 (945) tespit ettik. Hasta grubunun IPF mutlak değerini, kontrol grubu olgulara göre anlamlı düzeyde ($p=0,008$) yüksek saptadık. Çalışmamızda, hidroksiüre kullanan hastaların daha ileri yaşta olduğunu ($p=0,004$) ve hidroksiüre kullanımı olan hastaların IPF mutlak değerleri ($p=0,000$) ile MPV değerlerinin ($p=0,016$) daha düşük olduğunu saptadık. Bu anlamlı ilişkinin, hidroksiüre kullanım endikasyonlarından birinin ileri yaş olması ile alakalı olduğunu düşündük. JAK2 varlığında, hidroksiüre kullanım oranının istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek ($p=0,041$) olduğunu gördük. JAK2 varlığı ile IPF mutlak değeri arasında anlamlı bir ilişki saptayamadık ($p=0,753$). Değerlendirilen hasta grubunda, JAK2 mutasyonu varlığı ile tromboz öyküsü arasında direkt bir korelasyon istatistiksel olarak gösterilemedi. JAK2 varlığı ile tromboz öyküsü ilişkisinin, literatürün aksine gösterilememesinin nedenini ise, örneklem boyutunun çalışmanın başında bu tip bir değerlendirme için belirlenmemesine ve hasta sayısının bu ilişkiyi göstermek için yetersiz oluşuna bağladık. Sitoredüktif etkisi nedeniyle hidroksiürenin,

IPF mutlak değerini daha iyi kontrol altına alabildiği sonucuna vardık. MPV değeri de, IPF mutlak değeri ile korele olduğundan, benzer ilişkinin hidroksiüre ve MPV arasında da olduğunu gördük. Yani genç hastaların genellikle “düşük riskli” olarak değerlendirildikleri için, hidroksiüre tedavisi almadıklarını, bu sebeple MPV ve IPF mutlak değerlerinin gençlerde daha yüksek saptandığını düşündük. Hastaların yaşları ile IPF ($p=-0,011$) ve MPV ($p=-0,016$) değerleri arasında negatif yönlü istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmış olup, gençlerdeki IPF mutlak değerlerinin yüksek oluşunun, aspirin direncini etkileyen faktörlerden biri olabileceğini düşündük. Ayrıca tromboz öyküsü ile arasında bir korelasyon olduğunu daha önceden bildiğimiz MPV (111) değerinin, günlük pratikte IPF ölçümü her zaman mümkün olmayacağı için, immatür trombosit fraksiyonu hakkında fikir vermesi adına yol gösterici olabileceği görüşüne vardık. Çalışmamızda hastaların IPF mutlak değeri ile MPV değerinin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) düzeyde ilişkili olduğu göz önünde bulundurulursa, genç hastalardaki yüksek MPV değerlerinin artmış tromboz riskini de göstermesi sebebiyle, aspirinin bölünmüş dozlarda verilmesinin değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz (73). Bunun yanı sıra aspirin direncini etkileyebilecek önemli bir faktör olduğu düşünülen IPF mutlak değeri artışının, aspirin etkinlik göstergesi olan serum TXB2 düzeyi ile arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamasıyla ($p=0,271$) birlikte, hasta [14,0-64,5 (23,0) pg/mL] ve kontrol [9,2-35,7 (17,8) pg/mL] gruplarının TXB2 düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptandı ($p=0,003$). Bu sonuç, aspirinin KMPN hasta grubunda TXA2'yi inhibe etme üzerine etkinliğinin KMPN tanısı olmayan popülasyona göre daha zayıf olduğunu göstermektedir. Serum TXB2 düzeyinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek çıkması, fakat bu benzer etkinin idrar 11-dehidro TXB2 ($p=0,450$) üzerinde görülmemesinin nedeni ise, serum TXB2'nin çok kısa yarılanma ömrüne sahip olması nedeniyle daha çok anlık TXA2 aktivitesini göstermesi ve idrar 11-dehidro TXB2'nin ise daha çok gün içerisindeki dönemlik TXA2 aktivitesi ile ilişkili olması olabilir. Bu nedenle hasta ve kontrol grubunda idrar 11-dehidro TXB2 düzeylerinin benzer olması ile serum TXB2 düzeylerinin hasta grubunda daha yüksek olması; intrinsek aspirin direncinin değil, artmış trombosit üretimine sekonder yanıtızlığın, IPF dışındaki indirekt göstergesidir.

Çalışmamızda ayrıca, olguların serum TXB2 ölçümleri ile Nötrofil/Lenfosit oranları arasındaki $p=0,039$ düzeyindeki ilişki anlamlı bulundu. Günlük pratiğimizde aspirin etkinliğini belirlemek amacıyla her zaman serum TXB2 düzeyi ölçümü mümkün olamayacağı için, serum TXB2 düzeyi ile pozitif yönde korele saptadığımız Nötrofil/Lenfosit oranını hesaplayarak da, aspirin etkinliği hakkında fikir sahibi olabileceğimizi düşündük. Tromboz öyküsü olan ve olmayan ET grubu olguların serum TXB2 düzeylerine baktığımızda ise, tromboz öyküsü olan ET grubu olguların TXB2 değerini, tromboz hikayesi olmayan ET grubu olgularinkine göre anlamlı düzeyde yüksek saptadık ($p=0,031$). Gelişebilecek trombotik komplikasyonların bu derece önemli olduğu KMPN tanılı hastalardan tromboz öyküsü olan alt grupta bakılan Monosit/Lenfosit oranının ise, istatistiksel olarak anlamlı ölçüde ($p=0,047$) tromboz öyküsü ile korele olduğu gözlemlendi. Hastaların trombotik komplikasyonların gelişimi yönünden takibinde Monosit/Lenfosit oranının prognostik bir gösterge olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda LTA yöntemi ile aspirin direncini değerlendirdiğimizde; hasta grubunda 6, kontrol grubunda ise 4 hastada direnç tespit ettik. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olmaması, kontrol grubunun hipertansiyon ve diyabet gibi hastalıkları bulunan, aspirin direnci beklenen bir hasta grubu olmasından kaynaklanmaktaydı. Çalışmamızda aspirin direnci tespit ettiğimiz hastaların sonuçları takip eden doktorları ile paylaşıldı. İki hastada tedavi rejiminin değiştirildiği öğrenildi. 45 yaşındaki ET tanılı, tromboz öyküsü olan hastanın başlangıçta LTA-ADP: %83,04 ve LTA-AA: %84,80 olup, TXB2: 25,94 pg/mL, idrar 11-dehidro TXB2: 100,06 ng/mL olarak görülmüştü. Aspirin tedavisinin, 12 saat aralıkla 100'er mg olarak yeniden düzenlendiği tarafımıza bildirildi. 5 ay sonra bakılan LTA-ADP'nin %12,9'a, LTA-AA'nın %3,51'e ve TXB2 düzeyinin 24,82 pg/mL'ye gerilemiş olduğu, idrar 11-dehidro TXB2 düzeyinin ise 114,60 ng/mL olduğu görüldü. Aspirin direnci tespit ettiğimiz diğer bir PV tanılı erkek hasta ise 59 yaşında, tromboz öyküsü olmayan bir hasta idi. Hastanın başlangıçta LTA-ADP: %60,25 ve LTA-AA: %81,65 saptanırken, serum TXB2: 23,51 pg/mL, idrar 11-dehidro TXB2: 102,79 ng/mL olarak bulunmuştu. Aspirin tedavi rejiminin 300 mg/gün olarak yeniden düzenlenmesinden 5 ay sonra bakılan tetkiklerinde LTA-ADP'nin %13,14'e, LTA-AA'nın %4,68'e ve idrar 11-dehidro

TXB2 düzeyinin 81,78 ng/mL'ye gerilediği, serum TXB2 düzeyinin ise 23,96 pg/mL saptandığı görüldü. Aspirin direnci saptayıp tedavi rejimi değiştirilen bu 2 hastanın birinde sadece günlük aspirin dozu artışı yoluyla, diğerinde ise doz aralıklarını kısaltma yöntemi ve dolayısıyla günlük aspirin dozu artışı da yaparak direnci aşma yönünde aspirin tedavisi optimize edilmeye çalışıldı. Her iki hastada da LTA'da bakılan agregasyon profiline göre agregasyonun inhibe edildiğine dair sonuçlar elde edildi. Aspirin doz aralıklarını kısaltmanın bu sonuca ulaşmada etkisi olduğu düşünülse de, doz aralıkları değiştirilmeden, sadece doz artışı yoluyla da istenen sonuçlara ulaşılabileceği görüldü.

5.3 TEZİN KISITLILIKLARI

Günümüzde LTA yöntemi ile aspirin direnci araştırılmasının gerek teknik zorlukları, gerek bu yöntemin çok spesifik olmadığına dair tartışmalar olması nedeniyle bu alanda sadece aspirin yanıtını değerlendirmek için yeni yöntemler oluşturulmaya çalışılmaktadır. LTA yöntemi, trombosit fonksiyon bozukluklarını tespit etme üzerine geliştirilmiş olup trombozu predikte etme veya ilaç etkinliğini değerlendirme yönünde standardize edilmiş bir test değildir. LTA yöntemi altın standart test olarak düşünülmekteydi; fakat günümüzde altın standart değil, referans test olarak kabul edilmektedir. Daha önceki çalışmalarda da LTA yönteminin aspirin yanıtını tespit etmede sensitivitesinin düşük, spesifitesinin yüksek olduğu bildirilmiştir (110). Verifynow yöntemi ile aspirin yanıtı değerlendirilmesinin daha uygun olacağını belirten çalışmalar literatürde mevcuttur (107). Biz de aspirin yanıtını değerlendirmek için standart bir test olmamasına karşın, bu alanda sıklıkla kullanılmış olan LTA yöntemi ile serum ve idrarda TXA2 metabolitlerinin ölçülmesi yöntemlerini kullandık. Sonuçlarımızın ise, Verifynow ve multiplate ASPI agregasyon testi ile doğrulanmasının faydalı olabileceğini düşündük. Ayrıca çalışmamızda aspirin etki mekanizmasını etkileyebilecek ya da aspirin direnci saptama oranımızı değiştirebilecek birçok etkeni ortadan kaldırmak amacıyla, aspirinin COX-1'e bağlanmasını engelleyerek aspirin cevapsızlığına yol açtığı düşünülen NSAİ ilaçları ve trombosit aktivatörlerinden biri olan serotoninin trombositlere alımını inhibe

ederek artan kanama riski ile ilişkili olduğu düşünülen SSRI ilaçları kullanan çok sayıda hastayı çalışmamızdan çıkardık. Fakat yine de aspirin etkinliği, aspirinin formu dahil birçok faktörden etkilenmekteydi. Bu da çalışmamızın en önemli limitasyonlarından biriydi.

5.3 SONUÇ

Sonuç olarak PV tanılı hasta grubunda aspirinin tromboz üzerine koruyuculuğu gösterilmiş olmasına karşın, ET hastalarında bu konuda güçlü kanıtlar yoktur. Günlük yaşamlarında en sık tromboz ile komplike olan bu hastaların tromboprofilaksisi önem taşımaktadır. ET grubu hastalarda aspirin tedavisine rağmen trombotik komplikasyonların yaşanmasının nedeninin, aspirine karşı artmış yanıtızsızlık olması ve bunun da artmış trombosit yapımına bağlı olduğu görülmektedir. Düşük ve günde tek doz aspirin tedavi önerilerine karşın, güncel çalışmalarda günde çift doz aspirin tedavisinin faydalarını gösteren veriler elde edilmektedir (73, 112). Fakat bu alanda yüksek doz aspirin, bölünmüş doz aspirin veya diğer tromboprofilaksi ajanları arasında karşılaştırmalı çalışmalar yeterli sayıda bulunmamaktadır. Bu alanda iyi dizayn edilmiş randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal J, Levi MM. Williams Hematology: McGraw Hill Medical Books; 2016.
2. Baxter E, Scott L, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*. 2005;365:1054-61.
3. Jones A, Kreil S, Zoi K, Waghorn K, Curtis C, Zhang L, et al. Wide spread occurrence of the JAK2V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders *Blood*. 2005;106(6):2162-8.
4. Kralovics R, Passamonti F, Buser A, Teo S, Tiedt R, Passweg J, et al. A gain of function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005;352(17):1779-90.
5. Yonal İ, Dağlar Aday A, Akadam Teker B, Yılmaz C, Nalcacı M, Yavuz AS, et al. Impact of JAK2V617F Mutational Status on Phenotypic Features in Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis. *Turkish Journal of Hematology*. 2016;33(2):94-101.
6. Campbell PJ, Green AR. Mechanisms of disease: The myeloproliferative disorders. *New England Journal of Medicine*. 2006;355(23):2452-66.
7. Levine RL, Gilliland DG. <levine2008.pdf>. *Blood Cancer Journal*. 2008, September 15;112(6):2190-7.
8. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJP, 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.
9. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer Journal*. 2018;8(2).
10. Yönal İ, Sargın FD. POLYCYTHEMIA VERA: UPDATE ON PATHOGENESIS, DIAGNOSIS AND MANAGEMENT *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*. 2015;78(3):83-91.
11. Holger Cario 1 KS, Jan M Herter, Vladimir Komrska, Mary F McMullin, Milen Minkov, Charlotte Niemeyer, Dagmar Pospisilova, Harald Reinhard, Klaus-Michael Debatin, Heike L Pahl. Clinical and Molecular Characterisation of a Prospectively Collected Cohort of Children and Adolescents With Polycythemia Vera. *Br J Haematol*. 2008 Aug;142(4):622-6.
12. Jacob HS. Diagnosis and Classification of the Polycythemias. *Semin Hematol*. 1975 Oct;12(4):339-51.

13. Luciana Teofili 1 FG, Maurizio Martini, Tonia Cenci, Francesco Guidi, Lorenza Torti, Giovanna Palumbo, Angela Amendola, Robin Foà, Luigi M Larocca. Markers of Myeloproliferative Diseases in Childhood Polycythemia Vera and Essential Thrombocythemia. *J Clin Oncol*. 2007 Mar 20;25(9):1048-53.
14. Passamonti F ML, Orlandi E, BaratèC, Canevari A, Brusamolino E, Bonfichi M, Arcaini L, Caberlon S, Pascutto C, Lazzarino M Polycythemia vera in young patients: a study on the long-term risk of thrombosis, myelofibrosis and leukemia. *Haematologica*. 2003;88(1).
15. Tefferi A RE, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi AM, Rodeghiero F, Randi ML, Vaidya R, Cazzola M, Rambaldi A, Gisslinger B, Pieri L, Ruggeri M, Bertozzi I, Sulai NH, Casetti I, Carobbio A, Jeryczynski G, Larson DR, Müllauer L, Pardanani A, Thiele J, Passamonti F, Barbui T Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia*. 2013;27(9).
16. Ayalew Tefferi 1 JLS. Polycythemia Vera: Scientific Advances and Current Practice. *Semin Hematol*. 2005 Oct;42(4):206-20.
17. P Johansson 1 JK, B Andréasson, S Safai-Kutti, L Vilén, H Wedel, B Ridell. Trends in the Incidence of Chronic Philadelphia Chromosome Negative (Ph-) Myeloproliferative Disorders in the City of Göteborg, Sweden, During 1983-99 *J Intern Med*. 2004 Aug;256(2):161-5.
18. Derneği TH. <bolum-ii-bcr-abl-negatif-klasik-kronik-miyeloproliferatif-neoplaziler.pdf>: Galenos Yayınevi; 2016 Ekim.
19. J F Prchal AAA. Letter: Bone-marrow Responses in Polycythemia Vera *N Engl J Med*. 1974 Jun 13;290(24):1382.
20. P N Correa 1 DE, A A Axelrad. Circulating Erythroid Progenitors in Polycythemia Vera Are Hypersensitive to Insulin-Like Growth factor-1 in Vitro: Studies in an Improved Serum-Free Medium Blood. 1994 Jan 1;83(1):99-112.
21. A R Moliterno 1 JLS. Posttranslational Processing of the Thrombopoietin Receptor Is Impaired in Polycythemia Vera Blood. 1999 Oct 15;94(8):2555-61.
22. A R Moliterno 1 WDH, J L Spivak. Impaired Expression of the Thrombopoietin Receptor by Platelets From Patients With Polycythemia Vera *N Engl J Med*. 1998 Feb 26;338(9):572-80.
23. Tefferi A, Vannucchi AM, Barbui T. Polycythemia vera treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*. 2018;8(1).
24. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405.
25. Massimo Primignani 1 GB, Gaetano Bergamaschi, Umberto Gianelli, Federica Fabris, Raffaella Reati, Alessandra Dell'Era, Paolo Bucciarelli, Pier Mannuccio Mannucci. Role of the JAK2 Mutation in the Diagnosis

- of Chronic Myeloproliferative Disorders in Splanchnic Vein Thrombosis. *Hepatology*. 2006 Dec;44(6):1528-34.
26. Marjorie Boissinot EL, Francois Girodon, Irene Dobo, Marc Fouassier, Claude Masliah, Vincent Praloran, Sylvie Hermouet. Latent Myeloproliferative Disorder Revealed by the JAK2-V617F Mutation and Endogenous Megakaryocytic Colonies in Patients With Splanchnic Vein Thrombosis. *Blood*. 2006 Nov 1;108(9):3223-4.
 27. Raj K Patel 1 NCL, Michael A Heneghan, Nigel B Westwood, Dragana Milojkovic, Murugaiyan Thanigaikumar, Deborah Yallop, Roopen Arya, Antonio Pagliuca, Joop Gäken, Julia Wendon, Nigel D Heaton, Ghulam J Mufti. Prevalence of the Activating JAK2 Tyrosine Kinase Mutation V617F in the Budd-Chiari Syndrome. *Gastroenterology*. 2006 Jun;130(7):2031-8.
 28. Yasmine Chait 1 BC, Dominique Cazals-Hatem, Pierre Rufat, Sai Atmani, Driss Chaoui, Françoise Guilmin, Jean Jacques Kiladjian, Aurélie Plessier, Marie Hélène Denninger, Nicole Casadevall, Dominique Valla, Jean B Brière. Relevance of the Criteria Commonly Used to Diagnose Myeloproliferative Disorder in Patients With Splanchnic Vein Thrombosis. *Br J Haematol*. 2005 May;129(4):553-60.
 29. Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi AM, Rodeghiero F, et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia*. 2013;27(9):1874-81.
 30. 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. *Journal of Clinical Oncology*. 2005;23(10):2224-32.
 31. Roberto Marchioli 1 GF, Giorgina Specchia, Rossella Cacciola, Riccardo Cavazzina, Daniela Cilloni, Valerio De Stefano, Elena Elli, Alessandra Iurlo, Roberto Latagliata, Francesca Lunghi, Monia Lunghi, Rosa Maria Marfisi, Pellegrino Musto, Arianna Masciulli, Caterina Musolino, Nicola Cascavilla, Giovanni Quarta, Maria Luigia Randi, Davide Rapezzi, Marco Ruggeri, Elisa Rumi, Anna Rita Scortechini, Simone Santini, Marco Scarano, Sergio Siragusa, Antonio Spadea, Alessia Tieghi, Emanuele Angelucci, Giuseppe Visani, Alessandro Maria Vannucchi, Tiziano Barbui, CYTO-PV Collaborative Group. Cardiovascular Events and Intensity of Treatment in Polycythemia Vera *N Engl J Med*. 2013 Jan 3;368(1):22-33.
 32. Alessandro M Vannucchi 1 PG, Ayalew Tefferi. Advances in Understanding and Management of Myeloproliferative Neoplasms *CA Cancer J Clin*. 2009 May-June;59(3):171-91.
 33. Raffaele Landolfi 1 RM, Jack Kutti, Heinz Gisslinger, Gianni Tognoni, Carlo Patrono, Tiziano Barbui, European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera Investigators. Efficacy and Safety of Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera. *N Engl J Med*. 2004 Jan 8;350(2):114-24.

34. Y Najean 1 JDR. Treatment of Polycythemia Vera: Use of 32P Alone or in Combination With Maintenance Therapy Using Hydroxyurea in 461 Patients Greater Than 65 Years of Age. The French Polycythemia Study Group. *Blood*. 1997 Apr 1;89(7):2319-27.
35. Treatment of Polycythaemia Vera by Radiophosphorus or Busulphan: A Randomized Trial. "Leukemia and Hematosarcoma" Cooperative Group, European Organization for Research on Treatment of Cancer (E.O.R.T.C.). *Br J Cancer*. 1981 Jul;44(1):75-80.
36. A P Tartaglia JDG, P D Berk, L R Wasserman. Adverse Effects of Antiaggregating Platelet Therapy in the Treatment of Polycythemia Vera. *Semin Hematol*. 1986 Jul;23(3):172-6.
37. Y Najean 1 JDR. Treatment of Polycythemia Vera: The Use of Hydroxyurea and Pipobroman in 292 Patients Under the Age of 65 Years. *Blood*. 1997 Nov 1;90(9):3370-7.
38. Christina Roaldsnes 1 RH, Henrik Frederiksen 3, Waleed Ghanima 1 4. Myeloproliferative Neoplasms: Trends in Incidence, Prevalence and Survival in Norway. *Eur J Haematol*. 2017 Jan;98(1):85-93.
39. Samer A Srour 1 2 SSD, Lindsay M Morton 3, David P Check 3, Rochelle E Curtis 3, Martha S Linet 3, Graça M Dores 1 3. Incidence and Patient Survival of Myeloproliferative Neoplasms and Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms in the United States, 2001-12. *Br J Haematol*. 2016 Aug;174(3):382-96.
40. Tefferi A, Vannucchi AM, Barbui T. Essential thrombocythemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*. 2018;8(1).
41. Hans Michael Kvasnicka 1 AO, Juergen Thiele 3, Giovanni Barosi 4, Carlos E Bueso-Ramos 5, Alessandro M Vannucchi 6, Robert P Hasserjian 7, Jean-Jacques Kiladjian 8, Umberto Gianelli 9, Richard Silver 10, Tariq I Mughal 11, Tiziano Barbui 12. European LeukemiaNet Study on the Reproducibility of Bone Marrow Features in Masked Polycythemia Vera and Differentiation From Essential Thrombocythemia. *Am J Hematol*. 2017 Oct;92(10):1062-7.
42. Ayalew Tefferi 1 TB. Polycythemia Vera and Essential Thrombocythemia: 2019 Update on Diagnosis, Risk-Stratification and Management. *Am J Hematol*. 2019 Jan;94(1):133-43.
43. Alessandra Carobbio 1 JT, Francesco Passamonti, Elisa Rumi, Marco Ruggeri, Francesco Rodeghiero, Maria Luigia Randi, Irene Bertozzi, Alessandro M Vannucchi, Elisabetta Antonioli, Heinz Gisslinger, Veronika Buxhofer-Ausch, Guido Finazzi, Naseema Gangat, Ayalew Tefferi, Tiziano Barbui. Risk Factors for Arterial and Venous Thrombosis in WHO-defined Essential Thrombocythemia: An International Study of 891 Patients. *Blood*. 2011 Jun 2;117(22):5857-9.
44. Guido Finazzi 1 AC, Paola Guglielmelli 3, Chiara Cavalloni 4, Silvia Salmoiraghi 1, Alessandro M Vannucchi 3, Mario Cazzola 4, Francesco Passamonti 5, Alessandro Rambaldi 1, Tiziano Barbui 2. Calreticulin

- Mutation Does Not Modify the IPSET Score for Predicting the Risk of Thrombosis Among 1150 Patients With Essential Thrombocythemia. *Blood*. 2014 Oct 16;124(16):2611-2.
45. Giada Rotunno 1 CM, Paola Guglielmelli, Annalisa Pacilli, Alessandro Pancrazzi, Lisa Pieri, Tiziana Fanelli, Alberto Bosi, Alessandro M Vannucchi, Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. Impact of Calreticulin Mutations on Clinical and Hematological Phenotype and Outcome in Essential Thrombocythemia. *Blood*. 2014 Mar 6;123(10):1552-5.
 46. T Barbui 1 2 AMV, V Buxhofer-Ausch 4, V De Stefano 5, S Betti 5, A Rambaldi 2, E Rumi 6, M Ruggeri 7, F Rodeghiero 7, M L Randi 8, I Bertozzi 8, H Gisslinger 4, G Finazzi 2, A Carobbio 1, J Thiele 9, F Passamonti 10, C Falcone 1, A Tefferi 11. Practice-relevant Revision of IPSET-thrombosis Based on 1019 Patients With WHO-defined Essential Thrombocythemia. *Blood Cancer J*. 2015 Nov 27;5(11).
 47. S Willoughby 1 TCP. The Use of Aspirin in Polycythaemia Vera and Primary Thrombocythaemia. *Blood Rev*. 1998 Mar;12(1):12-22.
 48. Yuki Sakamoto 1 CN, Arata Abe 2, Akane Nogami 2, Takahiro Sato 2, Kazutaka Sawada 2, Hiroyuki Hokama 2, Mai Yamada 2, Nanako Hijikata 2, Tomoaki Kumagai 2, Akiko Ishiwata 2, Hiroshi Nagayama 2, Kazumi Kimura 2. Aspirin, but Not Clopidogrel, Ameliorates Vasomotor Symptoms Due to Essential Thrombocythemia: A Case Report. *J Neurol Sci*. 2016 Jun 15;365:74-5.
 49. J J Michiels JA, J Steketee, H H van Vliet, V D Vuzevski. Erythromelalgia Caused by Platelet-Mediated Arteriolar Inflammation and Thrombosis in Thrombocythemia. *Ann Intern Med*. 1985 Apr;102(4):466-71.
 50. S Cortelazzo 1 GF, M Ruggeri, O Vestri, M Galli, F Rodeghiero, T Barbui. Hydroxyurea for Patients With Essential Thrombocythemia and a High Risk of Thrombosis. *N Engl J Med*. 1995 Apr 27;332(17):1132-6.
 51. A Regev 1 PS, D Blickstein, M Lahav. Thrombotic Complications in Essential Thrombocythemia With Relatively Low Platelet Counts. *Am J Hematol*;56(3):doi: . 1997 Nov;56(3):168-72.
 52. R A Mesa 1 MNS, S J Jacobsen, P C Wollan, A Tefferi. Population-based Incidence and Survival Figures in Essential Thrombocythemia and Agnogenic Myeloid Metaplasia: An Olmsted County Study, 1976-1995. *Am J Hematol*. 1999 May;61(1):10-5.
 53. G Visani 1 CF, U Castelli, M C Petti, P Ricci, N Vianelli, L Gianni, E Zuffa, M A Aloe Spiriti, R Latagliata, et al. Myelofibrosis With Myeloid Metaplasia: Clinical and Haematological Parameters Predicting Survival in a Series of 133 Patients. *Br J Haematol*. 1990 May;75(1):4-9.
 54. Francisco Cervantes 1 BD, Arturo Pereira, Francesco Passamonti, John T Reilly, Enrica Morra, Alessandro M Vannucchi, Ruben A Mesa,

- Jean-Loup Demory, Giovanni Barosi, Elisa Rumi, Ayalew Tefferi. New Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis Based on a Study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood*. 2009 Mar 26;113(13):2895-901.
55. Tiziano Barbui 1 AC, Francisco Cervantes, Alessandro M Vannucchi, Paola Guglielmelli, Elisabetta Antonioli, Alberto Alvarez-Larrán, Alessandro Rambaldi, Guido Finazzi, Giovanni Barosi. Thrombosis in Primary Myelofibrosis: Incidence and Risk Factors. *Blood*. 2010 Jan 28;115(4):778-82.
56. G Barosi 1 AA, C Finelli, A Grossi, P Leoni, N L Liberato, M C Petti, E Pogliani, M Ricetti, S Rupoli, G Visani, S Tura. The Italian Consensus Conference on Diagnostic Criteria for Myelofibrosis With Myeloid Metaplasia. *Br J Haematol*. 1999 Mar;104(4):730-7.
57. 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 Reviews*. 2016;30(6):453-9.
58. Tefferi A, Guglielmelli P, Pardanani A, Vannucchi AM. Myelofibrosis Treatment Algorithm 2018. *Blood Cancer Journal*. 2018;8(8).
59. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, Vestri O, Galli M, Rodeghiero F, et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med*. 1995 Apr 27;332(17):1132-6.
60. Passamonti F RE, Arcaini L, Boveri E, Elena C, Pietra D, Boggi S, Astori C, Bernasconi P, Varettoni M, Brusamolino E, Pascutto C, Lazzarino M. Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica*. 2008 Nov;93(11):1645-51.
61. Arachchillage DRJ, Laffan M. Pathogenesis and Management of Thrombotic Disease in Myeloproliferative Neoplasms. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2019;45(06):604-11.
62. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in Myeloproliferative Disorders: Prevalence, Prognostic Factors, and the Role of Leukocytes and JAK2V617F. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2007;33(4):313-20.
63. M A Elliott 1 AT. Thrombosis and Haemorrhage in Polycythaemia Vera and Essential Thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 2005 Feb;128(3):275-90.
64. Thorsten Klampfl 1 HG, Ashot S Harutyunyan, Harini Nivarthi, Elisa Rumi, Jelena D Milosevic, Nicole C C Them, Tiina Berg, Bettina Gisslinger, Daniela Pietra, Doris Chen, Gregory I Vladimer, Klaudia Bagienski, Chiara Milanese, Ilaria Carola Casetti, Emanuela Sant'Antonio, Virginia Ferretti, Chiara Elena, Fiorella Schischlik, Ciara Cleary, Melanie Six, Martin Schalling, Andreas Schönegger, Christoph Bock, Luca Malcovati, Cristiana Pascutto, Giulio Superti-Furga, Mario Cazzola, Robert Kralovics. Somatic Mutations of Calreticulin in

- Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med.* 2013 Dec 19;369(25):2379-90.
65. Elisa Rumi 1 DP, Virginia Ferretti, Thorsten Klampfl, Ashot S Harutyunyan, Jelena D Milosevic, Nicole C C Them, Tiina Berg, Chiara Elena, Ilaria C Casetti, Chiara Milanese, Emanuela Sant'antonio, Marta Bellini, Elena Fugazza, Maria C Renna, Emanuela Boveri, Cesare Astori, Cristiana Pascutto, Robert Kralovics, Mario Cazzola, Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. JAK2 or CALR Mutation Status Defines Subtypes of Essential Thrombocythemia With Substantially Different Clinical Course and Outcomes. *Blood.* 2014 Mar 6;123(10):1544-51.
66. Raffaele Landolfi 1 LDG, Tiziano Barbui, Valerio De Stefano, Guido Finazzi, Rosamaria Marfisi, Gianni Tognoni, Roberto Marchioli, European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP). Leukocytosis as a Major Thrombotic Risk Factor in Patients With Polycythemia Vera. *Blood.* 2007 Mar 15;109(6):2446-52.
67. 1 RHW. The Epidemiology of Venous Thromboembolism. *Circulation.* 2003 Jun 17;107(23 Suppl 1):14-8.
68. Raffaele Landolfi 1 LDG, Tiziano Barbui, Valerio De Stefano, Guido Finazzi, Rosamaria Marfisi, Gianni Tognoni, Roberto Marchioli, European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera (ECLAP). Leukocytosis as a Major Thrombotic Risk Factor in Patients With Polycythemia Vera *Blood.* 2007 Mar 15;109(6):2446-52.
69. Galvez C, Stein BL. Thrombocytosis and Thrombosis: Is There Really a Correlation? *Current Hematologic Malignancy Reports.* 2020.
70. Finazzi G. A prospective analysis of thrombotic events in the European collaboration study on low-dose aspirin in polycythemia (ECLAP). *Pathologie Biologie.* 2004;52(5):285-8.
71. Derek K Chu 1 CMH, Darryl P Leong 1, Sonia S Anand 1, Deborah M Siegal 1. Benefits and Risks of Antithrombotic Therapy in Essential Thrombocythemia: A Systematic Review. *Ann Intern Med.* 2017 Aug 1;167(3):170-80.
72. De Stefano V, Rocca B, Tositto A, Soldati D, Petrucci G, Beggiato E, et al. The Aspirin Regimens in Essential Thrombocythemia (ARES) phase II randomized trial design: Implementation of the serum thromboxane B2 assay as an evaluation tool of different aspirin dosing regimens in the clinical setting. *Blood Cancer Journal.* 2018;8(6).
73. Bianca Rocca AT, Silvia Betti, Denise Soldati, Giovanna Petrucci, Elena Rossi, Andrea Timillero, Viviana Cavalca, Benedetta Porro, Alessandra Iurlo, Daniele Cattaneo, Cristina Bucelli, Alfredo Dragani, Mauro Di Ianni, Paola Ranalli, Francesca Palandri, Nicola Vianelli, Eloise Beggiato, Giuseppe Lanzarone, Marco Ruggeri, Giuseppe Carli, Elena Maria Elli, Monica Carpenedo, Irene Bertozzi, Chiara Paoli, Maria L Randi, Alessandra Ricco, Giorgia Specchia, Alessandro Maria Vannucchi, Francesco Rodeghiero, Carlo Patrono, Valerio De Stefano.

- A randomized, double-blind trial of three aspirin regimens to optimize antiplatelet therapy in essential thrombocythemia. 2020, APRIL 7.
74. 1 SPJ. The Growing Complexity of Platelet Aggregation. *Blood*. 2007 Jun 15;109(12):5087-95.
 75. Barry S Collier 1 SJS. The GPIIb/IIIa (Integrin α IIb β 3) Odyssey: A Technology-Driven Saga of a Receptor With Twists, Turns, and Even a Bend. *Blood*. 2008 Oct 15;112(8):3011-25.
 76. Sanford J Shattil 1 PJN. Integrins: Dynamic Scaffolds for Adhesion and Signaling in Platelets. *Blood*. 2004 Sep 15;104(6):1606-15.
 77. Atamer T. HEMOSTAZ MEKANİZMASI.
 78. Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *The Lancet*. 2006;367(9510):606-17.
 79. Carlo Patrono 1 BC, Garret A FitzGerald, Jack Hirsh, Gerald Roth. Platelet-active Drugs: The Relationships Among Dose, Effectiveness, and Side Effects: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*. 2004 Sep;126(3):234-64.
 80. G J Roth 1 DCC. Aspirin, Platelets, and Thrombosis: Theory and Practice. *Blood*. 1994 Feb 15;83(4):885-98.
 81. P Patrignani PF, C Patrono. Selective Cumulative Inhibition of Platelet Thromboxane Production by Low-Dose Aspirin in Healthy Subjects. *J Clin Invest*. 1982 Jun;69(6):1366-72.
 82. J W Burch NS, P W Majerus. Inhibition of Platelet Prostaglandin Synthetase by Oral Aspirin. *J Clin Invest*. 1978 Feb;61(2):314-9.
 83. Smith WL. Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 1992;263(2):F181-F91.
 84. Patrono C, Ciabattoni G, Patrignani P, Pugliese F, Filabozzi P, Catella F, et al. Clinical pharmacology of platelet cyclooxygenase inhibition. *Circulation*. 1985;72(6):1177-84.
 85. R. Ajjan RFSPJG. Aspirin resistance and diabetes mellitus. *Diabetologia*. 16 January 2008;51:385-90.
 86. P A Gum 1 KK-M, E D Poggio, H Gurm, P A Welsh, L Brooks, S K Sapp, E J Topol. Profile and Prevalence of Aspirin Resistance in Patients With Cardiovascular Disease. *Am J Cardiol*. 2001 Aug 1;88(3):230-5.
 87. K H Grottemeyer 1 HWS, I W Husstedt. Two-year Follow-Up of Aspirin Responder and Aspirin Non Responder. A Pilot-Study Including 180 Post-Stroke Patients. *Thrombosis research*. 1993 Sep 1;71(5):397-403.
 88. Perrier-Cornet A, Ianotto J-C, Mingant F, Perrot M, Lippert E, Galinat H. Decreased turnover aspirin resistance by bidaily aspirin intake and efficient cytochrome reduction in myeloproliferative neoplasms. *Platelets*. 2018;29(7):723-8.

89. Nadine Ajzenberg MP, Dorothee Faille, PharmD, PhD, Marie-Genevieve Huisse, MD PhD, Anh Hong Cung, Pharm D, Lamia Lamrani, Nicolas Dumontier, Pharm D, Martine Jandrot-Perrus, MD PhD, Bruno Cassinat, PharmD, PhD, Christine Chomienne, MD PhD, Christine Dosquet, MD PhD. 634. MYELOPROLIFERATIVE SYNDROMES: CLINICAL: POSTER II| DECEMBER 6, 2014 Aspirin in Philadelphia-Negative Myeloproliferative Neoplasms: What Is the Optimal Dose ? Blood. 2014;124(21):3200.
90. Dillinger JG, Sideris G, Henry P, Bal dit Sollier C, Ronez E, Drouet L. Twice daily aspirin to improve biological aspirin efficacy in patients with essential thrombocythemia. Thrombosis research. 2012;129(1):91-4.
91. A T. Overcoming "aspirin resistance" in MPN. Blood. 2012 Apr 12;119(15):3377-8.
92. Halushka MK, Walker LP, Halushka PV. Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin. Clinical pharmacology and therapeutics. 2003;73(1):122-30.
93. Brendan F McAdam 1 DB, Jason D Morrow, John A Oates. Contribution of cyclooxygenase-2 to Elevated Biosynthesis of Thromboxane A2 and Prostacyclin in Cigarette Smokers. Circulation. 2005 Aug 16;112(7):1024-9.
94. Narvaez I, Sagastagoitia JD, Vacas M, Saez Y, Lafita M, Monica S, et al. Prevalence and biologic profile of aspirin resistance in patients with angiographically proven coronary artery disease. Thrombosis research. 2007;120(5):671-7.
95. Shibata K, Akagi Y, Nozawa N, Shimomura H, Aoyama T. Influence of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on aspirin's antiplatelet effects and suggestion of the most suitable time for administration of both agents without resulting in interaction. J Pharm Health Care Sci. 2017;3:9-.
96. Andrade C, Sandarsh S, Chethan KB, Nagesh KS. Serotonin reuptake inhibitor antidepressants and abnormal bleeding: a review for clinicians and a reconsideration of mechanisms. The Journal of clinical psychiatry. 2010;71(12):1565-75.
97. Hergovich N, Aigner M, Eichler HG, Entlicher J, Drucker C, Gilma B. Paroxetine decreases platelet serotonin storage and platelet function in human beings. Clinical pharmacology and therapeutics. 2000;68(4):435-42.
98. Li N, Wallén NH, Ladjevardi M, Hjelm Dahl P. Effects of serotonin on platelet activation in whole blood. Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis. 1997;8(8):517-23.
99. Oka Y, Okamoto K, Kawashita N, Shirakuni Y, Takagi T. Meta-analysis of the risk of upper gastrointestinal hemorrhage with combination therapy of selective serotonin reuptake inhibitors and non-steroidal

- anti-inflammatory drugs. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2014;37(6):947-53.
100. Labos C, Dasgupta K, Nedjar H, Turecki G, Rahme E. Risk of bleeding associated with combined use of selective serotonin reuptake inhibitors and antiplatelet therapy following acute myocardial infarction. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 2011;183(16):1835-43.
 101. Patrono C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2003;1(8):1710-3.
 102. S.A.S DS. <EN_COLLAGEN_20180930.pdf>. 2018-09-19
 103. Dikmen ZGA, Filiz. Trombosit fonksiyon testleri [Platelet function tests]. *Turkish Journal of Biochemistry / Turk Biyokimya Dergisi*. 2014;39(4):549-53.
 104. Fraction IIP. <PROSPEKT ENG_BC-6800.pdf>.
 105. Kit MH-d-tBE. <MBS161319.pdf>.
 106. TXB2 MS. <MBS766152.pdf>.
 107. Lordkipanidze M, Pharand C, Schampaert E, Turgeon J, Palisaitis DA, Diodati JG. A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease. *European Heart Journal*. 2007;28(14):1702-8.
 108. Sadiq PA, Puri A, Dixit M, Ghatak A, Dwivedi SK, Narain VS, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in Indian patients with coronary artery disease. *Indian heart journal*. 2005;57(6):658-61.
 109. Dussailant NG, Zapata MM, Fardella BP, Conte LG, Cuneo VM. [Frequency and characteristics of aspirin resistance in Chilean cardiovascular patients]. *Revista medica de Chile*. 2005;133(4):409-17.
 110. Renda G, Zurro M, Malatesta G, Ruggieri B, De Caterina R. Inconsistency of different methods for assessing ex vivo platelet function: relevance for the detection of aspirin resistance. *Haematologica*. 2010;95(12):2095-101.
 111. Braekkan SK, Mathiesen EB, NjøLstad I, Wilsgaard T, StØRmer J, Hansen JB. Mean platelet volume is a risk factor for venous thromboembolism: the Tromsø study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2010;8(1):157-62.
 112. Pascale S, Petrucci G, Dragani A, Habib A, Zaccardi F, Pagliaccia F, et al. Aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in essential thrombocythemia is explained by accelerated renewal of the drug target. *Blood*. 2012;119(15):3595-603.

Ek A. Etik Kurul Onay Formu

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU (2013-KAEK-64) KARAR FORMU

SAYI:

Tarih: 22.05.2019

KONU: Etik Kurulu Kararı

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kronik Miyeloid Neoplazi Hasta Grubunda Aspirin Etkinliği ve Direncinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Doktor Erkin Cad. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi
	TELEFON	216 570 91 90
	FAKS	216 565 55 26
	E-POSTA	etik@sbgoztepehastanesi.gov.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğretim Üyesi Erman Öztürk			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Hematoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YAŞAL TEMSİLÇİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
FAZ 4		☐			
Gözlemsel ilaç çalışması		☐			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐			
İlaç dışı klinik araştırma		☒			
Retrospektif	☐				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SIGORTA	☐					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐					
	İLAN	☐					
	YILLIK BİLDİRİM	☐					
	SONUÇ RAPORU	☐					
	GUVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2019/0230	Tarih: 22.05.2019					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıda katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

Etik Kurul Başkanı

Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Derya Büyükl

İmza:

Ek A. Etik Kurul Onay Formu

S.B. İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ GÖZTEPE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU (2013-KAEK-64) KARAR FORMU

SAYI:

Tarih: 22.05.2019

KONU: Etik Kurulu Kararı

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kronik Miyeloid Neoplazi Hasta Grubunda Aspirin Etkinliği ve Direncinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki	Katılım *
Prof. Dr. Derya Büyükkayhan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	T.C. Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Prof. Dr. Aytekin OĞUZ	İç Hastalıkları Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Işıl MARAL	Halk Sağlığı Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒
Prof. Dr. Asif Yıldırım	Üroloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Prof. Dr. Süleyman Daşdağ	Biyofizik	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Asiye KANBAY	Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Şükrü Sadık ÖNER	Tıbbi Farmakoloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Sıdika Şeyma ÖZKANLI	Tıbbi Patoloji	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Yrd. Doç. Dr. Hacer Hicran Mutlu	Aile Hekimliği	S.B. İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Avukat Mahmut ÇELİK	Avukat	Çelik Gönen Hukuk Bürosu	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒
Saliha Şahin	İşçi		E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐

*:Toplantıda Bulunma

Karar: ☒ Onaylandı ☐ Reddedildi

Etik Kurul Başkanı

Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Derya Büyükkayhan

İmza:



T.C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi

Konu: Yürürlüğe Giren Proje Öneriniz

Tarih
18.10.2019

Sayın Dr.Öğr.Üyesi ERMAN ÖZTÜRK

Aşağıda bilgileri özetlenen proje önerinize yönelik değerlendirme süreci tamamlanmış ve BAP Komisyonu tarafından desteklenmesi uygun görülen projeniz, proje sözleşmesinin Rektörlük Makamı tarafından onaylanmasıyla yürürlüğe girmiş bulunmaktadır.

Tebrik eder, çalışmalarınızda başarılar dilerim.

Saygılarımla,

Prof.Dr. Mahmut Tayyar KALCIOĞLU
Koordinatör

Proje Başlığı: Kronik Miyeloid Neoplazi Hasta Grubunda Aspirin Etkinliği ve Direncinin Belirlenmesi

Proje No: T-UZM-2019-1568

Proje Türü: T.Uzmanlık

Süresi: 12 ay

Başlama Tarihi: 18.10.2019

Onaylanan Bütçesi: 14.999,04 TL

Proje Yürütücüsü: Dr.Öğr.Üyesi ERMAN ÖZTÜRK

Araştırmacı(lar): DR. ILGIN KOÇAK, PROF.DR. OLGA MELTEM AKAY