

Contents lists available at [ScienceDirect](http://ScienceDirect)

## Acta Haematologica Polonica

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/achaem](http://www.elsevier.com/locate/achaem)

### Praca poglądowa/Review

# Stare i nowe czynniki ryzyka zakrzepicy u chorych z nadpłytkowością samoistną



## The old and new thrombotic risk factors in essential thrombocythemia patients

Bożena Sokołowska \*

Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku UM w Lublinie, Kierownik: dr hab. Marek Hus, Lublin, Polska

#### INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 18.03.2014

Zaakceptowano: 01.04.2014

Dostępne online: 13.04.2014

Słowa kluczowe:

- nadpłytkowość samoistna
- powikłania zakrzepowe
- mutacja JAK2
- sercowo-naczyniowe czynniki ryzyka zakrzepicy
- trombofilia

Keywords:

- Essential thrombocythemia
- Thrombotic complications
- JAK2 mutation
- Cardiovascular risk factors
- Thrombophilia

#### ABSTRACT

Essential Thrombocythemia (ET) is one of the classical Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms. Despite the chronic course of the disease, the ET patients had an inferior survival compared to the general population, because of higher mortality, mainly due to thrombotic complications. Besides well known old risk factors, such as old age (>60 year) and previous history of thrombosis, still some new ones appeared. In 2005 the JAK2V617F point mutation was found in 50-60% of ET patients. An increased risk of thrombosis in patients with this mutation has been reported. In this study there is a summary of old and new risk factors which may contribute to thrombotic complications in ET patients.

© 2014 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Urban & Partner Sp. z o.o. All rights reserved.

Nadpłytkowość samoistna (NS) należy do nowotworów mieloproliferacyjnych (*myeloproliferative neoplasms*; MPNs). Populacja chorych z NS zwiększa się za sprawą lepszej wykrywalności spowodowanej po pierwsze – rozpowszechnieniem

automatycznych analizatorów hematologicznych pozwalających na uzyskiwanie oznaczeń, w których liczba płytek jest stałym elementem morfologii krwi, po drugie – obniżeniem liczby płytek z 600 G/l w kryteriach diagnostycznych z roku

\* Adres do korespondencji: Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku UM, ul. Staszica 11, 20-081 Lublin, Polska. Tel.: +48815345496.

Adres email: [besokolowska@o2.pl](mailto:besokolowska@o2.pl).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2014.04.009>

0001-5814/© 2014 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Urban & Partner Sp. z o.o. All rights reserved.

2002 do 450 G/l w zrewidowanych kryteriach z roku 2007 [1]. Wszystko to sprawia również, że wydłuża się znacznie okres obserwacji chorych bez potrzeby stosowania leczenia cytoredukcyjnego. Choroba ma charakter przewlekły i na ogół mało agresywny przebieg, niemniej jednak czas przeżycia chorych jest krótszy w porównaniu z populacją ogólną przede wszystkim za sprawą powikłań zakrzepowych, które w dalszym ciągu pozostają główną przyczyną śmierci. Sposobem wydłużenia życia u tych chorych jest zatem ocena czynników ryzyka zakrzepicy i w miarę możliwości ich usuwanie lub modyfikowanie. Obok dawniej wyodrębnionych czynników ryzyka, takich jak wiek i przebyte epizody zakrzepowe, które nadal stanowią podstawę do zaliczenia chorych do grupy wysokiego ryzyka i upoważniają do rozpoczęcia leczenia cytoredukcyjnego, pojawiły się nowe. W roku 2005, niezależnie od siebie, cztery grupy badaczy odkryły mutację genu *JAK2* (*Janus Kinase 2*) obecną w nowotworach mieloproliferacyjnych, w których nie występuje fuzja genu *BCR/ABL*, określanych z tego powodu jako Filadelfia negatywne. Wielu autorów podkreśla związek tej mutacji z występowaniem powikłań zakrzepowych. Zwiększona liczba leukocytów, w momencie rozpoznania z entuzjazmem okrzyknięta nowym czynnikiem ryzyka powikłań naczyniowych, nie przez wszystkich badaczy jest uznawana za rzeczywiście istotny czynnik ryzyka. Istnieją ponadto stany zwiększonego ryzyka zakrzepicy określane mianem trombofilii oraz sercowo-naczyniowe czynniki ryzyka. Tak więc liczba czynników mogących odgrywać rolę w patogenezie zakrzepicy jest znaczna i dlatego warto byłoby zwrócić uwagę przede wszystkim na te, którym przypisuje się istotne znaczenie w patogenezie zakrzepicy u chorych z nadpłytkowością samoistną.

## Gel

Celem pracy jest zaprezentowanie starych i nowych czynników mogących odgrywać rolę w powstawaniu powikłań zakrzepowych u chorych z NS.

## Wiek i uprzednie epizody zakrzepowe

Wiek powyżej 60. roku życia jest jednym z najlepiej udokumentowanych czynników ryzyka zakrzepicy u chorych z NS. Besses i wsp. [2] na podstawie retrospektywnej analizy ocenili częstość występowania epizodów naczyniowych u 184 chorych z NS. U 37 chorych powikłania naczyniowe wystąpiły w momencie rozpoznania NS, a u 33 w okresie dalszej obserwacji. Rzeczywiste prawdopodobieństwo epizodu naczyniowego wynosiło 27% w ciągu 6 lat w całej grupie chorych, aż 35,6% u pacjentów powyżej 60. roku życia, a tylko 21,4% u chorych poniżej 60. roku życia. Wśród osób poniżej 45. roku życia epizod naczyniowy wystąpił tylko u jednego chorego. W analizie wielowariantowej wykazano, że wiek powyżej 60 lat jest związany ze zwiększonym ryzykiem epizodów naczyniowych. Francesco Passamonti [3] przeanalizował 605 chorych z NS w okresie 1975–2008 roku pod kątem czynników ryzyka zakrzepicy. Całkowite ryzyko zakrzepicy wynosiło 5% w okresie 5 lat i 14% w okresie 10 lat. Analiza proporcjonalnego ryzyka Coxa wykazała, że wiek powyżej 60 lat i wywiad

przebytej zakrzepicy w momencie diagnozy stanowią czynniki ryzyka wystąpienia kolejnego epizodu zakrzepowego w okresie dalszej obserwacji. Już w roku 2007 Gangat z Mayo Clinic na podstawie analizy takiej samej grupy 605 chorych z NS stwierdził, że oba te czynniki są także przyczyną skrócenia czasu przeżycia tych chorych [4].

## Sercowo-naczyniowe czynniki ryzyka zakrzepicy

Do klasycznych sercowo-naczyniowych czynników ryzyka zakrzepicy należą: nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie papierosów, hipercholesterolemia. W pracy z 1999 roku Besses i wsp., analizując 148 chorych z NS, wykazali, że podwyższony poziom cholesterolu jest czynnikiem ryzyka dużych powikłań naczyniowych [2]. Wolanskyj i wsp. [5] wśród pacjentów Mayo Clinic wyodrębnili grupę 322 chorych z NS, u których diagnoza została postawiona przed 1992, co pozwoliło na minimum 10-letni okres obserwacji. Okazało się, że czas przeżycia w tej grupie chorych w ciągu pierwszych 10 lat nie różnił się od czasu przeżycia w populacji ogólnej, natomiast po tym okresie skracał się znacząco. Wśród czynników, które się do tego przyczyniły, było m.in. palenie papierosów i współistnienie cukrzycy. Nie wykazano natomiast wpływu tych czynników na występowanie powikłań zakrzepowych. W roku 2001 Jantunen i wsp. [6] badali wpływ wymienionych powyżej sercowo-naczyniowych czynników ryzyka na występowanie powikłań zakrzepowych u 132 chorych z NS w ciągu 65-miesięcznego okresu obserwacji. 33 (48%) chorych miało jeden lub więcej czynników ryzyka, natomiast 69 (52%) nie miało żadnego z nich. W analizie wielowariantowej wykazano, że niezależnym czynnikiem ryzyka zakrzepicy było palenie papierosów ( $p = 0,01$ ) i było ono ważnym czynnikiem ryzyka zakrzepicy tętniczej, zwłaszcza u kobiet. A zatem walka z nałogiem palenia papierosów odgrywa istotną rolę w prewencji powikłań naczyniowych u chorych z NS.

## Trombofilia. Skazy zakrzepowe

Pod pojęciem trombofilii rozumiemy wrodzone i nabyte zaburzenia hemostazy, które usposabiają do powstania zakrzepicy żyłnej. Zmiany te dotyczą 20–40 osób na 100 000 mieszkańców Europy. Kliniknym objawem trombofilii jest zakrzepica żylna, głównie zakrzepica żył głębokich kończyn dolnych i/lub zatorowość płucna. Epizody zakrzepowe charakteryzują się skłonnością do nawrotów oraz występowania w nietypowych lokalizacjach np. w naczyniach żylnych mózgu, żyłach trzewnych (śledzionowej, wątrobowej, wrotnej), żyłach kończyn górnych [7]. W tabeli I przedstawiono najważniejsze przyczyny wrodzonej trombofilii według częstości występowania.

Oporność na aktywne białko C związana jest z mutacją genu czynnika V. W wyniku tej mutacji czynnik V zachowuje swą aktywność prokoagulacyjną, lecz jest około 10 razy wolniej unieczynniany przez aktywne białko C. Anomalia ta dotyczy 4–5% osób rasy kaukaskiej i 21% osób z przebytym epizodem żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej [8]. Polimorfizm G20210A genu protrombiny jest drugą pod względem

**Tabela I – Najważniejsze przyczyny trombofilii [7]**  
**Table I – The most common types of thrombophilia [7]**

Oporność na aktywne białko C (mutacja Leiden genu czynnika V)
Polimorfizm G20210A genu protrombiny
Niedobór białka C
Niedobór białka S
Niedobór antytrombiny
Zwiększona aktywność czynnika VIII, IX, XI
Hiperhomocysteinemia

częstości przyczyną trombofilii wrodzonej i dotyczy 3% populacji Europy [7]. U nosicieli tej anomalii zaobserwowano zwiększoną zawartość protrombiny >1,15 j/ml. Antytrombina (AT) jest odpowiedzialna za 75% aktywności antykoagulacyjnej osocza. Jest ona głównym inhibitorem trombiny (czynnika IIa) i czynnika Xa, ale unieczynnia też czynniki XIIIa, XIa, IXa, plazminę, kalikreinę, składową C1 komplementu. Aktywność antykoagulacyjna AT wzrasta 1000-krotnie w obecności heparyny. W warunkach fizjologicznych rolę heparyny spełnia siarczan heparanu zlokalizowany na powierzchni komórek śródbłonka naczyń krwionośnych. Aktywowane białko C w obecności białka S powoduje wybiórczą proteolizę czynnika Va, VIIIa i inhibitora aktywatora plazminogenu-1 (*plasminogen activator inhibitor-1*; PAI-1). Tylko w postaci wolnej białko S jest kofaktorem aktywnego białka C, po związaniu z wielkocząsteczkowym białkiem wiążącym c4b-BP (*binding protein*) traci tę właściwość. U 20–30% pacjentów, którzy przebyli pierwszy epizod żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej, a także u 11% osób zdrowych stwierdzono zwiększenie aktywności czynnika VIII powyżej 150 j.m./dl [7]. W roku 2000 wykazano, że zagrożenie żylną chorobą zakrzepowo-zatorową jest zwiększone 2–3-krotnie u osób, u których aktywność czynnika IX w osoczu przekracza 129 j.m./dl oraz 2-krotnie u osób, u których aktywność czynnika XI w osoczu przekracza 121 j.m./dl [9, 10]. Homocysteina (HCY) jest produktem rozpadu aminokwasu metioniny. Do hiperhomocysteinemii prowadzą niedobory witaminy B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, kwasu foliowego, genetycznie uwarunkowane niedobory enzymów metabolizujących metioninę. Stężenie HCY może podwyższać spożywanie nadmiernej ilości alkoholu lub dużych ilości kawy. Hiperhomocysteinemia wpływa niekorzystnie przede wszystkim na układ krążenia, powodując uszkodzenie komórek śródbłonka naczyń i nasilenie zmian miażdżycowych. Jej niekorzystny wpływ na układ hemostazy wynika ze zwiększania aktywności czynników V i VII oraz obniżenia aktywności antykoagulacyjnej białka C [11].

### Trombofilia a powikłania zakrzepowe w przebiegu przewlekłych mieloproliferacji

Zmiany o charakterze trombofilii prowadzą do ok. 2,7-krotnego zwiększenia całkowitego ryzyka powikłań zakrzepowych w populacji ogólnej. Ruggieri i wsp. [12], oceniając w grupie 304 chorych z CzP (czerwieńca prawdziwa) i NS obecność mutacji Leiden genu czynnika V, wykryli ją u 14 chorych (4,6%) i stwierdzili, że występuje ona z częstością podobną do populacji ogólnej. Jednak obecność tej mutacji jest skojarzona z częstszym występowaniem zakrzepicy żylnej zwłaszcza w okresie przed i w czasie stawiania

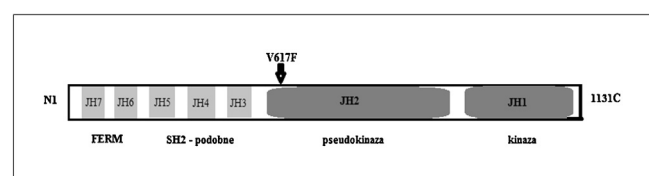
diagnozy mieloproliferacji oraz sprzyja nawrotom tego typu epizodów. W roku 2005 Gisslinger i wsp. [13] analizowali związek pomiędzy obecnością mutacji G20210A genu protrombiny, a ryzykiem zakrzepicy u 214 chorych z CzP i NS. Częstość epizodów żylnych u nosicieli tej mutacji wynosiła 6,2/100 pacjentów na rok, podczas gdy u chorych bez tej mutacji tylko 0,8 epizodów/100 pacjentów na rok. Wynika z tego, że obecność zmian o charakterze trombofilii u chorych z mieloproliferacjami może przyczynić się do zwiększenia ryzyka powikłań zakrzepowych. Współistnienie zmian o charakterze trombofilii z obecnością mutacji JAK2 V617F u chorych z nadpłytkowością samoistną może dodatkowo nasilić ryzyko powikłań zakrzepowych nawet 5-krotnie. W roku 2009 De Stefano i wsp. [14] przebadali 132 chorych z NS, wśród których mutację JAK2 V617F stwierdzono u 62,9% chorych, heterozygotyczną mutację Leiden genu czynnika V znaleziono u 4 chorych (3%), a trzech chorych (2,3%) było nosicielami heterozygotycznej mutacji G20210A genu protrombiny. Wykazali oni, że u chorych poniżej 60. roku życia obecność trombofilii i mutacji JAK2 nasila ryzyko powikłań zakrzepowych 2,2-krotnie w stosunku do chorych z mutacją JAK2 i bez trombofilii oraz 7,7-krotnie w stosunku do chorych bez mutacji i bez zmian o charakterze trombofilii.

Wielu badaczy potwierdza częste występowanie hiperhomocysteinemii u chorych z CzP i NS. Hiperhomocysteinemia rozwija się na ogół w czasie trwania choroby i ma najczęściej związek z niedoborem kwasu foliowego [15]. Nie udowodniono jak dotychczas bezpośredniego wpływu hiperhomocysteinemii na rozwój powikłań zakrzepowych, ale grupy chorych, u których ten problem dotychczas badano, były nieduże, dlatego wymaga on sprawdzenia w dużym badaniu prospektywnym.

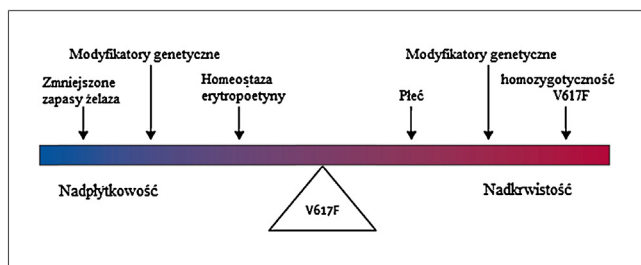
### Mutacja punktowa JAK2 V617F a ryzyko zakrzepicy

Mutacja genu JAK2 jest mutacją somatyczną, polegającą na substytucji G-T (guanina-tymidyna) w nukleotydzie 1849 (G1849T) w eksonie 14, kodującym domenę pseudokinazy (Ryc. 1). Efektem tej mutacji na poziomie białkowym jest zamiana waliny na fenyloalaninę w kodonie 617 (V617F).

Domena JH2 jest pseudokinazą, pozbawioną aktywności kinazowej, ale wchodzi w skład białka o funkcji autoregulatorowej. Główną funkcją domeny pseudokinazy jest zapobieganie autoaktywacji domeny kinazy. Pojawienie się mutacji JAK2 V617F powoduje konsytytywną aktywację drogi przekazywania sygnału JAK2-STAT biorącej udział w regulacji wzrostu i różnicowania komórek. Obecność mutacji wywołuje charakterystyczną nadwrażliwość komórek na działanie



**Ryc. 1 – Budowa genu JAK2 [16]**  
**Fig. 1 – Structure of JAK2 gene [16]**



**Ryc. 2 – Model kontinuum dla JAK2 V617F dodatniej nadpłytkowości samoistnej i czerwienicy prawdziwej [18]**  
**Fig. 2 – The model of continuum for JAK2 V617F positive essential thrombocythemia and polycythemia vera [18]**

cytokin, takich jak np. erytropoetyna oraz niezależny od cytokin wzrost komórek hematopoetycznych, co prowadzi do nadprodukcji elementów morfotycznych krwi (krwinek czerwonych i płytek). Mutację JAK2 wykrywa się u 90–95% chorych z czerwienicą prawdziwą (PV) i tylko u 50–60% z nadpłytkowością samoistną [17]. Nasuwa się w związku z tym pytanie, czy może tylko NS niewykazujące obecności mutacji JAK2V617F reprezentuje odrębną jednostkę chorobową o różniącym się przebiegu naturalnym, a NS z obecnością mutacji JAK2V617F jest postacią czerwienicy prawdziwej. Wiadomo, że u chorych NS z obecnością mutacji JAK2V617F stwierdza się zwiększone stężenie hemoglobiny, większą leukocytozę, mniejszą liczbę płytek i niższe stężenie ferrytyny, co z kolei zrodziło sugestię, iż ten typ jest formą frustą Czp, czyli postacią poprzedzającą rozwój pełnoobjawowej czerwienicy prawdziwej [18]. Campbell stworzył model pewnego kontinuum dla nadpłytkowości samoistnej i czerwienicy prawdziwej wykazujących obecność mutacji JAK2 V617F (Ryc. 2).

Według Campbella, u chorych z JAK2 dodatnią NS, wpływ tej mutacji na erytropoezę jest ograniczony, kontrolowany przez mechanizmy fizjologiczne obejmujące supresję erytropoetyny i zmniejszone zapasy żelaza lub „modyfikatory” genetyczne, nabyte lub już istniejące w organizmie. Nabycie mutacji JAK2V617F, zwłaszcza w postaci homozygotycznej, może sprzyjać rozwojowi fenotypu Czp, gdyż homozygotyczna postać mutacji JAK2V617F występuje u około 30% chorych z Czp, a jest rzadko spotykana u chorych z NS. Płeć może mieć wpływ na rozwój poszczególnych form JAK2 dodatnich mieloproliferacji, gdyż wykazano, że Czp jest częściej spotykana u mężczyzn, a JAK2 dodatnia NS częściej rozwija się u kobiet [19].

Powszechnie wiadomo, że w Czp ryzyko powikłań zakrzepowych jest większe niż w NS, dlatego wywnioskowano, że chorzy z NS, u których obecna jest mutacja JAK2 V617F i których fenotyp jest podobny do czerwienicy, mogą z tego tytułu być w większym stopniu narażeni na powikłania zakrzepowe niż ci, u których tej mutacji nie stwierdzono. Identyfikacja biologicznego markera wskazującego na obecność zwiększonego ryzyka zakrzepicy miałaby ogromne znaczenie kliniczne. Czp i NS stanowią heterogenną grupę chorób przewlekłych, których leczenie może trwać latami i w niektórych przypadkach jego działania uboczne okazałyby się groźniejsze dla chorego niż powikłania samej

choroby. Stwierdzenie obecności biologicznego markera wskazującego na istnienie podwyższonego ryzyka zakrzepicy pozwoliłoby na podjęcie właściwych decyzji terapeutycznych, czy np. niepodejmowanie decyzji o leczeniu cytoredukcyjnym w przypadku braku takiego ryzyka. Wkrótce po odkryciu mutacji JAK2 V617F wielu badaczy poszukiwało związku pomiędzy jej obecnością, a występowaniem powikłań zakrzepowych. Już prace z roku 2005 dostarczyły rozbieżnych wyników. Cheung i wsp. [20] w grupie 60 chorych z NS wykazali istotnie statystycznie częstsze występowanie zakrzepicy u chorych JAK2 dodatnich w stosunku do tych, którzy tej mutacji nie mieli: 18 (62%) w stosunku do 8 (26%)  $p=0,009$ . Natomiast Wolanskyj i wsp. [21] w grupie 150 chorych z NS nie stwierdzili zwiększonej częstości powikłań zakrzepowych u chorych mających mutację JAK2 V617F.

Związek pomiędzy obecnością mutacji JAK2 V617F a zakrzepicą potwierdziły natomiast trzy niezależnie od siebie metaanalizy, których wyniki zostały opublikowane w latach 2008–2009 [22–24]. Ziakas i wsp. [22] po przeanalizowaniu 2905 chorych z NS, spośród których u 778 wystąpiły powikłania zakrzepowe, stwierdzili podwyższone ryzyko zarówno zakrzepicy żyłnej, jak i tętniczej oraz zakrzepicy w momencie rozpoznania u chorych JAK2V617F+ w porównaniu z chorymi niemającymi tej mutacji. Podobnie w analizie dokonanej w roku 2009 przez grupę Dahabreh i wsp. [23] ryzyko zakrzepicy tętniczej i żyłnej było istotnie statystycznie większe wśród chorych JAK2 V617F+. Trzeciej metaanalizy dokonał Lussana, który na podstawie oceny 3150 chorych z NS i pierwotną mielofibrozą (PMF) potwierdził, że częstość występowania powikłań zakrzepowych jest większa wśród chorych z obecnością mutacji w stosunku do tych, którzy jej nie mają (32% vs 20%) [24]. W roku 2012 ukazały się kolejne publikacje wskazujące na związek obecności mutacji JAK2 V617F z incydentami naczyniowym u chorych z Filadelfia negatywnymi mieloproliferacjami. Kerquelen-Fuentes na podstawie badania 114 pacjentów z mieloproliferacjami ze Szpitala Uniwersyteckiego La Paz z Madrytu wykazał, że obecność mutacji JAK2 V617F kojarzy się z częstszym występowaniem zakrzepicy tętniczej, podwyższonej leukocytozy i splenomegalii [25]. W chwili obecnej więcej danych przemawia za tym, że obecność mutacji JAK2 jest nowym czynnikiem ryzyka zakrzepicy u chorych z NS.

### Mutacja receptora dla trombopoetyny a ryzyko zakrzepicy

Mutacje w genie receptora trombopoetynowego obecne są u około 8–10% chorych z NS, którzy nie mają mutacji JAK2V617F [26]. Większość mutacji dotyczy reszty tryptofanowej 515 (W515), która wchodzi w skład sekwencji aminokwasów RWQFP znajdujących się w domenie receptora trombopoetynowego, zapobiegającej aktywacji tego receptora w przypadku nieobecności trombopoetyny. Opisywano wymianę tryptofanu na leucynę, lizynę, alaninę i argininę. Mutacje te, a zwłaszcza MPL (ang. *myeloproliferative leukemia virus oncogene* – ludzki gen kodujący receptor dla trombopoetyny) W515L/K prowadzą do zmiany konformacyjnej motywu RWQFP i konstytutywnej aktywacji receptora trombopoetynowego oraz przekazywania sygnału bez obecności



trombopoetyny. Vanucchi i wsp. [27] w pracy z czerwca 2008 roku zwrócili uwagę na fakt, że u chorych z NS, u których nie ma mutacji *JAK2*, a obecne są mutacje *MPLW515L/K*, stężenie hemoglobiny jest niższe, a liczba płytek większa w stosunku do chorych wykazujących obecność mutacji *JAK2 V617F*, a brak mutacji *MPL*. Obecność mutacji *MPL* wiąże się ze zwiększoną komórkowością szpiku kostnego, zmniejszoną reprezentacją elementów układu czerwono krwinkowego i zwiększoną liczbą megakariocytów. Autorzy podkreślali znaczenie mutacji *MPL* jako czynnika ryzyka rozwoju powikłań w mikrokrążeniu (np. erytromelalgii), sugerując związek tej mutacji z nadmierną reaktywnością płytek. Ryzyko zakrzepicy tętniczej u tych chorych było większe jedynie w porównaniu z chorymi, u których nie wykryto ani mutacji *MPL*, ani *JAK2*.

## Leukocytoza

Wyniki wielośrodkowego badania ECLAP wykazały, że u chorych z CzP, u których liczba krwinek białych przekracza 15 G/l, ryzyko powikłań zakrzepowych jest większe w porównaniu z chorymi, u których ta liczba jest mniejsza niż 10 G/l [28]. Podobnie u chorych z NS podwyższona leukocytoza w momencie rozpoznania większa niż 8,7 G/l kojarzy się z częstszym występowaniem zakrzepicy w czasie trwania choroby [29]. Znaczenie zwiększonej leukocytozy jako czynnika ryzyka zakrzepicy opisywał również Tefferi w roku 2007 [30]. Gangat i wsp. na podstawie analizy 605 pacjentów z NS stwierdzili z kolei, że leukocytoza powyżej 15 G/l wiąże się ze skróconym czasem przeżycia chorych [4]. W roku 2011 wykazano natomiast, że podwyższona wartość leukocytów w czasie rozpoznania jest czynnikiem ryzyka powikłań tętniczych u chorych z PMF, a nie u chorych z NS [31]. W celu zweryfikowania znaczenia podwyższonej wartości krwinek białych jako czynnika ryzyka zakrzepicy konieczne wydaje się przeprowadzenie badań prospektywnych.

## Proponowane nowe czynniki ryzyka zakrzepicy

### Polimorfizm 4G/5G lub 4G/4G w regionie promotorowym genu PAI-1

Inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1) jest jednym z głównych regulatorów fibrynolizy w warunkach *in vivo*. Nadmierna jego ekspresja może prowadzić do zaburzeń w rozpuszczaniu fibryny, odkładania się złożeń fibryny i epizodów zakrzepicy. Cytokiny, czynniki wzrostu, hormony, insulina regulują ekspresję genu *PAI-1* [32]. Odkryto również, że niektóre polimorfizmy genu *PAI-1* wpływają na aktywność PAI-1. Polimorfizm insercyjno-delecyjny guanozyny w regionie promotorowym genu *PAI-1* w pozycji 675 bp, nazwany 4G/5G, został opisany przez Dawsona w roku 1993 [33]. Wielu autorów wykazało istnienie związku pomiędzy obecnością allelu 4G a zwiększoną aktywnością PAI-1 u chorych z zawałem serca, zakrzepicą żył głębokich kończyn dolnych, cukrzycą, a nawet u zdrowych osób. Akhter i wsp. [34] wykazali istotny statystycznie związek pomiędzy obecnością polimorfizmu 4G/5G genu *PAI-1* a

częstszym występowaniem zakrzepicy żył głębokich wśród mieszkańców Indii. Już w roku 1998 Zöller [35] stwierdził, że polimorfizm regionu promotorowego genu *PAI-1* jest czynnikiem ryzyka zatorowości płucnej i zakrzepicy tętniczej u osób z wrodzonym niedoborem białka S. Istnienie tej tendencji potwierdził w roku 2000 Segui [36], stwierdzając, że obecność polimorfizmu 4G/5G lub 4G/4G regionu promotorowego genu *PAI-1* jest czynnikiem ryzyka zakrzepicy u osób ze zmianami o typie trombofilii tzn. z obecnością mutacji Leiden genu czynnika V, mutacji G20210A genu protrombiny, niedoborem białka C, S, AT oraz niedoborem kofaktora II trombiny. Natomiast stwierdzenie tylko istnienia polimorfizmu 4G/5G genu *PAI-1* nie wydaje się zwiększać ryzyka powikłań zakrzepowych, co wykazano u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu [37]. Niewiele jest danych w literaturze dotyczących wpływu polimorfizmu genu *PAI-1* czy podwyższonego poziomu *PAI-1* na powikłania zakrzepowe u chorych z nadpłytkowością samoistną. W roku 1999 opisano chorego z NS z wieloma epizodami zakrzepicy tętniczej i podwyższonym poziomem *PAI-1* [38]. Rozstrzygnięcie problemu, czy polimorfizm regionu promotorowego genu *PAI-1* jest czynnikiem ryzyka powikłań zakrzepowych, wymaga dalszych badań.

## Klonalność a zwiększone ryzyko zakrzepicy

Poszukiwanie biologicznego markera zakrzepicy nie jest niczym nowym. W roku 1999 wykazano, że u chorych z NS, których neutrofile wykazywały cechy klonalności, stwierdzono podwyższone ryzyko powikłań zakrzepowych [39]. Cechy klonalności badano za pomocą metody *XCIP*-analizującej indywidualny, wrodzony stopień inaktywacji chromosomu X, oceniano również zmiany zachodzące wraz z wiekiem. Metoda ta ma wiele ograniczeń, jest czasochłonna i wykonywana głównie w laboratoriach naukowych. W przeciwieństwie to tego badanie skriningowe wykrywające obecność mutacji *JAK2* jest łatwo dostępne dla większości szpitali. W związku z tym, że obecność mutacji *JAK2* również świadczy o klonalności hematopoezy, może ona wiązać się ze zwiększonym ryzykiem zakrzepicy.

## Włóknienie retikulino szpiku czynnikiem ryzyka zakrzepicy

Niekorzystny wpływ nadmiernego włóknienia retikulino szpiku w momencie rozpoznania NS wykazano w badaniu PT-1 (*Primary-Thrombocythemia 1 trial*). Skojarzone jest ono z istotnie statystycznie zwiększonym ryzykiem zakrzepicy tętniczej, występowaniem powikłań krwotocznych i transformacji do mielofibrozy [40].

## Ocena czynników ryzyka zakrzepicy „IPSET-thrombosis”

W roku 2012 Barbui i wsp. [41] przedstawili nową klasyfikację oceny ryzyka powikłań zakrzepowych u chorych z NS diagnozowanych na podstawie kryteriów WHO, nazwaną

**Tabela II – Klasyfikacja IPSET-thrombosis**  
**Table II – IPSET-thrombosis classification**

Wiek >60. roku życia	1 pkt
Przebyta zakrzepica	2 pkt
Współistnienie sercowo-naczyniowych czynników ryzyka	1 pkt
Obecność mutacji JAK2 V617F	2 pkt

IPSET-thrombosis (IPSET-International Prognostic Score of thrombosis in WHO-diagnosed ET). Na podstawie analizy wielowariantowej wybrano cztery czynniki ryzyka: wiek powyżej 60. roku życia, przebyte epizody zakrzepowe, współistnienie sercowo-naczyniowych czynników ryzyka i obecność mutacji JAK2 V617F, którym przypisano odpowiednią punktację (Tab. II).

Na podstawie tej klasyfikacji: chorych z NS i 1 punktem zakwalifikowano do grupy małego ryzyka, chorych z punktacją 2 – do grupy pośredniego ryzyka, a chorych z więcej niż 2 punktami – do grupy dużego ryzyka zakrzepicy. W grupie małego ryzyka zakrzepica spodziewana jest u 1,03% pacjentów w ciągu roku, w grupie pośredniego ryzyka u 2,35% pacjentów na rok, a w grupie dużego ryzyka u 3,56% pacjentów na rok.

Tiziano Barbui w pracy z 2013 roku podkreślił szczególną przydatność tej klasyfikacji w prognozowaniu wystąpienia powikłań zakrzepowych u nowozdiagnozowanych chorych z NS [42]. Uważa on, że przy podejmowaniu decyzji o zastosowaniu leczenia cytotoredukcyjnego w intencji zapobiegania powikłaniom zakrzepowym należy wziąć pod uwagę potencjalne niebezpieczeństwa związane z tym rodzajem leczenia i ograniczyć je wyłącznie do chorych z grupy dużego ryzyka.

Na podstawie przeglądu danych z literatury można wnioskować, że u chorych z nadpłytkowością samoistną mutacja JAK2 V617F może być czynnikiem ryzyka zakrzepicy zwłaszcza w połączeniu z innymi parametrami przedstawionymi w klasyfikacji IPSET. Jednak potrzebne są dalsze obserwacje kliniczne potwierdzające słuszność tej koncepcji.

### Wkład autorów/Authors' contributions

Według kolejności.

### Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

### Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

### Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

### PIŚMIENNICTWO/REFERENCES

- [1] Tefferi A, Thiele J, Orazi A, et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostics criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 2007;110:1092-1097.
- [2] Besses C, Cervantes F, Pereira A, et al. Major vascular complications in essential thrombocythemia: a study of the predictive factors in a series of 148 patients. *Leukemia* 1999;13:150-154.
- [3] Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, et al. Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica* 2008;93:1645-1651.
- [4] Gangat N., Strand J, Ki CY, et al. Leucocytosis in polycythemia vera predicts both inferior survival and leukaemic transformation. *Br J Haematol* 2007;138:354-358.
- [5] Wolanskyj AP, Schwanger SM, McLure RF, Larson DR, Tefferi A. Essential thrombocythemia beyond the first decade: life expectancy, long-term complication rate, and prognostic factors. *Mayo Clin Proc* 2006;81:159-166.
- [6] Jantunen R, Juvonen E, Ikkala E, et al. The predictive value of vascular risk factors and gender for the development of thrombotic complications in essential thrombocythemia. *Ann Hematol* 2001;80:74-78.
- [7] Goodnight SH, Griffin JH. Hereditary thrombophilia. W: Williams i wsp, red. *Hematology*. 6 ed. McGraw-Hill; 2001.
- [8] Lewandowski K, Turowiecka Z, Rożek M, Markiewicz WT, Zawilska K. Częstość mutacji Leiden genu czynnika V u chorych na żylną chorobę zakrzepowo-zatorową: analiza kolejnych 147 przypadków. *Acta Haematol Pol* 1997;28: 31-37.
- [9] van Hylckama Vlieg A, van der Linden IK, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. *Blood* 2000;95:3678-3682.
- [10] Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN, Bertina RM, Rosendaal FR. High levels of coagulation factor XI as a risk for venous thrombosis. *N Engl J Med* 2000;342:696-701.
- [11] Lentz SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2005;3:1646-1654.
- [12] Ruggeri M, Gisslinger H, Tosetto A, et al. Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol* 2002;71:1-6.
- [13] Gisslinger H, Müllner M, Pabinger I, et al. Mutation of the prothrombin gene and thrombotic events in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia: a cohort study. *Haematologica* 2005;90:408-410.
- [14] De Stefano V, Tommaso Z, Rossi E, et al. Influence of the JAK2 V617F mutation and inherited thrombophilia on the thrombotic risk among patients with essential thrombocythemia. *Haematologica* 2009;94:733-737.
- [15] Amitrano L, Guardascione MA, Ames PR, et al. Thrombophilic genotypes, natural anticoagulants, and plasma homocysteine in myeloproliferative disorders: relationship with splanchnic vein thrombosis and arterial disease. *Am J Hematol* 2003;72:75-81.
- [16] Sędzimirska M, Sok-Grochowska A, Sobczyńska-Konefał M, et al. Genetyka molekularna czerwienicy prawdziwej, nadpłytkowości samoistnej i pierwotnego zwłóknienia szpiku. W: Witt M, Szczepański T, Dawidowska M, reds. *Hematologia molekularna, patogeneza, patomechanizmy i metody badawcze*. Poznań: Ośrodek Wydawnictw Naukowych; 2009. p. 87-94.
- [17] Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Clinical profile of homozygous JAK2 617 V>F mutation in patients

- with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* 2007;110:840-846.
- [18] Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005;366:1945-1953.
- [19] Passamonti F, Rumi E, Pungolino E, et al. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med* 2004;117:755-761.
- [20] Cheung B, Radia D, Pantelidis P, Yadegarfar G, Harrison C. The presence of the JAK2 V617F mutation is associated with a higher hemoglobin and increased risk of thrombosis in essential thrombocythaemia. *Boh* 2005;132:244-250.
- [21] Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, et al. JAK2<sup>V617F</sup> mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005;131:208-213.
- [22] Ziakas PD. Effect of JAK2 V617F on thrombotic risk in patients with Essential thrombocythemia: measuring the uncertain. *Haematologica* 2008;93:1412-1414.
- [23] Dahabreh IJ, Zoi K, Giannouli S, Zoi C, Loukopoulos M. Is JAK2 V617F mutation more than a diagnostics index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocythemia. *Leuk Res* 2009;33:67-73.
- [24] Lussana F, Caberlon S, Pagani C, et al. Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythemia or idiopathic myelofibrosis: a systematic review. *Thromb Res* 2009;124:409-417.
- [25] Kerquelen Fuentes AE, Hernandez-Marover D, Lombardia L, Canales Albendea MA, Ridrigues de la Ruá A. Clinical significance of the quantification of JAK2V617F allele burden in classical Ph-negative myeloproliferative neoplasms. *Med Clin (Barc)* 2012;139:373-378.
- [26] Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL 515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006;108:3472-3476.
- [27] Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL 515 W>L/K mutation in essential thrombocythemia. *Blood* 2008;112:844-847.
- [28] Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor In patients with polycythemia vera. *Blood* 2007;109:2446-2452.
- [29] Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, et al. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors and Jak2 mutation status. *Blood* 2007;109:2310-2313.
- [30] Tefferi A, Gangat N, Wolanskyj A. The interaction between leukocytosis and other risk factors for thrombosis in essential thrombocythemia. *Blood* 2007;109:4105.
- [31] Thiele J, Kvasnicka HM, Müllauer L, et al. Essential thrombocythemia versus early myelofibrosis: a multicenter study to validate the WHO classification. *Blood* 2011;117:5710-5718.
- [32] Loskutoff DJ. Regulation of PAI-1 gene expression. *Fibrinolysis* 1991;5:197-206.
- [33] Dawson S, Wiman B, Hamsten A, et al. The two allele sequences of a common polymorphism in the promotor of the plasminogen activator inhibitor (PAI-1) gene respond differently to interleukin -1 in hepG2 cell. *J Biol Chem* 1993;268:10739-10745.
- [34] Akhter MS, Biswas A, Ranjan R, et al. Plasminogen activator inhibitor -1 (PAI-1) gene 4G/5G promotor polymorphism is seen in higher frequency in the Indian with deep vein thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2010;16:184-188.
- [35] Zöller B, Garcia de Frutos P, Dahlbäck B. A common 4G allele in the promoter of plasminogen activator inhibitor -1 (PAI-1) gene as a risk factor for pulmonary embolism and arterial thrombosis in hereditary protein S deficiency. *Thromb Haemost* 1998;79:802-807.
- [36] Segui R, Estellés A, Mira Y, et al. PAI-1 promoter 4G/5G genotype as an additional risk factor for venous thrombosis in subject with genetic thrombophilic defects. *Br J Haematol* 2000;111:122-128.
- [37] Chen CH, Eng HL, Chang CJ, et al. 4G/5G promotor polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1, lipid profiles, and ischemic stroke. *J Lab Clin Med* 2003;142:100-105.
- [38] Senno SL, Pechet L. Clinical implications of elevated PAI-1 revisited: multiple arterial thrombosis in a patient with essential thrombocythemia and elevated plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels: a case report and review of the literature. *J Thromb Thrombolysis* 1999;8:105-112.
- [39] Harrison CN, Gale RE, Machin SJ, Linch DC. A large proportion of patients with a diagnosis of essential thrombocythemia do not have a clonal disorder and may be at lower risk of thrombotic complications. *Blood* 1999;93:417-424.
- [40] Campbell PJ, Bareford D, Erber WN, et al. Reticulin accumulation in essential thrombocythemia: prognostic significance an relationship to therapy. *J Clin Oncol* 2009;27:2991-2999.
- [41] Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood* 2012;120:5128-5133.
- [42] Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood* 2013;122:2176-2184.