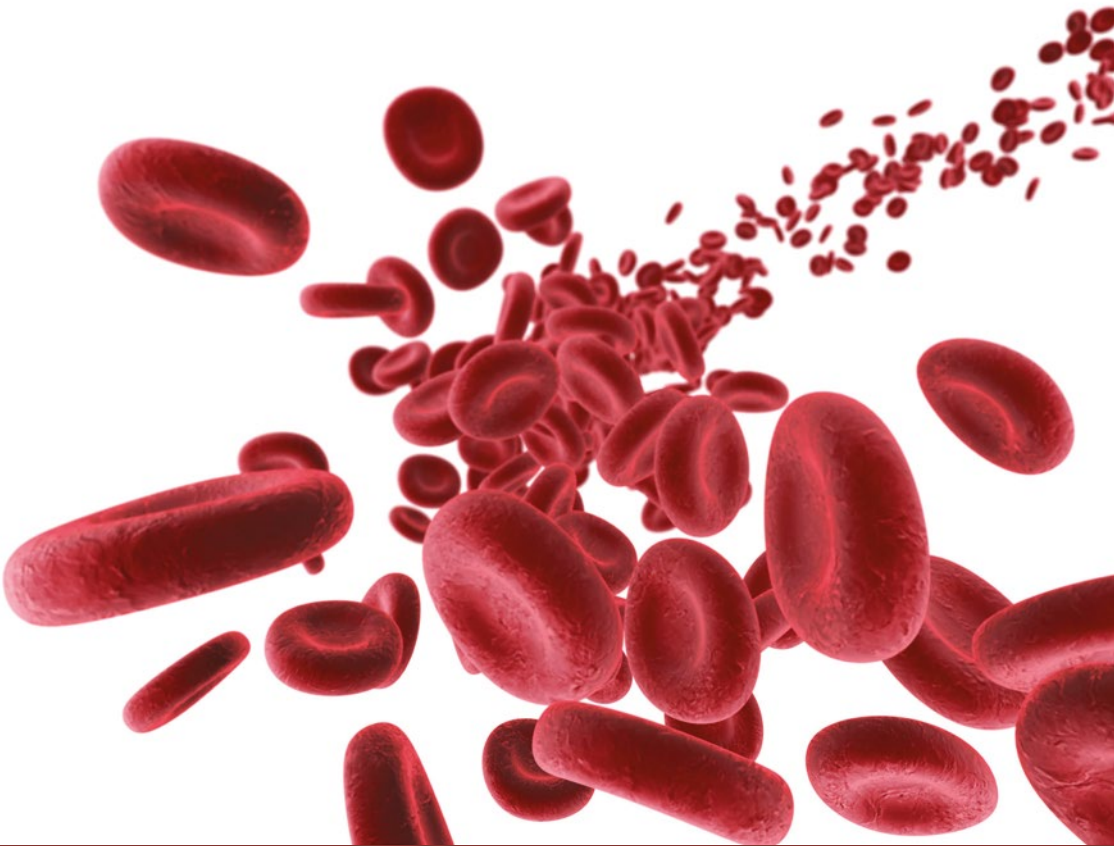


TIZIANO BARBUI

Le neoplasie Mieloproliferative Philadelphia Negative

Un approccio per problemi



Oxys™ Publishing
Copyright © 2012
Printed in Italy
ISBN 979-12-82174-09-1

COORDINATORE EDITORIALE

Tiziano Barbui

Professore di Ematologia Unità di Ematologia e Fondazione
per la Ricerca, Ospedali Riuniti, Bergamo, Italia

AUTORI

Tiziano Barbui

Professore di Ematologia,
Unità di Ematologia e Fondazione
per la Ricerca,
Ospedali Riuniti, Bergamo

Giovanni Barosi

Direttore Laboratorio di Epidemiologia
Clinica e Centro per lo Studio della
Mielofibrosi, Fondazione IRCCS,
Policlinico San Matteo, Pavia

Valerio De Stefano

Professore Ordinario di Ematologia,
Istituto di Ematologia,
Università Cattolica,
Policlinico A. Gemelli, Roma

Anna Falanga

Direttore Divisione di
Immunoematologia e Medicina
Trasfusionale,
Ospedali Riuniti, Bergamo

Guido Finazzi

Responsabile USS Malattie
Mieloproliferative Croniche,
USC Ematologia,
Ospedali Riuniti, Bergamo

Francesco Passamonti

Direttore Ematologia
Azienda Ospedaliera Ospedale di
Circolo e Fondazione Macchi, Varese

Marco Ruggeri

Responsabile USS Coordinamento
Sezione di Degenza Ordinaria
USC Ematologia,
Ospedale San Bortolo, Vicenza

Alessandro M Vannucchi

Professore Associato di Ematologia,
Sezione di Ematologia,
Dipartimento di Area Critica,
Università degli Studi, Firenze

CONTRIBUTI

Elisabetta Antonioli

U.O. Ematologia,
Azienda Ospedaliera Universitaria
Careggi, Firenze

Domenica Caramazza

U.O. Ematologia,
Azienda Ospedaliera Ospedale di
Circolo e Fondazione Macchi, Varese

Alessandra Carobbio

Unità di Ematologia e Fondazione
per la Ricerca,
Ospedali Riuniti, Bergamo

Patrizia Chiusolo

Ricercatore Universitario di Ematologia
Istituto di Ematologia,
Università Cattolica Policlinico A.
Gemelli, Roma

Cecilia Del Curto

U.O. Ematologia,
Azienda Ospedaliera Ospedale Niguarda
Cà Granda, Milano

Elena Elli

U.O. Ematologia,
Azienda Ospedaliera Ospedale San
Gerardo, Monza

Paola Guglielmelli

Ricercatore TD
Sezione di Ematologia Dipartimento di
Area Critica,
Università degli Studi, Firenze

Margherita Maffioli

U.O. Ematologia,
Azienda Ospedaliera Ospedale di
Circolo e Fondazione Macchi, Varese

Marina Marchetti

Ricercatore “Centro Emostasi e
Trombosi”
Divisione di Immunoematologia e
Medicina Trasfusionale,
Ospedali Riuniti, Bergamo

Lisa Pieri

Assegnista di ricerca
Sezione di Ematologia Dipartimento di
Area Critica,
Università degli Studi, Firenze

Elena Rossi

Ricercatore Universitario di Ematologia
Istituto di Ematologia Università
Cattolica,
Policlinico A. Gemelli, Roma

Laura Russo

Ricercatore “Centro Emostasi e
Trombosi”
Divisione di Immunoematologia e
Medicina Trasfusionale,
Ospedali Riuniti, Bergamo

INDICE

Autori	I
Contributi	II
 Prefazione	 1
 1. Conoscenze generali	 2
1.1 Epidemiologia	2
1.2 Basi molecolari, patogenesi e fisiopatologia	4
1.3 Sistemi diagnostici attuali	14
1.4 Storia naturale e manifestazioni cliniche	19
1.5 Valutazioni di laboratorio	21
1.6 Strategie terapeutiche	24
 2. La diagnosi	 34
2.1 Il paziente con eritrocitosi	34
2.2 Il paziente con trombocitosi	40
2.3 Il paziente con leucocitosi	49
2.4 Il paziente con splenomegalia	56
2.5 Diagnostica molecolare nei pazienti JAK2V617F negativi	66
2.6 Diagnosi di neoplasia mieloproliferativa in paziente con trombosi venosa in sedi atipiche	75
 3. La terapia	 86
3.1 Mielofibrosi	86
3.1.1 Il paziente asintomatico	86
3.1.2 Il paziente con diagnosi di mielofibrosi prefibrotica	87
3.1.3 Il paziente con anemia	88
3.1.4 Il paziente trasfusione-dipendente con iperferritinemia	91
3.1.5 Il paziente con ipertensione portale	92
3.1.6 Il paziente con splenomegalia sintomatica	93
3.1.7 Indicazioni al trapianto di cellule staminali	98
3.1.8 Il paziente con malattia in fase accelerata e in fase leucemica	99

3.2	Policitemia e trombocitemia essenziale	105
3.2.1	Il paziente asintomatico	105
3.2.2	Il paziente con eritrocitosi idiopatica	111
3.2.3	Quando il trattamento citostatico nella TE e PV	113
3.2.4	Terapia di seconda linea nel paziente con PV e TE	121
3.2.5	Il paziente con policitemia vera e con trombocitemia in trasformazione mielofibrotica	123
4.	Situazioni particolari	140
4.1	La gravidanza e altri problemi femminili	140
4.2	Le forme pediatriche e giovanili	145
4.3	Il paziente con complicazioni vascolari	149
4.4	Le trombosi in sedi atipiche	154
4.5	La valutazione del rischio trombotico: trombofilia e fattori di rischio generici	159
4.6	Il paziente con complicanze emorragiche	168
4.7	Profilassi primaria e secondaria con aspirina	173
4.8	I pazienti in situazioni a rischio: chirurgia, traumi e fratture, allettamento	178
4.9	Il paziente con ipertensione polmonare	184
4.10	Il monitoraggio del paziente in terapia antitrombotica	187
4.11	Il paziente con sintomi sistemici e/o prurito	202
5.	Informazione e counseling	228
5.1	Le necessità di informazione del paziente	228
5.2	Neoplasie mieloproliferative croniche: forme familiari	238

PREFAZIONE

Le conoscenze di fisiopatologia della Policitemia Vera (PV), Trombocitemia Essenziale (TE) e Mielofibrosi primaria (PMF) si sono di recente arricchite dalla scoperta di mutazioni genetiche ricorrenti che, in modelli sperimentali nell'animale, si sono dimostrate causative di questi tre fenotipi clinici. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) ha pubblicato nel 2008 i criteri diagnostici della PV, TE, PMF e ha considerato la presenza delle mutazioni come criterio diagnostico maggiore specifico per la diagnosi di questi disordini ora chiamati neoplasie mieloproliferative (MPN) croniche. In questa classificazione viene ribadita anche l'importanza della istopatologia del midollo osseo introducendo nuovi concetti di diagnosi differenziale. Questi criteri sono ora universalmente accettati e sostituiscono quelli del *Polycythemia Vera Study Group* (PVSG). Non sono ancora disponibili terapie in grado di eradicare il clone neoplastico che dà origine al fenotipo MPN e le attuali raccomandazioni nella PV e TE sono dirette ad utilizzare strategie di cura intese a ridurre il rischio cardiovascolare senza aumentare la loro naturale propensione di evoluzione in mielofibrosi e leucemia. Nella PMF, la terapia rimane palliativa, volta a correggere l'anemia, la splenomegalia, i sintomi costituzionali, salvo in alcuni casi in cui il trapianto di midollo osseo può avere un fine guaritivo.

Abbiamo pertanto ritenuto utile compiere una rassegna riguardo le nuove scoperte genetiche e gli studi di correlazione tra il genotipo e il fenotipo. Infatti queste nuove nozioni stanno modificando la pratica clinica contribuendo ad un moderno approccio alla diagnosi, prognosi e terapia di queste malattie. La responsabilità della scelta del contenuto dei singoli capitoli di questo libro è di tutti gli autori che hanno inteso rispondere a domande pratiche per la gestione quotidiana del singolo paziente con particolare riguardo alla diagnosi, la comunicazione, la scelta dei farmaci di prima e seconda linea, la tossicità dei trattamenti e la gestione di alcune situazioni particolari quali la gravidanza, la chirurgia, i casi pediatrici ed altre più rare. Gli autori sono stati identificati per la loro esperienza clinica e per i significativi contributi della loro ricerca scientifica che ha avuto e che continua ad avere grandi riconoscimenti internazionali.

Ho la speranza che questo lavoro possa essere utile non solo ai medici ma anche ai pazienti poiché contiene informazioni aggiornate non solo sulla gestione pratica ma anche sulle prospettive future della ricerca clinica e scientifica.

*Tiziano Barbui
Bergamo, Dicembre 2011*

CAPITOLO 1

CONOSCENZE GENERALI

Le neoplasie mieloproliferative (myeloproliferative neoplasms – MPNs) sono disordini clonali della cellula staminale emopoietica caratterizzati dalla proliferazione di una o più linee mieloidi (granulocitaria, eritroide, megacariocitaria, mastocitaria). Secondo la classificazione WHO, queste includono le MPNs cromosoma Philadelphia (Ph1) negative classiche, a cui appartengono la policitemia vera (PV), la trombocitemia essenziale (TE) e la mielofibrosi (MF).

La MF include la forma idiopatica (MF primaria) e le forme secondarie a precedente PV o TE (post-PV e post-TE MF). Le MPNs Ph1 negative classiche sono raggruppate per somiglianze fenotipiche e per comuni meccanismi biologici. La scoperta di anomalie molecolari ricorrenti, come JAK2V617F e MPL W515L/K, ha inoltre rafforzato l'originaria visione di Dameshek del 1951 secondo la quale queste malattie hanno un comune meccanismo patogenetico e presumibilmente appartengono a un unico disordine.

1.1 EPIDEMIOLOGIA

Studi epidemiologici su larghe popolazioni hanno calcolato che l'incidenza annua di PV è di 2-3 casi/100.000 abitanti, con frequenze più elevate nelle famiglie di discendenza ebraica. In Italia è stato condotto uno studio trasversale (cross sectional) nella città di Vicenza ed è stato accertato che la prevalenza di TE e PV è circa di 40 e 30 casi per 100.000 persone, rispettivamente. La PV è estremamente rara nei bambini e adolescenti (2 nuovi casi ogni 10 milioni di abitanti) confermando che in questa fascia di età la più comune causa di eritrocitosi è l'iperproduzione di eritropoietina nel corso di sindrome di Down, tumori (emangioblastoma, adenoma epatico) e malattie renali. Da notare che nella PV e TE pediatrica, la mutazione di JAK2V617F è significativamente meno frequente (<30%) che negli adulti

essendo relativamente più numerosi i casi ereditari caratterizzati da mutazioni di MPL e del recettore della eritropoietina. Pertanto, i criteri diagnostici di neoplasia mieloproliferativa nei bambini non possono essere quelli degli adulti e in presenza di poliglobulia nei bambini è necessario fare indagini per escludere difetti ereditari molecolari.

Pochi studi epidemiologici sono disponibili nella MF. L'incidenza annua nella città di Goteborg, in Svezia, misurata durante il periodo 1983-1992, è stata calcolata in 0,4 casi per 100.000 persone. Un'incidenza simile (0,37 casi per 100.000 persone) è stata riportata dal Registro Tumori del Tamigi (UK) che ha raccolto le neoplasie mieloidi negli adulti nel periodo 1999-2000. Una sintesi degli studi epidemiologici pubblicati in Europa, Australia, e Nord America rileva un'incidenza di MF variabile da 0,5 a 1,3 casi per 100.000 persone. In Giappone, la MF è considerata malattia molto rara, con una prevalenza di solo 84 casi per 100.000 persone. Una più alta incidenza di MF è stata riportata sia negli ebrei ashkenaziti che negli arabi che vivono nel Nord di Israele.

Nella PV e TE non è chiaro se l'esposizione a fattori ambientali quali benzene o basse dosi di radiazioni aumentino il rischio di sviluppare la MPN. L'incidenza di MF tra i sopravvissuti che sono stati a meno di 10.000 metri dall'ipocentro della bomba atomica di Hiroshima fu di 18 volte l'incidenza riportata nel resto del Giappone. Tali dati indicano un forte legame tra l'esposizione alle radiazioni ionizzanti e lo sviluppo di MF, che è ulteriormente suffragato dall'elevata incidenza di MF nei pazienti che hanno ricevuto il Thorotrast, mezzo di contrasto contenente torio radioattivo. Anche l'esposizione cronica a vari solventi industriali, tra cui benzene e toluene, è stata associata con lo sviluppo di MF, e la malattia è stata segnalata come complicazione di avvelenamento cronico da benzene, sostanza chimica impiegata nelle industrie del cuoio e calzature negli anni '30 e '40.

La mediana di età delle MPNs Ph1 negative classiche è intorno a 60-65 anni con una prevalenza di maschi per la PV e di femmine per la TE. In circa il 5-10% dei casi, la diagnosi viene formulata in pazienti di età inferiore ai 40 anni. L'età media alla diagnosi di MF è di circa 60 anni, e la maggior parte dei pazienti viene diagnosticata tra i 50 e 69 anni di età. In diverse serie, gli uomini sono colpiti più frequentemente rispetto alle donne, ma altre non confermano questa predominanza maschile. Raramente la MF è riportata in età pediatrica. In uno studio caso-controllo che comprendeva più di 11.000 pazienti con MPN e 25.000 parenti di primo grado, il rischio di sviluppare MPN fu 5-7 volte più elevato nei parenti di primo grado rispetto ai controlli, suggerendo l'esistenza di geni che predispongono l'insorgenza di PV, TE e MF.

1.2 BASI MOLECOLARI, PATOGENESI E FISIOPATOLOGIA

Gli studi di clonalità hanno stabilito che PV, TE e MF sono malattie che originano da una comune cellula staminale emopoietica la cui caratteristica è la ipersensibilità a citochine quali eritropoietina (EPO), trombopoietina (TPO), IL-3, IGF-1 e stem cell factor (SCF). Ne deriva una crescita autonoma di colonie emopoietiche che conduce a iperproduzione di eritrociti e piastrine.

1.2.1 Basi molecolari

Le conoscenze di fisiopatologia delle MPNs si sono di recente arricchite della scoperta di mutazioni geniche ricorrenti che, in modelli sperimentali nell'animale, si sono dimostrate in grado di causare fenotipi simili a quelli delle tre malattie. La mutazione di JAK2 nell'esone 14 (JAK2V617F) è stata descritta nel 2005 ed è la più frequente. Essa interessa più del 95% dei casi di PV, e il 50-60% dei pazienti con TE e MF.

La famiglia JAK è composta da quattro chinasi (JAK1, 2 e 3 e TYK2) che agiscono sul dominio citosolico dei recettori delle citochine. Le JAK chinasi possiedono due domini altamente omologhi nel loro terminale carbossilico: un dominio chinasi attivo (JH1) e un dominio pseudochinasi cataliticamente inattivo (JH2), regolatore negativo dell'attività JH1 chinasi. Nella porzione N-terminale della molecola, i domini JH5-JH7 contengono un motivo FERM (banda 4.1, ezrina, radixina e moesina) che svolge un ruolo nel legame con il dominio citosolico dei recettori delle citochine. JAK2 ha un ruolo centrale nella segnalazione dei recettori delle citochine "mieloidi". Si lega ai tre recettori omodimerici mieloidi (EPO-R, MPL (TPO-R), GCSF-R), ai recettori della prolattina e dell'ormone della crescita, a recettori eterodimerici (GM-CSF-R, IL-2-R e IL-5-R). JAK2 interviene anche nel traffico dei due recettori EPO-R e MPL e nella loro stabilità. Pertanto, JAK2 e i tre "recettori mieloidi" formano unità funzionali. La mutazione JAK2V617F risulta dalla sostituzione di una guanina in timidina al nucleotide 1849 del cDNA, nell'esone 14 del gene. Questa valina si trova in una delle interfacce dei domini JH1 e JH2 e la modificazione in fenilalanina riduce l'inibizione del dominio JH2 sul dominio chinasi. Vi sono prove che la segnalazione costitutiva di JAK2V617F richiede un recettore omodimerico, fornendo una giustificazione del perché la proliferazione indotta dalla mutazione JAK2V617F colpisca le tre linee mieloidi.

Accanto al ruolo nella cascata della via di segnale nel citosol della cellula, è stato recentemente dimostrato un ruolo della mutazione di JAK2 a livello nucleare

e in particolare sulla struttura cromatinica. Nelle cellule ematopoietiche, il JAK2 nucleare fosforila l'istone H3Y41 bloccando il reclutamento del repressore HP1 α e permettendo l'aumentata espressione di parecchi geni incluso l'oncogene LMO2.

Inoltre, JAK2V617F è stato recentemente descritto interagire fosforilando la proteina arginina-metiltransferasi PRMT5 con più alta affinità della molecola JAK2 wild type. Questa proprietà è stata ipotizzata distruggere l'interazione fra PRMT5 e il suo cofattore MEP50, portando a una diminuzione della attività metiltransferasica. Nel 50-80% dei rari pazienti (<5%) con PV senza la mutazione JAK2V617F (JAK2 wild-type) sono state riconosciute mutazioni di JAK2 localizzate nell'esone 12 che risultano in un fenotipo ematologico di isolata eritrocitosi e normalità del numero di leucociti e piastrine. Le mutazioni dell'esone 12 di JAK2 interessano l'arco della regione che lega i domini SH2 e JH2. Sebbene non siano localizzate nel dominio pseudochinasico, queste mutazioni possono modificare la struttura del dominio JH2 in un modo molto simile a V617F.

La terza alterazione molecolare ricorrente è rappresentata dalla mutazione del gene che codifica per il recettore della trombopoietina (MPL) di cui le più frequenti (3-7% dei casi di TE e MF) sono W515L o W515K. I risultati ottenuti in modelli animali hanno dimostrato che le mutazioni MPL inducono differenziazione megacariocitaria e trombocitosi. Parecchie mutazioni con guadagno di funzione sono state riportate nell'esone 10 del gene MPL, che danno luogo alla sostituzione di un triptofano 515 a una leucina, lisina, asparagina o alanina. L'aminoacido 515 è situato in un tratto di cinque aminoacidi trovato all'interno del citoplasma subito dopo il dominio transmembranario. Questi aminoacidi giocano un ruolo determinante nella conformazione citosolica di MPL e prevengono l'attivazione spontanea del recettore.

Modelli di topo transgenico o di trapianto retrovirale JAK2V617F, hanno dimostrato lo sviluppo di malattia mieloproliferativa con il fenotipo usualmente di PV che si trasforma in MF. Tuttavia, in alcuni modelli è stato osservato un disordine simile alla TE di solito transitorio. Questo fenotipo corrisponde a una espressione debole di JAK2V617F e supporta l'ipotesi che l'eterogeneità fenotipica della malattia indotta dalla mutazione JAK2V617F potrebbe essere dovuta all'intensità del segnale di JAK2, specialmente dal numero delle copie del gene JAK2V617F. Questa assunzione è in accordo con la situazione umana dove la maggior parte dei pazienti con TE hanno una singola mutazione V617F mentre nella maggior parte dei casi di PV sono presenti due copie della mutazione come risultato di disomia uniparentale. Inoltre sono state osservate variazioni ceppo-specifiche nel modello murino retrovirale suggerendo che geni modificatori sono coinvolti nel fenotipo della malattia. Questo si adatta anche con recenti risultati nell'uomo, dove cellule eritroidi

JAK2V617F-eterozigoti da pazienti con PV e TE hanno mostrato differenti profili di espressione genica. Ciò sarebbe dovuto al fatto che le colonie eritroidi di pazienti con TE, ma non quelle di pazienti con PV, sono caratterizzate da attivazione costitutiva di STAT1, possibilmente attraverso l'attivazione del recettore gamma interferone 2 o un altro recettore che attiva STAT1. Questi dati suggeriscono l'esistenza di un gene modificatore nella malattia umana.

È stata individuata una serie elevata di geni coinvolti nel segnale intracellulare delle MPNs classiche Ph1 negative. Essi hanno una funzione di geni regolatori del segnale intracellulare dei recettori emopoietici, alcune volte con effetti di soppressione. LNK, CBL e SOCS 1, 2, 3 sono i geni più conosciuti (*Tabella 1.1*).

TABELLA 1.1 Geni coinvolti nella patogenesi delle neoplasie mieloproliferative (MPN)

Gene	Localizzazione	Funzione	Commento	Frequenza nelle MPN
JAK2	9p24	Tirosino chinasi, segnalazione	Guadagno di funzione	PV (95-99%); TE (50-70%); MF (40-50%)
MPL	1p34	Recettore, segnalazione	Guadagno di funzione	TE (4%); PMF (11%)
LNK	12q24	Adattore, regolazione di segnale	Perdita di funzione	TE (<5%); PMF (<5%); eritrocitosi JAK2 negative (25%); post MPN AML (13%)
CBL	11q23	Adattore, E3 ubiquitino ligasi, regolazione del segnale	Dominante negativo	PMF (6%); post-MPN AML
SOCS1	16p13.2	E3 ubiquitino ligasi, regolazione del segnale	Metilazione	TE (14-25%); PV (11-13%); PMF (17%)
SOCS2	12q22	E3 ubiquitino ligasi, regolazione del segnale	Metilazione	Tutte le MPN (28%)

SPCS3	17q25.3	E3 ubiquitino ligasi, regolazione del segnale	Metilazione, mutazione	TE (10%); PV (22%)
NRAS	1p13.2	GTPasi, segnalazione	Guadagno di funzione	Post MPN AML (7-13%)
NF1	17q11.2	Regolazione del segnale RAS	Delezione	PMF (0-6%); post TE/PV MF (14%)
TET2	4q24	Idrossimetilazione del DNA	Perdita di funzione	PV (15%); TE (4-11%); PMF (129%); post MPN AML (26%)
ASXL1	20q11.21	Modificazioni cromatiniche	Perdita di funzione	PV e TE (<7%); PMF (19-40%); post MPN AML (19%)
EZH2	7q35	Metilazione della cromatina	Perdita di funzione	PV (3%); PMF (13%)
IKZF1	7p12	Fattore di trascrizione, linfopoiesi	Delezione	post MPN AML (21%)
RUNX1	21q22.3	Fattore di trascrizione, ematopoiesi	Perdita di funzione	post MPN AML (37%)
RB	13q14	Ciclo cellulare, apoptosi	Delezione	PMF (19%)
TP53	17p13.1	Ciclo cellulare, apoptosi	Perdita di funzione	post MPN AML (20%)
IDH1	2q33.3	Metabolismo	Enzima neo-morfico	PMF (2%); post MPN AML (8%)
IDH2	15q26.1	Metabolismo	Enzima neo-morfico	PMF (2%); post MPN AML (18%)

PV= policitemia vera; TE= trombocitemia essenziale; PMF = mielofibrosi primaria; AML= leucemia mieloide acuta.

Alcuni geni sono coinvolti nel processo di trasformazione leucemica che avviene in circa il 15% dei pazienti con MF e in meno del 10% dei pazienti con PV e TE. Essi agiscono come agenti trasformanti in cui l'evento trasformante è rintracciabile nelle cellule blastiche ma non nella maggioranza delle cellule del clone MPN che precede la fase blastica. I più noti sono le mutazioni di IDH1/2, le delezioni del gene IKZF, mutazioni di MRAS/KRAS e delezioni di NF1, mutazioni di P53, mutazioni di RUNX1.

Un'ipotesi emergente postula che le mutazioni in molecole di segnalazione non sono sufficienti per lo sviluppo della malattia negli esseri umani e che molti eventi genetici collaboranti siano necessari per indurre la malattia e consentirne la progressione. Questa ipotesi si basa su quattro linee di evidenza.

Sono state descritte MPN familiari con trasmissione autosomica dominante. Il fenotipo di queste forme familiari corrisponde sia a una MPN classica (PV, TE), in assenza di trasmissione germinale di JAK2V617F o MPLW515L, o a un più ampio spettro di malattie (LMC, mastocitosi sistemica e anche leucemia acuta).

In alcuni pazienti con TE e PV clonali, la mutazione JAK2V617F era presente solo in una minoranza di cellule clonali, suggerendo l'esistenza di un clone pre-JAK2, in cui si è verificata la mutazione JAK2V617F. In alcune MPN in cui JAK2V617F era associata con la delezione 20q, questa delezione era presente nella maggioranza delle cellule mentre il carico allelico JAK2V617F era basso. Inoltre la mutazione JAK2V617F non era presente in tutte le colonie eritropoietino-indipendenti.

È stato riportato che in più del 50% delle leucemie acute che si sviluppano in MPN JAK2V617F mutate erano JAK2 wild-type. Questo suggerisce l'esistenza di un clone pre-JAK2 e di due eventi genetici indipendenti: la mutazione JAK2V617F che ha portato alla MPN, una alterazione genetica differente e non conosciuta che ha portato alla leucemia.

Le caratteristiche dell'emopoiesi JAK2V617F mutata sono in alcuni casi non coerenti con una MPN che coinvolga una cellula staminale emopoietica. Nella maggior parte delle PV e TE, il carico allelico è basso nelle cellule staminali e la dominanza clonale avviene solo negli stadi tardivi dell'emopoiesi corrispondenti alla massima attività delle citochine emopoietiche. In contrasto, le cellule staminali emopoietiche JAK2V617F mutate predominano negli stadi avanzati di malattia mieloproliferativa come la MF e/o le MF secondarie. Questo suggerisce che la mutazione JAK2V617F conferisce solo un debole vantaggio alle cellule staminali.

Mediante lo sviluppo di saggi molecolari sull'intero genoma (whole genome assay) è stato identificato un elevato numero di mutazioni nelle MPN Ph1 negative e una grande quantità di queste mutazioni interessano geni che modificano la regolazione

epigenetica. Mutazioni di questi geni sono state trovate anche nelle sindromi mielodisplastiche e nelle leucemie acute mieloidi, suggerendo una comune patogenesi nei tre disordini, ma implicando che questi geni mutati non sono direttamente coinvolti nel fenotipo della malattia. I geni che potrebbero essere mutati prima di JAK2 nelle MPN normalmente partecipano al controllo epigenetico della trascrizione. Non è certo che tutte le mutazioni pre-JAK2 ancora da identificare cadano in questa categoria. Le mutazioni in TET2, ASXL1 ed EZH2 sono le mutazioni che cadono in questa categoria (*Tabella 1.1*).

Non è ancora chiarito perché la mutazione di JAK2V617F si associ a tre diversi fenotipi clinici e il dibattito verte anche sul nosografismo di queste entità. Alcuni autori, infatti, ritengono che PV, TE e MF non siano entità separate ma rappresentino differenti fasi della stessa malattia mieloproliferativa. L'evoluzione in MF e leucemia acuta rappresenterebbe le fasi avanzate e blastiche, rispettivamente, di TE e PV e, diversamente dalla leucemia mieloide cronica in cui l'evoluzione blastica è la regola, queste trasformazioni ematologiche non rappresentano un processo inevitabile e si verificano con maggior frequenza quando il carico allelico della mutazione di JAK2V617F diventa elevato (>50% - omozigote) o quando si acquisiscono nuove mutazioni. A sostegno di questo modello di continua evoluzione da TE e PV verso MF/leucemia, vi sono studi che suggeriscono che TE e JAK2V617F mutate hanno un fenotipo ematologico e clinico molto simile alla PV come documentato da più alti valori di emoglobina, leucocitosi neutrofila, ipoferritinemia e bassi valori di eritropoietina endogena. I casi di TE con la mutazione JAK2V617F tendono a trasformarsi con maggior frequenza in PV e sviluppano complicazioni vascolari in modo paragonabile a quella della PV.

Le scoperte di alterazione genica, gli studi di correlazione tra il genotipo e il fenotipo e la disponibilità di metodi commerciali per evidenziare tali difetti hanno modificato la pratica clinica contribuendo alla diagnosi, prognosi e terapia.

1.2.2 Megacariopoiesi e patogenesi delle MPN

Un ruolo preminente nella patogenesi delle MPN Ph1 negative classiche e nel determinismo fenotipico è giocato da alterazioni della differenziazione e proliferazione della linea megacariocitaria. Alterazioni del numero, topografia, morfologia e tendenza alla aggregazione dei megacariociti nel midollo osseo sono così peculiari da essere inclusi come criteri di diagnosi differenziale di queste malattie. Nella PV, i megacariociti sono aumentati in numero e hanno anomalie morfologiche caratteristiche, quali i nuclei iperlobati. Essi si distinguono da quelli della TE, che in genere tendono a

formare gruppi e spesso mostrano un notevole grado di pleiomorfismo con dimensioni variabili. La MF è caratterizzata da iperplasia importante e atipie dei megacariociti, i cui nuclei appaiono ipolobati e densi a forma di nuvola.

Un equivalente della iperplasia dei megacariociti visibile istologicamente nel midollo osseo è stato documentato negli studi di proliferazione e differenziazione *in vitro* delle cellule staminali CD34+ circolanti. I progenitori emopoietici delle MPN hanno una intensa capacità di generare megacariociti. Essa è dovuta a una diminuzione del tasso di apoptosi, come suggerito dalla sovra-espressione della proteina antiapoptotica Bcl-xL. Nelle MPN la capacità delle cellule staminali di generare megacariociti non è correlata alla presenza della mutazione V617F del gene JAK2. Questo risultato suggerisce che altre, ancora sconosciute, mutazioni genetiche possono contribuire alla esaltata megacariopoiesi delle MPN. Gli studi della megacariopoiesi *in vitro* dimostrano che le alterazioni morfologiche dei megacariociti descritte istologicamente vengono riprodotte con sorprendente somiglianza. I megacariociti da cellule staminali di pazienti con MF sono più piccoli e hanno un indice di ploidia inferiore di quelli di pazienti con PV e TE. Lo studio della megacariopoiesi *in vitro* permette inoltre di individuare meccanismi di regolazione della piastrinopoiesi specifici per le tre malattie. I megacariociti della MF hanno un grave difetto nella formazione di propiastri, in contrasto con TE e PV. Inoltre è stata documentata una correlazione positiva tra la formazione *in vitro* di propiastri e la conta delle piastrine nel sangue periferico dei pazienti MPN. Di particolare interesse è l'osservazione che megacariociti di pazienti con MF in stadio prefibrotico producono meno propiastri dei pazienti con TE, suggerendo l'ipotesi che questa sia una caratteristica biologica della MF prefibrotica che la distingue dalla TE, dalla quale è convenzionalmente separata solo su base morfologica. Nel loro complesso questi risultati evidenziano la presenza di un difetto intrinseco nello sviluppo dei megacariociti caratteristico di ogni categoria di MPN.

Nelle MPN classiche Ph1 negative, l'espressione del recettore di TPO (MPL) è caratteristicamente diminuita e l'entità della diminuzione si correla con il fenotipo della malattia. Secondo alcuni autori questa alterazione si affiancherebbe alla mutazione JAK2V617F quale momento patogenetico primario delle MPN. MPL è fondamentale per la crescita e lo sviluppo dei megacariociti, e in modelli murini in cui è assente, le piastrine e i megacariociti sono ridotti a circa il 10% dei valori normali. MPL non ha attività chinasi intrinseca, ma si associa a JAK2. Ulteriori elementi regolano l'internalizzazione del recettore e la successiva degradazione conseguente al legame TPO. Nelle MPN, la down-modulazione di MPL è stata dimostrata essere dipendente dalla espressione di JAK2 che funziona da chaperon per MPL ed è responsabile

della sua espressione sulla superficie. Spivak e collaboratori hanno dimostrato una reciprocità fra la carica allelica di JAK2V617F nei neutrofili e l'espressione di MPL sulle piastrine in pazienti affetti da MPN. Tuttavia la documentazione che MPL può essere gravemente down-regolato anche in pazienti JAK2V617F wild type ha fatto ipotizzare che la down-regolazione non è solo regolata dalla carica allelica di JAK2 mutato. La down-modulazione di MPL non si associa alla down-modulazione dell'RNA. Lo studio del metabolismo ha indirizzato verso una difettosa maturazione del recettore con accumulo di un recettore immaturo per quanto riguarda la sua glicosilazione.

Ove le alterazioni della megacariocitopoiesi sono morfologicamente più evidenti è nella MF. Lo studio delle vie di segnale intracellulare nei megacariociti della MF ha messo in evidenza un'alterazione delle vie di segnale intracellulare simile a quello che si riscontra nei processi infiammatori e che riguarda la via di segnale di FLT3. FL, il ligando per il recettore FLT3, è fisiologicamente prodotto prevalentemente da cellule stromali, inclusi i fibroblasti, probabilmente stimolati dal TGF- β . FL è di fondamentale importanza nella proliferazione di progenitori emopoietici primitivi.

Tuttavia, il ruolo di FL sulla megacariocitopoiesi normale appare controverso, in quanto non stimola, come agente singolo, progenitori megacariocitari ma aumenta la loro proliferazione in associazione con TPO. Il suo recettore, FLT3, è espresso dai progenitori mieloidi e dalle cellule staminali emopoietiche con una via di segnale che coinvolge MAPK. Nella MF, i livelli plasmatici di FL sono aumentati e l'aumento del ligando è associato a un'aberrante espressione di FLT3 in cellule CD34+ e nei megacariociti. Questo si accompagna ad alterazione della via MAPK e soprattutto di p38, indipendentemente dallo status di mutazione JAK2. La attiva segnalazione di FLT3 che provoca l'attivazione di MAPK, nota per essere coinvolta nel meccanismo di poliploidizzazione megacariocitaria, sembrerebbe partecipare alla dismegacariocitopoiesi che caratterizza la MF. Nel loro insieme, i risultati implicano che la coppia "FL/FLT3" sia coinvolta nella regolazione della megacariopoiesi della MF attraverso una persistente attivazione di p38-MAPK.

La dimostrazione che FL, prodotto dalle cellule stromali, partecipi nella megacariocitopoiesi alterata della MF supporta l'ipotesi che esista un dialogo anormale fra le cellule emopoietiche e le cellule stromali. Queste evidenze stimolerebbero a riconsiderare i concetti generali nella MF che vogliono che le modificazioni stromali siano secondarie alla proliferazione delle cellule emopoietiche, specialmente dei megacariociti.

1.2.3 Patogenesi della mielofibrosi

I meccanismi cellulari di progressione di TE e PV verso MF e di insorgenza della MF primaria non sono completamente conosciuti. Non è ancora possibile ipotizzare un modello in cui i meccanismi cellulari di progressione siano coerenti con le conoscenze di biologia molecolare e con le alterazioni delle vie di segnale cellulare alterate in conseguenza delle mutazioni genetiche, quale la via JAK-STAT attivata dalla mutazione JAK2V617F, e le modificazioni epigenetiche. La biologia della MF è caratterizzata da tre fenomeni: fibrosi midollare; neoangiogenesi midollare e splenica; mobilitazione costitutiva dei progenitori emopoietici con secondaria localizzazione (homing) in tessuti extramidollari. La fibrosi midollare rappresenta una reazione secondaria di cellule stromali midollari non coinvolte nel processo neoplastico. La natura secondaria della fibrosi midollare è confermata dai sistemi sperimentali, in cui l'esposizione di una varietà di modelli animali agli agenti chimici, solventi industriali, ormoni, virus, stimoli immunologici, e radiazioni ionizzanti portano allo sviluppo di mielofibrosi. Inoltre è documentato dalla pratica terapeutica trapiantologica che evidenzia inversione della mielofibrosi dopo trapianto allogenico di midollo osseo.

Il modello attualmente accettato della patogenesi della fibrosi midollare implica che fattori di crescita rilasciati dalle cellule neoplastiche emopoietiche stimolino la proliferazione dei fibroblasti del midollo e che i megacariociti siano la fonte primaria di tali fattori di crescita. Il ruolo dei megacariociti nello sviluppo di fibrosi nella MF è supportato dall'iperplasia megacariocitica con megacariociti displastici o necrotici che caratterizza la malattia, dall'aumento in circolo dei progenitori megacariocitari, dall'associazione di fibrosi midollare acuta e leucemia megacariocitica, e dalla presenza di mielofibrosi nella sindrome delle piastrine grigie (Gray platelet disease), una malattia ereditaria dei granuli delle piastrine. Castro-Malaspina e collaboratori hanno dimostrato che omogenati di cellule del midollo arricchito di megacariociti e omogenati piastrinici inducono la sintesi di DNA da parte dei fibroblasti del midollo umano, e hanno ipotizzato che megacariocitopoiesi inefficace nella MF è causa della liberazione di quantità eccessive di fattori di crescita, portando a un'espansione dei fibroblasti midollari e sintesi di collagene.

I fattori di crescita responsabili della proliferazione dei fibroblasti sono: fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF), transforming growth factor-beta (TGF- β), e fattore di crescita epidermico (EGF), tutti contenuti all'interno delle piastrine e degli alfa granuli dei megacariociti. La maggior parte delle evidenze sperimentali convergono nel riconoscere nel TGF- β il fattore di crescita più importante nella biogenesi della fibrosi midollare. TGF- β stimola la produzione di pro collagene di

tipo I e III e la sintesi di fibronectina da parte dei fibroblasti del midollo. TGF- β riduce la sintesi di vari enzimi che degradano la matrice extracellulare collagenasi-simile mentre al tempo stesso stimolano la sintesi di inibitori della proteasi, come l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno. L'effetto netto di queste interazioni complesse è l'accumulo di matrice extracellulare, che probabilmente contribuisce alla ulteriore progressione della fibrosi.

Il numero dei progenitori emopoietici CD34+ presenti nel sangue periferico di pazienti affetti da MF è 360 volte maggiore rispetto ai controlli normali e da 18 a 30 volte superiore rispetto ai pazienti con PV o TE. Barosi e collaboratori hanno dimostrato che il numero di cellule circolanti CD34+ tende ad aumentare con il progredire della malattia e che vi è una stretta associazione fra un numero molto elevato di cellule emopoietiche circolanti ($>300 \times 10^6/L$) e imminente evoluzione leucemica. La causa di questa anomalia non è stata ben definita, ma sembra rappresentare una caratteristica essenziale del difetto cellulare che porta alla MF. Due meccanismi sono stati individuati: l'ambiente proteasico midollare della MF e la diminuita espressione del recettore di SDF-1, CXCR4.

Altra caratteristica della MF è la proliferazione delle cellule endoteliali. Nel midollo osseo è visibile iperplasia sinusoidale e frequentemente i sinusoidi contengono focolai di ematopoiesi intraluminali. Thiele e collaboratori hanno ipotizzato che la neovascolarizzazione del midollo osseo nella MF sia mediata dai megacariociti e che quindi la neoangiogenesi e l'evoluzione fibrosclerotica siano processi intimamente correlati. I meccanismi di neoangiogenesi riconoscono fattori di crescita endoteliali, fra cui b-FGF e fattore di crescita delle cellule endoteliali vascolari (VEGF). Elevate concentrazioni di VEGF nel siero sono state riportate nella MF e una aumentata espressione di b-FGF è stata segnalata nei megacariociti e nelle piastrine della MF. Aumentata densità micro vascolare è stata riportata anche nella milza di pazienti con MF, ove, a differenza del midollo osseo, esistono due tipi di cellule endoteliali, una delle quali definita dalla positività del marcatore CD8. È ancora da dimostrare che la proliferazione delle cellule endoteliali nella MF non faccia parte del clone maligno che porta a questo processo di malattia. L'ipotesi dell'esistenza di endotelio maligno nelle MPN deriva da osservazioni di JAK2 positività nelle cellule endoteliali di casi di Budd Chari e di milza di pazienti con MF. Un evento mutante in una cellula chiamata emangioblasto, che è in grado di dare origine a cellule mieloidi ed endoteliali, è l'ipotesi che potrebbe spiegare la presenza di endotelio maligno in queste malattie.

1.3 SISTEMI DIAGNOSTICI ATTUALI

La diagnosi di PV viene sospettata in un paziente con elevati livelli di uno o più dei seguenti parametri: Ematocrito (Ht) superiore a 48% o 52% nelle femmine e maschi rispettivamente. Concentrazione di emoglobina (Hb) >16,5 o >18,5 g/dL nelle femmine e maschi rispettivamente. Si noti che il parametro Conteggio di globuli rossi (GR) non viene abitualmente usato. Queste tre misure di Ht, Hb e globuli rossi sono espresse come concentrazioni ematiche e di conseguenza dipendono dal volume plasmatico. Ne deriva che una deplezione cronica e isolata di plasma può elevare Hb e Ht (pseudopolicitemia o policitemia spuria o relativa). Per contro, nella policitemia assoluta la massa corpuscolare eritrocitaria è aumentata e può dipendere da condizioni primarie o secondarie. Si devono così distinguere: Policitemia assoluta primaria nella quale l'incremento della massa eritrocitaria è causato da mutazioni congenite o acquisite e comprende la policitemia vera e rare varianti familiari (mutazioni del recettore di Eritropoietina (EPO) configurando quadri bene caratterizzati quali quelli della policitemia di Chuvash. Nella diagnosi di eritrocitosi idiopatica rientrano i casi di pazienti che non hanno tutti i criteri che convenzionalmente definiscono la PV e che si caratterizza per la negatività della mutazione di JAK2V617F nell'esone 14 e per la positività della mutazione di JAK2 nell'esone 12. La Policitemia assoluta secondaria (PS) comporta un aumento della massa corpuscolare dovuto a eccessiva produzione di EPO in risposta alla ipossia o nel corso di tumori. I fumatori possono presentare aumenti dell'ematocrito dovuti sia ad aumentata produzione di globuli rossi che a diminuiti volumi plasmatici (policitemia combinata).

La diagnosi di Trombocitemia Essenziale (TE) viene considerata quando si documentano valori persistentemente elevati di piastrine (>450.000 mmc) in assenza di cause secondarie. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) ha di recente pubblicato i criteri diagnostici delle MPN (*Figure 1.1, 1.2, 1.3*) con lo scopo di aumentare la sensibilità e specificità diagnostica attraverso l'integrazione di criteri clinici, morfologici e molecolari. L'attuale sistema di classificazione diagnostica WHO delle neoplasie mieloproliferative Ph1 negative è stato influenzato da due fattori: la recente scoperta che le anomalie genetiche sono influenti nella patogenesi; la convinzione che gli aspetti istologici del midollo osseo si associano in modo significativo al fenotipo della malattia, quindi possono essere usati come criteri classificatori.

Nonostante siano stati ottenuti con il consenso di un vasto gruppo di esperti internazionali, i criteri diagnostici WHO non hanno ricevuto completo accordo da

parte della comunità scientifica. Alcuni autori sono rimasti fedeli alla misura della massa eritrocitaria come strumento obbligatorio per la diagnosi di PV, e hanno proposto criteri alternativi basati su un processo diagnostico fisiopatologico (*Figura 1.4*).

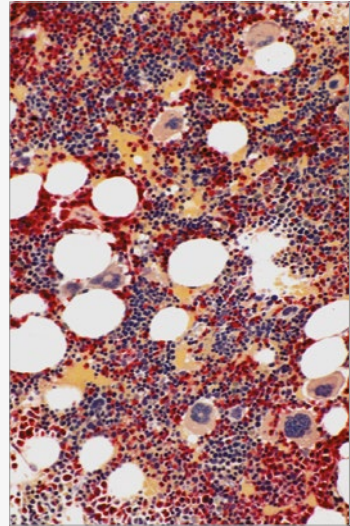
FIGURA 1.1 Criteri WHO (2008) per la diagnosi di policitemia vera

Criteri Maggiori

1. Emoglobina $>18,5$ g/dL negli uomini, $16,5$ g/dL nelle donne o altra dimostrazione di aumento del volume dei globuli rossi
2. Presenza di JAK2V617F o altre mutazioni funzionalmente simili come la mutazione JAK2 esone 12

Criteri Minori

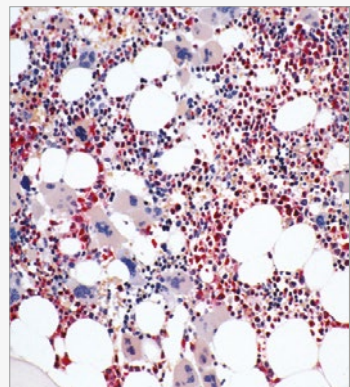
1. Biopsia del midollo osseo che mostra ipercellularità per l'età, con proliferazione trilineare (panmielosi) con cellularità eritroide, granulocitaria e megacariocitaria prominente
2. Eritropoietina sierica al di sotto del normale range di riferimento
3. Formazione di colonie eritroidi endogene *in vitro*



La diagnosi necessita la presenza di entrambi i criteri maggiori e un criterio minore; oppure la presenza del primo criterio maggiore insieme a due criteri minori.

FIGURA 1.2 Criteri WHO (2008) per la diagnosi di trombocitemia essenziale

1. Conta piastrinica $\geq 450 \times 10^9/L$
2. Biopsia del midollo osseo che mostra proliferazione dei megacariociti con aumento del numero di elementi maturi di grandi dimensioni. Nessun aumento significativo della granulopoiesi o eritropoiesi
3. Mancanza dei criteri WHO per la policitemia vera, mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica BCR-ABL1 positivo, sindrome mielodisplastica o altre neoplasie mieloidi
4. Dimostrazione di JAK2V617F o di altri marcatori di clonalità, o, in mancanza di JAK2V617F, esclusione di trombocitosi reattiva



La diagnosi necessita di tutti i 4 criteri.

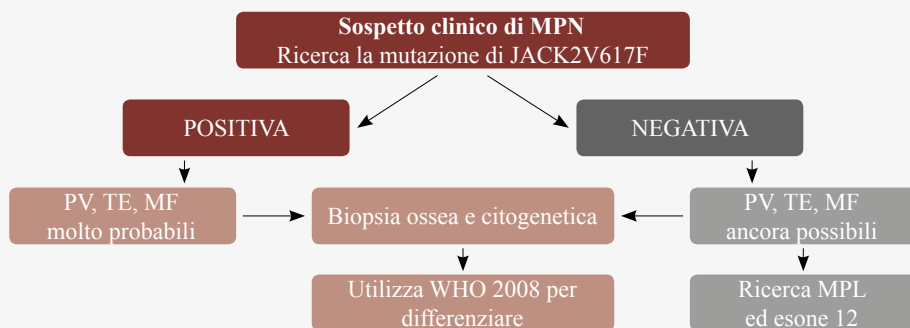
FIGURA 1.3 Criteri WHO (2008) per la diagnosi di mielofibrosi primaria**Criteri Maggiori**

1. Presenza di proliferazione megacariocitaria con atipie, di solito accompagnata da fibrosi reticolinica e/o collagene, o in assenza di fibrosi reticolinica significativa, le alterazioni megacariocitarie devono essere accompagnate da aumentata cellularità del midollo osseo caratterizzata dalla proliferazione granulocitaria con spesso diminuita eritropoiesi (cioè fase prefibrotica cellulare)
2. Mancanza dei criteri WHO per la policitemia vera, leucemia mieloide cronica BCR-ABL1+, sindrome mielodisplastica, o altre neoplasie mieloidi
3. Dimostrazione di JAK2V617F o di altri marker di clonalità (ad esempio W515K MPL/L), o in mancanza di un marcatore clonale, escludere che la fibrosi del midollo osseo è secondaria ad infezioni, disordini autoimmuni o di altre condizioni infiammatorie croniche, hairy cell leukemia, o altre neoplasie linfoidi, neoplasie metastatiche o mielopatie tossiche

Criteri Minori

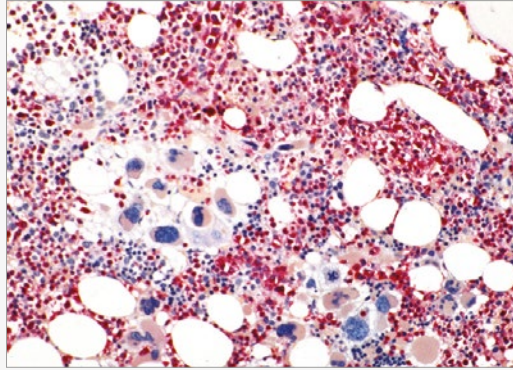
1. Leucoeritroblastosi
2. Aumentato livello sierico di LDH
3. Anemia
4. Splenomegalia

La diagnosi necessita la presenza di entrambi i criteri maggiori e un criterio minore; oppure la presenza del primo criterio maggiore insieme a due criteri minori.

FIGURA 1.4 Algoritmo diagnostico utile per la pratica giornaliera

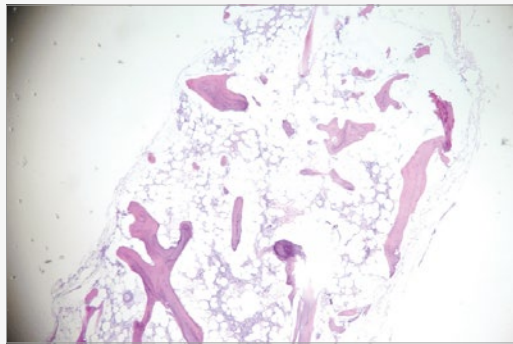
Altri hanno espresso scetticismo circa l'uso di criteri classificatori prevalentemente istologici che portano a distinguere TE dalla variante di MF detta prefibrotica. Questa distinzione, basata sulla morfologia dei megacariociti, descritti nella TE come ampi e maturi, mentre nella mielofibrosi prefibrotica di dimensioni variabili, con rapporto nucleo/citoplasmatico aberrante e nuclei ipercromici, bulbosi, o irregolarmente ripiegati e con formazione di clusters densi (Figura 1.5), non è stata riconosciuta in uno studio di concordanza diagnostica fra esperti anatomopatologi.

FIGURA 1.5 Mielofibrosi prefibrotica: cluster di megacariociti con nucleo lobato



È importante inoltre notare che non tutti i pazienti con MF rispettano i criteri istologici WHO basati sulla iperplasia cellulare e megacariocitaria. Infatti, varianti rare di MF, quale la mielofibrosi a midollo grasso (*Figura 1.6*), contraddicono questo criterio, rivelando la non ottimale sensibilità della definizione WHO.

FIGURA 1.6 Mielofibrosi a midollo grasso



Tuttavia, se i criteri diagnostici WHO possono trovare critiche e possono dimostrarsi poco sensibili per la classificazione diagnostica del singolo paziente, ampiamente condivisibile è la filosofia sottostante che vuole che criteri uniformi di diagnosi siano essenziali per la ricerca e in modo particolare per la inclusione dei pazienti negli studi clinici. Si deve tener presente che i vecchi criteri diagnostici

del *Polycythemia Vera Study Group* (PVSG) furono concepiti per escludere le forme secondarie sia di policitemia che di trombocitemia in modo da includere nei loro studi sperimentali terapeutici forme conclamate di MPN. Questi criteri hanno costituito lo standard diagnostico nella pratica clinica, e le linee guida attuali circa la stratificazione prognostica e la terapia sono basate sui risultati ottenuti in pazienti con diagnosi conclamata e avanzata di MPN. Attualmente invece, adottando i criteri WHO, che includono le mutazioni genetiche, la diagnosi viene formulata anche in casi con livelli ematici di Ematocrito (Ht) e piastrine inferiori a quelli riportati nella classificazione PVSG. Ad aumentare la sensibilità e specificità diagnostica, la WHO 2008 ha sottolineato l'importanza dei livelli sierici di eritropoietina (EPO) e ha enfatizzato il ruolo dell'esame biptico midollare. Ne deriva che è possibile fare diagnosi in stadi iniziali non riconoscibili con i criteri diagnostici del PVSG. A sostenere questi concetti vi sono alcune osservazioni derivate dalla pratica clinica. In uno studio italiano, il 14 % degli eventi trombotici occorsi in più di 1.000 pazienti, sono stati registrati durante i due anni antecedenti la diagnosi secondo i criteri del PVSG cosicché si potrebbe speculare che questi pazienti sarebbero oggi precocemente riconosciuti con gli attuali criteri WHO e che questo potrebbe avere un impatto sulla condotta terapeutica e possibilmente influenzare i risultati terapeutici. L'utilità della valutazione morfologica del midollo osseo, criterio maggiore nella diagnosi di TE e minore nella PV, emerge anche in un'altra condizione clinica.

Nelle trombosi venose splancniche, nella sindrome di Budd-Chiari e nelle trombosi dei seni venosi cerebrali, è stata descritta con una certa frequenza la mutazione di JAK2V617F in assenza di alterazioni dei conteggi ematici rendendo problematica sia l'interpretazione del significato della mutazione che la diagnosi di malattia mieloproliferativa. In questi casi i criteri WHO possono confermare la diagnosi di stadi prodromici di malattie mieloproliferative, che clinicamente si manifestano con trombosi in sedi poco usuali.

Nella classificazione WHO viene anche ribadito che le caratteristiche morfologiche e la distribuzione topografica dei megacariociti permettono di riconoscere due entità nosologiche che, con i criteri PVSG, sarebbero diagnosticati come TE. In questi casi la WHO distingue forme vere (WHO-TE) e forme da definire come iniziali mielofibrosi (early-PMF). Anche se questa distinzione non è universalmente accettata per la scarsa riproducibilità diagnostica tra gli anatomopatologi, è assai probabile che la storia naturale di queste nuove entità possa essere diversa. Infatti, recenti dati indicano che la WHO-TE è ancora più benigna di quanto si riteneva mentre la early-PMF tende a evolvere più precocemente e con maggiore frequenza in quadri clinici classici di mielofibrosi e leucemia acuta che la WHO-TE, riducendo significativamente la

sopravvivenza globale. È stata documentata anche una più alta frequenza di episodi emorragici nella early-PMF rispetto alla TE mentre le due entità non sembrano avere diversa incidenza di trombosi venose o arteriose.

1.4 STORIA NATURALE E MANIFESTAZIONI CLINICHE

L'attesa di vita è la principale preoccupazione dei pazienti con PV e TE al momento della diagnosi, ma gli studi su questo argomento sono relativamente scarsi. Uno studio su 831 pazienti con PV e TE seguiti per un tempo medio di circa 10 anni ha dimostrato che l'aspettativa di vita dei pazienti con PV è inferiore rispetto a quella della popolazione generale, mentre la sopravvivenza dei pazienti con TE non è significativamente accorciata. Uno studio della Mayo Clinic su 322 pazienti con TE seguiti per un tempo mediano di 13,6 anni ha confermato questi dati sulla sopravvivenza nel primo decennio di malattia e ha dimostrato che la sopravvivenza diventa significativamente peggiore successivamente. In uno studio italiano, il rapporto standardizzato di mortalità, che è il rapporto tra il numero di decessi osservati nella popolazione dei pazienti e il numero dei decessi attesi nella popolazione di riferimento, fu di 1,6 e 1,0 nella PV e nella TE, rispettivamente. I pazienti con PV hanno quindi una mortalità di 1,6 volte superiore rispetto alla popolazione generale, mentre i pazienti TE non hanno un aumento di mortalità. Quando il rapporto standardizzato di mortalità è stato analizzato in base all'età del paziente al momento della diagnosi, la mortalità è stata di 3,3 volte maggiore nei pazienti con PV ed età meno di 50 anni e 1,6 volte più alto nei soggetti oltre 50 anni, mentre non è aumentata nei pazienti con TE di ogni età in relazione alla popolazione di riferimento. TE è quindi la più indolente delle MPN.

La classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) nel 2001 ha riconosciuto una nuova entità all'interno delle MPN, la cosiddetta fase prefibrotica della MF, che comprende i pazienti che sarebbero stati classificati come TE utilizzando la classificazione PVSG. In uno studio multicentrico recente ha documentato che l'attesa di vita dei pazienti con MF prefibrotica la sopravvivenza a 10 anni e a 15 anni era ridotta rispetto ai pazienti con TE (76% e 89%, 59% e 80%, rispettivamente).

L'aspettativa di vita dei pazienti affetti da PV o TE è principalmente influenzata dalle complicanze correlate con la malattia, come le complicanze vascolari (trombosi ed emorragia) e la trasformazione in MF o leucemia. L'incidenza di complicanze correlate alla malattia varia significativamente tra le due malattie. Infatti, i pazienti PV avrebbero una maggiore incidenza di trombosi e di evoluzione in MF o leucemia dei pazienti con TE. Al contrario, l'incidenza di tumori solidi non differisce tra le due condizioni, indicando che la malattia e i trattamenti specifici per la malattia non

influenzano direttamente l'insorgenza di neoplasie extraematologiche. Nella PV, l'incidenza di trombosi è di 18 per 1.000 persone/anno, essendo circa 5 per 1.000 persone-anno per MF e leucemia, mentre nella TE, l'incidenza di trombosi è di 12 per 1.000 persone/anno, essendo 1,6 per 1.000 persone/anno per la MF e 1,2 per 1.000 persone/anno per la leucemia. I risultati della collaborazione europea sulla aspirina a basso dosaggio nella policitemia vera (ECLAP) ha mostrato che la mortalità cardiovascolare nei pazienti con PV rappresenta il 45% di tutte le morti, mentre la trasformazione ematologica è la causa di morte nel 13% dei casi.

Nella MF primaria la sopravvivenza mediana varia da 4 a 5,5 anni nelle serie più moderne. Quando la sopravvivenza dei pazienti con MF primaria è stata confrontata con quella di individui di uguale età e sesso della popolazione generale, è stata osservata una riduzione del 31% della speranza di vita. Le principali cause di morte nella MF sono l'evoluzione in leucemia acuta (osservata nel 20% dei casi a 10 anni dalla diagnosi), infezioni e sanguinamento secondario a insufficienza del midollo osseo, ipertensione portale o insufficienza epatica secondaria a trombosi delle vene sovraepatiche, trombosi venosa o metaplasia mieloide del fegato, trombosi in altri territori e insufficienza cardiaca.

Morel e collaboratori hanno osservato un decorso meno aggressivo della PM nei pazienti di età inferiore a 55 anni. La sopravvivenza dei pazienti con MF post-TE o post-PV non sembra differire da quella con MF primaria.

Circa il 25% dei pazienti con MF sono completamente asintomatici e vengono all'attenzione del medico curante a causa di un ingrossamento della milza rilevato durante la visita medica di routine o una ecografia fatta con indicazioni diverse, o a causa di un conteggio anomalo delle cellule del sangue o di striscio di sangue periferico. Il sintomo più comune di MF è la astenia, che nella maggior parte dei pazienti incide sulla qualità della vita quotidiana e le attività sociali. La stanchezza può essere il risultato di anemia. Ma quando il paziente è indagato con l'ausilio di appositi questionari, la stanchezza risulta un sintomo significativo anche per i pazienti senza anemia. Altri sintomi aspecifici costituzionali tra cui febbre, sudorazione notturna, prurito, dolori ossei, e perdita di peso sono presenti al momento della diagnosi nel 20-50% di pazienti con MF e sono più frequenti nei pazienti anziani. In presenza di splenomegalia emergono varie sindromi addominali. La pressione della milza sullo stomaco può portare a ritardo dello svuotamento gastrico e sazietà precoce. Alcuni pazienti possono lamentarsi di una sensazione di peso sordo nel quadrante addominale superiore sinistro. Dolore di gravità estrema, che può simulare una situazione di emergenza acuta addominale, è prodotto da infarto splenico. Pressione della milza sul colon o del piccolo intestino può essere responsabile di diarrea grave e invalidante.

Episodi trombotici possono essere eventi di esordio della MF o possono verificarsi durante il suo decorso con una probabilità del 9,6% a 5 anni, frequenza superiore rispetto alla popolazione generale di controllo. La trombosi può essere venosa (trombosi dei seni venosi cerebrali, trombosi venosa splancnica, trombosi venosa profonda, tromboembolismo polmonare) o arteriosa (ictus, attacchi ischemici transitori, occlusione dell'arteria retinica, infarto del miocardio, angina pectoris e arteriopatia periferica).

Problemi di sanguinamento possono complicare il decorso clinico dei pazienti con MF. Il sanguinamento può essere minore, come petecchie ed ecchimosi, o può essere pericoloso per la vita quale una incontrollabile emorragia esofagea. Sanguinamento può derivare da piastrinopenia o da piastrine con difetto di funzione.

Sintomi di malattia possono essere dovuti alla presenza di isole ectopiche di metaplasia mieloide, in particolare nel polmone, nel tratto gastrointestinale, nel sistema nervoso centrale e nel sistema urogenitale. L'ematopoiesi extramidollare può raramente verificarsi nella pelle, manifestandosi con placche rosso pruriginose o papule, o noduli simil-angiomatosi. Questi infiltrati dermici, quando sottoposti a biopsia, sono composti da combinazioni di cellule mieloidi, eritroidi e megacariociti.

1.5 VALUTAZIONI DI LABORATORIO

Nella PV, il reperto di laboratorio principale è rappresentato dall'aumento dei globuli rossi, della concentrazione di emoglobina e dell'ematocrito. All'esordio della malattia il numero dei globuli rossi è di solito compreso fra 6 e 8 x 10¹²/L, l'emoglobina fra 16 e 20 g/dL e l'ematocrito fra 52 e 60%. Per quanto concerne i parametri eritrocitari, il volume globulare medio tende a essere più basso della norma (<80fl) per sideropenia frequentemente associata. Il numero dei reticolociti è solitamente normale mentre è possibile riconoscere qualche eritroblasto nel sangue periferico. Nelle fasi iniziali della malattia, la morfologia eritrocitaria è normale. Un dato di laboratorio molto importante per la diagnosi è rappresentato dalla leucocitosi, che è presente in più dell'85% dei casi. Il numero dei leucociti si aggira su valori di 15 x 10⁹/L e l'aumento è soprattutto imputabile a una maggiore quota di neutrofili, e in parte anche di eosinofili e basofili. La reazione per la fosfatasi alcalina leucocitaria fornisce per la maggior parte dei pazienti uno score alto (maggiore di 100). Nel 70-80% dei pazienti è presente piastrinosi con conte piastriniche comprese tra 500 e 1.000 x 10⁹/L. Oltre ad aumentato numero si possono osservare anche alterazioni morfologiche (frequenti le piastrine giganti) e anomalie funzionali.

La sideropenia è frequente ed è soprattutto dovuta all'aumentato fabbisogno di ferro per l'attività eritropoietica e per l'espansione della massa eritrocitaria con conseguente depauperamento dei depositi. Tuttavia sideropenia può essere espressione di una reale carenza marziale dovuta alle frequenti emorragie. La sideremia è bassa, la capacità legante il ferro (TIBC) è elevata e quindi la saturazione percentuale della transferrina è bassa. La ferritina sierica è quasi sempre ai limiti inferiori della norma o francamente diminuita.

Un dato fondamentale considerato diagnostico prima della classificazione WHO delle MPN è l'aumento della massa eritrocitaria che si determina mediante marcatura degli eritrociti autologhi con ^{51}Cr . Si parla di aumento della massa eritrocitaria e quindi di eritrocitosi assoluta quando essa è ≥ 36 ml/kg nel maschio e ≥ 32 ml/kg nella femmina.

Gli esami di laboratorio nella trombocitemia essenziale sono modestamente alterati. Spicca l'aumento del numero delle piastrine che nelle forme conclamate di malattia è solitamente compreso fra 1.000 e $3.000 \times 10^9/\text{L}$. In genere è presente leucocitosi moderata con neutrofilia e fosfatasi alcalina leucocitaria sia normale che aumentata. È possibile anche un aumento dei basofili e degli eosinofili. Frequente è la presenza di anemia microcitica, ipocromica, iposideremica. L'esame microscopico degli strisci di sangue periferico mostra anisocitosi piastrinica per la presenza sia di micro- che di mega-trombociti. Si possono osservare anche megacariociti o loro frammenti.

Nella MF un attento esame dello striscio del sangue periferico permette la diagnosi immediata di MF. Leucoeritroblastosi con poichilocitosi ed eritrociti a goccia suggeriscono fortemente questa diagnosi. La condizione di leucoeritroblastosi è caratterizzata dalla presenza di eritroblasti e di elementi immaturi mieloidi nel 90% dei casi. Megatrombociti e frammenti di megacariociti sono reperti frequenti. Il numero di eritrociti a goccia (dacriociti) diminuisce dopo splenectomia o istituzione di chemioterapia, che ha portato alcuni a suggerire che la splenomegalia provochi lo sviluppo delle alterazioni eritrocitarie. In circa il 60% dei pazienti, i livelli di emoglobina sono inferiori a 10 g/dL. Il grado di anemia è difficile da stimare correttamente dall'emoglobina o dall'ematocrito del sangue periferico, perché gli individui con milza grande spesso hanno ampliato il volume plasmatico e l'anemia è apparente, poiché è in gran parte dovuta a emodiluizione. Tra i pazienti con ridotta massa dei globuli rossi, il 95% ha anemia normocitica normocromica. L'anemia può essere rigenerativa o da inefficiente produzione di globuli rossi (eritropoiesi inefficace) o da riduzione della sopravvivenza eritrocitaria (emolisi periferica). L'analisi morfometrica delle biopsie del midollo osseo ha dimostrato che l'ipoplasia

eritroide è più comune di quanto precedentemente apprezzato, e studi di ferrocinetica hanno dimostrato che il 30% dei pazienti ha anemia con insufficienza eritroide. Il 15% dei pazienti ha una componente emolitica nella patogenesi dell'anemia che è riflessa nelle alterazioni di laboratorio (aptoglobina, LDH, reticolociti, bilirubina indiretta). La causa di anemia emolitica di solito è multifattoriale, con il contributo di ipersplenismo, difetto nei globuli rossi simile a quello dell'emoglobinuria parossistica notturna, e anticorpi anti-eritrociti.

Anemia ipocromica microcitica che deriva dalla carenza di ferro secondaria a perdita di sangue si può sviluppare nel 5% dei pazienti con MF. La perdita di sangue può essere causata da perdite da varici esofagee, ulcera duodenale, gastrite o emolisi intravascolare. Occasionalmente, i pazienti con MF possono sviluppare una neoplasia occulta o un sito di ematopoiesi extramidollare all'interno del tratto gastrointestinale, che può essere causa di sanguinamento inspiegabile. Microcitosi non dovuta a carenza di ferro (MCV <80 fL) è stata riportata come caratteristica di MF con incidenza del 28% e, in generale, non associata a significato prognostico. L'anemia macrocitica può complicare la MF. L'assorbimento di acido folico è normale in questi pazienti, e la carenza di acido folico risulta probabilmente da un maggiore consumo.

La leucopenia può verificarsi nel 13-25% dei pazienti, e la leucocitosi è vista in un terzo. La presenza di leucociti con anomalie pseudo-Pelger-Huet è frequente. Lo score della fosfatasi alcalina leucocitaria è elevato nella metà dei pazienti. In una serie della Mayo Clinic di 169 pazienti, conta piastrinica inferiore a $100 \times 10^9/L$ è stata osservata nel 31% dei pazienti, e conta piastrinica di oltre $800 \times 10^9/L$ è stata osservata nel 12%. Nella fase prefibrotica della malattia, quasi il 90% dei pazienti ha una conta piastrinica superiore a $500 \times 10^9/L$. Una difettosa aggregazione piastrinica è comune, e le piastrine spesso non rispondono al collagene o all'adrenalina. Nel 15% dei pazienti sono state descritte alterazioni suggestive di coagulazione intravascolare disseminata (DIC), compresa la diminuzione delle piastrine, diminuzione dei livelli di fattori della coagulazione V e VIII, e l'aumento dei prodotti di degradazione del fibrinogeno (FDP). Solitamente la DIC nella MF è silente, ma può diventare sintomatica dopo un intervento chirurgico.

Anomalie di laboratorio supplementari sono abbastanza comuni: i livelli di lattico deidrogenasi (LDH) sono elevati nel 95% dei pazienti, i livelli di bilirubina nel 40%, l'acido urico è elevato nel 60%, e la fosfatasi alcalina e i livelli sierici di transaminasi glutammico ossalacetica nel 50%. I pazienti con MF hanno diminuiti livelli di colesterolo totale.

Una varietà di anomalie immunologiche è stata riportata nella MF, compresa la presenza di anticorpi anti-nucleo, aumento dei titoli fattore reumatoide, positività

del test di Coombs diretto, anticoagulanti circolanti tipo lupus, ipocomplementemia, noduli linfoidi nel midollo, e un aumento degli immunocomplessi circolanti. È stata riportata anche un'incidenza particolarmente elevata di gammopatie monoclonali di incerto significato (MGUS), fino all'8-10% dei pazienti in alcune casistiche.

1.6 STRATEGIE TERAPEUTICHE

Non sono ancora disponibili terapie mediche in grado di eradicare il clone neoplastico che dà origine al fenotipo PV, TE e MF. L'eradicazione del clone neoplastico è possibile con la procedura del trapianto di cellule staminali emopoietiche; la procedura è riservata a una minoranza di casi, considerando l'età avanzata delle malattie e la alta tossicità che accompagna questa procedura.

In assenza di terapie con fini eradicanti il clone neoplastico, l'obiettivo primario della terapia nella PV e nella TE è di ridurre le complicazioni cardiovascolari che sono la causa principale di morbidità e mortalità. La scelta terapeutica deve basarsi sulla identificazione del rischio cardiovascolare del singolo paziente. Il basso rischio riguarda i pazienti di età inferiore ai 60 anni che non hanno presentato sintomi cardiovascolari maggiori e l'alto rischio riguarda i più vecchi con storia pregressa di eventi cardiovascolari maggiori. Il rischio intermedio è di incerta definizione e nelle recenti raccomandazioni dell'European Leukemia Net questo non ha ricevuto una raccomandazione terapeutica specifica. Altri fattori di rischio quali la leucocitosi e la presenza delle mutazioni genetiche non hanno al momento studi sufficienti per essere annoverati tra i predittori di rischio da utilizzare nella pratica clinica.

La MF è malattia con morbidità e mortalità molto più elevata di PV e TE, e i pazienti affetti da questa malattia hanno problemi clinici più variegati (*Tabella 1.2*).

TABELLA 1.2

Problemi clinici che richiedono terapie mirate nella mielofibrosi primaria

Comuni

- Grave anemia
- Anemia trasfusione dipendente
- Splenomegalia sintomatica
- Progressivo aumento del volume splenico
- Fase accelerata o blastica della malattia

Rari

- Ematopoiesi extramidollare non epato-splenica
- Ipertensione portale
- Ipertensione polmonare

Indeterminati

- Sovraccarico di ferro trasfusionale

La mediana di sopravvivenza della coorte di pazienti più numerosa pubblicata è di circa 6 anni e i pazienti ad alto rischio hanno una durata di sopravvivenza che non supera i 3 anni. È intrinseco alla malattia un aumentato rischio di trasformazione leucemica, che si avvicina al 20% nei primi 10 anni di malattia. L'anemia severa spesso richiede frequenti trasfusioni di globuli rossi con modesti incrementi emoglobinici post-trasfusionali per la marcata splenomegalia associata. Alcuni pazienti hanno anche trombocitopenia grave o neutropenia. Epato-splenomegalia marcata spesso si accompagna a senso di sazietà precoce, gravi disturbi addominali, cambiamenti delle abitudini intestinali, dolorosi infarti splenici, ipertensione portale con ascite e varici esofagee e gastriche, compromessa mobilità e cachessia. Altri segni o sintomi sono quelli derivati da emopoiesi extramidollare extraepatica e splenica che può portare alla compressione del midollo spinale, ascite, ipertensione polmonare, versamento pleurico, linfadenopatia o tumori della pelle. Sono spesso evidenti sintomi costituzionali tra cui stanchezza, perdita di peso, cachessia, prurito, sudorazione notturna, febbre moderata e dolore alle articolazioni. I medici devono essere consapevoli di tutta la gamma di manifestazioni cliniche della MF, compresa la durata della vita significativamente ridotta e la cattiva qualità della vita. Ciascuno dei problemi sopra elencati deve essere identificato precocemente e in modo appropriato.

1.6.1 Principi di terapia della PV e TE

Nella TE e PV, che hanno una attesa di vita lunga, le attuali raccomandazioni suggeriscono strategie terapeutiche intese a ridurre le complicazioni vascolari (CV), quali trombosi arteriose e venose e sintomi microcircolatori come eritromelalgia, disturbi della visione e neurologici e a prevenire il rischio emorragico. La patogenesi delle trombosi non è ancora bene conosciuta anche se vi sono molti dati che sostengono un ruolo primario della viscosità ematica, del numero e della attivazione dei leucociti, di perturbazioni dell'endotelio vascolare e del sistema coagulativo. La diatesi emorragica spontanea è di regola lieve o moderata anche se sono riportate emorragie maggiori specialmente gastrointestinali che si associano a valori estremi del numero delle piastrine e all'utilizzo di aspirina anche a basse dosi (100 mg/die).

Le raccomandazioni per la terapia di PV e TE si basano sul consenso tra gli esperti, su studi osservazionali e su un limitato numero di trials clinici randomizzati nei quali i criteri di risposta non sono stati uniformi. Utilizzando le attuali conoscenze molecolari e istopatologiche, l'European Leukemia Net (ELN) ha definito tre categorie di risposta: clinico-ematologica, molecolare e istopatologica. È stato sottolineato che queste definizioni sono utili per paragonare i risultati dei trials clinici ed è stato

precisato che nei casi singoli, si dovrà considerare solo la categoria della risposta clinico-ematologica. Tuttavia, il panel degli esperti ammette che non è ancora ben noto se queste risposte sono reali surrogati di outcomes clinici rilevanti.

1.6.2 Come trattare i pazienti a basso rischio

L'unico studio che ha valutato in maniera randomizzata e prospettica i risultati della terapia con salassi nella PV risale a più di 20 anni fa (PVSG trial 01). In un trial randomizzato, è stata dimostrata una maggiore sopravvivenza nel braccio trattato con salassi (mediana di sopravvivenza 13,9 anni) rispetto a quello trattato con Clorambucile (mediana anni 8,9) o Fosforo 32 (mediana anni 11,8). Questi farmaci causavano però un eccesso di mortalità dovuta a una maggiore frequenza di leucemie e altri eventi neoplastici anche se il tasso di trombosi era significativamente più basso rispetto al braccio trattato con soli salassi (il target dell'Ematocrito era 45%). Ciò dimostra che la riduzione delle CV è maggiormente garantita da un controllo globale della mieloproliferazione piuttosto che dalla riduzione della espansione di una sola linea emopoietica. Sulla base di quanto è noto e sulla scorta di dati fisiopatologici, tutte le raccomandazioni, comprese quelle del ELN, suggeriscono di tenere l'ematocrito <45%. Tuttavia, lo studio ECLAP ha messo in dubbio questo dogma e, sulla base di dati che dimostrano come il tasso di trombosi non è diverso in rapporto a livelli di ematocrito compresi nel range 40-50%, i ricercatori ECLAP hanno suggerito la necessità di trials prospettici per confermare in maniera definitiva l'osservazione di questo target. Anche le recenti raccomandazioni ELN non indicano l'utilizzo di farmaci citoriduttivi in questo gruppo a basso rischio cardiovascolare.

Le raccomandazioni di utilizzare 100 mg di aspirina nella PV come profilassi primaria di eventi vascolari sia arteriosi che venosi si basano sui risultati dello studio ECLAP (randomizzato doppio cieco, controllato con placebo). Basse dosi di aspirina si associano a una significativa riduzione delle morti cardiovascolari e degli eventi non fatali quali stroke, infarto del miocardio, trombosi venose ed embolie polmonari (rischio relativo 0,4; 95% CI 0,18-0,91; $p=0,02$) senza aumentare il tasso di emorragie. Nella TE non vi sono studi randomizzati che abbiano affrontato l'efficacia e la sicurezza di impiego di aspirina nella profilassi primaria dei complicazioni CV. Mentre non vi sono riserve per il suo impiego come profilassi secondaria, non è chiaro se il netto fra benefici e rischi emorragici sia favorevole nel basso rischio (giovani e asintomatici). Una recente analisi retrospettiva ha identificato una possibile categoria di pazienti asintomatici ma con fattori di rischio vascolare generici (ipertensione, diabete fumo) nella quale il rapporto rischio/beneficio potrebbe essere vantaggioso.

Le raccomandazioni dell'ELN sono di usare 100 mg di aspirina per controllare i sintomi microvascolari quali eritromelalgia, disturbi transitori del visus, disartria, scotomi, amaurosi fugace ed emicrania. Si dovrà usare aspirina con cautela quando i valori di piastrine superano $1.500 \times 10^9/L$ per il rischio emorragico dovuto a carenza acquisita di fattore von Willebrand e contemporanea assunzione di aspirina. Da notare che anagrelide può comportare tendenza emorragica e per il sinergistico effetto sulla funzione piastrinica.

1.6.3 Trattamento degli alti rischi

Nei pazienti di età superiore ai 60 anni o con precedenti vascolari maggiori, o nei casi di PV con malattia progressiva (aumento della necessità di salassi, estrema piastrinosi ($>1.500 \times 10^9/L$), leucocitosi e splenomegalia progressiva, comparsa di sintomi sistemici e prurito intrattabile) in aggiunta ai salassi, è indicata una terapia mielosoppressiva. Il farmaco di prima linea è l'Idrossiurea (HU), un antimetabolita che previene la sintesi del DNA e che in studi di fase II e III ha dimostrato efficacia nella prevenzione secondaria o primaria di nuovi eventi vascolari nei gruppi ad alto rischio con PV e TE.

Nella PV l'efficacia antitrombotica della HU è stata dimostrata in un vecchio studio del PVSG che ha trattato solo 51 pazienti seguiti per una mediana di 8 anni, ma il timore che questo farmaco possa aumentare il rischio di leucemie ha generato grande cautela nel suo utilizzo nei giovani. Il reale rischio leucemogenetico della sola HU è oggetto di grande dibattito poiché è difficile discernere se i rari casi documentati sono dipesi dal farmaco o siano il risultato di una evoluzione biologica intrinseca della malattia. Infatti casi di leucemia sono stati riportati nel 25% dei pazienti mai esposti a farmaci citotossici sia nella PV che nella TE. Per contro, vi è consenso nell'ammettere che la somministrazione sequenziale di farmaci alchilanti (busulfano, pipobromano, clorambucile) e di 32P conduce a un chiaro incremento della frequenza di leucemie.

Il gruppo ELN ha confermato che HU è il farmaco di prima scelta anche nei pazienti con TE ad alto rischio cardiovascolare sulla scorta dei risultati di due trials clinici. Il primo è uno studio italiano che ha randomizzato pazienti con TE ad assumere HU o nessun trattamento citotossico. Nel braccio HU gli eventi cardiovascolari maggiori furono 1,6% pazienti/anno mentre nel gruppo non trattato gli eventi erano 10% pazienti/anno. Il rischio di leucemia in questi pazienti seguiti per molti anni era legato alla assunzione sequenziale di alchilanti e non sembrava accresciuto nel gruppo trattato con solo HU. Questo trial ha dimostrato che HU ha un'attività antitrombotica nella TE ad alto rischio, ma il sospetto che possa aumentare il rischio di leucemia ha

indotto i ricercatori inglesi a un secondo trial (MRC-PT1) che ha confrontato HU e Anagrelide, farmaco che in studi di fase II aveva dimostrato efficacia nel ridurre il numero di piastrine nella TE e che era ritenuto privo di effetti leucemogenici. I risultati hanno documentato una superiorità di HU nel ridurre le complicazioni vascolari senza un eccesso di incidenza di leucemie. Per contro i pazienti trattati con Anagrelide presentavano un eccesso di evoluzione in MF e di emorragie. La conclusione di questi ricercatori è che anagrelide può avere un ruolo come farmaco di seconda linea nella TE refrattaria alla HU o quando questo farmaco non è tollerato.

ELN ha discusso se l'Interferone α debba essere il secondo farmaco da offrire come prima linea nei giovani con PV ad alto rischio. A sostegno vi sono attualmente dati che indicano un profilo di efficacia promettente come dimostrato in studi recenti di fase II con la forma peghilata. La percentuale di risposte clinico-ematologiche complete secondo i criteri ELN è intorno al 70-80% e in alcuni pazienti sono state ottenute risposte molecolari documentate dalla scomparsa in alcuni casi della mutazione di JAK2V617F dopo due anni di trattamento. Questi importanti risultati da studi non controllati, ottenuti sia in Europa che negli Stati Uniti, hanno stimolato i ricercatori a disegnare studi prospettici randomizzati intesi a valutare l'efficacia e la sicurezza di questo farmaco sperimentale rispetto allo standard HU. Le incertezze di impiego di IFN- α nei casi singoli derivano non solo dalle limitate esperienze cliniche sia pur promettenti, ma anche dai costi di una terapia e dall'incerto profilo di tollerabilità.

Il terzo farmaco che può essere impiegato in prima linea nei pazienti di età superiore ai 70 anni è il busulfano a dosi ridotte.

1.6.4 Trattamento della MF

L'International Working Group-Myelofibrosis Research and Treatment (IWG MRT) ha recentemente analizzato oltre 1.000 pazienti con MF e ha proposto uno score prognostico (IPSS), che utilizza parametri clinici facilmente misurabili. I quattro gruppi prognostici risultanti (basso, intermedio-1, intermedio-2 e alto) permettono di classificare i pazienti in categorie con una sopravvivenza mediana che va da ~ 2,3 a 11,3 anni. Al fine di stratificare per rischio i pazienti quando osservati nel corso della malattia, l'IWG MRT ha anche usato le stesse variabili IPSS per stabilire un modello prognostico dinamico (DIPSS). Inoltre, studi recenti hanno dimostrato il valore prognostico indipendente da IPSS dell'informazione citogenetica, dello stato trasfusionale, della necessità di trasfusione nel primo anno dalla diagnosi e della presenza di anomalie citogenetiche quali +9, del13q o del20q. Nei pazienti giovani (età <60 anni), una conta piastrinica $<100 \times 10^9/L$ predice scarsa sopravvivenza

indipendentemente da IPSS. Recenti studi hanno individuato i fattori di rischio aggiuntivi per trombosi (età avanzata, presenza di JAK2V617F) e di trasformazione leucemica (trombocitopenia, blasti circolanti $\geq 3\%$).

Non vi è concordanza in merito al valore predittivo sulla sopravvivenza della mutazione JAK2V617F nella MF. La mutazione è presente in circa il 60% dei casi di MF e si associa a età avanzata, più elevato livello di emoglobina, più elevato numero di globuli bianchi. Un carico allelico V617F elevato è stato associato al prurito. Nello studio IWG, la presenza di JAK2V617F non è risultato correlato né con la sopravvivenza né con lo score prognostico. Tuttavia uno studio di grandi dimensioni ha riportato associazione fra mutazione e ridotta sopravvivenza. Altri studi hanno dimostrato associazione fra mutazione allo stato omozigote ed evoluzione leucemica. In contrasto, differenti serie di casi hanno riportato che il carico allelico ridotto (primo quartile della distribuzione) è associato con ridotta sopravvivenza e con evoluzione in crisi blastica.

L'obiettivo principale della terapia della MF è il prolungamento della sopravvivenza dei pazienti. Allo stato attuale, solo il trapianto allogenico di cellule staminali (allo-SCT) è la modalità di trattamento in grado di prolungare la sopravvivenza o guarire la malattia. Altrettanto importante nella MF è la necessità di un trattamento diretto alla qualità della vita, indipendentemente dal fatto che tale terapia porti a un miglioramento della sopravvivenza. Le tre principali determinanti della qualità della vita nella MF sono anemia, splenomegalia e sintomi costituzionali.

BIBLIOGRAFIA

- Balduini A, Badalucco S, Pugliano MT, et al (2011) In vitro megakaryocyte differentiation and proplatelet formation in ph-negative classical myeloproliferative neoplasms: distinct patterns in the different clinical phenotypes. *PLoS One* 6(6):e21015.
- Barbui T, Barosi G, Grossi A, et al (2004) Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 89(2):215-32.
- Barbui T, Carobbio A, Cervantes F, et al (2010) Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood* 115(4):778-82.
- Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al (2011) Survival and Disease Progression in Essential Thrombocythemia Are Significantly Influenced by Accurate Morphologic Diagnosis: An International Study. *J Clin Oncol* 29(23):3179-84.
- Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti, et al (2007) JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. *Blood* 110(12):4030-6.
- Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, et al (2009) Response criteria for essential thrombocythemia and polycythemia vera: result of a European LeukemiaNet consensus conference. *Blood* 113(20):4829-33.
- Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, et al (2010) A unified definition of clinical resistance and intolerance to hydroxycarbamide in polycythemia vera and primary myelofibrosis: results of a European LeukemiaNet (ELN) consensus process. *Br J Haematol* 148(6):961-3.
- Barosi G, Viarengo G, Pecci A, et al (2001) Diagnostic and clinical relevance of the number of circulating CD34(+) cells in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 98(12):3249-55.
- Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al (2005) Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 365(9464):1054-61.
- Berk PD, Goldberg JD, Silverstein MN, et al (1981) Increased incidence of acute leukemia in polycythemia vera associated with chlorambucil therapy. *N Engl J Med* 304(4):441-7.
- Campbell PJ, Griesshammer M, Döhner K, et al (2006) V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. *Blood* 107(5):2098-100.
- Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, et al (2008) Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 26(16):2732-6.

- Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, et al (2007) Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood* 109(6):2310-3.
- Chatner Y, Brenner B, Aghai E, et al (1992) High incidence of myeloproliferative disorders in Ashkenasi Jews in Northern Israel. *Leuk Lymphoma* 7(3):251-5.
- Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, et al (1995) Hydroxyurea in the treatment of patients with essential thrombocythemia at high risk of thrombosis: a prospective randomized trial. *N Engl J Med* 332(17):1132-6.
- Dameshek W (1951) Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 6(4):372-5.
- Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al (2009) Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med* 360(22):2289-301.
- De Stefano V, Za T, Rossi E, et al (2010) Leukocytosis is a risk factor for recurrent arterial thrombosis in young patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol* 85(2):97-100.
- Desterke C, Bilhou-Nabéra C, Guerton B, et al (2011) FLT3-mediated p38-MAPK activation participates in the control of megakaryopoiesis in primary myelofibrosis. *Cancer Res* 71(8):2901-15.
- Donovan PB, Kaplan ME, Goldberg JD, et al (1984) Treatment of polycythemia vera with hydroxyurea. *Am J Hematol* 17(4):329-34.
- Finazzi G, Ruggeri M, Rodeghiero F, et al (2000) Second malignancies in patients with essential thrombocythemia treated with busulphan and hydroxyurea: long-term follow-up of a randomized clinical trial. *Br J Haematol* 110(3):577-83.
- Finazzi G, Ruggeri M, Rodeghiero F, et al (2003) Efficacy and safety of long-term use of hydroxyurea in young patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *Blood* 101(9):3749.
- Guglielmelli P, Barosi G, Specchia G, et al (2009) Identification of patients with poorer survival in primary myelofibrosis based on the burden of JAK2V617F mutated allele. *Blood* 114(8):1477-83.
- Harrison CN, Bareford D, Butt N, et al (2010) Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *Br J Haematol* 149(3):352-75.
- Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, et al (2005) Primary Thrombocythemia I Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 353(1):33-45.
- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al (2001). Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press Lyon.

- James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al (2005) A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 434(7037):1144-8.
- Johansson P (2006) Epidemiology of the myeloproliferative disorders polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 32(3):171-3.
- Johnson SAN, Bateman CJT, Beard MEJ, et al (1977) Long term haematological complications of thiorast. *Q J Med* 46(182):259-71.
- Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, et al (2008) Pegylated Interferon-alfa-2a induces complete hematological and molecular responses with low toxicity in Polycythemia Vera. *Blood* 112(8):3065-72.
- Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al (2005) A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 352(17):1779-90.
- Kutti J, Ridell R (2001) Epidemiology of the myeloproliferative disorders: Essential thrombocythemia, polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis. *Pathol Biol (Paris)* 49(2):164-6.
- Landgren O, Goldin LR, Kristinsson SY, et al (2008) Increased risks of polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myelofibrosis among 24,577 first-degree relatives of 11,039 patients with myeloproliferative neoplasms in Sweden. *Blood* 112(6):2199-204.
- Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al (2007) Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 109(6):2446-52.
- Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, et al (2004) Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 350(2):114-24.
- Larsen TS, Bjerrum OW, Pallisgaard N, et al (2008) Sustained major molecular response on interferon alpha-2b in two patients with polycythemia vera. *Ann Hematol* 87(10):847-50.
- Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al (2005) Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 7(4):387-97.
- Mesa RA, Powell H, Lasho T, et al (2006) JAK2(V617F) and leukemic transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Leuk Res* 30(11):1457-60.
- Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, et al (2010) A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood* 115(9):1703-8.
- Passamonti F, Elena C, Schnittger S, et al (2011) Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood* 117(10):2813-6.

- Pearson TC, Wetherley-Mein G (1978) Vascular occlusive episodes and venous haematocrit in primary proliferative polycythaemia. *Lancet* 2(8102):1219-22.
- Ruggeri M, Tositto A, Frezzato M, et al (2003) The rate of progression to polycythemia vera or essential thrombocythemia in patients with erythrocytosis or thrombocytosis. *Ann Intern Med* 139(6):470-5.
- Scott LM, Tong W, Levine RL, Scott MA, et al (2007) JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 356(5):459-68.
- Tefferi A, Lasho TL, Huang J, et al (2008) Low JAK2V617F allele burden in primary myelofibrosis, compared to either a higher allele burden or unmutated status, is associated with inferior overall and leukemia-free survival. *Leukemia* 22(4):756-61.
- Vaidya R, Siragusa S, Huang J, et al (2009) Mature survival data for 176 patients younger than 60 years with primary myelofibrosis diagnosed between 1976 and 2005: evidence for survival gains in recent years. *Mayo Clin Proc* 84(12):1114-9.
- Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN (2011) New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 118(7):1723-35.
- Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al (2008) Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal. *Leukemia* 22(7):1299-307.

CAPITOLO 2

LA DIAGNOSI

2.1 IL PAZIENTE CON ERITROCITOSI

2.1.1 Il caso

Un paziente maschio, di 35 anni, giunge all'osservazione per i seguenti valori di emocromo: emoglobina 19,4 g/dL; ematocrito 59%; piastrine 364.000/mmc; leucociti 8.400/mmc con normale formula leucocitaria. L'anamnesi familiare, fisiologica e patologica remota non rivela dati di rilievo. Non fuma e non assume abitualmente farmaci, anche se recentemente ha fatto uso saltuario di ansiolitici e antidepressivi. L'anamnesi patologica prossima indica la comparsa progressiva negli ultimi mesi di astenia, sudorazione notturna, cefalea e difficoltà di concentrazione e di memoria. L'esame obiettivo dimostra rubeosi del volto ed evidente sovrappeso (peso kg 90 per 170 cm di altezza). Non si rilevano linfo-adenomegalie superficiali e l'obiettività toracica e addominale è negativa. Esami ematochimici di funzionalità epatica e renale eseguiti contestualmente all'emocromo sono normali.

2.1.2 Definizione

Si definisce eritrocitosi assoluta un aumento della massa eritrocitaria dell'organismo. La misura diretta della massa eritrocitaria è però un test complesso e costoso che oggi viene considerato necessario solo in casi di particolare difficoltà diagnostica. Nella maggioranza dei pazienti, la presenza di una eritrocitosi viene indirettamente stimata dall'incremento dei valori di ematocrito ed emoglobina. Il range normale di ematocrito è $0,45 \pm 0,05$ nel maschio e $0,41 \pm 0,05$ nella femmina e, pertanto, si raccomanda di iniziare a investigare un paziente per una sospetta eritrocitosi quando il valore di ematocrito è $>52\%$ nel maschio e $>48\%$ nella femmina. Tanto più elevato è l'ematocrito, tanto più è probabile che esso misuri un vero aumento della massa eritrocitaria. Valori $>60\%$ nel maschio e $>56\%$ nella femmina sono sempre indicativi della presenza di una eritrocitosi assoluta. *Pertanto, il paziente del nostro esempio presenta una eritrocitosi assoluta.*

2.1.3 Classificazione

Quando una eritrocitosi è sospettata o dimostrata, devono essere avviate le indagini per identificarne la causa. La classificazione delle eritrocitosi, riportata in *Tabella 2.1*, riconosce le forme primarie, causate da una alterazione primitiva del midollo osseo, le forme secondarie, quando la eccessiva produzione di eritrociti è indotta da altre cause, congenite o acquisite, e le forme idiopatiche, quando non è possibile individuare una causa né primitiva né secondaria.

TABELLA 2.1 **Classificazione delle eritrocitosi assolute**

Eritrocitosi primarie

Policitemia vera

Eritrocitosi secondarie

Congenite

Anomalie del recettore dell'eritropoietina
Emoglobine ad alta affinità per l'ossigeno
Deficit di bisfosfoglicerato mutasi

Mutazioni di VHL ("Chuvash" eritrocitosi)
Mutazioni di PHD2
Mutazioni di HIF-2α

Acquisite

Ipossiche

Ipossia centrale

- Malattie respiratorie croniche
- Shunts cardiopolmonari destra-sinistra
- Avvelenamento da monossido di carbonio

- Eritrocitosi da fumo
- Sindrome delle apnee notturne
- Elevate altitudini

Ipossia renale

- Stenosi dell'arteria renale
- Uremia
- Idronefrosi

- Rene policistico
- Post-trapianto renale

Produzione ectopica di EPO

Neoplasie

- Emangioma cerebellare
- Meningioma
- Carcinoma epatocellulare

- Carcinoma renale
- Feicromocitoma
- Leiomioma uterino

Da farmaci

EPO

Androgeni

Eritrocitosi idiopatiche

2.1.4 Percorso diagnostico

Con riferimento alla classificazione delle eritrocitosi riportate in *Tabella 2.1*, il primo passo da fare nella diagnosi differenziale è valutare la possibilità che il paziente abbia una forma primaria, ovvero una policitemia vera.

Fase 1. Diagnosi di PV

I criteri diagnostici di PV secondo la più recente classificazione WHO e una flow-chart per il riconoscimento di questa patologia sono riportati in *Tabella 2.2* e *Figura 2.1*. Secondo queste raccomandazioni, i primi due esami da eseguire nel paziente sono la ricerca della mutazione V617F del gene JAK2 e la determinazione dell'eritropoietina (EPO) sierica. Lo screening della mutazione V617F di JAK2 è un test relativamente semplice da eseguire, usando una PCR (polymerase chain reaction) allele-specifica (vedi paragrafo 2.5). La mutazione è presente in oltre il 95% dei pazienti con PV e la sua dimostrazione rappresenta un criterio diagnostico maggiore della malattia. In aggiunta, i pazienti con PV presentano livelli caratteristicamente ridotti di EPO sierica. Concentrazioni inferiori a 3,3 UI/L presentano un valore predittivo positivo per la diagnosi dell'86% e sono considerati un criterio diagnostico minore. Pertanto, la presenza contestuale della mutazione e di una ridotta EPO sierica conduce alla diagnosi di PV.

I pazienti negativi per la mutazione V617F, ma con ridotti livelli di EPO devono essere considerati per altre mutazioni di JAK2, localizzate nell'esone 12, o come possibili portatori di una delle forme rare di PV JAK2 negative. È pertanto necessario eseguire una biopsia ossea per una diagnosi istologica di malattia mieloproliferativa cronica e, dove possibile, una valutazione delle colonie eritroidi endogene spontanee. Infine, un paziente senza evidenza istologica o molecolare di PV, ma con valori persistentemente bassi di EPO deve essere studiato per le rare mutazioni del recettore dell'EPO. I test di seconda linea raccomandati in un paziente con negatività della mutazione V617F di JAK2 e ridotti valori di EPO sierica sono elencati in *Tabella 2.3*.

Il nostro paziente è negativo per la mutazione V617F di JAK2 e presenta valori aumentati di EPO sierica. Pertanto la diagnosi di PV viene esclusa e il paziente prosegue le indagini.

TABELLA 2.2 Criteri WHO 2008 per la diagnosi di policitemia vera**Criteri maggiori**

1. Emoglobina >18,5 g/dL negli uomini, 16,5 g/dL nelle donne o altre evidenze di aumentata massa eritrocitaria*
2. Presenza di JAK2617V>F o altre mutazioni funzionalmente simili come le mutazioni dell'esone 12 di JAK2

Criteri minori

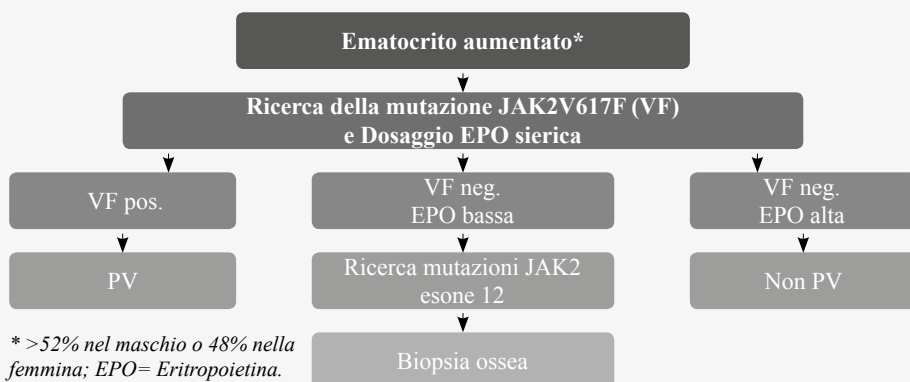
1. Biopsia osteomidollare che dimostri ipercellularità per l'età con crescita trilineare (panmielosi) con prominente proliferazione eritroide, granulocitaria e megacariocitica
2. Livelli di eritropoietina sierica inferiori al range normale di riferimento
3. Formazione di colonie eritroidi endogene *in vitro*

La diagnosi richiede la presenza di entrambi i criteri maggiori e uno minore o la presenza del primo criterio maggiore e due minori.

**Emoglobina o ematocrito maggiori del 99° percentile del range di riferimento metodo-specifico per età, sesso, altitudine di residenza o emoglobina maggiore di 17 g/dL negli uomini, 15 g/dL nelle donne se associate con un documentato e stabile incremento di almeno 2 g/dL dal valore individuale basale che non possa essere attribuito alla correzione di una carenza di ferro, o elevata massa eritrocitaria maggiore del 25% al di sopra del valore medio normale previsto.*

TABELLA 2.3 Esami in un paziente con eritrocitosi, negatività della mutazione V617F di JAK2 e bassi livelli di eritropoietina

- Ricerca delle mutazioni dell'esone 12 del gene JAK2
- Biopsia ossea
- Citogenetica
- Colonie eritroidi endogene
- Ricerca delle mutazioni del recettore dell'eritropoietina

FIGURA 2.1 Algoritmo diagnostico iniziale per le eritrocitosi

Fase 2. Diagnosi di eritrocitosi secondaria

I test strumentali e di laboratorio indicati in un paziente con eritrocitosi e valori normali o elevati di EPO sierica sono elencati in *Tabella 2.4*. La scelta e la tempistica di tali indagini deve essere guidata dal quadro clinico. Alterazioni respiratorie o metaboliche o patologie vascolari e neoplastiche orientano verso le forme più comuni di eritrocitosi secondaria da cause acquisite. In casi rari, l'eritrocitosi può essere sostenuta da cause genetiche. Questi pazienti sono di solito giovani e possono presentare una familiarità per eritrocitosi. Alcune emoglobinopatie provocano una aumentata affinità per l'ossigeno e non rilasciano ossigeno facilmente ai tessuti inducendo ipossia, aumento dell'EPO ed eritrocitosi. Sono note oltre 90 varianti di queste emoglobinopatie che possono essere riconosciute con l'elettroforesi dell'emoglobina o con una curva di dissociazione dell'ossigeno tipicamente spostata a sinistra. Un interessante gruppo di eritrocitosi genetiche è costituito dalle mutazioni nei geni che codificano per i sensori dell'ossigeno.

Una esauriente descrizione di questo argomento va oltre gli scopi di questo paragrafo e si rimanda i lettori interessati ad articoli specifici (Ang SO et al (2002) *Blood Cells Molec Dis* 28:57-62, Perrotta et al (2006) *Blood* 107(2): 514-19). In breve, si può dire che queste anomalie provocano uno stato di anossia tissutale con conseguente eritrocitosi e alta concentrazione di eritropoietina. Poiché uno di questi difetti genetici (von Hippel Lindau, VHL) è stato riconosciuto come endemico nella regione russa della Chuvashia è noto anche come “Chuvash” mutazione o eritrocitosi. Un altro largo cluster di famiglie con la stessa mutazione è stato identificato in Italia, nell'isola di Ischia.

Il paziente del nostro esempio è caratterizzato da rubeosi del volto, franca obesità e da una persistente difficoltà di concentrazione e memoria. Charles Dickens descrive nel *Circolo Pickwick* un ragazzo di nome Joe, “...mirabilmente adiposo, con una cera molto rubiconda e che un'ora di sonno avea scaldato fino alla tinta d'un mattone cotto...” La descrizione del “ragazzo grasso”, che si addormentava continuamente, ha fatto coniare a William Osler il termine di “sindrome di Pickwick” per descrivere quella che è oggi nota come sindrome delle apnee ostruttive nel sonno (OSAS). Il nostro paziente presentava una polisonnografia patologica, con saturazione arteriosa di ossigeno diminuita nei periodi di apnea notturna, anche se normale da sveglia. La diagnosi conclusiva è pertanto “eritrocitosi secondaria da sindrome delle apnee notturne”.

TABELLA 2.4

Esami in un paziente con eritrocitosi, negatività della mutazione V617F di JAK2 e normali o elevati livelli di eritropoietina

- Emogasanalisi arteriosa
- Spirometria
- Radiologia/ecografia di testa, torace e addome
- Studio del sonno
- Elettroforesi dell'emoglobina
- Dosaggio della carbossiemoglobina
- Studio dell'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno
- Dosaggio della bisfosfoglicerato mutasi
- Ricerca delle mutazioni geniche implicate nelle vie sensoriali per l'ossigeno
→ *VHL - PHD2 - HIF2α*

Fase 3. Diagnosi di eritrocitosi idiopatica

La diagnosi di eritrocitosi idiopatica si applica ai pazienti per i quali non viene identificata una causa dopo avere completato le due fasi diagnostiche sopra descritte. Nei casi con valori di ematocrito compresi fra 52% e 60% nei maschi e 48% e 56% nella femmina si deve riconsiderare la possibilità di una eritrocitosi relativa (vedi paragrafo 2.1.2), diagnosticabile attraverso la determinazione della massa eritrocitaria.

2.1.5 Trattamento

La terapia della PV è descritta nei paragrafi successivi, mentre il trattamento di una eritrocitosi secondaria dipende principalmente dalla sua causa. Nei casi in cui la causa della eritrocitosi non può essere rimossa, come nelle forme congenite, o non è stata identificata, come nelle forme idiopatiche, si pone il problema dell'eventuale utilità della salasso-terapia. Ci sono però pochi studi sui quali basare delle raccomandazioni solide. Nei pazienti con eritrocitosi della Chuvashia, l'esecuzione di almeno due salassi all'anno ha ridotto il rischio trombotico di circa 5 volte, ma il risultato non ha raggiunto la significatività statistica. Peraltro, in questo studio retrospettivo non era indicato il valore di ematocrito raggiunto con i salassi né la relazione esistente tra ematocrito e trombosi. Nei pazienti con PV, lo studio prospettico ECLAP non ha dimostrato alcuna relazione tra valori di ematocrito e complicanze vascolari. Bisogna però considerare che tutti i pazienti erano trattati e che difficilmente le conclusioni di questo studio possono essere applicate ai pazienti con eritrocitosi secondaria o idiopatica. Vista la scarsità di evidenza scientifica, gli esperti raccomandano di valutare ogni paziente su base individuale. I salassi vengono giudicati appropriati

quando l'ematocrito è >54%, con l'obiettivo di ridurlo almeno a valori <50%. Una soglia di ematocrito più bassa per l'inizio della salassoterapia può essere necessaria in pazienti ad aumentato rischio trombotico o con patologia cardiovascolare, diabete o ipertensione arteriosa. La terapia mielosoppressiva non è indicata nei pazienti con eritrocitosi diverse dalla policitemia vera e non vi sono dati a sostegno dell'utilità di una profilassi antitrombotica primaria con basse dosi di aspirina in questi casi.

2.2 IL PAZIENTE CON TROMBOCITOSI

Il termine trombocitosi indica un aumento della conta piastrinica superiore ai limiti della normalità. La maggior parte dei laboratori assume come parametri di normalità per la conta piastrinica un valore compreso tra $150 \times 10^9/L$ e $400 \times 10^9/L$, e quindi si può definire trombocitosi un valore di piastrine superiore a $400 \times 10^9/L$. Negli adulti la conta piastrinica può fluttuare in assenza di alcuna giustificazione. Infatti circa lo 0,99% della popolazione generale può avere una valutazione delle piastrine superiore a $400 \times 10^9/L$ che non risulta confermata nel 92% dei casi a un'indagine successiva. Una moderata piastrinosi (piastrine superiori a $500 \times 10^9/L$) è presente in circa il 10-35% dei neonati entro i primi mesi di vita; la conta piastrinica si stabilizza a livelli convenzionalmente normali verso gli 11 anni di vita.

2.2.1 Il controllo fisiologico delle piastrine

Il principale ormone che regola la proliferazione e la differenziazione dei megacariociti e, in ultima analisi, il numero delle piastrine circolanti è la trombopoietina, un ormone prodotto a livello epatico. I megacariociti e le piastrine possiedono sulla loro superficie un recettore per la trombopoietina, chiamato c-mpl. La trombopoietina circolante nel plasma si lega al recettore c-mpl sulla superficie delle piastrine circolanti. La quota libera di trombopoietina non legata alle piastrine funge da stimolo a livello dei megacariociti controllandone la proliferazione e quindi la produzione di piastrine. Pertanto, fisiologicamente, quando le piastrine diminuiscono numericamente, la trombopoietina libera aumenta e stimola la megacariocitopoiesi; per contro, quando si ha un incremento delle piastrine, il livello di trombopoietina libera è basso stimolando meno i megacariociti. In condizioni fisiologiche la massa piastrinica e i megacariociti midollari possono così regolare la produzione piastrinica e mantenere uno steady-state.

2.2.2 Cause di trombocitosi

Le forme di trombocitosi vengono classificate sulla base della loro eziopatogenesi (*Tabella 2.5*). Si distinguono pertanto trombocitosi reattive (TR), qualora l’incremento del numero delle piastrine sia legato a una malattia sottostante non clonale e trombocitosi primitive (TP), in cui viene riconosciuta un’alterazione clonale dell’emopoiesi responsabile dell’incremento numerico delle piastrine. Le TR sono più frequenti in qualsiasi classe di età rispetto alle TP, sono transitorie, cioè la trombocitosi si risolve dopo la correzione della causa scatenante e, raramente, sono associate a complicanze vascolari. È ormai chiaro che il numero delle piastrine di per se non sia cruciale per distinguere le TR dalle TP. Nella pratica clinica si possono infatti identificare trombocitosi superiori a $1.500 \times 10^9/L$ in forme reattive come piastrine intorno alle $450 \times 10^9/L$ nella trombocitemia essenziale. Vi sono anche forme familiari di trombocitosi, molto rare, che sono discusse in un capitolo dedicato di questo volume.

TABELLA 2.5 **Classificazione e frequenza delle trombocitosi**

Condizioni	Frequenza
Trombocitosi reattiva	~ 85-90%
Trombocitemie primitive	~ 10-15%
Trombocitemia familiare	<1%

2.2.3 Trombocitosi reattive

Molti gruppi hanno ormai documentato che l’incremento delle piastrine nelle forme reattive sia legato a un incremento di citochine in risposta a stimoli infiammatori. Sono stati infatti rilevati alti livelli di IL-1, IL-6, GM-CSF, G-CSF in pazienti con TR. Il sottostante stimolo infiammatorio/infettivo acuto o cronico determina infatti una up-regulation della produzione di trombopoietina da parte del fegato. Inoltre l’IL-6 gioca un ruolo prominente nella risposta della fase acuta del processo infiammatorio e nelle malattie neoplastiche, up-regolando l’espressione di mRNA della trombopoietina a livello epatico.

Le TR possono essere acute o croniche. La *Tabella 2.6* indica la frequenza relativa delle principali cause di trombocitosi. Nelle TR, l’elevato numero di piastrine si

associa a manifestazioni cliniche della malattia sottostante e questo facilita l'approccio diagnostico. Nei casi in cui la piastrinosi sia secondaria a un processo neoplastico subdolo la diagnosi è più difficile ed è necessario un approccio diagnostico integrato.

TABELLA 2.6 Eziologia e frequenza delle trombocitosi reattive

Trombocitosi reattive	Frequenza
Infezioni	25-32%
Post-splenectomia	15-20%
Tumori	10-15%
Trauma	10-15%
Malattie infiammatorie	10%
Sanguinamento	5-7%
Rebound	4%

Trombocitosi reattive a infiammazione

Le piastrine possono aumentare come espressione della “fase acuta” in tutti gli stati infiammatori o infettivi acuti o cronici. Tra questi le più frequenti sono la colite ulcerosa, il morbo di Crohn, le collagenopatie, la tubercolosi, le polmoniti e le più rare osteomieliti.

Per escludere la presenza di malattie infiammatorie nei pazienti con trombocitosi è indicato testare tra gli accertamenti di primo livello la Ves, e in seguito far guidare l'approccio diagnostico dalle manifestazioni cliniche del paziente. Il dosaggio della trombopoetina non ha utilità.

Trombocitosi reattive a neoplasie

La trombocitosi neoplastica può svilupparsi in seguito alla produzione di IL-6 da parte della neoplasia stessa, fenomeno relativamente diffuso tra i diversi tipi di tumore, e relativamente frequente nel tumore del polmone. Un meccanismo alternativo di piastrinosi nei tumori solidi è il sanguinamento cronico indotto tipicamente da neoplasie del tratto gastroenterico o genitourinario. In alcune neoplasie solide, come quelle della vescica, rene, ovaio, ed esofago, la piastrinosi alla diagnosi potrebbe avere anche un impatto prognostico. Le manifestazioni cliniche guidano l'approccio diagnostico, ma nel caso di neoplasie con sanguinamento cronico lo studio dello

stato marziale (sideremia, transferrina, ferritina) e la presenza di anemia microcitica ipocromica potrebbero avere un'utilità diagnostica. Il dosaggio della trombopoetina non ha utilità.

Trombocitosi reattive a cause diverse

Un aumento acuto del numero delle piastrine si documenta dopo esercizio fisico intenso, dopo trauma, e dopo somministrazione di adrenalina (effetto delle catecolamine sul pool marginato). Anche le emorragie acute possono causare trombocitosi, mentre lo stillicidio cronico può essere la causa di moderate piastrinosi associate a quadri di anemia normo-microcitica. Le piastrine possono incrementarsi fino a oltre 1.000.000/ μ L dopo la splenectomia e spesso permanere elevate per lungo periodo.

2.2.4 Trombocitosi primitive

Le forme primitive di trombocitosi costituiscono circa il 10-15% dei casi di piastrinosi. Potenziali criteri utili per discriminare le TR dalle TP sono riportati nella *Tabella 2.7*. Negli ultimi anni lo studio della mutazione JAK2 (V617F), delle mutazioni del gene MPL e lo studio della biopsia osteomidollare hanno assunto una notevole rilevanza diagnostica, anche se prima di procedere all'esecuzione di tali test è obbligatorio escludere con parametri semplici le più frequenti cause di TR.

TABELLA 2.7 **Criteri per discriminare le cause reattive e primitive di trombocitosi**

	Trombocitosi reattive	Trombocitosi primarie
Identificazione eziologia	+	-
Storia di trombosi o emorragia	-	+
Splenomegalia	-	+
Alterazioni parametri infiammatori	+	-/+
Carenza marziale	+	-*
Mutazioni di JAK2, MPL	-	+
Fibrosi midollare	-	+
Atipie morfologiche dei megacariociti	-	+
Anomalie citogenetiche	-	+

* eccezione per la policitemia vera

Cenni clinici delle trombocitosi primitive

Le TP includono la trombocitemia essenziale (TE), la policitemia vera (PV), la mielofibrosi primaria (MFP), alcune sindromi mielodisplastiche (SMD) e la leucemia mieloide cronica (LMC). La TE si caratterizza per la presenza di isolata trombocitosi accompagnata da leucocitosi in meno del 10-20% dei casi ed è la condizione clinica che entra più frequentemente in diagnosi differenziale nell'inquadramento delle trombocitosi. I criteri diagnostici di queste condizioni sono stati recentemente aggiornati nella classificazione della World Health Organization (WHO). La PV è clinicamente caratterizzata da eritrocitosi (solo il 20-30% circa presenta anche trombocitosi) e lo studio dell'eritropoietina sierica, delle mutazioni di JAK2 e della biopsia osteomidollare sono parametri indispensabili per riconoscerla. La mielofibrosi primaria è una malattia molto eterogenea: la trombocitosi, quando presente (circa il 20-30% dei casi), si può associare a cospicua splenomegalia, a leucocitosi o a leucopenia e anemia. La dimostrazione di fibrosi midollare, di anomalie morfologiche tipiche dei megacariociti, la presenza di screscio leucoeritroblastico allo striscio di sangue periferico rappresentano parametri utili ai fini diagnostici.

Tra le sindromi mielodisplastiche, oltre alle forme riconoscibili sulla base dell'analisi citogenetica (5q-, anomalie del cromosoma 3), l'anemia sideroblastica acquisita associata a trombocitosi (RARS-T) si può presentare con trombocitosi, usualmente associata a moderata anemia e splenomegalia. La valutazione midollare documenta la presenza di sideroblasti ad anello (più del 15%) e molti pazienti presentano la mutazione JAK2 (V617F). Nella leucemia mieloide cronica la trombocitosi si accompagna a leucocitosi con comparsa allo striscio di sangue periferico di cellule immature. La diagnosi definitiva di leucemia mieloide cronica si basa sulla presenza del cromosoma Philadelphia e del trascritto BCR/ABL.

Diagnosi di trombocitemia essenziale

Le *Tabella 2.8* riporta i criteri diagnostici della TE in accordo alla classificazione WHO. La diagnosi di TE si basa sulla presenza di una conta piastrinica stabilmente superiore a $450 \times 10^9/L$. Nella maggioranza dei pazienti il numero delle piastrine è compreso tra questo valore e $1.000 \times 10^9/L$, anche se è possibile riscontrare valori di piastrine superiori a $1.500 \times 10^9/L$. L'emoglobina è usualmente all'interno dei parametri di normalità con meno del 20% circa di pazienti che presentano valori di emoglobina ai limiti inferiori della norma. In alcuni casi l'emoglobina può essere elevata (borderline con i criteri diagnostici di policitemia vera): in questi casi è importante tenere in considerazione precedenti valori di emoglobina e, soprattutto, monitorare il parametro nel follow-up. L'approfondimento diagnostico con la biopsia osteomidollare potrebbe essere dirimente.

La valutazione dello striscio di sangue periferico non rivela anomalie specifiche nella maggior parte dei casi di TE, se non un incremento delle dimensioni delle piastrine, reperto peraltro non sempre presente e aspecifico.

Alla visita il paziente con TE può presentare una moderata splenomegalia in circa il 15-20% dei casi, raramente eccedente i 5 cm dall'arcata costale.

TABELLA 2.8 Criteri WHO per la diagnosi di trombocitemia essenziale

- Conta piastrinica stabilmente superiore a $450 \times 10^9/L$
- Biopsia osteomidollare con evidenza di proliferazione prominente della linea megacariocitica con aumento del numero di megacariociti grandi e maturi; non significativa alterazione delle linee mieloidi ed eritroidi.
- Assenza dei criteri WHO per la diagnosi policitemia vera, mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica BCR/ABL1-positiva, sindromi mielodisplastiche o altre neoplasie mieloidi
- Mutazione JAK2 (V617F) o altre anomalie clonali; in caso di assenza di queste mutazioni, nessuna evidenza di cause di trombocitosi reattiva

La valutazione dell'istologia midollare tramite biopsia osteomidollare è un punto essenziale nella diagnosi di TE. Caratteristici sono i megacariociti di grandi dimensioni con nuclei iperlobati, citoplasma abbondante e la tendenza alla clusterizzazione lassa.

I megacariociti francamente atipici sono più frequenti nella MFP che nella TE. La cellularità midollare è nei limiti per l'età del paziente. L'incremento della proliferazione granulocitaria o eritroide è un riscontro inusuale nella TE (tipico della PV), come pure uno spiccato incremento della fibrosi midollare (tipico della MFP), normale o minimamente aumentata nella TE. La presenza di proliferazione granulocitica associata a megacariociti di forma bizzarra è un indicatore di diagnosi della MFP. Il riscontro di diseritropoiesi o disgranulopoiesi è indicativo di sindrome mielodisplastica. I megacariociti di grandi dimensioni e iperlobati della TE contrastano infatti con i megacariociti di medie dimensioni e ipolobati associati all'anomalia cromosomica isolata 5q- o con i megacariociti di piccole dimensioni associati alle anomalie del cromosoma 3, quali $inv(3)(q21;q26.2)$ o $t(3;3)(q21;q26.2)$ nelle sindromi mielodisplastiche. Alcuni casi di LMC possono presentarsi con spiccata trombocitosi, entrando così in diagnosi differenziale con la TE. Sebbene nella LMC i megacariociti siano di piccole dimensioni, il parametro più sensibile per distinguere le due condizioni è la presenza del cromosoma Philadelphia o del riarrangiamento BCR/ABL: lo studio di tale riarrangiamento è obbligatorio in tutti i pazienti con TE.

Nella pratica clinica, il punto cruciale è la distinzione della TE dalla mielofibrosi prefibrotica. In questo caso la biopsia osteomidollare è l'unica procedura con potere discriminante. I criteri diagnostici della mielofibrosi sono elencati nella *Tabella 2.9*, mentre in precedenza sono state descritte le caratteristiche istologiche di questa forma. Recentemente, in uno studio internazionale coinvolgente centri europei e americani la biopsia osteomidollare di 1.104 pazienti con diagnosi di TE è stata rivalutata e ridefinita sulla base dei criteri diagnostici WHO (*Tabelle 2.8 e 2.9*). Al termine della revisione, è stata posta diagnosi di TE in 891 (81%) pazienti e diagnosi di mielofibrosi prefibrotica in 180 (16%), i rimanenti casi non erano valutabili. È stato dimostrato che i pazienti con TE avevano una migliore sopravvivenza (80% a 15 anni), un minor rischio di evoluzione in leucemia acuta (2,1% a 15 anni) e in mielofibrosi (9,3% a 15 anni) rispetto ai pazienti con mielofibrosi prefibrotica (sopravvivenza, rischio di leucemia acuta e mielofibrosi a 15 rispettivamente pari a 59%, 11,7%, e 16,9%). Per quanto concerne il rischio vascolare non vi erano differenze significative tra le due malattie. Questo studio sottolinea l'importanza della valutazione della biopsia osteomidollare nelle TP anche per la definizione prognostica dei pazienti con trombocitosi.

Lo studio della mutazione JAK2V617F e, in caso di negatività, delle mutazioni di MPL sono obbligatorie nell'approccio diagnostico di un paziente con sospetto di TE, ma non consentono di per sé di discriminare tra TE e MFP. Infatti la prima mutazione è presente in circa il 60% di TE e MFP e la seconda in circa il 4-5% delle TE e nell'8-10% delle MFP. Il carico allelico della mutazione JAK2V617F non ha utilità diagnostica. L'analisi citogenetica è un parametro di per se poco utile nella TE dal momento che solo il 3-5% dei pazienti hanno anomalie del cariotipo alla diagnosi, ma è molto importante per riconoscere il cromosoma Philadelphia nella LMC e le anomalie del cromosoma 5 e 3 nelle sindromi mielodisplastiche.

Circa il 25% dei pazienti con TE presenta alla diagnosi iperuricemia legata all'eccessivo turnover cellulare e alcuni pazienti presentano pseudoiperkaliemia e iperfosfatemia. In caso di piastrinosi eccessiva (piastrine superiori a $1.000 \times 10^9/L$) si può riscontrare un'anomalia laboratoristica del profilo emocoagulativo compatibile con sindrome di von Willebrand acquisita. Tale sindrome si caratterizza per la presenza di piastrinosi, tendenza al sanguinamento, tempo di sanguinamento allungato, fattore VIII e antigene di von Willebrand nei limiti, ridotta attività del cofattore ristocetinico. Lo studio dei fattori di rischio vascolare genetico, seppur utili in alcune condizioni, non ha dimostrato utilità nella gestione del paziente con TE.

TABELLA 2.9 Criteri WHO per la diagnosi di mielofibrosi primaria**Criteri maggiori (tutti)**

- Biopsia osteomidollare con evidenza di proliferazione dei megacariociti con atipie morfologiche, usualmente accompagnata da fibrosi reticolinica e/o collagena oppure, in assenza di fibrosi midollare, le atipie dei megacariociti devono essere accompagnate da un incremento della cellularità midollare con proliferazione granulocitaria e riduzione della linea eritroide (mielofibrosi prefibrotica)
- Assenza dei criteri WHO per la diagnosi di policitemia vera, leucemia mieloide cronica BCR/ABL1-positiva, sindromi mielodisplastiche o altre neoplasie mieloidi
- Mutazione JAK2 (V617F) o altre anomalie clonali (es. MPLW515K/L); in caso di assenza di queste mutazioni, nessuna evidenza di cause di fibrosi midollare reattive (infezioni, malattie autoimmuni, malattie infiammatorie croniche, tricoleucemia o altre malattie linfoproliferative, metastasi midollare di neoplasie, mielopatie tossiche)

Criteri minori (almeno tre)

- Screzio leucoeritroblastico
- Incremento LDH
- Anemia
- Splenomegalia palpabile

2.2.5 Percorso diagnostico della trombocitosi

Di fronte a un paziente che presenta una trombocitosi occorre pertanto intraprendere un percorso diagnostico volto in prima istanza a identificare possibili cause reattive e successivamente primitive di trombocitosi.

Schematicamente, gli accertamenti di I livello utili per discriminare le TR sono:

- Esame emocromocitometrico. La presenza di leucocitosi con neutrofilia indica alterazioni dello stato infiammatorio, ma, in assenza di clinica e/o di indici infiammatori alterati, potrebbe essere anche un segno di TP (LMC, MFP). La presenza di eritrocitosi oltre alla piastrinosi indica PV. Lo striscio di sangue periferico oltre alla piastrinosi può rilevare la presenza di dacriociti (MFP, metastasi midollari di neoplasia solida), di emazie ipocromiche microcitiche (carenza marziale), di impilamento delle emazie (PV), di elementi immaturi circolanti (LMC, MFP)
- Stato marziale: dosaggio di sideremia, ferritina e transferrina e percentuale di saturazione della transferrina

- Indici infiammatori: VES, proteina C reattiva
- Indagini strumentali: ecografia addominale, radiografia del torace, altre indagini su specifiche indicazioni cliniche

Una volta escluse le TR, è indicato approfondire le TP

- Mutazione del gene JAK2 (V617F) e del gene MPL
- Biopsia osteomidollare: valutazione cellularità midollare globale corretta per età del paziente, studio proliferazione della linea megacariocitaria, eritroide e granulocitaria; valutazione atipie morfologiche dei megacariociti; stato della fibrosi midollare
- Citogenetica (cromosoma Philadelphia, 5q-, anomalie del cromosoma 3)
- Citochimica su sangue midollare: studio dei sideroblasti ad anello

È importante ricordare che non in tutte le trombocitosi è possibile riconoscere un evento eziologico; in tali casi, se in assenza di manifestazioni cliniche rilevanti, è indicato mantenere il paziente in stretto follow-up clinico-laboratoristico.

KEY POINTS

- Le trombocitosi reattive (TR) sono più frequenti delle forme primarie (TP)
- Le cause più frequenti di TR sono gli stati infiammatori acuti o cronici, le neoplasie o il sanguinamento cronico
- L'approfondimento diagnostico delle TR è guidato dalla sintomatologia clinica, ma VES, proteina C reattiva, stato marziale sono obbligatori in tutti i casi di trombocitosi
- Le forme primarie sono la trombocitemia essenziale (TE), la policitemia vera (PV), la mielofibrosi primaria (MFP), le sindromi mielodisplastiche (SMD) e la leucemia mieloide cronica (LMC)
- Fondamentali per la diagnosi di queste condizioni sono: visita; numero di leucociti (aumentati nella MFP e LMC, meno nella PV) e livello di emoglobina (aumentato nella PV); striscio di sangue periferico (progenitori circolanti nella PMF e LMC), biopsia osteomidollare (caratteristica nella TE e MFP, utile nella PV borderline), analisi citogenetica (utile nelle SMD), JAK2 (V617F) e mutazioni di MPL (utile nella distinzione TR e TP)

2.3 IL PAZIENTE CON LEUCOCITOSI

Un incremento dei globuli bianchi totali al di sopra di due deviazioni standard rispetto alla media del valore nella popolazione sana, o leucocitosi, può essere riscontrato in soggetti che abbiano eseguito un esame emocromocitometrico per accertamenti in corso di una sintomatologia, specifica o generica, oppure durante un controllo di routine in stato di pieno benessere. I contatori automatici forniscono un'accurata stima, eseguita con tecnica citometrica, delle varie popolazioni leucocitarie espresse come percentuale del totale e come conta assoluta. Pertanto, il tipo di sottopopolazione leucocitaria responsabile dell'incremento della conta totale, così come la presenza o meno di una sintomatologia clinica, rappresentano le prime indicazioni per orientare il processo diagnostico. Considerate le finalità di questo manuale, prenderemo in considerazione solamente le leucocitosi che coinvolgono cellule della serie mieloide, tralasciando la discussione delle forme linfoidi.

2.3.1 Neutrofilia

Un incremento assoluto del numero dei granulociti neutrofili (usualmente si intende al di sopra di 10.000 elementi/ mm^3) è un'alterazione frequente nella maggiore parte dei pazienti con neoplasie mieloproliferative croniche, ma può essere espressione anche di numerose cause di secondarietà, estremamente comuni, quali le infezioni, le condizioni infiammatorie croniche, alcuni farmaci, la presenza di neoplasie solide, gli stati di asplenia o di iposplenismo.

L'anamnesi può indirizzare verso forme secondarie nel caso sia significativa per febbre elevata, sintomi di infezioni a carico di organi e apparati (tosse produttiva, diarrea, disuria o stranguria, ecc), malattie reumatiche, fattori di rischio per neoplasie, splenectomia, terapia corticosteroidea prolungata (nel qual caso la neutrofilia è in larga parte da attribuirsi a meccanismi di demarcazione e mobilizzazione), uso di fattori di crescita granulocitari in corso di terapie per neoplasie solide o ematologiche; una neutrofilia moderata è alquanto comune nei fumatori di sigaretta senza alcuna manifestazione infettiva in atto. Al contrario, sintomi quali la febbre di basso grado, le sudorazioni notturne, un dimagrimento superiore al 10% del peso corporeo nel corso negli ultimi 6 mesi, devono orientare verso una forma neoplastica, che può essere ematologica o meno. Le neoplasie mieloproliferative croniche (NMP) che più comunemente si manifestano con una neutrofilia sono la leucemia mieloide cronica, la policitemia vera e la mielofibrosi primaria, più raramente invece la trombocitemia essenziale. Queste malattie possono manifestarsi clinicamente con prurito, che insorge tipicamente dopo

la doccia calda, disturbi microvascolari quali parestesie agli arti superiori e inferiori, cefalea, scotomi e vertigini, senso di ingombro addominale per splenomegalia, oltre che con i sintomi sistemici prima menzionati. In considerazione dell'aumentato rischio trombotico di questi pazienti, suggestivo è anche un eventuale riscontro anamnestico di trombosi arteriose e/o venose, specialmente se insorte in giovane età e in assenza di altri fattori di rischio e in vicinanza temporale con il riscontro di leucocitosi. L'esame obiettivo può evidenziare la presenza di splenomegalia, che almeno in fase diagnostica dovrebbe essere confermata con un esame ecografico dell'addome per escludere la concomitante presenza di lesioni solide spleniche, infarti, emorragie parenchimali o alterazioni dei vasi splancnici spleno-epatici-mesenterici e portale.

Il riscontro di leucocitosi neutrofila deve essere correlato ad altri parametri dell'esame emocromocitometrico, in quanto la leucocitosi può essere associata a un incremento dell'ematocrito, suggerendo una diagnosi di Policitemia Vera, o delle piastrine, indirizzando verso una Mielofibrosi piuttosto che verso una Trombocitemia Essenziale specialmente se associata a leucoeritroblastosi. Nell'ambito delle NMPc l'anemia associata a leucocitosi è suggestiva di Mielofibrosi.

La valutazione dello striscio di sangue periferico può fornire informazioni importanti soprattutto per la ricerca di forme immature quali mielociti e metamielociti. Questi possono essere presenti in alcune situazioni cliniche quali la pregressa splenectomia, la terapia cortisonica concomitante o la febbre settica, o anche, senza alcun significato patologico, nell'ultimo trimestre di gravidanza. Fra le NPM sono invece tipici della mielofibrosi, e si accompagnano spesso ad alterazioni della morfologia dei globuli rossi, che assumono in parte la tipica forma a lacrima (dacriociti), e a eritroblasti ortocromatici. Attenzione particolare va posta alla presenza di blasti: i pazienti con mielofibrosi possono avere una piccola percentuale di blasti nel sangue periferico, ma una percentuale superiore al 20% orienta piuttosto verso una forma di leucemia acuta.

Nel sospetto di una NMP, la ricerca di specifiche alterazioni molecolari è fondamentale per la diagnosi. Innanzitutto è necessario escludere una forma Philadelphia positiva tramite la ricerca del riarrangiamento BCR/ABL con tecnica FISH, eseguibile con un prelievo di sangue periferico. Il vantaggio della FISH quale metodica di screening rispetto alla ricerca con tecnica di amplificazione del RNA (RT-PCR) è la possibilità di individuare qualsiasi tipo di riarrangiamento BCR/ABL. In caso di negatività della FISH si dovranno ricercare le mutazioni tipiche delle neoplasie mieloproliferative croniche Ph-negative. In primo luogo la più comune, la mutazione puntiforme JAK2V617F, che ha una frequenza superiore al 95% nei pazienti con Policitemia Vera e di circa 60% in quelli con Trombocitemia Essenziale o Mielofibrosi Primaria. Nella classificazione WHO delle Neoplasie Mieloproliferative

Croniche del 2008 la presenza della mutazione di JAK2V617F o di un altro marcatore molecolare è stata inserita come un criterio diagnostico maggiore. Qualora quindi si sospetti comunque una NPM che è risultata negativa alla mutazione JAK2V617F è indicato ricercare le mutazioni più rare. Nei casi di sospetta Policitemia Vera si dovranno ricercare le mutazioni a carico dell'esone 12 di JAK2, sebbene queste alterazioni si associno generalmente a un quadro di eritrocitosi pura alla quale solo nel 10-15% dei casi si accompagna la leucocitosi. Se invece si sospetta una Trombocitemia Essenziale o Mielofibrosi Primaria, in cui circa il 40% dei casi è JAK2V617F negativo, è opportuno ricercare almeno le più comuni mutazioni del gene MPL, ovvero la mutazione W515L o W515K, che sono presenti nel 5-10% dei casi. Altre mutazioni di più recente scoperta, come quelle di EZH2, ASXL1 o LNK, non sono ancora rientrate appieno nella diagnostica di routine, ma possono avere un ruolo in casi estremamente selezionati.

Il riscontro di un dosaggio plasmatico elevato di latticodeidrogenasi totale (LDH), pur non avendo alcuna specificità diagnostica, può essere suggestivo di mielofibrosi, essendo generalmente poco alterato nelle altre forme mieloproliferative croniche.

La conta delle cellule CD34+ circolanti, se elevata, è indicativa di Neoplasia Mieloproliferativa Cronica e in particolare di Mielofibrosi.

Sia che sia possibile riscontrare una alterazione genetica ma ancora con maggior ragione nel caso in cui questo non sia avvenuto, è indicato ricorrere alla biopsia osteomidollare per confermare la diagnosi di neoplasia mieloproliferativa cronica. Infatti, le caratteristiche morfologiche del midollo osseo di questi pazienti sono state incluse dalla WHO come criterio maggiore per la diagnosi di Trombocitemia Essenziale e Mielofibrosi Primaria e come criterio minore per la Policitemia Vera. L'esame della biopsia osteomidollare permette inoltre di valutare la percentuale dei blasti midollari, eventuali segni di displasia o altre alterazioni maturative, e l'effettuazione dell'esame del cariotipo al fine di individuare altre alterazioni citogenetiche che possano dare informazioni sulla clonalità del quadro ematologico. Un elenco degli esami suggeriti per definire le leucocitosi con prevalenza di neutrofili è riportato in *Tabella 2.10*.

TABELLA 2.10

Esami ematologici per l'inquadramento del paziente con leucocitosi neutrofila persistente

- | | |
|--------------------------------|--------------------------|
| • Formula leucocitaria manuale | • Conta CD34+ circolanti |
| • Riarrangiamento BCR/ABL | • Biopsia osteomidollare |
| • Mutazione JAK2V617F | • Esame del cariotipo |
| • Mutazione MPL W515K/L | |

2.3.2 Eosinofilia

Un aumento persistente dei granulociti eosinofili rappresenta spesso una sfida diagnostica per il clinico, in quanto le cause che ne possono essere responsabili sono le più varie e numerose (*Tabella 2.11*).

TABELLA 2.11

Cause comuni di eosinofilia non-ematologiche (o secondarie)

Malattie allergiche o atopiche	Infezioni parassitarie	Infezioni non parassitarie
Asma/rinite allergica	Trichinellosi	Aspergillosi
Aspergillosi polmonare allergica	Toxocariasi o larva migrans viscerale	Brucellosi
Pneumopatie professionali	Tricuriasi	Malattia da graffio di gatto
Orticaria, eczema, dermatite atopica	Ascaridiosi	Coccidioidomicosi acuta
Allergia alle proteine del latte	Anchilostomiasi	Monucleosi
Reazioni allergiche da farmaci	Stongiloidosi	Malattie da micobatteri
Angioedema episodico con eosinofilia	Clonorchiasi	Scarlattina
	Fasciolasi	
	Paragonimiasi	
	Teniasi da T. Solium/cisticercosi	
	Echinococciosi	
	Filariasi	
	Schistosomiasi	
	Pneumocistis Carinii	
Neoplasie	Affezioni della pelle	Connettiviti/Vasculiti
Carcinomi e sarcomi (vescica, polmone, pancreas, colon, cervice uterina, ovaio, mammella, stomaco)	Dermatite esfoliativa	Sindrome di Churg-Strauss
Linfomi di Hodgkin e non Hodgkin	Dermatite erpetiforme	Periarterite nodosa
	Psoriasi	Artrite reumatoide
	Pemfigo	Sarcoidosi
		M. infiammatorie croniche intestinali
		Lupus eritematoso sistemico
		Sclerodermia
		Fascite eosinofila
		Sindrome di Dressler

Malattie Autoimmuni / Immunodeficienze	Disordini endocrini	Farmaci
GVHD	Insufficienza surrenalica (Addison)	Eparina
Carenza di IgA		Aspirina
Sindrome di Wiskott-Aldrich	Altro	Allopurinolo
	Cirrosi	Nitrofurantoina
	Radioterapia	etc
	Dialisi peritoneale	
	L-triptofano	

La presentazione clinica e l’anamnesi devono essere valutate molto accuratamente in quanto sono di fondamentale ausilio per indirizzare verso gli accertamenti da eseguire, senza tuttavia prescindere dall’effettuazione di alcuni esami di base che servono per escludere le cause più frequenti, quali quelli riportati in *Tabella 2.12*. Nel caso di anamnesi positiva per recenti viaggi in paesi tropicali è indicata una visita infettivologica al fine di escludere con maggior accuratezza patologie poco note nella normale pratica clinica.

TABELLA 2.12 **Esami indicati nello screening delle eosinofilie secondarie**

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Esame parassitologico delle feci in tre campioni• Esame urine• HIV, HBV, HCV• IgM per EBV• Galattomannano• Sierologia per Strongiloides• Elettroliti, indici di funzionalità epatica, VES, PCR, glicemia | <ul style="list-style-type: none">• Calcemia, Ace• Protidogramma e dosaggio IgA, IgG, IgM, IgE• CPK, aldolasi• Fattore reumatoide, ANCA, ENA, ANA, anti-dsDNA, ab antifosfolipidi• Markers neoplastici• Prove allergiche, RIST, RAST |
|--|---|

Nel caso si abbia una conta di eosinofili assoluta $>1.500/\text{mm}^3$ per almeno 6 mesi, in assenza di un motivo di secondarietà, si dovrà accertare la natura primitiva della ipereosinofilia.

Le sindromi ipereosinofile sono distinte dalla WHO in due categorie: la Leucemia Eosinoflica Cronica/Sindrome ipereosinofila e le Neoplasie mieloidi o linfoidi con associata eosinofilia e alterazioni genetiche note. La variante linfoide è caratterizzata dalla presenza di un clone linfocitario T secernente interleuchina 5, il fattore di crescita

più importante per gli eosinofili, che può essere messo in evidenza con l'analisi del riarrangiamento del TCR e l'immunofenotipo linfocitario. La variante mieloide è invece caratterizzata da una proliferazione clonale della linea mieloide con differenziamento in senso eosinofilo. Solo una minoranza dei casi presenta un riarrangiamento cromosomico che può interessare il gene PDGFR α , PDGFR β o FGFR1. Ciascuno di questi identifica un sottogruppo specifico di neoplasie mieloproliferative croniche secondo la classificazione WHO del 2008. Il riarrangiamento più frequente è FIP1L1/PDGFR α presente in circa il 10-20% dei casi. PDGFR β e FGFR1 possono avere diversi geni di fusione, hanno una frequenza ancora inferiore e spesso si associano a monocitosi. Una volta esclusa la presenza di altre neoplasie ematologiche che possono essere associate a eosinofilia, come la Leucemia Mieloide Cronica, le Leucemia Mielomonocitica Cronica e la Mastocitosi Sistemica, attraverso lo striscio di sangue periferico e il dosaggio della triptasi sierica, è appropriato ricercare i riarrangiamenti descritti, la cui identificazione ha anche ricadute ai fini terapeutici in quanto la presenza di queste mutazioni conferisce sensibilità all'inibitore delle tirosin-chinasi Imatinib.

Il restante 90% delle sindromi ipereosinofile non ha invece un marcatore molecolare specifico, e la diagnosi è quindi di esclusione (*Tabella 2.13*). La biopsia osteomidollare è necessaria in assenza di marcatori molecolari, ma è ugualmente consigliata nei casi positivi ad uno dei riarrangiamenti al fine di valutare un'eventuale blastosi midollare o note di mielodisplasia o di fibrosi, oltre a consentire l'esecuzione dell'esame del cariotipo midollare che può fornire informazioni su alterazioni genetiche aggiuntive.

TABELLA 2.13

Esami ematologici per l'inquadramento del paziente con leucocitosi eosinofila persistente ed esclusione di forme secondarie

- Formula leucocitaria manuale
- Riarrangiamento BCR/ABL su sangue periferico
- Riarrangiamento FIP1L1/PDGFR α su sangue periferico
- Riarrangiamento del gene PDGFR β su sangue midollare
- Riarrangiamento del gene FGFR1 su sangue midollare
- Immunofenotipo linfocitario e studio del riarrangiamento del TCR β su sangue periferico
- Dosaggio triptasi sierica
- Biopsia osteomidollare con immunoistochimica per triptasi
- Immunofenotipo per mastocitosi (espressione aberrante di CD2/CD25 sui mastociti) su sangue midollare
- Ricerca mutazione cKit D816V per mastocitosi
- Esame del cariotipo

2.3.3 Monocitosi

Nel caso in cui la leucocitosi sia dovuta prevalentemente a un incremento della componente monocitaria si devono prendere in considerazione numerose cause di secondarietà oltre a più rare forme primitive ematologiche. Le prime includono infezioni acute e croniche (tubercolosi, sifilide), processi infiammatori cronici specie di tipo granulomatoso (sarcoidosi, malattia di Crohn, arterite di Horton), la pregressa splenectomia e neoplasie, sia non ematologiche (carcinomi) che ematologiche (in corso di linfoma di Hodgkin, rare forme di istiocitosi).

Prima di porre il sospetto di Leucemia Mielomonocitica Cronica (LMMC) devono essere escluse altre neoplasie ematologiche che possono presentarsi con una associata monocitosi, fra cui la Leucemia Mieloide Cronica BCR/ABL positiva, e le Neoplasie Mieloidi con riarrangiamento del $PDRGR\beta$ o $FGFR1$, che presentano concomitante eosinofilia. È indicato sospettare una LMMC quando si ha una monocitosi periferica persistente >1.000 monociti/ mm^3 . Particolare attenzione va posta nella lettura dello striscio di sangue periferico, in quanto i monociti possono presentare note di atipia e di immaturità, tanto che può essere difficile una distinzione con blasti monocitoidi. Questi devono essere $<20\%$ per non dover porre diagnosi di leucemia acuta. La LMMC è stata inclusa dalla WHO in una categoria a ponte fra le Neoplasie Mieloproliferative Croniche e le Sindromi Mielodisplastiche per la comune presentazione clinica con caratteristiche di entrambi i tipi di patologia ematologica.

Oltre alla proliferazione della linea monocitaria, per porre diagnosi deve essere infatti presente displasia in almeno una delle linee emopoietiche. Si rende pertanto necessaria l'esecuzione della biopsia osteomidollare, che servirà a valutare sia la displasia che il numero di blasti. Ulteriori accertamenti necessari per la diagnosi sono l'immunofenotipo e l'esame del cariotipo o la FISH rivolta alla ricerca delle anomalie citogenetiche più ricorrenti, come la trisomia del cromosoma 8, la delezione del 7 o le alterazioni strutturali del 12q. Le alterazioni citogenetiche clonali sono infatti presenti nel 20-40% dei casi. La LMMC presenta inoltre numerose mutazioni genetiche, nessuna delle quali risulta tuttavia specifica o diagnostica. Le più frequenti sono le mutazioni a carico di *NRAS*, identificabili in circa il 40% dei casi. Altri geni interessati da mutazioni possono essere *RUNX1*, *TET2*, e i più recentemente individuati *IDH1*, *ASXL1* e *CBL*. La LMMC può inoltre spesso associarsi ad altre neoplasie ematologiche, come ad esempio la Mielofibrosi e la Mastocitosi Sistemica; in questi casi è possibile riscontrare rispettivamente la mutazione *JAK2V617F* e *cKITD816V*. Tali ulteriori accertamenti sono tuttavia da richiedere nel caso di un forte sospetto clinico o a seguito dei risultati della biopsia osteomidollare.

Gli esami di primo livello indicati per porre diagnosi di Leucemia Mielomonocitica Cronica sono elencati nella *Tabella 2.14*.

TABELLA 2.14**Esami ematologici per l'inquadramento del paziente con monocitosi persistente ed esclusione di forme secondarie**

- Formula leucocitaria manuale
- Biopsia osteomidollare
- Esame del cariotipo e/o FISH per cromosoma 7, 8, 12
- Immunofenotipo
- Riarrangiamento BCR/ABL
- Mutazioni NRAS

In conclusione, nell'inquadramento del paziente con leucocitosi rivestono un ruolo fondamentale le caratteristiche della presentazione clinica e l'anamnesi al fine di identificare le possibili cause di secondarietà, ma nell'ambito delle forme primitive ematologiche, e in particolare nel campo delle NMP, un criterio importante è rappresentato dalla identificazione di specifiche alterazioni molecolari e dalla valutazione della biopsia osteomidollare.

2.4 IL PAZIENTE CON SPLENOMEGALIA

Numerose sono le condizioni patologiche nelle quali la milza partecipa con aumento del suo volume. Nelle MPN una buona percentuale di casi viene scoperta per il riscontro occasionale di splenomegalia. La situazione più frequente è che la splenomegalia si associ a chiari segni e dati biochimici che orientano verso un disordine mieloproliferativo. Più rara è la situazione in cui il percorso diagnostico di una splenomegalia ponga difficoltà e la splenomegalia richieda un ragionamento di diagnostica differenziale complesso.

La *Tabella 2.15* raggruppa le malattie sulla base del meccanismo fisiopatologico che da origine alla splenomegalia.

Mentre la nosografia fisiopatologia è utile per la classificazione sistematica dei

meccanismi che intervengono nella produzione di splenomegalia, essa è meno utile quale strumento di diagnosi differenziale nella clinica. Nella grande maggioranza delle circostanze, l'aumento della milza è segno secondario di quadri clinici composti di malattie infettive, metaboliche, tumorali o infiammatorie. In questi casi, raramente la splenomegalia è segno utile per la generazione delle ipotesi diagnostiche. Vi sono tuttavia situazioni nelle quali il segno “splenomegalia” ha un elevato potere evocativo per la generazione dello spazio di ipotesi diagnostiche. Queste situazioni possono configurare una nosografia per problemi che risulta essere clinicamente efficace.

Una nosografia per problemi che abbia come oggetto il segno “splenomegalia” non è codificata e non ne esistono tentativi sistematici in letteratura. Tuttavia, è osservazione riportata nella trattatistica che il potere di indirizzamento diagnostico è notevolmente maggiore quando la milza è massivamente ingrandita e che questa specificità nosografia restringe la diagnostica differenziale a poche malattie ematologiche maligne, malattie da accumulo e malattie primitive della milza. Accanto a categorie basate sull'unicità dimensionale della splenomegalia (splenomegalie massive), la nosografia per problemi elenca entità che trovano la loro unicità nella attribuzione di caratteristiche cliniche qualificanti (splenomegalie isolate) o nella tipicità di associazione (splenomegalie con febbre).

TABELLA 2.15 **Nosografia fisiopatologica delle splenomegalie**

Meccanismo fisiopatologico	Causa	Malattie
Iperplasia reticolo-endoteliale	Immuno-infettiva	Mononucleosi infettiva AIDS Epatite virale Infezione da citomegalovirus Endocardite batterica subacuta Setticemia batterica Sifilide congenita Tubercolosi splenica Istoplasmosi Malaria Leishmaniosi Tripanosomiasi Ehrlichiosi
	Iperemocateretica	Anemia emolitica autoimmune Anemia falciforme Talassemie ed emoglobinopatie Porpora idiopatica trombocitopenia Carenza di vit. B12 severa

Meccanismo fisiopatologico	Causa	Malattie
Proliferazione poli-clonale di cellule B	Infiammatoria o autoimmune	Artrite reumatoide Lupus eritematoso sistemico Sindrome di Felty Morbo di Still Vasculiti Reazione da farmaci Sarcoidosi Tireotossicosi (ipertrofia linfatica benigna) Pseudotumore splenico infiammatorio Immunodeficienza comune variabile
Ipertensione portale	Pre-epatica	Trombosi portale Trombosi vena mesenterica Trombosi vena splenica
	Intra-epatica	Cirrosi epatica
	Post-epatica	Sindrome di Budd-Chiari Pericardite costrittiva Scompenso cardiaco destro Cardiopatía congenita con grave ipertensione polmonare e ipossia (sindrome di Eisenberger)
Infiltrazione neo-plastica	Primitiva	Malattie linfoproliferative e linfomi Linfomi splenici Neoplasie mieloproliferative Leucemie acute Granuloma eosinofilo Istiocitosi X Morbo di Hodgkin
	Secondaria	Tumore metastatico
Infiltrazione tesauris-motica	Da difetti congeniti del metabolismo lipidico	Istiocitosi blu-mare Malattia di Tangier (carenza di lecitin-colesterolo aciltransferasi) Mutazioni del gene dell'apo-lipoproteina E
Emopoiesi splenica		Talassemia major o intermedia Mielofibrosi Iperproduzione di eritropoietina (gravi ipossie, policitemia tipo Chuvash)
Lesioni occupanti spazio		Angiomi Amartomi Cisti spleniche Ascesso splenico

2.4.1 Splenomegalia massiva

Indipendentemente dal meccanismo fisiopatologico della splenomegalia, il riscontro di milza enormemente aumentata di volume indirizza il percorso diagnostico verso uno spazio diagnostico limitato e pone questa presentazione come prima della nosografia orientata ai problemi. Henry e Longo hanno definito splenomegalia massiva come una milza palpabile più di 8 cm sotto il margine costale sinistro oppure il cui peso dopo drenaggio sia superiore a 1.000 g. Altri autori (Gobbi) per aumentare la specificità diagnostica del problema clinico hanno considerato più appropriato il limite di oltre 10 cm dall'arcata costale (linea ombelicale trasversa) per la definizione di splenomegalia massiva.

Splenomegalia massiva è riscontro clinico suggestivo di malattie infettive, quale la leishmaniosi viscerale e la splenomegalia malarica iperattiva; malattie vascolari, quali la trombosi portale; malattie ematologiche quali la talassemia major e intermedia; malattie infiltrative quali il morbo di Gaucher o di Nieman-Pick; malattie neoplastiche, quali i linfomi in particolare leucemia a cellule capellute, e sindromi mieloproliferative, in particolare mielofibrosi primaria o post-policitemia vera o post-trombocitemia essenziale (*Tabella 2.16*).

TABELLA 2.16

Malattie associate a splenomegalia massiva

- Linfoma splenico con linfociti villosi
- Leucemia a cellule capellute
- Mielofibrosi primaria e post policitemia vera o post-trombocitemia essenziale
- Leucemia mieloide cronica
- Trombosi del circolo portale
- Malattia di Gaucher, malattia di Nieman-Pick
- Morbo di Cooley
- Leishmaniosi viscerale
- Splenomegalia malarica iperattiva

La soluzione del problema diagnostico differenziale della splenomegalia massiva inizia da una contestualizzazione epidemiologica. Nei paesi tropicali, splenomegalia massiva orienta come prima ipotesi verso la splenomegalia malarica iperattiva (chiamata precedentemente sindrome splenomegalica tropicale) che risulta da una risposta immune abnorme a ripetuti attacchi malarici. È malattia endemica dei paesi tropicali ad alta incidenza di malaria in cui la prevalenza della malattia è fino

al 10%. I pazienti si presentano con milza costantemente oltre i 10 cm dall'arcata costale. In un lavoro che ha raccolto prospetticamente i dati di laboratorio e clinici di 221 pazienti originari del Ghana con dimensioni spleniche superiori a 10 cm, la splenomegalia malarica iperattiva fu la diagnosi nel 41% dei pazienti seguita dai disturbi linfoproliferativi-B che interessavano il 22% dei pazienti. Età inferiore a 40 anni e conta assoluta di linfociti nel sangue periferico (meno di $10 \times 10^9/L$) si dimostrarono i soli parametri utili e facilmente disponibili per distinguere i pazienti con splenomegalia malarica iperattiva da quelli con disordini linfoproliferativi. Poiché non esistono test diagnostici specifici per la splenomegalia malarica iperattiva, i pazienti che vivono in zone malariche e in cui è stata esclusa la presenza di malattie linfoproliferative clonali, sono trattati con farmaci antimalarici come test diagnostico.

Il criterio epidemiologico può essere applicato anche nella diagnosi differenziale dei pazienti che si presentano con splenomegalia massiva febbrile nei paesi del mediterraneo o che presentano questo quadro dopo soggiorno in paesi del mediterraneo in cui la leishmaniosi è endemica. La presentazione clinica e l'evoluzione della leishmaniosi viscerale è il risultato dell'azione del parassita e del sistema immune dell'ospite. La splenomegalia è usualmente massiva e si accompagna a febbre, pancitopenia e ipergammaglobulinemia. La diagnosi necessita della dimostrazione istologica del parassita. La biopsia del midollo osseo ha una sensibilità dell'80% ed è seconda solo all'agoaspirato splenico la cui sensibilità è 96-98%. Negli ultimi 10 anni la distribuzione geografica della leishmaniosi viscerale umana in Italia si è ampliata e la malattia si è espansa anche nelle aree più climatizzate del nord a causa del riscaldamento globale delle aree costiere mediterranee.

La diagnostica differenziale della splenomegalia massiva nei paesi non tropicali si basa sull'età e sulla presenza di alterazioni ematologiche specifiche.

2.4.2 Le splenomegalie isolate con o senza citopenia

Splenomegalia in assenza di altri segni, sintomi o esami di laboratorio che indirizzino verso malattia sistemica (febbre, manifestazioni reumatiche, sintomi costituzionali, indici di funzionalità epatica alterati, indici di flogosi presenti, neutrofilia, elementi immaturi nel sangue periferico), è un problema clinico che orienta verso un numero limitato di ipotesi diagnostiche e quindi si affianca alla "splenomegalia massiva" nella nosografia per problemi delle splenomegalie. Denominata in passato "splenomegalia idiopatica" per definire una sindrome caratterizzata da splenomegalia a eziologia ignota e ipersplenismo, comprende patologie primitive spleniche e patologie in cui la splenomegalia è dominante. Splenomegalia isolata è riscontrata frequentemente

per rilievo incidentale di massa splenica durante esami clinici o radiografici fatti con altri obiettivi. Quando sintomatica, si associa a dolore o fastidio in ipocondrio destro.

Rare sono le casistiche in cui è stata misurata l'incidenza della splenomegalia isolata in contesti clinici definiti. In una casistica israeliana di splenectomie laparoscopiche per masse spleniche solide, il 53,5% dei pazienti aveva una diagnosi incidentale e solo il 21% aveva splenomegalia palpabile, 17,9% splenomegalia massiva. Una preliminare contestualizzazione epidemiologica distingue le splenomegalie isolate tropicali e non tropicali. Nei paesi tropicali e africani la splenomegalia isolata evoca le stesse ipotesi diagnostiche della splenomegalia massiva, potendo la splenomegalia malarica iperattiva presentarsi oltre che in forma massiva anche in forma isolata.

Nei paesi occidentali le ipotesi diagnostiche più frequenti sono elencate nella *Tabella 2.17*, in cui dominano per prevalenza i tumori vascolari splenici e linfomi splenici primitivi. Entrambe sono malattie rare, ma la mancanza di studi specificamente orientati alla nosografia per problemi impedisce una stima della frequenza con cui esse incidono nella presentazione della splenomegalia isolata.

TABELLA 2.17 Malattie associate a splenomegalia isolata

Tumori vascolari della milza

- con istologia comune a tumori vascolari di altre sedi (angioma, linfangioma, angioendoteloma, angiosarcoma)
- con istologia unica della milza (angioma a cellule litorali, amartoma, trasformazione angiomatoide nodulare sclerosante)

Linfomi splenici primitivi

- con istologia da linfomi nodali (linfoma a grandi cellule B, linfoma mantellare, linfoma follicolare)
- con istologia unica (linfoma della zona marginale, linfoma B ricco di cellule T)

Peliosi splenica

Ipertensione portale sinistra

Pseudotumore splenico infiammatorio (tumore miofibroblastico infiammatorio)

Tumore follicolare a cellule dentritiche

Cisti spleniche

Cause molto rare di splenomegalia isolata

Splenomegalia isolata può essere la presentazione di patologie estremamente rare che tuttavia devono essere considerate nella diagnostica differenziale.

L'ipertensione portale sinistra. L'ipertensione portale sinistra (Left-sided portal hypertension-LSPH) chiamata anche ipertensione portale segmentaria, regionale, localizzata, compartimentale, lienale o splenoportale, è una forma localizzata di ipertensione portale che usualmente risulta da un'ostruzione isolata della vena splenica, anche se l'ostruzione della parte prossimale della vena porta può esserne una rara complicanza. La maggior parte dei pazienti sono asintomatici e si presentano con splenomegalia isolata. La sua incidenza esatta è sconosciuta ma certamente non supera il 5% dei casi di ipertensione portale. L'incidenza diagnostica è aumentata nelle ultime tre decadi a causa di una maggior conoscenza della sindrome e del miglioramento dei mezzi diagnostici. A oggi la letteratura ne riporta in tutto circa 450 casi.

La vena splenica è una vena grossa non tortuosa formata da 5 o 6 vene tributarie dalla milza. Giace inferiormente all'arteria splenica e dopo avere lasciato l'ilo splenico ruota dietro la coda e il corpo del pancreas. Oltre il collo del pancreas, la vena splenica si unisce alla vena mesenterica superiore per formare la vena porta. L'occlusione della vena splenica produce ipertensione nelle vie collaterali che portano il sangue splenico alla vena mesenterica superiore e portale incluse le vene gastriche brevi, le vene coronarie e gastroepiploiche e le vene localizzate nella metà superiore dello stomaco. Ne consegue che nella parete gastrica le vene del fondo formano varici e quando le vene coronarie drenano distalmente all'ostruzione della vena splenica, si formano varici esofagee.

La causa principale di ostruzione della vena splenica è la trombosi. Cause rare di ipertensione portale sinistra includono la compressione da parte di altri organi, edema, linfadenopatie o aneurismi della arteria splenica. La stretta connessione anatomica con il pancreas fa sì che i disturbi pancreatici contribuiscano alla maggior parte delle trombosi spleniche, e la pancreatite acuta e cronica e i tumori del pancreas ne siano le cause più frequenti.

La diagnosi di ipertensione portale sinistra è basata su valutazioni cliniche, biochimiche e radiologiche. L'US dimostra architettura epatica normale. Quando la diagnosi è dubbia può essere necessaria biopsia epatica per escludere la cirrosi epatica. Vi sono evidenze che usando la US duplex-doppler (DDUS) è possibile discriminare fra le splenomegalie di origine linfomatosa da quelle vascolari. Una diminuita velocità di flusso portale massima si è rivelata la variabile che meglio separa le due patologie. La RMN è tuttavia il mezzo più utile per studiare il sistema portale e la vascolatura splenica. L'angio-RM è diagnostica per la trombosi della vena splenica.

Lesioni cistiche della milza. Lesioni cistiche della milza includono cisti spleniche vere (o primarie), che sono cavità chiuse con contenuto liquido o semisolido rivestite internamente da epitelio, e le pseudocisti che sono masse ripiene di liquido senza rivestimento epiteliale. Le cisti spleniche vere includono le cisti epidermoidi e le cisti parassitarie, mentre le pseudocisti spleniche includono le cisti post-traumatiche, infiammatorie e infettive, le cisti congenite, e le metastasi cistiche. La diagnosi in prima istanza viene posta sulla base dell'US e TC. Quando queste indagini sono equivocate, la RMN può dimostrarsi utile. Mancanza dell'architettura splenica e alto contenuto di acqua sono le caratteristiche distintive. Non vi è enhancement dopo somministrazione di gadolinio.

La peliosi splenica. La peliosi è una condizione rara di eziologia sconosciuta caratterizzata dalla presenza di cisti multiple ripiene di sangue nel parenchima di organi solidi. È più frequente nel fegato ma è possibile il riscontro isolato di peliosi nella milza, che avviene in meno dell'1% dei casi all'autopsia. La peliosi splenica è stata trovata associata con condizioni croniche debilitanti, per esempio tumori, e con l'ingestione di medicinali come gli steroidi anabolizzanti. In letteratura ne sono riportati pochi casi e alcuni di questi complicati dalla spontanea rottura della milza che porta all'emoperitoneo. Gli aspetti radiologici sono indistinguibili dalle lesioni maligne primarie della milza. La milza si presenta come invasa da noduli multipli emorragici. L'esame istopatologico rivela la zona parafollicolare sostituita da spazi cistici ripieni di sangue. La patogenesi della peliosi splenica non è completamente compresa. Si pensa che la peliosi si sviluppi primariamente nell'interno di organi che appartengono al sistema monocito-fagocitico e che le lesioni rappresentino malformazioni venose che si manifestano sotto condizioni di alterata pressione intravascolare locale che possono essere congenite o acquisite. Sebbene la peliosi splenica sia definita fra le condizioni benigne, sono descritte rotture spontanee di milza. Il rischio di questo evento non è quantificato, ma anche piccole bolle peliotiche possono rompersi e dimostrarsi fatali. L'esame istologico rivela eccesso di macrofagi attorno alle cisti peliotiche e alla polpa rossa. Questi reperti hanno portato a speculare sulla natura immunologica delle lesioni mediata da immuno-complessi.

Pseudotumore splenico infiammatorio. Lo pseudotumore splenico infiammatorio è stato riportato per la prima volta da Cotelingam e Jaffe nel 1984 e da allora sono stati descritti più di 90 casi nella letteratura. Secondo la classificazione WHO dei tumori dei tessuti molli e dell'osso, lo pseudotumore infiammatorio è sinonimo di tumore infiammatorio miofibroblastico. La classificazione WHO pone questo tumore in una categoria di malignità intermedia (raramente metastatizzante). Originariamente identificato nel polmone, il tumore infiammatorio miofibroblastico è poi stato

riportato in una grande varietà di sedi. Sono colpiti esclusivamente i soggetti adulti con lieve predominanza del sesso femminile. La maggior parte degli pseudotumori della milza sono scoperti incidentalmente e si presentano come splenomegalie isolate senza sintomi. Nei rari pazienti sintomatici sono presenti dolori al quadrante sinistro dell'addome, a volte febbre di origine sconosciuta, perdita di peso e malessere. I segni di laboratorio, quando presenti, sono aspecifici e includono modesta anemia, leucocitosi, ipergammaglobulinemia e VES elevata. Istologicamente la lesione è composta da cellule fusate (spindle cells) di origine miofibroblastica, accompagnata da plasmacellule, linfociti ed eosinofili. Le cellule fusate fanno parte di un processo di riparo e possono essere di tipo I di derivazione monocitaria (positive alla vimentina, all'antigene della mucolatura liscia (SMA) e al CD68; di tipo II derivate dal miofibroblasto che reagiscono anche all'actina; e di tipo III o follicolare dentritico (positive a CD21 e CD35). Le cellule miofibroblastiche spesso portano traslocazioni cromosomiche che interessano il gene ALK per una tirosinocinasi recettoriale. La massa splenica all'US presenta caratteristiche di non vascolarizzazione e ipoecogenicità. La splenectomia rimane la procedura diagnostica e curativa.

I tumori dendritici follicolari. I tumori dentritici follicolari, anche chiamati "simili agli pseudo tumori" (psuedotumor-like) sono rare malattie a bassa malignità con un pattern morfologico distintivo. Sono grandi masse tumorali di colore marrone chiaro con centro necrotico emorragico con aspetto istologico che dimostra cellule dentritiche follicollari sparse e frammiste ad abbondanti linfociti e plasmacellule che assomigliano allo pseudotumore infiammatorio.

2.4.3 Le splenomegalie associate a febbre

La presentazione clinica con la diade sintomatologica di febbre e splenomegalia è riconosciuta come problema clinico in letteratura, ed è spesso considerata nell'ambito della diagnostica differenziale della febbre di origine sconosciuta (FUO). Attualmente la FUO è definita come malattia febbrile di durata maggiore di 3 settimane, temperatura di 38,3°C in almeno due occasioni, senza diagnosi dopo anamnesi ed esame obiettivo standardizzati e dopo alcuni accertamenti di laboratorio obbligatori, quali VES, proteina C reattiva, emocromo, elettroforesi sieroproteica, creatininemia, enzimi epatici, anticorpi antinucleo, fattore reumatoide, ecografia addominale, esame colturale del sangue e delle urine, test cutaneo alla tubercolina. La splenomegalia diventa in questi pazienti un indizio diagnostico che potenzialmente indirizza verso la diagnosi.

La causa più frequente di splenomegalia associata a FUO è la patologia linfomatosa

o infettiva localizzata nella milza. Quindi la nosografia si sovrappone parzialmente a quella delle splenomegalie isolate. Le malattie diagnosticate più frequentemente in presenza di splenomegalia febbrile sono i linfomi non-Hodgkin, la tubercolosi splenica, il linfoma di Hodgkin, la malattia di Castelman, la sindrome emofagocitica e l'ascesso splenico.

La linfoistiocitosi emofagocitica (hemophagocytic lymphohistiocytosis-HLH) è una malattia rara e fatale nella quale i pazienti si presentano clinicamente con febbre e splenomegalia e il laboratorio documenta citopenia, ipertrigliceridemia e iperferritinemia. È un disordine caratterizzato da accumulo nel sistema reticoloendoteliale di macrofagi attivati che mostrano fagocitosi di cellule emopoietiche. È frequente l'interessamento epatico associato. Nonostante la linfoistiocitosi emofagocitica sia possibilmente associata a infezioni, malattie autoimmunitarie e tumori solidi, il linfoma a cellule T è la causa prevalente della malattia.

L'ascesso splenico è una condizione rara la cui incidenza è difficile da stabilire anche se è riportato un buon numero di segnalazioni recenti in letteratura. Questo potrebbe essere giustificato da un'aumentata incidenza di stati di immunodepressione (post-trapianto, virus HIV e chemioterapia). L'età media di presentazione è di 40 anni, ma vi sono parecchi casi descritti nei bambini. Precedenti alterazioni localizzate della milza (cisti, emangiomi) possono essere fattori favorenti per la superinfezione. Non vi sono segni specifici di presentazione e la febbre e il dolore addominale sono presenti nella maggioranza dei casi. Splenomegalia è presente quasi sempre nei casi con diagnosi tardiva. Al contrario, quando la diagnosi è fatta sulla base di imaging della milza, la milza ha dimensioni normali. L'US ha sensibilità diagnostica del 75-90% e la CT ha il vantaggio di mostrare l'esatta localizzazione dell'ascesso, le sue strutture adiacenti ed è utile prima della chirurgia per individuare la miglior sede di drenaggio e per giudicare sulla possibilità della splenectomia parziale. Le colture del sangue e dell'ascesso risultano positive nel 50-70% dei casi e i germi più frequenti sono stafilococco, streptococco, escherichia coli e salmonella. Il trattamento dell'ascesso splenico include antibiotici e splenectomia. Il drenaggio percutaneo può essere sufficiente in caso di ascesso isolato.

La tubercolosi isolata della milza è attualmente molto rara e può osservarsi in soggetti relativamente giovani in buone condizioni generali nei quali la sintomatologia febbrile e la splenomegalia sono dominanti.

La fibrosi retroperitoneale si può presentare con milza massiva e la diagnosi è istologica su prelievi biotici dei tessuti molli perisplenici che mostrano proliferazione di fibroblasti e miofibroblasti con fibrosi e infiltrato linfoplasmacellulare.

2.5 DIAGNOSTICA MOLECOLARE NEI PAZIENTI JAK2V617F NEGATIVI

La definizione dello stato mutazionale per la mutazione ricorrente JAK2V617F rappresenta il test fondamentale nell'iter diagnostico attuale di un soggetto con sospetto di neoplasia mieloproliferativa cronica (MPN), dal momento che la mutazione si riscontra in oltre il 95% dei soggetti con policitemia vera (PV) e circa il 60% di quelli con trombocitemia essenziale (TE) o mielofibrosi primaria (PMF). Infatti, la positività alla mutazione JAK2V617F è un criterio diagnostico primario nella PV e nella MF, e uno dei quattro criteri diagnostici necessari per la diagnosi di TE, secondo la classificazione WHO del 2008. Rimane quindi una minoranza (<5%) di soggetti con un fenotipo clinico altamente suggestivo per PV, e una quota rilevante (circa il 40%) di quelli con TE o PMF nei quali, secondo la stessa classificazione WHO, si possono ricercare altre anomalie molecolari associate con le MPN, o aggiuntiva evidenza di una condizione di clonalità dell'emopoiesi, per soddisfare parimenti il criterio diagnostico. In effetti, un crescente numero di alterazioni genetiche associate con (ma in nessun caso specifiche per) le MPN sono state descritte negli anni successivi al 2005, data di prima descrizione della mutazione JAK2V617F.

Come riportato nella *Tabella 2.18*, da un punto di vista funzionale possiamo differenziare le principali alterazioni mutazionali note in due gruppi, ovvero mutazioni che comportano un'alterazione della via di trasmissione del segnale JAK2/STAT (oltre a JAK2V617F stesso, mutazioni in MPL, CBL, LNK, le mutazioni dell'esone 12 di JAK2) o che portano a modificazioni epigenetiche tramite la metilazione degli istoni o del DNA (TET2, EZH2, ASXL1). Queste alterazioni sono state descritte prevalentemente nella fase cronica di malattia, a differenza di poche altre (mutazioni di IDH1/2, delezioni che coinvolgono il gene del fattore di trascrizione Ikaros e mutazioni di p53) che sono state descritte prevalentemente associate all'evoluzione leucemica.

TABELLA 2.18

Classificazione funzionale delle alterazioni molecolari riscontrate nelle neoplasie mieloproliferative croniche

Trasmissione del segnale JAK/STAT

- JAK2
- MPL
- CBL
- LNK

Modificazioni Epigenetiche

Metilazione degli istoni

- ASXL1
- EZH2

Metilazione del DNA

- TET2
- IDH1-IDH2

2.5.1 Le mutazioni del gene MPL

Nel 2007 sono state identificate mutazioni acquisite a carico del gene MPL, codificante per il recettore della trombopoietina (TPO), che mappa al cromosoma 1. Le più comuni sono rappresentate dalla sostituzione nucleotidica W(Tryp)>L(Leu), K(Lys), R(Arg) o A(Ala) al codone 515; sono state descritte anche più rare alterazioni come la W515^{P518delinsKT}. Il codone 515 è localizzato nel domain juxta-membrana della proteina, in una regione nella quale era noto da tempo che mutazioni indotte sperimentalmente comportavano una instabilità strutturale della molecola con attivazione spontanea della stessa. Queste mutazioni sono state riscontrate in circa il 4% dei casi di TE e l'8% di PMF negative per la mutazione JAK2V617F; in alcuni casi, comunque, mutazioni di MPL sono state documentate in pazienti JAK2V617F positivi. Un'altra mutazione, MPL^{S505N}, è stata inizialmente identificata in alcuni casi di trombocitosi familiare, ma può essere anche acquisita in soggetti senza evidenza di familiarità e con un fenotipo che suggerisce la diagnosi di TE. Le mutazioni di MPL sono eccezionali in pazienti con diagnosi di PV, essendo state riportate solo in due casi, uno ciascuno con diagnosi di PV e di mielofibrosi post-policitemica (PPV-MF), facenti parte di un gruppo di 149 pazienti con PV e 19 con PPV-MF; entrambi i pazienti co-esprimevano la mutazione JAK2V617F. Le mutazioni di MPL sono presenti all'esordio di malattia, e pertanto rappresentano un marcatore molecolare con valenza diagnostica.

Le correlazioni tra la presenza delle mutazioni di MPL e il fenotipo clinico sono state esaminate in alcuni studi recenti. In uno studio, i pazienti PMF MPL-positivi sono risultati avere un'anemia più severa, con maggior fabbisogno trasfusionale rispetto ai soggetti wild-type, ma questa differenza non è stata confermata in una più ampia ricerca. Nel caso della TE, due studi indipendenti su un totale di oltre 1.800 pazienti hanno messo in evidenza più bassi livelli di emoglobina e più elevata conta piastrinica nei soggetti MPL-mutati nel confronto con il gruppo di pazienti recanti la mutazione JAK2V617F, ma non nei confronti di quelli wild-type. Al contrario, non è stato evidenziato alcun impatto delle mutazioni di MPL sulla conta piastrinica nei pazienti con PMF. Infine, non è stata osservata alcuna differenza nella sopravvivenza globale in relazione allo stato mutazionale di MPL nei pazienti con PMF. In uno studio, i pazienti con TE recanti le mutazioni di MPL presentavano più frequentemente disturbi del microcircolo, ma non un aumentato rischio trombotico, e alla biopsia osteomidollare si caratterizzavano per una ridotta cellularità con un numero significativamente elevato di megacariociti, micromegacariociti e di cluster megacariocitari.

La descrizione originale della mutazione a livello del codone 505, che porta a una sostituzione di Ser con Asn, è stata fatta in una famiglia giapponese con trombocitosi ereditaria. Uno studio effettuato in Italia in 9 famiglie con trombocitosi familiare ha messo in evidenza una frequenza relativamente elevata della mutazione germline, con sette delle famiglie risultate positive, suggerendo l'esistenza di un cluster nel nostro paese. Inoltre, l'analisi delle correlazioni fenotipiche ha evidenziato un decorso clinico simile alla trombocitemia essenziale, con manifestazioni di tipo trombotico e possibilità di tardiva evoluzione verso la mielofibrosi post-trombocitemica con le tipiche alterazioni strutturali del midollo, progressiva splenomegalia e anemia.

In breve, la ricerca dello stato mutazionale di MPL a livello del codone 515 (ed eventualmente del codone 505) è indicata nel percorso diagnostico dei casi di sospetta TE o PMF che siano risultati negativi alla più comune mutazione JAK2V617F. Il significato prognostico di uno stato MPL mutato appare invece modesto.

Approccio diagnostico molecolare alle piastrinosi negative per le mutazioni JAK2V617F e MPL

Di fronte a una piastrinosi senza evidenze di secondarietà, che risulti negativa alla ricerca della mutazione JAK2V617F o del gene MPL, rimane la possibilità di forme estremamente rare di trombocitosi "familiari", specie se sostenute da una anamnesi familiare suggestiva (che peraltro non è sempre agevole ricostruire). Queste forme sono dovute, oltre che alla mutazione MPL^{Ser505Asn} sopra menzionata, a due mutazioni germline. La prima, che riguarda prevalentemente i soggetti afro-americani, è il polimorfismo MPL^{Baltimore}, la seconda è la mutazione MPL^{Pro106Leu}, coinvolgono entrambe il domain extracellulare del recettore riducendo la sua capacità di legare la trombopoietina, i cui livelli sono in effetti aumentati in questi soggetti.

Un secondo gruppo di anomalie molecolari sono quelle coinvolgenti il gene della trombopoietina, a livello del quale sono state descritte diverse mutazioni puntiformi che coinvolgono la regione 5'-utr del mRNA relativo. Poiché questa regione contiene un "upstream open reading frame" (uORF) che inibisce la trascrizione del mRNA, queste mutazioni comportano la rimozione della funzione inibitoria del uORF con la conseguente abnorme trascrizione del mRNA per la trombopoietina. Infatti, questi soggetti si caratterizzano per la presenza di elevati livelli di trombopoietina circolanti associati alla piastrinosi; clinicamente, il quadro appare benigno e non si registra un aumento dell'incidenza di fenomeni trombotici.

Queste mutazioni possono essere ricercate mediante sequenziamento diretto, ma per la loro eccezionale rarità sono appannaggio di laboratori specializzati e devono comunque essere riservate a pochi casi selezionati, quando vi sia un elevato sospetto

basato sull'anamnesi. Potrebbe fare eccezione, per la sua descritta frequenza in Italia, la mutazione del codone 505 di MPL.

Un approccio alternativo alla definizione di patologia mieloproliferativa con trombocitosi (o più raramente, eritrocitosi) che sia risultata negativa per i comuni marcatori molecolari sopra descritti è rappresentato dallo studio della clonalità delle cellule emopoietiche. I metodi per definire lo stato di clonalità possono essere di tipo genetico (ad esempio, la presenza di una alterazione cromosomica, come la trisomia del cromosoma 8) o fenotipico, basati questi ultimi sul principio dell'inattivazione casuale del cromosoma X nei soggetti di sesso femminile. Le metodologie per lo studio del pattern di inattivazione del cromosoma X (X-CIP) possono basarsi sulla dimostrazione di isoforme di proteine il cui gene è localizzato appunto sul cromosoma X (l'esempio storico è quello dalla glucosio-6-fosfato deidrogenasi nelle due isoforme A e B; la fattibilità del test è limitata quasi interamente alle donne di origine Africana), sul grado differenziale di metilazione di regioni polimorfiche del cromosoma X (la regione più comunemente utilizzata è quella del gene del recettore per gli androgeni, HUMARA; il test può risultare non informativo nelle donne più anziane o in quelle che sono omozigoti per la regione polimorfica), o sul diverso grado di espressione di mRNA codificati da geni del cromosoma X (test, questi ultimi, che ben discriminano il cromosoma X inattivo dall'attivo, ma che richiedono l'analisi di diversi loci polimorfici e sono quindi particolarmente indaginosi da un punto di vista tecnico). Non ha invece più ragione di essere eseguita, a fini diagnostici, la determinazione del livello di espressione di PRV-1.

2.5.2 Mutazioni dell'esone12 di JAK2

Le mutazioni a carico dell'esone 12 del gene JAK2 sono state descritte per la prima volta nel 2007 in pazienti affetti da poliglobulia risultati JAK2V617F negativi. Studi successivi hanno individuato più di una decina di mutazioni diverse, presenti soprattutto in forma eterozigote, costituite da delezioni, mutazioni puntiformi o duplicazioni a carico di una regione ristretta costituita da 7 residui aminoacidici (F537-E543); si localizzano nella regione di passaggio tra i domain SH2 e JH2, e sebbene siano localizzate al di fuori del domain pseudochinasico (sede della più comune V617F) si ritiene che comportino comunque una modificazione conformazionale del domain JH2 simile a quella dovuta alla mutazione V617F. Tra le diverse anomalie descritte, la più frequente è la mutazione N542-E543del. Come per JAK2V617F, le diverse mutazioni inducono l'attivazione costitutiva del recettore conferendo alla cellula un potenziale di crescita indipendente da fattori di crescita, sia *in vitro* che *in vivo*;

infatti, in modelli murini la presenza di queste mutazioni ha determinato la comparsa di un fenotipo caratterizzato da un'eritrocitosi molto pronunciata. I pazienti con PV JAK2V617F negativi e esone 12 positivi manifestano elevata eritrocitosi, associata a bassi livelli di eritropoietina (EPO), e hanno nella maggior parte dei casi normali valori di leucociti e piastrine; la ricerca per le EEC risulta spesso positiva. La biopsia ossea è caratterizzata da una moderata ipercellularità, risultato dell'iperplasia eritroide, e una modesta atipia dei MK. Il decorso clinico, però, appare molto simile a quello dei pazienti con forme classiche, JAK2V617F-mutate, di PV in termini di incidenza di manifestazioni trombotiche maggiori, manifestazioni emorragiche, rischio di trasformazione mielofibrotica e leucemica.

Nella pratica clinica diagnostica, la ricerca delle mutazioni dell'esone 12 è quindi indicata nelle forme di eritrocitosi con bassi livelli di EPO che siano JAK2V617F negative. Date le diverse mutazioni descritte, la metodologia analitica è più complessa rispetto alla V617F, e si basa su approcci di PCR allele-specifica o high-resolution melting seguita dal sequenziamento convenzionale per definire il tipo esatto di mutazione.

Approccio diagnostico molecolare alle eritrocitosi negative per le mutazioni del JAK2

Nel caso di eritrocitosi cosiddette idiopatiche, ovvero nelle quali siano state escluse con accuratezza tutte le possibili cause di secondarietà e che siano risultate negative alla ricerca della mutazione JAK2V617F o delle mutazioni dell'esone 12 di JAK2, rimane la possibilità di forme estremamente rare dovute a mutazioni del recettore della eritropoietina (EPOR) o di uno dei geni coinvolti nella regolazione, ossigeno-dipendente, dei livelli circolanti di EPO (mutazioni del gene VHL, PHD2, HIF-2 α). Un'accurata anamnesi familiare è essenziale per sospettare una di queste forme e per decidere di attivare una ricerca mutazionale che è estremamente complessa e appannaggio di pochi laboratori. Una prima differenziazione può essere fatta in base ai livelli circolanti di EPO, che sono nella norma o ridotti nel caso delle mutazioni di EPOR, e generalmente aumentati nelle mutazioni dei geni coinvolti nella regolazione della produzione di EPO.

Le mutazioni descritte di EPOR sono oltre una dozzina, localizzate nell'esone 8 del gene, e generano un codone di stop che comporta la sintesi di una forma troncata della proteina con perdita del sito di legame per l'inibitore SHP-1 mentre il sito di legame per l'ormone rimane intatto e funzionale; ciò determina l'attivazione continuativa della segnalazione originata dal recettore per la EPO che ha perduto il sistema di spegnimento.

Tra le altre forme, la più conosciuta è quella dovuta a mutazioni del gene VHL (von Hippel Lindau), descritta inizialmente in un'area dell'alto Volga in Russia nella

quale un numero elevato di soggetti presentano eritrocitosi. La patologia è dovuta prevalentemente a una mutazione puntiforme C598T che dà luogo alla sostituzione Arg200Trp, con il risultato di un'alterazione interazione tra VHL e HIF-1 α (hypoxia-inducible factor), la mancata ubiquitinazione di questo stesso e quindi la attivazione protratta della via di segnalazione HIF-dipendente che regola la produzione di EPO. In Italia è stato identificato un cluster mutazionale nell'Isola di Ischia. Altre rare mutazioni sono state localizzate nel gene PDH2, che codifica per una prolil-idrossilasi (responsabile della idrossilazione della sub unità α del HIF) o nel gene HIF2 α stesso. Queste sono tutte forme congenite con mutazioni presenti nella linea germinale.

2.5.3 Altre anomalie molecolari presenti nella fase cronica di MPN

Più recentemente sono state identificate ulteriori anomalie molecolari in soggetti con MPN che possono essere presenti contemporaneamente o meno alle mutazioni di JAK2 o MPL (le principali sono riportate in *Tabella 2.19*); queste non sono diagnostiche di MPN, potendosi riscontrare anche in altre patologie ematologiche neoplastiche, prime fra tutte le sindromi mielodisplastiche, né sono specifiche delle diverse forme cliniche di MPN. Alcune di queste alterazioni potrebbero fornire indicazioni prognostiche (ad esempio, quelle di EZH2 o ASXL1) e circa l'eventuale trasformazione leucemica (ad esempio, quelle di Ikaros e della p53). Allo stato attuale, non possono essere considerate test utili nella diagnostica molecolare routinaria di pazienti con sospetta MPN che siano risultati JAK2 o MPL wild-type, e vengono elencate brevemente per completezza. Peraltro, la loro dimostrazione in un soggetto con un sospetto clinico di MPN può aiutare nella decisione diagnostica finale in quanto rappresentano quelle alterazioni molecolari clonali considerate tra i criteri della WHO 2008.

TABELLA 2.19

Caratteristiche delle principali alterazioni mutazionali oltre quelle del gene JAK2 e MPL

Gene	Cromosoma	Tipo di mutazione	Possibile ruolo patogenetico
TET2	4q24	Tutto il gene	Disregolazione epigenetica
CBL	11q23.3	Esone 8/9	Inibizione del catabolismo proteico
ASXL1	20q11.1	Esone 12	Blocco trascrizionale
LNK	12q24.12	Esone 2	Alterazione regolazione JAK2
IDH1	2q33.3	R132	Produzione di oncometabolita
IDH2	15q26.1	R172/R140	Metilazione DNA
EZH2	7q36.1	Tutto il gene	Alterazione di attività metiltransferasica
IKZF1	7p12	Delezioni	Probabilmente oncosoppressore

Le mutazioni di TET2:

La precisa funzione di TET2 non è nota, anche se si ritiene abbia un ruolo nella regolazione epigenetica della trascrizione; le mutazioni, che coinvolgono l'intero gene, sono state identificate in circa il 10-15% dei pazienti con MPN, sia in casi JAK2 positivi che negativi. La presenza delle mutazioni non sembra essere associata a un fenotipo clinico definito e non sembra influenzare la sopravvivenza, la trasformazione leucemica, il rischio trombotico, il profilo citogenetico. Le mutazioni di TET2 possono anticipare o seguire l'acquisizione della mutazione di JAK2V617F, o coesistere con altre alterazioni genetiche (MPL, KIT, FLT3, RAS, MLL) e sono comunque presenti, con una frequenza simile o più elevata, in altre patologie come le sindromi mielodisplastiche e la leucemia cronica mielomonocitica (CMML).

Le mutazioni di LNK

LNK codifica per una proteina con funzione di feedback negativo nei confronti dei recettori per l'EPO e per la TPO nella forma attivata. Modelli murini caratterizzati dalla perdita della funzione di LNK hanno mostrato un fenotipo caratteristico delle MPN: splenomegalia, piastrinosi, emopoiesi extramidollare. Recentemente sono state descritte mutazioni a carico dell'esone 2, ove sembra esistere un "hot spot" mutazionale, in rari casi di eritrocitosi JAK2V617F negative mentre nei pazienti con TE e mielofibrosi la frequenza varia dal 3 al 6%; appaiono essere ancora più frequenti nella fase blastica di malattia (16%) rispetto alla cronica.

Le mutazioni di EZH2

Il gene EZH2 codifica per la subunità catalitica del "polycomb repressive complex 2 (PRC2)", una metiltransferasi istonica che è coinvolta nella trimetilazione della lisina 27 dell'istone H3. La trimetilazione di H3K27 determina la repressione trascrizionale all'opposto della trimetilazione della H3K4, catalizzata dal gene MLL, responsabile piuttosto dell'attivazione trascrizionale. Il gene EZH2 è localizzato alla banda citogenetica 7q36.1 e comprende 20 esoni. Macro- e micro-delezioni di EZH2 sono state riscontrate in circa il 10% di pazienti con MDS o MPN/MDS, con alcuni soggetti mutati in forma omozigote per un fenomeno di disomia uniparentale acquisito (loss of heterozygosity, LOH). Una mutazione puntiforme di EZH2 al codone Tyr641 è stata riscontrata nel 10-20% dei linfomi follicolari o a grandi cellule B, e comporta un "gain-of-function" dell'attività catalitica della proteina. Al contrario, le mutazioni descritte nei pazienti con MPN (circa il 6-10% con mielofibrosi e una minoranza con PV; non sono disponibili dati consistenti nelle TE) sono distribuite lungo tutto il gene, possono essere mutazioni missenso, nonsenso, delezioni/inserzioni, frameshift,

e causano una “loss-of-function”. Pertanto, EZH2 può comportarsi come un oncogene o un tumor-suppressor a seconda del contesto cellulare. In uno studio recente in oltre 500 pazienti con forme primarie e secondarie di mielofibrosi la presenza di mutazioni di EZH2 si accompagnava a una riduzione della sopravvivenza globale e libera da leucemia. Sotto il profilo tecnico, lo studio mutazionale del gene EZH2 è oltremodo complesso, data la necessità di eseguire la sequenza dell’intero gene, e non rientra attualmente tra i test che possono essere considerati di routine per la diagnosi delle MPN.

Le mutazioni di CBL

CBL svolge un ruolo di controllo nella trasmissione del segnale attraverso la degradazione ubiquitina-mediata di una serie di tirosin-chinasi attivate. Alterazioni caratterizzate dalla perdita del chr 11q con trascritto di fusione MLL-CBL per una delezione interstiziale di CBL sono state descritte in alcune forme di AML. Le mutazioni a carico degli esoni 8 e 9 sono invece riportate principalmente in pazienti affetti da CMML giovanile (17%), e più recentemente in alcuni casi di PMF (6%).

Le mutazioni di ASXL1

Il gene ASXL1 (Additional Sex Combs-like 1) codifica per una proteina che fa parte del gruppo delle Enhancer of Trithorax and Polycomb (ETP), che comprende molecole coinvolte nella regolazione dell’espressione di molti geni, in particolare dei geni HOX. Mutazioni di ASXL1, a carico dell’esone 12 ove sembra esistere un “hot spot” mutazionale, sono state inizialmente descritte in pazienti affetti da MDS, principalmente in casi con cariotipo normale o con delezione del cromosoma 7, e nella CMML; sono state riscontrate inoltre nelle leucemie acute, soprattutto nei casi nucleofosmina-1 negativi. L’incidenza delle mutazioni di ASXL1 nei pazienti affetti da fase cronica di MPN è stata riportata essere pari a circa l’8% dei casi. Le mutazioni sono prevalentemente in forma eterozigote: la frequenza di mutazione sale al 19% nella fase blastica di MPN, sebbene non sia tutt’ora chiaro se la mutazione possa essere acquisita al momento della trasformazione leucemica. Le mutazioni di ASXL1 sono state riscontrate in pazienti JAK2 o TET2 mutati, e talvolta sembrano precedere l’insorgenza di queste ultime; non sono state associate alle mutazioni di IDH1.

Le mutazioni di IDH1-IDH2

Le mutazioni dei geni IDH1 e IDH2 sono state inizialmente descritte in soggetti con glioma a basso grado o glioblastomi secondari e poi nelle leucemie acute. IDH1, localizzato sul chr 2, e IDH2, localizzato sul chr 15, codificano per enzimi

che catalizzano la decarbossilazione ossidativa dell'isocitrato ad α -chetoglutarato. Pertanto, la normale attività funzionale delle proteine IDH1 (citoplasmatica e perossisomiale) e IDH2 (mitocondriale) è necessaria per proteggere le cellule dallo stress ossidativo. Le proteine mutate hanno ridotta affinità per l'isocitrato e un'attività catalitica neomorfa verso l' α -chetoglutarato, con il risultato che si verifica un accumulo del metabolita 2-idrossiglutarato al quale viene attribuita potenziale attività oncogenetica. Le mutazioni sono tutte presenti in forma eterozigote a carico di residui specifici di arginina (IDH1 R132; IDH2 R172, R140), sono mutualmente esclusive ma possono essere associate alle mutazioni di JAK2, TET2 e MPL. Queste mutazioni sono state riscontrate nella fase cronica di PV, TE e MF a una bassa frequenza (1-4%) e con incidenza più elevata (21%) nella fase blastica, nella quale sono state trovate associate a una ridotta sopravvivenza.

Le mutazioni di IKZF1

I geni appartenenti alla famiglia Ikaros codificano per fattori di crescita importanti per la regolazione della differenziazione linfoide, modulando l'espressione di alcuni geni linea-specifici tramite meccanismi che coinvolgono il rimodellamento della cromatina. Modelli animali con difetto parziale o totale di Ikaros mostrano un difetto severo nello sviluppo della linea linfoide B, T e NK e possono sviluppare una leucemia linfoblastica (ALL); inoltre presentano difetti molteplici della linea mieloide con anemia e piastrinopenia. Nell'uomo delezioni di IKZF1 in soggetti con del7p, o delezioni intrageniche, sono state descritte principalmente in pazienti con ALL, nella fase blastica di leucemia mieloide cronica e nelle forme di ALL Philadelphia positive (oltre l'80% dei casi), suggerendo un ruolo nella trasformazione leucemica. Le mutazioni nell'allele residuo, in caso di perdita eterozigote, sono eccezionali, suggerendo un meccanismo associato a una semplice condizione di aploinsufficienza. Delezioni di IKZF1 sono risultate eccezionali nella fase cronica delle MPN ma sono presenti in circa il 20% dei casi di evoluzione leucemica.

Le alterazioni di TP53

Mutazioni del gene della p53, o gain del chr 1q, sono state descritte recentemente in pazienti con MPN, a bassissima frequenza nella fase cronica ma nel 45,5% dei pazienti con trasformazione leucemica della malattia.

2.6 DIAGNOSI DI NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA IN PAZIENTE CON TROMBOSI VENOSA IN SEDI ATIPICHE

Le trombosi venose colpiscono soprattutto gli arti inferiori, ma possono raramente coinvolgere altri distretti venosi, come vene dei seni cerebrali e del distretto splancnico. Il motivo principale della relativa rarità della trombosi in queste sedi, rispetto agli arti inferiori, risiede nella stasi venosa meno profonda (a causa dell'assenza di valvole nelle vene cerebrali e splancniche). Quindi, la trombosi venosa in questi luoghi rari si sviluppa principalmente a causa di stati di ipercoagulabilità e lesioni della parete dei vasi. La rarità di queste manifestazioni trombotiche è il limite principale per la stima accurata della loro incidenza nella popolazione generale.

Le conoscenze classiche associano la comparsa di trombosi splancnica (SVT) e dei seni venosi cerebrali a MPN. La scoperta della mutazione di JAK2V617F ha migliorato le conoscenze di questa associazione. Il capitolo ha rilevanza diagnostica e impone problematiche terapeutiche che riguardano sia procedure specifiche per rallentare l'evoluzione della MPN, che terapie indirizzate alla prevenzione della recidiva della trombosi.

I fattori di rischio per SVT possono essere locali o sistemici. Fattori di rischio multipli sono presenti nel 10-46% dei pazienti con sindrome di Budd-Chiari (BCS) e nel 10-64% dei pazienti con trombosi della vena porta (EHPVO). Un fattore scatenante locale è raramente presente nei pazienti con BCS, ma si trova nel 21-60% di quelli con EHPVO, soprattutto la cirrosi epatica, epatocarcinoma o altri tumori addominali, malattie infiammatorie e chirurgia addominale. EHPVO si sviluppa nel 5-8% dei pazienti dopo splenectomia.

Le MPN sono la principale causa di SVT, e MPN è diagnosticata in metà dei pazienti con BCS e in un terzo di quelle con EHPVO. La stretta relazione tra MPN e SVT è confermata dalla prevalenza della mutazione JAK2V617F tra i pazienti con BCS ed EHPVO che è riportata con una frequenza che varia dal 20 al 37%. La piastrinosi, l'attivazione dei leucociti e l'ipercoagulabilità plasmatica associata con positività JAK2V617F sono stati postulati essere i meccanismi patogenetici di trombosi.

L'incidenza di SVT nelle MPN è poco conosciuta e i dati della letteratura sono spesso contraddittori. Nei tre studi più recenti di grandi dimensioni sulla prevalenza e la distribuzione di eventi trombotici nella MF con l'esclusione della forma 'pre-fibrotica', l'incidenza complessiva di SVT è stata del 3,8%, 0,7% e 3,4%, rispettivamente. Inoltre, in uno studio della Mayo Clinic, su sette episodi di SVT, cinque erano avvenuti post-splenectomia, uno secondariamente a terapia con tamoxifene, e solo

uno spontaneamente. Questo ha portato l'autore a concludere che la maggior parte degli eventi sono provocati. Al contrario, Rosti e collaboratori, in una analisi di 214 pazienti con MPN classica tra cui una popolazione selezionata di pazienti con MF, ha riportato che SVT si era verificata nel 10% dei casi con MF con fibrosi del midollo osseo, mentre nel 40% dei casi con MF variante prefibrotica.

SVT è una complicazione potenzialmente pericolosa per la vita, dal momento che può essere complicata da ischemia intestinale o sanguinamento dal tratto gastrointestinale. La diagnosi tempestiva è una sfida a causa della possibile presentazione asintomatica e la bassa specificità dei suoi sintomi principali. In generale, la trombosi della vena porta (EHPVO) ha una presentazione clinica subdola, e può essere diagnosticata incidentalmente, mentre la BCS ha una presentazione più aggressiva. Con i progressi nelle tecniche di imaging, soprattutto eco-Doppler, tomografia computerizzata assistita e la risonanza magnetica, una diagnosi di SVT può essere stabilita precocemente.

Principali fattori di rischio identificati per SVT nelle MPNs sono diversi dai fattori di rischio associati a trombosi venosa in altri siti. La mieloproliferazione clonale è il principale fattore di rischio per sé. Il motivo per cui i pazienti con un fenotipo inattivo di MPN sono ad alto rischio di SVT è sconosciuta. Rosti e collaboratori hanno trovato una significativa associazione fra aumento della frequenza dei progenitori endoteliali circolanti (ECFCs) e la SVT. Gli autori hanno interpretato questi risultati come indicatori dell'esistenza di una categoria separata di pazienti con MPN ad alto rischio di SVT. Questa ipotesi potrebbe essere supportata anche dal fatto che ad avere alta mobilitazione di ECFCs furono per lo più donne di giovane età. Fattori che sono stati associati con il rischio di SVT sono la splenectomia e la trombofilia ereditaria. Di interesse, SVT sembra avere una più forte associazione con la mutazione della protrombina G20210A che con mutazione del fattore V di Leiden.

La frequenza di MPN associata a SVT è sufficientemente elevata da giustificare un completo iter diagnostico in ogni paziente in cui la SVT non sia spiegata da malattie neoplastiche, da cirrosi epatica, da pregresso intervento chirurgico addominale o da malattia o situazione che ha la SVT fra le complicazioni frequenti (esempio emoglobinuria parossistica notturna, assunzione di pillola). L'associazione di trombofilia genetica non esime dall'indagine diagnostica perché nella grande maggioranza dei casi MPN si associa a difetto trombofilico. L'iter diagnostico comprende: studio delle alterazioni ematologiche morfologiche tipiche delle MPN nel sangue periferico; studio della clonalità nelle femmine, studio della crescita dei progenitori eritroidi circolanti, studio delle mutazioni frequenti nelle MPN (JAK2V617F e MPL). In assenza di una diagnosi certa di MPN con questi esami, il

giudizio clinico farà decidere se procedere all'esecuzione di biopsia ossea diagnostica. La biopsia ossea è l'esame diagnostico decisivo perché dimostra alterazioni che quasi sempre sono inequivocabilmente imputabili a un processo di mieloproliferazione. L'iperplasia delle cellule emopoietiche e la iperplasia/displasia della linea megacariocitaria sono le alterazioni più agnosticamente significative. È frequente il riscontro di un quadro non classico di MPN, ma di quadri che in letteratura sono stati riportati con la denominazione di "atipici" o "inclassificabili".

L'approccio terapeutico dei pazienti con MPN associata a SVT prevede la terapia anticoagulante per tutta la vita, la terapia per la profilassi dell'ipertensione portale e la decisione di un approccio citoreducente per ridurre la proliferazione cellulare che potrebbe avere un ruolo nella patogenesi della trombosi. Studi recenti suggeriscono che la prevenzione secondaria con antagonisti della vitamina K riduce il rischio di trombosi ricorrente, con una bassa incidenza di complicanze emorragiche. Questi risultati possono essere spiegati dal fatto che la terapia anticoagulante previene la progressione della trombosi, preservando i pazienti dalle complicazioni di ipertensione portale, come mostrato in un recente studio in cui gli episodi di sanguinamento sono stati prevalenti nei pazienti che non avevano ricevuto anticoagulante continuo.

Nella BCS è obbligatorio un intenso trattamento medico che includa anticoagulante, e le procedure più aggressive nei casi più gravi. Esempi di tali procedure comprendono lo shunt portale intraepatico trans giugulare (TIPS), l'angioplastica (con o senza impianto di stent), shunt chirurgico, fino al trapianto di fegato. Gli esperti europei del European Leukemia Net consigliano la gestione congiunta con epatologi e gastroenterologi per il follow-up delle varici. Per quei pazienti con trombocitosi, idrossiurea dovrebbe essere utilizzato per ripristinare la conta piastrinica a $400 \times 10^9/L$ o meno nel più breve tempo possibile.

L'incidenza di trombosi delle vene cerebrali (CSVT) è incerta a causa della mancanza di studi epidemiologici. A differenza dell'ictus, CSVT colpisce soprattutto i giovani adulti e bambini, con un'incidenza annuale stimata di 3-4 casi per 1 milione adulti e sette casi per milione di neonati e bambini. Le sedi più frequenti di trombosi sono la sagittale superiore (62% dei pazienti) e il seno trasverso (40-45%), ma in due terzi dei casi più di un seno è coinvolto. I sintomi sono vari e legati alla struttura venosa coinvolta. Quando la trombosi coinvolge le vene corticali, si sviluppa edema e infarto parenchimale. In presenza di grandi infarti o emorragie intracraniche può essere presente stupore o coma nel 15% dei pazienti con CSVT. Una emorragia intracranica complica il 14-39% degli episodi di CSVT. I più comuni sintomi e segni sono cefalea e papilledema a causa di ipertensione endocranica, convulsioni, deficit neurologici focali. L'insorgenza dei sintomi è subacuta, sviluppandosi da due giorni a

un mese nel 50% all'80% dei pazienti.

Raramente, i sintomi simulano quelli dell'ictus arterioso, ma uno sviluppo più lento, una tendenza a fluttuare sono importanti differenze cliniche. La prognosi di CSVT è favorevole in oltre l'80% dei casi, perché modesto esito neurologico è osservato nel 70-20%, e ricorrenza in solo 2,2% dei pazienti.

A causa della vasta gamma di presentazioni cliniche e la variazione di velocità di comparsa dei sintomi, la diagnosi di CSVT è spesso tardiva. Segni indiretti di imaging comprendono anomalie parenchimali, edema cerebrale, idrocefalo e compressione del quarto ventricolo. Segni diretti sono quelli del flusso venoso interrotto e la visualizzazione del trombo.

Nei bambini e nei neonati i principali fattori di rischio per CSVT sono le complicanze gestazionali e le complicanze perinatali, disidratazione, infezioni e trombofilia (32%). Fra gli adulti, la malattia colpisce prevalentemente donne in età fertile. Responsabile della disparità sessuale è il crescente uso di contraccettivi orali, come riportato da diversi studi. Trombofilia ereditaria è un altro fattore di rischio per CSVT.

Le MPN sono fattori di rischio per CSVT. Manca tuttavia uno studio prospettico o retrospettivo con buona numerosità per ottenere una prevalenza delle MPN nelle CSVT così come manca la frequenza di CSVT nei pazienti con MPN. L'associazione CSVT e MPN è meno stretta dell'associazione SVT e MPN, ma la presenza di una MPN sottostante a un episodio di CSVT in soggetti adulti o giovani adolescenti deve essere sospettata. L'iter diagnostico è simile a quello della MPN in corso di SVT.

La prognosi di CSVT è favorevole quando vi è diagnosi precoce della malattia. La terapia anticoagulante è obbligatoria, anche alla presenza di focolaio di emorragia cerebrale.

BIBLIOGRAFIA

- Abbott RM, Levy AD, Aguilera NS, et al (2004) From the archives of the AFIP: primary vascular neoplasm of the spleen: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 24(4):1137-63.
- Abdel-Wahab O, Mullally A, Hedvat C, et al (2009) Genetic characterization of TET1, TET2, and TET3 alterations in myeloid malignancies. *Blood* 114(1):144-7.
- Amitrano L, Guardascione MA, Scaglione M, et al (2007) Prognostic factors in noncirrhotic patients with splanchnic vein thromboses. *Am J Gastroenterol* 102(11):2464-70.
- Ang SO, Chen H, Gordeuk VR, et al (2002) Endemic polycythemia in Russia: mutation in the VHL gene. *Blood Cells Mol Dis* 28(1):57-62.
- Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, et al (2005) Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 19(10):1847-9.
- Bacher U, Haferlach T, Schnittger S, et al (2011) Recent advances in diagnosis, molecular pathology and therapy of chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 153(2):149-67.
- Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al (2011) Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 29(6):761-70.
- Barbui T, Carobbio A, Cervantes F, et al (2010) Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood* 115(4):778-82.
- Beer PA, Campbell P, Scott LM, et al (2008) MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 112(1):141-9.
- Buss DH, Cashell AW, O'Connor ML, et al (1994) Occurrence, etiology, and clinical significance of extreme thrombocytosis: a study of 280 cases. *Am J Med* 96(3):247-53.
- Cesta MF (2006) Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicol Pathol* 34(5):455-65.
- Cervantes F, Alvarez-Larrán A, Arellano-Rodrigo E, et al (2006) Frequency and risk factors for thrombosis in idiopathic myelofibrosis: analysis in a series of 155 patients from a single institution. *Leukemia* 20(1):55-60.
- Chase A, Schultheis B, Kreil S, et al (2009) Imatinib sensitivity as a consequence of a CSF1R-Y571D mutation and CSF1/CSF1R signaling abnormalities in the cell line GDM1. *Leukemia* 23(2):358-64.
- Chen GL, Prchal JT (2007) X-linked clonality testing: interpretation and limitations. *Blood* 110(5):1411-9.

- De Franchis R (2005) Evolving consensus in portal hypertension: report of the Baveno IV Consensus Workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 43(1):167-76.
- Dentali F, Ageno W, Witt D, et al (2009) Natural history of mesenteric venous thrombosis in patients treated with vitamin K antagonists: a multi-centre, retrospective cohort study. *Thromb Haemost* 102(3):501-4.
- De Stefano V, Martinelli I (2010) Splanchnic vein thrombosis: clinical presentation, risk factors and treatment. *Intern Emerg Med* 5(6):487-94.
- De Veber G, Andrew M, Adams C (2001) Cerebral sinovenous thrombosis in children. *N Engl J Med* 345(6):417-23.
- Ding J, Komatsu H, Wakita A, et al (2004) Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. *Blood* 103(11):4198-200.
- Di Nisio M, Barbui T, Di Gennaro L, et al (2007) The haematocrit and platelet target in polycytemia vera. *Br J Haematol* 136(2):249-59.
- El-Harith el-HA, Roesl C, Ballmaier M, et al (2009) Familial thrombocytosis caused by the novel germ-line mutation p.Pro106Leu in the MPL gene. *Br J Haematol* 144(2):185-94.
- Elliott MA, Pardani A, Lasho TL, et al (2010) Thrombosis in myelofibrosis: prior thrombosis is the only predictive factor and most venous events are provoked. *Haematologica* 95(10):1788-91.
- Ernst T, Chase AJ, Score J, et al (2010) Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat Genet* 42(8):722-6.
- Ferro J, Canhão P, Stam J, et al for the ISCVT Investigators (2004). Prognosis of cerebral vein and dural sinus thrombosis. *Stroke* 35(3):664-70.
- Finazzi G, Gregg XT, Barbui T, et al (2006) Idiopathic erythrocytosis and other non-clonal polycythemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 19(3):471-82.
- Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adelaide J, et al (2009) Mutations of polycomb-associated gene ASXL1 in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 145(6):788-800.
- Gery S, Cao Q, Gueller S, et al (2009) Lnk inhibits myeloproliferative disorder-associated JAK2 mutant, JAK2V617F. *J Leukoc Biol* 85(6):957-65.
- Girodon F, Lippert E, Mossuz P, et al (2007) JAK2V617F detection and dosage of serum erythropoietin: first steps of the diagnostic work-up for patients consulting for elevated hematocrit. *Haematologica* 92(3):431-2.
- Gobbi P (2006) Splenomegalie. In: *Il Laboratorio di Ematologia. Il Pensiero Scientifico Editore*, pag. 127.

- Gordeuk VR, Sergueeva AI, Miasnikova GY, et al (2004) Congenital disorder of oxygen sensing: association of the homozygous Chuvash polycythemia VHL mutation with thrombosis and vascular abnormalities but not tumors. *Blood* 103(10):3924-32.
- Gotlib J, Cools J (2008) Five years since the discovery of FIP1L1-PDGFR α : what we have learned about the fusion and other molecularly defined eosinophilias. *Leukemia* 22(11):1999-2010.
- Grand FH, Hidalgo-Curtis CE, Ernst T, et al (2009) Frequent CBL mutations associated with 11q acquired uniparental disomy in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 113(24):6182-92.
- Guglielmelli P, Biamonte F, Score J, et al (2011) EZH2 mutational status predicts poor survival in myelofibrosis. *Blood* 118(19):5227-34.
- Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bergamaschi G, et al (2007) Anaemia characterises patients with myelofibrosis harbouring Mpl mutation. *Br J Haematol* 137(3):244-7.
- Harutyunyan A, Klampfl T, Cazzola M et al (2011) p53 Lesions in Leukemic Transformation. *N Engl J Med* 364(5):488-90.
- Henry PH, Longo DL (2005) Enlargement of lymph nodes and spleen. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine* 16th edition McGraw-Hill: pag.343.
- Jager R, Gisslinger H, Passamonti F, et al (2010) Deletions of the transcription factor Ikaros in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 24(7):1290-8.
- Jankowska AM, Szpurka H, Tiu RV, et al (2009) Loss of heterozygosity 4q24 and TET2 mutations associated with myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood* 113(25):6403-10.
- Jones AV, Chase A, Silver RT, et al (2009) JAK2 haplotype is a major risk factor for the development of myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet* 41(4):446-9.
- Jones AV, Cross NC, White HE, et al (2008) Rapid identification of JAK2 exon 12 mutations using high resolution melting analysis. *Haematologica* 93(10):1560-4.
- Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al (2005) A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 352(17):1779-90.
- Langemeijer SM, Aslanyan MG, Jansen JH, (2009) TET proteins in malignant hematopoiesis. *Cell Cycle* 8(24):4044-8.
- Langemeijer SM, Kuiper RP, Berends M, et al. (2009) Acquired mutations in TET2 are common in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet* 41(7):838-42.
- Lasho TL, Pardanani A, Tefferi A (2010) LNK mutations in JAK2 mutation-negative erythrocytosis. *N Engl J Med* 363(12):1189-90.

- Lasho T, Tefferi A, Vannucchi AM, et al (2010) LNK Mutation Studies In Chronic- and Blast-Phase Myeloproliferative Neoplasms and JAK2 Mutation-Negative Erythrocytosis. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 116(21):4105.
- Liu K, Martini M, Rocca B, et al (2009) Evidence for a founder effect of the MPL-S505N mutation in 8 Italian pedigrees with hereditary thrombocythemia. *Haematologica* 94(10):1368-74.
- Martel M, Cheuk W, Lombardi L, et al (2004) Sclerosing angiomatoid nodular transformation (SANT): report of 25 cases of a distinctive benign splenic lesion. *Am J Surg Pathol* 28(10):1268-79.
- McMullin MF (2008) The classification and diagnosis of erythrocytosis. *Int J Lab Hematol* 30(6):447-59.
- McMullin MF (2009) Idiopathic erythrocytosis: a disappearing entity. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*:629-35.
- Moliterno AR, Williams DM, Gutierrez-Alamillo LI, et al (2004) Mpl Baltimore: a thrombopoietin receptor polymorphism associated with thrombocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(31):11444-7.
- Nikoloski G, Langemeijer SMC, Kuiper RP, et al (2010) Somatic mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet* 42(8):665-7.
- Oh ST, Zahn JM, Jones CD, et al (2010) Identification of Novel LNK Mutations In Patients with Chronic Myeloproliferative Neoplasms and Related Disorders. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 116(21):315.
- Pahl HL (2003) PRV-1 mRNA expression and other molecular markers in polycythemia rubra vera. *Curr Hematol Rep* 2(3):231-6.
- Pardanani A, Guglielmelli P, Lasho TL, et al (2011) Primary myelofibrosis with or without mutant MPL: comparison of survival and clinical features involving 603 patients. *Leukemia* (21 June 2011) doi:10.1038/leu.2011.161.
- Pardanani A, Lasho TL, Finke CM, et al (2010) IDH1 and IDH2 mutation analysis in chronic- and blast-phase myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 24(6):1146-51.
- Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al (2006) MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 108(10):3472-6.
- Passamonti F, Elena C, Schnittger S, et al (2011) Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood* 117(10):2813-6.
- Percy MJ, Lee FS (2008) Familial erythrocytosis: molecular links to red blood cell control. *Haematologica* 93(7):963-7.

- Perrotta S, Nobili B, Ferraro M, et al. (2006) Von Hippel-Lindau-dependent polycythemia is endemic on the island of Ischia: identification of a novel cluster. *Blood*. 107(2):514-9.
- Pikman Y, Lee BH, Mercher T, et al (2006) MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 3(7):e270.
- Rosai J. Spleen (2004) In: Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Edinburgh, Scotland: Mosby: 2019-45.
- Rosti V, Bonetti E, Bergamaschi G, et al (2010) High frequency of endothelial colony forming cells marks a non-active myeloproliferative neoplasm with high risk of splanchnic vein thrombosis. *PLoS One* 5(12):e15277.
- Saint-Martin C, Leroy G, Delhommeau F, et al (2009) Analysis of the ten-eleven translocation 2 (TET2) gene in familial myeloproliferative neoplasms. *Blood* 114(8):1628-32.
- Score J, Walz C, Jovanovic JV, et al (2009) Detection and molecular monitoring of FIP1L1-PDGFR α -positive disease by analysis of patient-specific genomic DNA fusion junctions. *Leukemia* 23(2):332-9.
- Scott LM, Tong W, Levine RL, et al (2007) JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 356(5):459-68.
- Stam J (2005) Thrombosis of the cerebral vein and sinuses. *N Eng J Med* 352(17):1791-8.
- Tefferi A, Abdel-Wahab O, Cervantes F, et al (2011) Mutations with epigenetic effects in myeloproliferative neoplasms and recent progress in treatment: Proceedings from the 5th International Post-ASH Symposium. *Blood Cancer Journal* 1:e7.
- Tefferi A, Gotlib J, Pardanani A (2010) Hypereosinophilic syndrome and clonal eosinophilia: point-of-care diagnostic algorithm and treatment update. *Mayo Clin Proc* 85(2):158-64.
- Tefferi A, Lasho TL, Abdel-Wahab O, et al (2010) IDH1 and IDH2 mutation studies in 1473 patients with chronic-, fibrotic- or blast-phase essential thrombocythemia, polycythemia vera or myelofibrosis. *Leukemia* 24(7):1302-9.
- Tefferi A, Lim KH, Abdel-Wahab O, et al (2009) Detection of mutant TET2 in myeloid malignancies other than myeloproliferative neoplasms: CMML, MDS, MDS/MPN and AML. *Leukemia* 23(7):1343-5.
- Tefferi A, Pardanani A, Lim KH, et al (2009) TET2 mutations and their clinical correlates in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Leukemia* 23(5):905-11.

- Tefferi A, Thiele J, Orazi A, et al (2007) Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 110(4):1092-7.
- Tefferi A, Vainchenker W (2011) Myeloproliferative Neoplasms: Molecular Pathophysiology, Essential Clinical Understanding, and Treatment Strategies. *J Clin Oncol* 29(5):573-82.
- Tefferi A, Vardiman JW (2008) Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 22(1):14-22.
- Teofili L, Giona F, Torti L, et al (2010) MPLSer505Asn induced hereditary thrombocytosis is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. *Haematologica* 95(1):65-70.
- Thiele J, Kvasnicka HM, Zankovich R, et al (2002) Early-stage idiopathic (primary) myelofibrosis--current issues of diagnostic features. *Leuk Lymphoma* 43(5):1035-41.
- Ugo V, Tondeur S, Menot ML, et al (2010) Interlaboratory development and validation of a HRM method applied to the detection of JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera patients. *PLoS ONE* 5(1):e8893.
- Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, et al (2011) New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 118(7):1723-35.
- Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al (2008) Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential thrombocythemia. *Blood* 112(3):844-7.
- Vannucchi AM, Guglielmelli P, Tefferi A (2009) Advances in understanding and management of myeloproliferative neoplasms. *CA Cancer J Clin* 59(3):171-91.

CAPITOLO 3

TERAPIA

3.1 MIELOFIBROSI

3.1.1 Il paziente asintomatico

Una minoranza di pazienti con Mielofibrosi (MF) giunge all'attenzione del medico a causa di un'alterazione dell'emocromo scoperta casualmente (piastrinosi o leucocitosi) o un ingrossamento della milza rilevato durante la visita medica di routine, senza altri segni o sintomi della malattia. La percentuale di questi pazienti asintomatici varia da 15 a 25% nelle serie di casi diagnosticati secondo criteri precedenti a quelli attuali della WHO. Il tasso diventa più elevato se viene inclusa la categoria di pazienti affetti da mielofibrosi prefibrotica. La mielofibrosi prefibrotica, infatti, è una variante istologica caratterizzata da assente o lieve aumento delle fibre reticoliniche nel midollo osseo con mieloproliferazione megacariocitaria e granulocitaria associati a tipiche caratteristiche morfologiche dei megacariociti. Il suo fenotipo assomiglia a quella della TE, quindi, nella maggior parte dei pazienti la diagnosi è fatta quando i pazienti sono asintomatici.

I pazienti asintomatici rarissimamente hanno parametri ematologici che richiedono trattamento. La piastrinosi e/o la leucocitosi di per sé non sono indicazioni all'inizio di terapia citoriduttiva; la splenomegalia richiede trattamento solo quando in progressione o con un diametro longitudinale che deborda oltre 10 cm dall'arcata costale. La mancanza di sintomi sistemici e l'assenza di anemia fa cadere questi pazienti in classe di rischio basso o intermedio 1 per cui è considerato precoce un percorso terapeutico che includa il trapianto di cellule staminali.

I pazienti con MF che vengono diagnosticati in fase asintomatica devono essere informati della natura della loro malattia, e devono essere clinicamente monitorati ogni 3 o 6 mesi.

3.1.2 Il paziente con diagnosi di mielofibrosi prefibrotica

Di recente, la definizione di MF è stata estesa a pazienti che non esprimono tutte le caratteristiche biologiche della malattia e che cadono nella variante anatomopatologica denominata MF prefibrotica. Questa variante è caratterizzata da alterazioni morfologiche dei megacariociti, in assenza di fibrosi del midollo osseo o con mielofibrosi iniziale (grado 1 secondo la classificazione EUMNET) e un profilo clinico indolente che assomiglia a quello della TE.

Poiché la inclusione della variante prefibrotica nel dominio della MF è avvenuta nel 2001 con la pubblicazione dei criteri diagnostici WHO, una frazione di pazienti può riceverne diagnosi a posteriori, qualora il medico curante operi una revisione dei preparati istologici dell'esordio, sui quali era stata posta precedente diagnosi di TE. Il paziente si trova in questo caso con una nuova denominazione di malattia (mielofibrosi) che tutta la letteratura, anche quella accessibile al paziente stesso, descrive come più severa e con prognosi più infausta. Il primo provvedimento terapeutico in questi casi è una corretta informazione. Pur essendo presenti nella letteratura alcuni articoli che hanno documentato che la MF prefibrotica è malattia più severa della TE per una attesa di vita inferiore e un maggior rischio di evoluzione verso la MF franca e la leucemia acuta, il paziente deve essere riassicurato che fondamentalmente la malattia assomiglia più alla TE che a una MF che esordisce in fase fibrotica e che l'atteggiamento terapeutico non cambia. Infatti, i principi di terapia della MF prefibrotica e della TE non sono diversi. I pazienti vengono stratificati secondo le categorie di rischio per la trombosi e il trattamento è indirizzato a prevenire il rischio trombotico.

Il paziente di nuova diagnosi di MF prefibrotica chiede una terapia che rallenti la progressione verso la MF franca. Non vi è attualmente documentazione che tale terapia esista. Tuttavia, con l'idea che un trattamento precoce con Interferone (IFN) potesse fermare la progressione della MF reprimendo direttamente il clone maligno, Silver e Vandris hanno recentemente riportato l'uso di IFN in 13 pazienti con MF in fase precoce della malattia (non più di grado 2 di fibrosi reticolinica). Il razionale dello studio si basava sull'ipotesi che i progenitori emopoietici clonali fossero più sensibili a IFN rispetto alla controparte normale e sulla documentazione che occasionalmente i pazienti trattati con INF avevano documentato il ritorno a una emopoiesi policlonale da un'emopoiesi clonale. Un ulteriore argomento fu che IFN induce una risposta immunitaria agli antigeni tumorali. rIFN-2b alla dose di 500.000-1.000.000 unità, per via sottocutanea, tre volte alla settimana, produsse una riduzione delle dimensioni della milza. La fibrosi reticolinica e collagene diminuì in tre di cinque pazienti. Fu osservata una tendenza verso la normalizzazione delle atipie dei

megacariociti e un aumento della emopoiesi normale. Tuttavia, solo 1 su 4 dei pazienti ebbe una diminuzione del carico allelico JAK2V617F dal 45,6% al 11,2% in 3 anni. Questa osservazione incoraggiante fa prospettare l'INF possa essere una terapia per il rallentamento della progressione della malattia nella MF prefibrotica. I pazienti devono essere inclusi in trials clinici randomizzati o controllati.

3.1.3 Il paziente con anemia

A causa dei possibili effetti collaterali dei trattamenti, e dell'impatto modesto che l'anemia moderata ha sulla qualità della vita e le prestazioni fisiche, si ritiene comunemente che nella MF un trattamento per l'anemia debba essere iniziato quando la concentrazione emoglobinica è inferiore a 10 g/dL.

Le trasfusioni di globuli rossi sono la pietra angolare della terapia dell'anemia della MF. Tuttavia, la necessità di frequenti trasfusioni compromette la qualità di vita dei pazienti ed è associata a progressivo accumulo di ferro corporeo. I farmaci per il trattamento dell'anemia nella MF comprendono androgeni, eritropoietine, e immunomodulatori.

Androgeni. Nandrolone, fluoximesterolone, metandrostenolone, oximetolone, e metenolone acetato possono migliorare l'anemia della MF nel 30-60% dei casi secondo serie classiche. Buona risposte alla terapia con androgeni è stata confermata recentemente da Shimoda e colleghi che hanno riportato 39 pazienti anemici trattati con steroidi anabolizzanti, per lo più metenolone acetato. Gli autori hanno definito una buona risposta come aumento di emoglobina $\geq 1,5$ g/dL, la cessazione della dipendenza da trasfusione e concentrazione di emoglobina >10 g/dL mantenuta per almeno 8 settimane. Risposte favorevoli sono state ottenute in 17 pazienti (44%).

Nessuna delle variabili pre-trattamento, come ad esempio mancanza di dipendenza da trasfusione, concentrazioni di emoglobina più elevate, o assenza di anomalie citogenetiche, sono state associate con la risposta. Danazolo, un androgeno sintetico attenuato, è stato proposto come sostituto degli steroidi anabolizzanti. Esso ha il vantaggio di essere anche in grado di correggere la trombocitopenia in alcuni casi, senza produrre effetti virilizzanti. Cervantes e colleghi hanno riportato 33 pazienti anemici con MF che hanno ricevuto una dose iniziale di 600 mg/die di danazolo, con una risposta favorevole nel 37%. Variabili associate con la risposta sono state assenza di necessità di trasfusioni e il livello di emoglobina maggiore di 10 g/dL. Danazolo è generalmente ben tollerato. La tossicità più frequente è costituita da un moderato aumento degli enzimi epatici durante i primi mesi di trattamento che migliora a seguito di una riduzione della dose. È consigliato lo screening per il cancro della

prostata prima di utilizzare la terapia con androgeni nei maschi, così come monitorare gli effetti tossici sul valore delle transaminasi è una procedura obbligatoria.

Eritropoietine. Le eritropoietine sono ampiamente usate per il trattamento dell'anemia associata a MF, anche se i livelli di eritropoietina sierica (s-Epo) in pazienti con MF sono appropriatamente elevati per il grado di anemia, il che suggerisce che la somministrazione esogena di eritropoietine potrebbe avere valore limitato. L'esperienza con l'uso di eritropoietina umana ricombinante (rHuEPO) in MF è stata riportata in un pool analisi da Cervantes e colleghi, e in altri due studi per un totale di 96 pazienti. I tassi di risposta in questi studi si collocano in un range da 16% a 60%. Livelli di s-Epo <125 U/L, anomalie citogenetiche favorevoli (13q-, 20q-), assenza di mutazione JAK2V617F allo stato omozigote, bassi livelli sierici di β -2-microglobulina e lieve o moderata splenomegalia furono le variabili associate con risposta favorevole. L'esperienza della Mayo Clinic è stata recentemente riportata da Huang e Tefferi in 43 pazienti trattati con r-Hu-EPO. Definendo la risposta come aumento del livello di Hb minimo di 2,0 g/dL o la trasfusione-indipendenza per un periodo minimo di 1 mese, il tasso di risposta globale fu del 23%: 0% (0 di 16) tra i pazienti trasfusione-dipendenti e 37% (10 su 27) tra i pazienti trasfusione-indipendenti. In quest'ultimo caso, la risposta è stata osservata solo in presenza di livelli di emoglobina basale <10g/dL. La risposta non fu correlata con il livello basale di s-Epo, i risultati citogenetici, o presenza di JAK2V617F.

Darbepoetina- α è una proteina iperglicosilata con una maggiore attività *in vivo* e più lungo tempo di dimezzamento di rHuEPO, consentendo somministrazioni meno frequenti. Darbepoetina- α è stata usata in 20 pazienti con MF ed emoglobina ≤ 10 g/dL alla dose settimanale di 150 mg per via sottocutanea, aumentata a 300 mg in assenza di aumento di emoglobina. Utilizzando i criteri di risposta EUMNET, otto pazienti (40%) hanno dimostrato risposta favorevole al trattamento. Il tempo mediano alla risposta è stato di 2 mesi. All'analisi univariata, l'età maggiore fu l'unico fattore associato a una risposta favorevole. Il trattamento fu ben tollerato. Un paziente ebbe un moderato incremento della splenomegalia.

Immunomodulatori. Il razionale per la terapia con agenti immunomodulatori nella MF è basato sulla loro attività antiangiogenetica e immunosoppressiva e sulla ipotesi che un meccanismo autoimmune giochi un ruolo nella patogenesi dell'anemia della MF. Più studi hanno esplorato l'uso di talidomide per il trattamento dell'anemia nella MF. La percentuale più elevata di risposta è stata ottenuta da Mesa e colleghi con talidomide a basso dosaggio (50 mg al giorno) associata a prednisone. Con questo regime, il 40% dei pazienti con necessità di trasfusioni di globuli rossi divenne trasfusione indipendente. Recentemente, la risposta a talidomide è stata analizzata

in base ai criteri EUMNET in uno studio clinico che ha arruolato 15 pazienti. Dopo prednisolone ± talidomide a basse dosi, il 40% dei pazienti raggiunse risposte maggiori o moderate. Tutte le risposte furono osservate entro le prime 12 settimane di trattamento, suggerendo che talidomide può essere interrotto in caso di mancata risposta entro tale periodo. La durata mediana di risposta fu di 16 settimane. Gli effetti indesiderati più comuni di talidomide sono neuropatia periferica, stipsi, sonnolenza. Tromboembolismo è raramente segnalato in pazienti con MF, tuttavia è raccomandata la valutazione del rischio trombotico e tromboprofilassi di pazienti ad alto rischio.

Lenalidomide e pomalidomide sono immunomodulatori di seconda generazione, creati per trasformazione chimica di talidomide con l'intento di ridurre la tossicità e migliorare le attività antitumorali e immunologiche. Lenalidomide, è stata valutata come singolo agente in un totale di 68 pazienti sintomatici con MF. Il trattamento con 10 mg/die per 3 o 4 mesi ha dato un tasso di risposta complessivo del 22% per l'anemia e del 50% per la trombocitopenia. Lenalidomide è efficace nei pazienti in cui un precedente trattamento con talidomide era fallito. È stato tuttavia evidenziato un alto profilo di tossicità della lenalidomide come agente singolo, per lo più costituito da mielosoppressione. Ciò ha indotto a valutare la sicurezza e l'efficacia della combinazione di lenalidomide e prednisone in pazienti affetti da MF. In uno studio di fase II, l'MD Anderson Cancer Center ha trattato 40 pazienti con lenalidomide 10 mg/die (5 mg/die se la conta piastrinica basale era $<100 \times 10^9/L$) ai giorni 1 a 21 di cicli di 28 giorni per sei cicli, in combinazione con prednisone 30 mg/die per via orale durante il ciclo 1, 15 mg/die durante il ciclo 2, e 15 mg/die a giorni alterni durante il ciclo di 3. Secondo i criteri IWG-MRT, tre pazienti (7,5%) hanno avuto risposta parziale e nove pazienti (22,5%) hanno avuto un miglioramento clinico. Il tasso di risposta globale è stato del 30% per l'anemia e il 42% per la splenomegalia. Tutti gli otto responders JAK2V617F-positivi hanno sperimentato una riduzione del carico allelico V617F che è stato superiore al 50% in quattro, in uno dei quali la mutazione è diventata non rilevabile.

Pomalidomide è stata valutata in uno studio di fase II, randomizzato, multicentrico, in doppio cieco, con 84 pazienti con MF e anemia. Sono stati valutati quattro bracci di trattamento: pomalidomide (2 mg/die) più placebo, pomalidomide (2 mg/d) più prednisone, pomalidomide (0,5 mg/die) più prednisone e placebo più prednisone. Risposta sull'anemia, secondo i criteri IWG, è stata documentata in 20 pazienti (20/84), di cui 15 diventati trasfusione indipendenti. Le percentuali di risposta nei quattro bracci di trattamento per i pazienti che avevano ricevuto ≥ 3 cicli di trattamento (n=62) sono stati 38%, 23%, 40%, e 25%, rispettivamente. La risposta alla pomalidomide con o senza prednisone si dimostrò durevole e significativamente

migliore in assenza di leucocitosi. JAK2V617F o lo stato della citogenetica non ebbero influenza sulla risposta. Tossicità di grado ≥ 3 furono poco frequenti e prevalentemente furono neutropenia, trombocitopenia e trombosi.

In assenza di evidenze comparative tra le opzioni di trattamento, è difficile produrre raccomandazioni sulle strategie di trattamento dell'anemia associata a MF. Molti centri preferiscono gli androgeni, in particolare danazolo, come prima opzione terapeutica per la sua sicurezza e basso costo. In caso di mancata risposta sono considerati la talidomide o le eritropoietine, nella consapevolezza che i risultati degli studi suggeriscono che eritropoietina dovrebbe essere evitata nei pazienti che sono trasfusione-dipendenti. Altri centri raccomandano che la terapia di prima linea siano le eritropoietine in caso che l'Epo endogena sia inferiore a 100 mU/mL, in combinazione con androgeni o basse dosi di talidomide.

3.1.4 Il paziente trasfusione-dipendente con iperferritinemia

Iperferritinemia nella MF può essere espressione dello stato infiammatorio che spesso accompagna la malattia. Ma iperferritinemia di grado elevato (>1.000 ng/ml) è sempre espressione di accumulo di ferro. La dinamica dell'accumulo di ferro trasfusionale nella MF segue le stesse regole di ogni anemia trasfusione dipendente. Ogni unità di globuli rossi porta con sé 220 mg di ferro che si deposita nei tessuti e di cui la ferrina serica è un buon indice.

Manca attualmente una prova diretta che il trattamento del sovraccarico di ferro nei pazienti con MF porti a riduzione della morbidità o mortalità. In uno studio retrospettivo, la dipendenza da trasfusione nella MF è stata associata con sopravvivenza inferiore, e la sopravvivenza globale è stata superiore nei pazienti trattati con chelante del ferro. Tuttavia, nello studio la valutazione del sovraccarico di ferro è stata effettuata secondo criteri clinici e laboratoristici (livelli di ferritina sierica) piuttosto che per imaging o biopsia. Così, è difficile essere certi a posteriori che i singoli decessi fossero legati alla tossicità da ferro. In uno studio su 185 pazienti con MF alla diagnosi presso la Mayo Clinic, 12% dei casi dimostrava ferritina sierica >1.000 ng/mL e 17% dei pazienti erano trasfusione-dipendente. Durante un follow-up mediano di 28 mesi, il 22% dei pazienti ebbe un picco dei livelli sierici di ferritina superiore 1.000 ng/ml. In analisi multivariata, il fabbisogno trasfusionale al momento della diagnosi, ma non un aumento di ferritina sierica o il carico trasfusionale globale, furono associati a ridotta sopravvivenza. Questo risultato è stato interpretato secondo l'ipotesi che la presenza di un grave difetto eritropoietico e non il sovraccarico di ferro abbia un valore prognostico negativo.

Sono diverse le opzioni attualmente disponibili per la terapia chelante, ad esempio desferioxamina per via sottocutanea, deferasirox e deferiprone per via orale. Con l'adozione di un principio di precauzione, i medici usano talvolta la chelazione del ferro per via orale, per lo più deferasirox, in pazienti che raggiungono alti livelli di ferritina sierica dopo 10-20 unità di trasfusioni di sangue e che hanno una lunga aspettativa di vita. L'appropriatezza di tale terapia deve essere valutata prospetticamente.

In segnalazioni aneddotiche nei pazienti con MF, la terapia chelante del ferro ha provocato miglioramento del livello di emoglobina e riduzione della trasfusione-dipendenza. Questi risultati aprono nuove prospettive per quanto riguarda il beneficio della terapia chelante del ferro non solo per ridurre il sovraccarico di ferro trasfusionale dei pazienti con MF ma anche per aumentare i livelli di emoglobina.

3.1.5 Il paziente con ipertensione portale

Ipertensione portale, cioè un aumento della pressione all'interno della vena porta e dei suoi affluenti a oltre 12 mmHg (rispetto a un valore normale di 5-8 mmHg) è complicazione frequente di MF. La diagnosi di ipertensione portale è generalmente basata su criteri clinici e di imaging; quindi la valutazione del gradiente di pressione fra quella epatica e venosa, che fornirebbe una misura affidabile della pressione portale, si ritiene non necessaria ai fini diagnostici. Dal momento che l'ipertensione portale secondaria a MF di solito è asintomatica, la diagnosi in questi pazienti è spesso fatta quando compaiono i sintomi, cioè sanguinamento gastrointestinale da rottura di varici esofagee, melena o ascite. Quindi, la prevalenza del 7-18% di ipertensione portale sintomatica riportata in letteratura sottostima la reale prevalenza di ipertensione portale nella MF.

I meccanismi che portano a ipertensione portale nella MF sono controversi. In assenza di trombosi portale e/o venosa epatica due meccanismi sono stati proposti. Secondo una prima teoria, l'ipertensione portale si sviluppa nei pazienti con MF a causa di ostruzione sinusoidale intraepatica causata da ematopoiesi extramidollare e infiltrazione epatica da parte di cellule mieloidi con conseguente aumento della resistenza intra-epatica. Un'altra teoria afferma che l'ipertensione portale si sviluppa in questi pazienti a causa di aumento del flusso sanguigno portale dovuto all'ingrossamento della milza. Tuttavia è stato dimostrato sperimentalmente che, in assenza di alterazioni strutturali del fegato, ipertensione portale non si sviluppa come sola conseguenza di flusso portale aumentato.

I pazienti con ipertensione portale tipicamente mostrano una circolazione sistemica iperdinamica con aumento della portata cardiaca e diminuzione delle

resistenze periferiche. È stata proposta anche l'esistenza di iperattività di alcuni fattori vasodilatatori e vi è un crescente corpo di evidenze che suggerisce che l'ossido nitrico endogeno rende conto di gran parte di questa attività. L'anemia peggiora ulteriormente la circolazione iperdinamica associata a ipertensione portale.

La necessità di una terapia per l'ipertensione portale asintomatica secondaria a MF non è ben definita. Sulla base della teoria del flusso portale aumentato a causa della splenomegalia come meccanismo dell'ipertensione portale, la splenectomia sarebbe una scelta ragionevole; essa ha dimostrato risolvere efficacemente l'ipertensione portale in pazienti selezionati. Tuttavia, aumento del flusso sanguigno da splenomegalia non è l'unico meccanismo per lo sviluppo di ipertensione portale nei pazienti con MF. Il rischio della splenectomia, insieme con la consapevolezza che non ha dimostrato migliorare la sopravvivenza generale in questi pazienti, devono essere fortemente considerati prima di procedere a tale pratica per il trattamento dell'ipertensione portale.

L'ipertensione portale sintomatica richiede prevenzione e trattamento delle emorragie da varici gastro-intestinali con β -bloccanti e terapie endoscopiche. Legatura endoscopica delle varici così come la scleroterapia endoscopica delle varici sono state utilizzate con successo per la gestione delle emorragie gastrointestinali in pazienti con MF. La legatura delle varici ha buona efficacia, con minor numero di sedute terapeutiche e di complicanze rispetto alla scleroterapia nel sanguinamento di varici esofagee di altre eziologie. I dati riguardanti l'uso della legatura delle varici nei pazienti con ipertensione portale associata a MF sono scarsi.

Ipertensione portale sintomatica causata da ostruzione intra-epatica, refrattaria alle terapie convenzionali per la prevenzione delle emorragie da varici o ascite, è una indicazione per le procedure invasive come l'angioplastica, con o senza impianto di stent, o di shunt trans-epatico (TIPS). TIPS è una procedura efficace e ben consolidata che prevede la creazione di shunt portocavale nel fegato e ha efficacia molto buona per l'ascite intrattabile. Tale procedura ha come candidati ideali i pazienti che mostrano normale funzionalità epatica.

3.1.6 Il paziente con splenomegalia sintomatica

Splenomegalia sintomatica, cioè milza che si estende più di 10 cm dal margine costale sinistro, colpisce il 10% dei pazienti al momento della diagnosi o si sviluppa nel 50% dei pazienti dopo circa 4 anni dalla diagnosi (dati del Registro Italiano della Mielofibrosi). Aumento del volume della milza nella MF è per lo più riconosciuto come risultato di ematopoiesi extramidollare splenica. Neoangiogenesi, tuttavia, dà un

contributo significativo per l'espansione del volume della milza, come documentato dalla misura della densità capillare vascolare nelle sezioni di milza. Con l'aumento del volume splenico, compaiono disturbi addominali dovuti alla pressione della milza sullo stomaco che possono portare a ritardato svuotamento gastrico e senso di sazietà precoce. Inoltre, possono risultare aree di ischemia con episodi dolorosi di infarto splenico, simulando una situazione di emergenza addominale. Pressione della milza sul colon o del piccolo intestino può essere responsabile di diarrea grave invalidante. Infine, splenomegalia può provocare lo sviluppo o esacerbazione di citopenie da sequestro.

Terapia medica. La terapia medica è la prima opzione terapeutica per la splenomegalia sintomatica nei pazienti con MF. Il farmaco di scelta è HU (dose iniziale 500 mg due volte al giorno), che è anche utilizzato per il controllo di trombocitosi sintomatica e/o leucocitosi.

La risposta a HU è stata analizzata recentemente in base ai criteri IWG-MRT da Shiran e colleghi in una coorte di 69 pazienti con MF, il 68% dei quali trattati per splenomegalia sintomatica. Con una dose mediana giornaliera di 1 g (range da 250 mg a 3 g) la risposta è stata documentata in 19 (28%) pazienti: 16 ebbero miglioramento clinico e 3 risposta parziale. Il tasso di risposta fu del 48% nei pazienti JAK2V617F positivi rispetto a solo l'8% nei casi negativi. Il fenomeno della sensibilità dell'HU nei pazienti portatori della mutazione JAK2V617F è stato interpretato come riflesso della mieloproliferazione quantitativamente e qualitativamente diversa nei pazienti mutati.

L'uso di agenti alchilanti orali come melfalan e busulfano come trattamento iniziale della splenomegalia nella MF è stato limitato dal loro maggior rischio di trasformazione blastica e dal profilo di tossicità sfavorevole. Nel 2002, Petti e collaboratori hanno valutato l'uso di melfalan a basse dosi in 99 pazienti con MF, ottenendo un tasso di risposta del 66,7%, con il 54% dei pazienti che raggiunse una risposta sulla splenomegalia. Le dosi usate furono 2,5 mg tre volte alla settimana, con progressivo aumento fino a un massimo di 2,5 mg al giorno. Tuttavia, trasformazione blastica fu riportata nel 26% della coorte di studio. Sulla base di questi risultati, Chee e collaboratori nel 2006, hanno comunicato la loro esperienza con la somministrazione di melfalan a un gruppo di 8 pazienti con MF alla dose di 2 mg al giorno tre volte la settimana, aumentando il dosaggio a un massimo di 2 mg al giorno cinque volte a settimana nei non-responder o in pazienti che avevano avuto una recidiva. Dopo una durata di follow-up mediano di 21,5 mesi, il tasso di risposta globale è stato del 75%. In termini di effetti sulla splenomegalia, nei sette pazienti valutabili, la risposta è stata osservata in quattro (57,1%).

Gli interferoni (IFN) posseggono una vasta gamma di attività biologiche, molte

delle quali forniscono un razionale per l'uso nella MF. IFN- α inibisce la proliferazione *in vitro* di progenitori emopoietici, in particolare dei progenitori megacariocitari. Inoltre, IFN- α è in grado di reprimere direttamente la megacariocitopoiesi inibendo il segnale del recettore della trombopoietina (MPL). Infine, IFN- α antagonizza il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF) e inibisce la crescita dei fibroblasti derivati dal midollo. Molti studi clinici sono stati condotti nella MF utilizzando varie forme commerciali di IFN- α . Riassumendo gli studi con più di 10 pazienti, i risultati sono deludenti. Nel 30% dei casi, vi è stata diminuzione del volume della milza, mentre in quasi la stessa percentuale di pazienti il volume della milza è aumentato. È importante sottolineare che la tossicità da IFN in questi studi fu molto elevata, portando a una rapida interruzione del trattamento in più del 50% dei pazienti.

L'aggiunta di un polietilenglicole (PEG) alla molecola di interferone ne aumenta l'emivita plasmatica con minore tossicità e maggiore stabilità e solubilità, senza influenzarne l'attività terapeutica. Questi cambiamenti si traducono in un miglioramento per i pazienti, soprattutto a causa di intervalli più lunghi tra le somministrazioni (settimanali invece che ogni 24-48 h). L'uso di interferone pegilato (PEG-IFN) in MF è stato segnalato in due studi con risultati molto diversi tra loro. Nello studio di Jabbour e collaboratori (2000) con PEG-IFN- α 2b, solo un paziente su 11 raggiunse una risposta completa. Al contrario, in uno studio retrospettivo multicentrico con 18 pazienti trattati con Peg-IFN- α 2 in sette centri francesi, tutti i pazienti tranne due raggiunsero o remissione completa o risposta maggiore in base a criteri EUMNET, e solo due pazienti interruppero il trattamento a causa della perdita di efficacia. Tuttavia, risposta sulla splenomegalia si ebbe solo in 2 dei 18 pazienti (11%).

Risposte clinicamente rilevanti sulla splenomegalia della MF sono state recentemente ottenute con l'impiego di inibitori di JAK2. Esse aprono numerosi interrogativi sulla patogenesi della splenomegalia nella MF e sulla posizione che questi farmaci avranno nella strategia terapeutica della malattia.

Radioterapia splenica. La radioterapia splenica è una possibilità terapeutica per il trattamento della sindrome da splenomegalia sintomatica della MF. La dose efficace totale di un corso di trattamento è di 2,5-6,5 Gy, che può essere somministrata in frazioni di 0,15 a 1Gy quotidianamente o con un programma di frazionamento intermittente (cioè due o tre volte alla settimana). In generale, l'esperienza dalla letteratura è simile a quello che è stato recentemente riportato in una serie di 23 pazienti della Mayo Clinic. Questi pazienti hanno ricevuto una mediana di 277 cGy (range 30-1.365) in 7,5 frazioni (range 2-17). La risposta iniziale è stata del 93,9% in termini di riduzione delle dimensioni della milza, con una durata di risposta mediana di 6 mesi. Tuttavia, il trattamento è stato associato a mielosoppressione nel 43,5% dei pazienti, fatale nel

13%. Nove pazienti (39,1%) sono stati successivamente splenectomizzati e 5 hanno subito complicanze peri-operatorie compresa emorragia addominale. Alcuni pazienti sono stati trattati con successo con corsi di trattamento ripetuto.

Splenectomia. Di principio, tutti i pazienti con splenomegalia sintomatica che sono stati trattati con terapia citoriduttiva senza miglioramento sono candidati alla splenectomia. Tuttavia, la decisione della splenectomia è il risultato di una bilancia tra i benefici attesi e il rischio di mortalità e morbidità. Un gran numero di serie di casi hanno riportato i risultati della splenectomia nella MF. La raccolta di 314 casi della Mayo Clinic in 3 decenni di esperienza fornisce le percentuali più rappresentative degli esiti. La metà dei pazienti furono arruolati alla splenectomia per splenomegalia sintomatica dopo un tempo mediano dalla diagnosi di 26 mesi. Anemia trasfusione-dipendente, ipertensione portale e grave trombocitopenia refrattaria furono le altre indicazioni per la splenectomia. Complicanza peri-operatoria si è verificata nel 27,7% dei pazienti, comprendente sanguinamento (14%), trombosi (9,9%) e infezioni (9,9%). La maggior parte dei sanguinamenti post-operatori si è verificato dalla ferita addominale, mentre la grande maggioranza dei fatti trombotici si è verificato nella vena porta (67,8%).

Nella serie della Mayo Clinic, la mortalità chirurgica fu del 6,7%. Causa delle morti chirurgiche furono: infezioni (2,6%), emorragie (2,2%), trombosi (0,6%) o altre complicanze (1,6%). La mortalità chirurgica è diminuita tra i tre decenni, in modo che nell'ultimo decennio è stata del 5,5%. Tra i sopravvissuti, l'81% ha avuto un beneficio palliativo per la loro indicazione primaria, cioè splenomegalia sintomatica, il 50% per l'indicazione di anemia, e il 40,4% per l'indicazione di ipertensione portale. Tra i pazienti sottoposti a splenectomia per la trombocitopenia refrattaria, il 77% ha avuto un beneficio durevole. Il tasso di trombocitosi post-splenectomia fu del 21%, epatomegalia accelerata (8%), e trasformazione leucemica 11%. Questi esiti non si modificarono nei tre decenni durante i quali è stata effettuata la procedura. L'epatomegalia sintomatica dopo splenectomia necessita di alte dosi di agenti citoriduttivi. I risultati dell'uso dell'analogo purinico, 2-clorodeossiadenosina (2-CdA), sono stati riportati dalla Mayo Clinic. Il farmaco è stato usato con successo con uno dei due schemi comunemente impiegati per tale agente (da 4 a 6 cicli mensili di terapia con 0,1 mg/kg/die per via endovenosa mediante infusione continua per 7 giorni, o 5 mg/m² per via endovenosa nell'arco di 2 ore per 5 giorni consecutivi). In un recente aggiornamento della esperienza della Mayo, risposte sono state osservate nel 55% dei pazienti per epatomegalia. Le risposte sono state spesso durevoli per una mediana di 6 mesi dopo l'interruzione del trattamento.

L'epatomegalia refrattaria post-splenectomia può essere eccezionalmente trattata

con radioterapia frazionata (RT) sul fegato, al fine di ottenere il controllo dei sintomi. Dopo 2 Gy frazionati somministrati a un campo di trattamento che comprende quasi tutto il fegato, i sintomi possono migliorare e le dimensioni del fegato possono diminuire senza gravi effetti collaterali.

È stato segnalato un tasso inaspettatamente alto di trasformazione blastica dopo splenectomia, con un rischio relativo nei pazienti splenectomizzati che aumenta da 2,2 a 48 mesi a 14,3 a 12 anni dalla diagnosi. La crisi blastica post-splenectomia è stata riportata essere indipendente da fattori connessi con l'assegnazione del paziente alla rimozione della milza, e quindi interpretata come effetto diretto della rimozione della milza. Tuttavia, la recente evidenza che i pazienti con mutazione JAK2V617F allo stato omozigote hanno maggiore propensione a sviluppare splenomegalia di grandi dimensioni, essere candidati alla splenectomia e contemporaneamente di evolvere verso la trasformazione blastica potrebbe consentire di interpretare l'alta incidenza di trasformazione blastica dopo splenectomia come risultato della storia naturale della malattia nei pazienti con alta carica allelica V617F.

L'evidenza dei risultati e delle complicanze della splenectomia suggerisce che l'intervento deve essere considerato principalmente in pazienti con sintomi significativi, con alta necessità di trasfusioni eritrocitarie, e ipertensione portale sintomatica. Tuttavia, l'associazione di splenomegalia con citopenie che peggiorano la malattia e impediscono adeguata terapia citoriduttiva, rafforza l'indicazione alla splenectomia.

La splenectomia prima del trapianto allogenico di cellule staminali è stata documentata essere in grado di accelerare l'attecchimento del trapianto, ma senza un significativo miglioramento dei risultati di sopravvivenza. Dati i rischi chirurgici, l'intervento non è raccomandato di routine prima del trapianto.

Tenuto conto dei pericoli potenziali della splenectomia, il procedimento dovrebbe essere considerato solo per i pazienti che, accanto a precise indicazioni ematologiche, soddisfano i criteri per essere adeguati candidati all'intervento chirurgico. I rischi di incorrere in trombosi post-operatoria o emorragia dovrebbero essere accuratamente valutati. Coagulopatia manifesta o occulta e storia di precedente trombosi portale sono i fattori di rischio principali per nuovi episodi trombotici o di ricorrenza di trombosi dopo splenectomia.

3.1.7 Indicazioni al trapianto di cellule staminali

Il trapianto allogenico di cellule staminali (allo-SCT) è attualmente l'unico approccio terapeutico nella MF potenzialmente curativo. La maggior parte dei pazienti che sopravvivono all'allo-SCT raggiunge una remissione ematologica, istologica e molecolare completa. Tuttavia, l'allo-SCT nella MF è complicato da mortalità (TRM) e morbidità correlata al trattamento relativamente elevata. Diverse piccole serie hanno riportato la sopravvivenza libera da malattia a lungo termine dopo trapianto allogenico di cellule staminali. La raccolta di casi più numerosa è quella di 289 pazienti sottoposti a trapianto allogenico per MF tra il 1989 e il 2002 dal Centro Internazionale di Ricerca per il Trapianto di Midollo Osseo (CIBMTR). L'età mediana dei pazienti era di 47 anni (range: 18-73 anni). I donatori erano fratelli HLA identici in 162 pazienti, donatori non famigliari in 101 e membri della famiglia HLA non identici in 26 pazienti. I pazienti erano stati trattati con una varietà di regimi di condizionamento e regimi di profilassi per la malattia da trapianto contro l'ospite (GVHD). Splenectomia era stata eseguita in 65 pazienti prima del trapianto.

La mortalità da trapianto a 100 giorni fu del 18% per i trapianti da fratelli HLA identici, il 35% per i trapianti non famigliari, e 19% per i trapianti da donatori famigliari alternativi. La sopravvivenza globale a 5 anni fu del 37%, 30% e 40% rispettivamente. La sopravvivenza libera da malattia fu 33%, 27% e 22%, rispettivamente. La sopravvivenza libera da malattia a 3 anni nei pazienti che avevano ricevuto trapianto con regime di condizionamento a intensità ridotta fu simile: 39% per i trapianti da donatori HLA identici e 17% per i donatori non consanguinei. In questa grande serie retrospettiva, il trapianto allogenico per MF risultò quindi portare a sopravvivenza libera da recidiva a lungo termine in circa un terzo dei pazienti. Questi risultati non sono diversi da quelli riportati in altre serie di casi europee e italiane.

In generale, viene considerato candidato al trapianto il paziente con MF la cui sopravvivenza mediana stimata sia inferiore a 5 anni. Ciò include pazienti con rischio IPSS alto (sopravvivenza mediana ~27 mesi) o intermedio-2 (sopravvivenza mediana ~48 mesi), nonché quelli con fabbisogno trasfusionale elevato (sopravvivenza mediana ~20 mesi) o anomalie citogenetiche sfavorevoli (mediana sopravvivenza ~40 mesi). Secondo uno score prognostico specifico, è possibile individuare fattori prognostici che predicono elevata mortalità trapiantologica e recidiva, tra cui l'elevato carico trasfusionale (più di 20 trasfusioni), e marcata splenomegalia (più di 20 cm), e l'uso di un donatore non HLA identico.

3.1.8 Il paziente con malattia in fase accelerata e in fase leucemica

L'incidenza di evoluzione in leucemia acuta (LA) nella policitemia vera (PV) e nella trombocitemia essenziale (TE) è stimata attorno al 4-8% dopo 20 anni di osservazione, con un aumento progressivo del rischio all'aumentare del follow-up. Il rischio risulta significativamente più elevato nella mielofibrosi sia primitiva (PMF) che secondaria (PPV/PET-MF), in cui è stimato pari a 8-23% dopo un follow-up di 10 anni. Nello studio del International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment (IWG-MRT) per la definizione del International Prognostic Score System (IPSS) la trasformazione leucemica si era manifestata in 86 di 1.054 pazienti rappresentando la causa più comune di morte (17% dei pazienti deceduti). Un recente ampio studio epidemiologico del registro svedese su oltre 11.000 casi di neoplasia mieloproliferativa cronica (NMP) ha considerato 152 casi di LA e 9 di mielodisplasia, rapportati a una coorte-controllo di 242 casi.

L'incidenza globale di trasformazione leucemica in questo studio è risultata pari al 2,6% della casistica totale, quindi un valore ampiamente inferiore a quanto riportato in letteratura in studi di singola coorte; è verosimile che il disegno dello studio (raccolta dati da registro) abbia determinato una sottostima della reale incidenza di questo evento. Il rischio relativo standardizzato (SIR) è risultato globalmente pari a 35,1 (95% CI, 30,6-39,9) con tendenza all'aumento con il tempo dalla diagnosi (SIR pari a circa 60 dopo 15 anni). Si conferma che il SIR è massimo per la PMF (63,8; 95% CI, 42,7-91,6) seguito dalla PV (33,0; 95% CI, 27,8-38,9) e dalla TE (24,7; 95% CI, 17,3-34,2). Mentre vi è evidenza sostanziale che la percentuale di trasformazione leucemica aumenti in relazione al trattamento con alcuni farmaci citoriduttivi, alchilanti o fosforo-32 radioattivo, e specialmente se utilizzati sequenzialmente, una leucemia acuta può insorgere anche in pazienti mai trattati, indicando che la trasformazione leucemica è parte della storia naturale di queste malattie. Nello studio del registro svedese, ben il 25% dei soggetti che hanno sviluppato LA non avevano mai ricevuto trattamento citotossico.

La trasformazione leucemica nella mielofibrosi è frequentemente preceduta da una fase definita "accelerata". Sebbene al momento non esista un consenso unanime sulla definizione di "fase accelerata" nella mielofibrosi, clinicamente questa si caratterizza per una rapida progressione di malattia con insorgenza di citopenie o incremento rapido della conta leucocitaria, aumento rapido delle dimensioni della milza, comparsa o peggioramento della sintomatologia sistemica. Nello studio sopra citato del IWG-MRT la "progressione" di malattia senza trasformazione leucemica era responsabile del 10% dei decessi. Recentemente è stato definito un modello dinamico

di predizione della fase accelerata in pazienti con mielofibrosi che si associa a una ridotta sopravvivenza (entro un anno). Tra le variabili analizzate, la conta di blasti $\geq 10\%$ nel sangue periferico o midollare, una conta piastrinica inferiore a $50 \times 10^9/L$ e la presenza di alterazioni cariotipiche, in particolare a carico del cromosoma 17, sono risultate predittive dell'evento sia se considerate alla diagnosi di malattia che durante il follow-up. Con questo modello viene quindi migliorata la capacità di identificare pazienti ad alto rischio rispetto al sistema prognostico internazionale (IPSS). Come per la fase accelerata della leucemia mieloide cronica, questa fase della mielofibrosi è caratterizzata da una refrattarietà alla terapia convenzionale; la scelta e l'intensità della terapia per la fase accelerata dovrà essere determinata caso per caso in base alle caratteristiche cliniche e della malattia. Recentemente è stata dimostrata l'efficacia di basse dosi di radioterapia splenica, con una relativa bassa incidenza di mielosinicità.

Il più ampio studio sinora condotto sulla trasformazione leucemica nella mielofibrosi ha registrato 91 casi in una casistica di 2.333 pazienti consecutivi con mielofibrosi afferenti alla Mayo Clinic. Tutti i casi avevano un fenotipo mieloide, e alterazioni del cariotipo erano presenti nel 91% di quelli valutati; evoluzione cariotipica era dimostrabile nella maggior parte dei casi per i quali era disponibile un esame cariotipico durante la fase cronica.

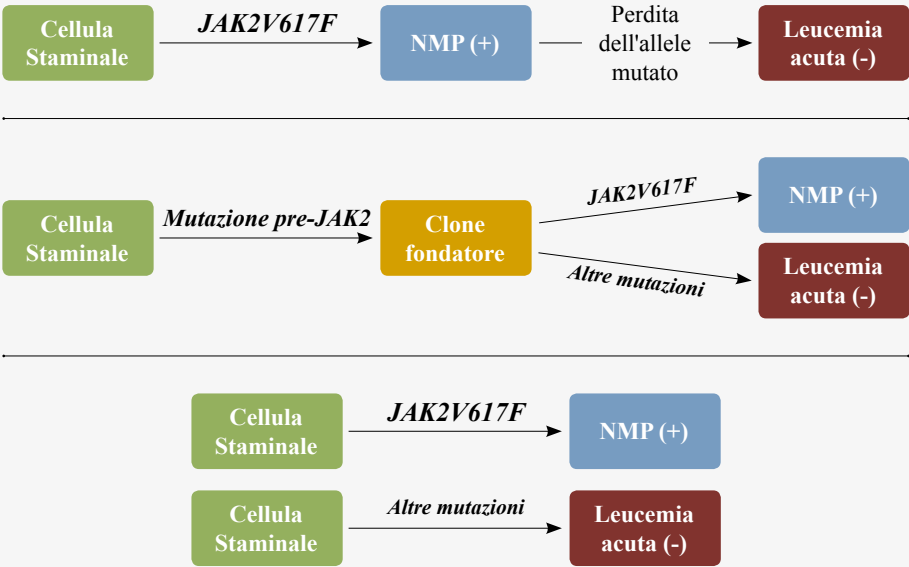
I meccanismi molecolari responsabili del passaggio dalla fase cronica alla fase blastica sono ancora poco conosciuti; questi eventi sono molto probabilmente l'espressione di una instabilità del genoma che determina l'accumulo di lesioni geniche multiple. È stato dimostrato che le cellule CD34+ isolate da pazienti con PV o PMF recanti la mutazione JAK2V617F presentano un marcato aumento dei fenomeni di ricombinazione omologa rispetto ai controlli; inoltre, in una linea cellulare recante la mutazione V617F, nella quale gli eventi di scambio dei sister chromatid, le anomalie del centrosoma e della ploidia nucleare risultavano aumentati rispetto alle cellule di controllo, anche la frequenza degli eventi suggestivi di mutagenesi a carico dei loci HPRT e Na/K ATPasi era notevolmente incrementata. La presenza della mutazione V617F potrebbe essere quindi responsabile di un accumulo di DNA danneggiato, che si manifesta anche con la inibizione della deamidazione di Bcl-XL e dei meccanismi di riparazione del genoma.

In contrasto con la leucemia mieloide cronica, in cui la fase blastica presenta invariabilmente la fusione dei geni BCR-ABL, la trasformazione leucemica nelle NMP Ph-negative, inclusa la mielofibrosi, può accompagnarsi alla scomparsa della mutazione V617F nei blasti leucemici. La percentuale di casi di leucemia acuta JAK2V617F negativa insorta dopo una malattia cronica caratterizzata dalla presenza della mutazione è risultata variabile da oltre il 50% a meno del 10% nei diversi studi;

tale variabilità può essere in parte attribuita al piccolo numero di casi considerati e ad alcune limitazioni intrinseche relative al disegno retrospettivo dello studio e all'uso di materiale congelato o recuperato da preparati biotici. In uno studio italiano prospettico, che ha analizzato lo stato mutazionale nei blasti purificati di 22 pazienti con trasformazione leucemica da precedente MPN positiva alla mutazione JAK2V617F, solo in 2 casi (9%) è stata dimostrata la perdita dell'allele mutato. Il meccanismo alla base di questo fenomeno non è stato definito con certezza, ma sono stati proposti alcuni modelli teorici per spiegare lo sviluppo di una leucemia acuta JAK2 wild-type (*Figura 3.1*). Una prima possibilità è la perdita dell'allele mutato come conseguenza di una ricombinazione mitotica, di una conversione genica o una delezione intercromosomica; sulla base dei dati sperimentali disponibili, questi eventi appaiono altamente improbabili. Un secondo modello suggerisce il concetto di una fase pre-JAK2V617F della malattia. Questa ipotesi è sostenuta anche da altre evidenze circostanziali quali la predisposizione familiare delle NMP, i risultati degli studi di clonalità in pazienti di sesso femminile affette da NMP e la crescita di colonie eritroidi spontanee JAK2 wild-type originate da pazienti V617F positivi. Una diretta evidenza a supporto di questa ipotesi è inoltre la dimostrazione che la mutazione di JAK2 può essere preceduta da altre alterazioni genetiche come la delezione del braccio lungo del cromosoma 20 oppure le mutazioni di TET2. Un terzo modello predice la coesistenza di due diversi cloni nello stesso paziente, uno portante e l'altro privo della mutazione. Questo fenomeno è stato documentato recentemente, seppur in pochi pazienti, nei quali i due cloni erano in grado di crescere autonomamente. Appaiono esistere però delle differenze nelle modalità di trasformazione in leucemia acuta JAK2V617F mutata o wild-type tra la mielofibrosi e le altre neoplasie mieloproliferative croniche.

In uno studio recente è stato infatti osservato che, a differenza dell'evoluzione in leucemia acuta JAK2 wild-type, la trasformazione in una forma acuta V617F mutata era pressoché invariabilmente preceduta dalla trasformazione mielofibrotica di una precedente PV o TE, o dalla PMF. Questa osservazione pertanto suggerisce che l'evoluzione a leucemia acuta JAK mutata sia il risultato dell'acquisizione di alterazioni genetiche che danno luogo al fenotipo della trasformazione mielofibrotica di PV o TE o di una PMF d'amblez. Negli ultimi anni sono state descritte nuove mutazioni dimostrabili sia durante la fase cronica che la fase blastica delle NMP; alcune di queste sembrano più comuni, ma comunque non specifiche, della fase leucemica rispetto a quella cronica, quali le mutazioni di IDH1/IDH2, IKZF1, e alterazioni della p53.

FIGURA 3.1 Modelli teorici di progressione da una neoplasia mieloproliferativa JAK2V617F a una leucemia acuta JAK2 wild-type



Le informazioni disponibili circa i fattori di rischio associati alla trasformazione leucemica della mielofibrosi sono limitate. In uno studio della Mayo Clinic su 311 pazienti con PMF sono stati identificati due fattori di rischio indipendenti, determinati al momento della diagnosi di malattia, che risultavano correlati allo sviluppo della fase blastica: la conta di blasti nel sangue periferico $\geq 3\%$ e un livello di piastrine $< 100 \times 10^9/L$. Altre variabili identificate dall'analisi univariata erano la leucocitosi, un aumentato numero di monociti, un basso livello di emoglobina, la presenza di sintomi sistemici e l'appartenenza a uno score prognostico elevato secondo IPSS. Utilizzando le due variabili sopra menzionate per definire pazienti "a basso rischio" (nessuna delle due) o "ad alto rischio" (una o entrambe) è stato documentato come l'incidenza di trasformazione leucemica passi dall'1% al 10% a un anno e dal 18% al 65% a cinque anni, rispettivamente. Questo stesso studio ha valutato anche il possibile contributo dei trattamenti precedenti, mettendo in evidenza come il tempo libero da leucemia risultasse significativamente ridotto, in analisi multivariata, nei pazienti che avevano ricevuto danazolo o eritropoietina; resta da definire, peraltro, se questa correlazione sia da ascrivere direttamente al tipo di trattamento ricevuto o esprima piuttosto una

fase più avanzata, o una forma più grave, di malattia. In effetti, nello studio dei pazienti con sopravvivenza attesa inferiore a un anno la terapia con eritropoietina non risultava associata al rischio di trasformazione leucemica, a differenza dello stato anemico (seppure unicamente in analisi univariata). Infine, il rischio legato alla splenectomia, dimostrato in precedenti studi, e confermato all'analisi univariata anche nella casistica della Mayo Clinic, non risultava confermato nell'analisi multivariata, e rimane quindi un importante problema aperto.

Il significato prognostico delle alterazioni molecolari circa il rischio di trasformazione leucemica nella mielofibrosi è ancora dibattuto. La presenza della mutazione JAK2V617F non sembra essere di per sé associata a un aumento del rischio di trasformazione leucemica, sebbene in uno studio italiano del gruppo GIMEMA i pazienti con mutazione in forma omozigote presentavano una maggior incidenza di fase blastica. In due studi successivi, che non hanno confermato tale associazione, si è piuttosto dimostrato che una bassa carica allelica di V617F rappresenta un fattore prognostico negativo per la sopravvivenza; in uno di questi studi la riduzione della sopravvivenza nei pazienti con bassa carica allelica era attribuibile a una maggiore frequenza di trasformazione leucemica. Lo stato mutato per i geni IDH1/2 in pazienti con fase blastica di PMF è risultato associato a una ridotta sopravvivenza, nonostante la mutazione co-segregasse con la presenza di alterazioni non complesse del cariotipo; in analisi multivariata la significatività statistica veniva però perduta, probabilmente per il piccolo numero di casi osservati. Più recentemente, infine, uno stato mutazionale di ASXL1 e EZH2 è risultato correlato con una riduzione della sopravvivenza libera da leucemia, ma questa osservazione necessita di ulteriori conferme.

La comparsa di specifiche alterazioni del cariotipo, piuttosto che la mera presenza o assenza di anomalie, è una importante variabile per la sopravvivenza globale in quanto, almeno in larga parte, associata alla trasformazione leucemica, in particolar modo per il coinvolgimento dei cromosomi 5, 7 e 17.

Il trattamento della fase accelerata e della trasformazione leucemica della mielofibrosi è nella comune esperienza clinica, quanto mai deludente, e se sia indicazione o meno a un tipo di trattamento aggressivo è di per sé discusso e discutibile, e deve essere sicuramente considerato caso per caso, in particolare accogliendo le scelte del paziente informato circa i rischi e i possibili benefici. Va rilevata la mancanza pressoché totale di studi clinici specifici per questa condizione, e pertanto non si possono dare indicazioni basate su un minimo di evidenza. In uno studio della Mayo Clinic, la sopravvivenza mediana è risultata inferiore a tre mesi, con un rate di mortalità da trattamento pari al 33%; nessun paziente ha ottenuto la remissione utilizzando cicli di chemioterapia standard, non vi era evidenza di vantaggio alcuno

rispetto alla sola terapia di supporto o a trattamento citotossico con bassa intensità. Nel 40% dei casi con la migliore risposta, documentata da un quadro midollare compatibile con il ritorno a una fase cronica e scomparsa della blastosi, la sopravvivenza mediana era di 6,2 mesi. Uno studio recente in pazienti con trasformazione leucemica di una precedente MPN, inclusi sette casi di PMF, ha dimostrato una parziale efficacia della azacitidina, con una sopravvivenza mediana di 11 mesi; peraltro, le risposte sono risultate di breve durata, suggerendo la necessità di un successivo consolidamento della eventuale risposta ottenuta.

L'esperienza con il trapianto di cellule staminali allogeniche è limitata a un recente studio nel quale sono stati considerati 13 pazienti, sei dei quali avevano ottenuto una risposta in seguito a terapia standard di induzione per la leucemia. Tutti i pazienti hanno ottenuto l'attecchimento, e sei di questi (49%) risultavano vivi dopo un follow-up mediano di 31 mesi. Sebbene del tutto preliminare, questo studio suggerisce l'opportunità dell'opzione trapiantologica, che potrebbe essere riservata a soggetti più giovani, con migliore performance status, e che abbiano mostrato evidenza di chemio-sensibilità alla terapia standard.

KEY POINTS

- Non esiste una definizione codificata di fase accelerata della mielofibrosi
- La trasformazione leucemica si manifesta nel 5-20% dei casi
- La trasformazione leucemica è espressione del sommarsi di anomalie mutazionali diverse, tra le quali IKZF1, IDH1/2, e p53
- Blasti >3% e piastrine <100x10⁹/L sono possibili fattori predittivi per la leucemia
- La sopravvivenza mediana nella fase leucemica è attorno a 3 mesi
- La terapia della fase leucemica rappresenta un “unmet clinical need”: non vi sono evidenze per raccomandazioni e i risultati sono quanto mai deludenti
- Il trapianto allogenico potrebbe essere una nuova strategia in pochi selezionati pazienti

3.2 POLICITEMIA E TROMBOCITEMIA ESSENZIALE

3.2.1 Il paziente asintomatico

La trombocitemia essenziale (TE) e la policitemia vera (PV) sono caratterizzate clinicamente dalla presenza e dalla ricorrenza di complicanze vascolari e da un potenziale evolutivo in mielofibrosi e in leucemia acuta. In generale, nella PV e nella TE lo scopo della terapia citoriduttrice è controllare e prevenire il rischio vascolare riducendo potenzialmente anche l'evoluzione clonale della malattia.

L'incidenza di eventi vascolari nella PV stimata dallo studio ECLAP è 5,1 x 100 pazienti/anno nei primi 5 anni dalla diagnosi, 7 x 100 pazienti/anno tra 5 e 10 anni dalla diagnosi, e 4,7 x 100 pazienti anno dopo i 10 anni dalla diagnosi. In una coorte di 1.063 pazienti con TE è stato recentemente dimostrato che i pazienti a basso rischio (non trattati) avevano un'incidenza di eventi trombotici pari a 1,5 x 100 pazienti/anno, mentre nei pazienti ad alto rischio (trattati con agenti citoriduttrici) era 2 x 100 pazienti/anno.

Il paziente asintomatico cioè a basso rischio vascolare (*Tabella 3.1*) e senza sintomi riconducibili alla malattia, non viene sottoposto di routine ad alcuna terapia citoriduttrice. Fino a ora sono stati considerati fattori di rischio vascolare l'età maggiore di 60 anni e le pregresse trombosi, ma altri fattori potrebbero contribuire a peggiorare il rischio vascolare nei pazienti asintomatici.

TABELLA 3.1 Stratificazione del rischio nella policitemia vera e trombocitemia essenziale

Fattori di rischio	Basso	Alto
Età >60 anni	NO	SI
Pregresse trombosi	NO	SI

Trombofilia congenita e acquisita

Sebbene non vi siano dati certi sull'associazione tra la presenza di fattori trombofilici e l'incremento del rischio vascolare nella PV e TE, l'ipertensione arteriosa, l'obesità, il diabete, e il fumo vanno corretti in tutti i pazienti. Nello studio ECLAP che includeva 1.638 pazienti con PV, circa il 40% era affetto da ipertensione arteriosa, il 7% da diabete, il 4% da ipercolesterolemia, e il 13% era fumatore. Tra queste

condizioni solo il fumo è stato documentato come fattore di rischio per l'insorgenza di trombosi arteriosa e di arteriopatia periferica. Alcuni pazienti con PV o con TE a basso rischio sono portatori di mutazione del Fattore V Leiden o del Fattore II, o del gene della MTHFR. Mentre l'ultima di queste condizioni, soprattutto se in assenza di iperomocisteinemia, non sembra peggiorare il rischio vascolare dei pazienti con PV e TE, gli altri fattori potrebbero avere un ruolo prognostico negativo addizionale in condizioni particolarmente a rischio quali la gravidanza o l'immobilità prolungata. L'introduzione di una profilassi con eparina a basso peso molecolare va discussa caso per caso.

Leucocitosi

L'impatto prognostico della leucocitosi è stato ampiamente studiato nella PV e nella TE. Dati della letteratura indicano che la leucocitosi (valore di globuli bianchi superiore a $15 \times 10^9/L$ oppure a $11 \times 10^9/L$, oppure a $9,4 \times 10^9/L$, oppure a $8,7 \times 10^9/L$) sia un fattore predisponente trombosi nella TE e nella PV. Il peso maggiore della leucocitosi sul rischio vascolare sembra sia in pazienti asintomatici con TE, in quanto verosimilmente non protetti dalla terapia citotriduttiva. Un recente studio nella TE ha dimostrato che, considerando come riferimento di rischio vascolare i pazienti con TE a basso rischio senza leucocitosi ($<11 \times 10^9/L$), l'HR sia 3,1 per i pazienti a basso rischio con leucocitosi ($>11 \times 10^9/L$), 2,5 nei pazienti ad alto rischio senza leucocitosi e 5,0 nei pazienti ad alto rischio con leucocitosi. Sebbene non vi sia omogeneità di risultato nelle diverse casistiche pubblicate sulla correlazione tra il numero dei leucociti e la trombosi, è indubbio che la leucocitosi vada considerata con estrema cautela in un paziente con PV e TE asintomatico. Per tale motivo le recenti raccomandazioni dell'European LeukemiaNet considerano candidabili a terapia citotriduttiva anche i pazienti a basso rischio con leucocitosi progressiva.

La leucocitosi come segno di eccessiva mieloproliferazione potrebbe avere anche un ruolo più complesso sull'evoluzione della malattia, infatti una conta leucocitaria maggiore di $15 \times 10^9/L$ è stata anche identificata come fattore di rischio evolutivo in mielofibrosi nei pazienti affetti da PV.

La mutazione JAK2 (V617F)

Per quanto concerne la carica allelica della mutazione JAK2 (V617F), la correlazione con gli eventi della PV e della TE è stata ampiamente studiata. In uno studio prospettico di 320 pazienti con PV portatori di questa mutazione, è stato dimostrato che la carica allelica maggiore del 50% sia un fattore di rischio di evoluzione in mielofibrosi, mentre non impatta sulla trombosi e sulla evoluzione in

leucemia. Questo studio è supportato dall'evidenza che pazienti con mielofibrosi post-PV hanno una carica allelica significativamente maggiore rispetto ai pazienti con PV. Nella TE la mutazione JAK2 (V617F) si associa a un maggior rischio vascolare come emerge da due metanalisi recenti, e sembra che lo stato omozigote, seppur raro nella TE, esponga a un maggior rischio vascolare.

La trombocitosi

Seppure la trombocitosi sia la manifestazione clinica tipica delle TE e sia riportata in circa il 40% delle PV, non sembra aver un ruolo predittivo di eventi trombotici o di evoluzione clonale in entrambe le malattie. L'unica correlazione dimostrata e universalmente accertata è quella tra piastrinosi eccessiva e rischio emorragico. In caso di piastrinosi eccessiva (piastrine superiori a $1.000 \times 10^9/L$) si può riscontrare un'anomalia laboratoristica del profilo emocoagulativo compatibile con la sindrome di von Willebrand acquisita. Tale sindrome si caratterizza per la presenza di piastrinosi, tendenza al sanguinamento, tempo di sanguinamento allungato, fattore VIII e antigene di von Willebrand nei limiti, ridotta attività del cofattore ristocetico. Se istituita, la terapia antiaggregante va modificata in caso di eccessiva piastrinosi. Uno studio recente ha infatti dimostrato che l'aspirina nei pazienti affetti da TE con una conta piastrinica superiore a $1.000 \times 10^9/L$ si associa a un maggior rischio di eventi emorragici (RR: 5,4). Questo dato suggerisce di non utilizzare aspirina nei pazienti con TE e piastrinosi eccessiva. Le recenti raccomandazioni dell'European LeukemiaNet indicano di iniziare una terapia citoriduttrice nei pazienti asintomatici con PV e TE che sviluppano piastrinosi superiore a $1.000 \times 10^9/L$ durante il follow-up, con lo scopo di controllare il rischio emorragico.

Per quanto riguarda la correlazione con il rischio trombotico, non vi sono dati che ne dimostrino alcun rapporto. In un recente studio su 1.063 pazienti con TE, la conta piastrinica superiore a $1.000 \times 10^9/L$ si associava a un minor rischio vascolare di trombosi quando combinata con una conta leucocitaria inferiore a $11 \times 10^9/L$: questo gruppo di pazienti aveva un rischio vascolare pari a 1,6 per 100 pazienti/anno. I pazienti invece con una conta piastrinica inferiore, con leucocitosi e la mutazione JAK2 (V617F) avevano un'incidenza di trombosi del 2,9%.

L'anemizzazione

Meno del 5-10% dei pazienti con TE all'esordio presenta moderata anemia. L'insorgenza di anemizzazione in corso di PV e TE ha differenti eziologie. La causa più frequente è il sanguinamento acuto o cronico, per cui vanno indagati il tratto gastroenterico e urogenitale, come nella popolazione generale. La terapia

antiaggregante, somministrata nella maggioranza dei pazienti asintomatici con PV o TE è un fattore di rischio emorragico, specialmente in pazienti con piastrinosi eccessiva. Qualora il paziente stia ricevendo una terapia citoriduttiva, la comparsa di anemia accompagnata spesso a leucopenia e piastrinopenia, è indicativa di tossicità ematologica da chemioterapia, che si verifica in meno del 5% dei pazienti. In tali casi la sospensione del farmaco citoriduttivo consente un rapido recupero emopoietico.

Se si escludono queste cause più frequenti di anemizzazione, va ricercata una potenziale evoluzione della malattia. Nell'evoluzione in mielofibrosi secondaria, l'anemizzazione si accompagna a screezio leucoeritroblastico allo striscio di sangue periferico, a splenomegalia e a comparsa di sintomi sistemici. In questo caso la biopsia osteomidollare è la procedura diagnostica di elezione. L'evoluzione in leucemia acuta si accompagna a piastrinopenia, leucocitosi o leucopenia e a complicanze infettive e/o emorragiche.

Approccio pratico al paziente asintomatico

Il paziente asintomatico con TE o PV non dovrebbe effettuare alcuna terapia con farmaci citoriduttivi, ma solamente seguire un programma di monitoraggio clinico (*Tabella 3.2*). Nella pratica clinica si consiglia un monitoraggio dell'esame emocromocitometrico ogni tre mesi nella TE e mensilmente nella PV per modulare la frequenza dei salassi in quest'ultima condizione. L'esame emocromocitometrico consente di valutare l'andamento della conta piastrinica, del valore di globuli bianchi e del valore dell'ematocrito; lo striscio di sangue periferico è importante alla diagnosi e dovrebbe essere controllato regolarmente in quanto la presenza di progenitori eritroidi e/o mieloidi associata alla comparsa di dacriociti potrebbe far sospettare un quadro evolutivo. L'andamento nel tempo della carica allelica di JAK2 (V617F) è più speculativo che utile. Infatti la carica allelica sembra rimanere stabile nel tempo.

Conoscere lo stato mutazionale di un paziente con TE è molto importante, in quanto i pazienti con TE portatori della mutazione JAK2 (V617F) sono più propensi a evolvere in PV, che i pazienti con TE senza la mutazione. Indicatori di evoluzione in mielofibrosi come LDH (soprattutto per TE) e conta delle cellule CD34+ circolanti potrebbero essere monitorati annualmente, ma non vi è uniformità di visione su questo punto. La splenomegalia è un segno di proliferazione e si riscontra nel 30-40% circa dei pazienti con PV, ed è un riscontro molto più raro nella TE (circa il 20%).

Clinicamente può essere utile in casi selezionati escludere la presenza di trombosi delle vene sovraepatiche e del distretto portale, causa di splenomegalia congestizia. Quando compare nel follow-up, la splenomegalia è per lo più segno di evoluzione della malattia in mielofibrosi. Durante il follow-up non è necessario controllare

regolarmente la biopsia osteomidollare, ma effettuare tale procedura invasiva nel caso in cui il quadro clinico faccia sospettare un'evoluzione della malattia in mielofibrosi o in leucemia acuta. La mielofibrosi va sospettata quando le dimensioni della milza aumentano, quando il paziente lamenta sintomatologia clinica tipo febbricola, sudorazioni notturne, calo ponderale oppure dolori osteomuscolari. In genere, compare una anemizzazione progressiva e se si valuta lo striscio di sangue periferico si possono visualizzare progenitori circolanti. L'evoluzione in leucemia acuta è spesso repentina, per cui la diagnosi è difficilmente prevedibile. In generale, leucocitosi o leucopenia o piastrinopenia con manifestazioni cliniche infettive e/o emorragiche rappresentano i segni e sintomi più tipici.

TABELLA 3.2 **Gestione del follow-up nel paziente asintomatico con policitemia vera o trombocitemia essenziale**

	Policitemia vera	Trombocitemia essenziale
Esame emocromocitometrico	mensile	trimestrale
Visita	mensile	trimestrale
LDH	semestrale	annuale
Cellule CD34+ circolanti	annuale	annuale
JAK2V617F	una volta	una volta
Biopsia osteomidollare	se progressione	se progressione

Terapia del paziente asintomatico con PV e TE

I pazienti asintomatici devono essere istruiti circa la necessità di correggere lo stile di vita (peso contenuto, moderata attività sportiva) per ridurre potenziali fattori di rischio vascolare aggiuntivo. Qualora indicato, i pazienti asintomatici devono ricevere idonee terapie per controllare diabete, ipertensione arteriosa, dismetabolismi. La sospensione del fumo di sigarette va consigliata.

Nei pazienti asintomatici non va somministrata alcuna terapia fino a che il paziente non ha manifestazioni vascolari o sintomatologia riconducibile alla malattia (Tabella 3.3). In tal caso, il paziente diventa ad alto rischio e va instaurata idonea terapia citoriduttrice (si veda capitolo dedicato). A volte possono comparire altre problematiche cliniche nel paziente asintomatico senza delinearne lo status di alto

rischio. Se compaiono disturbi neurologici minori (cefalea, parestesie, eritromelalgia) è importante indagare con i neurologi se tali sintomi sottendono altre malattie o se sono riconducibili alla sola TE. Se sono sintomi TE-correlati è pratica clinica iniziare una terapia antiaggregante tipo acido acetilsalicilico a dose standard (100-300 mg/die) per valutarne l'effetto. Se non si ottiene alcun effetto è consigliabile effettuare un periodo di terapia con farmaci citoriduttivi, tipo idrossiurea, per valutare se la normalizzazione delle piastrine porta a una risoluzione del sintomo, che è spesso sentito dal paziente come un impedimento alla conduzione di una vita normale.

TABELLA 3.3

Quando cambiare la scelta terapeutica nel paziente asintomatico con policitemia vera o con trombocitemia essenziale

- Raggiungimento dei 60 anni di età
- Verificarsi di eventi trombo-emorragici
- Necessità di salassi frequenti per mantenere l'ematocrito entro i limiti stabiliti
- Scarsa tolleranza ai salassi
- Splenomegalia progressiva o sintomatica
- Comparsa di sintomi legati alla malattia
- Leucocitosi progressiva
- Trombocitosi progressiva superiore a $1.500 \times 10^9/L$

Una seconda condizione che può modificare il programma di un paziente asintomatico è la chirurgia d'elezione. È opinione comune che gli interventi chirurgici rappresentino un importante fattore di rischio contingente per lo sviluppo di trombosi o emorragie. Uno studio retrospettivo ha evidenziato che le complicanze vascolari post operatorie dei pazienti con TE sono per lo più arteriose, mentre quelle dei pazienti affetti da PV sono principalmente rappresentate da trombosi venose. Non è stata riscontrata correlazione fra episodi di sanguinamento e tipo di diagnosi, l'uso di profilassi antitrombotica o il tipo di intervento chirurgico. Un'elevata proporzione degli interventi in pazienti con TE/PV è complicata da occlusioni vascolari (7,7%), o emorragia maggiore (7,3%). La gestione del paziente con PV o TE asintomatico che deve essere sottoposto a intervento chirurgico rimane quindi complicata e controversa. In queste situazioni e, ove possibile, è meglio sospendere la terapia antiaggregante piastrinica tra 7 e 10 giorni prima dell'intervento ed effettuare una terapia farmacologica per normalizzare i parametri emometrici; nel caso di PV con eritrocitosi isolata un programma di salassi più ravvicinato potrebbe essere sufficiente. Nel post-intervento è opportuna la somministrazione di eparina a basso peso molecolare.

Infine, una delle indicazioni più recenti a iniziare una terapia citoriduttrice nel paziente con PV o con TE è il progressivo innalzamento del numero dei leucociti, delle piastrine (PV) e della milza, come già discusso nei paragrafi precedenti.

La terapia con aspirina nella TE e PV è discussa in un capitolo dedicato di questo volume.

Nei caso di pazienti con PV asintomatica in cui sia necessario un trattamento con agenti citoriduttrici per i motivi sopra esposti, è consigliabile l'impiego di idrossiurea per la rapidità di azione e per il profilo di sicurezza recentemente dimostrato. Idrossiurea è un agente chemioterapico appartenente alla categoria degli antimetaboliti in grado di inibire la sintesi de novo di purine e pirimidine. Si somministra per via orale con un dosaggio iniziale di 15 mg/Kg (circa due compresse al dì in un uomo di 70 Kg). Gli effetti collaterali principali sono la mielosoppressione (per cui è necessario un frequente monitoraggio dell'emometria), e più raramente disturbi gastro-intestinali quali nausea, diarrea o tossicità dermatologica (ulcere malleolari, rash cutanei, pigmentazioni ungueali).

KEY POINTS

- Il paziente asintomatico con PV e TE è un paziente a basso rischio vascolare (età minore di 60 anni, non pregressi eventi vascolari) senza sintomi correlati alla malattia
- Altri parametri vanno monitorati nei pazienti asintomatici in quanto potenzialmente correlati a un maggior rischio trombotico: la leucocitosi e la presenza della mutazione JAK2 (V617F)
- La terapia citoriduttrice non è indicata nei pazienti asintomatici, ma va instaurata in caso di splenomegalia e leucocitosi progressiva e di piastrinosi superiore a $1.500 \times 10^9/L$

3.2.2 Il paziente con eritrocitosi idiopatica

Il termine eritrocitosi idiopatica (EI) definisce una situazione clinica caratterizzata da un incremento del numero di globuli rossi nel sangue (eritrocitosi assoluta), in assenza di cause identificabili di eritrocitosi primitiva e secondaria. Non è presente incremento dei leucociti, delle piastrine o della milza e non sono presenti segni di mieloproliferazione a livello midollare. L'EI non è una malattia clonale e l'evoluzione in leucemia acuta non è riportata nelle casistiche più recenti; la prevalenza di evoluzione leucemica dell'8-10% riportata nelle casistiche più datate potrebbe corrispondere più

a un'evoluzione leucemica in pazienti erroneamente diagnosticati come EI, ma in realtà affetti da policitemia vera, che alla condizione di EI o all'impiego di agenti citoriduttivi per sé.

Terapia

La natura benigna dell'EI fa dedurre che l'atteggiamento anti-mieloproliferativo con farmaci citoriduttivi non è indicato nei pazienti con EI, a differenza dei pazienti con policitemia vera. La scelta della terapia nella EI è per lo più empirica non essendo disponibile alcuno studio prospettico in questo setting di pazienti. Si ritiene raccomandato l'impiego di salassoterapia come trattamento di scelta per i pazienti affetti da EI, anche se non ci sono studi controllati che mostrano come tale terapia si associ a una riduzione del rischio vascolare. La scelta del valore soglia di ematocrito da mantenere dopo la diagnosi di EI è empirico e dipende dalla scelta del medico basata sul performance status e/o sulle comorbidità del paziente.

Nella pratica clinica ambulatoriale è consigliabile mantenere un valore di ematocrito inferiore al 50%. Con il salasso da un lato si rimuove il ferro contenuto nei globuli rossi, pari a circa un milligrammo ogni due millilitri di sangue rimosso (quindi con un salasso di 400 ml si rimuovono circa 200 milligrammi di ferro), dall'altro si stimola l'organismo a produrre nuovi globuli rossi utilizzando il ferro depositato e inducendo un incremento del numero di globuli rossi che saranno microcitici per l'emopoiesi carente di ferro indotta. Il profilo tipico di un paziente in terapia con salassi associa livelli di emoglobina ed ematocrito nei limiti con elevato numero di emazie tendenzialmente microcitiche. A volte si può instaurare anche un incremento del numero delle piastrine per la sideropenia indotta, ma tale fenomeno è più frequente nella policitemia vera.

Come procedere alla salassoterapia

La salassoterapia nella EI inizia sottraendo da 250 a 400 cc di sangue una-due volte a settimana fino a raggiungere un ematocrito inferiore a 50%. Nei pazienti anziani o con patologie cardiovascolari, i salassi devono essere ridotti di intensità (sottrarre da 200 a 300 cc di sangue) o di frequenza (una volta ogni due settimane). Quando il valore richiesto di ematocrito è stato raggiunto, un emocromo a intervalli regolari (ogni 1-2 mesi) servirà a stabilire la necessità di ulteriori salassi, in modo da mantenere l'ematocrito al livello desiderato. La frequenza dei salassi tende generalmente a diminuire nel tempo per l'insorgenza di una condizione di sideropenia indotta che riduce la produzione eritrocitaria. Poiché questo è un effetto voluto della salassoterapia, non si deve somministrare terapia con ferro.

I problemi del paziente che riceve i salassi

Non vi sono dati disponibili sulla qualità di vita in pazienti con EI sottoposti a salassi. In genere più della metà dei pazienti sopporta bene tale procedura. I problemi principali che si riscontrano sono il dolore relativo alla venopuntura, la difficoltà all'accesso venoso, una lieve e occasionale sensazione di malessere durante il salasso, sensazione di capogiro al termine del salasso e affaticamento prolungato dopo il salasso.

Terapia antiaggregante

L'uso dell'acido acetilsalicilico a basse dosi (75-100 mg/die), come profilassi antitrombotica, è controverso nell'EI, mentre è ormai ben definito il vantaggio del suo impiego nella policitemia vera. La profilassi con acido acetilsalicilico a basse dosi potrebbe essere indicata in pazienti con EI e aumentato rischio trombotico, con pregressi eventi vascolari, malattia vascolare periferica, diabete mellito o ipertensione arteriosa non controllate. È indubbiamente controindicato in pazienti con diatesi emorragica.

KEY POINTS

- La terapia dell'eritrocitosi idiopatica è empirica
- La chemioterapia citoriduttrice non è indicata nell'eritrocitosi idiopatica
- La terapia si basa sul salasso per mantenere un livello di ematocrito inferiore al 50%
- La terapia antiaggregante con aspirina è indicata nei pazienti ad alto rischio vascolare

3.2.3 Quando il trattamento citostatico nella TE e PV

Il caso

Una donna di 45 anni esegue esami per un check-up programmato sul luogo di lavoro in assenza di sintomatologia clinica. I valori di emocromo sono i seguenti: emoglobina 13,4 g/dL; leucociti 5.200/mmc con normale formula leucocitaria; piastrine 1.100.000/mmc. L'anamnesi familiare, fisiologica e patologica remota non rivela dati di rilievo. Non fuma e non assume abitualmente farmaci. In particolare, non presenta diabete, ipertensione arteriosa o ipercolesterolemia. L'esame obiettivo è negativo e non si rileva splenomegalia. Le indagini diagnostiche per trombocitosi (vedi par. 2.2.5) confermano la trombocitemia isolata (piastrine 1.200.000/mmc) e

dimostrano un quadro istologico midollare compatibile con trombocitemia essenziale. La ricerca della mutazione V617F di JAK2 è negativa.

Criteri di trattamento

La classificazione prognostica della TE e della PV si basa sulla presenza o meno di fattori di rischio per trombosi ed emorragia. L'età superiore a 60 anni e un precedente evento vascolare rappresentano i principali determinanti del rischio trombotico e, quindi, i fondamentali criteri di trattamento in entrambe le malattie (*Tabella 3.4*). I principali studi che hanno valutato questi fattori di rischio nella TE sono riassunti nella *Tabella 3.5*, mentre la *Figura 3.2* mostra la probabilità di sviluppare una complicanza vascolare arteriosa o venosa in 1.638 pazienti con PV arruolati nello studio prospettico multicentrico ECLAP (European Collaboration in Low-dose Aspirin in Polycythemia) in funzione dell'età e della precedente trombosi.

La *Tabella 3.5* mostra anche che la conta piastrinica, di per sé, non si è dimostrata un fattore predittivo di trombosi arteriose o venose nella grande maggioranza degli studi. Talvolta, si può associare a sintomi microvascolari o parestesici resistenti alla terapia con aspirina. Più frequentemente, una trombocitosi estrema ($>1.500.000/\text{mmc}$) può provocare un paradossale aumento del rischio di emorragie dovuto a una perdita dei multimeri ad alto peso molecolare del fattore vonWillebrand (vedi par. 4.6). Si raccomanda pertanto di considerare la conta piastrinica elevata come criterio di inizio del trattamento citostatico solo in presenza di sintomi microvascolari resistenti all'aspirina o di complicanze emorragiche associate a una malattia di von Willebrand acquisita.

Fattori di rischio trombotico più recentemente riconosciuti sia nella TE che nella PV sono l'aumento del numero di leucociti e la presenza o l'entità (misurata come carico allelico) della mutazione V617F di JAK2. I rischi relativi per trombosi associati alla leucocitosi nei pazienti con TE sono riportati in *Tabella 3.4*. Un valore soglia per la determinazione del rischio non è stato chiaramente identificato, anche se il rischio vascolare appare aumentare progressivamente con l'entità della leucocitosi. La presenza della mutazione V617F di JAK2 si associa a un aumento di circa due volte del rischio trombotico sia venoso che arterioso nei pazienti con TE, come osservato in alcune metaanalisi. Inoltre, l'aumento del burden allelico della mutazione aumenta il rischio vascolare sia nei pazienti con PV che nei rari casi di TE omozigoti per la mutazione. Sia la leucocitosi che la mutazione di JAK2 richiedono però ulteriori conferme in studi prospettici prima di potere essere definiti come criteri per iniziare un trattamento citoreducente.

Sulla base dei dati e delle raccomandazioni sopra citate, la paziente del nostro esempio deve essere considerata “a basso rischio” trombotico e NON è candidata a un trattamento citostatico. I criteri per una eventuale profilassi antitrombotica primaria sono discussi nel par. 4.7.

FIGURA 3.2 Studio ECLAP indicatori prognostici di trombosi

Età e precedente trombosi come indicatori prognostici di eventi cardiovascolari maggiori in 1.638 pazienti con Policitemia Vera arruolati nello studio multicentrico internazionale ECLAP (European Collaboration in Low-dose Aspirin in Polycythemia)

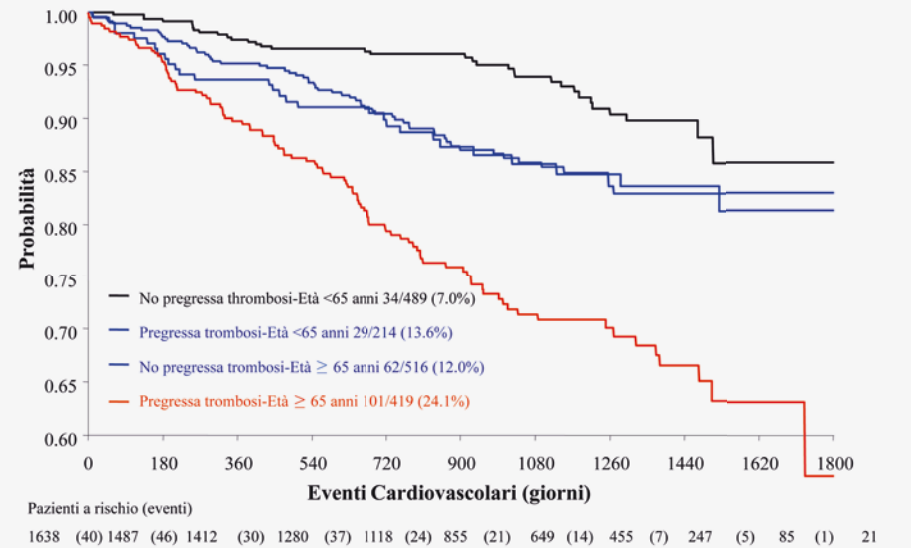


TABELLA 3.4 Stratificazione del rischio cardiovascolare nei pazienti con PV e TE

Rischio	Età >60 anni o storia di trombosi
Basso	NO
Alto	SI

I fattori generici di rischio CV (fumo, ipertensione arteriosa, ipercolesterolemia, diabete) devono essere ricercati e trattati.
La leucocitosi e la presenza delle mutazione V617F nella TE sono state associate ad un aumento del rischio CV ma è richiesta una conferma in studi prospettici.
La trombocitosi estrema (conta piastrinica $>1.500 \times 10^9/L$) è un fattore di rischio emorragico.

TABELLA 3.5

Studi sui fattori di rischio per trombosi ed emorragia nella Trombocitemia Essenziale che hanno incluso almeno 100 pazienti

Studi	Pazienti, n.		
		Età >60	Precedente trombosi
Cortelazzo et al. (1990)	100	10,3 (2,05-51,5)	13 (4,1-41,5)
Besses et al. (1999)	148	3,3 (1,5-7,4)	3,0 (1,5-6,0)
Colombi et al. (1991)	103	NS	P <0,001
Jantunen et al. (2001)	132	NS	-
Bazzan et al. (1999)	187	NS (età >55)	-
Wolanskyi et al. (2006)	322	1,51 (1,05-2,18)	2,3 (1,25-4,24) (solo arterie)
Carobbio et al. (2007)	439	2,3 (1,3-3,9) (età >60 e precedenti trombosi cumulate)	
Passamonti et al. (2008)	605	P<0,001	P=0,03
Palandri et al. (2011)	532	2,45 (1,35-4,43)	
Studi	Pazienti, n.		
van Genderen et al. (1994)	200 (revisione di casi pubblicati)		
Fenaux et al. (1990)	147		
Wolanskyi et al. (2006)	322		
Alvarez-Larran et al. (2010)	300		

* Almeno uno dei seguenti: fumo, ipertensione, ipercolesterolemia, diabete; NS = non significativo; GB = Leucociti.

Follow-up del paziente

I criteri per l'inizio di un trattamento citostatico non presenti alla diagnosi possono svilupparsi nel corso del follow-up. La terapia deve essere iniziata dopo i 60 anni o in caso di comparsa di un evento trombotico. L'aumento progressivo del numero di piastrine al di sopra di 1.500.000/mm³ rappresenta un altro criterio di trattamento se associato a sintomi emorragici o a una diagnosi di laboratorio di sindrome di von Willebrand acquisita con valori funzionali della proteina (wWF RiCof) <30% del

Fattori di rischio per trombosi (RR or P)			
	Conta piastrinica	Leukocitosi	Fattori di rischio cardiovascolare*
	NS	-	NS
	NS	-	4,7 (1,8-11,8)
	NS	-	-
	NS	-	P =0,01
	NS	-	NS
	-	1,74 (1,15-2,66) (GB≥15x10 ⁹ /L)	NS
	NS	2,3 (1,4-3,9) (GB≥8,7x10 ⁹ /L)	-
	NS	NS	-
	NS	1,76 (1,95-2,97) (GB≥11x10 ⁹ /L)	-
Fattori di rischio per emorragie			
	Conta piastrinica		
	p<0,001 (piastrine >1.000x10 ⁹ /L)		
	“rischio aumentato” (piastrine >2.000x10 ⁹ /L)		
	NS		
	p<0,01 (piastrine>800x10 ⁹ /L)		

normale. Nei pazienti con PV, una scarsa tolleranza o una eccessiva frequenza di salassi (superiore a 1 salasso al mese) richiede l’introduzione del trattamento farmacologico. Infine, una progressione ematologica della malattia con comparsa o estensione della splenomegalia, della leucocitosi o dei sintomi sistemici come prurito, astenia, febbre o calo rappresenta una indicazione per la rivalutazione diagnostica di una possibile evoluzione in mielofibrosi (vedi par. 3.2.5) e per l’inizio della terapia citoriduttiva.

La paziente del nostro esempio, dopo un anno di follow-up, presenta piastrine 1.650.000/mmc con normalità di leucociti ed emoglobina. Ha ipermenorrea, diffuse ecchimosi agli arti e un recente episodio di epistassi. Lo studio del fattore von Willebrand dimostra un'attività misurata come vWF:RiCof di 25% con un pattern multimerico caratterizzato dalla carenza dei multimeri ad alto peso molecolare.

Scelta del farmaco citostatico di prima linea

Idrossiurea

Il farmaco citoriduttivo di prima linea è l'Idrossiurea (HU), un antimetabolita che inibisce la sintesi del DNA e che in studi di fase II e III ha dimostrato efficacia nella prevenzione secondaria o primaria di nuovi eventi vascolari nei gruppi ad alto rischio. Nella PV l'efficacia antitrombotica della HU è stata dimostrata in uno studio del PVSG che ha trattato 51 pazienti seguiti per una mediana di 8 anni, ma il timore che questo farmaco possa aumentare il rischio di leucemie ha generato grande cautela nel suo utilizzo nei giovani. Il reale rischio leucemogenico della sola HU è oggetto di grande dibattito poiché è difficile discernere se i rari casi documentati siano dipesi dal farmaco o siano il risultato di una evoluzione biologica intrinseca della malattia. Infatti casi di leucemia sono stati riportati anche in pazienti mai esposti a farmaci citotossici sia nella PV che nella TE. Per contro, vi è consenso nell'ammettere che la somministrazione sequenziale di farmaci alchilanti (busulfano, clorambucile) e di P32 conduca a un incremento della frequenza di leucemie.

Sulla scorta dei risultati di due trials clinici, l'European LeukemiaNet (ELN) ha confermato che HU è il farmaco di prima scelta anche nei pazienti con TE ad alto rischio cardiovascolare. Il primo trial è uno studio italiano che ha randomizzato pazienti con TE ad assumere HU o nessun trattamento citostatico. Nel braccio HU gli eventi cardiovascolari maggiori sono risultati 1,6% pazienti/anno contro 10% pazienti/anno nel gruppo non trattato. Il rischio di leucemia in questo gruppo seguito per molti anni era legato alla assunzione sequenziale di alchilanti e non sembrava accresciuto nel gruppo trattato con solo HU. Questo trial ha dimostrato che HU ha una attività antitrombotica nella TE ad alto rischio ma il sospetto che potesse aumentare il rischio di leucemia ha indotto ricercatori inglesi a un secondo trial che confrontava HU a Anagrelide, entrambe associate ad aspirina. In studi di fase II, Anagrelide aveva dimostrato efficacia nel ridurre il numero di piastrine nella trombocitemia ed era ritenuto privo di effetti leucemogenici. I risultati dello studio inglese hanno dimostrato che il trattamento con Anagrelide (+ aspirina) si associava a un aumento di trombosi arteriose, emorragie maggiori e trasformazioni in mielofibrosi, ma a una riduzione di trombosi venose. In aggiunta, anagrelide era meno ben tollerato di idrossiurea

e si associava a una maggiore frequenza di effetti collaterali cardiovascolari, gastrointestinali, neurologici e costituzionali. La trasformazione in leucemia acuta era comparabile tra i due gruppi di trattamento (4 anagrelide vs. 6 HU), ma il piccolo numero di eventi e il follow-up relativamente breve non hanno consentito conclusioni circa la leucemogenicità.

Interferone- α

L'interferone- α (IFN- α) è stato impiegato nella terapia della PV sulla base della sua attività antiproliferativa sulle cellule staminali emopoietiche e su alcune citochine coinvolte nell'emopoiesi. Gli studi pubblicati hanno incluso piccole serie di pazienti non controllate e hanno riportato risposte in circa il 50% dei pazienti per la riduzione dell'ematocrito a valori <45% senza necessità di salassi, nel 77% dei casi per la riduzione della splenomegalia e nel 75% per il controllo del prurito. I principali effetti collaterali sono stati una flu-like syndrome nella maggior parte dei pazienti nelle prime fasi della terapia, generalmente controllabile con paracetamolo, e una tossicità cronica in circa il 30% dei casi, caratterizzata da astenia, mialgia, perdita di peso o depressione severa, che richiede la sospensione del farmaco.

Una migliore tollerabilità ed efficacia è stata recentemente riportata per l'IFN- α peghilato, tanto che ELN ha suggerito di offrire come prima linea questo farmaco nei giovani con PV ad alto rischio. A sostegno vi sono attualmente dati che indicano una percentuale di risposte clinico-ematologiche complete secondo i criteri ELN intorno al 70-80% e in alcuni pazienti sono state ottenute risposte molecolari della mutazione di JAK2V617F quasi complete dopo due anni di trattamento. Questi importanti risultati da studi non controllati, ottenuti sia in Europa che negli Stati Uniti, hanno stimolato i ricercatori a disegnare studi prospettici randomizzati intesi a valutare l'efficacia e la sicurezza di questo farmaco sperimentale rispetto allo standard HU. Le incertezze di impiego di IFN- α nei casi singoli derivano non solo dalle limitate esperienze cliniche sia pur promettenti, ma anche dai costi di una terapia da fare per tutta la vita e dal profilo di tollerabilità e compliance del farmaco.

Le raccomandazioni per l'uso di Idrossiurea ed Interferone- α sono riportate in *Tabella 3.6* e i criteri di risposta al trattamento secondo l'European Leukemia Net nelle *Tabelle 3.7 e 3.8*.

Sulla base di queste osservazioni, la paziente del nostro esempio ha iniziato una terapia citostatica con Idrossiurea, alla dose iniziale di 1 g/die, con aggiustamenti della dose del farmaco in modo da raggiungere e mantenere la risposta secondo i criteri riportati e comunque tale da risolvere la diatesi emorragica e le alterazioni acquisite del fattore von Willebrand.

TABELLA 3.6 Raccomandazioni d'uso dei farmaci citostatici di prima linea nella PV e nella TE

Idrossiurea

La dose iniziale è 15-20 mg/kg al giorno fino all'ottenimento della risposta (vedi criteri riportati nelle tab. 3.7 e 3.8). Successivamente, somministrare una dose di mantenimento per mantenere la risposta senza ridurre i leucociti a valori $<2.500/\text{mmc}$. Controllare l'emocromo ogni 2 settimane per i primi 2 mesi e poi ridurre progressivamente la frequenza dei controlli.

Interferone- α

Il farmaco è controindicato nei pazienti con disordini mentali o tiroidei. Iniziare con una dose di 3 MU al giorno fino al raggiungimento della risposta (vedi criteri riportati nelle tab. 3.7 e 3.8); poi, aggiustare la terapia al dosaggio settimanale più basso che mantenga la risposta. Controllare l'emocromo ogni settimana durante il primo mese di terapia, ogni due settimane durante il secondo mese e poi ridurre progressivamente la frequenza dei controlli. L'interferone peghilato è somministrato alla dose iniziale di 0,5 microg/kg alla settimana. Nei pazienti che non rispondono dopo 12 settimane, aumentare la dose fino a 1 microg/kg alla settimana. Poi, aggiustare la terapia al dosaggio settimanale più basso che mantenga la risposta.

TABELLA 3.7 Gestione del follow-up nel paziente asintomatico con policitemia vera o trombocitemia essenziale

Grado di risposta	Definizione
Risposta completa	1. Ematocrito $<45\%$ senza salassi, e 2. Conta piastrinica $\leq 400 \times 10^9/\text{L}$, e 3. Conta leucocitaria $\leq 10 \times 10^9/\text{L}$, e 4. Normale volume splenico ad indagini strumentali, e 5. Assenza di sintomi correlati alla malattia*
Risposta parziale	In pazienti che non hanno raggiunto la risposta completa: 1. Ematocrito $<45\%$ senza salassi, o 2. Risposta in 3 o più degli altri criteri
Non Risposta	Ogni risposta che non soddisfa i criteri di risposta parziale

*Sintomi microvascolari, prurito, cefalea.

TABELLA 3.8 Definizione di risposta clinico-ematologica nella Trombocitemia Essenziale

Grado di Risposta	Definizione
Risposta completa	1. Conta piastrinica $\leq 400 \times 10^9/L$, e 2. Conta leucocitaria $\leq 10 \times 10^9/L$, e 3. Normale volume splenico ad indagini strumentali, e 4. Assenza di sintomi correlati alla malattia*
Risposta parziale	In pazienti che non hanno raggiunto la risposta completa: Conta piastrinica $\leq 600 \times 10^9/L$ o riduzione superiore al 50% del basale
Non risposta	Ogni risposta che non soddisfa i criteri di risposta parziale

**Sintomi microvascolari, prurito, cefalea.*

3.2.4 Terapia di seconda linea nel paziente con PV e TE

La gestione di un paziente con PV e TE che necessiti di terapia “di seconda linea” rappresenta a tutt’oggi un problema clinico di considerevole complessità, per la mancanza di indicazioni basate sulle evidenze circa la terapia convenzionale da un lato e per le possibilità offerte dai “nuovi” farmaci, che sono stati sperimentati sinora unicamente in questa categoria di pazienti, dall’altro. Per terapia di seconda linea, in questo capitolo, ci si intende riferire solamente al paziente che ha sviluppato una intolleranza o refrattarietà alla terapia di prima linea; l’altra possibilità, ovvero che un paziente trattato solo con salassi e aspirina (nel caso della PV) o sola osservazione/aspirina (nel caso della TE) necessiti di un cambiamento di terapia per inefficacia, o più raramente, per intolleranza alla salassoterapia non comporta scelte diverse da quelle normalmente contemplate per chi debba iniziare un trattamento di prima linea (pertanto si rimanda al capitolo 3.2.3).

Sebbene la maggior parte dei soggetti trattati con idrossiurea, il farmaco più comunemente utilizzato in prima linea, tolleri bene la terapia e mostri un’adeguata risposta relativamente al controllo dei parametri ematologici e dei sintomi, una piccola percentuale, stimabile attorno al 10%, sviluppa, in genere dopo un lungo tempo, intolleranza o refrattarietà al farmaco. La proporzione di soggetti trattati in prima linea con interferone che sviluppa intolleranza al farmaco è maggiore, stimabile attorno al 40-60% per le preparazioni convenzionali e 30-40% per quelle pegilate. Una consensus conference degli esperti del European Leukemia Net (ELN) ha identificato una serie di criteri per definire la refrattarietà o intolleranza alla idrossiurea; criteri

simili non esistono per quanto riguarda l'interferone, trattandosi solitamente di intolleranza manifesta e clinicamente rilevante.

La refrattarietà a idrossiurea viene considerata come l'incapacità di raggiungere gli obiettivi che corrispondono all'ottenimento di una soddisfacente risposta clinica con la massima dose del farmaco tollerata, includendo sia la tolleranza ematologica che quella extraematologica. L'intolleranza può manifestarsi con disturbi gastrointestinali (nausea, diarrea, crampi addominali), tossicità cutaneo-mucosa, manifestazioni polmonari o febbre. Si rimanda al Capitolo 3.2.3.

Non esistono chiare indicazioni per la scelta dei farmaci di "seconda linea" se non per quanto riguarda anagrelide. In Europa, anagrelide è infatti attualmente approvato come farmaco di seconda linea nel paziente con trombocitemia che sia refrattario o resistente a idrossiurea; d'altro canto, negli Stati Uniti anagrelide può essere utilizzato come farmaco di prima linea per il trattamento della trombocitosi associata a un disordine mieloproliferativo. Anagrelide è un derivato imidazo-quinazolinico, sviluppato inizialmente come un inibitore della funzione piastrinica, che ha una azione inibitoria selettiva a carico della linea megacariocitaria. La dose raccomandata è di 0,5 mg in quattro somministrazioni giornaliere, o 1 mg due volte al dì, con un ulteriore graduale incremento fino al raggiungimento del dosaggio ottimale per mantenere la conta piastrinica nei limiti voluti. Il meccanismo d'azione del farmaco non è ben conosciuto; è stato dimostrato che anagrelide inibisce selettivamente la produzione piastrinica da parte dei progenitori megacariocitari, con modestissimo effetto sulle altre linee cellulari. Ai dosaggi più elevati, anagrelide esercita anche un'azione di inibizione della funzione piastrinica, probabilmente alla base della maggiore incidenza di emorragie osservate nello studio PT-1, nel quale il farmaco era associato a basse dosi di aspirina. Pertanto, nella pratica clinica, l'uso combinato di anagrelide e aspirina deve essere riservato a casi ben selezionati.

Nello studio PT-1, che ha randomizzato 809 pazienti con trombocitemia essenziale ad alto rischio a ricevere idrossiurea o anagrelide si è osservata una minore efficacia di anagrelide nella prevenzione degli eventi trombotici arteriosi ($P=0,008$) e al contrario una maggior efficacia nei confronti delle trombosi venose ($P=0,006$). Idrossiurea risultava anche maggiormente efficace nella riduzione del rischio di trasformazione mielofibrotica. Un recente studio di non-inferiorità verso idrossiurea, fino al momento riportato solo in forma di abstract, ha invece mostrato un vantaggio globale di anagrelide nella prevenzione degli eventi trombotici. Il farmaco è generalmente ben tollerato. Gli effetti collaterali, che devono essere in larga misura attribuiti all'effetto di inibizione della fosfodiesterasi III, sono rappresentati da palpitazioni, cefalea, ritenzione di liquidi; tendono in genere a ridursi o scomparire con la continua

assunzione del farmaco, e solo raramente sono causa di sospensione del trattamento. Alcuni soggetti possono mostrare, con il tempo, una riduzione progressiva dei livelli di emoglobina, generalmente non di rilevanza clinica. Anagrelide è considerato come non mutageno e non leucemogeno, ma è consigliabile l'astensione dal farmaco in caso di una gravidanza programmata.

Farmaci citotossici di seconda linea sono il Busulfano, un alchilante utilizzato a dosaggi di 2-4 mg giornalieri, generalmente efficace nel controllo dei valori ematologici e ben tollerato; il suo potenziale leucemogeno è probabilmente modesto se utilizzato da solo, ma l'uso combinato o sequenziale con altri citotossici, inclusi idrossiurea, comporta un aumento significativo delle trasformazioni leucemiche; il Pipobromano, derivato piperazिनico strutturalmente simile a un alchilante che agisce come inibitore competitivo delle pirimidine. La dose iniziale del farmaco è di 1mg/kg/die, mentre per il mantenimento si utilizzano dosi fino a 1/3 inferiori. Il farmaco è stato largamente utilizzato con buona efficacia e tollerabilità, ma un recente studio francese, che ha retrospettivamente analizzato i dati di 285 pazienti trattati con pipobromano o idrossiurea, ha riscontrato un significativo aumento della trasformazione in leucemia acuta o mielodisplasia pari al 52% a 20 anni contro il 24% della idrossiurea; d'altro canto, il pipobromano è risultato più efficace nel prevenire l'evoluzione a mielofibrosi (21% versus 32% della idrossiurea a 20 anni). Oramai poco utilizzato è il Fosforo 32 radioattivo, il cui uso era stato inizialmente valutato in uno studio del PVSG, che aveva anche dimostrato un incremento del rischio di trasformazione leucemica.

In conclusione, quindi, secondo le raccomandazioni del gruppo di esperti del ELN: *“La terapia di seconda linea nel paziente con PV resistente o intollerante a idrossiurea è rappresentata da interferone- α , mentre idrossiurea rappresenta il farmaco di seconda scelta per chi sia stato trattato in prima linea con interferone- α . Pipobromano, busulfano e 32P sono riservati a pazienti anziani con PV e breve aspettativa di vita.*

Anagrelide è il farmaco raccomandato in seconda linea nel paziente con trombocitemia essenziale, mentre interferone- α è da considerarsi come terapia sperimentale da riservarsi a pochi soggetti giovani, particolarmente di sesso femminile, con controindicazioni alla terapia con anagrelide. Pipobromano, busulfano e 32P sono riservati a pazienti anziani con TE e breve aspettativa di vita”.

3.2.5 Il paziente con policitemia vera e con trombocitemia in trasformazione mielofibrotica

La trombocitemia essenziale (TE) e la policitemia vera (PV) possono trasformarsi

progressivamente in mielofibrosi, chiamata mielofibrosi post-TE (MF post-TE) e mielofibrosi post-PV (MF post-PV), rispettivamente. La trasformazione in mielofibrosi è un fenomeno progressivo cioè si svolge lentamente nel tempo e prevede l'aumento delle dimensioni della milza, la riduzione del valore di emoglobina e la comparsa di sintomatologia sistemica. L'evoluzione in mielofibrosi è un evento tardivo. Uno studio condotto su 831 pazienti con PV e con TE ha stimato l'incidenza di evoluzione in mielofibrosi pari a 5,1 x 1.000 pazienti anno nella PV e 1,6 x 1.000 pazienti anno nella TE.

Criteri diagnostici

Negli ultimi anni sono stati definiti i criteri per la diagnosi delle due condizioni grazie all'International Working Group on Myeloproliferative Neoplasms (IWG-MRT). La diagnosi di MF post-PV (*Tabella 3.9*) richiede una pregressa diagnosi di PV sulla base dei criteri World Health Organization (WHO) e la presenza di fibrosi midollare di almeno grado II (criteri europei) alla biopsia osteomidollare. Come criteri addizionali, il paziente deve presentare due tra i seguenti: anemizzazione o controllo dell'eritrocitosi senza più salassi o senza necessità di alcuna chemioterapia; la presenza di progenitori eritroidi e mieloidi circolanti allo striscio di sangue periferico; un incremento dimensionale della milza; la comparsa di sintomatologia sistemica come febbre, calo ponderale o sudorazioni notturne.

La diagnosi di MF post-TE, i cui criteri sono sintetizzati nella *Tabella 3.10*, richiede la pregressa diagnosi di TE in accordo ai criteri WHO, e la presenza di fibrosi midollare di grado II alla biopsia osteomidollare quali criteri principali. Tra i criteri opzionali, devono essere presenti almeno due: anemizzazione definita come un valore di emoglobina inferiore al range di normalità corretto per età e sesso, oppure un calo dell'emoglobina di almeno 2g/dL dalla diagnosi; la presenza di progenitori eritroidi e mieloidi circolanti allo striscio di sangue periferico; l'incremento dimensionale della milza; l'elevato valore di LDH; la comparsa di sintomi sistemici come febbre, calo ponderale o sudorazioni notturne.

Quando sospettare l'evoluzione

Il contesto clinico dell'evoluzione è la comparsa di anemizzazione progressiva, l'incremento delle dimensioni della milza e la presenza di screezio mieloide ed eritroidi con dacriociti allo striscio di sangue periferico. In questi casi è indicato effettuare la biopsia osteomidollare.

Seppur l'incremento delle cellule CD34+ circolanti sia un parametro tipico delle fasi evolutive, non può essere considerato diagnostico.

TABELLA 3.9 Criteri per la diagnosi di mielofibrosi post-policitemia vera**Criteri necessari:**

- Diagnosi di policitemia vera (WHO)
- Fibrosi midollare di grado II

Criteri addizionali (due tra i seguenti):

- Anemia, perdita della necessità di salassi o chemioterapia per controllare l'eritrocitosi
- Screzio leucoeritroblastico
- Incremento della splenomegalia di 5 cm dall'arcata costale o comparsa di nuova splenomegalia
- Presenza di almeno uno dei tre sintomi costituzionali (calo del 10% del peso corporeo in sei mesi; sudorazioni notturne, febbre $>37,5^{\circ}$ senza altre cause)

TABELLA 3.10 Criteri per la diagnosi di mielofibrosi post-trombocitemia essenziale**Criteri necessari:**

- Diagnosi di trombocitemia essenziale (WHO)
- Fibrosi midollare di grado II

Criteri addizionali (due tra i seguenti):

- Anemia; calo di almeno 2 gr/dL dal valore baseline di emoglobina
- Screzio leucoeritroblastico
- Incremento della splenomegalia di 5 cm dall'arcata costale o comparsa di nuova splenomegalia
- Incremento latticodeidrogenasi (LDH)
- Presenza di almeno uno dei tre sintomi costituzionali (calo del 10% del peso corporeo in sei mesi; sudorazioni notturne, febbre $>37,5^{\circ}$ senza altre cause)

Prognosi

In una coorte di 647 pazienti con PV è stato dimostrato che la prognosi di un paziente con PV che sviluppa la mielofibrosi si aggrava rispetto a quella di un paziente che rimane in fase cronica senza evolvere. L'unico modello prognostico generato in pazienti con MF post-PV è uno score dinamico costruito su 68 pazienti con MF post-PV basato su tre fattori a impatto prognostico negativo: emoglobina minore di 10 g/dL, leucociti superiori a $30 \times 10^9/L$, e piastrine inferiori a $100 \times 10^9/L$. Questo modello offre il vantaggio di una determinazione dinamica della sopravvivenza, cioè

ogniqualevolta si osserva un paziente in ambulatorio si può definirne la sopravvivenza. Se il paziente mantiene nel tempo un valore di emoglobina superiore a 10 g/dL, leucociti inferiori a $30 \times 10^9/L$ e piastrine superiori a $100 \times 10^9/L$, la sua prognosi è buona con un'aspettativa di vita lunga; se acquisisce uno, due o tutti tre i fattori di rischio, la categoria di rischio passa a intermedio-1, intermedio-2 o alto rischio e quindi la prognosi gradualmente peggiora.

Come alternativa a questo modello prognostico sono stati impiegati, soprattutto nei recenti trial clinici con nuovi farmaci anti-JAK2, i modelli prognostici generati nella mielofibrosi primaria. Tra questi, è raccomandabile utilizzare il modello all'esordio IPSS (International Prognostic Scoring System) e la sua formulazione dinamica (Dynamic IPSS, DIPSS). Entrambi i modelli considerano cinque fattori di rischio: età maggiore di 65 anni, emoglobina inferiore a 10 g/dL, leucociti superiori a $25 \times 10^9/L$, blasti circolanti uguali o maggiori dell'1%, presenza di sintomi sistemici. I cinque fattori vengono combinati con punteggi differenti nei due modelli (*Tabella 3.11*). Si definiscono quattro categorie di rischio nell'IPSS: basso rischio (0 fattori, 22% dei pazienti, sopravvivenza media pari a 135 mesi); intermedio-1 (1 fattore, 29% dei pazienti, sopravvivenza media pari a 95 mesi); intermedio-2 (2 fattori, 28% dei pazienti, sopravvivenza media pari a 48 mesi); alto rischio (uguale o maggiore di 3 fattori, 21% dei pazienti, sopravvivenza media pari a 27 mesi). Per quanto riguarda il DIPSS si generano quattro categorie di rischio: basso rischio (0 punti, sopravvivenza mediana non raggiunta); intermedio-1 (1-2 punti, sopravvivenza mediana pari a 14,2 anni); intermedio-2 (3-4 punti, sopravvivenza mediana pari a 4 anni); alto rischio (5-6 punti, sopravvivenza mediana pari a 1,5 anni).

Terapia

Non esiste una raccomandazione terapeutica specifica per i pazienti in fase mielofibrotica di PV o TE. Si rimanda quindi ai capitoli riguardanti la terapia convenzionale e l'opzione trapiantologica della mielofibrosi primaria. Alle raccomandazioni si possono solamente aggiungere due commenti. I pazienti con MF post-PV o con MF post-TE sono usualmente anziani e quasi tutti hanno effettuato terapia citoriduttrice per un periodo di tempo variabile, ma usualmente superiore a 10 anni. In questi casi la valutazione del profilo di comorbidità deve accompagnare obbligatoriamente la scelta terapeutica. Se si considerano i trial clinici con JAK2 inibitori, si osserva che questa opzione è stata offerta anche ai pazienti con MF secondaria (circa il 25-30% della casistica) con una rate di risposta non differente rispetto ai pazienti con mielofibrosi primaria.

TABELLA 3.11

Punteggio del modello IPSS (International Prognostic Scoring System) alla diagnosi e del modello dinamico DIPSS (Dynamic International Prognostic scoring system) per predire la sopravvivenza

Parametri	Score	
	IPSS	DIPSS
Età >65 anni	1	1
Emoglobina <10 g/dL	1	2
Leucociti >25 x10 ⁹ /L	1	1
Blasti ≥1%	1	1
Sintomi costituzionali	1	1

KEY POINTS

- L'evoluzione della policitemia vera e delle trombocitemia essenziale in mielofibrosi è un evento tardivo e raro
- La diagnosi di evoluzione in mielofibrosi si basa sui criteri IWG-MRT
- La prognosi è attualmente definita applicando modelli IPSS e DIPSS
- La terapia delle forme secondarie è la stessa delle forme primarie, ma il profilo di comorbidità assume un ruolo critico

BIBLIOGRAFIA

- Abgrall JF, Guibaud I, Bastie JN, et al (2006) Thalidomide versus placebo in myeloid metaplasia with myelofibrosis: a prospective, randomized, double-blind, multicenter study. *Haematologica* 91(8):1027-32.
- Alvarez-Larrán A, Abalde JG, Cervantes F, et al (2005) Portal hypertension secondary to myelofibrosis: a study of three cases. *Am J Gastroenterol* 100(10):2355-8.
- Bacigalupo A, Soraru M, Dominietto A, et al (2010) Allogeneic hemopoietic SCT for patients with primary myelofibrosis: a predictive transplant score based on transfusion requirement, spleen size and donor type. *Bone Marrow Transplant* 45(3):458-63.
- Ballen KK, Shrestha S, Sobocinski KA, et al (2010) Outcome of transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant* 16(3):358-67.
- Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al (2011) Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 29(6):761-70.
- Barbui T, Carobbio A, Rambaldi A, et al (2009) Perspectives on thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: is leukocytosis a causative factor? *Blood* 114(4):759-63.
- Barbui T, Finazzi G (2005) When and how to treat essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 353(1):85-6.
- Barosi G, Ambrosetti A, Centra A, et al (1998) Splenectomy and risk of blast transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. Italian Cooperative Study Group on Myeloid with Myeloid Metaplasia. *Blood* 91(10):3630-6.
- Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M, et al (2007) JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. *Blood* 110(12):4030-6.
- Barosi G, Besses C, Birgegard G, et al (2007) A unified definition of clinical resistance/intolerance to hydroxyurea in essential thrombocythemia: results of a consensus process by an international working group. *Leukemia* 21(2):277-80.
- Barosi G, Birgegard G, Finazzi G et al (2009) Response criteria for essential thrombocythemia and polycythemia vera: result of a European LeukemiaNet consensus conference. *Blood* 113(20):4829-33.
- Barosi G, Birgegard G, Finazzi G et al (2010) A unified definition of clinical resistance and intolerance to hydroxycarbamide in polycythemia vera and primary myelofibrosis: results of a European LeukemiaNet (ELN) consensus process. *Br J Haematol* 148(6):961-3.

- Barosi G, Elliott M, Canepa L, et al (2002) Thalidomide in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a pooled-analysis of individual patient data from 5 studies. *Leuk Lymphoma* 43(12):2301-7.
- Barosi G, Mesa RA, Thiele J, et al (2008) Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Leukemia* 22(2):437-8.
- Beer PA, Delhommeau F, LeCoudeic JP, et al (2010) Two routes to leukemic transformation after a JAK2 mutation-positive myeloproliferative neoplasm. *Blood* 115(14): 2891-900.
- Begna KH, Mesa RA, Pardanani A, et al (2011) A phase-2 trial of low-dose pomalidomide in myelofibrosis. *Leukemia* 25(2):301-4.
- Birgegard G (2009) Long-term management of thrombocytosis in essential thrombocythaemia. *Ann Hematol* 88(1):1-10.
- Bjorkholm M, Derolf AR, Hultcrantz M, et al (2011) Treatment-Related Risk Factors for Transformation to Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes in Myeloproliferative Neoplasms. *J Clin Oncol* 29(17):2410-5.
- Blendis LM, Banks DC, Ramboer C, et al (1970) Spleen blood flow and splanchnic haemodynamics in blood dyscrasia and other splenomegalies. *Clin Sci* 38(1):73-84.
- Campbell PJ, Baxter EJ, Beer PA, et al. (2006) Mutation of JAK2 in the myeloproliferative disorders: timing, clonality studies, cytogenetic associations, and role in leukemic transformation. *Blood* 108(10): 3548-55.
- Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, et al (2008) Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood* 112(8):3135-7.
- Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, et al (2007) Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood* 109(6):2310-3.
- Cervantes F, Alvarez-Larran A, Domingo A, et al (2005) Efficacy and tolerability of danazol as a treatment for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: long-term results in 30 patients. *Br J Haematol* 129(6):771-5.
- Cervantes F, Alvarez-Larran A, Hernandez-Boluda JC, et al (2004) Erythropoietin treatment of the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: results in 20 patients and review of the literature. *Br J Haematol* 127(4):399-403.
- Cervantes F, Alvarez-Larran A, Hernandez-Boluda JC, et al (2006) Darbepoetin-alpha for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 134(2):184-6.

- Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al (2009) New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 113(13):2895-901.
- Cervantes F, Passamonti F, Barosi G (2008) Life expectancy and prognostic factors in the classic BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Leukemia* 22(5):905-14.
- Chee L, Kalnins R, Turner P (2006) Low dose melphalan in the treatment of myelofibrosis: a single centre experience. *Leuk Lymphoma* 47(7):1409-12.
- Cirera I, Elizalde JI, Piqué JM, et al (1997) Anemia worsens hyperdynamic circulation of patients with cirrhosis and portal hypertension. *Dig Dis Sci* 42(8):1697-702.
- Ciurea SO, de Lima M, Giralt S, et al (2010) Allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis with leukemic transformation. *Biol Blood Marrow Transplant* 16(4):555-9.
- Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, et al (1995) Hydroxyurea in the treatment of patients with essential thrombocythemia at high risk of thrombosis: a prospective randomized trial. *N Engl J Med* 332(17):1132-6.
- Cortelazzo S, Marchetti M, Orlando E, et al (1998) Aspirin increases the bleeding side effects in essential thrombocythemia independent of the cyclooxygenase pathway: role of the lipoxygenase pathway. *Am J Hematol* 57(4):277-82.
- Dahabreh IJ, Zoi K, Giannouli S, et al (2009) Is JAK2 V617F mutation more than a diagnostic index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocythemia. *Leuk Res* 33(1):67-73.
- De Franchis R (2005) Evolving consensus in portal hypertension: report of the Baveno IV Consensus Workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 43(1):167-76.
- Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al (2009) Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med* 360(22):2289-301.
- De Sanctis V, Mazzucconi MG, Spadea A, et al (2003) Long-term evaluation of 164 patients with essential thrombocythaemia treated with pipobroman: occurrence of leukaemic evolution. *Br J Haematol* 123(3):517-21.
- De Stefano V, Za T, Rossi E, et al (2010) Increased risk of recurrent thrombosis in patients with essential thrombocythemia carrying the homozygous JAK2 V617F mutation. *Ann Hematol* 89(2):141-6.
- Dubois A, Dauzat M, Pignodel C, et al (1993) Portal hypertension in lymphoproliferative and myeloproliferative disorders: hemodynamic and histological correlations. *Hepatology* 17(2):246-50.

- Dupriez B, Morel P, Demory JL, et al (1996) Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 195 cases with a new scoring system. *Blood* 88(3):1013-8.
- Elliott MA, Chen MG, Silverstein MN, et al (1998) Splenic irradiation for symptomatic splenomegaly associated with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 103(2):505-11.
- Emadi A, Spivak JL (2009) Anagrelide: 20 years later. *Expert Rev Anticancer Ther* 9(1):37-50.
- Escartín Marin P, Arenas Mirave JJ, Boixeda D, et al (1977) Hemodynamic study of the portal system in 6 cases of myeloid metaplasia. *Rev Clin Esp* 145(4):271-3.
- Faoro LN, Tefferi A, Mesa RA (2005) Long-term analysis of the palliative benefit of 2-chlorodeoxyadenosine for myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Eur J Haematol* 74(2):117-20.
- Finazzi G, Barbui T (2007) How I treat patients with polycythemia vera. *Blood* 109(12):5104-11.
- Finazzi G, Barbui T (2008) Evidence and expertise in the management of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Leukemia* 22(8):1494-502.
- Finazzi G, Caruso V, Marchioli R, et al (2005) Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study. *Blood* 105(7):2664-70.
- Fruchtman SM, Mach K, Kaplan ME, et al (1997) From efficacy to safety: a Polycythemia Vera Study Group report on hydroxyurea in patients with polycythemia vera. *Semin Hematol* 34(1):17-23.
- Gangat N, Wolanskyj AP, Schwager SM, et al (2009) Leukocytosis at diagnosis and the risk of subsequent thrombosis in patients with low-risk essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Cancer* 115(24):5740-5.
- Ghidirim G, Corchmaru I, Mishin I et al (2006) Endoscopic rubber band ligation for bleeding oesophageal varices in portal hypertension due to idiopathic myelofibrosis. *J Gastrointest Liver Dis* 15(3):322.
- Gisslinger H, Mullner M, Pabinger I, et al (2005) Mutation of the prothrombin gene and thrombotic events in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia: a cohort study. *Haematologica* 90(3):408-10.
- Goh BK, Chen JJ, Tan HK, et al (2007) Acute variceal bleed in a patient with idiopathic myelofibrosis successfully treated with endoscopic variceal band ligation. *Dig Dis Sci* 52(1):173-5.
- Green A, Beer P (2010) Somatic mutations of IDH1 and IDH2 in the leukemic transformation of myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 362(4):369-70.

- Guglielmelli P, Barosi G, Specchia G, et al (2009) Identification of patients with poorer survival in primary myelofibrosis based on the burden of JAK2V617F mutated allele. *Blood* 114(8):1477-83.
- Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, et al (2005) Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 353(1):33-45.
- Harutyunyan A, Klampfl T, Cazzola M, et al (2011) p53 Lesions in Leukemic Transformation. *N Engl J Med* 364(5):488-90.
- Hasselbalch HC (2009) Myelofibrosis with myeloid metaplasia. The advanced phase of an untreated disseminated hematological cancer: time to change our therapeutic attitude with early upfront treatment? *Leuk Res* 33(1):11-8.
- Hou MC, Lin HC, Kuo BI et al (1995) Comparison of endoscopic variceal injection sclerotherapy and ligation for the treatment of esophageal variceal hemorrhage: a prospective randomized trial. *Hepatology* 21(6):1517-22.
- Hua R, Cao H, Wu ZY (2006) Effects of hemoglobin concentration on hyperdynamic circulation associated with portal hypertension. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 5(2):215-8.
- Huang J, Li CY, Mesa RA, et al (2008) Risk factors for leukemic transformation in patients with primary myelofibrosis. *Cancer* 112(12):2726-32.
- Huang J, Tefferi A (2009) Erythropoiesis stimulating agents have limited therapeutic activity in transfusion-dependent patients with primary myelofibrosis regardless of serum erythropoietin level. *Eur J Haematol* 83(2):154-5.
- Ianotto JC, Kiladjian JJ, Demory JL, et al (2009) PEG-IFN-alpha-2a therapy in patients with myelofibrosis: a study of the French Groupe d'Etudes des Myelofibroses (GEM) and France intergroupe des syndromes Myéloprolifératifs (FIM). *Br J Haematol* 146(2):223-5.
- Jabbour E, Kantarjian H, Cortes J, et al (2007) PEG-IFN-alpha-2b therapy in BCR-ABL-negative myeloproliferative disorders: final result of a phase 2 study. *Cancer* 110(9):2012-8.
- Jamal R, Belisle C, Lessard MC, et al (2008) Evidence suggesting the presence of a stem cell clone anteceding the acquisition of the JAK2-V617F mutation. *Leukemia* 22(7):1472-4.
- Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, et al (2008) Pegylated interferon alpha-2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood* 112(8):3065-72.
- Kiladjian JJ, Cassinat B, Turlure P, et al. (2006) High molecular response rate of polycythemia vera patients treated with pegylated interferon alpha-2a. *Blood* 108(6):2037-40.

- Kiladjan JJ, Chomienne C, Fenaux P (2008) Interferon-alpha therapy in bcr-abl-negative myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 22(11):1990-8.
- Kiladjan JJ, Rain JD, Bernard JF, et al (2006) Long-term incidence of hematological evolution in three French prospective studies of hydroxyurea and pipobroman in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 32(4 Pt 2):417-21.
- Klampfl T, Harutyunyan A, Berg T, et al (2011) Genome integrity of myeloproliferative neoplasms in chronic phase and during disease progression. *Blood* 118(1):167-76.
- Kralovics R, Stockton DW, Prchal JT (2003) Clonal hematopoiesis in familial polycythemia vera suggests the involvement of multiple mutational events in the early pathogenesis of the disease. *Blood* 102(10):3793-6.
- Kralovics R, Teo SS, Li S, et al. (2006) Acquisition of the V617F mutation of JAK2 is a late genetic event in a subset of patients with myeloproliferative disorders. *Blood* 108(4):1377-80.
- Kröger N, Holler E, Kobbe G, et al (2009) Allogeneic stem cell transplantation after reduced-intensity conditioning in patients with myelofibrosis: a prospective, multicenter study of the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 114(26):5264-70.
- Landgren O, Goldin LR, Kristinsson SY, et al (2008) Increased risks of polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myelofibrosis among 24577 first-degree relatives of 11039 patients with myeloproliferative neoplasms in Sweden. *Blood* 112(6):2199-204.
- Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al (2007) Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 109(6):2446-52.
- Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, et al (2004) Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 350(2):114-24.
- Leitch HA, Chase JM, Goodman TA, et al (2010) Improved survival in red blood cell transfusion dependent patients with primary myelofibrosis (PMF) receiving iron chelation therapy. *Hematol Oncol* 28(1):40-8.
- Levine RL, Belisle C, Wadleigh M, et al (2006) X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617F assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. *Blood* 107(10):4139-41.
- Li S, Kralovics R, De Libero G, et al (2008) Clonal heterogeneity in polycythemia vera patients with JAK2 exon12 and JAK2-V617F mutations. *Blood* 111(7):3863-6.

- Lu M, Zhang W, Li Y, et al (2010) Interferon-alpha targets JAK2F617F-positive hematopoietic progenitor cells and acts through the p38 MAPK pathway. *Exp Hematol* 38(6):472-80.
- Lukie BE, Card RT (1977) Portal hypertension complicating myelofibrosis: reversal following splenectomy. *Can Med Assoc J* 117(7):771-2.
- Lussana F, Caberlon S, Pagani C, et al (2009) Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis: A systematic review. *Thromb Res* 124(4):409-17.
- Marchetti M, Barosi G, Balestri F, et al (2004) Low-dose thalidomide ameliorates cytopenias and splenomegaly in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a phase II trial. *J Clin Oncol* 22(3):424-31.
- Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, et al (2005) Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol* 23(10):2224-32.
- Mazur EM, Rosmarin AG, Sohl PA, et al (1992). Analysis of the mechanism of anagrelide-induced thrombocytopenia in humans. *Blood* 79(8):1931-7.
- Merup M, Kutti J, Birgerard G, et al (2002) Negligible clinical effects of thalidomide in patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Med Oncol* 19(2):79-86.
- Mesa RA, Nagorney DS, Schwager S, et al (2006) Palliative goals, patient selection, and perioperative platelet management: outcomes and lessons from 3 decades of splenectomy for myelofibrosis with myeloid metaplasia at the Mayo Clinic. *Cancer* 107(2):361-70.
- Mesa RA, Pardanani AD, Hussein K, et al (2010) Phase1/-2 study of Pomalidomide in myelofibrosis. *Am J Hematol* 85(2):129-30.
- Mesa RA, Steensma DP, Pardanani A, et al (2003) A phase II trial of combination low-dose thalidomide and prednisone for the treatment of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 101(7):2534-41.
- Mesa RA, Yao X, Cripe LD, et al (2010) Lenalidomide and prednisone for myelofibrosis: Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) phase-2 trial E4903. *Blood* 116(22):4436-8.
- Najean Y, Rain JD (1997) Treatment of polycythemia vera: the use of hydroxyurea and pipobroman in 292 patients under the age of 65 years. *Blood* 90(9):3370-7.
- Najean Y, Rain JD (1997) 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* 89(7):2319-27.
- Nikolaidis N, Giouleme O, Sileli M, et al (2004) Endoscopic variceal ligation for portal hypertension due to myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Eur J Haematol* 72(5):379-80.

- No author listed (1992) Anagrelide, a therapy for thrombocythemic states: experience in 577 patients. Anagrelide Study Group. *Am J Med* 92(1):69-76.
- Nussenzveig RH, Swierczek SI, Jelinek J, et al (2007) Polycythemia vera is not initiated by JAK2V617F mutation. *Exp Hematol* 35(1):32-8.
- Pardanani A, Brown P, Neben-Wittich M, et al (2010) Effective management of accelerated phase myelofibrosis with low-dose splenic radiotherapy. *American Journal of Hematology* 85(9):715-6.
- Pardanani A, Gotlib JR, Jamieson C, et al (2011) Safety and efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *J Clin Oncol* 29(7):789-96.
- Pardanani A, Lasho TL, Finke CM, et al (2010) IDH1 and IDH2 mutation analysis in chronic- and blast-phase myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 24(6):1146-51.
- Pardanani A, Vannucchi AM, Passamonti F (2011) JAK inhibitor therapy for myelofibrosis: critical assessment of value and limitations. *Leukemia* 25(2):218-25.
- Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, et al (2010) Dynamic International Prognostic Scoring System (DIPSS) predicts progression to acute myeloid leukemia in primary myelofibrosis. *Blood* 116(15):2857-8.
- Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, et al (2005) Leukemic transformation of polycythemia vera: a single center study of 23 patients. *Cancer* 104(5):1032-6.
- Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, et al (2008) Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica* 93(11):1645-51.
- Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, et al (2009) Blast phase of essential thrombocythemia: A single center study. *Am J Hematol* 84(10):641-4.
- Passamonti F, Rumi E, Caramella M, et al (2008) A dynamic prognostic model to predict survival in post-polycythemia vera myelofibrosis. *Blood* 111(7):3383-7.
- Passamonti F, Rumi E, Malabarba L, et al (2004) Long-term follow-up of young patients with essential thrombocythemia treated with pipobroman. *Ann Hematol* 83(8):495-7.
- Passamonti F, Rumi E, Pietra D, et al (2010) A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of JAK2 (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia* 24(9):1574-9.
- Passamonti F, Rumi E, Pungolino E, et al (2004) Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med* 117(10):755-61.
- Passamonti F, Vanelli L, Malabarba L, et al (2003) Clinical utility of the absolute number of circulating CD34-positive cells in patients with chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica* 88(10):1123-9.

- Patriarca F, Bacigalupo A, Sperotto A, et al (2008) Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in myelofibrosis: the 20-year experience of the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO). *Haematologica* 93(10):1514-22.
- Petti MC, Latagliata R, Spadea T, et al (2002) Melfalan treatment in patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 116(3):576-81.
- Pizcueta MP, Piqué JM, Bosch J et al (1992) Effects of inhibiting nitric oxide biosynthesis on the systemic and splanchnic circulation of rats with portal hypertension. *Br J Pharmacol* 105(1):184-90.
- Pizcueta P, Piqué JM, Fernández M, et al (1992) Modulation of the hyperdynamic circulation of cirrhotic rats by nitric oxide inhibition. *Gastroenterology* 103(6):1909-15.
- Plo I, Nakatake M, Malivert L, et al (2008) JAK2 stimulates homologous recombination and genetic instability: potential implication in the heterogeneity of myeloproliferative disorders. *Blood* 112(4):1402-12.
- Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Manshouri T, et al (2009) Lenalidomide Plus Prednisone Results in Durable Clinical, Histopathologic, and Molecular Responses in Patients With Myelofibrosis. *J Clin Oncol* 27(28):4760-6.
- Quintas-Cardama A, Kantarjian H, Manshouri T, et al (2009) Pegylated interferon alpha-2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. *J Clin Oncol* 27(32):5418-24.
- Randi ML, Ruzzon E, Tezza F, et al (2005) Toxicity and side effects of hydroxyurea used for primary thrombocythemia. *Platelets* 16(3-4):181-4.
- Riesterer O, Gmür J, Lütolf U (2008) Repeated and preemptive palliative radiotherapy of symptomatic hepatomegaly in a patient with advanced myelofibrosis. *Onkologie* 31(6):325-7.
- Rosenbaum DL, Murphy GW, Swisher SN (1966) Hemodynamic studies of the portal circulation in myeloid metaplasia. *Am J Med* 41(3):360-8.
- Shaldon S, Sherlock S (1962) Portal hypertension in the myeloproliferative syndrome and the reticuloses. *Am J Med* 32:758-64.
- Shimoda K, Shide K, Kamezaki K, et al (2007) The effect of anabolic steroids on anemia in myelofibrosis with myeloid metaplasia: retrospective analysis of 39 patients in Japan. *Int J Hematol* 85(4):338-43.
- Sikuler E, Kravetz D, Groszmann RJ (1985) Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model. *Am J Physiol* 248(6 Pt 1):G618-25.

- Silver RT, Vandris K (2009) Recombinant interferon alpha (rIFN α -2b) may retard progression of early primary myelofibrosis [letter]. *Leukemia* 23(7):1366-9.
- Silver RT, Vandris K, Goldman JJ (2011) Recombinant interferon-alpha may retard progression of early primary myelofibrosis: a preliminary report. *Blood* 117(24):6669-72.
- Silverstein MN, Petitt RM, Solberg LA, et al (1988) Anagrelide: a new drug for treating thrombocytosis. *N Engl J Med* 318(20):1292-4.
- Silverstein MN, Wollaeger EE, Baggenstoss AH (1973) Gastrointestinal and abdominal manifestations of agnogenic myeloid metaplasia. *Arch Intern Med* 131(4):532-7.
- Sirhan S, Lasho TL, Hanson CA, et al (2008) The presence of JAK2V617F in primary myelofibrosis or its allele burden in polycythemia vera predicts chemosensitivity to hydroxyurea. *Am J Hematol* 83(5):363-5.
- Solberg LA Jr, Tefferi A, Oles KJ, et al (1997) The effects of anagrelide on human megakaryocytopoiesis. *Br J Haematol* 99(1):174-80.
- Storen EC, Tefferi A (2001) Long-term use of anagrelide in young patients with essential thrombocythemia. *Blood* 97(4):863-6.
- Takasaki M, Takahashi I, Takamatsu M, et al (1996) Endoscopic injection sclerotherapy for esophageal variceal hemorrhage in a patient with idiopathic myelofibrosis. *J Gastroenterol* 31(2):260-2.
- Tam CS, Kantarjian H, Cortes J, et al (2009) Dynamic Model for Predicting Death Within 12 Months in Patients With Primary or Post-Polycythemia Vera/Essential Thrombocythemia Myelofibrosis. *J Clin Oncol* 27(33):5587-93.
- Tefferi A, Cortes J, Verstovsek S, et al (2006) Lenalidomide therapy in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 108(4):1158-64.
- Tefferi A, Jiménez T, Gray LA, et al (2001) Radiation therapy for symptomatic hepatomegaly in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Eur J Haematol* 66(1):37-42.
- Tefferi A, Lasho TL, Abdel-Wahab O, et al (2010) IDH1 and IDH2 mutation studies in 1473 patients with chronic-, fibrotic- or blast-phase essential thrombocythemia, polycythemia vera or myelofibrosis. *Leukemia* 24(7):1302-9.
- Tefferi A, Lasho TL, Huang J, et al (2008) Low JAK2V617F allele burden in primary myelofibrosis, compared to either a higher allele burden or unmutated status, is associated with inferior overall and leukemia-free survival. *Leukemia* 22(4):756-61.
- Tefferi A, Mesa RA, Pardanani A, et al (2009) Red blood cell transfusion need at diagnosis adversely affects survival in primary myelofibrosis-increased serum ferritin or transfusion load does not. *Am J Hematol* 84(5):265-7.

- Tefferi A, Silverstein MN, Petitt RM, et al (1997) Anagrelide as a new platelet lowering agent in essential thrombocythemia: mechanism of action, efficacy, toxicity, current indications. *Semin Thromb Hemost* 23(4):379-83.
- Tefferi A, Strand JJ, Lasho TL, et al (2006) Respective clustering of unfavorable and favorable cytogenetic clones in myelofibrosis with myeloid metaplasia with homozygosity for JAK2(V617F) and response to erythropoietin therapy. *Cancer* 106(8):1739-43.
- Tefferi A, Thiele J, Orazi A, et al (2007) Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 110(4):1092-7.
- Tefferi A, Vardiman JW (2008) Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 22(1):14-22.
- Tefferi A, Vainchenker W (2011) Myeloproliferative neoplasms: molecular pathophysiology, essential clinical understanding, and treatment strategies. *J Clin Oncol* 29(5):573-82.
- Tefferi A, Verstovsek S, Barosi G, et al (2009) Pomalidomide is active in the treatment of anemia associated with myelofibrosis. *J Clin Oncol* 27(27):4563-69.
- Theocharides A, Boissinot M, Girodon F, et al (2007) Leukemic blasts in transformed JAK2-V617F-positive myeloproliferative disorders are frequently negative for the JAK2-V617F mutation. *Blood* 110(1):375-9.
- Theocharides A, Passweg JR, Medinger M, et al (2008) The allele burden of JAK2 mutations remains stable over several years in patients with myeloproliferative disorders. *Haematologica* 93(12):1890-3.
- Thepot S, Itzykson R, Seegers V, et al (2010) Treatment of progression of Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms to myelodysplastic syndrome or acute myeloid leukemia by azacitidine: a report on 54 cases on the behalf of the Groupe Francophone des Myelodysplasies. *Blood* 116(19):3735-42.
- Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, et al (2005) European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 90(8):1128-32.
- Thomas DA, Giles FJ, Albitar M, et al (2006) Thalidomide therapy for myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Cancer* 106(9):1974-84.
- Tsiara SN, Chaidos A, Bourantas LK, et al (2006) Recombinant Human Erythropoietin for the treatment of anaemia in patients with chronic idiopathic myelofibrosis. *Acta Haematol* 117(3):156-61.

- Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al (2007) Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* 110(3):840-6.
- Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al (2007) Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2(V617F) allele burden. *Leukemia* 21(9):1952-9.
- Verstovsek S, Kantarjian H, Mesa RA, et al (2010) Safety and efficacy of INCB018424, a JAK1 and JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *N Engl J Med* 363(12):1117-27.
- Wanless IR, Peterson P, Das A, et al (1990) Hepatic vascular disease and portal hypertension in polycythemia vera and agnogenic myeloid metaplasia: a clinicopathological study of 145 patients examined at autopsy. *Hepatology* 12(5):1166-74.
- Weinkove R, Reilly JT, McMullin MF, et al (2008) Low-dose thalidomide in myelofibrosis. *Haematologica* 93(7):1100-1.
- Zhao R, Follows GA, Beer PA, et al (2008) Inhibition of the Bcl-xL Deamidation Pathway in Myeloproliferative Disorders. *N Engl J Med* 359(26):2778-89.

CAPITOLO 4

SITUAZIONI PARTICOLARI

4.1 LA GRAVIDANZA E ALTRI PROBLEMI FEMMINILI

4.1.1 Il caso

Una paziente di 39 anni con diagnosi di policitemia vera desidera programmare una nuova gravidanza. L'anamnesi familiare e fisiologica è negativa. La policitemia vera, positiva per la mutazione V617F di JAK2, è nota da circa 4 anni ed è regolarmente trattata con salassi ogni circa 3 mesi e aspirina, 100 mg al giorno. Non ci sono mai state complicanze vascolari. Due anni prima la paziente aveva iniziato una prima gravidanza che era terminata con un aborto precoce nel primo trimestre. L'esame obiettivo dimostra una discreta splenomegalia, palpabile a circa 4 cm dall'arcata costale. L'emocromo attuale dimostra: emoglobina 14,5 g/dL; ematocrito 45% leucociti 8.500/mmc con normale formula leucocitaria; piastrine 500.000/mmc. Altri parametri di funzionalità renale ed epatica sono normali e la paziente non presenta fattori aggiuntivi di rischio cardiovascolare (fumo, ipertensione, ipercolesterolemia, diabete).

4.1.2 Aspetti clinici e classificazione di rischio

La gravidanza nelle pazienti con neoplasie mieloproliferative croniche (MPN) è un problema rilevante e in progressivo incremento a causa, da una parte, della diagnosi più precoce e, dall'altra, della tendenza delle donne nella società attuale a programmare la gravidanza in fasi più avanzate della vita. Tutte le donne in gravidanza presentano un aumentato rischio trombotico, stimato circa 6 volte superiore alle donne non gravide, e tale rischio aumenta in presenza di una MPN. Inoltre, la malattia ematologica costituisce un fattore predisponente anche per altre complicanze della gravidanza, come l'aborto ricorrente, la morte fetale endouterina, la pre-eclampsia e l'abruptio placentae. Peraltro, la relativa scarsità delle casistiche pubblicate rende difficile ottenere una precisa valutazione del rischio di questi eventi.

La Trombocitemia Essenziale è di gran lunga la MPN più frequentemente diagnosticata nelle donne in gravidanza. Le linee-guida italiane per il trattamento della TE hanno analizzato il risultato di 461 gravidanze riportate in studi di coorte sia retrospettivi che prospettici. La maggior parte degli studi descriveva casi singoli o piccole serie di pazienti, sollevando il dubbio di un bias di selezione, per la possibile tendenza a descrivere i casi più complicati piuttosto che le gravidanze senza problemi. Per evitare questo bias, Elliott e Tefferi hanno rivisto solo serie di pazienti che comprendessero almeno sei casi consecutivi, ma i dati della loro analisi non sono sostanzialmente differenti da quelli della revisione sistematica della letteratura eseguita nelle linee-guida italiane.

L'età e la conta piastrinica medie all'inizio della gravidanza sono state 29 anni e $1.000 \times 10^9/L$ piastrine, rispettivamente. Durante il secondo trimestre, la conta piastrinica si è spontaneamente ridotta fino a un nadir di $599 \times 10^9/L$. Questa riduzione appare maggiore di quella attesa dall'emodiluizione fisiologica osservata nelle gravidanze normali, ma il meccanismo che la provoca non è ben noto. La presenza di sostanze di origine placentale o fetale che riducono la produzione piastrinica è stata ipotizzata ma non definitivamente provata. Nel periodo post-partum, la conta piastrinica risale rapidamente ai valori basali e in alcune pazienti anche oltre. Questo fenomeno aumenta la probabilità di complicanze vascolari in questo periodo, che è quello a più elevato rischio trombotico anche in altre condizioni di trombofilia, così come nelle gravidanze normali.

L'analisi cumulativa delle 461 gravidanze pubblicata nelle linee-guida italiane ha mostrato che il 50-70% delle donne con TE ha avuto nascite a termine; il 25-40% un aborto nel primo trimestre e circa il 10% un aborto in fasi più avanzate della gravidanza o una morte fetale enouterina. Questi dati sono in accordo con quelli di una casistica americana di 63 gravidanze pubblicata dai ricercatori della Mayo Clinic: il 60% delle gravidanze sono giunte felicemente a termine mentre il 36% ha presentato un aborto precoce. In Italia, il 3,6% delle pazienti con TE ha presentato un *abruptio placentae*, una percentuale più alta rispetto alla popolazione normale (1%), mentre la frequenza di pre-eclampsia era simile a quella delle donne senza MPN (1,7%). Studi recenti hanno suggerito che la presenza della mutazione V617F di JAK2 possa aumentare il rischio di abortività, ma questi dati devono essere confermati e non modificano, per il momento, le scelte terapeutiche.

Le complicanze trombotiche o emorragiche nella madre sono fortunatamente poco comuni. Nell'analisi cumulativa sopra citata, sono state osservate 13 pazienti con trombosi post-partum e altri 13 casi con emorragie pre- o post-partum. Il rischio vascolare materno può essere più elevato nelle donne con precedente occlusione

venosa o arteriosa, indipendentemente dal fatto che la trombosi si sia verificata durante una precedente gravidanza o no. Inoltre, complicanze gravi avvenute nel corso di una gravidanza pregressa, come tre o più aborti nel primo trimestre, uno o più aborti nel secondo o terzo-trimestre, un peso alla nascita inferiore al quinto percentile dell'atteso per età gestazionale, la pre-eclampsia o una morte fetale intrauterina o alla nascita sono fattori predittivi di ulteriori eventi avversi per la madre e per il feto. Altri fattori di rischio da considerare nelle donne in gravidanza sono l'età, l'obesità, l'immobilizzazione e altre cause di trombofilia genetica o acquisita.

Nelle donne con PV, la gravidanza è più rara perché l'età mediana di insorgenza della PV è nettamente più alta che nelle TE. Uno studio inglese ha valutato un totale di 38 gravidanze in 18 pazienti con PV e ha riportato 22 gravidanze a termine (57%). Come per la TE, aborti spontanei durante il primo trimestre sono stati riportati nel 22% delle pazienti e una gravidanza pre-termine nel 13% dei casi. Nella mielofibrosi primaria, pochissime gravidanze sono state descritte e i risultati appaiono simili a quelli osservati nella TE e nella PV. La *Tabella 4.1* riassume le caratteristiche delle gravidanze da considerare ad alto rischio nelle pazienti con MPN, secondo le recenti linee-guida europee.

Pertanto, la paziente del nostro esempio deve essere considerata "a basso rischio" vascolare durante la gravidanza e il trattamento dovrà essere impostato in accordo a questa classificazione di rischio.

TABELLA 4.1

Caratteristiche delle gravidanze ad alto rischio nelle MPN, secondo le raccomandazioni dell'European Leukemia Net

- Precedente trombosi arteriosa o venosa
- Precedente emorragia clinicamente rilevante
- Precedente complicanza della gravidanza:
 - aborto precoce ricorrente (≥ 3 nel primo trimestre)
 - ritardo di crescita intrauterina (peso alla nascita $< 5^{\circ}$ percentile per età gestazionale)
 - morte fetale intrauterina (senza altra causa apparente)
 - pre-eclampsia severa (con parto pretermine < 34 settimane)
 - abruptio placentae
- Aumento marcato e costante della conta piastrinica $> 1.500 \times 10^9/l$

4.1.3 Trattamento

Le pazienti con MPN in gravidanza devono essere gestite da un team multidisciplinare, ematologico e ostetrico, con esperienza nel trattamento di questi

casi. Una dettagliata anamnesi familiare e personale deve essere raccolta e tutti i farmaci potenzialmente teratogenici (inclusi Idrossiurea e Anagrelide) devono essere sospesi almeno tre mesi prima del concepimento. La scelta del trattamento deve essere fatta sulla base della classificazione di rischio sopra riportata tenendo conto che le possibili opzioni comprendono: nessuna terapia, aspirina a basse dosi, eparina a basso peso molecolare e terapia citoriduttiva.

In una revisione sistematica della letteratura fino all'ottobre 2003, una gravidanza a termine era stata ottenuta dal 74% delle pazienti trattate con aspirina (79 su 106), in confronto al 55% delle donne che non avevano ricevuto il farmaco (80 su 145). Le linee-guida italiane hanno concluso che, in assenza di una evidenza diretta dell'efficacia dell'aspirina in tutte le donne con TE in gravidanza, il farmaco è raccomandato per le pazienti con storia di sintomi microvascolari o almeno un evento gravidico avverso. Raccomandazioni più recenti suggeriscono che tutte le pazienti con TE o PV, senza controindicazioni all'uso del farmaco, dovrebbero ricevere aspirina a basse dosi (75 o 100 mg al giorno) durante tutta la gravidanza e per almeno sei settimane dopo il parto. Queste dosi di aspirina sono considerate generalmente sicure e ben tollerate e dovrebbero preferibilmente essere iniziate prima del concepimento per facilitare l'attecchimento e la crescita placentare e fetale. Le complicanze emorragiche sono rare, ma particolare attenzione deve essere posta alle pazienti con una conta piastrinica superiore a $1.000-1.500 \times 10^9/L$ poiché in questi casi il rischio di sanguinamento aumenta considerevolmente in funzione della possibile alterazione acquisita dei multimeri del fattore von Willebrand.

L'eparina a basso peso molecolare (EBPM) è indicata per la profilassi e la terapia del tromboembolismo venoso e per ridurre le complicanze fetali nelle gravidanze di donne con MPN ad alto rischio. La dose consigliata di enoxaparina è 4.000 U (40 mg) una volta al giorno fino alla 16a settimana, poi 4.000 U x 2 volte al giorno fino al parto, e infine ancora 4.000 U al giorno per 6 settimane in puerperio. Per aumentare l'efficacia antitrombotica nelle gravidanze a rischio vascolare particolarmente elevato, l'EBPM è stata anche usata in associazione all'aspirina a basse dosi.

La terapia citoriduttiva in gravidanza è un argomento controverso. Durante la gravidanza, l'ematocrito e la conta piastrinica si riducono fisiologicamente e questo può ridurre la necessità di salassi e di farmaci mielosoppressivi. Il valore di ematocrito da raggiungere e mantenere non è chiaramente stabilito: secondo Robinson et al, l'ematocrito dovrebbe essere mantenuto a meno del 45% per tutta la gravidanza e in puerperio. Anche la terapia mirata a ridurre il numero delle piastrine è oggetto di discussione, poiché i dati disponibili non indicano una relazione fra la conta piastrinica e l'esito della gravidanza. In ogni caso, i farmaci citoriduttivi dovrebbero

essere evitati nel primo trimestre. In accordo con le linee-guida italiane e inglesi, le candidate a una terapia citoriduttrice in gravidanza sono donne con MPN ad alto rischio, definito da una anamnesi positiva per trombosi o emorragie severe, o una conta piastrinica superiore a $1.000-1.500 \times 10^9/L$, o una documentata storia di trombofilia familiare grave o la presenza di multipli fattori di rischio cardiovascolare. Se si decide per una citoriduzione, l'interferone α è probabilmente l'opzione più sicura. Altri farmaci citotossici, come idrossiurea, busulfano e anagrelide, devono essere evitati particolarmente durante l'organogenesi nel primo trimestre.

In conclusione, poichè linee-guida basate sull'evidenza non sono disponibili a causa della relativa scarsità degli studi eseguiti, le raccomandazioni attuali per il trattamento delle donne con MPN in gravidanza si basano sul consenso di esperti, come quello proposto dall'European LeukemiaNET e riassunto nella *Tabella 4.2*.

La paziente del nostro esempio dovrebbe essere trattata con salassi per mantenere l'ematocrito $<45\%$, più aspirina a basse dosi, per tutta la gravidanza e con dosi profilattiche di EBPM per sei settimane dopo il parto.

TABELLA 4.2

Trattamento delle MPN in gravidanza, secondo le raccomandazioni dell'European LeukemiaNet

Terapia della gravidanza a basso rischio

1. Nella PV, mantenere l'ematocrito $\leq 45\%$
2. Aspirina a basse dosi (100 mg al giorno)
3. Eparina a basso peso molecolare (EBPM) a dosi profilattiche (4.000 U al giorno) per sei settimane dopo il parto

Terapia della gravidanza ad alto rischio

Come sopra, più

1. Se precedente trombosi o complicanza della gravidanza: EBPN durante la gravidanza (sospendi aspirina se complicanze emorragiche)
2. Se conta piastrinica $>1.500 \times 10^9/L$: considera Interferone α
3. Se precedente sanguinamento grave: evita aspirina e considera Interferone α per ridurre la trombocitosi

Contraccettivi orali e terapia ormonale sostitutiva

Non c'è al momento sufficiente evidenza scientifica per dare indicazioni sicure sull'associazione tra i trattamenti ormonali basati sugli estrogeni e il rischio trombotico nelle donne con MPN. Una revisione retrospettiva degli eventi trombotici in 305 donne con TE seguite per una mediana di 133 mesi ha suggerito che la terapia

estrogenica sostitutiva può essere sicura, mentre l'uso della pillola contraccettiva può essere associata a un aumentato rischio di trombosi venosa profonda. Le linee guida inglesi raccomandano di scoraggiare i contraccettivi orali nelle donne con MPN, mentre suggeriscono di limitare la terapia sostitutiva ormonale alle pazienti senza fattori di rischio aggiuntivo per tromboembolismo venoso e senza una storia personale di trombosi.

4.2 LE FORME PEDIATRICHE E GIOVANILI

L'incidenza di policitemia vera (PV) e trombocitemia essenziale (TE) in età pediatrica e giovanile è estremamente bassa. L'incidenza di PV e TE è stimata di poco inferiore a 2 nuovi casi/anno per 100.000 abitanti, con un'età mediana di insorgenza di circa 65 anni. L'incidenza globale di malattie mieloproliferative croniche bcr-abl negative in età inferiore a 40 anni è 2,7 nuovi casi/anno per milione di abitanti; in età pediatrica (<18 anni) l'incidenza annuale di nuovi casi è stata riportata di 2-4 nuovi casi di PV e TE, rispettivamente, per 10 milioni di abitanti, con una frequenza 50-100 volte minore rispetto all'insieme dei casi diagnosticati.

4.2.1 Fattori di rischio e presentazione

L'età avanzata (>60 anni) è un consolidato fattore di rischio per insorgenza di complicanze trombotiche sia nella PV che nella TE; tuttavia l'incidenza di eventi trombotici nei pazienti giovani non è affatto irrilevante. Nei pazienti con PV di età inferiore a 45-50 anni la percentuale di eventi trombotici è pari a 13-17% alla diagnosi e 10-14% durante il follow-up; in una piccola serie multicentrica spagnola la prevalenza di trombosi è risultata 37,5% alla diagnosi e 20,8% durante il follow-up.

Nei pazienti con TE di età inferiore a 40-50 anni la percentuale di eventi trombotici è pari a 13-22%. In una serie multicentrica di 126 pazienti con TE di età inferiore a 40 anni la probabilità di trombosi dopo la diagnosi è risultata 8% a 5 anni e 16% a 10 anni. Il tabagismo risultava un fattore di rischio significativo, essendo la probabilità cumulativa di trombosi a 10 anni dalla diagnosi 28% nei fumatori e 10% nei non fumatori. In una serie monocentrica di 76 pazienti di età inferiore a 40 anni la probabilità di trombosi durante il follow-up era 7,5% dopo 10 anni dalla diagnosi e 11,8% dopo 15 anni, senza influenze significative dei fattori di rischio cardiovascolari tradizionali. Infine, nell'ambito dei pazienti con TE asintomatici a basso rischio quelli con età compresa tra 40 e 60 anni presentano un rischio trombotico aumentato

di 1,7 volte rispetto ai pazienti di età inferiore a 40 anni, ma senza raggiungere la significatività statistica.

Le forme pediatriche di PV e TE possono presentarsi in forma sporadica, riconoscendo una patogenesi sovrapponibile ai casi diagnosticati in età adulta, ma sono spesso riconducibili a forme di eritrocitosi e trombocitosi ereditarie. Tali forme ereditarie vanno distinte dalle forme familiari di neoplasia mieloproliferativa. Una storia familiare di neoplasia mieloproliferativa cronica è stata riportata nel 7,6% dei casi con PV, TE o mielofibrosi idiopatica. Nelle forme familiari la presentazione clinica non differisce dalle forme sporadiche, nella maggior parte dei casi tutte le linee cellulari presentano un'aumentata proliferazione, ed è presente un'emopoiesi clonale. Uno studio di popolazione condotto in Svezia su 24.577 familiari di primo grado di 11.039 pazienti con neoplasie mieloproliferative ha dimostrato in tali soggetti una probabilità di sviluppare a loro volta una neoplasia mieloproliferativa significativamente aumentata da 5 a 7 volte. In questi casi la mutazione JAK2V617F è di tipo somatico ed è ipotizzabile una maggiore probabilità di insorgenza legata a una maggiore suscettibilità di tipo genetico, che tuttavia non è ancora chiaramente definita.

4.2.2 Ereditarietà e genetica

Nelle eritrocitosi ereditarie va esclusa la presenza di emoglobine anomale con aumentata affinità per l'ossigeno o la più rara possibilità di un difetto di 2,3-difosfoglicerato. Sono state inoltre identificate specifiche alterazioni della via metabolica che regola la produzione di eritropoietina ("oxygen sensing") legate a mutazioni dei geni del recettore per l'eritropoietina (EPOR) (eritrocitosi ereditaria familiare tipo 1), von Hippel-Lindau (VHL) (tipo 2), PHD2 (EGLN1) (tipo 3), e HIF-2 α (EPAS1) (tipo 4). Le forme ereditarie di eritrocitosi sono trasmesse con modalità autosomica dominante, eccetto il tipo 2 (policitemia di Chuvash, trasmessa con modalità recessiva). In queste forme i livelli di eritropoietina sono aumentati o ai limiti superiori del range di normalità eccetto le forme di tipo 1, dovute a mutazioni del gene EPOR con incremento di funzione, ipersensibilità all'eritropoietina, e conseguente riscontro di livelli di eritropoietina diminuiti o ai limiti inferiori del range di normalità.

In una recente revisione della letteratura sono stati riportati 36 casi di pazienti con PV età pediatrica. L'età mediana dei casi era 11 anni, con due picchi di incidenza a 5-6 anni e a 10-14 anni. In 9 casi (25%) sono state riportate gravi complicanze trombotiche. In 7 pazienti (19,4%) è stata diagnosticata una sindrome di Budd-Chiari. In aggiunta va considerata una coorte di 13 pazienti con PV in età pediatrica: in questa

serie 5 casi erano su base familiare e 8 sporadici. La mutazione JAK2V617F era presente in tre casi sporadici; nessun caso presentava trombosi. In contrasto, in un'altra serie di 8 casi con PV in età pediatrica, tutti presentavano una mutazione del gene JAK2 (V617F in 6 casi e dell'esone 12 in due) e due casi presentavano una sindrome di Budd-Chiari. Data la rarità dei casi, non può essere proposto nessun trattamento basato sull'evidenza. È stato suggerito un regime terapeutico costituito da flebotomie e somministrazione di aspirina, in analogia ai giovani adulti con PV. È consigliabile l'impiego di interferone qualora sia necessario un trattamento citoriduttivo.

Le trombocitosi ereditarie possono essere dovute a mutazioni del gene della trombopoietina (TPO) o del gene del recettore per la trombopoietina (MPL). Sono state descritte quattro mutazioni nel gene TPO responsabili di un'aumentata produzione di trombopoietina, tutte trasmesse con modalità autosomica dominante. Inoltre sono state identificate tre sostituzioni puntiformi nel gene MPL: MPL K39N (polimorfismo Baltimora), MP-P106L, e MPL S505N. Le variazioni MPL-K39N e MPL-P106L sono dei polimorfismi presenti in circa il 7% e il 6% dei soggetti afroamericani e arabi, rispettivamente. La trasmissione è autosomica con penetranza clinicamente recessiva, dato che la trombocitosi è presente solo nei soggetti omozigoti. Tali polimorfismi coinvolgono il dominio extracellulare di MPL, diminuendo la capacità di legame del recettore per la trombopoietina con conseguente diminuita clearance della trombopoietina e aumentata stimolazione dei megacariociti.

La presenza di tali polimorfismi non sembra comportare un aumentato rischio trombotico. La mutazione MPL-S505N coinvolge invece il dominio transmembrana di MPL, con un'attivazione costitutiva del recettore. Tale mutazione è stata descritta in una famiglia giapponese e in 8 famiglie italiane, queste ultime portatrici di un aplotipo comune dimostrazione di un founder effect. La mutazione è trasmessa con modalità autosomica dominante e nei portatori è presente una elevata incidenza di eventi trombotici, in particolare arteriosi. Durante il follow-up è stata riportata l'insorgenza di splenomegalia e fibrosi midollare. Non sono descritti casi di evoluzione leucemica. Dal punto di vista terapeutico la possibilità attuale di complicanze trombotiche nei soggetti con alcune forme di trombocitosi ereditaria ha fatto proporre l'impiego profilattico di aspirina.

Sono stati riportati almeno 58 casi di casi sporadici di TE in età pediatrica distribuiti in quattro serie di pazienti. Complessivamente la mutazione JAK2V617F è risultata presente nel 25% dei pazienti (range di distribuzione 0%-40%), con una prevalenza inferiore a quanto osservato nelle forme dell'adulto. Nei 46 casi in cui è stata descritta la storia clinica è riportato un unico caso di sindrome di Budd-Chiari, con una incidenza di complicanze trombotiche nettamente inferiore a quanto

osservato nelle forme giovanili e dell'adulto. La possibilità di trombosi gravi anche in età pediatrica è confermata dalla descrizione di un ulteriore caso sporadico di TE JAK2V617F positiva con trombosi venosa cerebrale a 6 anni di età.

In conclusione, nei casi con sospetta PV o TE in età pediatrica e in presenza di storia familiare di eritrocitosi o trombocitosi l'assenza della mutazione JAK2V617F rende indispensabile l'esecuzione di test diagnostici per la presenza di forme ereditarie. L'applicazione di tale algoritmo diagnostico (Figure 4.1 e 4.2) può evitare l'esecuzione di manovre invasive quali la biopsia osteo-midollare nei casi a comprovata ereditarietà.

FIGURA 4.1 Algoritmo diagnostico per eritrocitosi persistente in età pediatrica (modificato da Cario 2005)

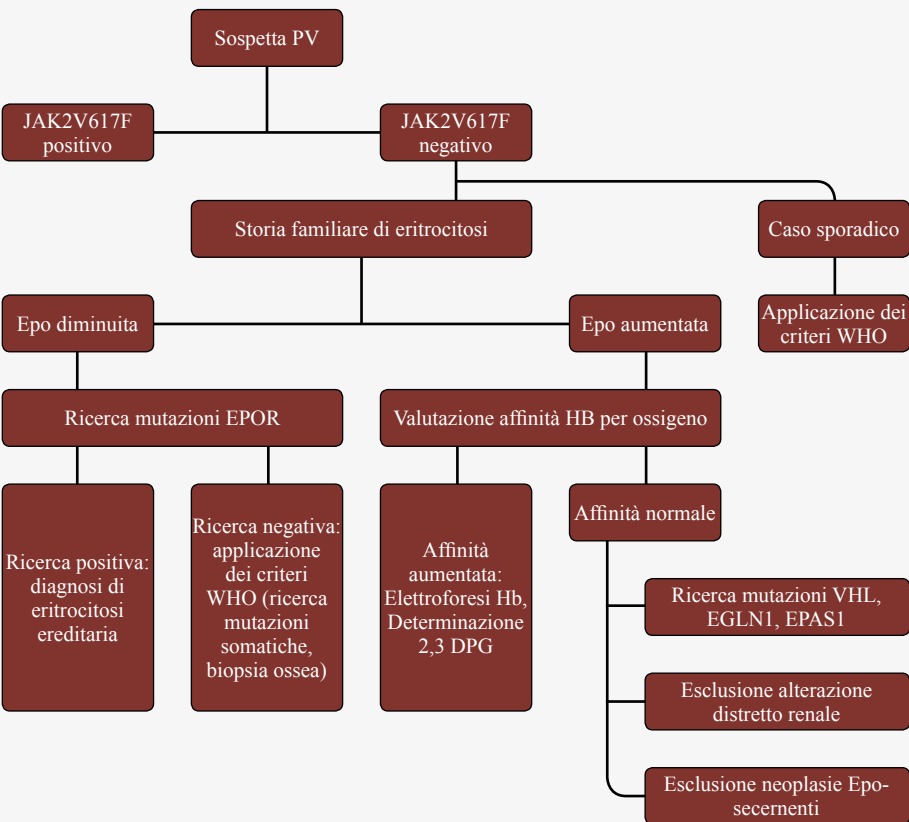
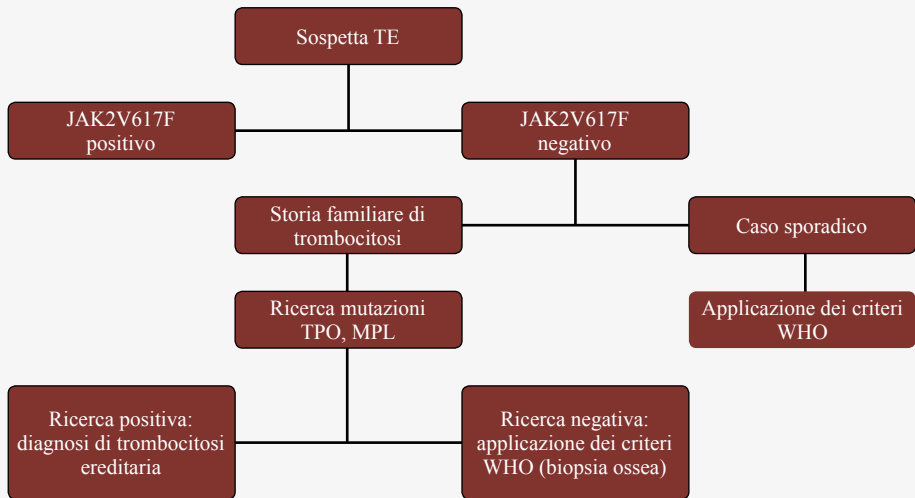


FIGURA 4.2 Algoritmo diagnostico per trombocitosi persistente in età pediatrica (modificato da Teofili & Larocca 2011)



4.3 IL PAZIENTE CON COMPLICAZIONI VASCOLARI

Gli eventi occlusivi vascolari, sia arteriosi che venosi, rappresentano la più importante causa di morbidità e, assieme alle trasformazioni neoplastiche acute, di mortalità in pazienti affetti da neoplasie mieloproliferative croniche (NMPc) Philadelphia negative, come la Policitemia Vera (PV), la Trombocitemia Essenziale (TE) e la Mielofibrosi Primaria (MP). Rimangono ancora attuali i dati derivati dal primo protocollo elaborato dal Polycythemia Vera Study Group (PVSG-01, pubblicato nel 1981): a circa 10 anni dalla fine dell'arruolamento nei 3 bracci di trattamento di pazienti con diagnosi di PV (solo flebotomie; fosforo32; chlorambucil) ne erano deceduti 183 dei 431 registrati; la causa di morte più frequente (31%) era rappresentata da complicanze trombotiche; gli episodi di trombosi erano 119, un terzo dei quali erano eventi cerebrovascolari (seguiti, in ordine di frequenza, da infarti al miocardio, occlusione arteriosa periferica, embolie polmonari e trombosi venose periferiche); circa un terzo dei pazienti sopravvissuti a un primo episodio di trombosi avevano un secondo episodio occlusivo, mortale in circa il 35% dei casi. Tali risultati trovano riscontro 25 anni dopo, attraverso l'esperienza dell'ECLAP (European Collaboration on Low-dose Aspirin) che organizza il più grande studio

epidemiologico in pazienti con PV (1.638 soggetti seguiti in media per 2,8 anni): la mortalità per tutte le cause in questa coorte (164 morti) è sostenuta per il 40% da episodi cardiovascolari (incidenza di 1,5 decessi per 100 pazienti/anno); il tasso cumulativo di complicanze trombotiche (sia arteriose che venose) è di 3,8 eventi per 100 pazienti/anno. Numerosi studi retrospettivi osservazionali, condotti in coorti di pazienti con TE, concordano nell'indicare tassi di eventi trombotici compresi tra 1,5 e 2,5 casi per 100/pazienti anno, circa il doppio del tasso osservato nella popolazione generale. Recentemente una coorte di 707 pazienti con MP è stata valutata, per studiare frequenza e fattori predittivi per eventi cardiovascolari maggiori; il tasso cumulativo degli eventi occlusivi fatali e non era del 7,2%, con una frequenza di 1,75 episodi ogni 100 pazienti/anno, confermando anche per tale patologia una propensione alla trombofilia.

4.3.1 Patogenesi

La trombosi, arteriosa e venosa, è considerata una malattia a patogenesi multifattoriale, ove anomalie di tipo reologico, di relazione tra endotelio e cellule circolanti e implicazioni funzionali a genesi coagulativa giocano assieme il ruolo di determinanti eziologici. Dal punto di vista clinico, soprattutto in chiave di prevenzione e di trattamento, più che di fattori patogenetici è importante la evidenziazione di fattori di rischio, la cui presenza consente la stratificazione della coorte dei pazienti prima di iniziare una terapia specifica.

I dati della letteratura sono concordi nel definire come associati e consistenti fattori di rischio l'età (maggiore di 60 anni) e l'aver sofferto di un precedente episodio di trombosi; la presenza anche di uno solo di questi due fattori conferisce al paziente la caratteristica di "alto rischio" per la frequenza elevata di episodi di trombosi che colpisce tale sottogruppo. Ovviamente questi due elementi non sono modificabili o corretti dalle terapie; al contrario, i classici fattori di rischio cardiovascolare (abitudine al fumo di sigaretta, l'ipertensione arteriosa in trattamento, il diabete mellito in trattamento, la ipercolesterolemia) pur non essendo stati associati a diatesi trombotica in modo univoco negli studi pubblicati in coorti con PV, TE, MP (la mancata significatività di correlazione dipende dalla insufficiente numerosità campionaria, ma non vi sono presupposti patogenetici che possano far supporre che i pazienti con NMPc abbiano un rischio aterosclerotico minore di quello osservato nella popolazione generale) devono essere attivamente trattati e corretti.

Fattori di rischio recentemente emersi dall'analisi di casistiche, e possibile, futuri target di trattamenti mirati, sono costituiti dalla leucocitosi e dalla presenza della

mutazione V617F del gene JAK2 (o dalla quantità dell'allele mutato).

Tra i 1.638 pazienti con PV arruolati nello studio ECLAP, erano stati registrati 205 eventi trombotici durante i 2,7 anni di follow-up. L'analisi multivariata mostra che la leucocitosi (conta superiore a $15 \times 10^9/L$) si associa in modo significativo con il rischio di trombosi (HR: 1,71; 95 CI: 1,10-2,65; p: 0,017). Analogamente, tra 1.063 pazienti con TE valutati in uno studio retrospettivo multicentrico, si registravano 118 trombosi durante 38 anni di follow-up, e la leucocitosi alla diagnosi (conta superiore a $11 \times 10^9/L$) si associava a un rischio aumentato di trombosi (HR: 1,8; 95 CI: 1,1-2,9; p: 0,02). Un trend associativo tra leucocitosi e rischio trombotico si è osservato anche in pazienti con MP, sia pure non raggiungendo la significatività statistica. L'associazione tra rischio trombotico e mutazione JAK2V617F è stata oggetto di numerosi studi, con risultati non sempre consistenti, anche per la presenza di fattori confondenti e problemi metodologici. Si ritiene comunque che un elevato burden allelico possa correlarsi con un aumentato rischio di trombosi. Al momento attuale non si ritiene comunque che leucocitosi e mutazione JAK2 possano essere utilizzati per stratificare il rischio trombotico, a scopi di attività clinica.

Paradossalmente, né l'ematocrito (tra 40% e 55%) né la conta piastrinica (superiore a $400 \times 10^9/L$) sono stati associati con un aumentato rischio trombotico. Anche la piastrinosi osservata in pazienti con MP sottoposti a splenectomia (talora con conte anche superiori a $1.000 \times 10^9/L$) non correla in modo significativo con l'evenienza di episodi occlusivi vascolari.

Lo screening routinario per evidenziare difetti trombofilici eredo-familiari non viene consigliato; la frequenza di trombofilie congenite entro le coorti di pazienti con NMPc riflette quella osservata nella popolazione generale e la eventuale evidenza di difetti di questo tipo in pazienti con eventi trombotici venosi non modifica il programma di terapia anticoagulante, anche se sono presenti segnalazioni che indicano una maggior tendenza alla recidiva del tromboembolismo venoso in pazienti portatori di mutazione fattore V Leiden e diagnosi di PV e TE.

4.3.2 Clinica

La clinica degli eventi vascolari arteriosa è caratterizzata da episodi cerebrovascolari (stroke ischemici e attacchi ischemici transitori), da crisi occlusive coronariche (angina instabile e infarto miocardio acuto) e dalla trombosi arteriosa periferica, di cui un particolare quadro clinico, peculiare nelle forme di NMPc, è costituito dalla eritromelalgia, dovuta ad alterata circolazione del distretto microvascolare. Il quadro clinico si caratterizza per la presenza di intenso dolore bruciante, localizzato

alle estremità (dita delle mani e dei piedi) con una obbiettività che ricorda la livedo reticularis. Il dolore può essere esacerbato dal calore e dall'esercizio. L'eritromelalgia non va confusa con la sindrome di Raynaud e può precedere una quadro di ischemia microvascolare, con possibilità di evoluzione verso la gangrena e la necrosi tissutale.

La trombosi venosa profonda, meno frequente, può colpire i distretti periferici (arti inferiori) e le arterie polmonari (embolia polmonare). Un quadro tipico, che talora precede la diagnosi di NMPC, è costituito dalla trombosi dei distretti venosi addominali, con coinvolgimento dei vasi portali, sovra-epatici (sindrome di Budd-Chiari), mesenterici e splenici. L'evenienza di questi sintomi, in pazienti giovani, specie se insorti spontaneamente e se alla presenza di splenomegalia, impone un approccio diagnostico approfondito. Più rara è la trombosi dei seni venosi cerebrali.

4.3.3 Terapia

Gli eventi vascolari devono essere trattati secondo le linee-guida pertinenti. I pazienti con eventi acuti, cerebrali o coronarici, vengono gestiti presso le unità intensive secondo i protocolli correnti, con controllo dei fattori di rischio individuali. Per i pazienti con trombosi e assenza di precedente diagnosi di NMPC, ma con valori emocitometrici suggestivi, è indispensabile l'avvio delle procedure diagnostiche già nella fase acuta; la possibilità di evidenziare la presenza di mutazione JAK2V617F consente una diagnosi di forma clonale (escludendo le frequenti forme di leucocitosi e/o piastrinosi reattive associate alla sindrome vaso-occlusiva) e quindi di avviare il trattamento farmacologico citoriduttivo più appropriato, anche prima dell'esito dell'esame istologico della biopsia osteo-midollare. In seguito, l'uso di aspirina, 100 mg al giorno assunta a stomaco pieno, è raccomandato nei casi di pregresso evento ischemico arterioso, tranne quando sussista l'indicazione al trattamento anticoagulante orale; nei pazienti con pregressa storia di malattia gastrica ulcerosa, si può optare per una profilassi secondaria con tienopiridina o associare all'aspirina un inibitore della pompa protonica.

In casi, selezionati, per recidiva di eventi trombotici arteriosi in corso di profilassi antiaggregante, è necessario attuare una terapia di combinazione con dicumarolici. In tutti i pazienti con diagnosi di NMPC in terapia antitrombotica deve essere eseguito uno stringente monitoraggio dei valori emocitometrici, sia per cogliere una eventuale evoluzione in forme "spente", con piastrinopenia che, se severa, controindica il proseguimento della profilassi, sia per evidenziare precocemente una anemizzazione, spia di possibile sanguinamento occulto, stante la propensione all'emorragia propria di queste patologie. L'uso dell'aspirina trova poi precipua indicazione durante gli

episodi di eritromelalgia; l'assunzione anche solo di 300 mg di acido acetilsalicilico determina un pronto miglioramento della sintomatologia algica, la dove altri farmaci anti-infiammatori o il warfarin non portano a risultati apprezzabili.

In caso di eventi venosi, trombosi venose profonde degli arti e/o embolia polmonare, deve essere avviata terapia con eparina a basso peso molecolare a dosaggio terapeutico (90-100 UI/Kg peso corporeo ogni 12 ore). La diagnosi, sospetta clinicamente (i segni/sintomi della trombosi venose degli arti inferiori sono dolore spontaneo o provocato dallo stiramento dei muscoli, rossore, cianosi, crampi, aumento della temperatura cutanea, edema dell'arto, sviluppo dei circoli collaterali) va confermata con metodi obbiettivi, dato che il quadro clinico non è patognomonico (diagnosi differenziale con ematomi, patologie muscolari, linfangiti, reflusso venoso). La ultrasonografia per compressione è la metodica invasiva di prima scelta, con sensibilità e specificità diagnostica del 97%-98%.

La metodica di prima scelta per la diagnosi dell'embolia polmonare è la scintigrafia perfusionale, ma recentemente si ricorre sempre più spesso alla TAC spirale (poco sensibile nelle forme non massive), unitamente al dosaggio del D-dimero, la cui negatività consente di escludere la presenza di embolia polmonare. Con diagnosi confermata, il paziente va posto in trattamento anticoagulante orale con inibitori della vitamina K; lo scopo di tale terapia è portare e poi mantenere valori di INR (International Normalized Ratio) del tempo di protrombina tra 2 e 3. La terapia con eparina va mantenuta associata fino ad INR stabilmente fra 2 e 3 (almeno da due giorni), solitamente la terapia combinata dura 5-7 giorni, poi può essere sospesa. Nel caso si rendesse necessario proseguire l'eparina per più giorni, o nel caso di pregresso contatto (entro i 100 giorni precedenti) con eparina (anche per bassi dosaggi a scopo di profilassi) è necessario il mantenimento del monitoraggio emocromocitometrico, per la possibile evenienza di una trombocitopenia da eparina. Questa complicanza, dagli esiti potenzialmente fatali, può essere non facilmente riconoscibile in pazienti con conte piastriniche superiori alla norma, come quelli affetti da NMPc e il dosaggio degli anticorpi anti PF4 deve essere eseguito anche in caso di sospetto.

Un problema dibattuto riguarda la durata della terapia anticoagulante; infatti la presenza di NMPc conferisce al paziente un rischio trombofilico definito, ma è incerto se tale rischio si mantiene anche in corso di terapia attiva citoriduttiva, almeno a livelli tali da superare il rischio di complicanze emorragiche insite alla terapia con dicumarolici. Non sono infatti disponibili studi prospettici che confrontino efficacia, in termini di riduzione delle recidive, e sicurezza, in termini di frequenza di emorragia, in pazienti che proseguono la profilassi antitrombotica rispetto a un gruppo in cui tale intervento viene sospeso. Alcuni suggerimenti possono derivare da una recente

valutazione retrospettiva condotta dal working group sulle malattie mieloproliferative croniche del GIMEMA. All'interno di una coorte di 3.139 pazienti con PV e TE, venivano identificati 235 pazienti con PV e 295 con TE con trombosi (281 episodi alla diagnosi o nei due anni precedenti e 231 trombosi durante il follow-up (primo episodio). Il primo episodio di trombosi era arterioso nel 70% dei casi, venoso nel 30%. Dopo il primo episodio di trombosi, il 73,2% dei pazienti veniva sottoposto a profilassi antiaggregante, 18,2 % a terapia anticoagulante orale, 31,3% a flebotomie, il 71% a citoriduzione farmacologica; il 62,9% riceveva un trattamento combinato antitrombotico e citoriduttivo. Durante un periodo medio di osservazione di 5,3 anni (0,1-26,2) 166 pazienti lamentavano una prima recidiva (arteriosa nel 60% dei casi). Calcolando le recidive ulteriori, il tasso di ricorrenza era di 7,6 eventi per 100 pazienti/anno per i fenomeni arteriosi e 3 per 100 pazienti/anno per quelli venosi. I fattori di rischio associati a recidiva, in analisi multivariata, erano l'età >60 anni alla prima trombosi (HR: 1,67; 95 CI: 1,19-2,32) e la leucocitosi, limitatamente ai pazienti di età inferiore a 60 anni. Per quanto riguarda l'effetto del trattamento, solo la terapia citoriduttiva era in grado di ridurre il rischio (HR: 0,53; 95% CI: 0,38-0,73) in misura significativa, specie nei pazienti con sindrome coronaria acuta. Il trattamento combinato (antiaggregante o anticoagulante più citoriduzione) era più efficace dell'uso dei singoli farmaci.

La profilassi con anticoagulanti orali preveniva più efficacemente la recidiva di trombosi venose rispetto all'uso degli antiaggreganti. L'incidenza di emorragia maggiori era (100 pazienti/anno) di 0,8 durante terapia antiaggregante, 0,9 in corso di terapia anticoagulante, 2,8 per le due terapie combinate e 1,2 nei pazienti non sottoposti a tali terapie. Questo studio pertanto supporta l'uso di profilassi anticoagulante a tempo indefinito dopo un primo episodio di trombosi venosa profonda; la profilassi antiaggregante, oltre a ruolo dopo un primo episodio arterioso, può avere un ruolo anche nel tromboembolismo venoso, a parità di complicanze emorragiche.

4.4 LE TROMBOSI IN SEDI ATIPICHE

La trombosi venosa colpisce principalmente il distretto degli arti inferiori, ma raramente possono essere colpite altre sedi quali il distretto splancnico e cerebrale. La rarità di queste ultime manifestazioni è stata attribuita a una minore stasi, legata all'assenza di valvole nelle vene di tali distretti. Il termine trombosi venosa splancnica definisce l'occlusione delle vene sovraepatiche (sindrome di Budd-Chiari) o delle vene del sistema portale. L'incidenza della sindrome di Budd-Chiari e della trombosi venosa portale è stata stimata meno di 1 e 4 nuovi casi/anno per milione di abitanti,

rispettivamente; l'incidenza della trombosi venosa cerebrale è di 3-4 nuovi casi/anno per milione di adulti.

4.4.1 Trombosi splancniche

Le cause di trombosi venosa splancnica sono molteplici (*Tabella 4.3*); fino alla metà dei casi con sindrome di Budd-Chiari e a un terzo delle trombosi venose portali è presente una neoplasia mieloproliferativa Philadelphia-negativa, come unica causa associata o in concomitanza con altri fattori di rischio. Più della metà dei pazienti con trombosi venosa splancnica diagnosticati come affetti da neoplasia mieloproliferativa presenta uno o più fattori di rischio concomitanti, spesso di tipo ereditario. Pertanto l'iter diagnostico in tali soggetti deve essere esaustivo.

Di contro, la trombosi venosa splancnica è presente dal 4% al 10% dei pazienti con policitemia vera (PV) e trombocitemia essenziale (TE). Nei pazienti con TE l'insorgenza di una trombosi venosa splancnica è risultata associata a una minore sopravvivenza e a un aumentato rischio per evoluzione mielofibrotica o leucemica rispetto agli altri pazienti. Anche la trombosi venosa cerebrale presenta una significativa associazione con PV e TE; in due serie di pazienti con TE la prevalenza di trombosi venosa cerebrale era pari all'1% dei casi.

La stretta relazione tra neoplasie mieloproliferative e trombosi venose splancniche è confermata dal riscontro della mutazione JAK2V617F nel 30-50% dei pazienti con sindrome di Budd-Chiari o trombosi venosa portale e assenza di un quadro clinico chiaramente evocativo di neoplasia mieloproliferativa. In tali pazienti tuttavia la valutazione dei criteri diagnostici per PV o TE può essere difficoltosa a causa di possibili fattori concomitanti quali emodiluizione e ipersplenismo e quindi l'impiego della biopsia osteomidollare può risultare dirimente.

Da un punto di vista clinico l'esistenza di un quadro caratterizzato da trombosi venosa splancnica e presenza di una neoplasia mieloproliferativa atipica, indolente e non conclamata, è stata postulata da tempo. La presenza di una patologia clonale è dimostrata oltre che dalla mutazione JAK2V617F anche dall'elevata prevalenza di sviluppo di colonie eritroidi in assenza di eritropoietina esogena (cosiddette colonie eritroidi spontanee) o dall'aumentato livello di progenitori endoteliali circolanti. I pazienti con la presenza di JAK2V617F come unico segno di neoplasia mieloproliferativa sviluppano durante il follow-up una malattia conclamata nel 52% dei casi.

Tuttavia l'associazione della mutazione JAK2V617F con eventi trombotici in altre sedi è infrequente; inoltre le mutazioni dell'esone 12, che pure possono essere presenti in una piccola quota di pazienti con PV, non sono mai state descritte in pazienti con

trombosi venosa splancnica e assenza di neoplasia mieloproliferativa conclamata. Infine, nei pazienti con neoplasia mieloproliferativa conclamata e trombosi venosa splancnica, JAK2V617F è presente in circa il 75% dei casi. In una serie di pazienti con TE la presenza della mutazione è stata associata a un significativo aumento del rischio di sviluppare una trombosi venosa splancnica rispetto ai pazienti senza la mutazione; tale dato è risultato significativo solo per i pazienti di età inferiore a 60 anni. Pertanto la correlazione di JAK2V617F con le trombosi venose splancniche sembra essere sito-specifica; la spiegazione di questo dato non è chiara.

In uno studio, cellule endoteliali epatiche di pazienti con PV e sindrome di Budd-Chiari presentavano la mutazione JAK2V617F, così da ipotizzare che l'anomalia endoteliale possa contribuire alla patogenesi trombotica; in accordo, la presenza della mutazione è stata riportata nei progenitori endoteliali circolanti di un piccolo numero di pazienti con neoplasia mieloproliferativa e trombosi. La recente segnalazione di una maggiore frequenza di mutazioni TET2 o dell'aplotipo 46/1 in pazienti con trombosi venose splancniche conferma l'esistenza di una stretta correlazione tra neoplasie mieloproliferative e tale sito di trombosi.

TABELLA 4.3 Fattori di rischio per trombosi venosa splancnica (da Martinelli & De Stefano 2010)

	Sindrome di Budd-Chiari	Trombosi venosa portale
FATTORI DI RISCHIO LOCALE (%)		
Acquisiti		
Cancro	6-7	13-24
Cirrosi	8-14	17-18
Infezione addominale	7	10
Ascesso epatico	2	3-5
Malattie infiammatorie intestinali	3-8	1-4
Pancreatite	-	6-19
Colecistite	-	2-7
Appendicite	-	1
Linfoadenite tubercolare	-	3
Ostruzione venosa membranosa	1-4 (Ovest) - 30 (Est)	-
Onfalite neonatale	-	1-6

Circostanziali		
Chirurgia addominale	2-23	10-30
Splenectomia	2	7
Colecistectomia	-	3-12
Gastrectomia	-	3
Trapianto di fegato	-	2
Trauma addominale	10	1-3
FATTORI DI RISCHIO SISTEMICO (%)		
Ereditari		
Difetto di antitrombina	2-5	1-2
Difetto di proteina C	2-9	1-9
Difetto di proteina S	3-7	1-5
Fattore V Leiden	4-26	3-8
Protrombina G20210A	3-8	3-22
Acquisiti		
Neoplasie mieloproliferative (NMP)	23-49	6-33
JAK2V617F (con NMP conclamata)	57-100	78-100
JAK2V617F (senza segni di NMP conclamata)	44	27
Anticorpi antifosfolipidi	1-11	3-13
Malattia di Behcet	4-9	
Malattie autoimmuni	10-13	1-4
Emoglobinuria parossistica notturna	2-19	1-2
Circostanziali *		
Contracezione ormonale	15-50	15-30
Trattamento ormonale sostitutivo	14	3
Gravidanza o puerperio	4-16	2-3

* percentuale calcolata sul numero di donne.

Il trattamento delle trombosi venose splancniche in pazienti con neoplasia mieloproliferativa atipica o conclamata non presenta modalità particolari sia per quanto riguarda la terapia in fase acuta che per quanto riguarda il trattamento a lungo termine. Nonostante evidenze limitate, una profilassi con anti-vitamina K a tempo indeterminato viene raccomandato in tutti i pazienti con sindrome di Budd-Chiari e nei casi in cui una trombosi venosa portale sia insorta in assenza di una causa scatenante e in cui siano presenti dei fattori di rischio trombotico permanenti. In assenza di tali fattori o nei pazienti con trombosi portale provocata da una situazione a rischio una somministrazione di anti-vitamina K limitata a 3-6 mesi potrebbe essere sufficiente. La presenza di una PV o una TE va senz'altro considerata come un fattore di rischio costituzionale, con le implicazioni del caso sulla modulazione della profilassi antitrombotica a lungo termine. Se la sola presenza della mutazione JAK2V617F debba essere considerata alla pari di un fattore di rischio trombotico costituzionale tale da raccomandare un trattamento antitrombotico a lungo termine o un trattamento citostatico è al momento ignoto.

Comunque, nei pazienti con trombosi venosa splancnica la presenza di una neoplasia mieloproliferativa cronica come causa patogenetica non influenza negativamente la sopravvivenza né in generale né nei pazienti sottoposti a trapianto di fegato.

4.4.2 Trombosi venosa cerebrale

È controverso se anche nei pazienti con trombosi venosa cerebrale vi sia un'aumentata prevalenza della mutazione JAK2V617F. In due revisioni della letteratura la prevalenza della mutazione nei pazienti con trombosi venosa cerebrale è risultata compresa tra 1,7% e 2,5%. Limitatamente ad alcune serie di pazienti la ricerca della mutazione è stata però riportata con una resa diagnostica migliore. Comunque, considerata la rarità dell'interessamento venoso cerebrale nella popolazione generale, anche in questa manifestazione la presenza di JAK2V617F o di una neoplasia mieloproliferativa conclamata sembra riflettere un'associazione specifica, sia pure molto meno significativa rispetto alle trombosi venose splancniche. Inoltre nei pazienti con TE la presenza della mutazione è stata riportata incrementare significativamente il rischio di trombosi venosa cerebrale rispetto ai pazienti senza mutazione.

Le modalità di trattamento in fase acuta e a lungo termine non si differenziano da quanto consigliato in generale, prevedendo un periodo minimo di 3 mesi con anti-vitamina K in caso di trombosi venosa cerebrale a un fattore di rischio transitorio, di 6-12 mesi in caso di episodio non associato a circostanze a rischio o in presenza di trombofilia a penetranza clinica moderata, e di durata indefinita in caso di un

fattore permanente significativo per alto rischio trombotico. Anche in questo caso valgono le considerazioni già espresse per le trombosi venose splancniche sul ruolo di una presenza isolata di JAK2V617F o invece dell'evidenza di una neoplasia mieloproliferativa conclamata.

4.5 LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO TROMBOTICO: TROMBOFILIA E FATTORI DI RISCHIO GENERICI

L'aspettativa di vita dei pazienti con Policitemia Vera (PV) e Trombocitemia Essenziale (TE) è fortemente influenzata dalle complicanze emostatiche, quali la trombosi, e in misura minore, le emorragie. Secondo studi retrospettivi, l'incidenza di trombosi può variare dal 12% al 39% nella PV, e dall'11% al 25% nella TE. La trombosi in queste malattie si manifesta con occlusioni dei grossi vasi venosi e arteriosi o anche del microcircolo (*Tabella 4.4*).

TABELLA 4.4 Manifestazioni trombotiche nei pazienti con TE e PV

Trombosi Arteriosa	Trombosi Venosa	Disturbi del microcircolo
• Infarto del miocardio • Angina instabile • Ictus ischemico • Attacco ischemico transitorio • Tromboembolismo acuto viscerale e periferico	• Trombosi venosa profonda degli arti • Embolia polmonare • Trombosi venosa in sedi atipiche (trombosi delle vene viscerali e dei seni cerebrali) • Trombosi venosa superficiale	• Eritromelalgia • Convulsioni • Emicrania • Vertigini • Ronzii • Scotomi scintillanti • Amaurosi fugace

Le trombosi arteriose rappresentano il 60-70% degli eventi e danno origine a manifestazioni gravi quali l'ictus ischemico o l'infarto del miocardico. Le trombosi venose si manifestano come trombosi venosa profonda degli arti ed embolia polmonare, ma coinvolgono anche sedi atipiche, come il sistema venoso addominale (epatico, portale, e mesenterico) e quello cerebrale. L'incidenza delle trombosi venose in sedi atipiche è insolitamente elevata nei pazienti con PV e TE e precede spesso la diagnosi della malattia mieloproliferativa. Le occlusioni del microcircolo si manifestano con un ampio spettro di sintomi clinici, come indicato nella *Tabella 4.4*.

4.5.1 Stato di trombofilia

Anche in assenza di manifestazioni trombotiche conclamate, i pazienti con PV e TE presentano uno stato di trombofilia, caratterizzato da una elevata concentrazione plasmatica di marcatori di attivazione del sistema emocoagulativo. La patogenesi della trombofilia nelle malattie mieloproliferative croniche Ph negative è complessa. Tra i vari meccanismi, un ruolo importante è svolto dalle alterazioni di eritrociti, piastrine e leucociti, derivati dalla proliferazione clonale delle cellule progenitrici ematopoietiche. Queste alterazioni non consistono solo in variazioni quantitative di queste cellule, che, attraverso il loro aumento, creano uno stato di iperviscosità, ma anche coinvolgono cambiamenti qualitativi molecolari. Tali cambiamenti comprendono l'acquisizione da parte delle piastrine, dei globuli rossi e dei leucociti, di un fenotipo cellulare protrombotico, caratterizzato dalla capacità di: (a) produrre attività procoagulanti e proteolitiche, (b) secernere citochine infiammatorie, e (c) esprimere molecole di adesione. Inoltre, anche il danno endoteliale, causato sia dalla iperviscosità del sangue che dalle proteasi rilasciate dai leucociti (ovvero elastasi, cathepsina-G, e mieloperossidasi), predispone alla trombosi poiché determina l'espressione di molecole di adesione (contro-recettori) sull'endotelio.

L'adesione delle piastrine e dei leucociti alle cellule endoteliali è un importante meccanismo di trombosi e localizza sulla parete vascolare l'azione dei peptidi angiogenici e trombogenici rilasciati dalle cellule infiammatorie. Recentemente, altri due possibili meccanismi di ipercoagulabilità sistemica sono stati identificati nei pazienti con PV e TE, e cioè: l'aumento della produzione di microparticelle procoagulanti, e la presenza di una resistenza acquisita alla proteina C attivata.

4.5.2 Fattori di rischio trombotico

La gestione della PV e della TE rimane fortemente dipendente dal rischio trombotico del paziente. L'uso di farmaci mielosoppressivi (i.e. idrossiurea) riduce l'incidenza di trombosi e di emorragie, ma può anche favorire la trasformazione leucemica. Pertanto, una strategia che indichi l'impiego di tali farmaci sulla base del livello di rischio è altamente raccomandata. Diversi studi di coorte prospettici e retrospettivi nella PV e nella TE hanno identificato l'età maggiore di 60 anni e la storia pregressa di trombosi come i principali fattori di rischio per complicanze vascolari. La presenza di almeno uno di questi fattori identifica i pazienti ad alto rischio, mentre la loro assenza identifica quelli a basso rischio. C'è un grande interesse nell'identificare altri fattori di rischio trombotico in particolare in individui giovani o asintomatici, che

presentano un rischio medio/basso, ma non del tutto assente.

Sono stati presi in considerazione:

1. La presenza di fattori di rischio generici per malattie cardiovascolari, come il fumo, l'ipertensione, il diabete, la dislipidemia.
2. La presenza di fattori di rischio ereditari (come i deficit degli inibitori della coagulazione e le anomalie genetiche dei Fattori V e II) o acquisiti (come la positività per gli anticorpi antifosfolipidi o l'iperomocisteinemia), noti per incrementare il rischio trombotico nella popolazione generale.
3. Il ruolo di fattori specifici legati alla malattia mieloproliferativa cronica Ph negativa, quali l'elevato ematocrito e la trombocitosi, oppure, più di recente, l'impatto di nuovi fattori, quali la leucocitosi e la presenza della mutazione JAK2V617F, o il suo carico allelico.

1. Fattori di rischio generici per malattie cardiovascolari

Il ruolo dei convenzionali fattori di rischio cardiovascolari (i.e.: fumo, ipertensione, diabete mellito, dislipidemia) è oggetto di dibattito e attualmente tali fattori non vengono considerati nella classificazione formale del rischio. Nello studio di Cortelazzo e coll., in una coorte di 100 pazienti consecutivi e non selezionati con TE, il fumo di sigaretta, il diabete mellito, l'iperlipidemia, e l'ipertensione non si associavano a una maggiore incidenza di eventi trombotici. Diversamente, in una analisi retrospettiva di 46 pazienti con TE, i soggetti con fattori di rischio generici, in particolare il fumo di sigaretta, avevano una frequenza di complicanze arteriose due volte superiore a quella dei pazienti senza tali fattori di rischio (62,5% vs 22,7%, $p < 0,05$). Al contrario, nello stesso gruppo di pazienti, non veniva osservata alcuna associazione tra i fattori di rischio cardiovascolare e le trombosi venose o le complicanze emorragiche.

In linea con questi risultati, l'analisi dei fattori di rischio cardiovascolare, in uno studio prospettico di 306 pazienti consecutivi con TE, mostrava che nei pazienti con storia negativa per trombosi vi era una significativa correlazione tra la presenza dei fattori di rischio analizzati e l'insorgenza di eventi trombotici nel follow-up ($p < 0,05$). Tale studio suggeriva di considerare i pazienti con queste caratteristiche come soggetti a rischio intermedio, eleggibili alla terapia anti-aggregante e/o citoriduttiva. Il ruolo dei classici fattori di rischio cardiovascolare è stato valutato anche nel gruppo di pazienti arruolati nello studio ECLAP (European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera). I risultati di tale analisi hanno evidenziato una associazione fra ipertensione e aumentato rischio trombotico (sebbene non significativa) e tra il fumo e un aumentato rischio di eventi trombotici arteriosi (Hazard ratio, HR: 1,90; intervallo di confidenza, IC: 1,15-3,15; $p = 0,012$). Risultati simili sono stati riportati

anche nella TE, dove la presenza di diabete mellito e ipertensione alla diagnosi si associava a una maggiore incidenza di complicanze trombotiche in un follow-up medio di 12 anni. In un altro studio recente, che ha valutato 891 pazienti con TE, l'analisi multivariata ha mostrato che i fattori di rischio cardiovascolare, tra cui l'uso di tabacco, l'ipertensione, o il diabete mellito, hanno un valore predittivo positivo per trombosi arteriose ($p=0,007$, $HR=1,9$). Infine l'impatto dei fattori di rischio cardiovascolare (fumo, ipertensione, diabete mellito, ipercolesterolemia) sul rischio di complicanze trombotiche è stato valutato retrospettivamente in 132 pazienti con TE. I risultati di questo studio mostrano che il sesso maschile aumenta il rischio di trombosi arteriosa in modo significativo, mentre il fumo è fortemente predittivo per lo sviluppo di complicanze arteriose nel sesso femminile, ma non in quello maschile.

Allo stato attuale, non possiamo considerare come conclusive le evidenze disponibili e pertanto non è possibile includere questi fattori nella stratificazione del rischio nel singolo paziente. Tuttavia sulla base delle nostre conoscenze sul rischio trombotico nelle malattie cardiovascolari, è ragionevole raccomandare l'attento controllo e, ove possibile, l'eliminazione di tali fattori di rischio nei pazienti con neoplasie mieloproliferative croniche Ph negative.

2. Fattori trombofilici ereditari o acquisiti

Negli ultimi 30 anni sono stati identificati una serie di fattori di rischio ematologici ereditari o acquisiti, che si manifestano con l'aumento dei livelli di fattori della coagulazione o con la riduzione dei livelli di inibitori della coagulazione. Tali fattori incrementano il rischio trombotico nel singolo individuo, nella popolazione generale, e sono responsabili di una parte significativa delle trombosi che avvengono in età giovanile. I fattori ereditari sicuramente associati a un aumentato rischio di trombosi (soprattutto venose) comprendono (*Tabella 4.5*): la mutazione genica G1691A del Fattore V della coagulazione (cosiddetto FV Leiden), che rende questo fattore meno sensibile alla degradazione da parte della proteina C attivata (PCa) (detta anche resistenza alla PCa ereditaria), la mutazione G20210A della protrombina che determina un elevato livello plasmatico di questo fattore, e i deficit degli inibitori della coagulazione, Antitrombina, Proteina C e Proteina S.

I fattori acquisiti comprendono: la positività per gli anticorpi antifosfolipidi (lupus anticoagulant o LAC, anticorpi anti-cardiolipina e anti $\beta 2$ - glicoproteina 1), che predispongono alle trombosi sia arteriose che venose, gli aumentati livelli di omocisteina, un fattore di rischio lieve per trombosi soprattutto arteriose, e altri fattori indicati nella *Tabella 4.5*. Lo screening trombofilico comprende l'analisi di tali fattori ed è indicato nei casi di trombosi inspiegate, senza causa apparente, soprattutto

in età giovanile. Al momento, non si raccomanda di eseguire lo screening in tutti i pazienti con neoplasie mieloproliferative Ph negative, ma è importante tener conto della presenza di uno o più di questi fattori, se già noti, in questi pazienti.

TABELLA 4.5 Fattori di rischio ematologici ereditari o acquisiti nella popolazione generale

Fattori di rischio Ereditari	Fattori di rischio Acquisiti
Mutazione G1691A del Fattore V (Fattore V Leiden)	Anticorpi anti-fosfolipidi: • Lupus anticoagulant • Anticorpi anticardiolipina • Anticorpi anti-β2 glicoproteina 1
Mutazione G20210A della protrombina	Iperomocisteinemia
Deficit di Proteina C	Resistenza alla proteina C attivata acquisita
Deficit di proteina S	Elevati livelli di Fattore VIII
Deficit di Antitrombina	

Alcuni studi hanno valutato se la presenza di fattori trombofilici ereditari o acquisiti, può avere un effetto additivo sul rischio trombotico intrinseco dei pazienti portatori di neoplasie mieloproliferative croniche Ph negative, tuttavia i risultati sono elusivi. In una coorte di 304 pazienti con PV ed TE, il 16% dei pazienti con trombosi venosa era portatore del FV Leiden. Questa percentuale rispecchiava la pura associazione esistente tra FV Leiden e trombosi venosa nella popolazione generale, ma non l’interazione con il rischio trombotico legato alla neoplasie mieloproliferative.

Al contrario, in una coorte di 214 pazienti con PV e TE il rischio di TEV associato alla mutazione G20210A della protrombina era superiore a quello atteso. L’effetto di essere portatori sia della mutazione JAK2V617F che della trombofilia ereditaria (FV Leiden e/o mutazione della protrombina) è stato valutato in una coorte di pazienti con TE. I risultati mostrano che solo i pazienti con età <60 anni che avevano sia la mutazione JAK2V617F che la trombofilia avevano un rischio relativo di 2,23 (IC 95%: 1,57-3,18) e 7,66 (IC95% 2,66-22,03) rispetto ai pazienti con la mutazione o wild-type senza trombofilia, rispettivamente. La presenza di trombofilia è stata associata anche a una maggiore probabilità di sviluppare una recidiva di trombosi dopo il primo episodio in pazienti con TE e PV. Nella popolazione generale la maggior parte delle trombofilie ereditarie si associa solo con un rischio moderato di recidive, per cui

l'aumentato rischio osservato nei pazienti con TE e PV potrebbe proprio rappresentare l'interazione tra la trombofilia ereditaria e la malattia mieloproliferativa.

Per quanto riguarda i fattori di rischio trombofilici acquisiti, esistono alcune informazioni che riguardano i pazienti con malattie mieloproliferative Ph negative. Uno studio retrospettivo sulla prevalenza di anticorpi anti-fosfolipidi (APA), condotto in 68 pazienti con TE, ha mostrato un aumento significativo degli anticorpi anticardiolipina tipo IgM ($p < 0,0001$) e anti $\beta 2$ glicoproteina I (anti $\beta 2$ GPI) tipo IgM ($p < 0,0001$), rispetto a una popolazione di controllo. Inoltre la presenza di una positività per più di uno di questi anticorpi si associava a una maggiore incidenza di trombosi. Diversamente, uno studio recente in un'ampia coorte di pazienti con malattie mieloproliferative croniche Ph negative ($n=118$) non ha evidenziato differenze significative nell'incidenza di APA tra pazienti e controlli (11% vs 14%, $p = 0,46$).

L'iperomocisteinemia è spesso presente nei pazienti con TE o PV, a causa del discreto depauperamento di cobalamina o di folati. La terapia vitaminica, che porta alla normalizzazione dell'omocisteina plasmatica, va quindi considerata. L'associazione tra iperomocisteinemia e trombosi nella TE e PV non è chiaramente dimostrata. Due studi, uno in 139 pazienti con TE e PV e uno successivo in 50 pazienti con TE, PV e MP, hanno evidenziato che l'iperomocisteinemia, pur essendo presente nel 50-60% dei pazienti, non si associa a un maggior rischio di trombosi. Diversamente, uno studio retrospettivo in 79 pazienti con TE, PV o MP, aveva dimostrato elevati livelli di omocisteina nel 66% dei pazienti che avevano avuto manifestazioni arteriose, suggerendo un coinvolgimento di questo fattore di rischio nello sviluppo di trombosi arteriose.

Infine, anche nella TE e nella PV è stata riscontrata (al pari di altre condizioni associate ad aumentato rischio trombotico, come la gravidanza, l'uso di contraccettivi orali, la terapia ormonale e il cancro) la presenza di una resistenza alla PCa acquisita, soprattutto in pazienti portatori omozigoti della mutazione di JAK2V617F (ovvero JAK2V617F $>50\%$). La presenza di tale resistenza è associata a ridotti livelli di Proteina S e non è legata ad alterazioni genetiche del Fattore V (come il Fattore V Leiden).

3. Fattori di rischio trombotico specifici della TE e della PV

Eritrocitosi

L'effetto pro-trombotico di un ematocrito elevato è stato chiaramente dimostrato nei pazienti con PV: per valori progressivamente più alti di ematocrito si ha un aumento del rischio di trombosi. L'ematocrito sopra il limite superiore del valore normale può essere un fattore importante nella genesi degli episodi vascolari occlusivi,

in particolare nel circolo cerebrale, poiché determina un aumento della viscosità del sangue. È stato osservato che ai valori alti di ematocrito (47-53%) corrisponde un flusso ematico cerebrale ridotto rispetto a quello riscontrato con valori di ematocrito in un intervallo più basso (36-46%). Inoltre, la riduzione dell'ematocrito da salasso, aumenta il flusso di una media del 50%, grazie principalmente a una riduzione della viscosità. In soggetti con PV non trattati, incidenti trombotici si verificano più frequentemente nel circolo cerebrale, che è particolarmente sensibile all'iperviscosità del sangue. Ad alto shear stress, l'aumento della massa dei globuli rossi sposta le piastrine verso la parete del vaso agevolando in tal modo l'attivazione piastrinica e potenziando ulteriormente l'interazione piastrine-piastrine. Inoltre, a basso shear stress, come si verifica nel flusso venoso, l'iperviscosità può aumentare il rischio trombotico, provocando un disturbo maggiore del flusso sanguigno. Una corretta gestione dell'iperviscosità del sangue è fondamentale, ma non abolisce l'attivazione piastrinica *in vivo* e il rischio di trombosi nei soggetti con PV.

Trombocitosi

Il ruolo della trombocitosi nella patogenesi di eventi trombotici è controversa. Anche se sono stati riportati un miglioramento clinico dei disturbi del microcircolo e/o un miglioramento della funzione piastrinica dopo il controllo della trombocitosi, non è stata finora dimostrata nessuna chiara correlazione tra trombocitosi e il rischio di eventi cardiovascolari. Ad esempio, sia nello studio PVSG che nello studio prospettico ECLAP, la conta delle piastrine non era predittiva per trombosi. A oggi, i risultati dell'unico trial randomizzato (Primary Thrombocythemia 1 [PT1] study), che ha arruolato pazienti con TE ad alto rischio a ricevere idrossiurea (un farmaco mielosoppressivo globale) o anagrelide (un farmaco che riduce solo le piastrine), ha dimostrato che, nonostante un pari controllo della conta piastrinica da parte dei due farmaci, l'endpoint composito primario (trombosi arteriosa o venosa, emorragie gravi o morte per cause vascolari) veniva raggiunto più frequentemente dai soggetti che ricevevano anagrelide rispetto a quelli che ricevevano idrossiurea.

Gli effetti globali dell'idrossiurea sulle altre cellule del sangue, oltre alle piastrine, potrebbero essere alla base della correlazione tra il controllo della conta piastrinica e la riduzione dell'incidenza di trombosi osservata nel primo studio prospettico in pazienti con TE ad alto rischio. Diversamente, una correlazione tra trombocitosi e trombosi è stata trovata nella MI, una condizione caratterizzata da eventi cardiovascolari meno frequenti rispetto a PV o TE.

Una trombocitosi estrema (cioè piastrine $>1.500 \times 10^9/L$), d'altro canto, può favorire l'emorragia. Questo paradosso è stato attribuito all'insorgenza di una forma acquisita

della sindrome di von Willebrand (AVWS, acquired von Willebrand syndrome), a causa di un aumento della clearance dei multimeri ad alto peso molecolare del fattore di von Willebrand (VWF) dal plasma. La riduzione della conta piastrinica si è dimostrata efficace nel normalizzare il pattern dei multimeri del VWF e nel ridurre la tendenza al sanguinamento. In particolare, secondo il Registro Internazionale sulla AVWS, tale sindrome si associa alle neoplasie mieloproliferative croniche in 11-15% dei casi. La maggior parte di questi pazienti (52%) non ha una storia di sanguinamento, mentre il 48% ha una diatesi emorragica: tutti hanno un ridotto rapporto tra attività e antigene del VWF e l'86% ha una carenza dei multimeri ad alto peso molecolare del VWF, come accade nella malattia congenita di VW di tipo 2A. L'interazione tra il VWF e le piastrine in condizioni di elevato shear stress possono contribuire alla diminuzione relativa dei multimeri ad alto peso molecolare del VWF plasmatico.

Mentre i dati sul ruolo delle trombocitosi nella patogenesi della trombosi in TE e PV non sono conclusivi, ci sono evidenze che suggeriscono un contributo delle piastrine nel rischio trombotico indipendentemente dal loro numero. Ad esempio, un ruolo delle piastrine nella formazione di occlusioni microvascolari (eritromelalgia) nei pazienti con TE è suggerito dal miglioramento dei sintomi con l'aspirina (e non con la warfarina), e dalla normalizzazione dei test di attivazione piastrinica *in vivo*. Inoltre, l'aspirina a basso dosaggio ha ridotto significativamente il rischio di eventi cardiovascolari nei pazienti con PV arruolati nello studio ECLAP.

Le caratteristiche peculiari della diatesi trombo-emorragica nelle TE e PV, ha indotto il disegno di molti studi *in vitro* per dimostrare e caratterizzare possibili anomalie piastriniche. Questi sforzi hanno portato all'identificazione di un grande numero di anomalie morfologiche, funzionali e biochimiche nel passato che indicavano una ridotta funzionalità piastrinica. Al contrario, studi più recenti hanno dimostrato che le piastrine di questi pazienti circolano in uno stato attivato, come evidenziato dall'aumentata espressione sulla loro superficie di P-selettina, dalla presenza di aumentati livelli di prodotti di attivazione piastrinica nel plasma (β tromboglobulina e fattore piastrinico 4) e nelle urine (trombossano (TX) A2 metaboliti 11 - diidro-TxB2 e 2,3-dinor-TxB2), e da una aumentata capacità delle piastrine di generare trombina.

Leucocitosi

Negli ultimi anni, molti studi retrospettivi hanno identificato la leucocitosi come un potenziale fattore di rischio per la trombosi arteriosa e venosa nei pazienti con TE e PV. Inoltre, la leucocitosi è stata anche identificata come un fattore di rischio per recidiva di trombosi arteriosa nei giovani (cioè <60 anni) pazienti con TE o PV (HR per la ricorrenza arteriosa: 3,35, 95% CI 1,22-9,19). Diversamente, uno studio

retrospettivo ha dimostrato che la leucocitosi alla diagnosi (definita da un livello limite di $15 \text{ o } 9,4 \times 10^9/\text{L}$) non sembra influenzare il rischio di trombosi nei pazienti TE o PV a basso rischio. Studi clinici prospettici con stratificazione dei pazienti in base alla loro conta dei leucociti al basale sono necessari per classificare definitivamente la leucocitosi come un fattore di rischio prognostico. Per quanto riguarda i meccanismi con cui i leucociti possono contribuire alla patogenesi della trombosi nella TE e nella PV, è stato osservato che tali cellule e soprattutto i neutrofili, circolano in uno stato attivato in questi pazienti. I neutrofili una volta attivati, hanno la capacità di interagire con le piastrine, con le cellule endoteliali, e con il sistema della coagulazione. Questo perché, una volta attivati, i neutrofili producono specie reattive dell'ossigeno, rilasciano enzimi proteolitici dai granuli citoplasmatici azzurrofilici (elastasi, catepsina G), ed esprimono livelli più di molecole di adesione sulla loro superficie. Tutte queste molecole possono influenzare il sistema emostatico e indurre uno stato pro-trombotico.

La mutazione JAK2V617F

Diversi studi hanno valutato il ruolo della mutazione JAK2V617F e/o del suo carico allelico sul rischio di trombosi nei pazienti con neoplasie mieloproliferative croniche. Alcuni di questi supportano l'ipotesi che la mutazione JAK2 è associata a un aumentato rischio di trombosi nei pazienti con TE portatori della mutazione, soprattutto negli individui omozigoti e in quelli di età di 60 anni. Nella metanalisi di Dahabreha et al, che ha incluso 2.436 pazienti con TE, la mutazione JAK2V617F si associava a un rischio significativamente maggiore di eventi cardiovascolari avversi (OR: 1,83, 95% CI: 1,32-2,53, $p < 0,0001$), e suggeriva che l'effetto di questa mutazione sul rischio trombotico può essere principalmente mediato da un aumento della conta leucocitaria. Al contrario, in una coorte di 657 pazienti con TE, la mutazione di JAK2 non influenza il rischio trombotico. Tali discrepanze potrebbero essere spiegate, almeno in parte, dai diversi carichi mutazionali dei pazienti esaminati, ovvero se il paziente aveva la mutazione nello stato omozigote (cioè $>50\%$).

Recentemente, una metanalisi che ha incluso studi condotti in pazienti con TE e PMF, ha dimostrato che nei pazienti con TE, la presenza della mutazione JAK2V617F era associata a un significativo rischio due volte maggiore di trombosi (OR 1,92, 95% CI 1,45- 2,53), sia venosa (OR 2,49, 95% CI 1,71-3,61) che arteriosa (OR 1,77, 95% CI 1,29-2,43), mentre il suo ruolo nei pazienti PMF è incerto. Alcuni studi hanno valutato se la mutazione JAK2V617F può specificamente interessare il sistema emostatico. Complessivamente questi studi indicano che sia il compartimento cellulare (piastrine e leucociti) che quello plasmatico dell'emostasi è più attivo nei pazienti positivi per la mutazione JAK2V617F. Tuttavia, pochi sono gli studi che hanno valutato i meccanismi

molecolari con cui la mutazione JAK2V617F può influenzare il fenotipo protrombotico di una cellula. Fra questi, è stato riportato che l'attivazione di JAK2 sembra essere coinvolta nei meccanismi di espressione di tissue factor nei neutrofili e nei monociti.

4.6 IL PAZIENTE CON COMPLICANZE EMORRAGICHE

La prima descrizione di una complicanza emorragica in un paziente con neoplasia mieloproliferativa cronica (NMPc) risale al 1899, quando Cabot riportò il decorso clinico di un paziente con diagnosi di Policitemia Vera, caratterizzato da attacchi ischemici transitori, facilità ecchimotica, sanguinamento post-estrattivo e da emorragia cerebrale. Da allora, le emorragie, assieme alle complicanze trombotiche, sono state considerate come le cause più frequenti di morbidità e mortalità in queste patologie ematologiche. I sanguinamenti sono comunque osservati con minore frequenza rispetto alle trombosi nelle tre forme classiche di NMPc (Policitemia Vera, PV; Trombocitemia Essenziale, TE; Mielofibrosi Primaria, MP), sia all'esordio della malattia che durante il follow-up, anche se è stato ritenuto che possano clinicamente caratterizzare la TE con marcata piastrinosi (un tempo conosciuta infatti con il nome di Trombocitemia Emorragica) e la MP nelle fasi avanzate con severa piastrinopenia.

Le complicanze emorragiche possono inoltre svelare l'inizio di una evoluzione blastica nelle tre forme, in pazienti quindi con un usualmente lungo follow-up. Una stima precisa della frequenza delle emorragie è difficile da stabilire, anche per l'assenza di criteri omogenei di rilevazione e di descrizione del sintomo, mai rapportati a una scala di gravità (tipo la scala WHO con 4 gradi utilizzata per graduare le complicanze emorragiche in oncologia) che possano consentire la comparabilità tra le casistiche. Sia per PV che per TE, si registrano incidenze cumulative più elevate alla diagnosi che durante il follow-up (tra 1,7% e 20% e tra 3,6% e 37% all'esordio per PV e TE; attorno a 1,7%-1,8% e tra 0,7 e 7,3% durante il follow-up per PV e TE), con frequenze riportate più elevate nelle casistiche meno recenti, segno verosimilmente di una possibilità di controllare con la terapia specifica tali complicanze (ma non di eliminarle completamente) e di un aumento della diagnosi nelle fasi di asintomaticità, per un maggior ricorso a esami di screening o check-up in benessere clinico. Per quanto riguarda la MP, le incidenze cumulate osservate alla diagnosi degli episodi di emorragia variano dal 5% al 20%, con sanguinamenti per lo più di lieve entità (petecchie, ecchimosi) associati a piastrinopenia. Durante il follow-up in pazienti con MP, i sintomi emorragici sono per lo più correlati a interventi chirurgici, in particolar modo la splenectomia.

Una modalità più moderna e informativa di esprimere la frequenza degli episodi emorragici è il calcolo del tasso osservato nella coorte, rapportato al tempo di osservazione (normalizzato per numero di episodi registrati in 100 pazienti per anno di studio). Lo studio ECLAP ha osservato prospetticamente una coorte di 1.638 pazienti con diagnosi di PV per un follow-up mediano di 2,7 anni: gli eventi emorragici totali e quelli maggiori sono stati rispettivamente 2,9 e 0,8 per 100 pazienti per anno; 7/1.638 (0,4) i pazienti deceduti per cause emorragiche. In un recente studio osservazionale retrospettivo, condotto in 300 pazienti con TE a basso rischio da Alvarez-Larran e colleghi per un follow-up mediano di 9 anni, il tasso di eventi emorragici è stato di 1,26 e di 0,6 per 100 pazienti per anno in pazienti rispettivamente con e senza profilassi antiaggregante con aspirina. Non sono invece noti studi che abbiano valutato il tasso di complicanze emorragiche rapportato al tempo di osservazione in coorti di pazienti con MP.

4.6.1 Patogenesi

In considerazione del quadro fenotipico del sintomo emorragia nelle NMPc, che sembra coinvolgere in particolare l'emostasi primaria, quindi con sintomatologia mucoso-cutanea (petecchie, ecchimosi, epistassi), particolare attenzione è stata data, specie negli anni 80'-90', allo studio della funzione piastrinica, nella ipotesi che la patogenesi della diatesi emorragica fosse dovuta soprattutto a difetti qualitativi piastrinici. In effetti, specie in pazienti con TE, furono allora evidenziati difetti in tutte le fasi della funzione piastrinica in un numero variabile di casi, come allungamento del tempo di emorragia, anormale aggregazione piastrinica ai vari agonisti, aggregazione piastrinica spontanea, "storage pool disease" acquisito, difetti di membrana. Di fatto poi, numerosi studi su coorti di pazienti non sono riusciti a evidenziare alcun valore predittivo di tali test, mancando una correlazione significativa tra laboratorio e quadro clinico.

Dal punto di vista patogenetico, di particolare interesse è invece l'osservazione di una sindrome di von Willebrand acquisita in pazienti con piastrinosi marcata. Tale sindrome è caratterizzata dalla evenienza di sintomi emorragici spontanei, conte piastriniche molto elevate, allungamento del tempo di emorragia, normale attività del Fattore VIII, normale concentrazione antigenica del fattore di von Willebrand, ridotta attività del fattore di von Willebrand (valutata come attività di cofattore ristocetinico), con assenza o grave carenza dei multimeri a largo peso molecolare, configurando così una malattia di von Willebrand di II tipo o disfunzionale. La riduzione della conta piastrinica comporta la risoluzione del quadro clinico e la normalizzazione dei

parametri di laboratorio. La patogenesi di tale coagulopatia non è esattamente nota, ipotizzando difetti di sintesi, di rilascio, una aumentata proteolisi o l'adsorbimento dei multimeri ad alto peso alle glicoproteine piastriniche.

4.6.2 Fattori di rischio

A differenza dei fattori di rischio per gli eventi occlusivi, che sono stati da tempo ben identificati nell'età avanzata e nella evenienza di precedenti eventi trombotici, non sono stati sottolineati in letteratura chiare evidenze o caratteristiche associate con forza alle complicanze emorragiche. Questo probabilmente per la minore frequenza degli episodi di sanguinamento, che rende difficile trovare una associazione significativa stante la non sufficiente numerosità delle casistiche pubblicate. Inoltre può essere speculato che, essendo l'emorragia un episodio acuto, può dipendere da condizioni locali che si sviluppano con una breve temporalità (ad esempio un trauma o una puntata ipertensiva o una situazione di stress gastrico).

Fattori classicamente associati a eventi emorragici sono comunque una marcata piastrinosi, una severa piastrinopenia, l'utilizzo di trattamento antiaggregante (studi ECLAP e PVSG), una anticoagulazione eccessiva, una storia di precedenti episodi di emorragia, l'utilizzo di anagrelide (in confronto con idrossiurea), il trauma chirurgico. Una interessante osservazione, posta dal gruppo inglese del "Primary Thrombocythemia-1 trial" mediante una analisi di 311 pazienti con TE con biopsia osteo-midollare alla diagnosi, poi prospetticamente osservati, ha permesso di correlare elevati livelli di reticolina midollare con una maggiore frequenza di emorragie maggiori (hazard ratio 2,0; 95% CI 1-3,9; $p=0,05$). Non è chiarita la possibile patogenesi di tale associazione, tenuto conto che aumentati gradi di reticolina correlano anche con un incremento del rischio di trombosi arteriosa.

4.6.3 Clinica

Il sintomo probabilmente più frequente è rappresentato dalla emorragia gastroenterica, favorita sia dall'uso di acido acetilsalicilico come profilassi primaria e secondaria degli eventi occlusivi arteriosi sia da una comunque evidente predisposizione agli episodi gastrici erosivi. Altri siti affetti sono la cute e le mucose; più rare sono le emorragie intracerebrali, retiniche e retroperitoneali; eccezionali gli episodi di emartrosi simil-emofilici.

4.6.4 Terapia

Gestione generale

In presenza di evento emorragico è necessario il controllo dei valori emocromocitometrici e del profilo coagulativo; è necessaria la sospensione, almeno temporaneamente, di ogni trattamento eventuale antiaggregante e anticoagulante, valutando poi l'eventuale possibilità di ripresa in base all'entità del sanguinamento, alla sua durata e alla necessità di attuare comunque una profilassi antitrombotica (esempio in caso di protesi valvolari cardiache metalliche, in presenza di episodi ripetuti di trombosi venosa profonda o in caso di eventi veno-occlusivi distretti particolari come i seni cerebrali o il distretto splancnico). È indicato, negli eventi maggiori, il monitoraggio della funzione cardiovascolare, intervenendo nelle situazioni a rischio di scompenso. È necessario infine il controllo di eventuali condizioni che possono aver favorito l'insorgenza del sanguinamento; in particolare una crisi ipertensiva o un traumatismo.

Terapia sostitutiva e citoriduzione

Gli episodi emorragici maggiori, con anemizzazione acuta, richiedono il supporto trasfusionale, specie nei pazienti anziani o con funzione cardiovascolare compromessa. In presenza di piastrinopenia è necessaria la trasfusione di concentrati piastrinici; in caso di marcata piastrinosi può essere indicata la piastrinoafèresi con trasfusione di concentrati piastrinici, tenuto conto della possibilità di ipofunzionalità delle piastrine del paziente; concomitantemente è indicata la citoriduzione farmacologica, con idrossiurea, iniziando con una posologia di 500 mg due-quattro volte al giorno. Non è infrequente osservare pazienti con diagnosi di PV e diatesi emorragica all'esordio associati a valori di ematocrito marcatamente elevati; in questi casi può essere riscontrato un tempo di tromboplastina parziale allungato: è necessario porre il paziente in trattamento citoriduttivo flebotomico, che comporta usualmente una normalizzazione della coagulopatia nelle settimane seguenti.

Il sintomo emorragico più frequente è costituito da sanguinamento gastro-enterico, specie in pazienti trattati con aspirina a dosaggio medio (300-500 mg/die) non più consigliato dopo l'esperienza ECLAP: in tali casi è imprescindibile l'esecuzione di esame endoscopico, la terapia specifica per lesione ulcerose (quasi sempre presenti), il supporto trasfusionale se indicato e la sospensione dell'assunzione di aspirina. Nel caso il paziente abbia comunque un'indicazione forte alla profilassi antitrombotica (esempio per pregressi eventi occlusivi cerebrali, per stent coronarici medicati, per interventi di chirurgia vascolare) può essere ripristinata la profilassi antiaggregante,

alla risoluzione dell'episodio emorragico, utilizzando una tienopiridina (clopidogrel o ticlopidina) o la stessa aspirina, associata a protezione gastrica.

Un evento emorragico rappresenta un'indicazione all'inizio di trattamento citoriduttivo specifico, per ridurre entro i limiti di normalità una eventuale piastrinosi associata. Tale terapia dovrà essere mantenuta a tempo indeterminato.

Uso farmaci emostatici

Nel caso di eventi emorragici maggiori, con pericolo di vita, oltre alle iniziative terapeutiche sopra esposte, si dovrà prendere in considerazione l'uso di farmaci ad azione emostatica o procoagulante, valutando la bilancia tra beneficio di una risoluzione rapida dell'evento emorragico con il rischio di episodio occlusivo vascolare, già insito nei pazienti con NMPc, che questi farmaci possono comportare.

Farmaci antifibrinolitici: sono rappresentati dall'acido ϵ -aminocaproico (dose 50-60 mg/Kg ogni 4-6 ore) e l'acido tranexamico (dose 20-25 mg/Kg ogni 8-12 ore). Trovano indicazione negli episodi emorragici lievi delle mucose (epistassi, menorragie, sanguinamenti post-estrattivi; emorragie genito-urinarie se non accompagnate da ematuria macroscopica per il rischio di trombosi ureterale) e come terapia aggiuntiva ad altri interventi nei sanguinamenti maggiori.

Desmopressina: la dose usuale è 0,3 μ g/Kg in 30 minuti in infusione venosa o sottocute, ogni 12-24 ore. Trova indicazione negli episodi di emorragia in caso di malattia di von Willebrand acquisita, tuttavia con rate di successo ridotto, attorno al 20%. Il suo utilizzo è solitamente limitato ai centri che sono in grado di monitorare il fattore di von Willebrand (attività o antigene).

Concentrati del fattore VIII coagulante/fattore di von Willebrand: sono infusi alla dose di 30-100 unità/Kg, a seconda della severità dell'episodio emorragico, nelle forme di malattia di von Willebrand acquisita; come per la desmopressina, il picco del fattore infuso può essere di breve durata; il loro utilizzo è solitamente limitato a centri con esperienza nel trattamento delle malattie emorragiche ereditarie.

Fattore VII attivato ricombinante: la dose varia da 40 a 120 μ g/Kg, da ripetere una – due volte ogni 2-4 ore. L'uso per trattare emorragie in pazienti con NMPc è "off-label", solo sporadicamente riportato.

4.7 PROFILASSI PRIMARIA E SECONDARIA CON ASPIRINA

4.7.1 Il caso

Una donna di 45 anni esegue esami per un check-up programmato sul luogo di lavoro in assenza di sintomatologia clinica. I valori di emocromo sono i seguenti: emoglobina 13,4 g/dL; leucociti 5.200/mmc con normale formula leucocitaria; piastrine 1.100.000/mmc. L'anamnesi familiare, fisiologica e patologica remota non rivela dati di rilievo. Non fuma e non assume abitualmente farmaci. In particolare, non presenta diabete, ipertensione arteriosa o ipercolesterolemia. L'esame obiettivo è negativo e non si rileva splenomegalia. Le indagini diagnostiche per trombocitosi (vedi par. 2.2) confermano la trombocitemia isolata (piastrine 1.200.000/mmc) e dimostrano un quadro istologico midollare compatibile con trombocitemia essenziale. La ricerca della mutazione V617F di JAK2 è negativa.

4.7.2 L'aspirina nella PV

Nei pazienti con policitemia vera, l'uso dell'aspirina è stato studiato in tre trials clinici randomizzati, riassunti in *Tabella 4.6*. Il primo è stato condotto molti anni fa negli Stati Uniti dal Polycythemia Vera Study Group (trial PVSG-05) e ha confrontato un gruppo di pazienti trattati con salassi, dipiridamolo e aspirina a dosi elevate (900 mg al giorno) a un altro gruppo trattato con fosforo radioattivo. I risultati hanno indicato una maggiore incidenza sia di trombosi che di emorragie nel primo gruppo di pazienti. Nonostante gli evidenti limiti metodologici di questo studio che comparava trattamenti non omogenei e usava dosi di aspirina non più attuali, il farmaco è stato per lungo tempo considerato, specialmente negli Stati Uniti, rischioso e poco efficace nei pazienti con PV.

Solo a metà degli anni '90, uno studio pilota italiano ha riproposto l'uso dell'aspirina nella PV in termini moderni, dimostrando che 40 mg al giorno non aumentavano il rischio emorragico e avevano la possibilità di ridurre significativamente le complicanze vascolari in confronto al gruppo di controllo trattato con placebo. Sulla base di questo studio pilota, è stato disegnato e condotto un trial clinico multicentrico europeo, randomizzato, in doppio cieco, che ha confrontato l'efficacia e la sicurezza di 100 mg al giorno di aspirina vs. placebo in 532 pazienti con PV (ECLAP, European Collaboration on Low-dose Aspirin in Polycythemia vera). Dopo un follow-up di circa 3 anni, i risultati hanno dimostrato una significativa riduzione dell'end point primario combinato che includeva la morte cardiovascolare, l'infarto miocardico non-

fatale, l'ictus ischemico e il tromboembolismo venoso (rischio relativo 0,4 [95% CI 0,18-0,91], $P=0,0277$). Il beneficio stimato dell'aspirina a basse dosi in termini di riduzione percentuale degli eventi cardiovascolari maggiori è mostrato in *Figura 4.3*. Le emorragie gravi non erano significativamente aumentate da queste dosi di aspirina (relative risk 1,6, 95% CI 0,27-9,71). È importante sottolineare che lo studio ECLAP è fondamentalmente uno studio di prevenzione primaria della trombosi nei pazienti con PV, poiché oltre il 90% dei pazienti arruolati non avevano mai avuto eventi vascolari precedenti.

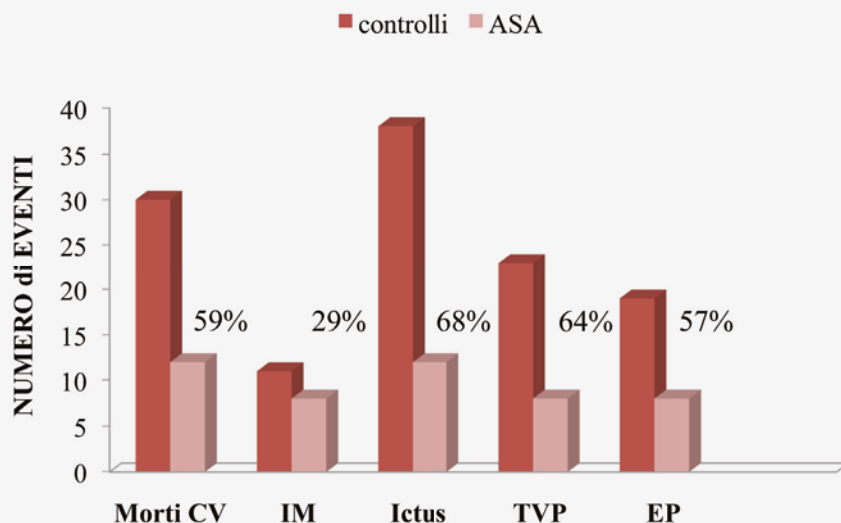
Sulla base di questo trial, le linee guida europee raccomandano di utilizzare 100 mg al giorno di aspirina in tutti i pazienti con PV fin dal momento della diagnosi.

TABELLA 4.6 Studi clinici randomizzati con aspirina (ASA) nella Policitemia Vera

Studio	Pazienti e follow-up mediano	Trattamenti e risultati principali		p
PVSG-05 (1986)	166 paz.; 1,2 anni	ASA (900 mg/die)*	32P	
		Trombosi		
		8 %	2 %	n.r.
		Emorragie		
		7 %	0 %	0,02
GISP (1997)	112 paz.; 1,4 anni	ASA (40 mg/die)	Placebo	
		Trombosi		
		5 %	7,7 %	n.s.
		Emorragie		
		1,7 %	1,9 %	n.s.
ECLAP (2004)	518 paz.; 2,8 anni	ASA (100 mg/die)	Placebo	
		Mortalità totale		
		3,6 %	6,8 %	n.s.
		Trombosi		
		6,7 %	15,5 %	0,003
		Emorragie maggiori		
		1,2 %	0,8 %	n.s.

n.r.=non riportato; n.s.= non significativo; *più salasso e dipiridamolo.

FIGURA 4.3 Effetto dell'aspirina (100 mg/die) nella PV
(x 1.000 pazienti trattati per 3 anni)



Riduzione percentuale di eventi cardiovascolari maggiori indotta dall'aspirina a basse dosi nei pazienti con Policitemia Vera arruolati nello studio ECLAP.

CV=cardiovascolare; IM=infarto miocardico;
TVP=trombosi venosa profonda; EP=embolia polmonare.

4.7.3 L'aspirina nella TE

Diversamente dalla PV, nella TE non vi sono studi randomizzati che abbiano valutato l'efficacia e la sicurezza del farmaco nella profilassi primaria delle complicanze cardiovascolari. Sono disponibili solo studi retrospettivi, i principali dei quali sono riportati in *Tabella 4.7*. Mentre non vi sono riserve per l'impiego dell'aspirina come profilassi secondaria, non è chiaro se il bilancio fra benefici e rischi sia favorevole all'uso del farmaco nei pazienti con TE asintomatici. A questo proposito, ci sono due punti importanti da considerare. Il primo è che il rischio trombotico dei pazienti con TE è generalmente inferiore a quello della PV. Infatti, mentre l'incidenza attesa di eventi trombotici nella PV è compresa in un range fra 3% e 10% pazienti/anno, in funzione delle diverse classi di rischio, tale incidenza nella TE è circa 2% pazienti/anno.

TABELLA 4.7 Studi retrospettivi con aspirina (ASA) nella Trombocitemia Essenziale

Studio	Pazienti e follow-up mediano	Dosaggio di ASA (mg/die)	Risultati Trattamento con ASA		p
			SI	NO	
van Genderen et al. (1997)	68 paz.; 1974-1993	100-500	Trombosi o sintomi microvascolari		
			3,6 % paz-anno	32,3 % paz-anno	<0.001
			Emorragie		
			7,2 % paz-anno	1,6 % paz-anno	0,032
Randi et al. (1999)	195 paz.; 6,3 anni (mediana)	100	Trombosi (prevenzione primaria)		
			6,3%	2,5%	n.r.
			Trombosi (prevenzione secondaria)		
			13,6%	6,2%	n.r.
			Emorragie		
			12,9%	5,4%	n.r.
Jensen et al. (2000)	96 paz.; 70 mesi (mediana)	100-150	Trombosi o sintomi microvascolari		
			21%	45%	0,017
Alvarez-Larran (2010)	300 paz.; 5,5 anni (media)	100	Trombosi arteriose o venose		
			2,1% paz-anno	1,8% paz-anno	n.s.
			Emorragie maggiori		
			0,6% paz-anno	1,3% paz-anno	0,09

n.r. = non riportato; *n.s.* = non significativo.

Pertanto, il beneficio antitrombotico atteso dall'uso dell'aspirina nella TE è relativamente modesto. In secondo luogo, il rischio emorragico è più elevato nella TE che nella PV, a causa della possibile alterazione dei multimeri del fattore von Willebrand associata a un numero molto elevato di piastrine. I rischi e benefici dell'uso di aspirina nei pazienti con TE a basso rischio vascolare (asintomatici e con età inferiore a 60 anni) sono stati valutati in dettaglio in un recente studio retrospettivo spagnolo. Sono stati analizzati 300 pazienti, 198 dei quali avevano ricevuto 100 mg al giorno di aspirina mentre 102 erano stati seguiti senza terapia sulla base delle decisioni cliniche dell'ematologo curante. L'incidenza di trombosi arteriose e venose è risultata simile nei due gruppi, mentre il gruppo trattato con aspirina mostrava un incremento delle complicanze emorragiche maggiori al limite della significatività statistica (*Tabella 4.7*). I risultati ottenuti hanno permesso di identificare sottogruppi di pazienti con un più alto rischio di trombosi che hanno maggiormente beneficiato della profilassi primaria con aspirina, ovvero i casi con positività della mutazione V617F di JAK2 e quelli con generici fattori di rischio cardiovascolare (fumo, ipertensione, ipercolesterolemia e diabete). D'altra parte, i pazienti con valori di piastrine $>1.000 \times 10^9/L$ trattati con aspirina hanno mostrato un significativo aumento di emorragie gravi in confronto ai pazienti non trattati (RR 5,4; 95% CI 1,7-17,2; $P=0,004$).

Pertanto, le raccomandazioni europee attuali sono di usare 100 mg al giorno di aspirina per i pazienti con TE che abbiano già avuto un episodio trombotico maggiore (profilassi secondaria) o per controllare sintomi microvascolari quali eritromelalgia, disturbi transitori del visus, disartria, scotomi, amaurosi fugace ed emicrania. Nei pazienti asintomatici, dovrà essere fatto un bilancio dei rischi/benefici attesi, privilegiando l'uso di aspirina nei soggetti JAK2V617F positivi o con fattori di rischio vascolare e, invece, evitandola nei pazienti con conta piastrinica $>1.000 \times 10^9/L$ o precedenti sintomi emorragici.

Nell'esempio della nostra paziente, applicando i criteri sopra discussi, una profilassi primaria con aspirina non sarebbe indicata. I criteri per un eventuale trattamento citoreducente sono discussi nel par. 3.2.3.

4.8 I PAZIENTI IN SITUAZIONI A RISCHIO: CHIRURGIA, TRAUMI E FRATTURE, ALLETTAMENTO

Il tromboembolismo, in particolare quello venoso, è una comune complicanza osservata in pazienti sottoposti a intervento chirurgico. Si ritiene che il tasso di trombosi venosa profonda agli arti inferiori dopo chirurgia generale in pazienti non sottoposti a profilassi antitrombotica sia compreso tra il 15% e il 30% (test con fibrinogeno marcato), quello di episodi embolici polmonari tra 0,2% e 1%. La presenza di tumore attivo agisce da fattore di rischio, raddoppiando queste frequenze. Numerosi studi hanno dimostrato che l'utilizzo di eparina a basso peso molecolare (EBPM) nel periodo peri-intervento riduce in modo significativo il rischio di complicanza tromboembolica. L'uso di profilassi anticoagulante in pazienti con tumore sottoposti a chirurgia determina tuttavia un aumento delle complicanze emorragiche, quelle minori stimate attorno al 10%, quelle maggiori attorno all'1%, 3% circa sono i pazienti che devono interrompere la profilassi eparinica per sanguinamenti.

Le neoplasie mieloproliferative croniche (NMPc, Policitemia Vera, PV; Trombocitemia Essenziale, TE; Mielofibrosi Primaria, MP) sono di per sé condizioni cliniche già intrinsecamente caratterizzate da un aumentato rischio per occlusione vascolare, arteriosa e venosa, e da una predisposizione di sviluppare complicanze emorragiche, talora nello stesso paziente. La chirurgia in questi pazienti è da sempre (cfr Schafer, 1984) considerata una situazione di eccezionale rischio per eventi occlusivi ed emostatici, ponendo straordinari problemi per la prevenzione e il trattamento, in assenza di specifiche linee-guida.

In letteratura non sono disponibili molti dati su casistiche di pazienti con NMPc e chirurgia, eccettuato l'intervento di splenectomia, abbastanza frequente in questi pazienti e una valutazione retrospettiva condotta dal working group sulle malattie mieloproliferative croniche all'interno del network GIMEMA (chair: Prof. Tiziano Barbui). Una revisione di casistica recente in pazienti con MP, mielofibrosi post-policitemia e mielofibrosi post-trombocitemia sottoposti a splenectomia è stata pubblicata del gruppo della Mayo Clinic di Rochester. Un totale di 314 pazienti era stato sottoposto a splenectomia (tra il 1976 e il 2004); 87 (27%) lamentavano complicanze perioperative, includenti infezioni (31 casi, 9,9%); trombosi (31 casi, 9,9%); emorragie (44 casi, 14%). In 21 (6,7%) pazienti tali complicanze risultavano fatali. Non erano dettagliate le procedure di preparazione pre-chirurgica e di profilassi antitrombotica.

Una completa analisi retrospettiva, pubblicata di recente, prende in considerazione gli outcomes post-chirurgici in 311 interventi di 255 pazienti (105 con PV e 155 con TE).

Gli interventi maggiori (erano definiti tali le chirurgie al torace e addome/pelvi della durata di più di 30 minuti; la protesi d'anca o di ginocchio, la frattura d'anca, l'interventistica cardiovascolare, la neurochirurgia intracranica) erano 155 (50,1%); 194 interventi erano eseguiti in anestesia generale; 25 (8%) erano state le procedure d'urgenza. Una profilassi anti-trombotica con eparina sottocute era praticata in 169/311 (54,3%) casi; in 48 (15,4%) interventi veniva somministrata una terapia antiaggregante. In 188/255 (74%) pazienti veniva somministrata una terapia citoriduttiva al momento della chirurgia. Il valore medio della conta piastrinica in caso di interventi maggiori era $506 \pm 231 \times 10^9/L$, l'ematocrito era $41,1 \pm 5,2$, i globuli bianchi $9,5 \pm 5,1$. La Figura 4.4 riporta la probabilità di ricevere eparina, antiaggreganti, flebotomie o citoriduzione al momento della chirurgia in funzione delle caratteristiche del paziente. In 259/311 83,2% procedure chirurgiche non si osservavano complicanze, nei tre mesi seguenti l'operazione; si registravano 24 eventi trombotici (12 arteriosi e 12 venosi); 23 emorragie maggiori e 5 decessi (vedi figure da 4.5 a 4.8). Le complicanze arteriose erano più frequenti in pazienti con TE, quelle venose in pazienti con PV. Gli eventi emorragici maggiori non erano correlati con l'uso di farmaci antitrombotici né con il tipo di chirurgia (maggiore).

FIGURA 4.4

Probabilità di ricevere eparina, antiaggreganti, flebotomie o citoriduzione al momento della chirurgia in funzione delle caratteristiche del paziente

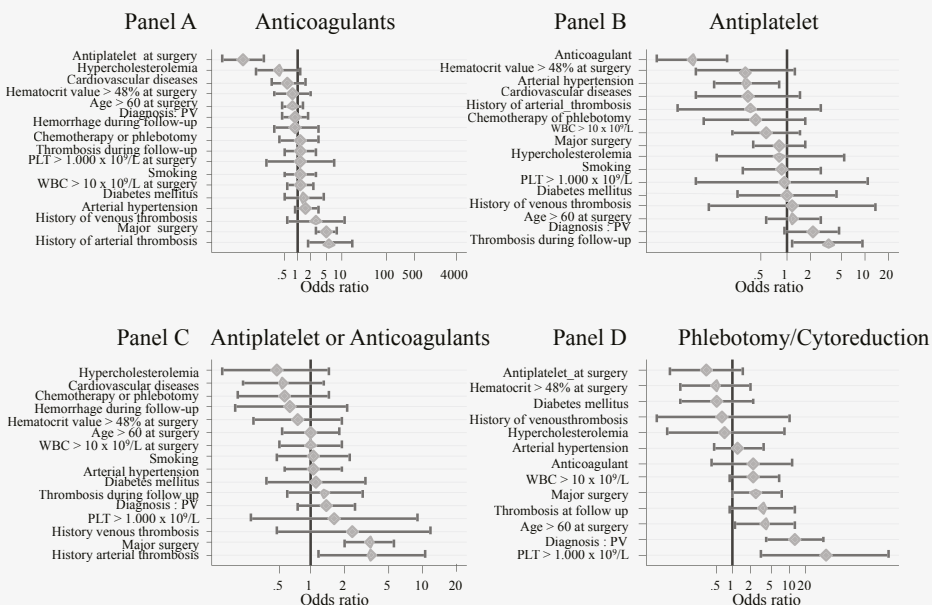


FIGURA 4.5 Eventi trombotici per tipo di intervento chirurgico

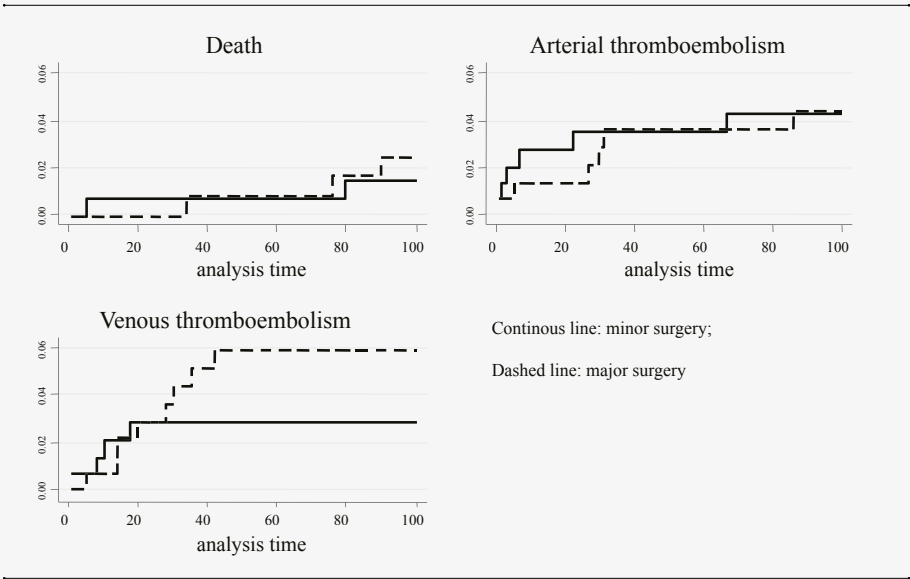


FIGURA 4.6 Eventi trombotici per tipo di diagnosi

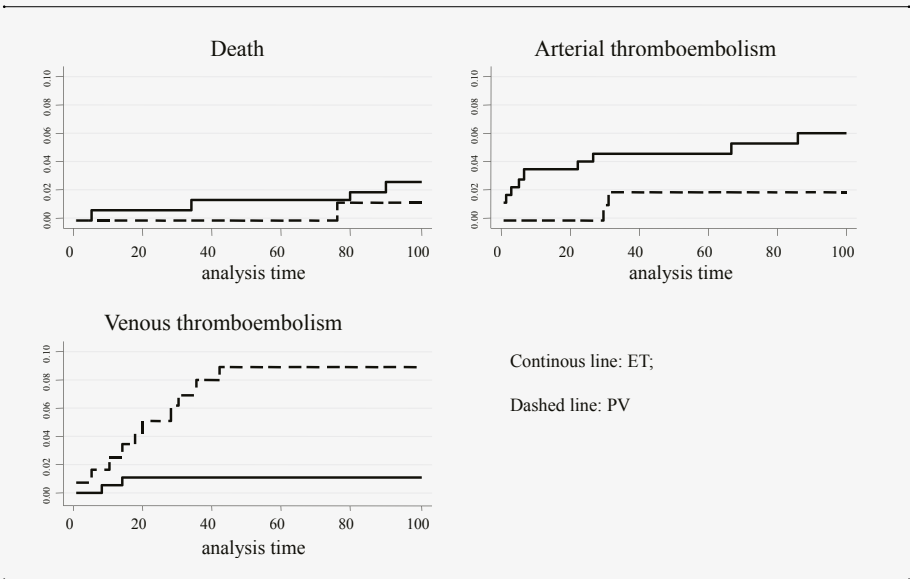


FIGURA 4.7 Eventi trombotici per tipo di trattamento

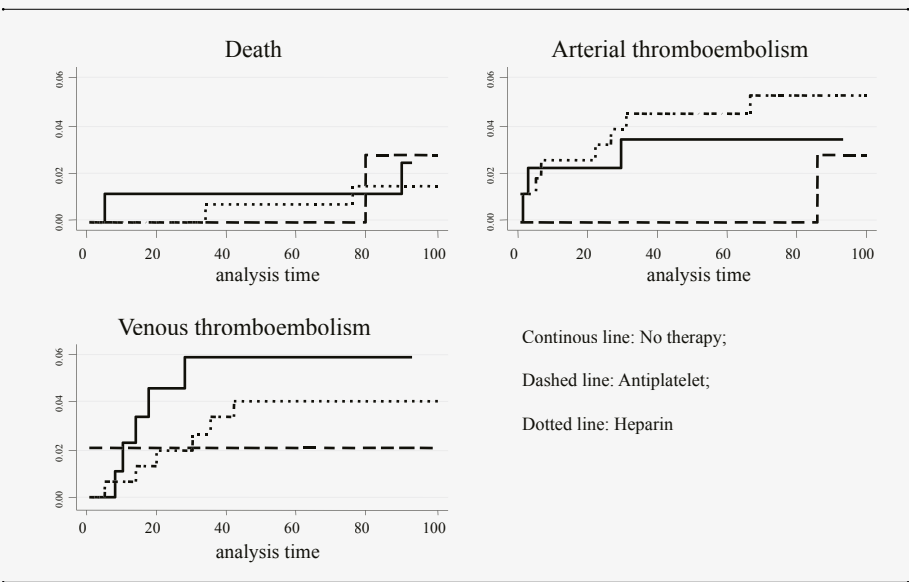
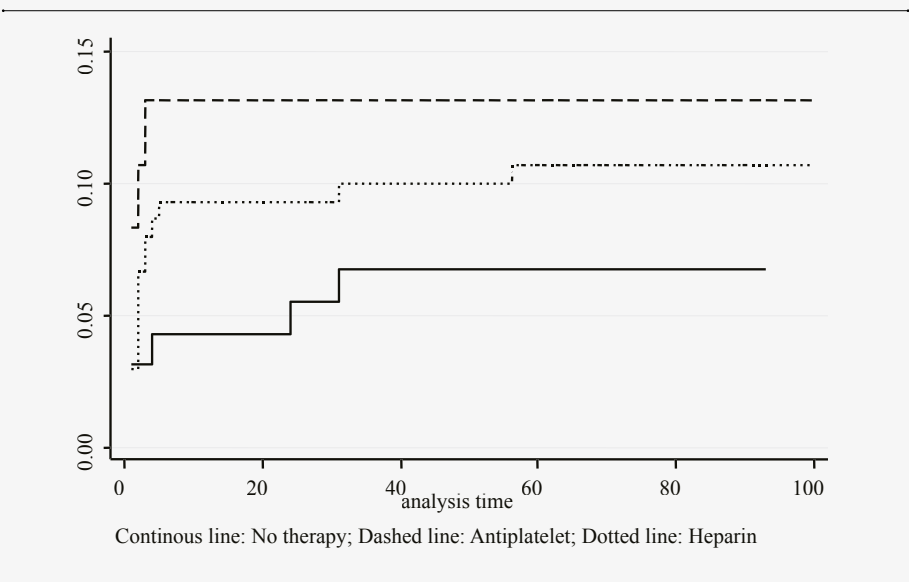


FIGURA 4.8 Eventi emorragici per tipo di trattamento



4.8.1 Procedure di preparazione peri-chirurgica

È necessaria l'interruzione della eventuale profilassi con aspirina, 7-10 giorni prima, sostituendola con EBPM (2.000-4.000 unità/die o dosi equivalenti). In pazienti già in trattamento citoriduttivo, la terapia va attuata con scrupolo, con lo scopo di conseguire e mantenere valori emocromocitometrici nei limiti di norma; si cercherà di abbreviare il più possibile la sospensione farmacologica dovuta al digiuno anestesiológico. In pazienti non in terapia citoriduttiva (es con TE a basso rischio) si dovrà valutare, caso per caso, se opportuno attuare un breve periodo di trattamento chemioterapico per normalizzare la conta piastrinica (si consiglia di prevedere tale procedura soprattutto in caso di interventi su mucose o estrattivi, a rischio emorragico).

In caso di piastrinosi estreme, può essere necessario ricorrere alla piastrino-afèresi nel caso il paziente debba essere operato in tempi brevi, in attesa che la citoriduzione farmacologica abbia effetto sulla conta piastrinica.

Nel periodo post-chirurgico il paziente va monitorato quotidianamente, con controlli emocitometrico e coagulativo; spesso si assiste a un rebound della conta piastrinica (specie dopo intervento di splenectomia) che richiede aggiustamento posologico della citoriduzione. Una eventuale anemizzazione (non completamente correlata alla perdita di sangue durante l'intervento chirurgico, che sarebbe bene aver fatto quantificare all'anestesista) deve porre l'ematologo consulente in allarme, per possibile emorragia; si tenga presente che pazienti con PV sottoposti a croniche flebotomie hanno ridotte scorte marziali, con conseguente difficile recupero spontaneo.

4.8.2 Procedure di profilassi antitrombotica peri-chirurgica

Non sono disponibili dati in pazienti con NMPc stratificati per tipo di chirurgia. Nella profilassi in paziente con tumore solido, l'uso di EBPM a dosaggio "high risk" (4.000 unità/die, o dosi equivalenti iniziando 12 ore prima dell'intervento) si è dimostrato più efficace del dosaggio "low risk" (2.000 unità/die) o dell'uso delle eparine non frazionate. La profilassi va mantenuta per il periodo post-chirurgico usuale (3-15 giorni, a seconda del tipo di chirurgia) non sussistendo evidenze che indichino la necessità di proseguire l'eparina per più tempo.

Alla sospensione si riprenderà la profilassi con aspirina, se in uso prima dell'intervento. In caso di anemizzazione da sospetto evento emorragico post-intervento, si dovrà cercare di evidenziare subito la sede di sanguinamento (utile il posizionamento di drenaggi in caso di chirurgia delle cavità chiuse); se l'anemizzazione risulta significativa, specie se il sanguinamento è da siti in cui non è possibile la revisione chirurgica, sarà necessaria

la sospensione della eparina, attuando la profilassi antitrombotica con mezzi meccanici (es. compressione graduale con calze antitrombo). Il paziente con NMPc operato, in cui viene sospesa la profilassi con eparina per emorragia è da considerare a elevato rischio per complicanza trombotica e va monitorato quotidianamente. Non infrequentemente risulta necessario procedere a emotrasfusione.

Un problema particolare può essere costituito dalla necessità di avviare a chirurgia il paziente con NMPc già in trattamento anticoagulante (es per pregresso evento trombotico, per profilassi antitrombotica in corso di fibrillazione atriale o in presenza di valvole cardiache proteiche). In generale, questo tipo di pazienti vanno considerati ad altro rischio emorragico (quindi con necessità di interrompere l'assunzione del dicumarolico) e a contemporaneo, elevato rischio di complicanza vascolare occlusiva (quindi con necessità di attuare il "bridging" con EBPM). In caso di interventi in elezione, è consigliata la sospensione dell'anticoagulante orale 5 giorni prima della chirurgia; l'inizio della EBPM da 3 giorni prima a dosi terapeutiche; il controllo degli INR del tempo di protrombina il giorno prima (con somministrazione di 1-2 mg di vitamina K in caso di INR >1,5); lo stesso giorno ridurre la posologia della EBPM a dosi profilattiche; il giorno dell'intervento controllo dei valori emocitometrico e dei parametri coagulativi prima e dopo intervento; in assenza di complicanze emorragiche, re-introdurre l'anticoagulante orale dopo 2-3 giorni; dal quinto-sesto giorno sospendere l'eparina se INR entro il range terapeutico specifico per la patologia. In caso di intervento urgente, accanto alla sospensione di dicumarolico vanno somministrare 2-4 mg di vitamina K endovena e rivalutare gli INR prima dell'intervento; da infondere complesso protrombinico se gli INR rimangono elevati (orientativamente >1,5).

Chirurgia generale, ginecologica

Viene proposta una profilassi con EBPM, 4.000 unità al giorno o dosi equivalenti.

Chirurgia urologica

Chirurgia a elevato rischio emorragico, oltre che tromboembolico. Può essere valutato un uso più prudente della EBPM (2.000 unità/die o dosi equivalenti), completando la profilassi antitrombotica con mobilitazione precoce e mezzi meccanici.

Chirurgia ortopedica

A elevato rischio tromboembolico; la sostituzione elettiva di anca e ginocchio vanno profilassate con di norma, con dosaggi elevati di EBPM; l'uso del fondaparinux

si è rivelato altrettanto efficace. L'artroprotesi di ginocchio è considerata intervento a rischio moderato.

Traumatismi con frattura ossea

È consigliato di attuare profilassi a basso dosaggio, dal momento della immobilizzazione per frattura fino a tutta la durata della immobilizzazione, se il paziente non è a rischio elevato di emorragia; in caso di uso prolungato della eparina, va eseguito monitoraggio emocitometrico anche per evidenziare eventuale comparsa di piastrinopenia da eparina. Se il paziente presenta anemizzazione da emorragia attiva, con impossibilità di attuare profilassi antitrombotica, deve essere preso in considerazione il posizionamento di filtro cavale e la prevenzione con mezzi meccanici; utile anche il periodico monitoraggio con ecodoppler. Ovviamente il dosaggio del D-dimero perde di significato diagnostico in questi pazienti; una eventuale evoluzione verso la coagulazione intravascolare disseminata va sospettata in caso di piastrinopenia, allungamento dei tempi di coagulazione e ipofibrinogenemia.

Neurochirurgia

Il paziente neurochirurgico richiede una profilassi multimodale, con uso di calze elastiche, compressione pneumatica intermittente ed EBPN a basso dosaggio iniziando il giorno dopo l'intervento. In caso di paraplegia con necessità di procedure riabilitative prolungate, può risultare più comodo il passaggio ad anticoagulante orale.

Allettamento

L'allettamento prolungato è considerato un fattore predisponente a evento tromboembolico. La profilassi con EBPM a basso dosaggio si è rivelata efficace nel ridurre la frequenza di queste complicanze; in caso di uso prolungato della eparina, va eseguito monitoraggio emocitometrico anche per evidenziare eventuale comparsa di piastrinopenia da eparina.

4.9 IL PAZIENTE CON IPERTENSIONE POLMONARE

MF può essere associata a ipertensione polmonare, ossia allo sviluppo di pressione media dell'arteria polmonare ≥ 25 mm Hg a riposo. L'epidemiologia e la prevalenza di questa malattia nella MF e nelle MPN in generale non sono note a causa del piccolo numero di casi riportati in letteratura. La maggior parte degli studi di epidemiologia dell'ipertensione polmonare nella MF, inoltre, ha una limitazione importante, in quanto

la diagnosi di ipertensione polmonare non è solitamente stabilita come raccomandato dalle linee guida diagnostiche. Pertanto, la percentuale di pazienti con ipertensione polmonare può essere sovrastimata, in quanto l'aumento della pressione polmonare potrebbe non essere confermato da misure invasive, o potrebbe essere dovuta ad altre cause, come malattie del cuore sinistro. Infatti, Reisner et al. [1992] hanno dimostrato che le malattie cardiache sono comuni nei pazienti con MPN. Inoltre, alcuni pazienti possono avere uno stato ipermetabolico con conseguente elevata gittata cardiaca ed elevazione passiva della pressione polmonare senza aumento delle resistenze vascolari polmonari. Così, è stato stabilito che l'ecocardiografia transtoracica Doppler può servire solo come strumento di screening e che uno studio del cuore destro con valutazione emodinamica completa è obbligatorio per la corretta diagnosi di ipertensione polmonare nella MF.

4.9.1 Patogenesi

I meccanismi fisiopatologici di questa complicazione non sono pienamente compresi, anche se sono state proposte diverse teorie. Ematopoiesi extramidollare e fibrosi polmonare dovuta alla produzione di citochine fibrogeniche da cellule circolanti clonali è il meccanismo patogenetico principalmente evocato. Secondo questa visione, megacariociti e piastrine giocano un ruolo eziologico centrale. La teoria deriva dall'osservazione di casi clinici di pazienti con MPN e ipertensione polmonare che documentano all'esame istologico del polmone un'ostruzione dei piccoli vasi da conglomerati di megacariociti.

Hibbin et al [1984] hanno riportato che la MF è associata ad aumento del numero di megacariociti circolanti e cellule progenitrici mieloidi che sono poco deformabili e molto più grandi del diametro dei capillari alveolari. Quindi, queste cellule possono occludere il microcircolo polmonare e secernere citochine vasoattive, che possono contribuire allo sviluppo di ipertensione polmonare. Recentemente è stata dimostrata una correlazione positiva tra i livelli di trombopoietina e pressione polmonare. Poiché i pazienti con MPN presentano aumento dei livelli circolanti di trombopoietina, la trombopoietina può essere correlata alla patogenesi di ipertensione polmonare in questa popolazione di pazienti. Questa ipotesi è stata confermata dalla documentazione che il fattore di crescita piastrinico (PDGF) è un forte stimolo per l'iperplasia della muscolatura liscia, e in un modello animale di ipertensione polmonare il controllo della conta piastrinica ha dimostrato rallentare lo sviluppo di ipertensione polmonare.

Recenti studi hanno suggerito che l'angiogenesi potrebbe essere un possibile legame patogenetico tra MF e ipertensione polmonare. In 36 pazienti, i livelli del

sangue periferico di cellule progenitrici endoteliali (EPC), cellule endoteliali circolanti e cellule CD34+ sono stati quantificati mediante citometria a flusso. I risultati dello studio hanno mostrato la presenza di un fenotipo distintivo angiogenetico che associa MF e ipertensione polmonare.

4.9.2 Clinica

I pazienti con MF e ipertensione polmonare presentano dispnea progressiva, segni di insufficienza cardiaca biventricolare, ed epato-splenomegalia. Vi è la necessità di una maggiore sensibilizzazione tra i medici che l'anemia non è sempre il meccanismo unico della dispnea nella MF e che l'ipertensione polmonare può essere una concausa. Il riconoscimento di questa complicanza è necessario, soprattutto a causa della prognosi infausta a essa associata. Inoltre, l'intervento precoce potrebbe far regredire l'ipertensione in alcuni casi. Ci sono diverse presentazioni radiografiche polmonari nei pazienti con MF e ipertensione polmonare che possono permettere la diagnosi di questa rara combinazione. La scintigrafia con technetium-99 (99m Tc) colloidale può essere fortemente suggestiva della diagnosi, anche se sono stati segnalati falsi negativi. Diagnosi di presenza di ematopoiesi extramidollare nel polmone può essere ottenuta da agoaspirato delle lesioni polmonari, biopsia transbronchiale, e biopsia chirurgica o toracoscopica. La biopsia transbronchiale non è consigliata nei casi con grave ipertensione polmonare a causa del rischio di emorragia alveolare. La decisione su quale approccio utilizzare deve essere individualizzata, e la decisione di eseguire biopsia invasiva dei tessuti deve essere temperata dal maggior rischio di complicanze perioperatorie. L'istologia in tutti i casi segnalati rivela ematopoiesi trilineare con vari gradi di fibrosi.

4.9.3 Terapia

Il trattamento con idrossiurea in genere non riesce a modificare l'ipertensione polmonare. L'attuale gestione dell'ipertensione polmonare comprende vasodilatatori, inclusi gli inibitori della fosfodiesterasi di tipo 5 (che aumentano i livelli di ossido nitrico, ad esempio sildenafil), e analoghi della prostaciclina. Diverse segnalazioni indicano che nei pazienti con MF e ipertensione polmonare con la documentazione di ematopoiesi extramidollare, un trattamento con radioterapia a basso dosaggio su tutto il campo polmonare può essere un utile trattamento palliativo. Casi di ematopoiesi extramidollare trattati con basse dosi di radiazioni sul campo polmonare hanno mostrato miglioramenti pronti della ossigenazione, dei sintomi, dell'ipertensione

polmonare, e dell'immagine radiografica. Non ci sono dati sul ruolo della terapia anticoagulante e anti-aggregante nei pazienti con ipertensione polmonare associata a MF.

4.10 IL MONITORAGGIO DEL PAZIENTE IN TERAPIA ANTITROMBOTICA

La profilassi e la terapia antitrombotica sono ancora oggi di fondamentale importanza nella gestione delle neoplasie mieloproliferative Philadelphia negative. Principalmente, nei pazienti con TE e PV vengono applicate due strategie antitrombotiche in base sia ai fattori di rischio, che al tipo di trombosi e alla presenza di disturbi del microcircolo.

Per la profilassi primaria e per la terapia degli eventi trombotici arteriosi vengono utilizzati farmaci antiplastrinici (i.e. aspirina, ticlopidina, clopidogrel), in combinazione o meno con farmaci citoriduttivi, mentre per la profilassi e la terapia del tromboembolismo venoso (TEV) vengono utilizzati farmaci anticoagulanti (eparine e dicumarolici). Inoltre, i farmaci antiplastrinici, in particolare l'aspirina, si sono dimostrati efficaci nel controllare i sintomi dovuti a disturbi del microcircolo, come ad esempio l'eritromelalgia, tipici di queste malattie.

Non esistono a oggi raccomandazioni per il monitoraggio della terapia antiaggregante. Tuttavia nei pazienti con TE e PV è importante controllare il numero delle piastrine, poiché una conta piastrinica elevata, $>1,5 \times 10^9/L$, si associa ad alto rischio emorragico, e pertanto in questi casi la terapia antiaggregante è controindicata. Diversamente, il monitoraggio della terapia anticoagulante è altamente raccomandato.

4.10.1 Farmaci antiplastrinici

I principali farmaci antiplastrinici utilizzati per la profilassi antitrombotica nei pazienti con TE e PV sono: aspirina (o acido acetilsalicilico), ticlopidina, e più raramente clopidogrel. Questi farmaci agiscono interferendo con la funzionalità piastrinica, in particolare con il processo di aggregazione. L'inibizione dell'aggregazione piastrinica rappresenta infatti un aspetto decisivo dell'intervento farmacologico per la profilassi e il trattamento delle patologie cardiovascolari arteriose.

Aspirina

L'aspirina esplica i suoi effetti antitrombotici attraverso l'inibizione irreversibile dell'enzima cicloossigenasi-1 (COX-1), per l'acetilazione a livello del gruppo idrossile del residuo di serina in posizione 529. L'inibizione di COX-1 impedisce la generazione di trombossano A₂ (TXA₂), un potente agente aggregante, che si genera dall'acido arachidonico dopo attivazione delle piastrine. Nonostante l'emivita plasmatica dell'aspirina sia di soli 15-20 minuti, la sua azione terapeutica è di lunga durata, in quanto le piastrine non sono in grado di sintetizzare un nuovo enzima. Pertanto, la sintesi di TXA₂ risulta bloccata per tutta la vita della piastrina, che è di circa 7-10 giorni. Se l'aspirina non inibisce completamente la COX-1, il suo effetto antiplastrinico viene notevolmente ridotto. È stato calcolato che un fallimento farmacodinamico dell'aspirina si verifica nell'1-2% dei pazienti in trattamento. Tuttavia, la grande maggioranza degli eventi aterotrombotici nei pazienti trattati con aspirina deriva da meccanismi che dipendono dalla reattività piastrinica residua (non-COX-1-dipendente).

Ticlopidina

La ticlopidina è un farmaco appartenente alla classe delle tienopiridine, che inibisce la funzionalità piastrinica bloccando i recettori P₂Y₁₂ per l'adenosin difosfato (ADP), un agonista piastrinico. La ticlopidina è un pro-farmaco che richiede la trasformazione *in vivo* in un metabolita attivo (o più metaboliti) perché possa manifestare la sua azione. L'attivazione avviene in maggior misura nel fegato, e i metaboliti sono principalmente escreti per via renale. L'azione antiaggregante persiste per 7-10 giorni dopo l'interruzione della terapia.

La ticlopidina si propone come un farmaco alternativo all'aspirina in caso di intolleranza o di resistenza a quest'ultima. Poiché la ticlopidina induce un allungamento del tempo di sanguinamento (bleeding time), la sua associazione con antinfiammatori non steroidei, con anticoagulanti (eparina, warfarina, ecc.), e con altri antiaggreganti piastrinici deve essere evitata. Durante la terapia con ticlopidina si possono verificare alcuni eventi avversi tra cui la neutropenia, che si manifesta di solito nelle fasi iniziali della terapia, dopo circa 2-3 settimane dall'inizio del trattamento. La neutropenia si risolve, di norma (ma non sempre), interrompendo la somministrazione del farmaco. Un altro grave evento indesiderato della ticlopidina, talora letale, è la porpora trombotica trombocitopenica (PTT), una sindrome caratterizzata da trombocitopenia, anemia emolitica microangiopatica, disturbi neurologici, insufficienza renale progressiva e febbre. Attualmente si calcola che la ticlopidina possa provocare PTT con un'incidenza di un caso ogni 1.600-5.000 pazienti trattati. La crasi ematica, e in

particolare la conta dei globuli bianchi e delle piastrine, vanno attentamente controllate prima di iniziare la terapia, almeno ogni 2 settimane per i primi 3 mesi di trattamento e, successivamente, a ogni segno di infezione intercorrente. Rash cutaneo e diarrea precludono l'impiego continuativo della ticlopidina in circa il 15% dei pazienti. La ticlopidina è controindicata nei soggetti che presentano o hanno presentato leucopenia, trombocitopenia o agranulocitosi. Inoltre, la controindicazione sussiste (ma questo vale per tutti gli antiaggreganti) nei pazienti con malattie emorragiche e nei soggetti che presentano lesioni con alta probabilità di sanguinamento (es., ulcera gastroduodenale attiva o ictus emorragico acuto).

Clopidogrel

Il clopidogrel, è un antiaggregante piastrinico che, come la ticlopidina, appartiene alla classe delle tienopiridine; differisce strutturalmente dalla ticlopidina solo per la presenza nella sua molecola di un gruppo carbossimetilico. Come la ticlopidina, il clopidogrel inibisce in modo irreversibile e selettivo l'aggregazione piastrinica indotta dall'ADP, legandosi al recettore P2Y₁₂ presente sulla superficie della membrana piastrinica. Un'inibizione significativa dell'aggregazione piastrinica viene raggiunta dopo 2-3 giorni di trattamento con 75 mg/die, mentre l'inibizione massimale si ottiene in 4-7 giorni. Il clopidogrel è un pro-farmaco, e richiede una sua attivazione enzimatica *in vivo* a opera del citocromo CYP2C19, principalmente a livello epatico.

Il clopidogrel è diventato parte della terapia cardine delle sindromi coronariche acute e nei pazienti con angioplastica coronarica. Una percentuale considerevole di pazienti (4-30%) ha una scarsa risposta al clopidogrel e questo può essere dovuto a diversi fattori. Polimorfismi genetici coinvolti nell'assorbimento e nel metabolismo di clopidogrel possono interferire con la sua azione antiaggregante piastrinica. Inoltre, gli inibitori della pompa protonica (PPI) possono interferire con l'attività di clopidogrel riducendo la capacità di CYP2C19 di convertire clopidogrel nel suo metabolita attivo. Per tale motivo, si raccomanda una terapia concomitante con PPI solo ai pazienti con precedenti sanguinamenti gastrointestinali, o con fattori di rischio per sanguinamento gastrointestinale. La riduzione dell'attività di clopidogrel, causata dalla presenza di polimorfismi o da interazioni con altri farmaci, può aumentare il rischio di eventi trombotici durante la terapia con questo farmaco. Il profilo di efficacia di clopidogrel è praticamente assimilabile a quello dell'aspirina, pur garantendo un minor numero di effetti gastrolesivi. Diversamente dalla ticlopidina non sembra indurre episodi di trombocitopenia.

Test per il monitoraggio della funzionalità piastrinica

Il monitoraggio della terapia antiaggregante piastrinica non è a oggi raccomandato. Tuttavia esistono almeno due motivi per cui attualmente si discute se sia importante misurare/monitorare la risposta farmacologica ai farmaci antiaggreganti piastrinici: 1) l'insufficiente inibizione della funzione piastrinica può causare complicanze trombotiche, e 2) una eccessiva inibizione della funzione piastrinica può portare a complicanze emorragiche. Il monitoraggio della terapia antiaggregante con i test di funzionalità piastrinica potrebbe identificare i poor responders che trarrebbero beneficio da un cambiamento della terapia, per esempio attraverso un aumento del dosaggio.

Molti studi hanno trovato un'associazione tra l'alta reattività piastrinica residua e gli eventi avversi cardiovascolari in pazienti in terapia antiaggregante. Tuttavia, l'utilizzo dei test di funzionalità piastrinica non può essere raccomandato nella comune pratica clinica per diverse ragioni: 1) non esiste un consenso univoco sul metodo da utilizzare e sul rispettivo valore di cut-off associato con l'outcome dell'evento clinico avverso; 2) i dati che dimostrano un qualche beneficio della misurazione della terapia antiaggregante e del suo monitoraggio sono ancora limitati. Pertanto, rimane difficile, nella pratica clinica, un'adeguata identificazione dei 'poor responders' agli agenti antiplastrinici. Le linee guida dell'American College of Cardiology (ACC), dell'American Heart Association (AHA) e della Society for Cardiovascular Angiography and Interventions (SCAI) raccomandano un incremento del dosaggio del clopidogrel (150 mg al giorno) in pazienti nei quali una trombosi subacuta potrebbe essere letale e in quelli in cui gli studi di aggregazione hanno evidenziato una inibizione minore del 50%. Questa raccomandazione richiede studi prospettici addizionali allo scopo di trovare il metodo migliore per monitorare la terapia antiaggregante.

I test di funzionalità piastrinica, attualmente disponibili, possono identificare i pazienti con alta reattività piastrinica residua, ma non sono sufficientemente specifici per testare l'effetto farmacologico dell'agente antiaggregante. Ulteriori problemi sono l'assenza di valori normali standardizzati per molti dei test e il fatto che le diverse apparecchiature misurano segnali diversi, influenzati anche dall'agonista e dall'anticoagulante utilizzato. Per questi motivi gli studi in corso hanno lo scopo di stabilire la specificità e sensibilità dei vari test e di definire il valore di cut-off appropriato per ogni sistema in relazione all'outcome clinico.

In *Tabella 4.8* sono elencati i principali test di funzionalità piastrinica, la loro risposta ai farmaci antiaggreganti, i loro vantaggi e svantaggi, e la loro rilevanza clinica.

1. *Aggregometria a trasmittanza (LTA)*. Descritta per la prima volta da Born, rappresenta per molti il test gold standard di funzionalità piastrinica. Diversi agonisti, quali ADP, acido arachidonico, epinefrina, peptide attivante il recettore della trombina (TRAP) e collagene sono utilizzati per indurre l'aggregazione piastrinica nel plasma ricco di piastrine. La formazione degli aggregati piastrinici porta a un cambiamento nella trasmissione della luce che può essere quantificato turbidimetricamente. Inizialmente, LTA veniva utilizzato per identificare i difetti della funzionalità piastrinica. Tuttavia, in base al tipo di agonista, è possibile utilizzare LTA per monitorare la terapia antiaggregante: infatti l'acido arachidonico e le basse concentrazioni di collagene vengono utilizzati per testare l'aspirina, l'ADP per le tienopiridine, e il TRAP per gli antagonisti del recettore GPIIb-IIIa. Diversi studi hanno dimostrato una buona correlazione tra l'alta attività piastrinica residua determinata con questo metodo e gli eventi ischemici soprattutto dopo interventi coronari percutanei (PCI).
2. *Aggregometria ad Elettrodi Multipli (MEA, Multiplate®)*. Questo test è in grado di misurare l'aggregazione piastrinica in sangue intero mediante cambiamenti dell'impedenza causata dall'adesione delle piastrine all'interno di sensori dopo aggiunta di agonisti piastrinici. Diversi studi hanno dimostrato che il MEA è sensibile all'aspirina, alle tienopiridine e agli antagonisti del recettore GPIIb-IIIa.
3. *VerifyNow* è un sistema point-of-care basato sulla rilevazione turbidimetrica dell'aggregazione piastrinica indotta da vari agonisti. Questo sistema fornisce dei dati di tipo qualitativo che permettono di rilevare una disfunzione piastrinica causata dall'assunzione di farmaci antiaggreganti, mentre non è indicato per la rilevazione di anomalie congenite e acquisite delle piastrine. Attualmente sono disponibili i reattivi per monitorare gli effetti dell'aspirina (acido arachidonico), delle tienopiridine (ADP+PGE1), e degli antagonisti del recettore GPIIb-IIIa (TRAP). Lo studio di Breet et al ha dimostrato che VerifyNow è in grado di identificare quei pazienti in terapia con clopidogrel, che sono ad alto rischio per eventi arteriosi dopo PCI.
4. *Saggio per la fosfoproteina vasodilatatore-stimolata (VASP assay)*. È il test gold standard per il monitoraggio del clopidogrel. Questo test è stato recentemente utilizzato allo scopo di stabilire se una bassa risposta piastrinica al clopidogrel fosse in grado di predire gli eventi cardiovascolari in una popolazione ad alto rischio sottoposta a PCI. I risultati hanno mostrato che in un follow-up di circa 9 mesi, la mortalità totale cardiaca e l'incidenza di trombosi da stent erano significativamente più elevate nei pazienti con una bassa risposta al clopidogrel (HR: 4,0, 95% CI 1,08-14,80).

5. *L'aggregometria ad impedenza* misura il cambiamento di potenziale elettrico tra due elettrodi durante il processo di aggregazione piastrinica, indotta in sangue intero dagli stessi agonisti usati per l'aggregometria ottica. Questa metodica è però maggiormente utilizzata per verificare la risposta al clopidogrel.
6. *La citofluorimetria a flusso* permette di valutare lo stato di attivazione piastrinica misurando i livelli di espressione di particolari marcatori di attivazione. Tra questi i più studiati sono: la P-selettina (o CD62P), una proteina di adesione espressa sulla superficie delle piastrine attivate, e il recettore per il fibrinogeno. I vantaggi della citofluorimetria a flusso sono l'utilizzo di piccole quantità di sangue intero e un ampio range di applicazioni. Questo metodo ha un alto grado di accuratezza, portando a risultati che correlano bene con quelli del test LTA. Tuttavia questo test non può essere utilizzato nella pratica clinica per monitorare la risposta ai farmaci antiaggreganti.
7. *PFA100*. È un dispositivo point-of-care utilizzato per identificare i pazienti con grave difetto piastrinico o una malattia di von Willebrand. Nell'esecuzione del dosaggio, il sangue intero viene aspirato da un capillare e messo in contatto con una membrana ricoperta di collagene/ADP o di epinefrina/ADP. Il contatto delle piastrine con la membrana innesca lo stimolo fisiologico dell'attivazione piastrinica e la formazione di un trombo di piastrine sull'apertura della membrana, che rallenta gradualmente il flusso del sangue fino ad arrestarlo. Il PFA-100 misura il tempo trascorso dall'inizio del test fino all'occlusione completa dell'apertura e riporta tale intervallo come tempo di chiusura (CT). Quindi il CT risulta essere un indice della funzionalità piastrinica nel campione di sangue intero analizzato. Il PFA100 può essere utilizzato per il monitoraggio della terapia antiplastrinica con aspirina e tienopiridine. Inoltre, non è stata trovata alcuna correlazione tra il CT e i risultati ottenuti dal VerifyNow.

TABELLA 4.8

Confronto dei principali test di funzionalità piastrinica, la loro risposta ai farmaci e la loro rilevanza clinica

Test	Sensibilità al farmaco	Vantaggi	Svantaggi	Rilevanza clinica
Metodi di laboratorio				
Aggregometro a luce trasmessa (LTA)	Aspirina, Tienopiridine	Buona predittività, lunga esperienza	Complessa preparazione del campione, metodo non standardizzato	Screening per disordini piastrinici acquisiti e congeniti
	Clopidogrel			correlazione tra HRP e gli eventi cardiovascolari
VASP (BioCytex)	Clopidogrel	Test eseguibile su sangue intero, possibile conservazione dei campioni per lungo tempo, specifico per il recettore P2Y12	Tempo per l'esecuzione del test lungo, complessa preparazione del campione, debole sensibilità e predittività	Predittivo per eventi ischemici ricorrenti entro 30 giorni dall'intervento coronarico percutaneo
Point of care				
Analizzatore della funzionalità piastrinica (PFA, Simens)	Aspirina	Test eseguibile su sangue intero, test semplice e rapido, procedura standardizzata	Nessuna possibilità di modificare la procedura, dipendente dai valori di ematocrito e dai livelli di vWF, limitata esperienza con gli inibitori di P2Y12	Screening per la malattia di von Willebrand e difetti primari dell'emostasi. Nessuna correlazione tra l'alta reattività piastrinica sotto trattamento (HRP) e gli eventi cardiovascolari
	Clopidogrel			Monitoraggio del clopidogrel. Nessuna correlazione tra HRP e gli eventi cardiovascolari

Test	Sensibilità al farmaco	Vantaggi	Svantaggi	Rilevanza clinica
Aggregometro con elettrodi multipli (MEA, Dynabyte Medical)	Aspirina	Test eseguibile su sangue intero, test semplice e rapido, procedura standardizzata, buona predittività per emorragia e trombosi da stent	Test semi-automatico, necessita di un rapido processamento dei campioni	Monitoraggio dell'aspirina
	Clopidogrel			Monitoraggio del clopidogrel. Una bassa risposta al clopidogrel è predittivo per lo sviluppo di trombosi da stent durante i primi 6 mesi successivi all'intervento. Una buona risposta al clopidogrel è predittivo con un alto rischio di eventi emorragici in ospedale
	Antagonisti del recettore GPIIb-IIIa			Monitoraggio degli antagonisti del recettore GPIIb-IIIa
VerifyNow (Accumetrics)	Aspirina	Test eseguibile su sangue intero, semplice e rapido, procedure standardizzate	Nessuna possibilità di modificare la procedura, cartucce costose	Monitoraggio aspirina
	Clopidogrel			Correlazione tra HRP e gli eventi cardiovascolari
	Antagonisti del recettore GPIIb-IIIa			Correlazione tra HRP e gli eventi cardiovascolari

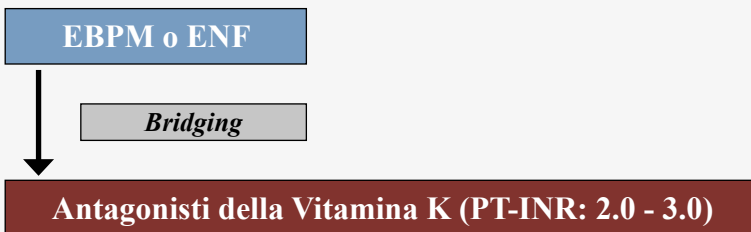
4.10.2 Farmaci anticoagulanti

La terapia del TEV in pazienti con TE o PV, in assenza di controindicazioni note all'anticoagulazione, segue le raccomandazioni standard e consiste in una fase iniziale in cui si somministra eparina non frazionata (ENF) o eparina a basso peso molecolare (EBPM), seguita dall'anticoagulazione con anticoagulanti orali antagonisti della Vit. K, (AVK) per un minimo di 3-6 mesi (*Figura 4.9*). L'ENF sodica viene somministrata in un bolo iniziale di 5.000 UI, seguito dall'infusione endovenosa (e.v.) continua di dosi variabili, aggiustate in modo da ottenere, e mantenere, un allungamento del

tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) pari a 1,5-2,5 volte il valore basale. Le EBPM vengono invece somministrate in dosi fisse, aggiustate al peso corporeo, per via sottocutanea (s.c.) una o due volte al giorno (a seconda delle diverse EBPM). Esse hanno la stessa efficacia e sicurezza della ENF nel trattamento iniziale del TEV. Possibilmente entro 24 ore dall'inizio dell'eparina va iniziata l'embricatura con l'anticoagulante orale. Al raggiungimento del range terapeutico di anticoagulazione (INR 2-3) per almeno 2 giorni consecutivi, l'eparina viene sospesa, e viene continuato solo l'anticoagulante orale.

FIGURA 4.9 **Terapia standard del TEV**

Terapia iniziale (5-7 giorni)



Terapia a lungo termine (≥ 3-6 mesi)

Oggigiorno le EBPM possono essere considerate il nuovo standard terapeutico per la terapia iniziale del TEV. Anche nei pazienti oncologici i due trattamenti, EBPM versus ENF, nella fase iniziale, risultano sovrapponibili nel prevenire le recidive trombotiche. Infatti, con tali schemi, l'outcome a breve termine nei pazienti oncologici non è diverso da quello osservato nei pazienti con TEV non oncologici e dimostra la pari efficacia e sicurezza dei due trattamenti a fronte di una maggiore maneggevolezza delle EBPM. Nei pazienti con TE o PV con TEV acuto si raccomanda il trattamento iniziale con EBPM s.c. una o due volte al giorno. Nei pazienti con insufficienza renale grave si suggerisce l'utilizzo della ENF e.v.

Monitoraggio di laboratorio della ENF e della EBPM

ENF. I criteri di somministrazione della ENF prevedono l'iniezione di una dose di carico di 50-100 UI/Kg e.v., seguita dall'iniezione e.v. continua di 1.250-1.500 UI/h,

monitorando il tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT) con lo scopo di mantenere un rapporto di 1,5-2,5 rispetto al valore basale. L'APTT è un test semplice, sensibile elettivamente all'inibizione operata dall'eparina sui fattori della via intrinseca e comune della cascata coagulativa. Tuttavia, la sensibilità dei reagenti impiegati per tale test può variare da un laboratorio all'altro. Gli intervalli terapeutici ottimali dell'APTT, riportati negli studi di riferimento, corrispondono a livelli plasmatici di ENF compresi tra 0,2 e 0,4 UI/mL (misurata con titolazione protaminica), o tra 0,35 e 0,7 (misurata come livello di attività anti-FXa); è raccomandabile che ogni laboratorio verifichi tale corrispondenza. La determinazione dell'eparinemia è raccomandabile in pazienti apparentemente resistenti a dosi elevate di farmaco. In caso di infusione e.v. continua dell'eparina, l'APTT può essere misurato in qualsiasi momento.

EPBM. Le EBPM hanno un'attività anticoagulante più prevedibile della ENF per effetto della minore interazione con le proteine plasmatiche. Questo rende possibile una terapia a dosi fisse in base al peso corporeo del paziente, senza necessità di un monitoraggio di laboratorio. Lo schema di somministrazione (possibilmente, autosomministrazione) prevede una dose di EBPM s.c. adattata al peso corporeo ogni 12h o 24h, in embricazione con un farmaco anticoagulante orale AVK a partire dal giorno stesso o dal giorno successivo, fino al raggiungimento dell'effetto terapeutico dell'anticoagulante orale (INR tra 2 e 3), normalmente dopo circa 5-6 giorni.

Vari studi clinici hanno dimostrato che l'utilizzo di un monitoraggio di laboratorio delle EBPM non è necessario dal momento che non è stata evidenziata una correlazione tra i loro livelli ed eventi avversi come il sanguinamento e la trombosi. Tuttavia, tali studi hanno generalmente escluso diverse tipologie di pazienti quali: donne in gravidanza, grandi obesi, soggetti in sovrappeso o sottopeso e pazienti con insufficienza renale severa. In tutte queste condizioni patologiche la farmacocinetica delle EBPM può cambiare rendendo la dose di EBPM somministrata non adeguata per una ottimale prevenzione del TEV e meno sicura in termini di sanguinamenti maggiori. Da qui la possibilità, in queste categorie pazienti, di utilizzare la determinazione dell'attività anti-FXa entro le 4 ore dalla somministrazione sottocute.

Anticoagulanti orali - Antagonisti della Vitamina K (AVK)

La terapia anticoagulante orale (TAO) rappresenta un trattamento di grande rilevanza e di sempre più vasta applicazione per la cura e la prevenzione delle malattie tromboemboliche in molti ambiti patologici, in particolare quello cardiologico e vascolare, ma anche internistico, chirurgico e specialistico di altro genere.

Gli anticoagulanti orali attualmente disponibili per la terapia del TEV in Italia sono il Coumadin (warfarin) da 5 mg e il Sintrom (acenocumarolo) da 4 mg e 1

mg. Il Warfarin è rapidamente assorbito dal tratto gastrointestinale, ha una elevata biodisponibilità, con una emivita di 36-42 ore. Possiede un elevato legame (97-99%) con le proteine plasmatiche e viene metabolizzato nel fegato, escrezione biliare (Feci) e urinaria. L'Acenocumarolo è un analogo del warfarin per assorbimento e biodisponibilità, tuttavia ha un'emivita plasmatica inferiore al warfarin (circa 12 ore), e determina una maggiore fluttuazione nei livelli del FVII.

Monitoraggio terapia anticoagulante orale (TAO)

Lo scopo fondamentale della TAO è quello di deprimere, in modo controllato e reversibile, la coagulabilità del sangue e ottenere per il paziente a rischio la maggior protezione necessaria dagli eventi tromboembolici con il minimo rischio emorragico. Il grado di anticoagulazione, varia a secondo delle patologie, e viene definito da un "range" (intervallo) o da un "target" (valore ottimale di riferimento) terapeutici (Tabella 4.9). Per ottenere la massima sicurezza ed efficacia il paziente viene controllato periodicamente sia dal punto di vista laboratoristico (effetto biologico del farmaco), sia dal punto di vista clinico (visita di controllo).

TABELLA 4.9 Range di PT-INR consigliati per patologia (adattata dalle raccomandazioni FCSA 2010)

Patologia	Range INR	Durata
Protesi valvolari cardiache meccaniche	2,5-3,5	Indefinita
Protesi valvolari cardiache biologiche	2,0-3,0	3 mesi
Malattie valvolari cardiache*	2,0-3,0	Indefinita
Trombosi nelle cavità cardiache	2,0-3,0	Fino a scomparsa dei trombi
Cardiomiopatia dilatativa	2,0-3,0	Indefinita
Fibrillazione atriale con valvulopatia	2,0-3,0	Indefinita
Fibrillazione atriale recente da sottoporre a cardioversione	2,0-3,0	3 settimane prima e 3 dopo la cardioversione
Fibrillazione atriale non valvolare in prevenzione secondaria	2,0-3,0	Indefinita

Patologia	Range INR	Durata
Trombosi venosa profonda/ embolia polmonare secondaria	2,0-3,0	3-6 mesi
Trombosi venosa profonda/ embolia polmonare spontanea	2,0-3,0	Almeno 6 mesi
Trombosi venosa profonda/ embolia polmonare ricidivanti	2,0-3,0	Indefinita

** Non necessitano di alcuna profilassi la sindrome da prolasso della mitrale, la calcificazione dell'anulus mitralico e le valvulopatie aortiche e tricuspидali in assenza di FA e storia di embolie.*

Attualmente il monitoraggio della TAO avviene attraverso la determinazione del tempo di protrombina (PT), espresso in termini di “International Normalized Ratio” (INR). Il PT è il tempo di coagulazione in secondi della miscela di un plasma citratato povero di piastrine, in presenza di tromboplastina e di ioni calcio ed è sensibile ai difetti dei FII, FVII, FIX e FX. La necessità di adottare un parametro standardizzato, quale l’INR, è data dalla diversa attività, specifica da lotto a lotto, della tromboplastina usata per l’esecuzione del test. Ogni preparazione di tromboplastina viene calibrata secondo uno standard internazionale di riferimento, ed è quindi caratterizzata da un indice detto ISI (International Sensitivity Index), usato nel computo dell’INR.

La conversione del PT in INR si ottiene dividendo il valore di PT del paziente per quello del controllo normale (pool di soggetti normali) ed elevando il rapporto (PT-ratio) a una potenza pari all’ISI del reagente usato; in questo modo si ottiene un valore (INR), che rappresenta il PT-ratio che si sarebbe ottenuto se fosse stato usato lo Standard Internazionale al posto del reagente attuale. Appositi schemi sono stati elaborati per ottenere rapidamente un dosaggio appropriato in ogni singolo paziente. È raccomandata giornalmente l’esecuzione del PT su un pool di plasma e la partecipazione ai controlli di qualità regionali della Federazione dei Centri per la Sorveglianza degli Anticoagulati (FCSA) e di altri organismi preposti alla standardizzazione dei metodi di laboratorio.

La risposta al trattamento è estremamente variabile tra un paziente e l’altro, e dipende da numerosi fattori individuali e/o ambientali (i.e. regime dietetico), dalla presenza di malattie intercorrenti o concomitanti, dalle interazioni fra farmaci. In alcune situazioni (i.e. terapia con farmaci anticonvulsivanti o altri forti induttori enzimatici) risultano necessarie dosi particolarmente elevate. In questi casi si rende necessaria una particolare

cautela nelle modalità di sospensione dell'anticoagulante o del farmaco interferente.

L'inizio della TAO deve essere effettuato tenendo conto che non esistono parametri certi in grado di suggerirci quale sarà la dose media giornaliera di quel dato paziente. Gli studi disponibili mostrano che non esiste alcun vantaggio nell'iniziare la terapia con dosi elevate di farmaco (maggiore rischio di sovradosaggio e minor probabilità di raggiungere il target terapeutico in pochi giorni), per cui appare indicato iniziare con una dose iniziale di 1 compressa al giorno per il Warfarin (5mg) prevedendo di ottenere livelli terapeutici di PT INR in 4-7 giorni. Soltanto per i pazienti anziani e per gli epatopatici è prevedibile che la dose media giornaliera sia più bassa rispetto agli altri pazienti. Dopo l'induzione, il PT INR dovrà essere controllato periodicamente con un intervallo massimo di 4 settimane e il dosaggio del farmaco aggiustato in modo da mantenere il range terapeutico desiderato.

4.10.3 Terapia antitrombotica e chirurgia

Nei pazienti con TE e PV sottoposti a intervento chirurgico vi è un aumentato rischio sia di trombosi che di sanguinamento e non è ben definita quale sia la migliore strategia per prevenire tali complicanze. È quindi assolutamente consigliabile una stretta collaborazione tra il medico ematologo di riferimento e il chirurgo, al quale il paziente deve sempre far presente di essere portatore della patologia ematologica. Se il paziente sta assumendo farmaci antiaggreganti o anticoagulanti orali può essere necessaria una sospensione dai 5 ai 10 giorni prima dell'intervento. Le modalità di tale sospensione e la durata variano in relazione al tipo di farmaco e al motivo per cui lo si sta assumendo. Pertanto è indispensabile evitare modalità di sospensione dei farmaci autogestite o gestite da medici non esperti, ed è importante segnalare per tempo al medico ematologo di riferimento la programmazione dell'intervento chirurgico. Manovre odontoiatriche o interventi di chirurgia minore (per esempio asportazione di un nervo) possono essere condotte anche senza sospendere i farmaci o sospendendoli per un periodo di 3 giorni. Tuttavia anche in questo caso è necessario segnalare a chi farà la manovra di essere in trattamento antiaggregante o anticoagulante, e richiedere in anticipo consigli al medico ematologo di riferimento.

Terapia antiaggregante piastrinica e chirurgia

Per prevenire le emorragie associate a procedure invasive e di chirurgia, è importante interrompere la terapia antiaggregante piastrinica. Le linee guida dell'American College of Chest Physicians (ACCP) raccomandano di interrompere la terapia antiaggregante piastrinica da 7 a 10 giorni prima della procedura prevista

o dell'intervento chirurgico. La terapia antiaggregante, in quei pazienti in cui è stata temporaneamente sospesa, può essere ripresa circa 24 ore dopo l'intervento chirurgico. Le linee guida non raccomandano di monitorare l'interruzione e la ripresa della terapia antiaggregante mediante test di funzionalità piastrinica.

Esistono delle situazioni particolari in cui la terapia antiaggregante può anche non essere sospesa. I pazienti ad alto rischio per eventi cardiovascolari o per quei pazienti che devono sottoporsi a procedure cardiache, tra cui bypass coronarico, o interventi chirurgici non cardiaci, non è raccomandato interrompere la terapia con aspirina. Se la terapia con aspirina viene interrotta, deve essere ripresa entro 6-48 ore dopo l'intervento chirurgico. I pazienti che sono in terapia con clopidogrel devono interrompere la terapia con clopidogrel preferibilmente 10 giorni (range 5 a 10 giorni) prima dell'intervento.

Protocolli di “Bridging therapy” in pazienti in TAO sottoposti a chirurgia

La chirurgia maggiore e le manovre invasive rappresentano nei pazienti in TAO un problema rilevante nella pratica ospedaliera. La sospensione della TAO in vista di interventi chirurgici o manovre invasive può aumentare il rischio tromboembolico del paziente mentre la sua continuazione determina un aumento del rischio emorragico.

La scelta del trattamento più idoneo in vista di intervento chirurgico in elezione è correlata a tre fattori:

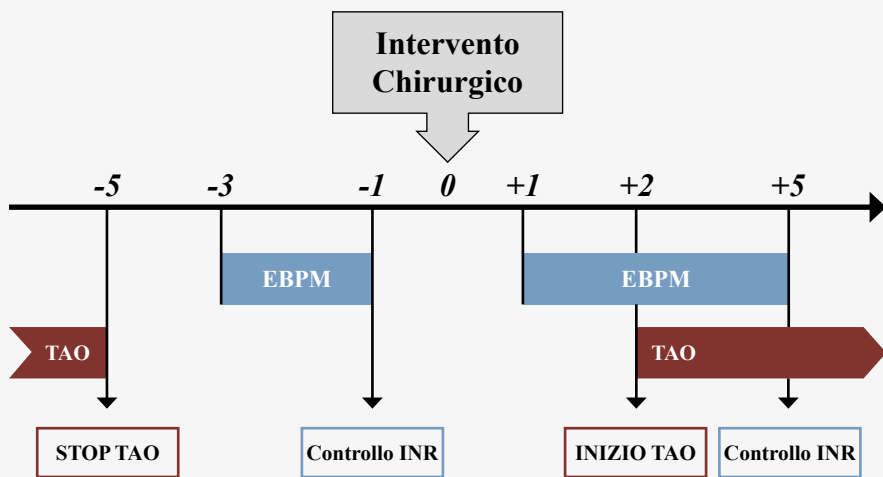
1. rischio TE inerente l'indicazione per la quale è in corso la TAO e rischio specifico del paziente;
2. rischio emorragico legato alla TAO perioperatoria, al tipo e alla sede dell'intervento, alle condizioni cliniche associate (epatopatia, nefropatia), all'assunzione di farmaci interferenti con l'emostasi e alla possibilità di adottare misure emostatiche locali;
3. conseguenze cliniche dell'evento tromboembolico o emorragico.

Nel peri-operatorio le opzioni terapeutiche sono essenzialmente due: la continuazione della TAO o la sospensione temporanea con eventuale sostituzione con EBPM a dosi terapeutiche (“bridging therapy”) dal momento in cui l'INR scende a livelli inferiori rispetto all'intervallo terapeutico. In generale si suggerisce la sospensione della TAO circa 4 giorni prima dell'intervento chirurgico e l'uso di eparina, a dosi profilattiche per i pazienti a basso rischio tromboembolico e a dosi terapeutiche o intermedie (circa 70% della dose piena) per i casi ad alto rischio. Le fasi della bridging therapy sono schematizzate nella *Figura 4.10*.

L'American College of Cardiology, l'American Heart Association e l'American College of Chest Physicians suggeriscono la “bridging therapy” nella maggior parte

dei pazienti mentre altri autori applicano la terapia eparinica solo nei pazienti con rischio tromboembolico molto elevato. Mentre è sicura l'efficacia di ENF ed EBPM nella prevenzione del TEV, controverso è il loro effetto nella prevenzione di quello arterioso. Le scelte terapeutiche sono condivise per i pazienti ad elevato rischio tromboembolico e controverse in quelli a basso rischio. In particolare le linee guida dell'American College of Chest Physicians raccomandano EBPM o ENF a dosi terapeutiche nei pazienti a elevato rischio tromboembolico. In pazienti a rischio tromboembolico intermedio è raccomandata EBPM o ENF a dosi terapeutiche, oppure EBPM a basse dosi. L'EBPM a basse dosi o nessuna "bridging therapy" è invece suggerita nei pazienti a basso rischio di TE .

FIGURA 4.10 Fasi della "bridging therapy" per intervento chirurgico in corso di TAO



4.11 IL PAZIENTE CON SINTOMI SISTEMICI E/O PRURITO

Le neoplasie mieloproliferative classiche Philadelphia negative (NMP), Policitemia Vera (PV), Trombocitemia Essenziale (TE) e Mielofibrosi Primaria (MFP), sono un gruppo di patologie che originano dalla trasformazione neoplastica della cellula staminale emopoietica, cioè la cellula dalla quale prendono origine tutte le cellule del sangue. Si caratterizzano per la proliferazione clonale di uno o più progenitori emopoietici nel midollo osseo e in sedi extramidollari. Nella maggior parte dei casi le NPM sono diagnosticate nella “fase proliferativa” quando la maturazione a livello midollare è efficace e il numero di granulociti, eritrociti, e/o piastrine nel sangue periferico è aumentato. Anche se il loro esordio è spesso insidioso, ogni NMP può evolvere in un quadro di insufficienza midollare a causa di mielofibrosi, emopoiesi inefficace, e/o trasformazione in leucemia acuta. In alcuni pazienti l’iniziale “fase proliferativa” è di breve durata o non viene riconosciuta, quindi la NMP viene diagnosticata in uno stadio avanzato.

Il quadro clinico di presentazione è diverso a seconda del tipo di malattia mieloproliferativa e può essere caratterizzato da sintomi sistemici (febbre, calo ponderale, sudorazioni notturne), prurito, dolori ossei, astenia, cachessia, sintomi da iperviscosità e vasomotori legati a disturbi del piccolo circolo (cefalea, ronzi auricolari, vertigini e disturbi visivi, eritromelalgia), fenomeni trombotici arteriosi (infarto del miocardio, angina, TIA, ictus cerebrali, arteriopatie periferiche) o venosi (trombosi venose profonde degli arti inferiori o in sedi meno usuali con embolia polmonare, tromboflebiti superficiali), emorragie, infezioni ed epatosplenomegalia. Alla diagnosi, la epatomegalia e la splenomegalia sono spesso presenti e tendono a diventare sempre più accentuate durante il corso della malattia.

In questo capitolo discuteremo i sintomi sistemici e il prurito nel paziente con NMP e relativo trattamento.

4.11.1 Prurito e sintomi costituzionali

I dati raccolti su 1.179 pazienti affetti da NMP hanno mostrato che il 53% soffriva di prurito, e che questo sintomo era presente nel 40%, nel 50% e nel 65% dei pazienti affetti rispettivamente da TE, MF e PV. Inoltre, oltre ai sintomi costituzionali, presenti in più del 70% dei pazienti affetti da NMP, prevalentemente in quelli con mielofibrosi (MFP, post-PV MF e post-TE, MF), sono riportati prurito generalizzato, astenia, cachessia e dolori ossei. In altre casistiche, la frequenza di sintomi sistemici, soprattutto nella PV ed TE è minore.

I sintomi costituzionali nei pazienti affetti da MF hanno un impatto sulla sopravvivenza e sono inclusi come parametro indipendente negli score prognostici internazionali attualmente raccomandati dall'European LeukemiaNet: il sistema prognostico internazionale (IPSS) da utilizzare alla diagnosi e lo score internazionale dinamico DIPSS da impiegare durante il follow-up (Tabella 4.10).

TABELLA 4.10

Sistema di punteggio per il sistema di score prognostico internazionale (IPSS) e per il sistema di score prognostico internazionale dinamico (DIPSS)

Parametri	Punteggi	
	IPSS	DIPSS
Età >65 anni	1	1
Emoglobina <10g/dL	1	2
Leucociti >25 x10 ⁹ /L	1	1
Blasti circolanti ≥1%	1	1
Sintomi costituzionali	1	1

IPSS: 0 punti per il basso rischio, 1 per il rischio intermedio-1, 2 per il rischio intermedio-2, punteggio ≥3 per l'alto rischio; DIPSS: 0 punti per il basso rischio, 1-2 per il rischio intermedio-1, 3-4 per il rischio intermedio-2, 5-6 per l'alto rischio.

Ipotesi eziopatogenetiche

Il prurito è definito dal paziente come una spiacevole esperienza sensoriale che porta frequentemente a lesioni da grattamento. È un sintomo importante di diverse patologie sistemiche. È stato riportato che la mutazione V617F di JAK2 può avere un ruolo nella eziopatogenesi del prurito nelle NMP inducendo una attivazione dei basofili circolanti e tissutali che inducono la produzione e il rilascio di istamina da parte dei mastociti. Anche le mutazioni nell'esone 12 del gene JAK2 e mutazioni di cMPL avrebbero un ruolo nella patogenesi del prurito nelle NMP. Inoltre un aumento dell'allele burden di JAK2 è stato associato a un aumento del prurito nei pazienti affetti da PV, anche se il meccanismo esatto alla base di questa associazione non è chiaro.

Più recentemente, l'interazione tra i terminali dei neuroni C afferenti per il prurito, diversi da quelli per il dolore, e i mastociti cutanei (MC) è stata riconosciuta come un percorso importante nella fisiopatologia del prurito. Diversi mediatori dei MC, tra cui l'istamina, la triptasi, le prostaglandine (PG), e i leucotrieni (LT), sono importanti

mediatori del prurito nelle malattie infiammatorie della cute. Anche l'interleuchina IL-31, una citochina principalmente prodotta da linfociti T attivati, ha un ruolo importante nella eziopatogenesi del prurito. Topi transgenici che over-esprimono l'IL-31 presentano tutte le caratteristiche della dermatite atopica, tra cui il prurito grave. È stato inoltre dimostrato che l'IL-31 è significativamente over-espressa nella dermatite atopica pruriginosa piuttosto che nell'infiammazione cutanea psoriasica non pruriginosa.

Il prurito può essere un aspetto angosciante delle NMP e può anche essere il sintomo di presentazione o precedere di diversi anni le manifestazioni ematologiche. Il prurito priva i pazienti del sonno e interferisce con le attività fisiche e la vita sociale. Si manifesta spontaneamente oppure dopo un bagno o una doccia calda (per tale motivo detto anche acquagenico), o dopo improvvise modifiche ambientali. Anche se le NMP sono riconosciute come disordini clonali della cellula staminale emopoietica spesso associati con una mutazione di JAK2 (JAK2V617F), la fisiopatologia del prurito associato alle NMP rimane da chiarire.

È stato recentemente dimostrato che i MC sono coinvolti nell'eziopatogenesi del prurito nelle NMP. In uno studio pubblicato nel 2009, è stato descritto che colture di MC di pazienti affetti da NMP (MC-NMP) rilasciano una quantità significativamente maggiore di fattori pruritogenici (tra cui l'istamina, LT, e IL-31) di quella rilasciata dai MC normali. Gli MC-NMP hanno mostrato un aumento della diapedesi, in risposta al fattore della cellula staminale (SCF) o IL-8, che è stata associata a un aumento dell'actina filamentosa (F-actina) rispetto ai normali MC. L'aumento della trascrizione di IL-31 è stato documentato nelle cellule T CD3+ di pazienti affetti da NMP. Inoltre, la presenza di prurito in pazienti con NMP è risultata essere statisticamente correlata con un maggior numero di MC generate da cellule CD34+, con la riduzione dell'apoptosi e il diminuito rilascio di PGD2 in colture di MC-NMP, e con livelli plasmatici più elevati di IL-31. Questi dati dimostrano che esiste una anomalia funzionale degli MC nelle NMP e che gli MC sono coinvolti nella patogenesi del prurito nei pazienti con NMP.

I sintomi costituzionali, presenti soprattutto nei pazienti affetti da mielofibrosi, sono il risultato dell'elevato turn-over cellulare e dell'ematopoiesi extramidollare che possono indurre uno stato ipercatabolico che causa questi sintomi.

L'eziopatogenesi dei sintomi costituzionali non è ancora chiara e sembra essere correlata con la complessità biologica della MF.

Si ritiene che l'espressione di livelli elevati di citochine circolanti nella mielofibrosi rappresenti una risposta infiammatoria che contribuisce al fenotipo clinico, tramite la trasduzione del segnale attraverso il pathway JAK-STAT (soprattutto attraverso JAK

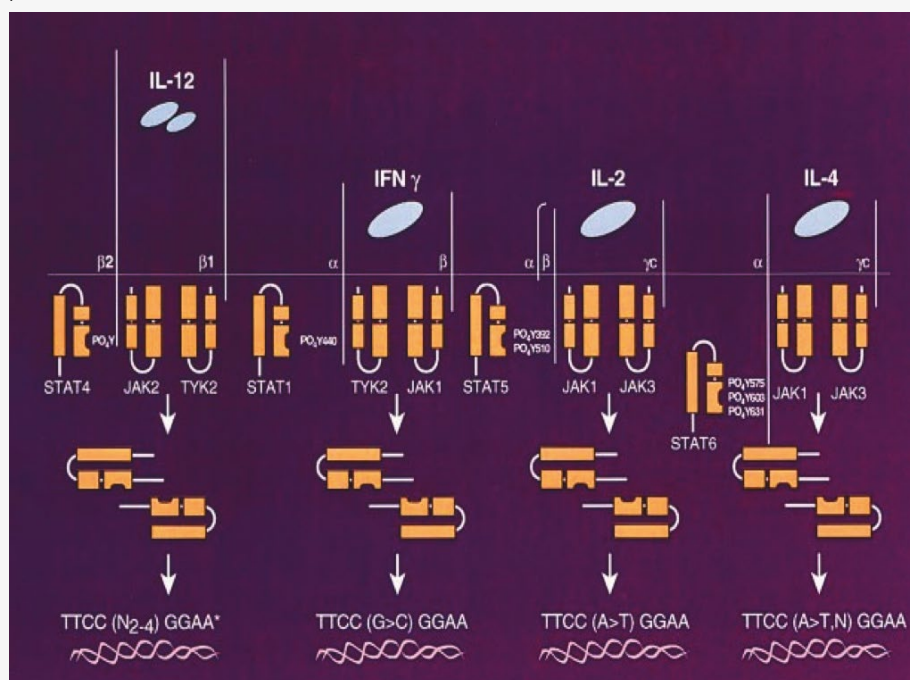
1 e 2) (*Figura 4.11*). La famiglia delle chinasi Janus è stata oggetto di fervido studio negli ultimi anni, e l'interesse verso questa particolare famiglia di tirosin-chinasi si è ampliato fino a comprendere campi piuttosto distanti fra di loro: è ormai stato chiarito, infatti, come queste molecole siano coinvolte nella trasduzione del segnale mediato da numerose citochine, implicate a vario titolo nella maturazione e nella differenziazione delle cellule ematopoietiche, nella generazione e regolazione della risposta immunitaria, ed è stato altrettanto ben documentato il modo in cui le loro alterazioni (sia in termini di aumentata o diminuita espressione genica, sia in termini di mutazioni) contribuiscano alla patogenesi di alcune immunodeficienze e di malattie ematologiche.

La superfamiglia dei recettori citochinici, con cui i componenti della famiglia JAK (JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2) interagiscono ai fini della efficace trasduzione del segnale, comprende proteine integrali di membrana, ciascuna dotata di un singolo segmento trans-membrana, ma sprovviste di attività enzimatica intrinseca.

Tale superfamiglia può essere suddivisa in recettori di tipo I e recettori di tipo II. A fronte di queste diversità strutturali, entrambi i tipi di recettori citochinici si attivano a seguito del legame con il loro specifico ligando al dominio extracellulare della proteina, che cambia conformazione e va incontro ad attiva dimerizzazione o oligomerizzazione, a seguito della quale le molecole JAK, presenti sul versante intracitoplasmatico del recettore, vengono a trovarsi giustapposte e innescano la cascata intracellulare del segnale attraverso una reciproca cross-fosforilazione. I recettori di tipo I comprendono i recettori per l'eritropoietina (EPO), per la trombopoietina (TPO), per l'ormone della crescita e per recettori eteromerici, comprendenti i recettori per l'IL-2, l'IL-4, l'IL-7, l'IL-9, l'IL-13, l'IL-15 e l'IL-21. I recettori di tipo II, invece, sono attivi sotto forma di complessi proteici eterodimerici e mediano la trasduzione del segnale innescato dagli interferoni α , β e γ , e da varie interleuchine (IL-22, IL-24, IL-28, IL-29).

La famiglia delle chinasi JAK è coinvolta in numerose segnalazioni da parte delle citochine. In sintesi sembra che specifiche JAK chinasi, da sole o in combinazione, possono essere attivate preferenzialmente a seconda del tipo di recettore che viene attivato e a seguito di ciò diversi STAT vengono attivati per la trasduzione del segnale.

Questi meccanismi contribuiscono sia alla comparsa dei sintomi costituzionali, che al complesso processo della fibrosi del midollare, all'angiogenesi, all'ematopoiesi extramidollare e di conseguenza alla splenomegalia.

FIGURA 4.11 Citochine e JAK-STAT pathway

4.11.2 Terapia e valutazione della risposta

I sintomi costituzionali, possono essere molto severi e debilitanti incidendo in maniera sostanziale sulla qualità della vita del paziente e di conseguenza anche sul versante psico-emozionale.

La terapia del prurito nei pazienti affetti da NMP è stata per lo più empirica, soprattutto impiegando farmaci antistaminici che a volte alleviano la sintomatologia. Molti studi clinici hanno dimostrato una notevole efficacia di IFN- α nelle NMP, soprattutto nella PV e nella TE. L'IFN- α induce circa l'80% di risposte ematologiche in tali malattie ed è in grado di ridurre la splenomegalia, così come di alleviare il prurito e gli altri sintomi costituzionali. Inoltre, l'utilizzo di inibitori selettivi della captazione della serotonina è stato utile, e ha suggerito che le piastrine (che rappresentano i depositi di serotonina nel sangue) potrebbero avere un ruolo nella patogenesi del prurito nelle NMP.

Interessanti risultati sul controllo dei sintomi costituzionali nei pazienti affetti da MF si sono osservati in studi di fase I e II con l'impiego di JAK inibitori (INCB018424 e TG101348). Il trattamento con questi nuovi farmaci ha determinato l'abolizione dei sintomi costituzionali nella maggior parte dei casi e una riduzione della splenomegalia di ~ 50% nel 40-50% dei pazienti.

Inoltre la molecola INCB018424 (ruxolitinib), determina la down-regolazione farmaco-indotta di citochine pro-infiammatorie, tra cui IL-6, IL-1 recettore α (RA) e IL-8, che è stata accompagnata da un miglioramento soprattutto dei sintomi costituzionali nei pazienti con mielofibrosi. Queste osservazioni suggeriscono che i livelli plasmatici delle citochine nella MF potrebbero essere utilizzati per la previsione e il monitoraggio della risposta al trattamento.

Uno studio condotto recentemente ha mostrato, attraverso l'analisi dei livelli di 30 citochine circolanti alla diagnosi in pazienti con MFP, che elevati livelli plasmatici di IL-2R, IL-8, IL-12 e l'IL-15 possono predire una ridotta sopravvivenza. Un aumento dei livelli di IL-8 ($P < 0,001$), IL-2R ($P < 0,001$), IL-12 ($P < 0,001$), IL-15 ($P = 0,001$), e IP-10 ($P = 0,003$) sono risultati indipendentemente predittivi di inferiore sopravvivenza. Una simile analisi multivariata che ha incluso i 127 pazienti dello studio ha confermato il valore prognostico di cinque citochine, IL-8, IL-2R, IL-12 e IL-15, che è rimasto significativo quando la stratificazione del rischio, secondo la recente revisione dello score prognostico internazionale dinamico (DIPSS-plus), è stata aggiunta al modello multivariato. Inoltre elevati livelli circolanti di IL-8 correlano con la presenza di sintomi costituzionali. Questi dati confermano ancora di più l'utilità di poter impiegare i livelli delle citochine plasmatiche per il monitoraggio della terapia con farmaci JAK inibitori nei pazienti con MF.

Per poter valutare la risposta alla terapia in relazione ai sintomi costituzionali è stata elaborata la scheda di valutazione dei sintomi nella mielofibrosi (Myelofibrosis Symptom Assessment Form, MFSAF), che prevede una scala di valori numerici che va da 0 a 10 che rispecchiano l'intensità e la gravità di ogni sintomo in relazione alla percezione soggettiva dello stesso da parte del paziente. Al valore 0 corrisponde l'assenza del sintomo, mentre a 10 la peggiore gravità immaginabile.

La MFSAF è uno strumento molto utile per poter valutare se vi è un miglioramento per quanto riguarda i sintomi, paragonando i punteggi corrispondenti a ogni sintomo prima e dopo la terapia, soprattutto nel contesto di studi clinici.

La MFSAF è stata utilizzata nello studio in aperto di fase II con ruxolitinib in pazienti affetti da mielofibrosi (*Tabella 4.11*). L'analisi di 87 pazienti arruolati in questo studio ha dimostrato che la MFSAF è stato uno strumento esauriente e sensibile. Inoltre la MFSAF ha mostrato una buona correlazione con parametri

obiettivi quali la splenomegalia e il performance status, valutato con il test del cammino in 6 minuti. Questo strumento si è dimostrato sensibile ai cambiamenti dei sintomi e al miglioramento degli stessi durante la terapia con ruxolitinib. Questi risultati confermano l'utilità della MFSAF per la valutazione oggettiva dei sintomi nei pazienti affetti da MF. La MFSAF è estremamente semplice da utilizzare e potrebbe potenzialmente consentire il confronto tra farmaci anche in studi non randomizzati.

TABELLA 4.11

La scheda di valutazione dei sintomi nella mielofibrosi (MFSAF) modificata amministrata serialmente a 87 pazienti con mielofibrosi nello studio in aperto di fase II con INCB018424

Cerchiate il primo numero che indica quanta difficoltà avete avuto con ciascuno dei seguenti sintomi durante la scorsa settimana

Parametri presenti nella versione originale della MFSAF	
Fatica	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Dolore addominale (e disturbi addominali)	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Inattività (capacità di deambulare e camminare)	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Tosse	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Sudorazioni notturne	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Prurito	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Dolore osseo (diffuso, non delle articolazioni o artrite)	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Febbre (>38 °C)	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Riduzione dell'appetito/ non intenzionale perdita di peso (o incremento) negli ultimi 6 mesi	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Qual è la sua qualità di vita?	(Migliore che si può) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore che si può)

Parametri da valutare	
Capacità di piegarsi anche per allacciare le scarpe	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Alterato movimento intestinale e/o minzione difficile o dolorosa	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
L'immagine corporea e impedimento a svolgere le attività quotidiane	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Disturbi del sonno	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)
Gonfiore delle estremità (braccia e gambe)	(Assente) 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (peggiore immaginabile)

KEY POINTS

- I sintomi costituzionali ed il prurito rappresentano un corteo di sintomi di difficile gestione, che incidono sulla qualità di vita del paziente
- Il recente riscontro di ottimi risultati sul controllo di questi sintomi con i farmaci JAK inibitori apre nuove possibilità terapeutiche

BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Naser MB, Gollnick H, Orfanos CE (1993) Aquagenic pruritus as a presenting symptom of polycythemia vera. *Dermatology* 187(2):130-3.
- ACCP Guidelines (2008) Antithrombotic and thrombolytic therapy, 8th edition. *Chest* 133:6 suppl.
- Adams BD, Baker R, Lopez JA, et al (2010) Myeloproliferative disorders and the hyperviscosity syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am* 24(3):585-602.
- Afshar-Kharghan V, Thiagarajan P (2006) Leukocyte adhesion and thrombosis. *Curr Opin Hematol* 13(1):34-9.
- Alvarez-Larran A, Arellano-Rodrigo E, Reverter JC, et al (2008) Increased platelet, leukocyte, and coagulation activation in primary myelofibrosis. *Ann Hematol* 87(4):269-76.
- Alvarez-Larrán A, Cervantes F, Bellosillo B, et al (2007) Essential thrombocythemia in young individuals: frequency and risk factors for vascular events and evolution to myelofibrosis in 126 patients. *Leukemia* 21(6):1218-23.
- Alvarez-Larrán A, Cervantes F, Pereira A, et al (2010) Observation versus antiplatelet therapy as primary prophylaxis for thrombosis in low-risk essential thrombocythemia. *Blood* 116(8):1205-10.
- Alvarez-Larran A, Garcia-Pagan JC, Abrales JG, et al (2004) Increased CD11b neutrophil expression in Budd-Chiari syndrome or portal vein thrombosis secondary to polycythaemia vera. *British journal of haematology*. 124(3):329-35.
- Amitrano L, Guardascione MA, Ames PR, et al (2003) Thrombophilic genotypes, natural anticoagulants, and plasma homocysteine in myeloproliferative disorders: relationship with splanchnic vein thrombosis and arterial disease. *Am J Hematol* 72(2):75-81.
- Anger BR, Seifried E, Scheppach J, et al (1989) Budd-Chiari syndrome and thrombosis of other abdominal vessels in the chronic myeloproliferative diseases. *Klin Wochenschr* 67(16):818-25.
- Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, et al (2006) Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica* 91(2):169-75.
- Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, et al (2009) Platelet turnover, coagulation factors, and soluble markers of platelet and endothelial activation in essential thrombocythemia: relationship with thrombosis occurrence and JAK2 V617F allele burden. *Am J Hematol* 84(2):102-8.

- Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al (2011) Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 29(6):761-70.
- Barbui T, Barosi G, Grossi A, et al (2004) Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 89(2):215-32.
- Barbui T, Carobbio A, Cervantes F, et al (2010) Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood* 115(4):778-82.
- Barbui T, Carobbio A, Rambaldi A, et al (2009) Perspectives on thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: is leukocytosis a causative factor ?. *Blood* 114(4):759-63.
- Barosi G, Buratti A, Costa A, et al (1991) An atypical myeloproliferative disorder with high thrombotic risk and slow disease progression. *Cancer* 68(10):2310-8.
- Bazzan M, Tamponi G, Schinco P, et al (1999) Thrombosis-free survival and life expectancy in 187 consecutive patients with essential thrombocythemia. *Ann Hematol* 78(12):539-43.
- Beer PA, Erber WN, Campbell PJ, et al (2011) How I treat essential thrombocythemia. *Blood* 117(5):1472-82.
- Beguin Y (2003) Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clin Chim Acta* 329(1-2):9-22.
- Bell JK, McQueen DS, Rees JL (2004) Involvement of histamine H4 and H1 receptors in scratching induced by histamine receptor agonists in Balb C mice. *Br J Pharmacol* 142(2):374-80.
- Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB, et al (1986) Therapeutic recommendations in Polycythemia Vera based on Polycythemia Vera Study Group Protocols. *Sem Hematol* 23(2):132-43.
- Besses C, Cervantes F, Pereira A, et al (1999) Major vascular complications in essential thrombocythemia: a study of the predictive factors in a series of 148 patients. *Leukemia* 13(2):150-4.
- Born GV (1962) Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 194:927-9.
- Boutet K, Montani D, Jaïs X, et al (2008) Therapeutic advances in pulmonary arterial hypertension. *Ther Adv Respir Dis* 2(4):249-65.
- Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, et al (2010) Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *Jama* 303(8):754-62.

- Budde U, Dent JA, Berkowitz SD, et al (1986) Subunit composition of plasma von Willebrand factor in patients with the myeloproliferative syndrome. *Blood* 68(6):1213-7.
- Budde U, Scharf RE, Franke P, et al (1993) Elevated platelet count as a cause of abnormal von Willebrand factor multimer distribution in plasma. *Blood* 82(6):1749-57.
- Campbell PJ, Bareford D, Erber WN, et al (2009) Reticulin accumulation in essential thrombocythemia: prognostic significance and relationship to therapy. *J Clin Oncol* 27(18):2991-9.
- Cario H (2005) Childhood polycythemia/erythrocytoses: classification, diagnosis, clinical presentation, and treatment. *Ann Hematol* 84(3):137-45.
- Cario H, McMullin MF, Pahl HL (2009) Clinical and hematological presentation of children and adolescents with polycythemia vera. *Ann Hematol* 88(8):713-9.
- Cario H, Schwarz K, Herter JM, et al (2008) Clinical and molecular characterisation of a prospectively collected cohort of children and adolescents with polycythemia vera. *Br J Haematol* 142(4):622-6.
- Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, et al (2008) Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 26(16):2732-6.
- Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, et al (2007) Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood* 109(6):2310-3.
- Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, et al (2011) Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood* 117(22):5857-9.
- Cervantes F, Alvarez-Larran A, Arellano-Rodrigo E, et al (2006) Frequency and risk factors for thrombosis in idiopathic myelofibrosis: analysis in a series of 155 patients from a single institution. *Leukemia* 20(1):55-60.
- Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al (2009) New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 113(13):2895-901.
- Chait Y, Condat B, Cazals-Hatem D, et al (2005) Relevance of the criteria commonly used to diagnose myeloproliferative disorder in patients with splanchnic vein thrombosis. *Br J Haematol* 129(4):553-60.
- Chim CS, Kwong YL, Lie AK, et al (2005) Long-term outcome of 231 patients with essential thrombocythemia: prognostic factors for thrombosis, bleeding, myelofibrosis, and leukemia. *Arch Intern Med* 165(22):2651-8.

- Coates GG , Eisenberg B , Dail DH (1994) Tc-99m sulfur colloid demonstration of diffuse pulmonary interstitial extramedullary hematopoiesis in a patient with myelofibrosis. A case report and review of the literature. *Clin Nucl Med* 19(12):1079-84.
- Colaizzo D, Amitrano L, Tiscia GL, et al (2007) The JAK2 V617F mutation frequently occurs in patients with portal and mesenteric venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 5(1):55-61.
- Colaizzo D, Tiscia GL, Bafunno V, et al (2010) The JAK2 rs12343867 CC genotype frequently occurs in patients with splanchnic venous thrombosis without the JAK2V617F mutation: a retrospective study. *J Thromb Haemost* 8(2):413-6.
- Colaizzo D, Tiscia GL, Pisanelli D, et al (2010) New TET2 gene mutations in patients with myeloproliferative neoplasms and splanchnic vein thrombosis. *J Thromb Haemost* 8(5):1142-4.
- Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, et al (1995) Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 332(17):1132-6.
- Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, et al (1990) Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 8(3):556-62.
- Dahabreh IJ, Zoi K, Giannouli S, et al (2009) Is JAK2 V617F mutation more than a diagnostic index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocythemia. *Leukemia research* 33(1):67-73.
- Denninger MH, Chaït Y, Casadevall N, et al (2000) Cause of portal or hepatic venous thrombosis in adults: the role of multiple concurrent factors. *Hepatology* 31(3):587-91.
- Dentali F, Squizzato A, Brivio L, et al (2009) JAK2V617F mutation for the early diagnosis of Ph-myeloproliferative neoplasms in patients with venous thromboembolism: a meta-analysis. *Blood* 113(22):5617-23.
- De Stefano V, Fiorini A, Rossi E, et al (2007) Incidence of the JAK2 V617F mutation among patients with splanchnic or cerebral venous thrombosis and without overt chronic myeloproliferative disorders. *J Thromb Haemost* 5(4):708-14.
- De Stefano V, Martinelli I (2010) Splanchnic vein thrombosis: clinical presentation, risk factors and treatment. *Intern Emerg Med* 5(6):487-94.
- De Stefano V, Rossi E, Paciaroni K, et al (2002) Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications. *Haematologica* 87(10):1095-108.

- De Stefano V, Rossi E, Za T, et al (2008) The JAK2 V617F mutation in patients with cerebral venous thrombosis: a rebuttal. *Thromb Haemost* 99(6):1121.
- De Stefano V, Rossi E, Za T, et al (2011) JAK2 V617F mutational frequency in essential thrombocythemia associated with splanchnic or cerebral vein thrombosis. *Am J Haematol* 86(6):526-8.
- De Stefano V, Teofili L, Leone G, et al (1997) Spontaneous erythroid colony formation as the clue to an underlying myeloproliferative disorder in patients with Budd-Chiari syndrome or portal vein thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 23(5):411-8.
- De Stefano V, Za T, Rossi E, et al (2008) Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia : incidence, risk factors and effect of treatments. *Haematologica* 93(3):372-80.
- De Stefano V, Za T, Rossi E, et al (2009) Influence of the JAK2 V617F mutation and inherited thrombophilia on the thrombotic risk among patients with essential thrombocythemia. *Haematologica* 94(5):733-7.
- De Stefano V, Za T, Rossi E, et al (2010) Leukocytosis is a risk factor for recurrent arterial thrombosis in young patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol* 85(2):97-100.
- Diehn F, Tefferi A (2001) Pruritus in polycythaemia vera: prevalence, laboratory correlates and management. *Br J Haematol* 115(3):619-21.
- Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, et al (2004) Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nat Immunol* 5(7):752-60.
- Douketis JD (2011) Perioperative management of patients who are receiving warfarin therapy: an evidence-based and practical approach. *Blood* 117(19):5044-9.
- Douketis JD, Berger PB, Dunn AS, et al (2008) The perioperative management of antithrombotic therapy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 133(6 Suppl):299S-339S.
- Douketis JD, Johnson JA, Turpie AG (2004) Low-molecular-weight heparin as bridging anticoagulation during interruption of warfarin: assessment of a standardized periprocedural anticoagulation regimen. *Arch Intern Med* 164(12):1319-26.
- Einhäupl K, Stam J, Bousser MG, et al (2010) EFNS guideline on the treatment of cerebral venous and sinus thrombosis in adult patients. *Eur J Neurol* 17(10):1229-35.
- El Ghannudi S, Ohlmann P, Meyer N, et al (2010) Impact of P2Y12 inhibition by clopidogrel on cardiovascular mortality in unselected patients treated by percutaneous coronary angioplasty: a prospective registry. *JACC Cardiovasc Interv* 3(6):648-56.

- Elliott MA, Tefferi A (2003) Thrombocythaemia and pregnancy. *Best Pract Res Clin Hematol* 16(2):227-42.
- Elliott MA, Tefferi A (2005) Thrombosis and haemorrhage in polycythemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 128(3):275-90.
- Falanga A, Marchetti M, Barbui T, et al (2005) Pathogenesis of thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: the role of neutrophils. *Semin Hematol* 42(4):239-47.
- Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, et al (2000) Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 96(13):4261-6.
- Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, et al (2005) Leukocyte-platelet interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Experimental hematology* 33(5):523-30.
- Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, et al (2007) V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules. *Exp Hematol* 35(5):702-11.
- Falanga A, Ofori FA, Cortelazzo S, et al (1994) Hemostatic system activation in patients with lupus anticoagulant and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 20(4):324-7.
- Faurschou M, Nielsen OJ, Jensen MK, et al (2000) High prevalence of hyperhomocysteinemia due to marginal deficiency of cobalamin or folate in chronic myeloproliferative disorders. *Am J Hematol* 65(2):136-40.
- Federici AB, Budde U, Rand JH (2004) Acquired von Willebrand syndrome 2004: International Registry--diagnosis and management from online to bedside. *Hamostaseologie* 24(1):50-5.
- Federici AB, Rand JH, Bucciarelli P, et al (2000) Acquired von Willebrand syndrome: data from an international registry. *Thromb Haemost* 84(2):345-9.
- Fennerty A, Dolben J, Thomas P, et al (1984) Flexible induction dose regimen for warfarin and prediction of maintenance dose. *Br Med J (Clin Res Ed)* 288(6426):1268-70.
- Finazzi G, Barbui T (2007) How I treat patients with polycythemia vera. *Blood* 109(12):5104-11.
- Finazzi G, Barbui T (2008) Evidence and expertise in the management of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Leukemia* 22(8):1494-502.
- Fiorini A, Chiusolo P, Rossi E, et al (2009) Absence of the JAK2 exon 12 mutations in patients with splanchnic venous thrombosis and without overt myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol* 84(2):126-7.

- Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, et al (2011) DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol* 29(4):392-7.
- Gangat N, Strand JJ, Lasho TL, et al (2008) Pruritus in polycythemia vera is associated with a lower risk of arterial thrombosis. *Am J Hematol* 83(6):451-3.
- Gangat N, Wolanskyj AP, Schwager S, et al (2009) Predictors of pregnancy outcome in essential thrombocythemia: a single institution study of 63 pregnancies. *Eur J Haematol* 82(5):350-3.
- Gangat N, Wolanskyj AP, Schwager SM, et al (2009) Leukocytosis at diagnosis and the risk of subsequent thrombosis in patients with low-risk essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Cancer* 115(24):5740-5.
- Gangat N, Wolanskyj AP, Tefferi A (2006) Abdominal vein thrombosis in essential thrombocythemia: prevalence, clinical correlates, and prognostic implications. *Eur J Haematol* 77(4):327-3.
- Geisler T, Langer H, Wydymus M, et al (2006) Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. *Eur Heart J* 27(20):2420-5.
- Gerlini G, Prignano F, Pimpinelli N (2002) Acute leucocytoclastic vasculitis and aquagenic pruritus long preceding polycythemia rubra vera. *Eur J Dermatol* 12(3):270-1.
- Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ (2009) Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev* 228(1):273-87.
- Gisslinger H, Mullner M, Pabinger I, et al (2005) Mutation of the prothrombin gene and thrombotic events in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia: a cohort study. *Haematologica* 90(3):408-10.
- Gisslinger H, Rodeghiero F, Ruggeri M, et al (1999) Homocysteine levels in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 105(2):551-5.
- Griesshammer M, Struve S, Harrison CM (2006) Essential Thrombocythemia/Polycythemia Vera and pregnancy: the need for an observational study in Europe. *Semin Thromb Haemost* 32(4 Pt 2):422-9.
- Godeneche G, Gaillard N, Roy L, et al (2010) JAK2 V617F mutation associated with cerebral venous thrombosis: a report of five cases. *Cerebrovasc Dis* 29(2):206-9.
- Greaves MW (2007) Recent advances in pathophysiology and current management of itch. *Ann Acad Med Singapore* 36(9):788-92.

- Gurbel PA, Antonino MJ, Bliden KP, et al (2008) Platelet reactivity to adenosine diphosphate and long-term ischemic event occurrence following percutaneous coronary intervention: a potential antiplatelet therapeutic target. *Platelets* 19(8):595-604.
- Gurbel PA, Bliden KP, Hayes KM, et al (2005) The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 45(9):1392-6.
- Harrison C (2005) Pregnancy and its management in the Philadelphia negative myeloproliferative diseases. *Br J Haematol* 129(3):293-306.
- Harrison CN (2005) Platelets and thrombosis in myeloproliferative diseases. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 409-15.
- Harrison C, Barbui T (2011) Aspirin in low-risk essential thrombocythemia, not so simple after all? *Leuk Res* 35(3):286-9.
- Harrison CN, Bareford D, Butt N, et al (2010) Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *Br J Haematol* 149(3):352-75.
- Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, et al (2005) Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 353(1):33-45.
- Harrison CN, Donohoe S, Carr P, et al (2002) Patients with essential thrombocythaemia have an increased prevalence of antiphospholipid antibodies which may be associated with thrombosis. *Thromb Haemost* 87(5):802-7.
- Hibbin JA, Nyoku OS, Matutes E, et al (1984) Myeloid progenitor cells in the circulation of patients with myelofibrosis and other myeloproliferative disorders. *Br J haematol* 57(3):495-503.
- Hill G, McClean D, Fraser R, et al (1996) Pulmonary hypertension as a consequence of alveolar capillary plugging by malignant megakaryocytes in essential thrombocythaemia. *Aust N Z J Med* 26(6):852-3.
- Hirsh J, Dalen JE, Deykin D, et al (1992) Oral anticoagulants. Mechanism of action, clinical effectiveness, and optimal therapeutic range. *Chest* 102(4 Suppl):312S-326S.
- Hochholzer W, Trenk D, Bestehorn HP, et al (2006) Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol* 48(9):1742-50.
- Huang PY, Hellums JD (1993) Aggregation and disaggregation kinetics of human blood platelets: Part III. The disaggregation under shear stress of platelet aggregates. *Biophys J* 65(1):354-61.

- Huang LJ, Shen YM, Bulut GB (2010) Advances in understanding the pathogenesis of primary familial and congenital polycythaemia. *Br J Haematol* 148(6):844-52.
- Ishii T, Wang J, Zhang W, et al (2009) Pivotal role of mast cells in pruritogenesis in patients with myeloproliferative disorders. *Blood* 113(23):5942-50.
- Jantunen R, Juvonen E, Ikkala E, et al (2001) The predictive value of vascular risk factors and gender for the development of thrombotic complications in essential thrombocythemia. *Ann Hematol* 80(2):74-8.
- Jensen MK, de Nully Brown P, Lund BV, et al (2000) Increased platelet activation and abnormal membrane glycoprotein content and redistribution in myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 110(1):116-24.
- Jensen MK, de Nully Brown P, Nielsen OJ, et al (2000) Incidence, clinical features and outcome of essential thrombocythaemia in a well defined geographical area. *Eur J Haematol* 65(2):132-9.
- Kiladjian JJ, Cervantes F, Leebeek FW, et al (2008) The impact of JAK2 and MPL mutations on diagnosis and prognosis of splanchnic vein thrombosis: a report on 241 cases. *Blood* 111(10):4922-9.
- Kiladjian JJ, Chomienne C, Fenaux P (2008) Interferon-alpha therapy in bcr-abl-negative myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 22(11):1990-8.
- Koopman K, Mulder AB, De Keyser J, et al (2009) JAK2-V617F mutation in cerebral venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 7(6):1039-40.
- Koopman MM, Prandoni P, Piovella F, et al (1996) Treatment of venous thrombosis with intravenous unfractionated heparin administered in the hospital as compared with subcutaneous low-molecular-weight heparin administered at home. The Tasman Study Group. *The New England journal of medicine* 334(11):682-7.
- Kurosawa H, Okuya M, Matsushita T, et al (2009) JAK2V617F mutation-positive childhood essential thrombocythemia associated with cerebral venous sinus thrombosis. *J Pediatr Hematol Oncol* 31(9):678-80.
- Kwaan HC, Wang J (2003) Hyperviscosity in polycythemia vera and other red cell abnormalities. *Semin Thromb Hemost* 29(5):451-8.
- Landgren O, Goldin LR, Kristinsson SY, et al (2008) Increased risks of polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myelofibrosis among 24,577 first-degree relatives of 11,039 patient with myeloproliferative neoplasms in Sweden. *Blood* 112(6): 2199–204.
- Landolfi R, Ciabattini G, Patrignani P, et al (1992) Increased thromboxane biosynthesis in patients with polycythemia vera: evidence for aspirin-suppressible platelet activation in vivo. *Blood* 80(8):1965-71.

- Landolfi R, Cipriani MC, Novarese L (2006) Thrombosis and bleeding in polycythemia vera and essential thrombocythemia: pathogenetic mechanisms and prevention. *Best Pract Res Clin Haematol* 19(3):617-33.
- Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al (2007) Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 109(6):2446-52.
- Landolfi R, Marchioli R, Kutti J et al (2004) Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 350(2):114-24.
- Landolfi R, Rocca B, Patrono C (1995) Bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders: mechanisms and treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 20(3):203-22.
- Levine M, Gent M, Hirsh J, et al (1996) A comparison of low-molecular-weight heparin administered primarily at home with unfractionated heparin administered in the hospital for proximal deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 334(11):677-81.
- Linee Guida della Società Italiana per lo Studio della Emostasi e Trombosi. www.siset.org.
- Loeliger EA (1985) Laboratory control, optimal therapeutic ranges and therapeutic quality control in oral anticoagulation. *Acta haematologica* 74(3):125-31.
- Lussana F, Caberlon S, Pagani C, et al (2009) Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis: a systematic review. *Thromb Res* 124(4):409-17.
- Mani H, Linnemann B, Luxembourg B, et al (2006) Response to aspirin and clopidogrel monitored with different platelet function methods. *Platelets* 17(5):303-10.
- Marchetti M, Castoldi E, Spronk HM, et al (2008) Thrombin generation and activated protein C resistance in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 112(10):4061-8.
- Marchetti M, Falanga A (2008) Leukocytosis, JAK2V617F mutation, and hemostasis in myeloproliferative disorders. *Pathophysiol Haemost Thromb* 36(3-4):148-59.
- Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, et al (2005) Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with Polycythemia Vera. *J Clin Oncol* 23(10):2224-32.
- Marcucci R, Gori AM, Paniccia R, et al (2009) Cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients receiving coronary stenting are predicted by residual platelet reactivity to ADP detected by a point-of-care assay: a 12-month follow-up. *Circulation* 119(2):237-42.
- Martinelli I, De Stefano V (2010) Rare thromboses of cerebral, splanchnic and upper-extremity veins. A narrative review. *Thromb Haemost* 103(6):1136-44.

- Marvin KS, Spellberg RD (1993) Pulmonary hypertension secondary to thrombocytosis in a patient with myeloid metaplasia. *Chest* 103(2):642-4.
- Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, et al (2004) Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 109(25):3171-5.
- McNally RJ, Rowland D, Roman E, et al (1997) Age and sex distributions of hematological malignancies in the U.K. *Hematol Oncol* 15(4):173-89.
- Mentha G, Giostra E, Majno PE, et al (2006) Liver transplantation for Budd-Chiari syndrome: A European study on 248 patients from 51 centres. *J Hepatol* 44(3):520-8.
- Mesa RA (2002) Clinical and scientific advances in the Philadelphia-chromosome negative chronic myeloproliferative disorders. *Int J Hematol* 76 Suppl 2:193-203.
- Mesa RA, Kantarjian H, Tefferi A, et al (2011) Evaluating the serial use of the myelofibrosis symptom assessment form for measuring symptomatic improvement: Performance in 87 myelofibrosis patients on a JAK1 and JAK2 inhibitor (INCB018424) clinical trial. *Cancer* 117(21):4869-77.
- Mesa RA, Nagorney DS, Schwager S, et al (2006) Palliative goals, patient selection and perioperative platelet management. *Cancer* 107(2):361-70.
- Mesa RA, Niblack J, Wadleigh M, et al (2007) The burden of fatigue and quality of life in myeloproliferative disorders (MPDs): an international Internet-based survey of 1179 MPD patients. *Cancer* 109(1):68-76.
- Mesa RA, Schwager S, Radia D, et al (2009) The Myelofibrosis Symptom Assessment Form (MFSAF): an evidence-based brief inventory to measure quality of life and symptomatic response to treatment in myelofibrosis. *Leuk Res* 33(9):1199-203.
- Michiels JJ, Berneman Z, Van Bockstaele D, et al (2006) Clinical and laboratory features, pathobiology of platelet-mediated thrombosis and bleeding complications, and the molecular etiology of essential thrombocythemia and polycythemia vera: therapeutic implications. *Semin Thromb Hemost* 32(3):174-207.
- Mitus AJ, Barbui T, Shulman LN, et al (1990) Hemostatic complications in young patients with essential thrombocythemia. *Am J Med*. 88(4):371-5.
- Najean Y, Mugnier P, Dresch C, et al (1987) Polycythaemia vera in young people: an analysis of 58 cases diagnosed before 40 years. *Br J Haematol* 67(3):2852-91.
- Nakatani T, Imamura T, Ishida H, et al (2008) Frequency and clinical features of the JAK2 V617F mutation in pediatric patients with sporadic essential thrombocythemia. *Pediatr Blood Cancer* 51(6):802-5.

- No authors listed (1997) Low-dose aspirin in polycythemia vera: a pilot study. Gruppo Italiano Studio Policitemia (GISP). *Br J Haematol* 97(2):453-6.
- No authors listed (1997) Low-molecular-weight heparin in the treatment of patients with venous thromboembolism. The Columbus Investigators. *N Engl J Med* 337(10):657-62.
- Olcaydu D, Rumi E, Harutyunyan A, et al (2011) The role of the JAK2 GGCC haplotype and the TET2 gene in familial myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 96(3):367-74.
- O'Shea JJ (1997) Jaks, STATs, cytokine signal transduction, and immunoregulation: are we there yet? *Immunity* 7(1):1-11.
- Palandri F, Polverelli N, Catani L, et al (2011) Impact of leukocytosis on thrombotic risk and survival in 532 patients with essential thrombocythemia: a retrospective study. *Ann Hematol* 90(8):933-8.
- Palandri F, Polverelli N, Ottaviani E, et al (2010) Long-term follow-up of essential thrombocythemia in young adults: treatment strategies, major thrombotic complications and pregnancy outcomes. A study of 76 patients. *Haematologica* 95(6):1038-40.
- Paniccia R, Antonucci E, Gori AM, et al (2007) Different methodologies for evaluating the effect of clopidogrel on platelet function in high-risk coronary artery disease patients. *J Thromb Haemost* 5(9):1839-47.
- Panova-Noeva M, Marchetti M, Spronk HM, et al (2011) Platelet-induced thrombin generation by the calibrated automated thrombogram assay is increased in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Am J Hematol* 86(4):337-42.
- Pardanani A (2008) JAK2 inhibitor therapy in myeloproliferative disorders: rationale, preclinical studies and ongoing clinical trials. *Leukemia* 22(1):23-30.
- Pardanani A, Gotlib JR, Jamieson C, et al (2011) Safety and efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *J Clin Oncol* 29(7):789-96.
- Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, et al (2010) A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood* 115(9):1703-8.
- Passamonti F, Malabarba L, Orlandi E, et al (2003) Polycythemia vera in young patients: a study on the long-term risk of thrombosis, myelofibrosis and leukaemia. *Haematologica* 88(1):13-8.
- Passamonti F, Randi ML, Rumi E et al (2007) Increased risk of pregnancy complications in patients with essential thrombocythemia carrying the JAK2 (617V>F) mutation. *Blood* 110(2):485-9.

- Pearson TC, Wetherley-Mein G (1978) Vascular occlusive episodes and venous haematocrit in primary proliferative polycythaemia. *Lancet* 2(8102):1219-22.
- Perea G, Remacha A, Besses C, et al (2001) Is polycythemia vera a serious disease in young adults? *Haematologica* 86(5):543-4.
- Perros F, Montani D, Dorfmüller P et al (2008) Platelet-derived growth factor expression and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 178(1):81-8.
- Posan E, Ujj G, Kiss A, et al (1998) Reduced in vitro clot lysis and release of more active platelet PAI-1 in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Thromb Res* 90(2):51-6.
- Primignani M, Barosi G, Bergamaschi G, et al (2006) Role of the JAK2 mutation in the diagnosis of chronic myeloproliferative disorders in splanchnic vein thrombosis. *Hepatology* 44(6):1528-34.
- Rafail S, Ritis K, Schaefer K, et al (2008) Leptin induces the expression of functional tissue factor in human neutrophils and peripheral blood mononuclear cells through JAK2-dependent mechanisms and TNFalpha involvement. *Thromb Res* 122(3):366-75.
- Randi ML, Putti MC, Scapin M, et al (2006) Pediatric patients with essential thrombocythemia are mostly polyclonal and V617FJAK2 negative. *Blood* 108(10):3600-2.
- Randi ML, Rossi C, Fabris F, et al (1999) Aspirin seems as effective as myelosuppressive agents in the prevention of rethrombosis in essential thrombocythemia. *Clin Appl Thromb Hemost* 5(2):131-5.
- Randi ML, Rossi C, Fabris F, et al (2000) Essential thrombocythemia in young adults: major thrombotic complications and complications during pregnancy-a follow-up study in 68 patients. *Clin Appl Thromb Hemost* 6(1):31-5.
- Reisner SA, Rinkevich D, Markiewicz W, et al (1992) Cardiac involvement in patients with myeloproliferative disorders. *Am J Med* 93(5):498-504.
- Robertson B, Urquhart C, Ford I, et al (2007) Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases: relationships with JAK2 V617 F status, clonality, and antiphospholipid antibodies. *J Thromb Haemost* 5(8):1679-85.
- Robinson S, Bewley S, Hunt BJ, et al (2005) The management and outcome of 18 pregnancies in women with polycythemia vera. *Haematologica* 90(11):1477-83.
- Rollison DE, Howlader N, Smith MT, et al (2008) Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood* 112(1):45-52.

- Rosti V, Bonetti E, Bergamaschi G, et al (2010) High frequency of endothelial colony forming cells marks a non-active myeloproliferative neoplasm with high risk of splanchnic vein thrombosis. *PLoS One* 5(12):e15277.
- Ruggeri M, Finotto S, Fortuna S, et al (2010) Treatment outcome in a cohort of young patients with polycythemia vera. *Intern Emerg Med* 5(5):411-3.
- Ruggeri M, Gisslinger H, Tositto A, et al (2002) Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol* 71(1):1-6.
- Ruggeri M, Rodeghiero F Tositto A, et al (2008) Postsurgery outcomes in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: a retrospective survey. *Blood* 111(2):666-71.
- Rumi E (2008) Familial chronic myeloproliferative disorders: the state of the art. *Hematol Oncol* 26(3):131-8.
- Schafer AI (1984) Bleeding and thrombosis in the myeloproliferative disorders. *Blood* 64(1):1-12.
- Schafer AI (2004) Thrombocytosis. *N Engl J Med* 350(12):1211-9.
- Semenza GL (2009) Involvement of oxygen-sensing pathways in physiologic and pathologic erythropoiesis. *Blood* 114(10):2015-9.
- Sibbing D, Braun S, Morath T, et al (2009) Platelet reactivity after clopidogrel treatment assessed with point-of-care analysis and early drug-eluting stent thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 53(10):849-56.
- Siller-Matula JM, Christ G, Lang IM, et al (2010) Multiple electrode aggregometry predicts stent thrombosis better than the vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation assay. *J Thromb Haemost* 8(2):351-9.
- Smalberg JH, Darwish Murad S, Braakman E (2006) Myeloproliferative disease in the pathogenesis and survival of Budd-Chiari syndrome. *Haematologica* 91(12):1712-3.
- Smalberg JH, Koehler E, Darwish Murad S, et al (2011) The JAK2 46/1 haplotype in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis. *Blood* 117(15):3968-73.
- Smith SC Jr, Feldman TE, Hirshfeld JW, et al (2006) ACC/AHA/SCAI 2005 Guideline Update for Percutaneous Coronary Intervention--summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). *Circulation* 113(1):156-75.
- Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, et al (2006) IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 117(2):411-7.

- Sozer S, Fiel MI, Schiano T, et al (2009) The presence of JAK2V617F mutation in the liver endothelial cells of patients with Budd-Chiari syndrome. *Blood* 113(21):5246-9.
- Stander S, Steinhoff M, Schmelz M, et al (2003) Neurophysiology of pruritus: cutaneous elicitation of itch. *Arch Dermatol* 139(11):1463-70.
- Steensma DP, Hook CC, Stafford SL, et al (2002) Low-dose, single fraction, whole-lung radiotherapy for pulmonary hypertension associated with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 118(3):813-6.
- Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH, et al (2000) Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism. *Nat Med* 6(2):151-8.
- Tartaglia AP, Goldberg JD, Berk PD, et al (1986) Adverse effects of antiaggregating platelet therapy in the treatment of polycythemia vera. *Semin Hematol* 23(3):172-6.
- Teofili L, Giona F, Martini M, et al (2007) Markers of myeloproliferative diseases in childhood polycythemia vera and essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 25(9):1048-53.
- Teofili L, Giona F, Martini M, et al (2007) The revised WHO diagnostic criteria for Ph-negative myeloproliferative diseases are not appropriate for the diagnostic screening of childhood polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 110(9):3384-6.
- Teofili L, Larocca LM (2011) Advances in understanding the pathogenesis of familial thrombocythaemia. *Br J Haematol* 152(6):701-12.
- Teofili L, Martini M, Iachininoto MG, et al (2011) Endothelial progenitor cells are clonal and exhibit the JAK2(V617F) mutation in a subset of thrombotic patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood* 117(9):2700-7.
- Tefferi A (2001) The pathogenesis of chronic myeloproliferative diseases. *Int J Hematol* 73(2):170-6.
- Tefferi A (2011) Annual Clinical Updates in Hematological Malignancies: a continuing medical education series: polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 86(3):292-301.
- Tefferi A, Fonseca R (2002) Selective serotonin reuptake inhibitors are effective in the treatment of polycythemia vera-associated pruritus. *Blood* 99(7):2627.
- Tefferi A, Passamonti F (2009) Essential thrombocythemia and pregnancy: observations from recent studies and management recommendations. *Am J Hematol* 84(10):629-30.

- Tefferi A, Vaidya R, Caramazza D, et al (2011) Circulating interleukin (IL)-8, IL-2R, IL-12, and IL-15 levels are independently prognostic in primary myelofibrosis: a comprehensive cytokine profiling study. *J Clin Oncol* 29(10):1356-63.
- Thomas F, Mendez-Picon G, Thomas J, et al (1977) Effect of antilymphocyte-globulin potency on survival of cadaver renal transplants. Prospective randomised double-blind trial. *Lancet* 2(8040):671-4.
- Tiede A, Rand JH, Budde U, et al (2011) How I treat acquired von Willebrand syndrome. *Blood* 117(25):6777-85.
- Turitto VT, Weiss HJ (1983) Platelet and red cell involvement in mural thrombogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 416:363-76.
- Vainchenker W, Dusa A, Constantinescu SN (2008) JAKs in pathology: role of Janus kinases in hematopoietic malignancies and immunodeficiencies. *Semin Cell Dev Biol* 19(4):385-93.
- Van Genderen PJJ, Mulder PGH, Waleboer M et al (1997) Prevention and treatment of thrombotic complications in essential thrombocythemia: efficacy and safety of low-dose aspirin. *Br J Haematol* 97(1):179-84.
- Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al (2007) Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* 110(3):840-6.
- Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al (2007) Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2(V617F) allele burden. *Leukemia* 21(9):1952-9.
- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al (2009) The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 114(5):937-51.
- Verstovsek S, Kantarjian H, Mesa RA, et al (2010) Safety and efficacy of INCB018424, a JAK1 and JAK2 inhibitor, in myelofibrosis. *N Engl J Med* 363(12):1117-27.
- Veselovska J, Pospisilova D, Pekova S, et al (2008) Most pediatric patients with essential thrombocythemia show hypersensitivity to erythropoietin in vitro, with rare JAK2 V617F-positive erythroid colonies. *Leuk Res* 32(3):369-77.
- Von Beckerath N, Pogatsa-Murray G, Wieczorek A, et al (2006) Correlation of a new point-of-care test with conventional optical aggregometry for the assessment of clopidogrel responsiveness. *Thrombosis and haemostasis* 95(1):910-1.
- Wang J, Ishii T, Zhang W, et al (2009) Involvement of mast cells by the malignant process in patients with Philadelphia chromosome negative myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 23(9):1577-86.

- Watson KV, Key N (1993) Vascular complications of essential thrombocythaemia: a link to cardiovascular risk factors. *Br J Haematol* 83(2):198-203.
- Weinschenker P, Kutner JM, Salvajoli JV, et al (2002) Whole-pulmonary low-dose radiation therapy in agnogenic myeloid metaplasia with diffuse lung involvement. *Am J Hematol* 69(4):277-80.
- White SM, Wagner JG, Roth RA (1989) Effects of altered platelet number on pulmonary hypertension and platelet sequestration in monocrotaline pyrrole-treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 99(2):302-13.
- Wiczorek I, MacGregor IR, Ludlam CA (1995) Low proteins C and S and activation of fibrinolysis in treated essential thrombocythemia. *Am J Hematol* 49(4):277-81.
- Wiesner-Menzel L, Schulz B, Vakilzadeh F, et al (1981) Electron microscopical evidence for a direct contact between nerve fibres and mast cells. *Acta Derm Venereol* 61(6):465-9.
- Wolanskyj AP, Schwager SM, McClure RF, et al (2006) Essential thrombocythemia beyond the first decade: life expectancy, long-term complication rates, and prognostic factors. *Mayo Clin Proc.* 81(2):159-66.
- Wyatt SH, Fishman EK (1994). Diffuse pulmonary extramedullary hematopoiesis in a patient with myelofibrosis: CT findings. *J Comput Assist Tomogr* 18(5):815-7.
- Xiang Z, Nilsson G (2000) IgE receptor-mediated release of nerve growth factor by mast cells. *Clin Exp Allergy* 30(10):1379-86.
- Zetterberg E, Popat U, Hasselbalch H, et al (2008) Angiogenesis in pulmonary hypertension with myelofibrosis. *Haematologica* 93(6):945-6.

CAPITOLO 5

INFORMAZIONE E COUNSELING

5.1 LE NECESSITA' DI INFORMAZIONE DEL PAZIENTE

Come in tutte le patologie croniche, una adeguata informazione al paziente è un presupposto indispensabile per una soddisfacente collaborazione che dovrà durare, spesso, per anni. Il livello di informazione dovrà tenere conto della capacità di comprensione del paziente, della sua età e scolarità e dovrà iniziare dagli aspetti essenziali della malattia, lasciando a successivi incontri l'approfondimento di aspetti specifici.

5.1.1 Aspettativa di vita

Secondo gli esperti dell'European LeukemiaNet, le prime e più importanti notizie da dare al paziente riguardano l'aspettativa di vita e le principali complicanze prevedibili della malattia. Il dato della sopravvivenza attesa è particolarmente importante nel momento in cui si informa il paziente che la sua malattia fa parte delle neoplasie del sangue. Quest'ultima informazione non può essere negata o nascosta al paziente, non solo per ragioni deontologiche, ma anche perché, in pratica, la nomenclatura attuale e i documenti per l'esenzione dalla spesa sanitaria in Italia definiscono chiaramente queste patologie come "neoplasie". D'altra parte, è indispensabile comunicare contestualmente al paziente che la sopravvivenza mediana nella PV e nella TE si avvicina o supera i 20 anni e nella mielofibrosi è attualmente stimata superiore ai 10 anni. Subito dopo, il paziente deve essere messo a conoscenza dei possibili eventi clinici gravi o minaccianti la vita che possono essere associati a queste diagnosi con particolare riferimento al rischio trombotico, emorragico e di trasformazione fibrotica o leucemica della malattia.

5.1.2 Definizione dei rischio

Un secondo livello di informazione riguarda la stratificazione del rischio sul quale si basano le decisioni terapeutiche. Il paziente con PV o TE deve conoscere che il rischio di eventi vascolari è maggiore nei soggetti con età superiore a 60 anni o con precedenti complicanze trombotiche e deve essere caldamente invitato a evitare abitudini di vita o trattare adeguatamente patologie croniche che possono aumentare il rischio cardiovascolare. Questo riguarda in particolare l'abolizione del fumo, e l'attento controllo dietetico o farmacologico del peso corporeo, della pressione arteriosa, dei lipidi ematici, della glicemia e, in generale, dello stato di salute. La valutazione del rischio nel paziente con mielofibrosi è un argomento più complesso e delicato perché riguarda la probabilità di morte piuttosto che di eventi trombotici. Con questi pazienti, devono essere accuratamente discussi gli aspetti clinici e prognostici riguardanti l'età, la presenza di anemia, di splenomegalia e di sintomi sistemici come l'astenia, la febbre o il calo di peso.

5.1.3 Opzioni terapeutiche

La definizione del profilo di rischio introduce le informazioni riguardanti le opzioni terapeutiche. Un paziente al quale è stato spiegato quali sono le ragioni per essere classificato "a basso rischio" accetterà più facilmente di non dovere ricevere terapie per la sua trombocitemia o mielofibrosi. Contemporaneamente, si rivelerà un collaboratore prezioso durante il follow-up perché saprà informarci circa le variazioni significative del suo stato di salute, come la comparsa di nuovi eventi vascolari o emorragici o di fattori di rischio prima assenti.

Terapie di primo livello come i salassi o l'aspirina a basse dosi devono essere spiegate, informando il paziente dei benefici e dei rischi attesi. Man mano che il profilo di rischio sale, il paziente diventa candidato a terapie più complesse e con maggiori effetti collaterali, passando dai farmaci mielosoppressivi convenzionali fino al trapianto di cellule emopoietiche per i casi più severi di mielofibrosi. In questi pazienti, il livello di informazione diventa più esteso e personalizzato e, in molti casi, deve coinvolgere il nucleo familiare. In funzione delle caratteristiche cliniche e sociali del paziente, può essere utile spiegare che nuovi farmaci sono in avanzato corso di sperimentazione clinica, soprattutto nella mielofibrosi, e che, pertanto, lo scenario terapeutico della malattia potrebbe significativamente cambiare nei prossimi anni.

5.1.4 Casi particolari

Alcuni pazienti con MPN possono necessitare di informazioni specifiche riguardanti aspetti particolari della propria malattia. Caso tipico è quello della donna in gravidanza o in età fertile. In queste pazienti, l'informazione basilare è che la gravidanza è possibile e che un esito felice è comunque assai più probabile di un evento avverso. Solo dopo avere dato questa notizia, è necessario informare che, rispetto a una gravidanza normale, alcuni rischi materni e fetali sono aumentati e che la gravidanza dovrà essere attentamente seguita sia dall'ostetrico che dall'ematologo. Anche per le donne in gravidanza si applica una classificazione di rischio, che deve essere discussa con la paziente, e in base alla quale si prendono le decisioni terapeutiche. Particolare attenzione deve essere prestata all'informazione circa i farmaci che si possono o non si possono assumere in gravidanza, alle modalità di svolgimento del parto e all'elevato rischio trombotico del periodo post-partum che necessita sempre di una profilassi antitrombotica.

Nei pazienti con PV, un sintomo che può essere particolarmente disturbante è il prurito, tipicamente acquagenico. Questo sintomo non deve essere sottovalutato perché esprime un bisogno importante del paziente. Purtroppo, le terapie attuali sono poco efficaci sul prurito, ma questa carenza aumenta la necessità della comunicazione e dell'ascolto del paziente al quale vanno proposte tutte le possibili opzioni di trattamento. Può essere confortante osservare che i nuovi farmaci in corso in studio sembrano avere una buona efficacia sui sintomi sistemici, incluso il prurito.

5.1.5 Colloquio e altri mezzi di informazione

Il colloquio personale con il paziente, ed eventualmente con i familiari, rappresenta il momento fondamentale per fornire un'informazione adeguata e instaurare quella "alleanza" medico-paziente che è il migliore presupposto per una efficace gestione di una MPN. Indispensabile corollario dei colloqui con il paziente è la garanzia di disponibilità dell'ematologo di riferimento o, in sua assenza, della struttura ematologica per ogni necessità sia informativa che clinica del paziente. È esperienza pluriennale di chi scrive che raramente i pazienti propongono quesiti o necessità banali e che, invece, nella grande maggioranza dei casi, una richiesta del paziente con MPN sottende un problema serio che deve essere attentamente e rapidamente valutato.

Oltre al colloquio, altri possibili mezzi di informazione per i pazienti comprendono opuscoli o libretti dedicati, la partecipazione a gruppi organizzati di pazienti, o siti web ben identificati e affidabili. Fra i primi, citiamo un documento prodotto sotto

l'egida della Società Italiana di Ematologia (SIE) intitolato "Camminiamo insieme" e dedicato ai pazienti con trombocitemia; inoltre, è in corso di pubblicazione un altro documento informativo dedicato ai pazienti con policitemia, a cura degli esperti dell'AGIMM (AIRC-Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative). Gruppi organizzati di pazienti con MPN sono molto attivi negli Stati Uniti ma non ancora in Italia. Esiste però un grande interesse dei pazienti italiani a partecipare a iniziative comuni, come dimostrato dal recente successo della Prima Giornata Fiorentina dedicata ai pazienti con MPN che si è tenuta a Firenze lo scorso 15 Aprile 2011. Fra i siti web consultabili dai pazienti, il sito della <http://www.progettoagimm.it> possono fornire informazioni utili, compreso l'accesso ai documenti sopra citati espressamente dedicati ai pazienti.

5.1.6 Le domande più comuni

Un'iniziativa interessante è quella proposta qualche anno fa dal Prof. Lazzarino e dal dr. Passamonti del Centro di Ematologia dell'Università di Pavia che hanno presentato sul sito web della loro Istituzione le più comuni domande dei pazienti affetti da MPN. Riprendiamo e aggiorniamo questa iniziativa in questa sede, d'accordo con gli interessati, ritenendo che possa essere utile per le necessità di informazione del paziente.

A: Le più comuni domande dei pazienti affetti da Trombocitemia Essenziale

Che tipo di malattia è la Trombocitemia Essenziale?

- è una neoplasia mieloproliferativa cronica
- è caratterizzata da un decorso clinico indolente
- comporta un aumentato rischio trombotico ed emorragico

Quali sono le cause della Trombocitemia Essenziale?

- un danno genetico acquisito della cellula staminale emopoietica
- vi è uno stimolo proliferativo sui precursori piastrinopoietici che si traduce in una produzione eccessiva di piastrine

La Trombocitemia Essenziale ha un rischio di trasmissione genetica?

- no, ma esistono casi familiari

Come si può sospettare la Trombocitemia Essenziale?

- da un emocromo con elevati valori di piastrine
- da sintomi clinici di tipo circolatorio

Si può effettuare attività fisica?

- sì, ma bisogna avere molta attenzione se si è in terapia con antiaggreganti tipo aspirina o ticlopidina in quanto tale terapia potrebbe esporre il paziente a un più elevato rischio di sanguinamento a seguito di traumi anche modesti

Quali sono gli accertamenti da eseguire per valutare meglio questa malattia?

- biopsia osteomidollare
- esame del midollo con analisi dei cromosomi
- studio della mutazione V617F del gene JAK2

Quali accertamenti si possono eseguire per valutare meglio il rischio vascolare?

- colesterolo, HDL, LDL, trigliceridi, glicemia
- ricerca di eventuali cause congenite o acquisite di trombofilia

Cosa si può fare per prevenire i problemi vascolari?

- tenere le piastrine e gli altri parametri ematici quanto più possibile entro i valori normali nei pazienti ad alto rischio vascolare
- evitare il fumo
- evitare il sovrappeso
- evitare l'uso di estroprogestinici
- controllare la pressione arteriosa
- attività fisica regolare

La gravidanza può peggiorare la Trombocitemia Essenziale?

- no, a volte in gravidanza i valori di piastrine si riducono

La Trombocitemia Essenziale può porre a rischio la gravidanza?

- sì, esiste un rischio di aborto spontaneo
- la scelta di iniziare una gravidanza deve essere discussa attentamente all'interno della coppia e con l'ematologo, in modo da stabilire un appropriato programma di controlli

Tutti i pazienti con Trombocitemia Essenziale devono ricevere un trattamento?

- no

Quali pazienti devono ricevere un trattamento citoriduttivo?

- età superiore a 60 anni, oppure con

- precedenti problemi trombotici o emorragici, oppure con
- piastrinosi elevata (superiore a 1 o 1,5 milioni / μ L) sintomatica

Come si segue la terapia citoriduttrice?

- lo scopo della chemioterapia citoriduttrice è controllare i valori ematici riducendo le piastrine a un valore inferiore a 400.000/mm³ e i leucociti a valori inferiori a 10.000/mm³
- è indicato controllare inizialmente l'emocromo ogni mese e valutare il valore di piastrine (Plt), emoglobina (Hb, Hgb), ematocrito (Hct) e leucociti (WBC, GB)
- se si riducono troppo leucociti o emoglobina occorre ridurre il dosaggio dei farmaci
- una volta raggiunto il valore di piastrine e leucociti desiderato si deve controllare l'emocromo ogni 2 mesi circa; ogni 6 mesi gli esami generali

Quando è indicato l'impiego della terapia antiaggregante?

- in caso di precedenti problemi vascolari

Quando è controindicato l'impiego della terapia antiaggregante?

- in caso di precedenti problemi emorragici, o per valori estremamente alti di piastrine

La terapia antiaggregante deve essere sospesa in caso di intervento chirurgico?

- sì, andrebbe sospesa almeno 7-10 giorni prima

Il trapianto di midollo osseo è da considerare un'opzione terapeutica?

- no, tranne in caso di evoluzione a mielofibrosi post-trombotica ad alto rischio

Qual è il trattamento consigliato dalle linee-guida europee?

La terapia è basata sul rischio vascolare del singolo paziente secondo il seguente schema:

Paziente a basso rischio vascolare:

- età minore di 60 anni, e
- assenza di precedenti problemi trombotici o emorragici

Terapia:

- osservazione clinica ed ematologica
- aspirina a basse dosi se sintomi microvascolari

Paziente ad alto rischio vascolare:

- età pari o superiore a 60 anni, o
- presenza di precedenti problemi trombotici o emorragici

Terapia:

- prima linea: Idrossiurea; in casi particolari (es. gravidanza): interferone α

- nei casi resistenti alla terapia di prima linea si considera la terapia con anagrelide o interferone α
- aspirina a basse dosi se non controindicata

B: Le più comuni domande dei pazienti affetti da policitemia vera

Che tipo di malattia è la policitemia vera?

- è una neoplasia mieloproliferativa cronica
- è caratterizzata da un decorso indolente
- comporta un aumentato rischio di complicanze vascolari

Quali sono le cause della policitemia vera?

- un danno genetico acquisito (mutazione del gene JAK2) della cellula staminale emopoietica
- vi è uno stimolo proliferativo sui precursori eritropoietici, piastrinopoietici e granulocitopoietici che si traduce in una produzione eccessiva di globuli rossi, ma anche di piastrine e globuli bianchi

La policitemia vera ha un rischio di trasmissione genetica?

- no, ma esistono casi familiari

Come si può sospettare la policitemia vera?

- da un emocromo con elevati valori di emoglobina e di ematocrito
- dal colore particolarmente acceso di cute e mucose, da sintomi clinici di tipo vascolare, o dal prurito dopo contatto con l'acqua

Si può effettuare attività fisica?

- sì, ma bisogna avere molta attenzione se si è in terapia con antiaggreganti tipo aspirina o ticlopidina in quanto tale terapia potrebbe esporre il paziente a un più elevato rischio di sanguinamento a seguito di traumi anche modesti

Quali accertamenti si possono eseguire per valutare meglio il rischio vascolare?

- colesterolo, HDL, LDL, trigliceridi, glicemia
- in casi particolari, ricerca di cause congenite e acquisite di trombofilia

Cosa si può fare per prevenire i problemi vascolari?

- tenere l'ematocrito, le piastrine e i leucociti quanto più possibile entro i valori normali

- evitare il fumo
- evitare il sovrappeso
- evitare l'uso di estroprogestinici
- controllare la pressione arteriosa
- attività fisica

Cosa si può fare per il prurito della policitemia vera?

- controllare la malattia
- dare terapie sintomatiche

Tutti i pazienti con policitemia vera devono ricevere un trattamento?

- sì

Quando è indicato l'impiego della terapia antiaggregante?

- Sempre, se non vi sono controindicazioni specifiche individuate dallo specialista

La terapia antiaggregante deve essere sospesa in caso di chirurgia?

- sì, andrebbe sospesa almeno 7-10 giorni prima sempre, se non vi sono controindicazioni specifiche individuate dallo specialista

Quando è indicato l'impiego del salasso come unico trattamento insieme all'aspirina?

- nei pazienti giovani senza precedenti problemi vascolari

Quando è indicato l'impiego della terapia citoriduttrice?

- nei pazienti meno giovani
- nei pazienti con precedenti problemi vascolari

Come si monitora la terapia citoriduttrice con Idrossiurea ?

- lo scopo della chemioterapia citoriduttrice con Idrossiurea è quella di normalizzare l'emocromo, cioè ottenere un ematocrito inferiore al 45%, una conta piastrinica inferiore a $400 \times 10^9/L$ e un valore di leucociti inferiore a $10 \times 10^9/L$.
- è indicato controllare inizialmente l'emocromo ogni mese e valutare il valore di emoglobina (Hb, Hgb), ematocrito (Hct), piastrine (Plt), e leucociti (WBC, GB)
- se si riducono troppo leucociti, emoglobina o piastrine è indicato ridurre il dosaggio dei farmaci
- una volta raggiunto il valore di piastrine desiderato si deve controllare l'emocromo ogni 2 mesi circa e ogni 6 mesi gli esami generali

Il trapianto di midollo osseo è da considerare un'opzione terapeutica?

- no, tranne in caso di evoluzione a mielofibrosi post-policitemica ad alto rischio

Qual è il trattamento consigliato dalle linee-guida europee ?

La terapia è basata sul rischio vascolare del singolo paziente secondo il seguente schema:

Paziente a basso rischio vascolare

- età minore di 60 anni, e
- assenza di precedenti problemi trombotici o emorragici

Terapia:

- salasso
- aspirina a basse dosi, se non controindicata

Paziente ad alto rischio vascolare

- età pari o superiore a 60 anni, o
- presenza di precedenti problemi trombotici o emorragici

Terapia

- idrossiurea o interferone α
- aspirina a basse dosi se non controindicata

C. Le più comuni domande dei pazienti affetti da mielofibrosi

Che tipo di malattia è la mielofibrosi primaria?

- è una neoplasia mieloproliferativa cronica
- è caratterizzata anemia e splenomegalia
- comporta un aumentato rischio di evoluzione in leucemia

Quali sono le cause della mielofibrosi primaria?

- un danno genetico acquisito della cellula staminale emopoietica
- uno stimolo proliferativo primitivo sui precursori midollari che si traduce inizialmente in una produzione eccessiva di piastrine e globuli bianchi, e uno stimolo proliferativo secondario sui fibroblasti che si traduce in un aumento della fibrosi midollare

La mielofibrosi primaria ha un rischio di trasmissione genetica?

- no, ma esistono casi familiari

Come si può sospettare la mielofibrosi primaria?

- da una alterazione dell'emocromo
- dal riscontro di epato-splenomegalia all'esame obiettivo o all'ecografia
- dalla presenza di sintomi sistemici (astenia, febbre, sudorazioni notturne, dolori articolari, calo di peso)
- dall'aumento dell'enzima sierico LDH

Quali sono gli accertamenti da eseguire per valutare meglio questa malattia?

- conta delle cellule CD34+ circolanti
- studio della mutazione V617F del gene JAK2
- biopsia osteomidollare
- esame del midollo con analisi cromosomica

Si deve controllare la milza con l'ecografia?

- per la valutazione della milza è sufficiente la visita ematologica; in alcuni casi è indicata l'ecografia
- l'ecografia consente di valutare una eventuale ipertensione portale

Tutti i pazienti con mielofibrosi idiopatica devono ricevere un trattamento?

- no

Quando è indicato l'impiego della terapia citoriduttiva?

- nei pazienti con leucocitosi e/o piastrinosi e/o sintomi sistemici e/o splenomegalia progressiva

Come si esegue la terapia citoriduttiva con Idrossiurea?

- lo scopo della chemioterapia citoriduttiva con Idrossiurea è quello di controllare la piastrinosi e l'incremento dei globuli bianchi e di ridurre o controllare la splenomegalia
- è indicato controllare l'emocromo ogni mese per valutare il valore di piastrine (Plt), emoglobina (Hb, Hgb), ematocrito (Hct) e leucociti (WBC, GB)
- se si riducono troppo leucociti o emoglobina è indicato ridurre il dosaggio dei farmaci

Quando iniziare la terapia trasfusionale?

- quando l'emoglobina scende al di sotto di 8 o 9 g/dL, o in caso di sanguinamento

Quando è indicato l'impiego della terapia antiaggregante?

- in caso di precedenti problemi vascolari

Quando è controindicato l'impiego della terapia antiaggregante?

- in caso di precedenti problemi emorragici, o per valori estremamente alti di piastrine

Il trapianto di midollo osseo è da considerare un'opzione terapeutica?

- sì, in casi selezionati ad alto rischio

5.2 NEOPLASIE MIELOPROLIFERATIVE CRONICHE: FORME FAMILIARI

Le neoplasie mieloproliferative croniche Philadelphia-negative classiche (MPN), ovvero trombocitemia essenziale (TE), policitemia vera (PV) e mielofibrosi primaria (MFP), sono disordini a prevalente insorgenza sporadica, la cui patogenesi è stata per lungo tempo poco conosciuta. Dal 2005 in avanti, con la scoperta della mutazione somatica di tipo gain-of-function JAK2V617F, lo studio delle basi molecolari delle MPN ha avuto un grande slancio. Negli anni successivi sono state infatti identificate altre alterazioni genetiche coinvolte nella patogenesi delle MPN, tra cui mutazioni a livello dell'esone 12 del gene JAK2, del residuo W515 di MPL (recettore della trombopoietina) e del gene oncosoppressore TET2, anch'esse descritte come eventi acquisiti, cioè non presenti a livello di DNA germinale. La mutazione JAK2V617F è la più frequente (è presente in circa il 90-95% dei pazienti con PV e nel 50-60% dei pazienti affetti da TE e MFP) e la meglio caratterizzata tra le mutazioni descritte nelle MPN; ha luogo a livello della cellula staminale ematopoietica multipotente e determina un'espansione del comparto mieloide.

Oltre alle forme sporadiche sono state descritte anche forme familiari di MPN, all'interno delle quali vanno distinte due categorie. Da un lato i disordini ereditari che interessano una sola linea mieloide (quella eritroide oppure quella megacariocitaria) e presentano trasmissione mendeliana, penetranza elevata e policlonalità dell'emopoiesi (*Tabella 5.1*). Dall'altro l'ereditabilità di una predisposizione allo sviluppo di una "vera" MPN, caratterizzata da bassa penetranza, clonalità dell'emopoiesi e possibile presenza di mutazioni somatiche, tra cui JAK2V617F (*Figura 5.1*). Nel presente capitolo verranno trattati separatamente i due tipi di MPN familiare (suddividendo eritrocitosi e trombocitosi ereditarie), con particolare attenzione a basi molecolari e tipo di trasmissione ereditaria, alle caratteristiche cliniche e agli approcci terapeutici.

TABELLA 5.1 Disodini familiari con eritrocitosi o trombocitosi

	Ereditarietà	Livelli di Epo	Complicanze	Meccanismo
Eritrocitosi ereditaria				
Eritrocitosi primaria:				
PFCP	AD	Bassi	Eventi vascolari	Mutazione EPOR
Eritrocitosi secondaria:				
Difetto della O ₂ sensing pathway:				
Mutazione VHL	AR	Alti	Eventi vascolari	Mutazione VHL
Mutazione PHD2	AD	Alti°	Eventi vascolari*	Mutazione PHD2
Mutazione HIF-2α	AD	Alti	Eventi vascolari§	Mutazione HIF-2α
Alterata affinità dell'O ₂ per l'emoglobina:				
Emoglobino-patie ad elevata affinità per l'O ₂	AD	Alti	Assenti	Mutazione catena globinica
Deficit 2,3-DPG	AD-AR	Alti	Assenti	Difetti enzimatici
Trombocitosi ereditaria	AD	-	Eventi vascolari **	Mutazione THPO Mutazione MPL
MPN familiare	AD, penetranza ridotta	Bassi	Eventi vascolari Evoluzione di malattia	Mutazioni somatiche, es. del gene JAK2

° Eritropoietina all'interno del range di normalità ma inappropriatamente elevata considerando l'ematocrito

* Due dei quattro pazienti con mutazioni di PHD2 riportati presentavano complicanze vascolari

§ Due dei tre pazienti con mutazione di HIF-2α hanno sviluppato trombosi

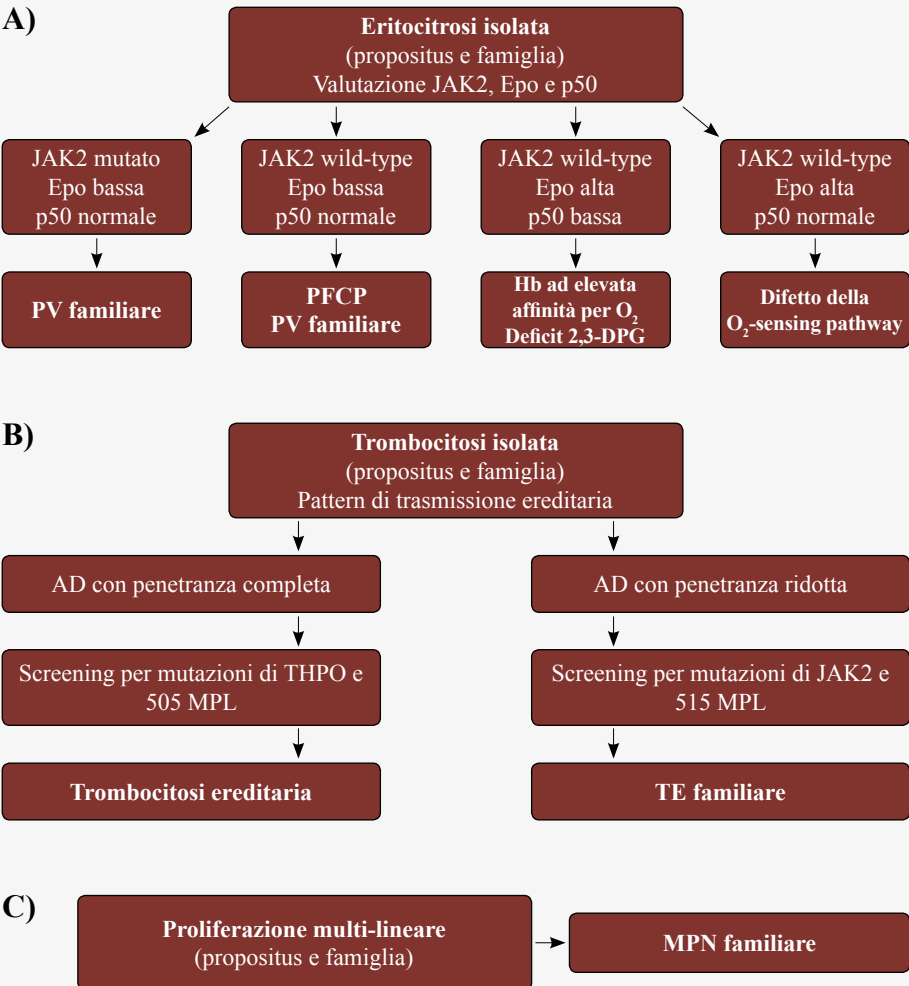
** Eventi vascolari descritti nei pazienti con MPLS505N e con mutazioni del gene THPO

Abbreviazioni: Epo, eritropoietina; PFCP, policitemia familiare e congenita primaria; AD, autosomica dominante; AR, autosomica recessiva; EPOR, gene recettore eritropoietina; VHL, gene von Hippel-Lindau; PHD2, gene prolyl hydroxylase domain protein 2; HIF-2α, gene hypoxia inducible factor 2α; 2,3-DPG, 2,3-difosfoglicerato; THPO, gene trombopoietina; MPL, gene recettore trombopoietina; MPN, neoplasia mieloproliferativa cronica.

FIGURA 5.1 Algoritmo diagnostico per pazienti con sospetta forma familiare di MPN

Le indagini consigliate variano a seconda della presentazione clinica:

- A) eritrocitosi isolata;
- B) trombocitosi isolata;
- C) proliferazione multi-lineare all'interno della famiglia



Abbreviazioni: Epo, eritropoietina; PFCP, policitemia familiare e congenita primaria; Hb, emoglobina; 2,3-DPG, 2,3-difosfoglicerato; PV, policitemia vera; AD, autosomica dominante; THPO, gene trombopoietina; MPL, gene recettore trombopoietina; TE, trombocitemia essenziale; MPN, neoplasia mieloproliferativa cronica.

5.2.1 Eritrocitosi ereditaria

All'interno dei disordini ereditari della linea eritroide occorre separare le forme primarie, quelle cioè in cui il difetto risiede nei progenitori ematopoietici, dalle forme secondarie, in cui la produzione di eritropoietina (Epo) è aumentata (caratterizzate anch'esse da alterazioni genetiche ereditarie). Tra le forme primarie si annovera la policitemia familiare e congenita primaria (PFCP), mentre le forme secondarie includono difetti nella via di rilevazione dell'ossigeno e forme caratterizzate da aumentata affinità dell'emoglobina per l'ossigeno con conseguente ridotta cessione tissutale. Il database OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) del NCBI (National Center for Biotechnology Information), che raccoglie tutte le patologie con componente genetica e riporta correlazioni genotipo-fenotipo, riconosce quattro categorie di eritrocitosi ereditaria (anche definita eritrocitosi familiare): ECYT1-4. Il primo tipo, ECYT1, corrisponde alla PFCP; mentre le forme ECYT2-4 corrispondono a forme secondarie con difetti nella via di rilevazione dell'ossigeno (pagina web OMIM: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>).

Policitemia familiare e congenita primaria, PFCP (= ECYT1)

La PFCP è un disordine a trasmissione autosomica dominante la cui patogenesi molecolare è legata alla presenza di mutazioni del gene del recettore per l'Epo (EpoR). Va tuttavia segnalato che in circa l'85% dei casi non è possibile individuare la mutazione sottostante. A oggi sono state identificate più di dodici mutazioni diverse di EpoR che risultano nella formazione di un codone di arresto prematuro con perdita dell'estremità citoplasmatica del recettore. Tale regione C-terminale contiene un dominio di regolazione negativa la cui abrogazione funzionale determina ipersensibilità all'Epo e attivazione prolungata della via JAK/STAT5 in linee cellulari.

Il quadro clinico riunisce i seguenti elementi: eritrocitosi, bassi livelli sierici di Epo, assenza di leucocitosi o trombocitosi. L'emopoiesi è policlonale e le colonie eritroidi sono ipersensibili a basse concentrazioni di Epo, pur non presentando crescita spontanea (riflettendo l'osservazione fatta nelle linee cellulari). All'interno della stessa famiglia sono tipicamente presenti più individui affetti e il riscontro di eritrocitosi avviene spesso in giovane età (compatibile con trasmissione autosomica dominante a penetranza elevata). I soggetti con PFCP possono presentare complicanze vascolari mentre non sono stati descritti casi di evoluzione in mielofibrosi e/o leucemia acuta. Non sono state identificate mutazioni di EpoR in casi sporadici di MPN.

Eritrocitosi ereditarie causate da mutazioni di geni coinvolti nella via di rilevazione dell'ossigeno (= ECYT2-4)

Le forme secondarie di eritrocitosi ereditaria presentano livelli di Epo elevati (o inappropriatamente normali) conseguenti ad alterazioni nella via di rilevazione dell'ossigeno (oxygen-sensing pathway). Le anomalie meglio studiate sono mutazioni a trasmissione autosomica recessiva del gene von Hippel-Lindau (VHL), riscontrate inizialmente in pazienti policitemici dell'area Chuvash dell'Asia centrale, regione in cui sono endemiche (il conseguente quadro clinico è chiamato anche policitemia Chuvash). Successivamente sono stati riscontrati alleli mutati anche in gruppi etnici differenti, tra cui la popolazione dell'isola di Ischia; la maggior parte di questi casi – ma non tutti – presenta un aplotipo comune ai casi di policitemia Chuvash, suggerendo un “effetto fondatore”, che però non si estende alla totalità dei casi riportati.

Si tratta di mutazioni germinali (la prima e più frequente è la 598C>T) presenti allo stato omozigote (descritti anche rari casi eterozigoti o doppi eterozigoti) che determinano una riduzione della degradazione VHL-mediata del fattore di trascrizione indotto da HIF-1 α (hypoxia induced factor-1 α), fisiologicamente coinvolto nella risposta omeostatica positiva all'ipossia (ipossia $\rightarrow$ aumento HIF-1 α $\rightarrow$ aumentata espressione del gene codificante l'Epo, aumento produzione Epo). Le mutazioni di VHL risultano dunque in livelli aumentati di HIF-1 α che a loro volta portano all'aumentata espressione di Epo e di altri geni bersaglio coinvolti nella risposta di adattamento all'ipossia. Il fenotipo corrispondente è caratterizzato da eritrocitosi isolata, aumento dell'Epo sierica, progenitori eritroidi ipersensibili a stimoli citochinici, rischio aumentato di trombosi ed eventi cerebrovascolari. A differenza della sindrome di von Hippel-Lindau, a trasmissione autosomica dominante e caratterizzata dall'aumentata incidenza di neoplasie del sistema nervoso centrale e renali, i pazienti che presentano mutazione omozigote di VHL ed eritrocitosi non hanno un'aumentato rischio neoplastico.

Più recentemente sono stati riportati casi di eritrocitosi ereditaria e mutazioni a carico di altri geni coinvolti nella risposta all'ipossia quali PHD2 (prolyl hydroxylase domain protein 2) e HIF-2 α (hypoxia induced factor-2 α). PHD2 fa parte del cosiddetto “sensore di ossigeno”: media l'idrossilazione ossigeno-dipendente di residui di prolina di HIF-1 α con conseguente aumento del legame tra VHL e HIF-1 α , passaggio cruciale per la successiva degradazione di HIF-1 α , come già riportato sopra. Due mutazioni di PHD2 sono state descritte in pazienti con eritrocitosi ereditaria a trasmissione autosomica dominante e livelli elevati o inappropriatamente normali di Epo. Su quattro pazienti riportati, due presentavano complicanze vascolari. Nel 2008 sono state descritte mutazioni germinali, gain-of-function, allo stato eterozigote del

gene HIF-2 α in pazienti con forme ereditarie caratterizzate da eritrocitosi isolata, Epo aumentata, diagnosi in giovane età, complicanze vascolari.

Le condizioni ereditarie che determinano un aumento dell'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno comprendono alcune emoglobinopatie (derivanti da mutazioni delle catene α - o β -globiniche) e il deficit di 2,3-difosfoglicerato (entrambe non incluse nell'elenco di eritrocitosi ereditarie di OMIM). Tali disturbi sono caratterizzati da eritrocitosi isolata, Epo aumentata, riduzione della p50. Il pattern di trasmissione è autosomico dominante per le emoglobinopatie e per la maggior parte delle alterazioni sottostanti il deficit di 2,3-difosfoglicerato. I pazienti sono spesso asintomatici e non presentano aumentata incidenza di eventi vascolari.

Cenni di terapia

In considerazione dell'elevato rischio trombotico presentato da questi pazienti (ad eccezione di quelli con emoglobinopatie ad aumentata affinità per l'ossigeno o deficit di 2,3-difosfoglicerato) e in assenza di progressione ematologica di malattia, le raccomandazioni terapeutiche sono volte a prevenire le complicanze vascolari. In generale, nei pazienti con eritrocitosi ereditaria (ECYT1-4) viene impiegata la salassoterapia. L'indicazione alla salassoterapia, nonostante non vi sia al momento evidenza che tale terapia riduca il rischio trombotico e prolunghi la sopravvivenza nei pazienti con eritrocitosi ereditaria, viene solitamente posta per mantenere l'ematocrito al di sotto del 45%, rispecchiando le linee guida per la terapia della PV. La profilassi antitrombotica con terapia anti-aggregante piastrinica (aspirina 75-100 mg al giorno) potrebbe essere utilizzata nei pazienti ad alto rischio vascolare, cioè con pregresse manifestazioni vascolari.

5.2.2 Trombocitosi ereditaria

La trombopoietina (TPO), codificata dal gene THPO, è il regolatore fisiologicamente rilevante della produzione piastrinica; la sua sintesi è prevalentemente epatica, meno frequentemente osteomidollare e renale. Per esercitare la propria azione la TPO si lega al proprio recettore, MPL, sulla superficie della cellula bersaglio (piastrine e megacariociti). Tale recettore è responsabile anche della clearance della TPO dalla circolazione (internalizzazione recettore-mediata da parte di cellule mature); i livelli sierici di TPO sono di conseguenza inversamente correlati alla conta piastrinica. Il riscontro inatteso di livelli elevati di TPO in pazienti con TE è dovuto alla ridotta espressione di MPL da parte dei megacariociti del clone neoplastico, con conseguente inefficiente rimozione di TPO dalla circolazione.

Negli ultimi anni sono stati fatti numerosi progressi nella comprensione dei meccanismi biologici alla base delle forme ereditarie di trombocitosi. Mutazioni nei geni MPL (che codifica per il recettore della trombopoietina, MPL) e THPO possono causare trombocitosi ereditaria rispettivamente primaria (con livelli di TPO bassi o nella norma) e secondaria (con alti livelli di TPO). Circa l'80% dei pazienti con trombocitosi ereditaria non presenta mutazioni di questi geni (ed esibisce valori di TPO variabili); è quindi probabile che alterazioni di altri geni, al momento non ancora identificati, possano contribuire alla patogenesi di questi disturbi.

Mutazioni germinali di MPL

Ad oggi sono state riportate tre mutazioni germinali del gene MPL:

- MPLS505N: riportata inizialmente in una famiglia giapponese e successivamente in otto famiglie italiane ("effetto fondatore" per le famiglie italiane che però non comprende quella giapponese); trasmissione autosomica dominante. La mutazione provoca la dimerizzazione di MPL e la trasduzione del segnale in assenza di ligando.
- MPLK39N: si tratta di un polimorfismo presente allo stato eterozigote nel 7% della popolazione afroamericana; trasmissione autosomica dominante con penetranza incompleta – i casi omozigoti presentano trombocitosi marcata.
- MPLP106L: presente circa nel 6% della popolazione araba; trasmissione autosomica recessiva – i casi omozigoti presentano un'ampia variabilità nell'entità della trombocitosi, mentre allo stato eterozigote solo pochi individui presentano trombocitosi lieve.

Queste mutazioni non sono state riportate in forme sporadiche di MPN (ad eccezione di 3 casi, riportati nel 2008, di TE sporadica con mutazione MPLS505N acquisita); viceversa, le mutazioni di MPL più frequentemente descritte nelle forme sporadiche, ovvero quelle interessanti il residuo 515 (MPLW515L/K), non sono state osservate nei casi di trombocitosi ereditaria.

Mutazioni germinali di THPO

La fisiologica traduzione dell'mRNA di THPO a proteina è molto inefficiente per la presenza di regioni "inibitorie" a monte del suo codone di inizio (nella 5'-untranslated region, 5'-UTR). Risulta dunque comprensibile come mutazioni nella 5'-UTR di THPO possano causare trombocitosi attraverso la perdita della fisiologica inibizione della traduzione di mRNA di THPO. Sino a ora sono state descritte quattro mutazioni di questo tipo (a trasmissione autosomica dominante con penetranza completa), in grado di determinare un aumento dell'efficienza dalla traduzione di mRNA di THPO

senza alterare la sequenza della proteina matura, promuovendo dunque la secrezione di una molecola di TPO biologicamente attiva.

Caratteristiche cliniche

I pazienti con trombocitosi ereditaria sono di solito più giovani al momento della diagnosi rispetto a quelli con TE. Tuttavia, data la presenza di trombocitosi isolata e il quadro istopatologico midollare simile tra queste due entità, non è inusuale che pazienti con trombocitosi ereditaria vengano erroneamente diagnosticati come casi di TE JAK2V617F-negativa. Ne deriva l'importanza, nei casi con caratteristiche che ne facciano sospettare la natura ereditaria (giovane età, familiarità), di ricercare le mutazioni legate alle forme di trombocitosi ereditaria, pur sapendo che circa l'80% di questi pazienti è negativo per le alterazioni sino a oggi descritte. Tale problematica in ambito diagnostico, insieme alla rarità di questi disturbi e alla loro eterogeneità, rende ragione dell'assenza di specifiche linee guida terapeutiche.

Contrariamente a quanto ritenuto sino ad alcuni anni fa, i casi di trombocitosi ereditaria con mutazioni di THPO e MPLS505N presentano un aumentato rischio trombotico; viceversa non sono state descritte complicanze trombotiche nei pazienti con MPLK39L e MPLP106L allo stato eterozigote.

Cenni di terapia

Varie considerazioni possono guidare la decisione terapeutica nei pazienti con trombocitosi ereditaria: (i) i pazienti presentano spesso giovane età alla diagnosi, (ii) gli eventi trombotici descritti sono molto più frequenti in soggetti che non stanno assumendo terapia anti-aggregante piastrinica, (iii) i disturbi microcircolatori in pazienti con mutazione di THPO sono responsivi alla terapia con aspirina a basse dosi e invece resistenti all'idrossiurea, (iv) la terapia con idrossiurea non è stata efficace nel prevenire l'evento trombotico in due pazienti con MPLS505N e in uno con una mutazione di THPO, (v) l'evoluzione in leucemia acuta sembra essere un evento molto raro. Sulla base di tali dati viene raccomandata una profilassi con antiaggregante piastrinico nei pazienti con mutazioni di THPO o MPLS505N.

L'eventuale associazione di una terapia citoriduttrice è da considerare in presenza di episodi trombotici ricorrenti o disturbi microcircolatori refrattari. L'aspettativa di vita in pazienti con trombocitosi ereditaria MPLS505N-positiva sembra essere ridotta rispetto a quella osservata nei parenti non affetti a causa dell'aumentato rischio trombotico e dello sviluppo, con il tempo, di un quadro di tipo mielofibrotico. Tali dati sono tuttavia ottenuti in un campione relativamente piccolo di pazienti. Nel 2010 è stato segnalato il primo caso di trasformazione in leucemia acuta all'età di 60

anni in un paziente affetto da trombocitosi ereditaria THPO mutata mai trattato con terapia citoriduttrice. Un attento follow-up dei pazienti con trombocitosi ereditaria è necessario per valutare la precisa incidenza di questa e altre complicanze.

5.2.3 MPN familiari

Vari gruppi di ricercatori hanno riportato l'esistenza di famiglie in cui più individui sono affetti da "vere" MPN, definite cioè applicando le classificazioni diagnostiche per le MPN sporadiche vigenti al momento della diagnosi e non riconducibili alle forme di eritrocitosi e trombocitosi ereditaria sopra discusse. Solitamente si usa impiegare il termine "MPN familiare" quando almeno due individui della stessa famiglia sono affetti da MPN. Lo studio di ampie coorti di pazienti con MPN apparentemente sporadica ha permesso di identificare almeno un altro familiare affetto nel 7,6-11% dei casi (la percentuale rimane simile suddividendo per tipo di MPN). Il pattern di trasmissione genetica è compatibile con un'ereditarietà autosomica dominante con difetto di penetranza. In un ampio studio epidemiologico svedese comprendente 11.039 pazienti con MPN è stato evidenziato un incremento del rischio (da 5 a 7 volte circa) di sviluppare una MPN nei 24.577 parenti di primo grado analizzati (rischio relativo, RR, di sviluppare una PV = 5,7; RR di sviluppare una TE = 7,4; RR di sviluppare una MPN non ulteriormente classificabile, MPN NOS = 7,5; RR di sviluppare una MFP non significativamente aumentato, ma viene segnalato il ridotto numero di casi).

Basi genetiche

Nel 2003, lo studio di 6 famiglie con PV familiare ha confermato il tipo di ereditarietà autosomica dominante con penetranza ridotta e ha escluso la presenza di linkage tra la diagnosi di PV e i seguenti loci: 9p, 20q, 13q, 5q, MPL, EPOR. Questo contraddice l'ipotesi che eventuali mutazioni a livello di questi loci siano eventi genetici primari nella PV familiare. Con la successiva caratterizzazione molecolare delle MPN anche le forme familiari sono state ampiamente studiate.

Mutazione JAK2V617F. Poco dopo la scoperta della mutazione del gene JAK2 è stato riportato un caso di PV familiare con due soggetti affetti e positivi per la mutazione JAK2V617F appartenenti alla prima e alla terza generazione; l'individuo nella seconda generazione, portatore obbligato della mutazione predisponente, era invece sano e negativo per la mutazione di JAK2. Diversi studi hanno riportato che la mutazione è assente in linfociti B e T di pazienti con MPN familiare (assente cioè a livello del DNA

germinale) e che la proporzione di allele mutato è estremamente variabile (non pari al 50% come atteso nel caso di mutazioni germline). L'impiego di saggi di clonalità nelle forme familiari evidenzia la presenza di granulociti clonali in proporzione maggiore rispetto alla carica di JAK2V617F e individua casi con emopoiesi clonale in assenza della mutazione, analogamente a quanto avviene nelle MPN sporadiche. Tali dati indicano come la mutazione JAK2V617F non sia l'alterazione ereditaria predisponente allo sviluppo delle MPN ma piuttosto un evento secondario acquisito. Nelle MPN familiari sembrerebbe dunque essere ereditata una propensione, possibilmente determinata da una o più alterazioni genetiche non ancora identificate, a sviluppare mutazioni MPN-relate in maniera aspecifica.

Altre mutazioni. L'identificazione di altre mutazioni rilevanti nella patogenesi delle MPN ha permesso di identificare casi di MPN familiare con alterazioni molecolari (acquisite) composite all'interno della famiglia e del singolo individuo. Sono stati ad esempio riportati due fratelli in due diverse famiglie con PV familiare: uno positivo per JAK2V617F e l'altro per una mutazione dell'esone 12 di JAK2. In seguito al riscontro nelle neoplasie mieloidi di mutazioni lungo gran parte della sequenza del gene TET2, vari gruppi di ricercatori hanno studiato il genotipo di TET2 nelle MPN familiari. All'interno di queste forme sono state rilevate mutazioni di TET2 in soggetti JAK2V617F-positivi e negativi, in proporzione e di tipologia simili a quelle riscontrate nelle MPN sporadiche. Le mutazioni di TET2, come quelle di JAK2, non sono state riscontrate a livello del DNA germinale nella quasi totalità dei casi descritti, dimostrandone la natura acquisita. In due casi è stato invece possibile rilevare una mutazione di TET2 a livello dei granulociti e dei linfociti T. In uno di questi due casi (positivo per la mutazione R1440Q) è stato possibile studiare, con esito negativo, la sequenza di TET2 in un familiare affetto da MPN, escludendo così la segregazione della mutazione R1440Q di TET2 con il fenotipo clinico di MPN. Non essendo la mutazione di TET2 trasmessa come carattere ereditario, ma essendo ereditata piuttosto una propensione a sviluppare mutazioni di TET2 (così come di JAK2), non appare strano che siano state identificate differenti mutazioni di TET2 in membri della stessa famiglia. Da un punto di vista clinico, i casi TET2 mutati non presentano età più avanzata rispetto a quelli wild type, diversamente da quanto descritto nelle forme sporadiche.

Le mutazioni di TET2 sono più frequenti nella MFP e in casi di PV e TE andati incontro a progressione di malattia. Ad oggi, nelle MPN "classiche" (TE, PV e MFP) familiari, non sono state riportate mutazioni di CBL mentre è stato riportato un caso con MPLW515L.

Aplotipo 46/1 di JAK2. Nel 2009, tre gruppi di ricercatori indipendenti hanno descritto un'associazione tra MPN JAK2V617F-positive e uno specifico aplotipo costituzionale del locus JAK2, denominato aplotipo 46/1. Hanno inoltre riportato l'insorgenza preferenziale della mutazione JAK2V617F a livello dell'allele 46/1 (in cis). In seguito è stato mostrato che anche le mutazioni dell'esone 12 di JAK2 avvengono preferenzialmente in presenza del medesimo aplotipo. L'aplotipo 46/1 di JAK2 predispone dunque allo sviluppo di MPN sia JAK2V617F-positive che positive per mutazioni dell'esone 12 di JAK2, e MPN con mutazioni di MPL. Il meccanismo alla base di questa predisposizione non è ancora stato chiarito. Uno studio recente ha indagato il possibile ruolo dell'aplotipo 46/1 in casi di MPN familiare. Significativamente, non è stata rilevata alcuna differenza nella frequenza dell'aplotipo 46/1 tra forme familiari e sporadiche di MPN, anche limitando l'analisi ai casi JAK2V617F-positivi. L'aplotipo 46/1 non sembra segregare con uno specifico fenotipo di MPN; viene inoltre segnalato che fino a un terzo dei pazienti con MPN familiare non presenta l'aplotipo 46/1.

La penetranza nelle MPN familiari è stata stimata intorno al 31-35% mentre quella dell'aplotipo 46/1 risulta pari allo 0,02%; tale marcata differenza sostiene l'ipotesi che la predisposizione familiare a sviluppare una MPN è molto più forte di quella conferita dall'aplotipo 46/1. In conclusione, l'aplotipo 46/1 predispone all'acquisizione di mutazioni di JAK2 anche nelle forme familiari di MPN, non costituendo tuttavia l'alterazione genetica alla loro base.

Anticipazione genetica. Viene riportata una differenza nell'età alla diagnosi di individui affetti da MPN familiare appartenenti a generazioni successive (età alla diagnosi più precoce nella seconda generazione). Questo, insieme all'evidenza di accorciamento dei telomeri da una generazione a quella dopo, sostiene l'ipotesi dell'anticipazione. Non vengono rilevate simili differenze d'età nello studio epidemiologico precedentemente menzionato, che però impiega dati da registro non analizzati (almeno inizialmente) a livello di singole famiglie con coppie di pazienti con MPN di generazioni successive.

Caratteristiche cliniche e correlazioni con lo stato mutazionale di JAK2

La presentazione clinica alla diagnosi non varia tra forme sporadiche e familiari, così come non vi è differenza nel tipo di complicanze MPN-relate (eventi trombotici ed emorragici) e nella possibile evoluzione in mielofibrosi secondaria e trasformazione in leucemia acuta. La sopravvivenza a 10 anni è dell'83% in pazienti con PV familiare e del 100% in pazienti con TE familiare; mentre è del 30% nei casi di MFP familiare in fase fibrotica (e del 56% se si includono anche i pazienti in fase pre-fibrotica).

Tali dati di sopravvivenza confermano anch'essi la similitudine tra fenotipo clinico di forme sporadiche e familiari.

Gli individui affetti appartenenti alla stessa famiglia non necessariamente condividono fenotipo clinico e stato mutazionale del gene JAK2. Viene infatti riportato un fenotipo omogeneo (ovvero diagnosi solo di TE, PV o MFP all'interno della stessa famiglia) nel 58-60% dei casi, mentre nel restante 40-42% i familiari sono affetti da MPN differenti. I differenti fenotipi diagnosticati all'interno di ciascuna famiglia non si differenziano in base allo stato mutazionale del gene JAK2. Nel 61-68% dei casi lo stato mutazionale di JAK2 è omogeneo in tutti i familiari affetti; mentre nel 32-39% dei casi coesistono pazienti JAK2V617F-positivi e negativi all'interno della stessa famiglia. Nelle MPN familiari, la mutazione V617F del gene JAK2 è presente nel 55-78% dei casi di PV, 50-69% dei casi di TE e 75-90% dei casi di MFP.

La differente frequenza di JAK2V617F nei vari tipi di MPN rispetto alla controparte sporadica è verosimilmente attribuibile alla segregazione della mutazione all'interno della stessa famiglia (presenza di un'ampia quota di famiglie omogeneamente JAK2V617F-positive o negative). La carica di allele mutato nelle forme familiari rispecchia quella nelle MPN sporadiche. La presenza della mutazione JAK2V617F in omozigosi sembra essere associata a progressione di malattia (evoluzione in mielofibrosi secondaria e trasformazione leucemica) e non a eventi trombotici. Considerando tre gruppi di pazienti a seconda della carica di JAK2V617F, ovvero pari a 0%, tra 0 e 50%, più del 50%, la probabilità di progressione di malattia a 10 anni riportata in pazienti con PV familiare è rispettivamente 0%, 10% e 29% nei tre gruppi (valore di P non significativo); mentre in pazienti con TE familiare è rispettivamente 0%, 0% e 20% nei tre gruppi ($P = 0,01$). Tali dati vanno interpretati con cautela dato il numero limitato di pazienti analizzati.

Predisposizione allo sviluppo di altre neoplasie

Almeno due studi hanno esplorato la tendenza, in soggetti appartenenti a famiglie con MPN, a sviluppare altre neoplasie. Nel primo è stato riscontrato un aumento del rischio di leucemia linfatica cronica, melanoma e tumore del sistema nervoso centrale (oltre che di MPN) nei parenti di primo grado dei pazienti con MPN. Nel secondo studio viene riportata un'aumentata frequenza di altre neoplasie in pazienti affetti da MPN familiare rispetto a quelli con MPN sporadica, che però raggiunge la significatività statistica solo restringendo l'analisi a un sottogruppo di pazienti definito per età (cioè nei pazienti che hanno tra i 50 e 70 anni in occasione della più recente visita di controllo; odds ratio = 3,13). Viene segnalata anche una distribuzione preferenziale di determinati tipi di neoplasia in pazienti con MPN familiare e

sporadica. Da ultimo, viene esclusa un'influenza dell'aplotipo 46/1 sullo sviluppo di altre neoplasie in pazienti con MPN familiari. Tali risultati richiedono tuttavia una lettura molto cauta e la conferma in serie più ampie di pazienti.

Cenni di terapia

In considerazione dell'analogia tra fenotipo clinico, complicanze vascolari e pattern evolutivi di MPN familiari e sporadiche, nella pratica clinica le forme familiari di MPN vengono solitamente trattate allo stesso modo di quelle sporadiche. Anche in considerazione della mancanza di specifiche indicazioni terapeutiche evidence-based (dovuta al numero relativamente basso di casi sino a ora descritti), la necessità di raccogliere i casi di MPN familiari in database nazionali e internazionali per approfondirne la caratterizzazione, sia biologica che clinica, appare del tutto evidente.

KEY POINTS

- I disordini ereditari che interessano alternativamente la linea eritroide (eritrocitosi ereditaria) o quella megacariocitaria (trombocitosi ereditaria) presentano trasmissione mendeliana, penetranza elevata e policlonalità dell'emopoiesi
- Le “vere” MPN familiari, con interessamento tipicamente multilineare, presentano predisposizione familiare (non ancora individuata in maniera convincente l'alterazione genetica o l'insieme di alterazioni in grado di spiegare tali “aggregazioni familiari”), bassa penetranza, clonalità dell'emopoiesi e possibile presenza di mutazioni somatiche, tra cui JAK2V617F
- Nelle eritrocitosi e trombocitosi ereditarie (che presentano emopoiesi policlonale e sono frequentemente diagnosticate in giovane età) l'approccio terapeutico è volto a minimizzare il rischio trombotico, principalmente mediante salasso terapia e terapia anti-aggregante piastrinica
- Nelle “vere” MPN familiari le decisioni terapeutiche ricalcano quelle proposte per le forme sporadiche, che prevedono l'impiego di una terapia citoriduttrice

BIBLIOGRAFIA

- Ang SO, Chen H, Hirota K, et al (2002) Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia. *Nat. Genet* 32(4):614-21.
- Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al (2011) Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 29(6):761-70.
- Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, et al (2008) MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 112(1):141-9.
- Bellanné-Chantelot C, Chaumarel I, Labopin M, et al (2006) Genetic and clinical implications of the Val617Phe JAK2 mutation in 72 families with myeloproliferative disorders. *Blood* 108(1):346-52.
- Bento MC, Chang KT, Guan Y, et al (2005) Congenital polycythemia with homozygous and heterozygous mutations of von Hippel-Lindau gene: five new Caucasian patients. *Haematologica* 90(1):128-9.
- Cario H, Goerttler PS, Steimle C, et al (2005) The JAK2V617F mutation is acquired secondary to the predisposing alteration in familial polycythaemia vera. *Br J Haematol* 130(5):800-1.
- Cario H, Schwarz K, Jorch N, et al (2005) Mutations in the von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor gene and VHL-haplotype analysis in patients with presumable congenital erythrocytosis. *Haematologica* 90(1):19-24.
- Ding J, Komatsu H, Iida S, et al (2009) The Asn505 mutation of the c-MPL gene, which causes familial essential thrombocythemia, induces autonomous homodimerization of the c-Mpl protein due to strong amino acid polarity. *Blood* 114(15):3325-8.
- Ding J, Komatsu H, Wakita A, et al (2004) Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. *Blood* 103(11):4198-200.
- El-Harith E-HA, Roesl C, Ballmaier M, et al (2009) Familial thrombocytosis caused by the novel germ-line mutation p.Pro106Leu in the MPL gene. *Br J Haematol* 144(2):185-94.
- Ghilardi N, Wiestner A, Skoda RC (1998) Thrombopoietin production is inhibited by a translational mechanism. *Blood* 92(11):4023-30.
- Gordeuk VR, Sergueeva AI, Miasnikova GY, et al (2004) Congenital disorder of oxygen sensing: association of the homozygous Chuvash polycythemia VHL mutation with thrombosis and vascular abnormalities but not tumors. *Blood* 103(10):3924-32.

- Gordeuk VR, Stockton DW, Prchal JT (2005) Congenital polycythemia/erythrocytoses. *Haematologica* 90(1):109-16.
- Griesshammer M, Kubanek B, Beneke H, et al (2000) Serum erythropoietin and thrombopoietin levels in patients with essential thrombocythaemia. *Leuk Lymphoma* 36(5-6):533-8.
- Hussein K, Bock O, Ballmaier M, et al (2007) Familial polycythemia vera with non-germline JAK2(V617F) mutation sparing the abnormal and clonal granulopoiesis. *Leukemia* 21(12):2566-8.
- Jones AV, Campbell PJ, Beer PA, et al (2010) The JAK2 46/1 haplotype predisposes to MPL-mutated myeloproliferative neoplasms. *Blood* 115(22):4517-23.
- Jones AV, Chase A, Silver RT, et al (2009) JAK2 haplotype is a major risk factor for the development of myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet* 41(4):446-9.
- Juvonen E, Ikkala E, Fyhrquist F, et al (1991) Autosomal dominant erythrocytosis caused by increased sensitivity to erythropoietin. *Blood* 78(11):3066-9.
- Kilpivaara O, Mukherjee S, Schram AM, et al (2009) A germline JAK2 SNP is associated with predisposition to the development of JAK2(V617F)-positive myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet* 41(4):455-9.
- Kralovics R, Indrak K, Stopka T, et al (1997) Two new EPO receptor mutations: truncated EPO receptors are most frequently associated with primary familial and congenital polycythemia. *Blood* 90(5):2057-61.
- Kralovics R, Prchal JT (2001) Genetic heterogeneity of primary familial and congenital polycythemia. *Am J Hematol* 68(2):115-21.
- Kralovics R, Stockton DW, Prchal JT (2003) Clonal hematopoiesis in familial polycythemia vera suggests the involvement of multiple mutational events in the early pathogenesis of the disease. *Blood* 102(10):3793-6.
- Kralovics R, Teo SS, Li S, et al (2006) Acquisition of the V617F mutation of JAK2 is a late genetic event in a subset of patients with myeloproliferative disorders. *Blood* 108(4):1377-80.
- Landgren O, Goldin LR, Kristinsson SY, et al (2008) Increased risks of polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myelofibrosis among 24,577 first-degree relatives of 11,039 patients with myeloproliferative neoplasms in Sweden. *Blood* 112(6):2199-204.
- Landgren O, Goldin LR, Kristinsson SY, et al (2008) Response: More on disease anticipation in familial MPN. *Blood* 112(6):2588-9.
- Liu E, Jelinek J, Pastore YD, et al (2003) Discrimination of polycythemia and thrombocytoses by novel, simple, accurate clonality assays and comparison with PRV-1 expression and BFU-E response to erythropoietin. *Blood* 101(8):3294-301.

- Liu K, Kralovics R, Rudzki Z, et al (2008) A de novo splice donor mutation in the thrombopoietin gene causes hereditary thrombocythemia in a Polish family. *Haematologica* 93(5):706-14.
- Moliterno AR, Hankins WD, Spivak JL (1998) Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. *N. Engl. J. Med* 338(9):572-80.
- Moliterno AR, Williams DM, Gutierrez-Alamillo LI, et al (2004) Mpl Baltimore: a thrombopoietin receptor polymorphism associated with thrombocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(31):11444-7.
- Olcaydu D, Harutyunyan A, Jäger R, et al (2009) A common JAK2 haplotype confers susceptibility to myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet* 41(4):450-4.
- Olcaydu D, Rumi E, Harutyunyan A, et al (2011) The role of the JAK2 GGCC haplotype and the TET2 gene in familial myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 96(3):367-74.
- Olcaydu D, Skoda RC, Looser R, et al (2009) The «GGCC» haplotype of JAK2 confers susceptibility to JAK2 exon 12 mutation-positive polycythemia vera. *Leukemia* 23(10):1924-6.
- Percy MJ, Beer PA, Campbell G, et al (2008) Novel exon 12 mutations in the HIF2A gene associated with erythrocytosis. *Blood* 111(11):5400-2.
- Percy MJ, Furlow PW, Beer PA, et al (2007) A novel erythrocytosis-associated PHD2 mutation suggests the location of a HIF binding groove. *Blood* 110(6):2193-6.
- Percy MJ, Furlow PW, Lucas GS, et al (2008) A gain-of-function mutation in the HIF2A gene in familial erythrocytosis. *N Engl J Med* 358(2):162-8.
- Percy MJ, Rumi E (2009) Genetic origins and clinical phenotype of familial and acquired erythrocytosis and thrombocytosis. *Am J Hematol* 84(1):46-54.
- Percy MJ, Zhao Q, Flores A, et al (2006) A family with erythrocytosis establishes a role for prolyl hydroxylase domain protein 2 in oxygen homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(3):654-9.
- Perrotta S, Nobili B, Ferraro M, et al (2006) Von Hippel-Lindau-dependent polycythemia is endemic on the island of Ischia: identification of a novel cluster. *Blood* 107(2):514-9.
- Pietra D, Li S, Brisci A, et al (2008) Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. *Blood* 111(3):1686-9.
- Posthuma HLA, Skoda RC, Jacob FA, et al (2010) Hereditary thrombocytosis not as innocent as thought? Development into acute leukemia and myelofibrosis. *Blood* 116(17):3375-6.

- Prchal JT, Semenza GL, Prchal J, et al (1995) Familial polycythemia. *Science* 268(5219):1831-2.
- Rumi E (2008) Familial chronic myeloproliferative disorders: the state of the art. *Hematol Oncol* 26(3):131-8.
- Rumi E, Passamonti F, Della Porta MG, et al (2007) Familial chronic myeloproliferative disorders: clinical phenotype and evidence of disease anticipation. *J Clin Oncol* 25(35):5630-5.
- Rumi E, Passamonti F, Picone C, et al (2008) Disease anticipation in familial myeloproliferative neoplasms. *Blood* 112(6):2587-8; author reply 2588-9.
- Rumi E, Passamonti F, Pietra D, et al (2006) JAK2 (V617F) as an acquired somatic mutation and a secondary genetic event associated with disease progression in familial myeloproliferative disorders. *Cancer* 107(9):2206-11.
- Saint-Martin C, Leroy G, Delhommeau F, et al (2009) Analysis of the ten-eleven translocation 2 (TET2) gene in familial myeloproliferative neoplasms. *Blood* 114(8):1628-32.
- Sergeyeva A, Gordeuk VR, Tokarev YN, et al (1997) Congenital polycythemia in Chuvashia. *Blood* 89(6):2148-54.
- Skoda R (2007) The genetic basis of myeloproliferative disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 1-10.
- Skoda RC (2010) Hereditary myeloproliferative disorders. *Haematologica* 95(1):6-8.
- Tefferi A, Vainchenker W (2011) Myeloproliferative neoplasms: molecular pathophysiology, essential clinical understanding, and treatment strategies. *J Clin Oncol* 29(5):573-82.
- Teofili L, Giona F, Martini M, et al (2007) Markers of myeloproliferative diseases in childhood polycythemia vera and essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 25(9):1048-53.
- Teofili L, Giona F, Torti L, et al (2010) Hereditary thrombocytosis caused by MPLSer505Asn is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. *Haematologica* 95(1):65-70.
- Teofili L, Larocca LM (2011) Advances in understanding the pathogenesis of familial thrombocythaemia. *Br J Haematol* 152(6):701-12.
- Teofili L, Pierconti F, Di Febo A, et al (2002) The expression pattern of c-mpl in megakaryocytes correlates with thrombotic risk in essential thrombocythemia. *Blood* 100(2):714-7.

- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al (2009) The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 114(5):937-51.

