



[haematologica reports]
2006;2(6):23-27

LUIGI GUGLIOTTA
ALESSIA TIEGHI
SIMONA BULGARELLI

Ematologia, Arcispedale Santa
Maria Nuova, Reggio Emilia, Italia

Il rischio trombotico ed emorragico nelle malattie mieloproliferative croniche Ph negative

Le malattie mieloproliferative croniche Philadelphia negative (cMPD Ph-) nelle quali trombosi ed emorragie hanno notevole rilevanza clinica sono la Policitemia Vera (PV), la Trombocitemia Essenziale (TE) e la Mielofibrosi con Metaplasia Mieloide (MMM). Alla terapia e/o alla profilassi delle complicanze vascolari è finalizzata la messa in atto di trattamenti dalla cui efficacia, sicurezza e tollerabilità dipendono in buona misura quantità e qualità di vita dei pazienti. La valutazione del rapporto costo-beneficio dei vari trattamenti impone la precisa definizione delle malattie considerate, l'inquadramento fisiopatologico delle manifestazioni cliniche nonché l'identificazione del loro peso prognostico. Importanti progressi in tal senso sono stati compiuti negli ultimi anni, soprattutto grazie ad alcune acquisizioni biologiche (clonalità, JAK2, CD34+ circolanti, interazione piastrine-leucociti, endonucleotidi piastrinici, ecc) e alla migliore conoscenza di farmaci più antichi, quali Pipobromano e Idrossiurea, e delle molecole più innovative quali Interferone α (IFN) ed Anagrelide. Il tema del rischio trombotico ed emorragico nelle cMPD assume inoltre particolare rilevanza in situazioni piuttosto delicate quali gravidanza, età pediatrica, interventi chirurgici.

Incidenza di trombosi, emorragia, disturbi del microcircolo

Nella TE e nella PV l'incidenza di trombosi clinicamente significativa è maggiore rispetto all'emorragia, mentre il contrario si osserva generalmente nella Mielofibrosi.¹² Una stima esatta è tuttavia problematica in quanto le casistiche riportate mostrano una grande eterogeneità di incidenza dovuta alla selezione dei pazienti, alla diversa definizione degli eventi e alla interferenza della terapia citoriduttiva e/o antiaggregante.^{3, 27, 16}

All'esordio, in circa 700 pazienti con TE e oltre 3500 pazienti con PV relativi a 12 diverse casistiche, viene osservata un'incidenza di trombosi maggiori prevalentemente arteriose pari all'11-25% (mediana 20%)

nella TE e al 12-39% (mediana 29%) nella PV; e ancora di emorragie pari al 4-37% (mediana 9%) nella TE e al 2-20% (mediana 6%) nella PV.¹² Durante il follow-up negli stessi pazienti l'incidenza di trombosi maggiori è stata rispettivamente del 10-22% (mediana 17%) e del 10-25% (mediana 15%), mentre l'incidenza di emorragia è stata 0-27% (mediana 15%) e 11-70% (mediana 32%). Nella revisione della letteratura su 1850 pazienti con TE relativi a 21 casistiche viene confermato il medesimo ampio intervallo di incidenza sia alla diagnosi che nel follow-up.³ Nello studio retrospettivo GIMMC su 2139 pazienti con TE l'incidenza di trombosi ed emorragia alla diagnosi era rispettivamente del 15% e del 5% mentre nel follow-up era pari all'11% e al 6% (Tabella 1). Inoltre disturbi del microcircolo erano presenti nel 36% dei pazienti.¹⁶ In una coorte di 100 pazienti con TE confrontati con 200 controlli affetti da gammopatia monoclonale, le trombosi nel follow-up sono risultate rispettivamente 6.6 e 1.2/100 anni-paziente mentre le emorragie maggiori sono state rispettivamente 0 e 0.33/100 anni-paziente.¹⁰

Gli eventi trombotici prevalenti nella TE e nella PV sono quelli arteriosi.^{22,16} Gli eventi trombotici venosi intra-addominali (portali ed epatici) sono più frequenti nella PV.^{22,23} Questi ultimi sono spesso osservati in soggetti, non raramente giovani, nei quali viene successivamente posta diagnosi di cMPD.¹¹ La maggior quota degli eventi trombotici venosi è a carico delle estremità inferiori (DVT) e del circolo polmonare (embolia polmonare).⁵ Tra i disturbi del microcircolo l'eritromelalgia è stata attribuita alla prevalente formazione di microtrombi arteriolarici piastrinici con infiammazione endoteliale e proliferazione intima.^{25,39} Disturbi transitori neurologici e della vista hanno probabilmente stesso meccanismo fisiopatologico.²⁵ Gli eventi emorragici sono più frequentemente a carico della cute e delle mucose,³² ma quelli severi coinvolgono di solito il distretto gastro-intestinale.¹²

Tabella 1. Studio retrospettivo GIMMC su 2139 pazienti affetti da Trombocitemia Essenziale: eventi trombotici ed emorragici durante il follow-up.

	N° eventi	N° eventi/100 anni pz.	N° eventi fatali	N° eventi fatali/100 anni pz.
Trombosi	246 (11.5%)	2.2	76 (3.4%)	0.7
Emorragia	137 (6.4%)	1.2	10 (0.4%)	0.1

Tabella 2. Studio retrospettivo GIMMC su 2139 pazienti affetti da Trombocitemia Essenziale: fattori di rischio per trombosi e per eventi letali.

	Trombosi (RR)	Morte (RR)
Età:		
40 – 60 anni	+ 3	+ 3.5
61 – 70 anni	+ 9	+ 9.6
> 70 anni	+ 26	+ 25.2
Trombosi esordio	+ 2.5	+ 1.5
PLT Diagnosi >1000×10 ⁹ /L	+ 1.8	+ 2
PLT Follow-up >1000×10 ⁹ /L+ 2.3	+ 2.1	

Patogenesi

La comparsa di eventi trombotici o emorragici o talora trombotico-emorragici è riferibile a meccanismi complessi coinvolgenti la componente cellulare eritrocitaria, piastrinica e leucocitaria, la componente coagulativa e fibrinolitica plasmatica e la componente endoteliale e vasale in genere.¹²

L'aumento dell'ematocrito, alterando il flusso e le interazioni piastrina-piastrina e piastrina-endotelio, porta ad un'attivazione cellulare responsabile dell'evento trombotico.¹²

La trombocitosi è in sé significativamente correlata al rischio trombotico sia nella TE che nella PV.^{23,6,7} La riduzione del numero delle piastrine al di sotto di 600×10⁹/L o, ancor più, al di sotto di 400×10⁹/L è infatti associata a riduzione della complicità trombotica in numerosi studi.^{10,9,33,16,12,3} È altresì noto che la spiccata trombocitosi (Plt >1.500×10⁹/L) è più frequentemente associata a clinica emorragica.³⁸

Le anomalie morfo-funzionali delle piastrine sono anch'esse associate sia a complicanze emorragiche che trombotiche.⁴⁰ Tali alterazioni, sicuramente dovute alla produzione midollare di piastrine abnormi, sono in parte la conseguenza di una iperattivazione delle stesse *in vivo*.^{2,28} Una percentuale Storage Pool Deficiency con riduzione in particolare dell'ADP endopiastrinico è piuttosto caratteristica delle cMPD tanto da essere stata invocata come un potenziale marker funzionale.²⁸

L'alterazione del metabolismo dell'acido arachidonico con iperproduzione di Trombossano B2 (TxB2) è piuttosto frequente nella PV e nella TE.²¹

La anomala distribuzione delle glicoproteine di membrana piastrinica con riduzione della GPIb e della

GPIIb/IIIa e con aumento della GPIV è associata a rischio trombotico.¹⁹

L'attivazione dei leucociti (valutabile laboratoristicamente mediante l'iperespressione di CD11b e l'iperproduzione di elastasi) ha più recentemente assunto un ruolo patogenetico importante in quanto sembra indurre un'attivazione endoteliale (iperproduzione di trombomodulina e vWF_Ag), un'attivazione coagulativa (aumento di D-Dimero, complesso trombina-anti-trombina e FII) ed un'attivazione piastrinica (aumento della P-Selectina) con conseguente formazione di aggregati piastrine-leucociti e conseguente aumentato rischio trombotico.^{13,18} Un von Willebrand Defect acquisito (avW) con conseguente elevato rischio emorragico è frequentemente riscontrato nelle cMPD con numero di piastrine particolarmente elevato (>1.000-1.500×10⁹/L).^{12,38} La riduzione dei multimeri del vWF ad alto peso molecolare è associata ad una ridotta funzione coagulativa (riduzione dell'attività del cofattore ristocetinico) che si ritiene essere responsabile dell'aumentato rischio emorragico; tale rischio cala significativamente in concomitanza al ridursi del livello di piastrine solitamente al di sotto di 1.000 x 10⁹/L.³⁸ Viene ipotizzato che l'aumentato numero di piastrine faciliti l'interazione tra la GPIb piastrinica ed il vWF, inducendo una modificazione conformazionale che spinge la proteasi ADAMTS 13 ad un aumentato clivaggio dei multimeri del vW ad alto peso molecolare.³⁸

Fattori di rischio

Età. L'età avanzata è di per sé un fattore generale di rischio trombotico e lo è ancor di più nelle cMPD, particolarmente nella PV e nella TE.^{10,16,21,26} Nello studio retrospettivo GIMMC non solo l'età superiore ai 60 anni ma anche quella compresa tra i 40 e i 60 anni rappresentava un significativo rischio trombotico. (Tabella 2).

Pregressa trombosi. In tutte le casistiche l'anamnesi positiva per precedenti eventi trombotici rappresenta un aumentato rischio per ricorrenti trombosi nel corso della malattia.^{21,10,16} Nello studio GIMMC gli eventi trombotici verificatisi alla diagnosi o alla pre-diagnosi presentavano un valore prognostico per trombosi successive (Tabella 2).

Piastrine. La piastrinosi è considerata per definizione un fattore di rischio trombotico-emorragico nelle cMPD. Non esiste tuttavia accordo sul livello soglia per definire il grado di rischio: da alcuni è richiesto un

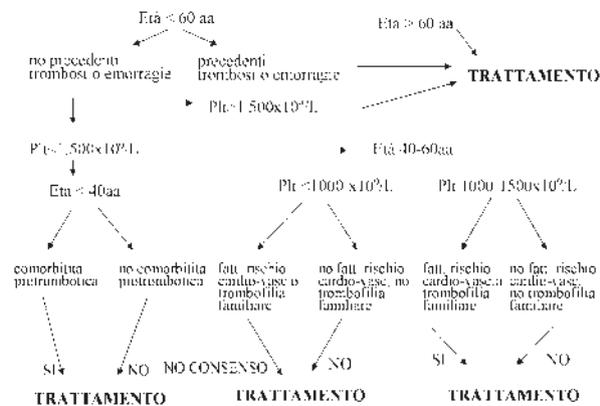


Figura 1. Indicazioni al trattamento, secondo le linee-guida italiane 2004, nei pazienti adulti con trombocitemia essenziale.

livello di piastrine superiore a $1.500 \times 10^9/L$ per porre l'indicazione alla citoriduzione,³ mentre da altri viene osservato come complicanze trombotiche anche severe siano registrabili già in pazienti con PLT al di sotto di $400 \times 10^9/L$.^{11,12}

Fattori di rischio cardio-vascolare. Sono rappresentati convenzionalmente da ipertensione, fumo, ipercolesterolemia, diabete mellito. Nonostante non esista una piena concordanza sul peso di ciascuno di questi fattori è tuttavia unanimemente accettato che il loro ruolo globale sia assolutamente rilevante.¹²

Trombofilia ereditaria ed acquisita. Difetti congeniti protrombotici quali il deficit di antitrombina III (ATIII), della proteina C (PC) e della proteina S (PS), le mutazioni genetiche del fattore V, della protrombina e della metil-tetraidrolato-reduttasi (MTHFR), alcune alterazioni acquisite quali gli anticorpi anti-cardiolipina (ACA), il lupus anticoagulant (LAC) e la iperomocisteinemia sono variamente associati a potenziale rischio trombotico.^{12,35,15,14}

Chirurgia. Gli interventi chirurgici nei pazienti con cMPD rappresentano un momento di elevato rischio trombotico ed emorragico legato fondamentalmente all'alterazione numerica e funzionale delle piastrine, ivi compreso il difetto acquisito del vWF.¹² Tale rischio è inoltre particolarmente elevato in relazione agli interventi di splenectomia nei pazienti affetti da Mielofibrosi.³⁷

Clonalità dell'emopoiesi. Lo studio della clonalità legata all'inattivazione del cromosoma X (HUMARA) ha documentato una maggiore incidenza di complicanze trombotiche nelle pazienti monoclonali.^{8,12}

Mutazione del gene JAK2. Il riscontro della presenza della mutazione del gene JAK2 (sostituzione di una valina al posto di una fenilalanina in posizione 617) nelle cMPD è fonte di numerose pubblicazioni scien-

tifiche,^{4,24,36} in particolare tale mutazione pare correlare con un'iperattivazione leucocitaria e piastrinica responsabile di una maggiore incidenza di eventi trombotici nella TE.¹

Rischio trombotico e trattamenti farmacologici

L'indicazione al trattamento citoriduttivo e/o antiaggregante è oggetto di vivo interesse nella comunità scientifica. Considerando infatti tossicità ed effetti collaterali di ciascuno dei farmaci disponibili è doveroso limitare il loro impiego solo a quando sia ragionevolmente sostenibile un favorevole rapporto costo-beneficio. Le linee-guida SIE, SIES, GITMO, in modo restrittivo, limitano il giudizio ad alto rischio vascolare per quei pazienti di età superiore ai 60 anni e/o con precedenti trombotosi e/o con piastrine superiori a $1500 \times 10^9/L$ ³ (Figura 1). Un numero di piastrine compreso tra 1000 e $1500 \times 10^9/L$, che secondo le linee guida rappresenterebbe un grado di rischio intermedio, per altri è ancora considerato fattore di alto rischio.^{12,30} A riprova di ciò in molti studi sperimentali e nella pratica clinica odierna, pazienti con piastrine che superano il livello di $1.000 \times 10^9/L$ vengono sottoposti a citoriduzione.^{16,17,29} Due studi controllati hanno dimostrato che la citoriduzione con Idrossiurea, concomitante o meno a trattamento antiaggregante, fino ad ottenere livelli di piastrine inferiori a $400 \times 10^9/L$, si è associata ad una significativa riduzione delle complicanze trombotiche.^{9,17} In particolare nello studio randomizzato Idrossiurea vs Anagrelide, condotto su 809 pazienti affetti da TE ad alto rischio trombotico, i pazienti nel braccio di terapia con Idrossiurea mostravano una minore incidenza di eventi trombotici arteriosi.¹⁷ È ipotizzato che la concomitante riduzione dei livelli piastrinici e leucocitari ottenibile con tale farmaco possa rappresentare un importante fattore aggiunto a favore dell'effetto antitrombotico. Benchè non ancora dimostrato in studi controllati anche l'IFN- α in analogia ad altri trattamenti citotossici è in grado di ridurre significativamente sia il numero delle piastrine che dei globuli bianchi (Figura 2).

La terapia antiaggregante con acido acetil-salicilico a basso dosaggio (ASA 100 mg/die) è stata dimostrata efficace nel ridurre il rischio trombotico senza incrementare in modo significativo il rischio emorragico nella PV.²¹ Tale effetto favorevole era, d'altro canto, già stato previsto in base allo studio sui livelli di TxB2 nella PV.²⁰ L'impiego degli antiaggreganti nella TE è abbastanza diffuso pur in assenza di studi controllati. Nello studio retrospettivo GIMMC, tuttavia, l'impiego di antiaggreganti (ASA nel 50% circa dei casi) si è associato ad una netta riduzione delle complicanze trombotiche e della mortalità per trombotosi.¹⁶ Esiste accordo nell'evitare l'impiego dell'antiaggregante fino a che il numero delle piastrine non sia stato portato al

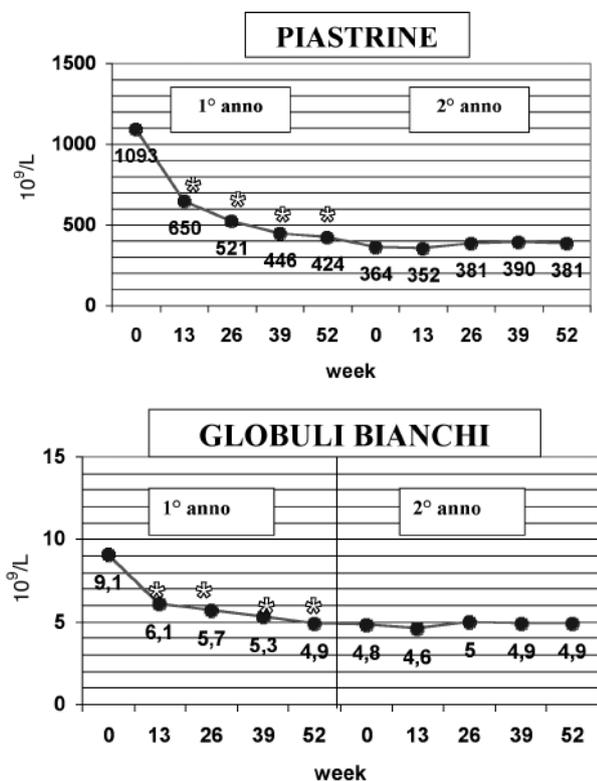


Figura 2. Andamento delle piastrine e dei globuli bianchi durante terapia con PEG Intron in 90 pazienti con Trombocitemia Essenziale.

di sotto di $1.500-1.000 \times 10^9/L$ al fine di ridurre il rischio emorragico.

Nei pazienti a basso rischio di eventi vascolari il dilemma sta nello scegliere tra l'astensione terapeutica totale³⁴ o l'impiego profilattico di ASA a basse dosi.

Gravidanza

La gravidanza nelle cMPD rappresenta per definizione un ulteriore fattore di rischio trombotico. Pur in assenza di accordo internazionale le linee guida nazionali italiane hanno dato una loro raccomandazione interventista solo se si verificano, nel corso della gravidanza, alcuni particolari condizioni: se l'anamnesi dovesse risultare positiva per eventi trombotici maggiori e/o eventi emorragici maggiori, se il numero delle piastrine dovesse superare $1.000 \times 10^9/L$, se è documentata una trombofilia familiare o se la donna dovesse presentare qualche altro fattore di rischio trombotico è indicata terapia di citoriduzione con Interferone- α .³ L'IFN- α è indicato nella citoriduzione della donna gravida trombocitemica in quanto sicuramente non leucemogeno e privo di potenziale teratogeno.²⁶

Età pediatrica

Il rischio trombotico è pressoché nullo non solo in relazione all'età ma anche perché probabilmente l'assetto biologico pediatrico si differenzia da quello dell'adulto.³¹

Conclusioni

Trombosi, emorragie e turbe a carico del microcircolo sono gli eventi più frequenti e in grado di condizionare quantità e qualità di vita dei pazienti. Le complicanze più prettamente ematologiche (evoluzione e/o trasformazione) sono infatti piuttosto rare. L'impiego di farmaci citotossici, potenzialmente leucemogeni, o comunque dotati di altri effetti collaterali, deve trovare un favorevole rapporto costo-beneficio e ciò spiega l'esigenza di limitare il loro impiego ai casi per i quali sia stata documentata l'esistenza di un elevato rischio trombotico-emorragico. Accanto ad alcuni fattori di rischio a valenza prognostica consolidata (età avanzata, precedenti eventi vascolari, numero di piastrine molto elevato, altre situazioni trombofiliche) si sta dunque orientando la ricerca sul valore prognostico di altri fattori ematologici quali il livello di ematocrito e il numero di leucociti circolanti nonché nuovi parametri biologici quali la clonalità, la mutazione del JAK2, l'espressione di PRV1, *c-mpl*.

Considerata la difficoltà di misurare il reale peso prognostico di tali fattori con studi prospettici controllati che richiederebbero grandi numeri, si è ritenuto conveniente, almeno per ciò che riguarda le aree della mielofibrosi e della trombocitemia, optare per l'attivazione di registri nazionali dedicati quali il RIMM (Registro Italiano Mielofibrosi) ed il più recente RIT (Registro Italiano Trombocitemie). Il RIT, intendendo correlare eventi del follow-up e sopravvivenza con i trattamenti attuati e soprattutto con i dati clinici e biologici presenti alla diagnosi, con l'ausilio di specifici Gruppi di Studio sta operando per avere diagnosi validate secondo i criteri WHO e corredate dei più recenti parametri biologici (centralizzazione delle biopsie ossee e di altro materiale biologico).

Bibliografia

1. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, Villamor N, Colomer D, Cervantes F. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanism for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with JAK2 mutational status. *Hematologica* 2006; 91:169-175
2. Balduini CL, Bertolino G, Noris P, Piletta GC. Platelet aggregation in platelet-rich plasma and whole blood in 120 patients with myeloproliferative disorders. *Am J Clin Pathol.* 1991 Jan;95(1):82-6.
3. Barbui T, Barosi G, Grossi A, Gugliotta L, Liberato LN, Marchetti M, Mazzucconi MG, Rodeghiero F, Tura S. Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Ita-

- lian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2004 Feb;89(2):215-32.
- 4 Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, Vassiliou GS, Bench AJ, Boyd EM, Curtin N, Scott MA, Erber WN, Green AR; Cancer Genome Project. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*. 2005 Mar 19-25;365(9464):1054-61. Erratum in: *Lancet*. 2005 Jul 9-15;366(9480):122..
 - 5 Bazzan M, Tamponi G, Schinco P, Vaccarino A, Foli C, Gallone G, Pileri A. Thrombosis-free survival and life expectancy in 187 consecutive patients with essential thrombocythemia. *Ann Hematol*. 1999 Dec;78(12):539-43.
 - 6 Besses C, Cervantes F, Pereira A, Florensa L, Sole F, Hernandez-Boluda JC, Woessner S, Sans-Sabrafen J, Rozman C, Montserrat E. Major vascular complications in essential thrombocythemia: a study of the predictive factors in a series of 148 patients. *Leukemia*. 1999 Feb;13(2):150-4.
 - 7 Budde U, van Genderen PJ. Acquired von Willebrand disease in patients with high platelet counts. *Semin Thromb Hemost*. 1997;23(5):425-31.
 - 8 Chiusolo P, La Barbera EO, Laurenti L, Piccirillo N, Sora F, Giordano G, Urbano R, Mazzuconi MG, De Stefano V, Leone G, Sica S. Clonal hemopoiesis and risk of thrombosis in young female patients with essential thrombocythemia. *Exp Hematol*. 2001 Jun;29(6):670-6.
 - 9 Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, Vestri O, Galli M, Rodeghiero F, Barbui T. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med*. 1995 Apr 27;332(17):1132-6.
 - 10 Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol*. 1990 Mar;8(3):556-62.
 - 11 Denninger MH, Chait Y, Casadevall N, Hillaire S, Guillin MC, Bezaud A, Erlinger S, Briere J, Valla D. Cause of portal or hepatic venous thrombosis in adults: the role of multiple concurrent factors. *Hepatology*. 2000 Mar;31(3):587-91.
 - 12 Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 2004 Feb;128(3):275-90.
 - 13 Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, Vignoli A, Licini M, Balicco M, Manarini S, Finazzi G, Cerletti C, Barbui T. Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood*. 2000 Dec 15;96(13):4261-6.
 - 14 Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Anti-beta 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2003 Oct 15;102(8):2717-23. Epub 2003 Jun 19.
 - 15 Gisslinger H, Rodeghiero F, Ruggeri M, Heis-Vahidi Fard N, Mannhalter C, Papagiannopoulos M, Rintelen C, Lalouschek W, Knobl P, Lechner K, Pabinger I. Homocysteine levels in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 1999 May;105(2):551-5.
 - 16 Gugliotta L, Marchioli R, Fiacchini M, Vianelli N, Baravelli S, Valdre L. Epidemiological, diagnostic therapeutic and prognostic aspects of essential thrombocythemia in a retrospective study of GIMMC group in two thousand patients. *Blood*. 1997; 90:348A
 - 17 Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, Wilkins BS, van der Walt JD, Reilly JT, Grigg AP, Revell P, Woodcock BE, Green AR; United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005 Jul 7;353(1):33-45.
 - 18 Jensen MK, de Nully Brown P, Lund BV, Nielsen OJ, Hasselbalch HC. Increased circulating platelet-leukocyte aggregates in myeloproliferative disorders is correlated to previous thrombosis, platelet activation and platelet count. *Eur J Haematol*. 2001 Mar;66(3):143-51.
 - 19 Jensen MK, de Nully Brown P, Lund BV, Nielsen OJ, Hasselbalch HC. Increased platelet activation and abnormal membrane glycoprotein content and redistribution in myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 2000 Jul;110(1):116-24.
 - 20 Landolfi R, Ciabattoni G, Patrignani P, Castellana MA, Pogliani E, Bizzi B, Patrono C. Increased thromboxane biosynthesis in patients with polycythemia vera: evidence for aspirin-suppressible platelet activation in vivo. *Blood*. 1992 Oct 15;80(8):1965-71.
 - 21 Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, Barbui T; European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera Investigators. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med*. 2004 Jan 8;350(2):114-24.
 - 22 Landolfi R, Rocca B, Patrono C. Bleeding and thrombosis in myeloproliferative disorders: mechanisms and treatment. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1995 Oct;20(3):203-22.
 - 23 Lengfelder E, Hochhaus A, Kronawitter U, Hoche D, Queisser W, Jahn-Eder M, Burkhardt R, Reiter A, Ansari H, Hehlmann R. Should a platelet limit of 600 x 10⁹/l be used as a diagnostic criterion in essential thrombocythaemia? An analysis of the natural course including early stages. *Br J Haematol*. 1998 Jan;100(1):15-23.
 - 24 Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, Boggon TJ, Wlodarska I, Clark JJ, Moore S, Adelsperger J, Koo S, Lee JC, Gabriel S, Mercher T, D'Andrea A, Frohling S, Dohner K, Marynen P, Vandenberghe P, Mesa RA, Tefferi A, Griffin JD, Eck. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*. 2005 Apr;7(4):387-97.
 - 25 Michiels JJ, Abels J, Steketee J, van Vliet HH, Vuzevski VD. Erythromelalgia caused by platelet-mediated arteriolar inflammation and thrombosis in thrombocythemia. *Ann Intern Med*. 1985 Apr;102(4):466-71.
 - 26 Milano V, Gabrielli S, Rizzo N, Vianelli N, Gugliotta L, Orsini LF, Baravelli S, Pilu GL, Bovicelli L. Successful treatment of essential thrombocythemia in a pregnancy with recombinant interferon-alpha 2a. *J Matern Fetal Med*. 1996 Mar-Apr;5(2):74-8.
 - 27 No authors listed. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. Gruppo Italiano Studio Policitemia. *Ann Intern Med*. 1995 Nov 1;123(9):656-64.
 - 28 Pareti FI, Gugliotta L, Mannucci L, Guarini A, Mannucci PM. Biochemical and metabolic aspects of platelet dysfunction in chronic myeloproliferative disorders. *Thromb Haemost*. 1982 Apr 30;47(2):84-9.
 - 29 Passamonti F, Lazzarino M. treatment of polycythaemia vera and essential thrombocythemia: the role of pipobroman. *Leuk Lymphoma*. 2003 sep; 44 (9):1483-8
 - 30 Pearson TC. The risk of thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Semin Oncol*. 2002 Jun;29(3 Suppl 10):16-21.
 - 31 Randi ML, Putti MC, Pacquola E, Luzzato G, Zanesco L, Fabris F. Normal thrombopoietin and its receptor (c-mpl) genes in children with essential thrombocythemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2005 Jan;44(1):47-50.
 - 32 Randi ML, Stocco F, Rossi C, Tison T, Girolami A. Thrombosis and hemorrhage in thrombocytosis: evaluation of a large cohort of patients (357 cases). *J Med*. 1991;22(4-5):213-23.
 - 33 Regev A, Stark P, Blickstein D, Lahav M. Thrombotic complications in essential thrombocythemia with relatively low platelet counts. *Am J Hematol*. 1997 Nov;56(3):168-72.
 - 34 Ruggeri M, Finazzi G, Tosi A, Riva S, Rodeghiero F, Barbui T. No treatment for low-risk thrombocythaemia: results from a prospective study. *Br J Haematol*. 1998 Dec;103(3):772-7.
 - 35 Ruggeri M, Gisslinger H, Tosi A, Rintelen C, Mannhalter C, Pabinger I, Heis N, Castaman G, Missiaglia E, Lechner K, Rodeghiero F. Factor V Leiden mutation carrier status and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol*. 2002 Sep;71(1):1-6.
 - 36 Schafer AL. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood*. 2006 Feb 16
 - 37 Tefferi A, Mesa RA, Nagorney DM, Schroeder G, Silverstein MN. Splenectomy in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 223 patients. *Blood*. 2000 Apr 1;95(7):2226-33.
 - 38 van Genderen PJ, Leenknegt H, Michiels JJ. The paradox of bleeding and thrombosis in thrombocythemia: is von Willebrand factor the link? *Semin Thromb Hemost*. 1997;23(4):385-9.
 - 39 van Genderen PJ, Lucas IS, van Strik R, Vuzevski VD, Prins FJ, van Vliet HH, Michiels JJ. Erythromelalgia in essential thrombocythemia is characterized by platelet activation and endothelial cell damage but not by thrombin generation. *Thromb Haemost*. 1996 Sep;76(3):333-8
 - 40 Wehmeier A, Fricke S, Scharf RE, Schneider W. A prospective study of haemostatic parameters in relation to the clinical course of myeloproliferative disorders. *Eur J Haematol*. 1990 Oct;45(4):191-7.