

FRANCESCO PASSAMONTI
ELISA RUMI
CHIARA ELENA
MARIO CAZZOLA
MARIO LAZZARINOClinica Ematologica, IRCCS
Policlinico San Matteo, Università
di Pavia, Italia

La Trombocitemia essenziale (TE) è una malattia mieloproliferativa cronica con un'età mediana di insorgenza superiore ai 60 anni.¹ Vi sono però anche casi cosiddetti giovanili con età alla diagnosi inferiore ai 50 anni.² La TE è una malattia rara con incidenza di 2,5 casi x 100.000 persone/anno. Uno studio recente del nostro gruppo ha dimostrato su un'ampia casistica seguita per un tempo mediano superiore a 10 anni che l'aspettativa di vita dei pazienti affetti da TE non è diversa da quella della popolazione generale.³

La patogenesi della TE non è ancora del tutto definita, ma recentemente la scoperta della mutazione V617F del gene JAK2 ha chiarito alcuni aspetti patogenetici.⁴⁻⁶ La mutazione ha anche un ruolo nell'evoluzione della malattia partecipando alla mobilitazione di precursori CD34-positivi,⁷ fenomeno biologico che caratterizza la trasformazione della TE in mielofibrosi (MF).⁸ La TE è una malattia biologicamente eterogenea, come dimostrato dagli studi sulla clonalità (TE clonali e TE policlonali)^{9,10} e dagli studi sull'espressione di PRV-1.¹¹⁻¹⁴

Clinicamente, è caratterizzata da un elevato rischio vascolare sia all'esordio che nel follow-up mentre è infrequente l'evoluzione in mielofibrosi o in leucemia acuta.³

La scelta del programma di terapia in un paziente con TE deve tener conto dei fattori di rischio vascolare. Attualmente i farmaci disponibili per la cura della TE sono l'idrossiurea (HU), il pipobromano (PB), l'interferone alfa (IFN), l'anagrelide (AA).

Influenza della terapia sulla evoluzione naturale della malattia

La terapia della trombocitemia essenziale ha lo scopo di ridurre la conta piastrinica ad un valore inferiore a $400 \times 10^9/L$ riducendo così il rischio vascolare.

In un nostro studio su 435 pazienti il rischio cumulativo di trombosi a 15 anni è il 17%. Gli eventi trombotici sono stati l'infarto del miocardio (2%) l'angina pectoris (<1%), lo stroke cerebrale (2%), il TIA (3%), l'embolia polmonare (1%), l'arteriopatia

periferica (1%), la trombosi venosa profonda (2%), la tromboflebite superficiale (4%). La storia di trombosi alla diagnosi è il fattore prognostico più importante per la mortalità.³

L'emorragia è un evento piuttosto raro nella TE. Le manifestazioni cliniche riguardano la cute e le mucose e comprendono ecchimosi, epistassi, menorragie, e gengivorragie. Le emorragie gastrointestinali sono rare, ma possono essere molto serie. Il rischio emorragico aumenta con l'aumentare della conta piastrinica (superiore a $1.000 \times 10^9/L$ e soprattutto superiore a $1.500 \times 10^9/L$). La spiegazione di tale fenomeno è legata alla riduzione dei multimeri del fattore von Willebrand consensualmente all'incremento della conta piastrinica. Infatti la normalizzazione del numero delle piastrine per effetto della terapia mielosoppressiva induce una normalizzazione del fattore von Willebrand ed una normalizzazione del quadro clinico. La terapia con farmaci antiaggreganti può peggiorare i sintomi emorragici dei pazienti con piastrinosi molto elevata.^{15,16}

L'evoluzione in mielofibrosi è un evento tardivo.¹⁷ Si deve sospettare in presenza di un incremento della splenomegalia, associato a calo dell'emoglobina, aumento del numero di cellule CD34-positivo circolanti. Il rischio di mielofibrosi è stimato del 4% a 15 anni e l'incidenza di 1,6 casi per 1.000 persone/anno.³ Uno studio randomizzato francese in pazienti con policitemia vera ha dimostrato che i pazienti trattati con idrossiurea hanno un rischio maggiore di evoluzione in mielofibrosi rispetto a quelli trattati con pipobromano.¹⁸

Nella nostra serie di pazienti trattati con idrossiurea (38% dei casi) o pipobromano (43% dei casi), l'incidenza di leucemia acuta è stata di 1,2 casi x 1.000 pazienti/anno con un rischio a 15 anni del 2%.³ La leucemia può insorgere acutamente o dopo una fase di mielofibrosi di durata variabile. Nelle leucemie acute secondarie a TE o a PV la prognosi è grave, con sopravvivenza mediana dalla diagnosi inferiore ai tre mesi.^{11,19}

Tabella 1. Categorie di rischio nella trombocitemia essenziale.

Fattori	Categorie di rischio		
	Basso	Intermedio	Alto
Età > 60 anni	no	no	si
Età 40-60 anni	no	si	-
Pregresse trombosi e/o emorragie	no	no	si
Piastrine $\geq 1.500 \times 10^9/L$	no	no	si
Fattori di rischio cardiovascolare	no	si	-

Fattori di rischio cardiovascolare: ipertensione, ipercolesterolemia, diabete, fumo.

Nonostante le possibili complicanze, un paziente con TE ha un'aspettativa di vita sovrapponibile a quella della popolazione generale (Figura 1) ed una sopravvivenza globale a 15 anni superiore al 70%.³

Fattori di rischio

L'età ed una precedente storia di trombosi sono risultati i principali fattori di rischio trombotico in uno studio retrospettivo su 100 pazienti.²⁰ Un'età superiore a 60 anni è stata identificata come fattore di rischio per complicanze aterotrombotiche in una serie di 148 pazienti.²¹ Un ulteriore studio ha dimostrato che le pregresse trombosi espongono il paziente ad un maggior rischio di successivi eventi e che una conta piastrinica superiore a $1.500 \times 10^9/L$ espone il paziente ad un maggior rischio vascolare. Nel nostro studio su 435 pazienti, le pregresse trombosi rappresentano il fattore di rischio più importante per la sopravvivenza. Anche alcuni parametri biologici sono stati correlati con il rischio trombotico. Infatti i pazienti con mielopoiesi clonale sembrano avere un maggior rischio vascolare.^{10,22} Tuttavia, quando lo stato della mielopoiesi è stato correlato alla trombosi in analisi multivariata assieme ad altri parametri clinici di rischio vascolare, solamente l'età avanzata ha costituito un fattore di rischio per le trombosi.²³ Anche *PRV-1* è stato correlato positivamente con il rischio trombotico,²⁴ ma nel nostro studio su 235 pazienti studiati per *PRV-1* (111 con TE) non abbiamo trovato una correlazione significativa tra l'espressione di *PRV-1* e le complicanze vascolari. Le correlazioni tra la mutazione V617F del gene *JAK 2* e le trombosi è discussa in un altro articolo di questo supplemento.

Tra i fattori di rischio cardiovascolare, presenti nel 40% circa dei pazienti alla diagnosi, sono stati studiati l'ipertensione, l'ipercolesterolemia, il fumo e il diabete. Tutti possono influire sul rischio vascolare, ma vi è differenza nella rilevanza prognostica di questi parametri tra i diversi studi e il dato non si può considerare definitivo.^{20,21,25}

Quanto alla trombofilia familiare, sembrano correlare con un aumentato rischio trombotico: la presenza di anticorpi antifosfolipidi, la mutazione del fatto-

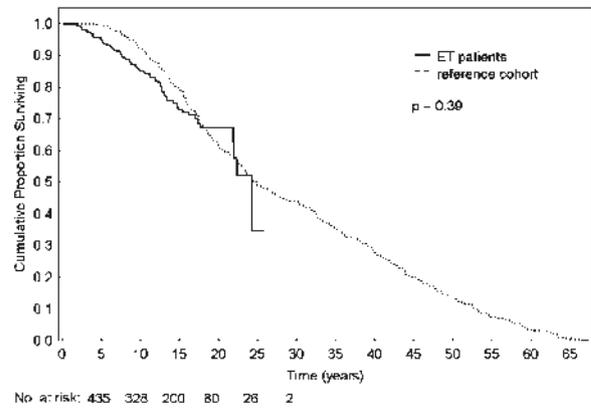


Figura 1. Aspettativa di vita dei pazienti con trombocitemia essenziale. Confronto della sopravvivenza di una coorte di 435 pazienti con trombocitemia essenziale con l'aspettativa di vita della popolazione generale italiana a parità di età, sesso e anno di calendario. L'aspettativa di vita dei pazienti con TE non differisce statisticamente da quella della popolazione generale (p=0.39).³

re V Leiden, la riduzione di proteina C ed S.²⁶ Uno studio recente su 60 pazienti con TE ha definito l'incidenza dei fattori trombofilici (fattore V Leiden, mutazione G20210A del gene della protrombina, mutazione del gene della metilentetraidrofolato redattasi, iperomocisteinemia, proteina C ed S, antitrombina III, anticorpi lupici e antifosfolipidi) nella TE e la loro correlazione con le trombosi. Sono risultati significativamente più frequenti nella TE rispetto alla popolazione di controllo la mutazione G20210A della protrombina e la proteina S. Sebbene le condizioni trombofiliche siano state riscontrate in circa un terzo dei pazienti, non vi è una correlazione diretta tra la presenza di tali fattori e la trombosi.²⁷

Allo stato attuale, vi è accordo internazionale nel considerare solamente l'età superiore a 60 anni, la storia di eventi vascolari (emorragia o trombosi) e la conta piastrinica superiore a $1.500 \times 10^9/L$ come fattori di rischio vascolare. I pazienti vengono stratificati in basso ed alto rischio in base alla assenza o presenza di tali fattori. Una terza categoria, a rischio intermedio comprende i pazienti di età tra 40 e 60 anni o con fattori di rischio cardiovascolare (Tabella 1).

Quando iniziare un trattamento citoriduttivo

Per i pazienti con TE a basso rischio la scelta terapeutica è l'osservazione senza farmaci citoriduttivi. Questa scelta è supportata da un studio prospettico su 65 pazienti affetti da TE a basso rischio (età < 60 anni, non trombosi né emorragie, piastrine < $1.500 \times 10^9/L$), il cui rischio vascolare è stato confrontato con quello di una popolazione di controllo. Dopo un tempo mediano di 4,1 anni, l'incidenza di trombosi era 1,9 e 1,5/100 persone/anno per i pazienti e i controlli rispettivamente, senza una differenza significativa.²⁸ Il dato è stato confermato da un ulteriore studio su 28

pazienti con meno di 40 anni.²⁹ Nel paziente a basso rischio noi consigliamo l'aspirina a basse dosi con attento monitoraggio clinico ed ematologico. In caso di passaggio di categoria il paziente riceverà un trattamento citoriduttivo.

Per quanto riguarda il paziente a rischio intermedio, non vi è evidenza scientifica che debba essere considerato in modo differente dal paziente a basso rischio, ma l'atteggiamento deve essere particolarmente prudente e la scelta del trattamento patient-tailored.

Il paziente ad alto rischio deve ricevere un trattamento citoriduttivo fin dalla diagnosi. Tale scelta è giustificata da uno studio prospettico che ha confrontato il rischio vascolare dei pazienti con TE ad alto rischio randomizzati a ricevere terapia citoriduttiva (idrossiurea) o sola osservazione clinica.³⁰ La sopravvivenza libera da trombosi è risultata significativamente differente tra i due gruppi. Lo studio ha dimostrato che la terapia citoriduttiva riduce il rischio di trombosi dei pazienti con TE ad alto rischio.

Quali farmaci impiegare

Idrossiurea

L'idrossiurea (HU) è il farmaco maggiormente impiegato nella terapia della trombocitemia essenziale ad alto rischio. Il farmaco è somministrato per os alla dose iniziale di 500-1.500 mg al giorno. Non vengono consigliate dosi superiori a 2.000 mg al giorno. L'HU è molto efficace: circa l'80-90% dei pazienti ottiene una risposta ematologica completa (piastrine inferiori a $400 \times 10^9/L$) in 2-3 mesi,^{31,32} e tutti i pazienti ottengono una conta inferiore a $600 \times 10^9/L$.³⁰ Il farmaco richiede un monitoraggio della tossicità ematologica con valutazione mensile dell'emocromo fino all'ottenimento della risposta ed in seguito ogni 2 mesi. L'idrossiurea determina un progressivo incremento del volume eritrocitario. Altri effetti collaterali sono le alterazioni dermatologiche, le ulcere cutanee (specie malleolari) e delle mucose.³³

Un problema molto discusso è la leucemogenicità dell'HU. Dati di citogenetica correlano la trasformazione in leucemia acuta dei pazienti trattati con HU alla delezione del braccio corto del cromosoma 17 (17p-), suggerendo l'ipotesi che HU possa avere un ruolo favorente la trasformazione leucemica nella TE.³⁴ Recentemente è stata descritta l'anomalia 17p- in un paziente con leucemia secondaria a TE che non aveva ricevuto alcun trattamento citoriduttivo prima dell'evoluzione leucemica.³⁵ L'associazione 17p- e leucemia indotta da HU non può quindi considerarsi definitiva. Gli studi clinici su pazienti affetti da TE trattati con HU riportano una prevalenza di leucemia acuta compresa fra 3% e 5%. In particolare, lo studio di Murphy *et al.*³⁶ ha documentato una frequenza di leucemia acuta del 4,5%, Sterkers *et al.*³⁴ del 3,5%, Finazzi *et al.*²⁸ del 3,5%,

Mavrogianni *et al.*³⁷ del 3,3%. In conclusione, dall'analisi dei dati pubblicati si desume che i pazienti trattati con HU possono sviluppare la leucemia acuta in una piccola proporzione, e che tale evoluzione è un evento per lo più tardivo.

Pipobromano

Il pipobromano (PB) è un farmaco alchilante commercializzato ed impiegato in Italia ed in Francia. Il farmaco è somministrato per os alla dose iniziale di 25-50 mg al giorno. Non è consigliata una dose superiore a 75 mg al giorno. Il pipobromano è molto efficace sulla piastrinosi. Il 90-95% dei pazienti ottiene una risposta ematologica completa (piastrine inferiori a $400 \times 10^9/L$) in 3-6 mesi.³⁸⁻⁴⁰ Il farmaco richiede un monitoraggio con valutazione mensile dell'emocromo fino alla risposta, in seguito ogni 2 mesi. Il rischio di tossicità ematologica (ipo-apalsia midollare) è basso. Alcuni *case-report* sottolineano la possibile natura autoimmune (non farmaco-relata) di tale evento.⁴¹ Altri effetti collaterali minori sono di tipo gastroenterico.

Come per l'HU, un problema molto discusso è la leucemogenicità del PB. Il pipobromano è considerato un farmaco alchilante e quindi potenzialmente leucemogeno, ma in realtà il suo meccanismo di azione non è interamente riconducibile a quello di un alchilante. Il PB è in uso da molti anni e vi sono quindi studi clinici con lungo follow-up che consentono di definire la prevalenza ed il rischio di trasformazione in leucemia acuta. La nostra esperienza si basa su una serie di 118 pazienti con TE ad alto rischio trattati con PB e osservati per un periodo mediano di 10 anni.³⁸ Il rischio di evoluzione in leucemia acuta è stato del 3% a 10 anni e la durata del trattamento con PB non ha influito sul rischio di evoluzione leucemica. Il dato è stato confermato da un ulteriore studio su 164 pazienti.³⁹ Inoltre, uno studio randomizzato francese ha confrontato PB e HU in pazienti affetti da policitemia vera documentando un rischio di leucemia acuta sovrapponibile tra i due farmaci ed un minor rischio di trasformazione in mielofibrosi nei pazienti trattati con PB.¹⁸ Un nostro studio su 33 pazienti giovani (< 50 anni) con TE osservati per un periodo mediano di 16 anni ha documentato un solo caso di leucemia acuta in un paziente che aveva avuto lunga esposizione lavorativa a sostanze chimiche.²

In uno studio retrospettivo su 435 pazienti con TE, abbiamo confrontato l'incidenza di evoluzione in leucemia e mielofibrosi in 151 pazienti trattati solo con PB ed in 133 pazienti trattati solo con HU osservati per un tempo mediano superiore a 10 anni. L'incidenza di leucemia era $1,2 \times 1000$ persone/anno nei pazienti trattati con PB e $1,7 \times 1000$ persone/anno nei pazienti trattati con HU, senza differenza statisticamente signifi-

cativa tra i due trattamenti. L'incidenza di mielofibrosi era 1,2×1000 persone/anno nei pazienti trattati con PB e 1,7×1000 persone/anno nei pazienti trattati con HU, senza differenza statisticamente significativa tra i due trattamenti. Seppure retrospettivo, lo studio mostra che i pazienti trattati con PB o con HU come agente singolo non hanno differenze significative di rischio leucemico, confermando il dato riportato nella policitemia vera da uno studio randomizzato prospettico francese.¹⁸

In conclusione, dall'analisi di questo complesso di dati si può desumere che nei pazienti trattati con PB il rischio di sviluppare una leucemia acuta è relativamente basso.

Interferone

L'interferone- α ricombinante (α -IFN) viene somministrato alla dose di 3 MU al giorno fino all'ottenimento della risposta. La dose di mantenimento viene modulata sulla base della risposta ematologica. Circa il 75-85% dei pazienti ottiene una riduzione della conta piastrinica ($<600 \times 10^9/L$) in 2-3 mesi. L'entità e la rapidità della risposta sono dose-dipendenti.⁴²⁻⁴⁸ Per una maggior tollerabilità del farmaco è indicata la dose-escalation. Durante la terapia con α -IFN, l'effetto collaterale più frequente è la flu-like syndrome, che tende progressivamente ad attenuarsi e che si avvantaggia della contemporanea assunzione di paracetamolo. Altri effetti collaterali clinicamente rilevanti sono l'insorgenza di patologia tiroidea, per cui è consigliato un monitoraggio degli ormoni tiroidei, e la patologia psichiatrica con induzione di stati depressivi spesso gravi.⁴⁹ Circa il 20% dei pazienti interrompe la cura per effetti collaterali. Non vi sono a disposizione studi con lungo follow-up per definire il rischio di trasformazione leucemica nei pazienti trattati con solo interferone.

Una diversa formulazione dell'interferone, il Peg-interferone, è in grado di allungare l'emivita plasmatica del farmaco. Si somministra per via intramuscolare in unica dose settimanale variabile da 25 a 100 μ g. I pochi studi pubblicati finora documentano che il farmaco è efficace con profilo di tossicità sovrapponibile all'interferone standard.^{50,51} Uno studio prospettico italiano su 90 pazienti con TE, i cui dati sono stati preliminarmente presentati all'ultimo *ASH meeting*, ha documentato una risposta ematologica completa nel 79% dei pazienti ancora in trattamento ad un anno; 18 pazienti (20%) non hanno terminato lo studio per effetti collaterali.

Anagrelide

L'anagrelide (AA) è un composto imidazo-chinazolinico che viene somministrato per os a dosi variabili tra 0,5 e 2 mg al giorno. È consigliata una *dose esca-*

lation partendo da 0,5 mg ogni 12 ore. Non è consigliata una dose superiore a 3,5 mg al giorno. Uno studio preliminare presentato all' *ASH Meeting* nel 2002 dell'*Anagrelide Study Group* su un'ampia serie di pazienti ha riportato una risposta nel 73% dei pazienti con TE. Altri studi hanno riportato una risposta variabile dal 50% al 67%.^{52,53} Uno studio con lungo follow-up (tempo mediano 10,7 anni) su pazienti di età inferiore a 50 anni ha confermato l'efficacia di AA nel controllo della piastrinosi ma ha evidenziato un elevato rischio di complicanze vascolari (pari al 20% di trombosi ed al 20% di emorragie).⁵⁴ Inoltre, il 24% dei pazienti ha presentato una riduzione dell'emoglobina di almeno 3 g/dL. Valutando tutti gli studi pubblicati su AA, si desume che il problema principale del farmaco sono gli effetti collaterali, di cui riportiamo i principali con la relativa frequenza: cefalea (40-50%), palpitazioni (20-70%); diarrea (20-30%), astenia (20-30%), edema-ritenzione idrica (20%), nausea (10-35%), dolori addominali (10-20%), tachicardia (10%). Una quota variabile dal 15% al 40% dei pazienti in trattamento con AA sospende il farmaco per gli effetti collaterali.^{52,55} Anagrelide è controindicato per il trattamento della TE in gravidanza, in quanto le piccole dimensioni della molecola consentono il superamento della barriera placentare con possibile danno teratogeno sul feto.

Più recentemente (2005), è stato pubblicato lo studio prospettico del *Medical Research Council* su 809 pazienti con TE ad alto rischio randomizzati a ricevere idrossiurea e aspirina o anagrelide e aspirina.⁵⁶ Dopo un tempo mediano di 39 mesi, i pazienti trattati con AA hanno avuto un numero significativamente maggiore di trombosi arteriose, di emorragie severe, e di trasformazione in mielofibrosi, ed un numero significativamente minore di trombosi venose. La percentuale di pazienti che non hanno completato il trattamento assegnato era maggiore nel gruppo anagrelide.

In conclusione, anagrelide non è il farmaco di prima scelta nei pazienti con TE ed i pazienti in trattamento necessitano di monitoraggio clinico molto attento. Prima di iniziare AA il paziente deve essere sottoposto a completa valutazione cardiologica.

Raccomandazioni per il trattamento

La Figura 2 riassume le linee di trattamento seguite dalla Clinica Ematologica di Pavia per la trombocitemia essenziale. Tutti i pazienti devono essere informati sulla necessità di attenersi ad uno stile di vita atto a ridurre il rischio vascolare. Vi è consenso internazionale nel trattare i pazienti a basso rischio vascolare con la sola aspirina a basse dosi. I pazienti ad alto rischio vascolare dovrebbero invece ricevere un trattamento mielosoppressivo. La terapia di prima linea accettata a livello internazionale è l'idrossiurea. La nostra espe-

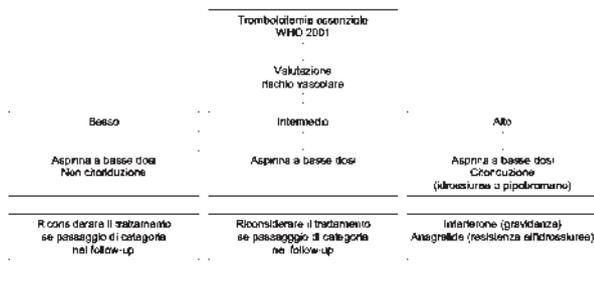


Figura 2. Raccomandazioni per il trattamento dei pazienti con trombocitemia essenziale.

rienza indica che il pipobromano è equivalente in termini di efficacia e complicanze a lungo termine. Interferone o anagrelide possono essere proposti in alternativa in particolari situazioni cliniche. Dato che nella grande maggioranza dei pazienti la malattia è ben controllata da idrossiurea o pipobromano senza effetti collaterali, il numero di pazienti ad alto rischio che necessitano di una terapia di seconda linea è limitato.

La categoria di pazienti a rischio vascolare intermedio è ancora oggetto di discussione. Vi è accordo sul trattamento antiaggregante con aspirina a basse dosi. Alcuni pazienti con fattori di rischio cardiovascolare possono necessitare di trattamento citoriduttivo. Sebbene qualche ricercatore proponga interferone o anagrelide,⁵⁷ occorre cautela anche in considerazione del peggioramento della qualità di vita che potrebbe associarsi all'uso di tali farmaci specie nei pazienti di età meno giovane. I pazienti con rischio vascolare basso e intermedio devono essere monitorati per le complicanze. Il passaggio alla categoria di rischio superiore impone un cambiamento dell'approccio terapeutico.

Bibliografia

- Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*. 2002;100:2292-2302
- Passamonti F, Rumi E, Malabarba L, Arcaini L, Orlandi E, Brusamolino E, Pascutto C, Cazzola M, Lazzarino M. Long-term follow-up of young patients with essential thrombocythemia treated with pipobroman. *Ann Hematol*. 2004;83:495-497
- Passamonti F, Rumi E, Pungolino E, Malabarba L, Bertazzoni P, Valentini M, Orlandi E, Arcaini L, Brusamolino E, Pascutto C, Cazzola M, Morra E, Lazzarino M. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med*. 2004;117:755-761
- Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, Tichelli A, Cazzola M, Skoda RC. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005;352:1779-1790
- 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, Vandenbergh P, Mesa RA, Tefferi A, Griffin JD, Eck MJ, Sellers WR, Meyerson M, Golub TR, Lee SJ, Gilliland DG. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*. 2005;7:387-397
- James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, Garcon L, Raslova H, Berger R, Bennaceur-Griscelli A, Villeval JL, Constantinescu SN, Casadevall N, Vainchenker W. A unique clon-

- al JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythemia vera. *Nature*. 2005;434:1144-1148
- Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Della Porta MG, Boveri E, Pascutto C, Vanelli L, Arcaini L, Burcheri S, Malcovati L, Lazzarino M, Cazzola M. Relation between JAK2 (V617F) mutation status, granulocyte activation and constitutive mobilization of CD34-positive cells into peripheral blood in myeloproliferative disorders. *Blood*. 2005
 - Passamonti F, Vanelli L, Malabarba L, Rumi E, Pungolino E, Malcovati L, Pascutto C, Morra E, Lazzarino M, Cazzola M. Clinical utility of the absolute number of circulating CD34-positive cells in patients with chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica*. 2003;88:1123-1129
 - el-Kassar N, Hetet G, Briere J, Grandchamp B. Clonality analysis of hematopoiesis in essential thrombocythemia: advantages of studying T lymphocytes and platelets. *Blood*. 1997;89:128-134
 - Chiusolo P, La Barbera EO, Laurenti L, Piccirillo N, Sora F, Giordano G, Urbano R, Mazzucconi MG, De Stefano V, Leone G, Sica S. Clonal hemopoiesis and risk of thrombosis in young female patients with essential thrombocythemia. *Exp Hematol*. 2001;29:670-676
 - Passamonti F, Pietra D, Malabarba L, Rumi E, Della Porta MG, Malcovati L, Bonfichi M, Pascutto C, Lazzarino M, Cazzola M. Clinical significance of neutrophil CD177 mRNA expression in Ph-negative chronic myeloproliferative disorders. *Br J Haematol*. 2004;126:650-656
 - Passamonti F, Pietra D, Rumi E, Arcaini L, Della Porta MG, Malcovati L, Pascutto C, Lazzarino M, Cazzola M. PRV-1 and its correlation with treatments and disease status in 210 patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Leukemia*. 2005;19:888-889
 - Tefferi A, Lasho TL, Wolanskyj AP, Mesa RA. Neutrophil PRV-1 expression across the chronic myeloproliferative disorders and in secondary or spurious polycythemia. *Blood*. 2004;103:3547-3548
 - Temerinac S, Klippel S, Strunck E, Roder S, Lubbert M, Lange W, Azemar M, Meinhardt G, Schaefer HE, Pahl HL. Cloning of PRV-1, a novel member of the uPAR receptor superfamily, which is overexpressed in polycythemia rubra vera. *Blood*. 2000;95:2569-2576
 - Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, Barbui T. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med*. 2004;350:114-124
 - van Genderen PJ, Michiels JJ, van der Poel-van de Luytgaarde SC, van Vliet HH. Acquired von Willebrand disease as a cause of recurrent mucocutaneous bleeding in primary thrombocythemia: relationship with platelet count. *Ann Hematol*. 1994;69:81-84
 - Cervantes F, Alvarez-Larran A, Talarn C, Gomez M, Montserrat E. Myelofibrosis with myeloid metaplasia following essential thrombocythemia: actuarial probability, presenting characteristics and evolution in a series of 195 patients. *Br J Haematol*. 2002;118:786-790
 - Najean Y, Rain JD. Treatment of polycythemia vera: the use of hydroxyurea and pipobroman in 292 patients under the age of 65 years. *Blood*. 1997;90:3370-3377
 - Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, Castagnola C, Lunghi M, Bernasconi P, Giovanni Della Porta M, Colombo N, Pascutto C, Cazzola M, Lazzarino M. Leukemic transformation of polycythemia vera: a single center study of 23 patients. *Cancer*. 2005;104:1032-1036
 - Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol*. 1990;8:556-562
 - 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;13:150-154
 - Harrison CN, Gale RE, Machin SJ, Linch DC. A large proportion of patients with a diagnosis of essential thrombocythemia do not have a clonal disorder and may be at lower risk of thrombotic complications. *Blood*. 1999;93:417-424
 - Shih LY, Lin TL, Lai CL, Dunn P, Wu JH, Wang PN, Kuo MC, Lee LC. Predictive values of X-chromosome inactivation patterns and clinicohematologic parameters for vascular complications in female patients with essential thrombocythemia. *Blood*. 2002;100:1596-1601
 - Goerttler PL, Marz E, Johansson PL, Andreasson B, Kutti J, Moliterno AR, Marchioli R, Spivak JL, Pahl HL. Thrombotic and bleeding complications in four subpopulations of patients with essential thrombocythemia defined by c-Mpl protein expression and PRV-

- 1 mRNA levels. *Haematologica*. 2005;90:851-853
25. Jantunen R, Juvonen E, Ikkala E, Oksanen K, Anttila P, Ruutu T. The predictive value of vascular risk factors and gender for the development of thrombotic complications in essential thrombocythemia. *Ann Hematol*. 2001;80:74-78
 26. Ruggeri M, Gisslinger H, Tosetto A, Rintelen C, Mannhalter C, Pabinger I, Heis N, Castaman G, Missiaglia E, Lechner K, Rodeghiero F. Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol*. 2002;71:1-6
 27. Kornblüht LI, Heller PG, Correa G, Castanon M, Genoud V, Vassal-lu P, Sarano J, Kordich L, Molinas FC. Associated thrombophilic defects in essential thrombocythaemia: their relationship with clinical manifestations. *Thromb Res*. 2003;112:131-135
 28. Ruggeri M, Finazzi G, Tosetto A, Riva S, Rodeghiero F, Barbui T. No treatment for low-risk thrombocythaemia: results from a prospective study. *Br J Haematol*. 1998;103:772-777
 29. Randi ML, Luzzatto G, Fabris F. Low-risk essential thrombocythaemia in patients younger than 40. *Br J Haematol*. 1999;104:929
 30. 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;332:1132-1136
 31. van Genderen PJ, Michiels JJ. Primary thrombocythemia: diagnosis, clinical manifestations and management. *Ann Hematol*. 1993;67:57-62
 32. Fenaux P, Simon M, Caulier MT, Lai JL, Goudemand J, Bauters F. Clinical course of essential thrombocythemia in 147 cases. *Cancer*. 1990;66:549-556
 33. Vassallo C, Passamonti F, Merante S, Ardigo M, Nolli G, Mangiacavalli S, Borroni G. Muco-cutaneous changes during long-term therapy with hydroxyurea in chronic myeloid leukaemia. *Clin Exp Dermatol*. 2001;26:141-148
 34. Sterkers Y, Preudhomme C, Lai JL, Demory JL, Caulier MT, Wattel E, Bordessoule D, Bauters F, Fenaux P. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: high proportion of cases with 17p deletion. *Blood*. 1998;91:616-622
 35. Hernandez JA, Florensa L, Sole F, Bosch MA, Espinet B. Acute myeloid leukemia with 17p abnormality in untreated essential thrombocythemia. *Leukemia*. 2001;15:1308
 36. Murphy S, Peterson P, Iland H, Laszlo J. Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Semin Hematol*. 1997;34:29-39
 37. Mavrogianni D, Viniou N, Michali E, Terpos E, Meletis J, Vaiopoulos G, Madzourani M, Pangalis G, Yataganas X, Loukopoulos D. Leukemogenic risk of hydroxyurea therapy as a single agent in polycythemia vera and essential thrombocythemia: N- and K-ras mutations and microsatellite instability in chromosomes 5 and 7 in 69 patients. *Int J Hematol*. 2002;75:394-400
 38. Passamonti F, Malabarba L, Orlandi E, Pascutto C, Brusamolino E, Astori C, Barate C, Canevari A, Corso A, Bernasconi P, Cazzola M, Lazzarino M. Pipobroman is safe and effective treatment for patients with essential thrombocythaemia at high risk of thrombosis. *Br J Haematol*. 2002;116:855-861
 39. De Sanctis V, Mazzucconi MG, Spadea A, Alfo M, Mancini M, Biz-zoni L, Peraino M, Mandelli F. Long-term evaluation of 164 patients with essential thrombocythaemia treated with pipobroman: occurrence of leukaemic evolution. *Br J Haematol*. 2003;123:517-521
 40. Chistolini A, Mazzucconi MG, Ferrari A, la Verde G, Ferrazza G, Dragoni F, Vitale A, Arcieri R, Mandelli F. Essential thrombocythemia: a retrospective study on the clinical course of 100 patients. *Haematologica*. 1990;75:537-540
 41. Triffet A, Straetmans N, Ferrant A. Bone marrow aplasia after pipobroman: an immune-mediated mechanism? *Br J Haematol*. 2001;115:713-714
 42. Gugliotta L, Catani L, Vianelli N, Mattioli Belmonte M, Cascione ML, Bendani M, Fanin R, Michieli MG, Baccarani M, Tura S. [Essential thrombocythemia: therapy with alpha interferons]. *Haematologica*. 1991;76 Suppl 3:374-377
 43. Sacchi S, Tabilio A, Leoni P, Riccardi A, Vecchi A, Messora C, Falzetti F, Rupoli S, Ucci G, Martelli MF. Interferon alpha-2b in the long-term treatment of essential thrombocythemia. *Ann Hematol*. 1991;63:206-209
 44. Kasparu H, Bernhart M, Krieger O, Lutz D. Remission may continue after termination of rIFN alpha-2b treatment for essential thrombocythemia. *Eur J Haematol*. 1992;48:33-36
 45. Lazzarino M, Vitale A, Morra E, Gagliardi A, Bernasconi P, Tor-romeo C, Inverardi D, Burgio VL, Castello A, Bernasconi C, et al. [Role of alpha-interferon in the therapy of essential thrombocythemia]. *Haematologica*. 1990;75 Suppl 4:41-47
 46. Lazzarino M, Vitale A, Morra E, Gagliardi A, Bernasconi P, Tor-romeo C, Inverardi D, Burgio V, Castello A, Bernasconi C, et al. Interferon alpha-2b as treatment for Philadelphia-negative chronic myeloproliferative disorders with excessive thrombocytosis. *Br J Haematol*. 1989;72:173-177
 47. Lengfelder E, Grieshammer M, Hehlmann R. Interferon-alpha in the treatment of essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma*. 1996;22 Suppl 1:135-142
 48. Saba R, Jabbour E, Giles F, Cortes J, Talpaz M, O'Brien S, Freireich EJ, Garcia-Manero G, Kantarjian H, Verstovsek S. Interferon alpha therapy for patients with essential thrombocythemia: final results of a phase II study initiated in 1986. *Cancer*. 2005;103:2551-2557
 49. Gisslinger H, Chott A, Scheithauer W, Gilly B, Linkesch W, Ludwig H. Interferon in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 1991;79 Suppl 1:42-47
 50. Alvarado Y, Cortes J, Verstovsek S, Thomas D, Faderl S, Estrov Z, Kantarjian H, Giles FJ. Pilot study of pegylated interferon-alpha 2b in patients with essential thrombocythemia. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2003;51:81-86
 51. Langer C, Lengfelder E, Thiele J, Kvasnicka HM, Pahl HL, Beneke H, Schauer S, Gisslinger H, Grieshammer M. Pegylated interferon for the treatment of high risk essential thrombocythemia: results of a phase II study. *Haematologica*. 2005;90:1333-1338
 52. Mazzucconi MG, Redi R, Bernasconi S, Biz-zoni L, Dragoni F, Latagliata R, Santoro C, Mandelli F. A long-term study of young patients with essential thrombocythemia treated with anagrelide. *Haematologica*. 2004;89:1306-1313
 53. Birgegard G, Bjorkholm M, Kutti J, Larfars G, Lofvenberg E, Markevarn B, Merup M, Palmblad J, Mauritzson N, Westin J, Samuelsson J. Adverse effects and benefits of two years of anagrelide treatment for thrombocythemia in chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica*. 2004;89:520-527
 54. Storen EC, Tefferi A. Long-term use of anagrelide in young patients with essential thrombocythemia. *Blood*. 2001;97:863-866
 55. Mills AK, Taylor KM, Wright SJ, Bunce I, Eliadis P, Brigden MC, Seeley G, Bashford J, Olsen T, Rentoul A, Kelly C. Efficacy, safety and tolerability of anagrelide in the treatment of essential thrombocythaemia. *Aust N Z J Med*. 1999;29:29-35
 56. 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. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005;353:33-45
 57. 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 Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2004;89:215-232