



Gruppo di Lavoro Coagulazione

Coordinatore: Ugo Ramenghi

RACCOMANDAZIONI PER LA GESTIONE DELLE TROMBOCITOSI IN ETA' PEDIATRICA

AUTORI:

Giovanni Carlo Del Vecchio, Piero Farruggia, Fiorina Giona, Paola Giordano, Saverio Ladogana, Momcilo Jankovic, Giuseppe Menna, Concetta Micalizzi, Margherita Nardi, Lucia Dora Notarangelo, Emilia Parodi, Maria Caterina Putti, Ugo Ramenghi, Giovanna Russo, Paola Saracco, Fabio Tucci, Marco Zecca.

(versione 1.2, febbraio 2015)

A.I.E.O.P.

ASSOCIAZIONE ITALIANA EMATOLOGIA ONCOLOGIA PEDIATRICA

c/o Policlinico Sant'Orsola – Malpighi ; Via Massarenti 11 – 40138 Bologna (Italia)

Segreteria: tel. 051 6364667 – fax 051 345759; e-mail: segreteria@aicop.org; sito: <http://www.aicop.org>

CF: 95003350105 P.I. 02314541208

INDICE

Capitolo I : INTRODUZIONE E CLASSIFICAZIONE	Pag 2
Capitolo II: APPROCCIO DIAGNOSTICO	Pag 20
Capitolo III: TROMBOCITOSI post-SPLENECTOMIA	Pag 25
Capitolo IV: PROGNOSI E TRATTAMENTO	Pag 33
Capitolo V: FOLLOW-UP	Pag 47

Capitolo I

INTRODUZIONE E CLASSIFICAZIONE

Per trombocitosi, trombocitemia o piastrinosi si intende l'aumento del numero delle piastrine circolanti rispetto al livello massimo normale, che nell'adulto è definito da una conta piastrinica superiore a $450 \times 10^9/L$ ¹⁻³. Nei bambini non c'è univocità nella definizione dei limiti del valore piastrinico: nei pochi studi esistenti ad oggi, sono riportati valori massimi compresi fra $400 \times 10^9/L$ e $1000 \times 10^9/L$ ⁴. Una conta piastrinica $> 500 \times 10^9/L$ è stata riportata nel 13% dei neonati alla nascita; alti valori piastrinici sono riscontrati nel 36% dei neonati durante il primo mese di vita, soprattutto in quelli con infezione ed in quelli con basso peso alla nascita (inferiore a 2.5 Kg), di cui il 10% presenta $600-700 \times 10^9/L$ piastrine ed il 4% una conta $> 700 \times 10^9/L$ ⁵.

Negli adulti, l'algoritmo diagnostico delle trombocitemie è ben codificato e spesso viene utilizzato anche per i casi di trombocitosi pediatrica. In particolare due lavori scientifici hanno puntato l'attenzione su definizione, diagnosi e gestione delle trombocitosi nell'infanzia: la review di Dame e Sutor del 2005¹ e le linee guida per adulti e bambini stilate dal British Committee for Standard in Haematology⁶, basate su una revisione della letteratura inglese dal 1966 all'ottobre 2009 e pubblicate dopo molteplici rivisitazioni sul British Journal of Haematology nel 2010.

La mancanza di un algoritmo diagnostico specifico della trombocitosi in età pediatrica può comportare accertamenti diagnostici eccessivi o invasivi e, quasi sempre, un'eccessiva medicalizzazione del bambino. E' per questo che il gruppo di lavoro ha cercato di delineare, con un largo consenso, un algoritmo diagnostico specifico per l'età pediatrica.

All'unanimità il gruppo ha deciso di ritenere normali valori piastrinici fino a $600 \times 10^9/L$ per i bambini di età <2 anni e fino a $450 \times 10^9/L$ per quelli di età superiore.

Il termine **trombocitosi** è utilizzato per quelle situazioni in cui il numero delle piastrine è al disopra dei valori normali per età, indipendentemente dalla causa.

Megacariocitopoiesi

In condizioni di normalità, la megacariocitopoiesi assicura una produzione giornaliera di 10^{11} piastrine con un completo turnover delle stesse ogni 8-9 giorni; in caso di aumentate richieste può però essere garantita una produzione piastrinica pari a 10 volte i livelli basali.

Il processo di megacariocitopoiesi ha inizio nel midollo osseo a partire dall'emangioblasto, elemento cellulare multipotente in grado di dare origine sia ai precursori delle cellule del sangue che a quelli vascolari, quali l'angioblasto che si differenzia in ultima analisi in cellula endoteliale. La cellula staminale emopoietica

attraverso una sequenza di progenitori progressivamente "indirizzati" (il progenitore mieloide comune e il progenitore comune megacariocitario/eritroide), porta alla formazione dei primi elementi specificamente orientati in senso megacariocitario.

A livello del midollo osseo la produzione delle piastrine avviene attraverso un articolato processo di frammentazione citoplasmatica dei megacariociti: tale processo richiede una serie di modificazioni citoscheletriche, la formazione di estensioni citoplasmatiche denominate propiastri e il concomitante assemblaggio delle piastrine stesse ⁷⁻⁹.

Il più importante fattore di crescita per la filiera megacariocitaria, chiamato a svolgere anche un ruolo centrale nella sopravvivenza e nella proliferazione delle cellule staminali, è la trombopoietina (TPO) prodotta principalmente nel fegato ed in minor misura nei reni, nelle cellule stromali midollari ed in altri organi ¹⁰⁻¹². La TPO agisce a più livelli: 1) stimola la proliferazione e la maturazione dei progenitori megacariocitari, determinandone un aumento delle dimensioni e della ploidia; 2) induce la formazione delle membrane di demarcazione e dei granuli piastrinici; 3) induce l'espressione di proteine specifiche di membrana ¹³; 4) sembra stimolare la produzione delle formazioni propiastri che, frammentandosi, danno origine alle piastrine mature (non tutti gli Autori però concordano con quest'ultima funzione)¹⁴. La TPO non è però l'unico fattore in grado di promuovere la megacariocitopoiesi: essa infatti agisce in combinazione con altri fattori di crescita quali GM-CSF, IL-3, IL-6, IL-11, leukaemia inhibitory factor, stem cell factor (SCF), ligando per FLT, FGF, stromal derived factor 1 (SDF-1), IL-1 β , ed EPO ¹⁵⁻¹⁷. Per contro, tra i più rilevanti regolatori con ruolo inibitorio sullo sviluppo megacariocitario, si trovano il TGF- β 1, il Fattore Piastrinico (PF4) e l'IL-4. La megacariocitopoiesi è, infine, controllata anche dall'azione coordinata di numerosi fattori trascrizionali, in particolare PU-1, GATA-1, FOG-1, AML/RUNX1 e le proteine ETS ¹⁷.

L'effetto della TPO sulla megacariocitopoiesi è mediato dal suo recettore c-Mpl (o CD110) presente sia sui megacariociti che, in minor misura, sulle piastrine. C-Mpl è presente inoltre, sull'emangioblasto, sulle cellule endoteliali e sulle cellule staminali ^{18,19}. A seguito del legame con TPO, cMpl –che, a differenza degli altri recettori per citochine e fattori di crescita, non ha attività chinasi intrinseca– va incontro ad una modificazione conformazionale che porta all'attivazione degli enzimi della famiglia Janus Kinasi (JAK), i quali danno il via ad una serie di eventi che svolgono un ruolo chiave nel promuovere la sopravvivenza e la proliferazione megacariocitaria mediante l'attivazione di STAT3, STAT5, PI3K e MAPK.

E' importante sottolineare che la produzione della TPO è, nel fegato, di tipo costitutiva ^{20,21}. I livelli plasmatici di questa glicoproteina sono pertanto regolati dal suo assorbimento con successiva internalizzazione da parte delle cellule che esprimono il recettore c-Mpl. In linea generale a bassi livelli di piastrine circolanti e ridotta massa megacariocitaria midollare, corrisponde una ridotta rimozione di TPO dal plasma, con conseguente incremento della quantità di TPO libera in grado di promuovere la proliferazione megacariocitaria ²². Viceversa, quando i livelli di piastrine circolanti e la massa megacariocitaria midollare aumentano, è maggiore la quantità di TPO rimossa dal plasma e, di conseguenza, sono ridotti i livelli di TPO disponibili a stimolare la proliferazione megacariocitaria. In questo modo la massa totale di piastrine e di megacariociti midollari regola i livelli di TPO e la produzione di piastrine, mantenendo una situazione di equilibrio.

La correlazione inversa tra livelli plasmatici di TPO e massa piastrinica e megacariocitaria non è sempre presente: ciò accade, per esempio, nelle trombocitosi reattive ^{23,24} e nelle trombocitopenie associate ad epatopatia (in cui la produzione epatica di TPO dovrebbe essere ridotta a fronte invece di livelli plasmatici elevati). A tale riguardo è stato possibile dimostrare che: 1) le trombocitosi possono essere indipendenti dai livelli plasmatici di TPO; 2) le cellule stromali midollari sono in grado di produrre TPO in quantità maggiore in corso di trombocitopenia per il rilascio dagli alfa granuli di fattori di crescita come il PDGF e il FGF2 che vanno a stimolare l'espressione stessa del gene della TPO) ^{13,25}; 3) l'IL-6, una citochina ad azione pro-infiammatoria, stimola la produzione di TPO da parte degli epatociti ²⁶⁻²⁸; 4) i lipopolisaccaridi batterici sono in grado di incrementare la produzione epatica di TPO ²⁹. Esistono inoltre ulteriori meccanismi regolatori della megacariocitopoiesi basati sulla regolazione della produzione della TPO, in particolar modo sull'inibizione della traduzione del suo mRNA da parte del codone uAUG nella regione non tradotta all'estremità 5', oppure su un diverso splicing dell' mRNA che regola la produzione della TPO stessa ³⁰.

C'è infine da sottolineare come il ruolo del microambiente midollare nella patogenesi delle trombocitosi primitive non sia ancora completamente chiarito. Nelle cellule stromali midollari, infatti, l'espressione del gene della TPO è stimolata, come sopra accennato, dal PDGF e dal FGF2 (rilasciati in genere a seguito di trombocitopenia dagli alfa granuli piastrinici) mentre l'espressione dell'mRNA della trombopoietina è inibita dal PF4, dalla trombospodina e dal TGF β ^{25,31,32}. Non è infine chiaro se l'aumento dell'angiogenesi nello stroma midollare, concomitante alla trombocitosi, abbia una implicazione patogenetica primaria o se sia un fenomeno secondario alla trombocitosi primaria ³³.

Classificazione delle trombocitemie/trombocitosi

L'inquadramento delle differenti forme di trombocitosi si basa sull'individuazione delle sue cause. A tal riguardo è possibile riconoscere due tipi di trombocitosi ²:

- **Trombocitosi primitive (TP)**, molto rare in età pediatrica
- **Trombocitosi secondarie o reattive (TR)**, più frequenti in età pediatrica.

Sia le Trombocitosi primitive che quelle secondarie devono essere necessariamente differenziate dalle false trombocitosi, anche note come "trombocitosi spurie" o "pseudo-trombocitosi" ^{1,6}, in cui determinate condizioni mimano al contaglobuli automatico una piastrinosi; ne sono esempio la crioglobulinemia e la presenza nel sangue periferico di frammenti citoplasmatici di cellule neoplastiche, di batteri, di corpi di Pappenheimer, di schistociti e di microsferociti (in corso di gravi ustioni).

Trombocitosi Reattiva

Definizione

Per trombocitosi reattiva (TR) s'intende una condizione caratterizzata da un aumento della conta piastrinica secondario alla stimolazione della megacariocitopoiesi nell'ambito di altre malattie ⁶; tale meccanismo patogenetico distingue pertanto le TR dalle trombocitosi primitive (TP), nelle quali risultano essere spesso implicate mutazioni a carico di geni regolatori della megacariocitopoiesi ^{3,34,35}.

Epidemiologia

L'incidenza stimata è di circa 600 casi per milione di bambini ed alcuni dati a nostra disposizione stimano un 6-15% di trombocitosi reattive nel primo anno di vita in soggetti ospedalizzati ³⁶. E' necessario però sottolineare come, nei diversi studi, l'incidenza vari a seconda dei differenti parametri utilizzati, e, in particolare, in funzione di: 1) numero di piastrine considerato per la definizione di trombocitosi; 2) popolazione infantile studiata (pazienti ospedalizzati e non ospedalizzati, ovvero entrambi i gruppi); 3) diversa incidenza delle infezioni a seconda dell'epidemiologia territoriale ^{4,36}.

Gli studi riportano una conta piastrinica superiore a $500 \times 10^9/L$ nel 13% dei neonati alla nascita ed alti valori piastrinici nel 36% dei neonati durante il primo mese di vita (soprattutto in quelli con basso peso alla nascita e/o in quelli con infezione): in particolare, al primo mese di vita il 10% dei neonati presenta $600-700 \times 10^9/L$ piastrine (con il 4% che ha una conta superiore a $700 \times 10^9/L$), ed al secondo mese di vita l'8% presenta una conta

superiore a $700 \times 10^9/L$. La frequenza di una conta piastrinica elevata decresce nei mesi successivi e presenta un secondo picco (13%) nei bambini di età compresa tra 6 e 12 mesi. La percentuale si abbassa successivamente fino a rappresentare lo 0-6% nella fascia di età compresa tra 11 e 15 anni ³⁶⁻⁴⁰.

Patologie associate

Diversi studi pediatrici riportano la frequenza delle varie patologie associate alla TR, la distribuzione per età della TR e il grado di trombocitosi riscontrato ^{35,36,38-42}.

La causa più frequente di TR è rappresentata dalle infezioni (batteriche o virali) responsabili del 37-78% delle TR indipendentemente dall'età. In una casistica di pazienti di età compresa tra 1 e 24 mesi dimessi con una diagnosi relativa a patologia infettiva, la percentuale di soggetti con conta piastrinica $>500 \times 10^9/L$ era pari al 50% ⁴². Le infezioni riguardanti il tratto respiratorio rappresentano la causa principale di trombocitosi (60-80% dei casi), seguite da quelle interessanti l'apparato gastroenterico e le vie urinarie ¹. La maggior parte degli studi non riporta una correlazione tra la trombocitosi, la prognosi o il trattamento antibiotico mentre un lavoro più recente correla il grado di trombocitosi ad una più lunga ospedalizzazione ⁴¹.

Dopo le infezioni, le cause più frequenti di TR sono rappresentate da: infiammazioni croniche (collagenopatie, celiachia, etc), danni tissutali (trauma, chirurgia, ustione) e neoplasie. Un 4-11% delle TR è legato a malattie immuni/infiammatorie, in primo luogo MICI, ARG, vasculiti. Inoltre, la sindrome di Kawasaki è una delle maggiori cause di TR al di sotto dei 7 anni, mentre le altre forme colpiscono prevalentemente i bambini di età pari o superiore agli 11 anni ³⁷. Una TR è riportata anche tra le manifestazioni ematologiche della celiachia, con una frequenza fino al 60% dei pazienti affetti; la TR potrebbe essere secondaria a carenza marziale o ad iposplenismo ⁴³. Nell'1-21% dei casi la TR è conseguenza di danni tissutali (intervento chirurgico, traumi, ustioni) ^{4,36}. Il picco della conta piastrinica, nei casi dipendenti da interventi chirurgici, si osserva tra la prima e la seconda settimana post operatoria. L'1-3% circa delle TR si associa a neoplasie all'esordio ^{36,38-40,44-46}, raramente TR è stata segnalata anche in corso di LLA ⁴⁷. Una TR si riscontra anche in corso di eventi transitori come la perdita ematica acuta, la fase di recupero secondaria ad una trombocitopenia (effetto rebound) o ad un esercizio fisico intenso. Una percentuale compresa tra il 6 e il 12% delle TR si verifica in corso di anemia, più spesso implicate le anemie emolitiche e quelle sideropeniche e più di rado le anemie post emorragiche ^{1,2,35,48}. L'incidenza varia in relazione all'etnia delle popolazioni studiate

e all'età dei bambini considerati. In uno studio effettuato su bambini con deficit di ferro, la trombocitosi secondaria è stata riscontrata in un terzo dei casi ⁴⁹.

Le TR possono inoltre essere legate all'assunzione di vari farmaci (vedi tabella I) anche per esposizione durante la vita intrauterina ^{2,4,50-52}. Si pensa che l'aumento della TPO possa essere responsabile della trombocitosi neonatale per un effetto rebound dopo la soppressione farmacologica verificatasi durante la vita fetale. Anche in corso di stress può aversi una TR, conseguenza della spremitura della milza provocata dall'adrenalina rilasciata nell'organismo ⁵³.

Patogenesi

Indipendentemente dalla causa della TR, il meccanismo d'azione è in genere da ricercarsi in un'aumentata produzione di TPO, il più delle volte mediata dalla aumentata concentrazione di alcune citochine, come IL-6 o IL-11 ⁵⁴. In particolare l'IL-6, una citochina pro-infiammatoria rilevante nella fase acuta delle flogosi e nelle neoplasie, stimola la megacariocitopoiesi sia direttamente che indirettamente attraverso la stimolazione della produzione epatica della TPO ²⁷⁻²⁹. L'effetto dell'IL-6 potrebbe così spiegare la mancata correlazione inversa fra i livelli circolanti di TPO e la densità di recettori c-Mpl nelle TR ^{23,24,55}.

Nel caso di TR associate ad infezioni, l'analisi dei livelli circolanti di TPO chiarisce il ruolo di questo fattore di crescita: infatti, durante la prima settimana, quando la conta piastrinica è ancora normale, i livelli sierici di TPO aumentano progressivamente fino a raggiungere, in media intorno al quarto giorno (+/-2), il valore massimo; successivamente i livelli iniziano gradatamente a ridursi e, quando la conta piastrinica raggiunge il picco massimo (in media nel corso della seconda e terza settimana), la TPO ritorna a valori normali. La concentrazione di TPO in queste forme di TR è correlata ai livelli di PCR e di IL-6 ⁵⁶ e, solitamente, risultano essere aumentati anche VES, fibrinogeno e fattore di von Willebrand ⁵⁷.

Nei casi di TR secondaria a un danno tissutale (intervento chirurgico, traumi, ustioni) ^{4 36}, la megacariocitopoiesi potrebbe essere stimolata da citochine come l'IL-6 o da altri fattori di crescita emopoietici, come nelle infezioni.

Diverso sembra essere il caso della trombocitosi post splenectomia, a cui probabilmente contribuiscono sia l'eliminazione della riserva piastrinica splenica, sia la riduzione del sistema reticolo endoteliale responsabile di piastrinocateresi ⁴.

Nelle anemie sideropeniche, come nel caso della TR post-splenectomia, sembra non essere implicato un meccanismo di cross reattività tra EPO e TPO ⁵⁸.

Nelle TR in corso di malattie immuni/infiammatorie, l'aumento del numero delle piastrine sembra essere dovuto principalmente ad un aumento della IL-6, citochina che appare direttamente correlata sia all'attività di malattia che alla conta piastrinica ⁵⁹. Nei casi in cui, invece, è stata evidenziata una mancata correlazione diretta tra la conta piastrinica e i livelli di IL-6, si ipotizza che la megacariocitopoiesi sia stimolata direttamente sia dalla TPO che da altri fattori di crescita ⁶⁰. La TR associata a neoplasie, in particolare epatoblastoma ed epatocarcinoma, può essere causata da un diretto aumento della produzione di TPO da parte del fegato ^{61,62}.

Resta sconosciuto il meccanismo patogenetico della TR che, raramente, può osservarsi in corso di allergie, malattie metaboliche, miopatie e neurofibromatosi ⁴.

Per quanto riguarda il frequente riscontro di trombocitosi in epoca neonatale, si pensa che, alla base, possa esserci una più alta espressione genica della TPO midollare durante l'ontogenesi dell'ematopoiesi, ovvero una più elevata concentrazione di TPO in condizioni fisiologiche nel feto e nel neonato rispetto ai bambini di età più avanzata oppure un' aumentata sensibilità dei megacariociti alla TPO stessa ^{12,63,64}. Nei neonati con peso inferiore al 10 ° centile per età gestazionale, ulteriori fattori rilevanti potrebbero essere il distress fetale e l'eventuale eclampsia materna (con o senza iniziale trombocitopenia) ¹.

Trombocitosi primitive

Definizione e classificazione

Le Trombocitosi Primitive (TP) sono disordini proliferativi caratterizzati da elevata conta piastrinica e aumentato rischio trombotico ed emorragico. La causa della trombocitosi è un'alterazione primitiva della proliferazione a carico della linea mieloide.

Per una classificazione delle forme primitive più adeguata all'età pediatrica, viene proposta la seguente suddivisione:

- **Trombocitosi Familiari**

- **Trombocitosi non Familiari:** queste comprendono le **Trombocitemie Essenziali** (forme clonali) e le **Trombocitemie Sporadiche** (forme primitive senza marcatori di clonalità).
- Nell'ambito delle TP, vengono incluse le **trombocitosi in corso di neoplasie mieloproliferative croniche e quelle in associazione a sindromi mielodisplastiche**, denominazione derivata dalla Classificazione dei Tumori del Tessuto Ematopoietico e Linfoide del WHO 2008 ⁵⁴.

Epidemiologia

L'incidenza annuale delle forme primitive sotto i 18 anni è di circa 1-4 casi ogni 10 milioni, 60 volte più bassa rispetto all'incidenza negli adulti ^{65,66}. Tra il 1966 e il 2000, utilizzando i criteri diagnostici della Polycythemia Vera Study Group, sono stati individuati circa 85 bambini con trombocitosi primitiva ^{67,68-71}, di cui il 40-55% si rivelavano soffrire di una forma familiare. Nelle trombocitosi primitive, l'età media alla diagnosi è di 14-15 anni ed è, ovviamente, più bassa nelle forme familiari ^{1,72}.

Trombocitemia Essenziale (TE) e Trombocitemia Sporadica (TS)

La Trombocitemia Essenziale è una malattia neoplastica della linea mieloide (MyeloProliferative Neoplasm nella definizione anglosassone: MPN), caratteristica dell'età adulta e avanzata ^{73,74}; viene diagnosticata secondo i criteri stabiliti dal WHO nel 2008 ⁷⁵⁻⁷⁷. In sintesi, la diagnosi di certezza è possibile tramite l'identificazione di marcatori di clonalità. Il principale è la mutazione somatica JAK2 V617F, identificata nel 2005, presente nella maggior parte dei casi (50-60%) ⁷⁸⁻⁸²; inoltre esistono più rare mutazioni somatiche di c-MPL (W515L,W515K,W515A,S505N). Altri marcatori di clonalità riconosciuti sono la crescita di colonie eritroidi spontanee (EEC), e la clonalità alla XCIP (X Chromosome Inactivation Pattern XCIP) nei soggetti di sesso femminile.. Mutazioni somatiche di CALR (calreticulina) sono state recentemente riportate in una elevata percentuale (rispettivamente 82% e 67%) di pazienti con ET non mutati in JAK2 e c-MPL su due ampie casistiche di soggetti adulti ^{83,84}. Questa scoperta ha significativamente ampliato la percentuale di pazienti in cui è possibile una diagnosi di TE clonale.

I casi restanti (quindi 40-50% del totale), verosimilmente dovuti ad alterazioni geniche non ancora identificate, richiedono, secondo la classificazione del WHO, la presenza di criteri descrittivi e soprattutto l'esclusione di forme reattive. Pertanto, in una rilevante quota di casi, la diagnosi di TE resta una diagnosi di esclusione ⁸⁵.

In età pediatrica, l'uso dei criteri WHO non è applicabile con altrettanta accuratezza.

In primo luogo, è meno facile l'esclusione di cause di Trombocitosi reattiva, che sono molto frequenti e possono spesso sovrapporsi al quadro trombocitemico ⁴¹. Inoltre, l'iter diagnostico proposto per le TE negli adulti può risultare eccessivamente oneroso, in particolare l'esecuzione di biopsia osteomidollare, che spesso non viene eseguita nei bambini più piccoli, benchè la descrizione istopatologica sia obbligatoria nella definizione di TE secondo WHO 2008 ⁷⁷ e necessaria per definire la prognosi ^{74 86,87}; la stessa interpretazione del quadro midollare può essere difficile in età pediatrica. Infine, a differenza che negli adulti, la percentuale di casi pediatrici definibili come TE clonali secondo WHO è variabile a seconda delle casistiche dal 20 al 50% ^{72,88-92}. Questa maggiore incidenza di forme non clonali potrebbe riflettere le difficoltà nell'escludere forme secondarie o una diversa natura dei casi stessi. L'osservazione prolungata e il diverso comportamento clinico, sembrerebbero sostenere questa ipotesi ^{72,89}.

In considerazione dell'eterogeneità dei casi osservati in età pediatrica proponiamo quindi, in via cautelativa, di riservare il termine di ***Trombocitemia Essenziale*** ai SOLI casi clonali.

Proponiamo di adottare il termine più generico di ***Trombocitemia Sporadica*** per le condizioni che, pur con caratteristiche generali di TE (vedi oltre), non mostrano una evidente prova di clonalità.

E' importante sottolineare che la distinzione fra forme Familiari (TF), forme primitive neoplastiche (TE) e altre forme, che qui chiamiamo sporadiche (TS), potrebbe avere importante significato sia per quanto riguarda la prognosi, sia per quanto riguarda l'approccio terapeutico.

Le TE clonali, sia in età adulta che pediatrica, sono caratterizzate, dal punto di vista biologico, dalla formazione di colonie eritroidi spontanee e/o da mutazioni somatiche dei geni JAK2 (finora è stata identificata solo la mutazione V617F a carico dell'esone 14).

In alcuni studi riguardanti casistiche pediatriche ^{89 91 92,93}, l'incidenza della mutazione JAK2V617F (<25%) è risultata significativamente inferiore rispetto a quella riportata negli adulti (50-60%). Uno studio successivo su di un'ampia casistica monocentrica di TE ha permesso di escludere numerosi bambini con forme familiari, per cui l'incidenza della mutazione JAK2V617F (48%) così come l'emopoiesi clonale è risultata essere simile a quella degli adulti con TE ⁷².

Negli adulti la TE può essere associata anche a mutazioni somatiche di MPL (W515L o W515K o W515A o S505N) ⁹⁴ in circa il 5% dei pazienti, mentre non è stata finora riscontrata la mutazione dell'esone 12 dello stesso gene descritta nell'1-2% dei casi di Policitemia Vera (PV).

E' stato recentemente descritto anche un caso in età pediatrica di TE con mutazione somatica c-MPL W515L ⁹⁵.

Mentre in circa il 70% di soggetti adulti non mutati in JAK2 e c-MPL la TE è associata a mutazioni somatiche di CALR ⁸³, nell'unica casistica pediatrica ad oggi riportata (4 soggetti JAK2 V617F negativi, 3 JAK2 V617F positivi e 8 con trombocitosi reattiva) non sono state identificate mutazioni a carico di CALR ⁹⁶.

Diversi studi hanno segnalato che lo stato mutazionale JAK2 negli adulti caratterizza due popolazioni di pazienti con TE, identificando un sottogruppo con caratteristiche simili a quelle dei soggetti affetti da PV ⁶. Tale dato non è stato confermato in uno studio su una popolazione pediatrica relativamente numerosa ⁹⁷.

La Janus Kinasi è un enzima intracellulare associato all'attivazione dei recettori per i fattori di crescita, in particolare il recettore dell'EPO, della Trombopoietina (c-Mpl,) e il recettore dei fattori di crescita per le colonie granulocitarie. La mutazione JAK2 V617F (nell'esone 14) ^{78 79-81} e quella nell'esone 12 dello stesso gene insorgono spontaneamente in una cellula staminale emopoietica pluripotente, manifestandosi solo sulla linea mieloide e non su quella linfoide (i recettori per l'eritropoietina, la trombopoietina e gli altri fattori di crescita sono espressi solo sulle cellule mieloidi). Queste 2 mutazioni sono responsabili di un incremento di funzione dell'enzima con conseguente iperproliferazione delle tre corrispondenti linee cellulari e successiva evoluzione, in base alla linea predominante, in PV, TE o Mielofibrosi Primitiva (MFP). Il vantaggio proliferativo dei precursori emopoietici mutati, è alla base di alcuni fenomeni già conosciuti da tempo ⁹⁸, come la crescita spontanea delle colonie eritroidi (EECs). La mutazione JAK2-V617F è stata riscontrata negli adulti in oltre il 97% delle PV ⁹⁹, nel 50-60% delle MFP, nel 50-60% delle TE e in diversi casi di anemia refrattaria con sideroblasti ad anello e trombocitosi ¹⁰⁰, mentre la mutazione dell'esone 12 è stata finora riscontrata nell'1-2% dei casi di PV e mai nella TE dell'adulto.

Il quadro clinico non permette di distinguere le forme di TS dalle TE. I sintomi d'esordio sono presenti in un limitato numero di bambini e sono nella maggior parte dei casi aspecifici (cefalea); sono descritte anche altre sintomatologie dolorose (addominalgie, eritromelalgie) ed emorragiche (gengivorragie, epistassi) ⁸⁹. Una splenomegalia, di modesta entità è presente in meno di un quinto di bambini ⁸⁹. Le complicanze trombotiche sono rare ma non eccezionali e soprattutto rappresentano la principale causa di morbidità ^{88 101-105}. La possibilità di evoluzione in leucemia o mielofibrosi, descritta negli adulti, non è ancora stata determinata in età pediatrica.

In conclusione, sia TS che soprattutto TE rappresentano una patologia rara in pediatria, il cui andamento clinico e la prognosi sono ancora incerti, non potendoli accorpare alle osservazioni nell'adulto. Ciò ha notevoli conseguenze sulle proposte di approccio

terapeutico ^{6 102,106}. Sono quindi in corso studi longitudinali volti a identificare le caratteristiche peculiari delle TS e delle TE in età pediatrica.

Trombocitosi familiari

Le forme ereditarie possono essere dovute a mutazioni germline coinvolgenti o il gene della TPO o quello per il suo recettore MPL. Solo nel 20% dei pazienti con una forma familiare sono state identificate mutazioni della TPO o di MPL, mentre nella maggior parte dei casi le alterazioni geniche che ne sono alla base rimangono ancora sconosciute.

Per quanto riguarda le trombocitosi ereditarie associate a mutazione germinale attivante il gene della TPO, sono state descritte quattro mutanti alleliche a trasmissione autosomica dominante (AD), responsabili della perdita della funzione di quella parte del gene che esercita un controllo inibitorio sulla propria trascrizione, da cui ne risulta una aumentata produzione della TPO con conseguente trombocitosi ^{107 108-111}. Tali mutazioni sono localizzate nella regione non tradotta uORF (upstream open reading frame) a monte del sito di inizio della traduzione, in 5' della TPO ³⁰ e sono responsabili di un aumento dell'efficienza traduzionale del suo mRNA. Tre di esse eliminano la fisiologica funzione inibitoria della sequenza uORF sulla traduzione dell'mRNA (da cui ne deriva una aumentata produzione della TPO stessa) mentre la quarta mutazione aumenta l'efficienza traduzionale con un meccanismo non ancora chiarito. Recentemente, in 2 famiglie con la stessa mutazione di TPO sono state descritte alterazioni congenite a carico degli arti inferiori in una e comparsa precoce di mieloma multiplo in un membro dell'altra, ipotizzando che il guadagno di funzione della TPO può disregolare sia l'emopoiesi che la vasculogenesi, predisponendo allo sviluppo di anomalie congenite e/o a malattie ematologiche clonali ¹¹².

Una nuova mutazione a carico del gene della TPO è stata recentemente riportata in una famiglia filippina ¹¹³.

Anche a carico di MPL sono state finora riportate diverse mutazioni, che conferiscono alla struttura recettoriale un guadagno di funzione con attivazione incontrollata dei segnali intracellulari e conseguente proliferazione cellulare e trombocitosi ¹¹⁴. Le mutazioni finora riportate sono caratteristiche di famiglie appartenenti a specifiche etnie. La mutazione MPLS505A è stata descritta per la prima volta in una famiglia giapponese ¹¹⁵ e, successivamente, in alcune famiglie italiane, nelle quali è stato dimostrato che il cluster della mutazione, che si trasmette come carattere AD, è dovuto ad una mutazione presente

in un capostipite comune risalente a circa 23 generazioni prima ¹¹⁶. È stato segnalato che i pazienti con mutazione MPLS505A hanno un aumentato rischio trombotico e sviluppano, ad un'età avanzata, una splenomegalia accompagnata da progressiva fibrosi midollare ¹¹⁷. Nel 2004 è stata descritta una forma ereditaria in una popolazione Afro-Americana associata al polimorfismo MPLK39N (Baltimore), in cui la mutazione agisce riducendo la funzione recettoriale di MPL, con conseguenti alti livelli di TPO e aumentata stimolazione della megacariocitopoiesi. Questa mutazione, a trasmissione AD e penetranza incompleta, in omozigosi è associata ad una conta piastrinica più alta rispetto alla condizione di eterozigosi ¹¹⁸. Nel 2009, è stata riscontrata in famiglie di discendenza araba un'altra mutazione nel dominio extracellulare del recettore MPL (MPLP106L) che probabilmente interferisce con l'internalizzazione e/o degradazione della TPO, conservando apparentemente la capacità di legame del recettore con il fattore di crescita e l'attivazione del recettore stesso ¹¹⁹.

Trombocitosi associate ad altre patologie mieloproliferative e/o mielodisplastiche

Una trombocitosi può essere riscontrata in corso di:

1. anemia refrattaria con sideroblasti ad anello che, oltre alla mutazione del gene JAK, può presentare anche alterazioni del gene MPL ^{120 121 122};
2. sindrome mielodisplastica con delezione isolata del braccio lungo del cromosoma 5, le cui caratteristiche ematologiche sono correlate all'aploinsufficienza del gene RPS14, subunità proteica ribosomale, la cui perdita parziale di funzione si associa ad apoptosi selettiva eritroide e preservazione della megacariocitopoiesi ¹²³;
3. leucemia mieloide cronica (LMC) in cui è presente la traslocazione BCR-ABL;
4. leucemia mieloide cronica atipica degli adulti ^{124 125,126};
5. leucemia neutrofila cronica recentemente riscontrata positiva per la mutazione JAK2-V617F ¹²⁶.

Tali patologie, eccetto la LMC, non insorgono in età pediatrica.

TABELLA I. CAUSE DI TROMBOCITOSI SECONDARIA (Modificato da Nathan e Oski's 7° ed)

Malattie infiammatorie
× Infezioni acute
× Infezioni croniche (tubercolosi, epatite, osteomielite)
× Artrite reumatoide
× Malattia infiammatoria cronica intestinale (MICI)
× Spondilite anchilosante
× Reumatismo articolare acuto
× Sindrome di Kawasaki
Disordini ematologici
× Carenza marziale
× Anemia emolitica cronica
× Deficit di Vit. E
× Emorragia acuta
× Trombocitosi secondaria a trombocitopenia (rebound)
Farmaci
× Alcaloidi della Vinca
× Corticosteroidi
Malattie neoplastiche
× Linfoma
× Neuroblastoma
× Altri tumori solidi dell'infanzia
Miscellanea
× Esercizio fisico
× Interventi chirurgici
× Malattia di Caffey
× Celiachia
× Asplenia/splenectomia

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Dame C, Sutor AH. Primary and secondary thrombocytosis in childhood. *Br J Haematol*. 2005;129(2):165-177.
2. Schafer AI. Thrombocytosis. *N Engl J Med*. 2004;350(12):1211-1219.
3. Cazzola M. Molecular basis of thrombocytosis. *Haematologica*. Vol 93. Italy2008:646-648.
4. Sutor AH. Thrombocytosis. In: Lilleyman JS, Hann IM, Blanchette VS, eds. *Pediatric Hematology*. London, Edinburgh, New York, Philadelphia, Sydney, Toronto: Churchill Livingstone; 1999:455-464.
5. Castoldi G, Liso V. *Malattie del sangue e degli organi emopoietici*. Mc Graw-Hill.
6. Harrison CN, Bareford D, Butt N, et al. Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *Br J Haematol*. 2010;149(3):352-375.
7. Bruno E, Hoffman R. Human megakaryocyte progenitor cells. *Semin Hematol*. 1998;35(3):183-191.
8. Deutsch VR, Tomer A. Megakaryocyte development and platelet production. *Br J Haematol*. 2006;134(5):453-466.
9. Italiano JE, Hrtwing JH. Megakaryocyte development and platelet formation. In: Michelson D, ed. *Platelets*. Amsterdam: Elsevier; 2007:22-44.
10. Bartley TD, Bogenberger J, Hunt P, et al. Identification and cloning of a megakaryocyte growth and development factor that is a ligand for the cytokine receptor Mpl. *Cell*. 1994;77(7):1117-1124.
11. Sungaran R, Markovic B, Chong BH. Localization and regulation of thrombopoietin mRNA expression in human kidney, liver, bone marrow, and spleen using in situ hybridization. *Blood*. 1997;89(1):101-107.
12. Wolber EM, Dame C, Fahnenstich H, et al. Expression of the thrombopoietin gene in human fetal and neonatal tissues. *Blood*. 1999;94(1):97-105.
13. Kaushansky K. Thrombopoietin: a tool for understanding thrombopoiesis. *J Thromb Haemost*. 2003;1(7):1587-1592.
14. Choi ES, Hokom M, Bartley T, et al. Recombinant human megakaryocyte growth and development factor (rHuMGDF), a ligand for c-Mpl, produces functional human platelets in vitro. *Stem Cells*. 1995;13(3):317-322.
15. Begley CG, Bassier RL. Biologic and structural differences of thrombopoietic growth factors. *Semin Hematol*. 2000;37(2 Suppl 4):19-27.
16. Yang M, Li K, Chui CM, et al. Expression of interleukin (IL) 1 type I and type II receptors in megakaryocytic cells and enhancing effects of IL-1beta on megakaryocytopoiesis and NF-E2 expression. *Br J Haematol*. 2000;111(1):371-380.
17. Chuen CK, Li K, Yang M, et al. Interleukin-1beta up-regulates the expression of thrombopoietin and transcription factors c-Jun, c-Fos, GATA-1, and NF-E2 in megakaryocytic cells. *J Lab Clin Med*. 2004;143(2):75-88.
18. Debili N, Wendling F, Cosman D, et al. The Mpl receptor is expressed in the megakaryocytic lineage from late progenitors to platelets. *Blood*. 1995;85(2):391-401.
19. Cardier JE, Dempsey J. Thrombopoietin and its receptor, c-mpl, are constitutively expressed by mouse liver endothelial cells: evidence of thrombopoietin as a growth factor for liver endothelial cells. *Blood*. 1998;91(3):923-929.
20. Cohen-Solal K, Villeval JL, Titeux M, Lok S, Vainchenker W, Wendling F. Constitutive expression of Mpl ligand transcripts during thrombocytopenia or thrombocytosis. *Blood*. 1996;88(7):2578-2584.
21. Fielder PJ, Gurney AL, Stefanich E, et al. Regulation of thrombopoietin levels by c-mpl-mediated binding to platelets. *Blood*. 1996;87(6):2154-2161.
22. Kuter DJ, Rosenberg RD. The reciprocal relationship of thrombopoietin (c-Mpl ligand) to changes in the platelet mass during busulfan-induced thrombocytopenia in the rabbit. *Blood*. 1995;85(10):2720-2730.

23. Cerutti A, Custodi P, Mduranti, Cazzola M, Balduini CL. Circulating thrombopoietin in reactive conditions behaves like an acute phase reactant. *Clin Lab Haematol*. 1999;21(4):271-275.
24. Hsu HC, Tsai WH, Jiang ML, et al. Circulating levels of thrombopoietic and inflammatory cytokines in patients with clonal and reactive thrombocytosis. *J Lab Clin Med*. 1999;134(4):392-397.
25. Sungaran R, Chisholm OT, Markovic B, Khachigian LM, Tanaka Y, Chong BH. The role of platelet alpha-granular proteins in the regulation of thrombopoietin messenger RNA expression in human bone marrow stromal cells. *Blood*. 2000;95(10):3094-3101.
26. Cardier JE. Effects of megakaryocyte growth and development factor (thrombopoietin) on liver endothelial cells in vitro. *Microvasc Res*. 1999;58(2):108-113.
27. Wolber EM, Jelkmann W. Interleukin-6 increases thrombopoietin production in human hepatoma cells HepG2 and Hep3B. *J Interferon Cytokine Res*. 2000;20(5):499-506.
28. Kaser A, Brandacher G, Steurer W, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood*. 2001;98(9):2720-2725.
29. Wolber EM, Fandrey J, Frackowski U, Jelkmann W. Hepatic thrombopoietin mRNA is increased in acute inflammation. *Thromb Haemost*. 2001;86(6):1421-1424.
30. Ghilardi N, Wiestner A, Skoda RC. Thrombopoietin production is inhibited by a translational mechanism. *Blood*. 1998;92(11):4023-4030.
31. Hirayama Y, Sakamaki S, Matsunaga T, et al. Concentrations of thrombopoietin in bone marrow in normal subjects and in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura, aplastic anemia, and essential thrombocythemia correlate with its mRNA expression of bone marrow stromal cells. *Blood*. 1998;92(1):46-52.
32. Sakamaki S, Hirayama Y, Matsunaga T, et al. Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) induces thrombopoietin from bone marrow stromal cells, which stimulates the expression of TGF-beta receptor on megakaryocytes and, in turn, renders them susceptible to suppression by TGF-beta itself with high specificity. *Blood*. 1999;94(6):1961-1970.
33. Mesa RA, Hanson CA, Li CY, et al. Diagnostic and prognostic value of bone marrow angiogenesis and megakaryocyte c-Mpl expression in essential thrombocythemia. *Blood*. 2002;99(11):4131-4137.
34. Skoda RC. Thrombocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:159-167.
35. Orkin S, David G, Nathan DG, Nathan D, et al. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. Saunders; 2008.
36. Matsubara K, Fukaya T, Nigami H, et al. Age-dependent changes in the incidence and etiology of childhood thrombocytosis. *Acta Haematol*. 2004;111(3):132-137.
37. Ishiguro A, Ishikita T, Shimbo T, et al. Elevation of serum thrombopoietin precedes thrombocytosis in Kawasaki disease. *Thromb Haemost*. 1998;79(6):1096-1100.
38. Vora AJ, Lilleyman JS. Secondary thrombocytosis. *Arch Dis Child*. 1993;68(1):88-90.
39. Yohannan MD, Higgy KE, al-Mashhadani SA, Santhosh-Kumar CR. Thrombocytosis. Etiologic analysis of 663 patients. *Clin Pediatr (Phila)*. 1994;33(6):340-343.
40. Heng JT, Tan AM. Thrombocytosis in childhood. *Singapore Med J*. 1998;39(11):485-487.
41. Wang JL, Huang LT, Wu KH, Lin HW, Ho MY, Liu HE. Associations of reactive thrombocytosis with clinical characteristics in pediatric diseases. *Pediatr Neonatol*. 2011;52(5):261-266.
42. Indolfi G, Catania P, Bartolini E, et al. Incidence and clinical significance of reactive thrombocytosis in children aged 1 to 24 months, hospitalized for community-acquired infections. *Platelets*. 2008;19(6):409-414.
43. Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA. Hematologic manifestations of celiac disease. *Blood*. 2007;109(2):412-421.
44. Chen HL, Chiou SS, Sheen JM, Jang RC, Lu CC, Chang TT. Thrombocytosis in children at one medical center of southern Taiwan. *Acta Paediatr Taiwan*. 1999;40(5):309-313.
45. Chan KW, Kaikov Y, Wadsworth LD. Thrombocytosis in childhood: a survey of 94 patients. *Pediatrics*. 1989;84(6):1064-1067.
46. Sutor AH. Thrombocytosis in childhood. *Semin Thromb Hemost*. 1995;21(3):330-339.

47. Blatt J, Penchansky L, Horn M. Thrombocytosis as a presenting feature of acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Am J Hematol*. 1989;31(1):46-49.
48. Dan K. Thrombocytosis in iron deficiency anemia. *Intern Med*. 2005;44(10):1025-1026.
49. Dickerhoff R, von Rücker A. Thrombozytose im Kindesalter. Differential diagnose und klinische Bedeutung. *Pädiatr Prax*. 1991;41:25-28.
50. Oral R, Akisü M, Kültürsay N, Vardar F, Tansuğ N. Neonatal Klebsiella pneumonia sepsis and imipenem/cilastatin. *Indian J Pediatr*. 1998;65(1):121-129.
51. Hsu HL, Lu CY, Tseng HY, et al. Empirical monotherapy with meropenem in serious bacterial infections in children. *J Microbiol Immunol Infect*. 2001;34(4):275-280.
52. Köksal N, Hacimustafaoğlu M, Bağcı S, Celebi S. Meropenem in neonatal severe infections due to multiresistant gram-negative bacteria. *Indian J Pediatr*. 2001;68(1):15-19.
53. Chamberlain KG, Tong M, Penington DG. Properties of the exchangeable splenic platelets released into the circulation during exercise-induced thrombocytosis. *Am J Hematol*. 1990;34(3):161-168.
54. Swerdlow SH, International Agency for Research on Cancer., World Health Organization. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2008.
55. Wang JC, Chen C, Novetsky AD, Lichter SM, Ahmed F, Friedberg NM. Blood thrombopoietin levels in clonal thrombocytosis and reactive thrombocytosis. *Am J Med*. 1998;104(5):451-455.
56. Ishiguro A, Suzuki Y, Mito M, et al. Elevation of serum thrombopoietin precedes thrombocytosis in acute infections. *Br J Haematol*. 2002;116(3):612-618.
57. Kutti J, Wadenvik H. Diagnostic and differential criteria of essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. *Leuk Lymphoma*. 1996;22 Suppl 1:41-45.
58. Geddis AE, Kaushansky K. Cross-reactivity between erythropoietin and thrombopoietin at the level of Mpl does not account for the thrombocytosis seen in iron deficiency. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2003;25(11):919-920; author reply 920.
59. de Benedetti F, Massa M, Robbioni P, Ravelli A, Burgio GR, Martini A. Correlation of serum interleukin-6 levels with joint involvement and thrombocytosis in systemic juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1991;34(9):1158-1163.
60. Papa A, Danese S, Piccirillo N, et al. Thrombopoietin serum levels in patients with inflammatory bowel disease with and without previous thromboembolic events. *Hepatogastroenterology*. 2003;50(49):132-135.
61. Komura E, Matsumura T, Kato T, Tahara T, Tsunoda Y, Sawada T. Thrombopoietin in patients with hepatoblastoma. *Stem Cells*. 1998;16(5):329-333.
62. Sasaki Y, Takahashi T, Miyazaki H, et al. Production of thrombopoietin by human carcinomas and its novel isoforms. *Blood*. 1999;94(6):1952-1960.
63. Dame C. Thrombopoietin in thrombocytopenias of childhood. *Semin Thromb Hemost*. 2001;27(3):215-228.
64. Murray NA, Watts TL, Roberts IA. Thrombopoietin in the fetus and neonate. *Early Hum Dev*. 2000;59(1):1-12.
65. Hasle H. Incidence of essential thrombocythaemia in children. *Br J Haematol*. Vol 110. England 2000:751.
66. Jensen MK, de Nully Brown P, Nielsen OJ, Hasselbalch HC. Incidence, clinical features and outcome of essential thrombocythaemia in a well defined geographical area. *Eur J Haematol*. 2000;65(2):132-139.
67. Michiels JJ, Van Genderen PJ. Essential thrombocythemia in childhood. *Semin Thromb Hemost*. 1997;23(3):295-301.
68. Dror Y, Zipursky A, Blanchette VS. Essential thrombocythemia in children. *J Pediatr Hematol Oncol*. 1999;21(5):356-363.
69. Kudo K, Horibe K, Iwase K, Kondo M, Kojima S. [Clinical features of essential thrombocythemia in three children]. *Rinsho Ketsueki*. 2000;41(11):1164-1170.
70. Randi ML, Putti MC, Fabris F, Sainati L, Zanesco L, Girolami A. Features of essential thrombocythaemia in childhood: a study of five children. *Br J Haematol*. 2000;108(1):86-89.

71. Yang RC, Qian LS. Essential thrombocythaemia in children: a report of nine cases. *Br J Haematol*. 2000;110(4):1009-1010.
72. Giona F, Teofili L, Moleti ML, et al. Thrombocythemia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biologic features, treatment, and long-term outcome. *Blood*. 2012;119(10):2219-2227.
73. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2011;29(6):761-770.
74. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, et al. 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*. Vol 110. United States 2007:1092-1097.
75. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia*. 2008;22(1):14-22.
76. Tefferi A, Thiele J, Vardiman JW. The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms: order out of chaos. *Cancer*. 2009;115(17):3842-3847.
77. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-951.
78. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*. 2005;365(9464):1054-1061.
79. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005;352(17):1779-1790.
80. James C, Ugo V, Le Couédic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*. 2005;434(7037):1144-1148.
81. Zhao R, Xing S, Li Z, et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem*. 2005;280(24):22788-22792.
82. Fialkow PJ, Faguet GB, Jacobson RJ, Vaidya K, Murphy S. Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell. *Blood*. 1981;58(5):916-919.
83. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2379-2390.
84. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2391-2405.
85. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2015 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2015;90(2):162-173.
86. Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. *J Clin Oncol*. 2011;29(23):3179-3184.
87. Tefferi A, Skoda R, Vardiman JW. Myeloproliferative neoplasms: contemporary diagnosis using histology and genetics. *Nat Rev Clin Oncol*. 2009;6(11):627-637.
88. Randi ML, Putti MC, Scapin M, et al. Pediatric patients with essential thrombocythemia are mostly polyclonal and V617FJAK2 negative. *Blood*. 2006;108(10):3600-3602.
89. Putti MC, Giona F, Consarino C, et al. Retrospective Evaluation of 90 Children with Essential Thrombocythemia: The AIEOP Experience. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2008;112(11):664-.
90. Nakatani T, Imamura T, Ishida H, et al. Frequency and clinical features of the JAK2 V617F mutation in pediatric patients with sporadic essential thrombocythemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2008;51(6):802-805.
91. El-Moneim AA, Kratz CP, Boll S, Rister M, Pahl HL, Niemeyer CM. Essential versus reactive thrombocythemia in children: retrospective analyses of 12 cases. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;49(1):52-55.

92. Ismael O, Shimada A, Hama A, et al. Mutations profile of polycythemia vera and essential thrombocythemia among Japanese children. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;59(3):530-535.
93. Veselovska J, Pospisilova D, Pekova S, et al. Most pediatric patients with essential thrombocythemia show hypersensitivity to erythropoietin in vitro, with rare JAK2 V617F-positive erythroid colonies. *Leuk Res*. 2008;32(3):369-377.
94. Pardanan AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood*. 2006;108(10):3472-3476.
95. Farruggia P, D'Angelo P, La Rosa M, et al. MPL.W515L mutation in pediatric essential thrombocythemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2013;60(8):E52-54.
96. Langabeer SE, Haslam K, McMahon C. CALR mutations are rare in childhood essential thrombocythemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2014.
97. Teofili L, Cenci T, Martini M, et al. The mutant JAK2 allele burden in children with essential thrombocythemia. *Br J Haematol*. Vol 145. England2009:430-432.
98. Goerttler PS, Steimle C, März E, et al. The Jak2V617F mutation, PRV-1 overexpression, and EEC formation define a similar cohort of MPD patients. *Blood*. 2005;106(8):2862-2864.
99. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Elena C, Della Porta M, L. A. Relation between proportion of granulocyte JAK2 (V617F) mutant alleles, clinical phenotype and disease progression in chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica*. 2006;91(1):350.
100. Schmitt-Graeff AH, Teo SS, Olschewski M, et al. JAK2V617F mutation status identifies subtypes of refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. *Haematologica*. 2008;93(1):34-40.
101. Hermeziu B, Franchi-Abella S, Plessier A, et al. Budd-Chiari syndrome and essential thrombocythemia in a child: favorable outcome after transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;46(3):334-337.
102. Randi ML, Putti MC. Essential thrombocythaemia in children: is a treatment needed? *Expert Opin Pharmacother*. 2004;5(5):1009-1014.
103. Kurosawa H, Okuya M, Matsushita T, et al. JAK2V617F mutation-positive childhood essential thrombocythemia associated with cerebral venous sinus thrombosis. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2009;31(9):678-680.
104. Khan AA, Kumar V, Anand I, Kumar M, Sharma P, Bhargava M. JAK2 mutation-negative essential thrombocythemia in a child presenting with cerebral venous thrombosis. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2012;5(1):66-68.
105. Shebl SS, el-Sharkawy HM, el-Fadaly NH. Haemostatic disorders in nonsplenectomized and splenectomized thalassaemic children. *East Mediterr Health J*. 1999;5(6):1171-1177.
106. Barbui T. How to manage children and young adults with myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2012;26(7):1452-1457.
107. Wiestner A, Schlemper RJ, van der Maas AP, Skoda RC. An activating splice donor mutation in the thrombopoietin gene causes hereditary thrombocythaemia. *Nat Genet*. 1998;18(1):49-52.
108. Kondo T, Okabe M, Sanada M, et al. Familial essential thrombocythemia associated with one-base deletion in the 5'-untranslated region of the thrombopoietin gene. *Blood*. 1998;92(4):1091-1096.
109. Ghilardi N, Wiestner A, Kikuchi M, Ohsaka A, Skoda RC. Hereditary thrombocythaemia in a Japanese family is caused by a novel point mutation in the thrombopoietin gene. *Br J Haematol*. 1999;107(2):310-316.
110. Ghilardi N, Skoda RC. A single-base deletion in the thrombopoietin (TPO) gene causes familial essential thrombocythemia through a mechanism of more efficient translation of TPO mRNA. *Blood*. 1999;94(4):1480-1482.
111. Jorgensen MJ, W.H. R, J.F. W, H.R. B, K. K. Familial thrombocytosis associated with overproduction of thrombopoietin due to a novel splice donor site mutation. *Blood*. 1998;92(Suppl 1):205:a.
112. Stockklauser C, Echner N, Klotter AC, Hegenbart U, Dreger P, Kulozik AE. Hereditary thrombocythemia caused by a thrombopoietin (THPO) gain-of-function mutation associated with multiple myeloma and congenital limb defects. *Ann Hematol*. 2012;91(7):1129-1133.

113. Zhang B, Ng D, Jones C, et al. A novel splice donor mutation in the thrombopoietin gene leads to exon 2 skipping in a Filipino family with hereditary thrombocythemia. *Blood*. Vol 118. United States 2011:6988-6990.
114. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood*. 2008;112(1):141-149.
115. Ding J, Komatsu H, Wakita A, et al. Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. *Blood*. 2004;103(11):4198-4200.
116. Liu K, Martini M, Rocca B, et al. Evidence for a founder effect of the MPL-S505N mutation in eight Italian pedigrees with hereditary thrombocythemia. *Haematologica*. 2009;94(10):1368-1374.
117. Teofili L, Giona F, Torti L, et al. Hereditary thrombocytosis caused by MPLSer505Asn is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. *Haematologica*. 2010;95(1):65-70.
118. Moliterno AR, Williams DM, Gutierrez-Alamillo LI, Salvatori R, Ingersoll RG, Spivak JL. Mpl Baltimore: a thrombopoietin receptor polymorphism associated with thrombocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(31):11444-11447.
119. El-Harith el HA, Roesl C, Ballmaier M, et al. Familial thrombocytosis caused by the novel germ-line mutation p.Pro106Leu in the MPL gene. *Br J Haematol*. 2009;144(2):185-194.
120. Malcovati L, Cazzola M. Myelodysplastic/myeloproliferative disorders. *Haematologica*. 2008;93(1):4-6.
121. Remacha AF, Nomdedéu JF, Puget G, et al. Occurrence of the JAK2 V617F mutation in the WHO provisional entity: myelodysplastic/myeloproliferative disease, unclassifiable-refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. *Haematologica*. 2006;91(5):719-720.
122. Steensma DP, Caudill JS, Pardanani A, McClure RF, Lasho TL, Tefferi A. MPL W515 and JAK2 V617 mutation analysis in patients with refractory anemia with ringed sideroblasts and an elevated platelet count. *Haematologica*. 2006;91(12 Suppl):ECR57.
123. Ebert BL, Pretz J, Bosco J, et al. Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature*. 2008;451(7176):335-339.
124. Breccia M, Biondo F, Latagliata R, Carmosino I, Mandelli F, Alimena G. Identification of risk factors in atypical chronic myeloid leukemia. *Haematologica*. 2006;91(11):1566-1568.
125. Fend F, Horn T, Koch I, Vela T, Orazi A. Atypical chronic myeloid leukemia as defined in the WHO classification is a JAK2 V617F negative neoplasm. *Leuk Res*. 2008;32(12):1931-1935.
126. Steensma DP, Dewald GW, Lasho TL, et al. The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2005;106(4):1207-1209.

Capitolo II

APPROCCIO DIAGNOSTICO

Come già affermato nel capitolo introduttivo, si è deciso di considerare normale un numero di piastrine fino a $600 \times 10^9/L$ per i bambini di età inferiore ai due anni, e fino a $450 \times 10^9/L$ per quelli di età superiore; tali situazioni, quindi, non richiedono ulteriori approfondimenti diagnostici. Nel caso in cui il numero delle piastrine sia al di sopra di questi valori, è indicato un approfondimento diagnostico.

Secondo le indicazioni di Dame e Sutor (1), modificate secondo Tefferi (2) abbiamo distinto diversi cut off di valori piastrinici, in base ai quali guidare il comportamento diagnostico:

piastrinosi lieve $450-700 \times 10^9/mm^3$

piastrinosi moderata $700-900 \times 10^9/mm^3$

piastrinosi severa $900-1500 \times 10^9/mm^3$

piastrinosi estrema $>1500 \times 10^9/mm^3$

L'approccio al paziente affetto da trombocitosi inizia da una approfondita anamnesi.

L'**anamnesi familiare**, primo step per la distinzione tra forme primitive, familiari e secondarie, valuterà:

- ◆ presenza di piastrinosi in uno dei genitori o nei fratelli (visionare o far eseguire comunque un emocromo);
- ◆ presenza di malattie mieloproliferative in famiglia;
- ◆ anemie congenite;
- ◆ eventi trombotici o cardiovascolari o morti improvvise nei familiari, soprattutto se avvenute in età giovanile.

L' **anamnesi personale** sarà soprattutto mirata all'esclusione di cause secondarie di trombocitemia, tra quelle elencate nella tabella numero 1. Utile anche approfondire aspetti quali le abitudini alimentari del bambino (es. assunzione di ferro) e l'eventuale assunzione di farmaci da parte del paziente, o della madre in caso di neonati.

E' fondamentale inoltre ricercare, all'esordio e ovviamente anche nel follow-up, eventuali episodi trombo-emorragici.

Va infine indagata la presenza di sintomi potenzialmente correlabili alla trombocitemia, quali ad esempio cefalea, dolori addominali, disturbi del visus, sintomatologia emorragica, eritromelalgia, parestesie o segni di emolisi (pallore cutaneo, urine scure...).

All'esame obiettivo:

- ispezionare bene la cute del bambino per escludere ittero, diatesi emorragica cutanea e/o mucosa, lesioni da grattamento;
- ricercare l'eventuale presenza di adenopatie, di epato-splenomegalia, di ipertrofia tonsillare.

Accertamenti di primo livello.

Gli accertamenti di primo livello sono finalizzati alla distinzione tra forme primitive e secondarie. Come **esami di base** è indicato eseguire:

- Emocromo con striscio per attenta valutazione morfologia di tutte le tre serie.
- Reticolociti.
- Assetto marziale (almeno sideremia e transferrinemia).
- Enzimi epatici e creatinina.
- Proteina C reattiva, LDH, VES.
- Emogeniche.
- Esame urine, urocoltura.

Nel caso ci si orienti verso una trombocitosi reattiva, si raccomanda il controllo dell'emocromo a distanza di 6 mesi dall'avvenuta guarigione, in stato di benessere.

Nei soggetti in cui le valutazioni precedenti non abbiano indirizzato verso alcuna eziologia, è sufficiente un controllo emocromocitometrico a distanza di 6 mesi, se i valori di piastrine sono inferiori a 900.000/mmc, mentre in caso di valori superiori, l'emocromo deve essere ricontrollato dopo 2 mesi. Se in tale occasione i valori di piastrine fossero in riduzione, si esegue un ulteriore controllo a distanza di 4 mesi, in caso contrario si passa immediatamente agli esami di secondo livello, anche in assenza di sintomi.

Gli esami di secondo livello sono effettuati subito nel caso in cui non si sospetti una forma secondaria e sia presente o sintomatologia (es. parestesie, eritromelalgia, cefalea,

distrubi del visus, dolore addominale, epistassi) o un valore di piastrine superiore a 1.500.000/mmc.

Gli **accertamenti di secondo livello** consistono in:

- Elettroforesi dell'Hb
- IgG, IgA, IgM, PPD, esami colturali
- IgE
- Esami autoimmunità
- Screening trombofilico
- VIII RCF
- Ecografia addominale, eventuale Rx torace

Accertamenti di terzo livello

Per i soggetti in cui gli esami di secondo livello non consentano alcuna ipotesi eziologica, si proseguono le indagini con **gli esami di terzo livello**, nel caso in cui i valori di piastrine siano maggiori di 700.000/mmc, o siano presenti sintomi, mentre se i valori sono inferiori, si effettuano ulteriori 6 mesi di osservazione prima di eseguirli.

Gli esami di terzo livello indicati sono:

- Dosaggio vitamina B12
- Ricerca della mutazione **JAK-2 V617F** e **CAL-R** su sangue periferico
- Ricerca molecolare sul sangue periferico del gene chimera BCR-ABL
- Aspirato midollare e/o osteomiobiopsia (differibili eventualmente a dopo l'acquisizione dei risultati genetici).
 - Sull'aspirato midollare : valutazione quantità e morfologia dei megacariociti; valutazione linea mielo-eritroide
 - Su osteomiobiopsia: valutazione della presenza e qualità di fibrosi, secondo le indicazioni di letteratura (3)
- Studio molecolare per la ricerca di mutazioni del gene *MPL* (si veda sezione specifica relativa alle forme ereditarie/familiari).

Infine, per una migliore definizione della diagnosi, specie se gli esami precedenti non risultino chiarificatori, può essere necessario eseguire accertamenti ulteriori, quali:

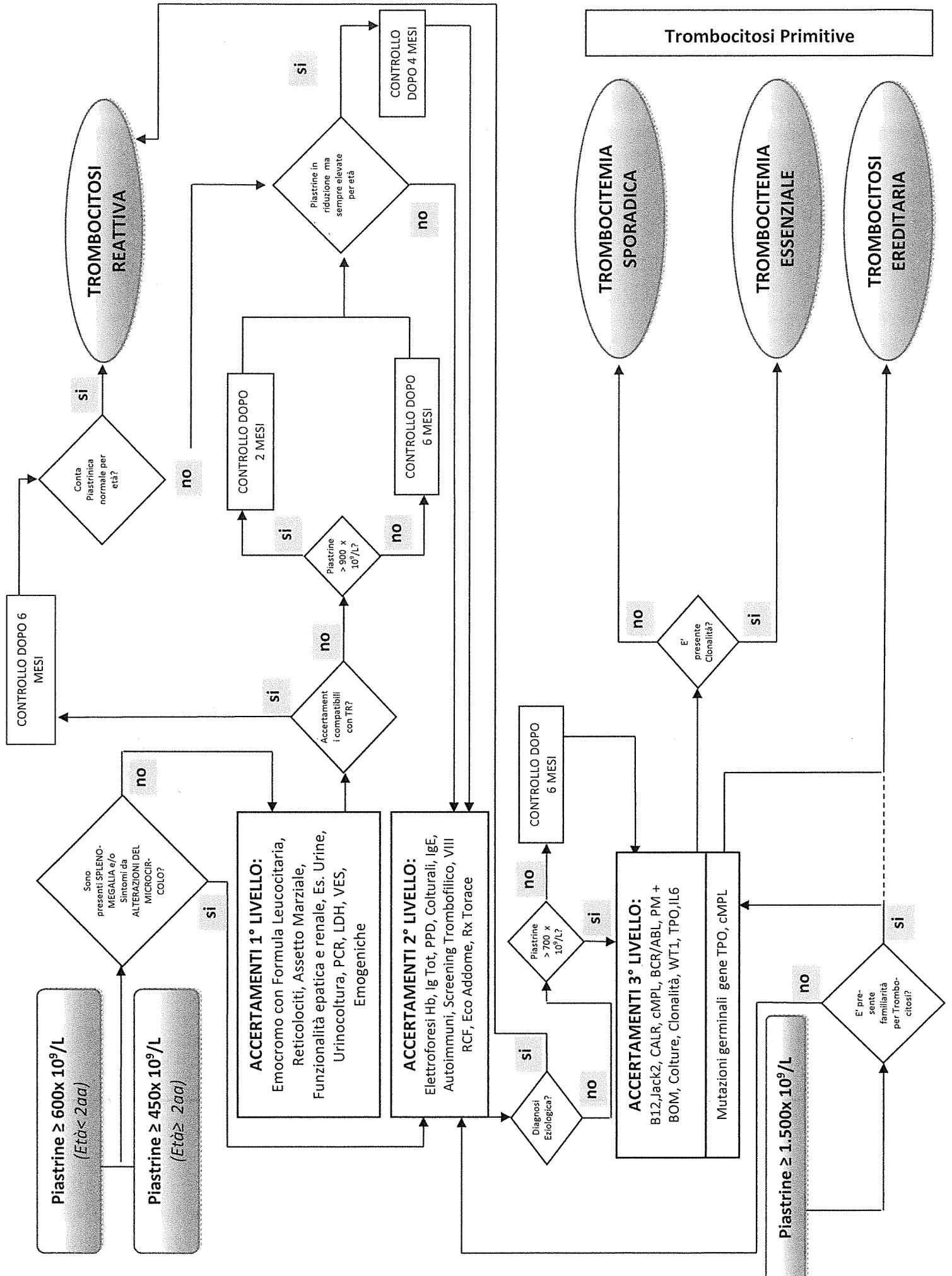
- Colture di progenitori su sangue periferico (EEC)
- Clonalità (Humara)
- WT1
- Mutazioni TPO
- Dosaggio TPO, IL-6 (a scopo di ricerca)

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI ESSENZIALI

1) Dame C, Sutor AH. Primary and secondary thrombocytosis in childhood. Br J Haematol. 2005;129:165-177.

2) Tefferi A, Gangat N, Wolanskyj AP. Management of extreme thrombocytosis in otherwise low-risk essential thrombocythemia: does number matter? Blood 2006; 108: 2493-2494.

3) Barbui T, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Boveri E, Ruggeri M, Rodeghiero F, d'Amore ES, Randi ML, Bertozzi I, Marino F, Vannucchi AM, Antonioli E, Carrai V, Gisslinger H, Buxhofer-Ausch V, Müllauer L, Carobbio A, Gianatti A, Gangat N, Hanson CA, Tefferi A. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. J Clin Oncol. 2011;29:3179-3184.



Capitolo III

TROMBOCITOSI post-SPLENECTOMIA

La trombocitosi è un fenomeno molto frequente nei pazienti che vengono sottoposti a splenectomia, indipendentemente dall'indicazione, dal momento che vengono meno le normali funzioni che la milza svolge nell'omeostasi piastrinica sia grazie alla sua funzione emocateretica, che alla sua capacità di sequestro.

La trombocitosi post-splenectomia viene considerata tra le forme secondarie, in cui occupa la seconda posizione per frequenza, dopo le infezioni (1, 2).

Generalmente il picco di conta piastrinica si ha dopo 1-3 settimane dall'intervento con un ritorno a valori normali nell'arco di settimane, mesi, talvolta anni, talvolta mai (3, 4).

La frequenza della trombocitosi è variabile nelle casistiche pubblicate in quanto diverse sono le caratteristiche dei pazienti (bambini, adulti, etc), le indicazioni alla splenectomia (malattie proliferative, anemie, PTI, trauma etc), la soglia piastrinica considerata (da 400 a 800 e anche 1000 x 10⁹/l).

L'incidenza di trombocitosi post-splenectomia è stata valutata essere compresa tra 28.6% e 93.5% (5,6,7,8,9,10,11), considerando una soglia compresa tra 400 e 650 x 10⁹/l. Se consideriamo studi esclusivamente pediatrici l'incidenza è più alta, 75.8-93,5% (9,10). In altri setting clinici, come per es. procedure di cardiocirurgia, la frequenza di trombocitosi è sensibilmente più bassa, 16,3% (12), avvalorando quindi il ruolo specifico della mancanza della milza nel determinare un aumento del numero di piastrine.

Non è chiaro se la trombocitosi espone al rischio di trombosi. Traetow riporta un'incidenza del 6% di tromboembolismo in 223 pz con trombocitosi post-splenectomia, contro 0.4% in 250 pz con piastrine normali (13); Stamou et al attribuiscono alla trombocitosi (con piastrine >650 x 10⁹/l) un ruolo nel far aumentare il rischio di trombosi della vena porta (PVT) dell'11 % (6). Esiste qualche segnalazione, in pazienti con talassemia, che assegna alla trombocitosi anche un ruolo predittivo del verificarsi di un possibile evento trombotico (14, 15). Al contrario Boxer riporta un'incidenza di complicazioni tromboemboliche nel 3.9% dei pazienti con trombocitosi contro l'1.3% in quelli senza trombocitosi, differenza non significativa (7). In uno studio retrospettivo su 6985 pazienti traumatizzati, gli autori non sono stati in grado di correlare gli eventi trombo embolici alla trombocitosi, per la contemporanea presenza di altri fattori potenzialmente confondenti, quali immobilità, il trauma stesso etc (16). Anche altri reports non correlano la trombocitosi agli eventi trombotici (17,8,9). Mesa R et al riportano che solo il 17% dei pazienti che hanno avuto una trombosi post-splenectomia aveva trombocitosi (5).

L'incidenza di trombocitosi estrema (>1000 x 10⁹/l), riportata solo in pazienti adulti è pari a 5,4% nei pazienti con malattia mieloproliferativa (5), 16,6-24,2% in casistiche di pazienti splenectomizzati per indicazioni varie (7,8). La valutazione del ruolo della trombocitosi estrema ha escluso la possibilità che i pazienti con PLT > 1.000 x 10⁹/l siano a maggior rischio di sviluppare fenomeni trombotici (7, 18).

In conclusione, la questione se i fenomeni trombotici dipendano in tutto o in parte dalla trombocitosi, o se siano correlati alla splenectomia di per sé, è ancora aperta; non è stato dimostrato una chiaro nesso causale tra aumento delle piastrine circolanti e trombosi; ma d'altra parte i dati disponibili sono derivati da studi non disegnati specificamente, trattandosi anzi per lo più di revisioni retrospettive o studi osservazionali.

Al momento non ci sono evidenze sufficienti per affermare che la trombocitosi è il principale fattore a determinare il rischio trombotico post-splenectomia. Pertanto la trombocitosi di per se non costituisce indicazione ad una terapia anti-trombotica.

Trombosi post splenectomia

La milza svolge un ruolo fondamentale nel controllo di vari fattori pro-trombotici, per cui la sua rimozione è associata ad un aumentato rischio di eventi trombotici, anche in pazienti senza precedenti condizioni patologiche, come ad es dopo traumi (19).

L'incidenza di fenomeni trombotici riportati cumulativamente nelle casistiche è di 90 su 1506 pazienti, pari al 5.9% (20, 17,6, 21, 22, 9, 14, 7). Considerando solo casistiche pediatriche sono riportati 8 eventi su 209, pari al 3.8% (20,21,9), che indicherebbe che i pazienti adulti sono maggiormente predisposti a sviluppare fenomeni trombotici, verosimilmente per la presenza di altri fattori pro-trombotici, età-correlati.

Gli eventi trombotici più frequenti sono la trombosi venosa profonda/embolia polmonare (DVT/PE) e la trombosi della vena porta/splenica (PVT). La prima è comune a tutte le procedure chirurgiche; l'incidenza riportata nella splenectomia non è superiore a quella di altri interventi chirurgici (19, 20), anzi è anche più bassa che in altri interventi addominali (8). Il più frequente evento trombotico post-splenectomia è la PVT, per la quale sono stati pubblicati diversi studi.

Trombosi della vena porta (PVT) post-operatoria

L'incidenza di PVT dopo splenectomia varia tra 1.6 e 11% (22, 23,24, 25). Più in dettaglio l'incidenza delle forme sintomatiche è 1.6% e di quelle asintomatiche 6.7% (22,26). Questa percentuale sale sensibilmente, fino al 12% negli studi prospettici (19). Le forme asintomatiche sono quelle che vengono riconosciute quando i pazienti vengono sottoposti a screening con diagnostica per immagini (ecografia, TC etc) anche in assenza di sintomi. Naturalmente il protocollo di sorveglianza (metodica di imaging prescelta, timing stabilito, etc) influenza grandemente i risultati, non consentendo così un confronto agevole dei risultati.

In uno studio retrospettivo interamente pediatrico sono state diagnosticati 4 casi (3 sintomatici) di PVT su 68 pazienti splenectomizzati (5.9%) (21).

L'incidenza varia molto a secondo della patologia di base: 12.8% nei linfomi, 12.3% nelle anemie emolitiche, 10.3% nelle malattie mieloproliferative, 1.6-1.7% nella PTI, e 0 nei traumi (19, 25).

Uno dei fattori di rischio riconosciuti è la dimensione della milza (27), probabilmente a causa della correlazione tra dimensione della milza e calibro della vena splenica; infatti in caso di splenomegalia imponente, il rimanente moncone della vena splenica forma un "cul de sac" che può fungere da sito "trigger" per la trombogenesi; d'altra parte una milza di grandi dimensioni può più semplicemente significare che la malattia di base, solitamente ematologica, è clinicamente maggiormente espressa.

Non è chiaro se la tecnica operatoria utilizzata (laparoscopia vs laparotomia) abbia un influenza sulla PVT (19).

La trombofilia genetica è stata in qualche caso chiamata in causa per spiegare l'insorgenza di PVT (28), ma non ci sono evidenze conclusive in tal senso.

Episodi di trombosi arteriosa sono molto più rari.

In conclusione, il rischio di PVT post splenectomia è nullo nei pazienti che vengono operati in seguito a trauma. Pertanto in questi pazienti non è indicata alcuna terapia, né alcuna profilassi.

Nei pazienti con PTI, il rischio di PVT post splenectomia è basso (1.6-1.7%) ma significativamente più elevato rispetto ai pazienti con PTI non splenectomizzati (25); il

rischio di PVT è consistente (10.3-12.8%) nei pazienti con malattia emolitica o mieloproliferativa; pertanto, nei pazienti con malattia ematologica, si raccomanda una sorveglianza clinica e strumentale post-splenectomia per cogliere tempestivamente l'eventuale PVT. Qualora ci fosse evidenza clinica e/o strumentale di PVT, occorre instaurare l'opportuna terapia.

Si può proporre una profilassi perioperatoria solamente in quei pazienti che vengono identificati come pazienti ad alto rischio: pazienti con malattie emolitiche o proliferative, con milza molto grande, con altri fattori di rischio concomitanti.

Splenectomia nelle anemie emolitiche

Talassemia

I pazienti con talassemia sono a rischio di sviluppare una malattia trombo embolica. Uno studio italiano su 735 pazienti talassemici rivela la frequenza di episodi trombotici nel 3.9% dei pazienti con talassemia major e nel 9.6% dei pazienti con talassemia intermedia (29). Un grosso studio epidemiologico condotto su 8860 pazienti mostra che il rischio trombotico è 4.4 volte maggiore nei pazienti con tal intermedia rispetto a quelli con tal major (30); è proprio alla tal intermedia che si riferisce la maggior parte degli studi pubblicati.

Il meccanismo è stato attribuito a vari fattori: l'attività pro-coagulante degli eritrociti lisati circolanti, che avrebbero "esposti" i fosfolipidi di membrana ad azione pro-coagulante, attivazione piastrinica, deplezione di fattori antitrombotici, lesioni endoteliali, suggerite dall'aumento di trombomodulina, insieme ad altri fattori sia genetici che acquisiti (30, 31).

Tra i fattori di rischio sono stati identificati la conta piastrinica elevata, la presenza di numerosi eritroblasti circolanti, la splenectomia, una storia trasfusionale caratterizzata da poche o assenti trasfusioni, oltre ai generici fattori di rischio quale l'anamnesi personale e/o familiare positiva per trombosi, età avanzata e co-morbidità (14,15).

E' stato ipotizzato che la splenectomia contribuisca ad aumentare la suscettibilità agli eventi trombotici sia per l'aumento del numero e dell'attivazione delle piastrine, che per l'aumento del numero di eritrociti circolanti "danneggiati" con maggiore potenziale pro-coagulante (32).

In effetti numerose sono le segnalazioni che suggeriscono un ruolo patogenetico importante della splenectomia nell'aumentare significativamente il rischio trombotico: sono stati segnalati in pazienti con talassemia intermedia, splenectomizzati, un'alta incidenza di infarti cerebrali silenti (33), di ipertensione polmonare, manifestazione di malattia trombo embolica (34). Un recente studio multicentrico condotto in Italia ed altri paesi del Medio Oriente, OPTIMAL CARE, ha rilevato che la splenectomia comporta un rischio significativamente elevato di acquisire altre complicazioni della talassemia, tra cui ipertensione polmonare e trombosi (35).

I dati disponibili sul ruolo terapeutico di anticoagulanti, antiaggreganti ed altri farmaci derivano da studi piccoli o con potenza statistica insufficiente. Nella talassemia intermedia è stato suggerito il ricorso a trasfusioni periodiche e ad antiaggreganti piastrinici al fine di diminuire/eliminare gli eritrociti danneggiati e l'attivazione piastrinica (36, 33), ma non è possibile, sulla base dei dati di letteratura, disporre di un sistema validato di stratificazione di rischio (37).

Sferocitosi ereditaria

Anche i pazienti con sferocitosi, sottoposti a splenectomia, mostrano un rischio di fenomeni ischemici, quale stroke, infarto, 5.9 volte superiore rispetto ai pazienti non splenectomizzati (38). Più dettagliatamente il rischio di andare incontro ad eventi trombotici rispetto ai soggetti non sottoposti splenectomia è stato valutato essere 7.15 volte superiore per gli eventi arteriosi e 3.33 volte per gli eventi venosi (39).

L'aumentata suscettibilità non può essere spiegata soltanto con l'emolisi, con esposizione di fosfolipidi ad azione pro-coagulante, in quanto dopo la splenectomia il fenomeno emolitico diminuisce enormemente e rimane confinato ad un livello subclinico. Infatti i livelli di emoglobina e di aptoglobina raggiungono valori pressochè normali. E' stato proposto che un ruolo importante abbia il colesterolo, tipicamente basso nei pazienti con anemia da sferocitosi ereditaria e poi, invece aumentato dopo splenectomia (40,10). D'altra parte pazienti con sferocitosi ereditaria non sottoposti a splenectomia beneficiano di un ruolo protettivo nei confronti dei fenomeni trombotici da parte di anemia, iperbilirubinemia e ipocolesterolemia, e dimostrano un'incidenza di fenomeni trombotici anche inferiore a quella dei familiari non affetti (41-44, 10).

In conclusione, questi dati devono indurre a considerare in maniera più restrittiva le indicazioni alla splenectomia nelle anemie emolitiche, riservandole ai casi in cui la condizione clinica di partenza giustifichi l'aumento del rischio trombotico post-splenectomia.

La splenectomia deve essere considerato nei pazienti con anemie emolitiche un fattore di rischio per trombosi e pertanto va opportunamente considerato nel singolo paziente, insieme alla eventuale presenza di altri co-fattori predisponenti per trombosi, quali immobilità, ipercolesterolemia, catetere vascolare, terapia estro-progestinica per le donne etc

Raccomandazioni

- Un chiaro nesso causale tra aumento delle piastrine circolanti e trombosi non è stato dimostrato; pertanto **la trombocitosi di per sè non costituisce indicazione ad una terapia anti-trombotica.**
- Per quanto riguarda l'evenienza di una **trombosi della vena porta (PVT)** nell'immediato periodo post-splenectomia,
 - **il rischio è nullo nei pazienti che vengono sottoposti a splenectomia per trauma.** Pertanto in questi pazienti non è indicata alcuna terapia, né alcuna profilassi.
 - **Il rischio è basso nei pazienti che vengono sottoposti a splenectomia per PTI; il rischio è consistente nei pazienti con malattia emolitica o mieloproliferativa; pertanto si raccomanda una sorveglianza clinica e strumentale post-splenectomia** per cogliere tempestivamente l'eventuale PVT. Qualora ci fosse evidenza clinica e/o strumentale di PVT, occorre instaurare l'opportuna terapia.
- Nella preparazione a splenectomia di un paziente con malattia emolitica o proliferativa va valutato **il rischio trombotico del singolo paziente** mediante valutazione di: eventuali precedenti anamnestici, dimensione della milza, trombofilia, catetere vascolare etc

- Per prevenire la PVT, è indicata una **profilassi perioperatoria solamente in quei pazienti che vengono identificati come pazienti ad alto rischio**: pazienti che vengono splenectomizzati per malattia emolitica o proliferativa, che abbiano fattori di rischio aggiuntivi quale presenza di milza molto grande e/o con altri fattori di rischio concomitanti
- I dati di prevalenza di trombosi nei pazienti con talassemia intermedia e sferocitosi ereditaria devono indurre a considerare in maniera più **restrittiva le indicazioni alla splenectomia nelle anemie emolitiche**, riservandole ai casi in cui la condizione clinica di partenza giustifichi l'aumento del rischio trombotico post-splenectomia.
- **La pregressa splenectomia deve essere considerato nei pazienti con anemie emolitiche un fattore di rischio per trombosi** e pertanto va opportunamente considerato nel singolo paziente, insieme alla eventuale presenza di altri co-fattori predisponenti per trombosi, quali immobilità, ipercolesterolemia, catetere vascolare, trombofilia, terapia estro-progestinica per le donne etc

Riferimenti bibliografici.

1. Buss DH, Cashell AW, O'Connor ML, Richards F 2nd, Case LD. Occurrence, etiology, and clinical significance of extreme thrombocytosis: a study of 280 cases. *Am J Med* 1994;96(3):247–253.
2. Dame C, Suor AH. Primary and secondary thrombocytosis in childhood. *British Journal of Haematology*, 129, 165–177, 2005
3. Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1981:1128–1134.
4. Lewis SM. The spleen. In: Hoffbrand AV, Catovsky D, Tuddenham EG eds. *Postgraduate hematology*. 5th Ed. Blackwell Publishing, Oxford 2005: 364.
5. Ruben A, Mesa, David S, Nagorney, Susan Schwager, Jacob Allred, Ayalew Tefferi. Palliative Goals, Patient Selection, and Perioperative Platelet Management. *CANCER* July 15, 2006 / Volume 107 / Number 2
6. Konstantinos M. Stamou, MD, PhD; Konstantinos G. Toutouzas, MD, PhD; Panagiotis B. Kekis, MD, PhD; Socrates Nakos, MD; Anthippi Gafou, MD; Andreas Manouras, MD, PhD; Eustathios Krespis, MD, PhD; Stylianos Katsaragakis, MD, PhD; John Bramis, MD, PhD. Prospective Study of the Incidence and Risk Factors of Postsplenectomy Thrombosis of the Portal, Mesenteric, and Splenic Veins. *Arch Surg*. 2006;141:663-669
7. Boxer MA, Braun J, Ellman L. Risk of postspelenectomy thrombocytosis. *Arch Surg* 113:808-11, 1978
8. Coon WW, Penner J, Clagett P, Eos N. Deep venous thrombosis and postsplenectomy thrombocytosis. *Arch Surg*. 1978 Apr;113(4):429-31.
9. Meekes I, van der Staak F, van Oostrom C. Results of splenectomy performed on a group of 91 children. *Eur J Pediatr Surg*. 1995 Feb;5(1):19-22.

10. Sarah B. Troendle, MD, Leah Adix, BS, CCRP, Shelley E. Crary, MD, and George R. Buchanan, MD. Laboratory Markers of Thrombosis Risk in Children With Hereditary Spherocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007;49:781–785
11. Raouf Hafsia, Sami Zriba, Emna Gouider, Naouel Ben Salah, Wejdane Borji, Abdejelil Zaouche. LA SPLENECTOMIE DANS LES ANEMIES HEMOLYTIQUES CONSTITUTIONNELLES : A PROPOS DE 82 CAS TUNISIENS. *La tunisie Medicale* - 2009 ; Vol 87 (n°05) : 323 - 327
12. M. Schmuziger, J.T. Christenson, J. Maurice, F. Simonet, V. Velebit. Reactive thrombocytosis after coronary bypass surgery. An important risk factor *Eur J Cardio-thorac Surg* (1995) 9:393-398
13. Traetow WD, Fabri PJ, Carey LC. Changing indications for splenectomy. 30 years' experience. *Arch Surg*. 1980 Apr;115(4):447-51.
14. Moratelli S, De Sanctis V, Gemmati D, Serino ML, Mari R, Gamberini MR, Scapoli GL. Thrombotic risk in thalassemic patients. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 1998;11 Suppl 3:915-21.
15. Taher AT, Musallam KM, Karimi M, El-Beshlawy A, Belhoul K, ELHOUL,§ S. DAAR,—M. SANED,§ C. CESARETTI** and M. D. CAPPELLINI**. Splenectomy and thrombosis: the case of thalassemia intermedia. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 2152–8.
16. Saadi Z, Inaba K, Barmparas G, Salim A, Talving P, Plurad D, Green D, Demetriades D. Extreme thrombocytosis in trauma patients: are antiplatelet agents the answer? *m Surg*. 2009 Oct;75(10):1020-4.
17. Grant IR, Parsons SW, Johnstone JM, Wood JK. Elective splenectomy in haematological disorders. *Ann R Coll Surg Engl*. 1988 Jan;70(1):29-33
18. Buss DH, Stuart JJ, Lipscomb GE. The incidence of thrombotic and hemorrhagic disorders in association with extreme thrombocytosis: An analysis of 129 cases. *Am J Hematol*, 1985; 20: 365–372
19. Krauth M-T, Lechner K, Neugebauer EAM and Pabinger I. The postoperative splenic/portal vein thrombosis after splenectomy and its prevention – an unresolved issue. *Haematologica* 2008; 93:1227-1232.
20. [Hafid M, Kaddouri N, Abdelhak M, Benhmamouch MN, Barahoui M. Portal vein thrombosis after splenectomy in childhood: report of 4 cases *Arch Pediatr*. 2009 Nov;16(11):1477-80. Epub 2009 Oct 7.
21. Tutku Soyer, Arbay O. Ciftci*, F. Cahit Tanyel, M. Emin S S enocak, Nebil Bu "yu "kpamukc ,u Portal vein thrombosis after splenectomy in pediatric hematologic disease: risk factors, clinical features, and outcome *Journal of Pediatric Surgery* (2006) 41, 1899–1902
22. Philippe C.J. Chaffanjon, M.D., Pierre-Yves Brichon, M.D., Yves Ranchoup, M.D., Remy Gressin, M.D., Jean Jacques Sotto, M.D. Portal Vein Thrombosis following Splenectomy for Hematologic Disease: Prospective Study with Doppler Color Flow Imaging. *World J. Surg*. 22, 1082–1086, 1998
23. Rattner DW, Ellman L, Warshaw AL. Portal vein thrombosis after elective splenectomy. *Arch Surg* 1993;128(5):565- 70.
24. Brink JS, Brown AK, Palmer BA, et al. Portal vein thrombosis after laparoscopy-assisted splenectomy and cholecystectomy. *J Pediatr Surg* 2003;38(4):644 -7.
25. Bolle S, White RH, Brunson A, Wun T. Splenectomy and the incidence of venous thromboembolism and sepsis in patients with immune thrombocytopenia. *Blood* 121: 4782-4790, 2013

26. Cohen J, Edelman RR, Chopra S. Portal vein thrombosis: a review. *Am J Med* 1992;29(2):173-81.
27. van't Riet M, Burger JW, van Muiswinkel JM, Kazemier G, Schipperus MR, Bonjer HJ. Diagnosis and treatment of portal vein thrombosis following splenectomy. *Br J Surg*. 2000;87:1229-1233.
28. Heijboer H, Brandjes DP, Buller HR, Sturk A, ten Cate JW. Deficiencies of coagulation inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with DVT. *N Engl J Med*. 1990;323:1512-1516.
29. Borgna Pignatti C, Carnelli V, Caruso V, Dore F, De Mattia D, Di Palma A, Di Gregorio F, Romeo MA, Longhi R, Mangiagli A, Melevendi C, Pizzarelli G, Musumeci S. Thromboembolic events in beta thalassemia major: an Italian multicenter study. *Acta Haematol*. 1998;99(2):76-9
30. Cappellini MD, Motta I, Musallam KM, Taher AT. Redefining thalassemia as a hypercoagulable state. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1202: 231–236.
31. Butthep P, Bunyaratvej A, Funahara Y, Kitaguchi H, Fucharoen S, Sato S, Bhamarapravati N. Alterations in vascular endothelial cell-related plasma proteins in thalassaemic patients and their correlation with clinical symptoms. *Thromb Haemost*. 1995 Oct;74(4):1045-9.
32. Atichartakarn V, Angchaisuksiri P, Aryurachai K, Onpun S, Chuncharunee S, Thakkestian A et al. Relationship between hypercoagulable state and erythrocyte phosphatidylserine exposure in splenectomized haemoglobin E/beta-thalassaemic patients. *Br J Haematol* 2002; 118: 893–898.
33. Taher AT, Musallam KM, Nasreddine W, Hourani R, Inati A, Beydoun A. Asymptomatic brain magnetic resonance imaging abnormalities in splenectomized adults with thalassemia intermedia. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 54–59.
34. Atichartakarn V, Likittanasombat K, Chuncharunee S, Chandanamatttha P, Worapongpaiboon S, Angchaisuksiri P et al. Pulmonary arterial hypertension in previously splenectomized patients with beta-thalassaemic disorders. *Int J Hematol* 2003; 78: 139–145.
35. Ali T, Taher A, Khaled M, Musallam K, Mehran Karimi, 2 Amal El-Beshlawy, 3 Khawla Belhouli, 4 Shahina Daar, 5, Mohamed-Salah Eldin Saned, 4 Abdul-Hamid El-Chafic, 1 Maria R. Fasulo, 6 and Maria D. Cappellini. Overview on practices in thalassemia intermedia management aiming for lowering complication rates across a region of endemicity: the OPTIMAL CARE study. *Blood*. 2010; 115:1886-1892
36. Taher A, Isma'eel H, Mehio G, Bignamini D, Kattamis A, Rachmilewitz EA et al. Prevalence of thromboembolic events among 8860 patients with thalassaemia major and intermedia in the Mediterranean area and Iran. *Thromb Haemost* 2006; 96: 488–491.
37. G. S. Abi Saad¹, K.M. Musallam² and A. T. Taher². The surgeon and the patient with β -thalassaemia intermedia. *British Journal of Surgery* 2011; 98: 751–760
38. Schilling RF. Spherocytosis, splenectomy, strokes, and heart attacks. *Lancet* 1997;350:1677–1678
39. Schilling, R.F., Gangnon, R.E. & Traver, M.I. (2008) Delayed adverse vascular events after splenectomy in hereditary spherocytosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 6, 1289–1295
40. Westerman MP. Hypocholesterolaemia and anaemia. *Br J Haematol* 1975; 31: 87–94.

41. Schilling RF, Gangnon RE, Traver M. Arteriosclerotic events are less frequent in persons with chronic anemia: evidence from families with hereditary spherocytosis. *Am J Hematol* 2006; 81: 315–17.
42. Kannel WB, Gordon T, Wolf PA, McNamara P. Hemoglobin and the risk of cerebral infarction: the Framingham study. *Stroke* 1972; 3: 409–19.
43. Gagnon DR, Zhang TJ, Brand FN, Kannel WB. Hematocrit and the risk of cardiovascular disease – the Framingham study: a 34 year follow-up. *Am Heart J* 1994; 127: 674–82.
44. Schwertner HA, Jackson WG, Tolan G. Association of low serum concentration of bilirubin with increased risk of coronary artery disease. *Clin Chem* 1994; 40: 18–23.

Capitolo IV

PROGNOSI E TRATTAMENTO

LA PROGNOSI E I FATTORI DI RISCHIO

La letteratura scientifica non fornisce informazioni significative sui criteri da utilizzare in età pediatrica per guidare il trattamento della TE. Esso risulta sostanzialmente empirico, guidato dalla necessità di risolvere i sintomi o dall'obiettivo di ridurre la conta piastrinica.

In età adulta, invece, vi è ampio consenso sull'importanza di una terapia guidata dal livello di rischio clinico, anche se vi è ancora discussione su quali criteri identificarlo.

Le linee guida pubblicate (1, 2, 3) hanno quindi affrontato il problema pediatrico in termini molto generici, suggerendo una grande cautela nell'uso sia degli antiaggreganti che soprattutto dei farmaci citoreducitori. Fu et al suggeriscono una terapia ritagliata sulle caratteristiche del paziente, ma non è noto quali criteri siano specifici per i bambini.

E' pertanto importante che vengano valutate le esperienze pediatriche non su casi singoli, ma in casistiche più ampie. Nel lavoro di Giona et al (4) è stato riportato il comportamento in un centro di ematologia di terzo livello, che dagli anni 80 in poi si è modificato, in particolare riducendo sempre di più l'uso di farmaci citoreducitori e limitando il trattamento ai soli pazienti sintomatici. Questo comportamento è il risultato di una progressiva consapevolezza della natura della TE pediatrica, ma non risulta applicato in modo uniforme nei centri italiani. Infatti una recente revisione di 58 casi trattati in 13 centri AIEOP ha riportato che solo 11 pazienti non assumevano alcuna terapia; 31 pazienti erano stati antiaggregati con ASA ed è stato fatto ampio uso di trattamenti citoreducitori (26 pazienti).

E' noto che la sopravvivenza dei pazienti con TE è sostanzialmente sovrapponibile a quella dei soggetti di pari età. Secondo quanto pubblicato finora (4, 5) questa affermazione sembra vera anche nei casi pediatrici, ma solo un follow-up a lunghissimo termine potrà confermare questo dato sulla prognosi quoad vitam.

L'obiettivo principale del trattamento è quindi quello di prevenire le complicanze: trombosi ed emorragie. Nella popolazione adulta con TE queste complicanze rappresentano il principale fattore di morbidità e mortalità e risultano significativamente associate a noti fattori di rischio (6) nella maggior parte delle casistiche. Abbiamo però ripetutamente osservato che esse sono meno frequenti nelle TE pediatriche (3 trombosi e 5 emorragie minori in 89 pazienti nell'esperienza AIEOP, nessuna complicanza trombo-emorragica nella casistica di Giona).

E' invece da considerare anche la necessità di trattare i sintomi minori, in particolare i disturbi microvascolari (cefalea, dolori addominali ricorrenti, disturbi visivi, eritromelalgie), che sono un problema clinicamente rilevante per i bambini affetti da TE. Alcuni di essi

rappresentano dei veri e propri attacchi ischemici transitori e potrebbero essere considerati come episodi trombotici iniziali.

La conta piastrinica di per sè invece non deve essere considerata motivo per iniziare il trattamento citoriduttivo (6), benchè sia un fattore di rischio emorragico.

I FATTORI DI RISCHIO

Ai fini terapeutici (6, 7, 8), i pazienti adulti con TE vengono suddivisi in due fasce di rischio, sulla base delle quali viene definita l'indicazione alla terapia citoriduttiva:

- *Paziente a basso rischio vascolare* (presenza di tutti i seguenti fattori):
 - Età inferiore a 60 anni
 - Nessun precedente evento trombotico
- *Paziente ad alto rischio vascolare* (presenza di almeno uno dei seguenti fattori):
 - Età pari o superiore a 60 anni
 - presenza di precedenti eventi trombotici

Questa suddivisione è stata suggerita già dagli anni '90 (9) e si riferisce in particolare alla prevenzione del rischio trombotico. La sua applicazione in età pediatrica (e quindi l'uso di citoriduzione nei soli pochissimi casi di trombosi già avvenuta), non permette la prevenzione del primo evento trombotico, limitandone di fatto l'utilità.

Numerosi altri fattori sia clinici che biologici sono stati presi in considerazione per migliorare l'identificazione dei criteri utili per le scelte terapeutiche; la loro importanza è discussa ampiamente in letteratura, ma mai definitivamente confermata.

La leucocitosi ($GB > 10 \times 10^9/L$) sembra correlare con il rischio trombotico specialmente in ambito arterioso, sia come marcatore di attivazione endoteliale, sia nell'avviare il processo trombotico (10, 11, 12). E' da chiarire se la leucocitosi di concomitanti stati infiammatori o disidratazioni possa avere ruolo scatenante nella comparsa di sintomi e complicanze.

L'importanza di altri fattori di rischio vascolare, sia metabolici che personali, quali diabete, ipertensione, dislipidemia, fumo, sottolinea certamente il ruolo dell'età, ma non può essere esclusa nemmeno nei bambini e adolescenti e dovrebbe quindi essere considerata anche nell'ambito dell'approccio generale al paziente. La presenza di concomitanti alterazioni trombofiliche familiari non è confermata come fattore di rischio in studio ampi, per cui Barbui (2) non ne raccomanda lo screening, anche se esse sono risultate significative su casistiche limitate (13).

La presenza della mutazione JAK2V617 è associata in alcuni studi a maggior incidenza di trombosi, sia come primo evento che come ricorrenza della complicanza, benché gli studi non siano univoci (14-19).

Recentemente, Barbui et al (8) e Passamonti et al (20) hanno proposto dei modelli di punteggi (IPSET-score) che tengano in considerazione anche altri criteri (il rischio cardiovascolare rappresentato da diabete, ipertensione, dislipidemie e fumo, lo stato mutazionale di JAK2 e la leucocitosi) e permettano l'identificazione di un'ulteriore categoria a rischio intermedio.

Benchè questi modelli siano difficilmente validabili per le TE pediatriche, essi suggeriscono che i fattori considerati giochino un ruolo nella patogenesi dell'evento trombotico; è quindi consigliabile tener conto anche di essi nel decidere l'approccio terapeutico al singolo paziente.

Non è noto se la recentemente descritta mutazione di CAL-R, che sembra associarsi a minor rischio trombotico, possa integrare questo score (21-24).

La conta piastrinica paradossalmente non correla con il rischio trombotico ma invece con il rischio emorragico, determinando un quadro di malattia di "von Willbrandt acquisita" (vWa). (25-28). In corso di citoriduzione, la diatesi emorragica si riduce. Quanto ciò sia trasferibile all'ambito pediatrico e quanto debba essere considerato nelle decisioni di terapia, non è ancora noto. Come detto, l'incidenza di emorragie gravi nell'esperienza AIEOP e di Giona è molto bassa, pur con conte piastriniche molto elevate (mediane $>1.000 \times 10^9/L$).

La suddivisione dei pazienti in gruppi di rischio basso e alto risulta poco efficiente per le decisioni "real life" in pediatria. E' certo che i pochissimi bambini che già hanno presentato un evento trombotico devono essere trattati con agenti citoriduttivi (evidenza di grado A). Per tutti gli altri bambini con ET a basso rischio trombotico la citoriduzione NON sarebbe indicata. La prevenzione dell'evento trombotico dovrebbe comunque affidarsi anche alla correzione di situazioni di rischio (in particolare il fumo negli adolescenti, ma anche dismetabolismi, obesità, correzione delle situazioni infiammatorie, eccetera).

E' quindi importante che la comunicazione della diagnosi sia accompagnata da approfondito colloquio che evidenzi tutti gli aspetti prognostici e i rischi terapeutici. Ogni complicanza trombotica rappresenta un evento impegnativo per il bambino, sia per se stessa sia per la necessità di terapia antitrombotica prolungata.

D'altra parte, è anche importante trattare e alleviare la sintomatologia micro vascolare che, quando presente, influisce significativamente sulla cenestesi del paziente pediatrico.

TERAPIA ANTIAGGREGANTE E ACIDO ACETILSALICILICO (ASA)

I disturbi del microcircolo rispondono bene alla terapia antiaggregante, principalmente rappresentata dall'acido acetilsalilico (ASA) a basse dosi. Dosi doppie o somministrazioni bi-giornaliere sono utili nei casi più resistenti (29). L'effetto dell'ASA sulla trombosi nelle TE non è certo, ma è traslato dall'esperienza nella PV; (studio ECLAP, 30). Recentemente l'ASA è risultato utile anche nella popolazione generale nel ridurre il ripetersi di gravi secondi eventi trombo embolici (31).

L'ASA può essere associato alla citoriduzione, anche se l'associazione all'anagrelide è messa in discussione per l'effetto antiaggregante sinergico di entrambi i farmaci (32, 33).

ASA è stato efficace nel prevenire trombosi nei pazienti adulti a basso rischio che avessero anche altri criteri (JAK2 mutazione o disturbi cardiovascolari) (34), mentre ha determinato maggior incidenza di emorragie gravi, specie nei casi di conte piastriniche maggiori di $1.000 \times 10^9/L$. Barbui (8) e Teferi (7) raccomandano di valutare l'entità del processo di vWa (attività del cofattore della ristocetina $>30\%$) per introdurre l'ASA.

Nel caso dei bambini, l'uso dell'ASA è inoltre messo in discussione dalla possibilità di sviluppo di tossicità epatiche (sindrome di Reye) a dosaggi interi. Essa viene comunque utilizzata in alcune patologie pediatriche (s. Kawasaki, malattia reumatica) (35).

In conclusione, ASA viene raccomandato (in assenza di controindicazioni o di grave vWa) nei pazienti adulti con TE a basso rischio: tutti, secondo Teferi, 2013 (7), solo se sintomatici o in presenza di fattori di rischio aggiuntivi secondo Barbui, 2012 (8).

L'esperienza italiana (4, 5), in cui ASA è stato usato in molti pazienti (54-79% dei casi) non ha mostrato alcuna emorragia grave, pur con conte piastriniche molto elevate (mediana $>1.000 \times 10^9/L$); sono invece descritte alcune emorragie lievi mucose e sottocutanee, sia spontanee che in corso di antiaggregazione. Il bilancio fra rischio emorragico e beneficio clinico deve quindi essere valutato nel singolo caso (2,7,8).

L'estrema cautela richiesta dai principali autori suggerisce anche che la dose antiaggregante iniziale (1-2,5-5 mg/kg/die, massimo 100 mg/die) potrebbe essere ridotta progressivamente fino ad identificare la dose minima efficace, anche somministrandola a giorni alterni (esperienza personale).

Riportiamo a conferma di questa posizione le raccomandazioni di due importanti esperti nelle TE dell'adulto:

"Noi raccomandiamo l'uso di aspirina nei pazienti più giovani senza storia di trombosi nel caso in cui siano presenti fattori di rischio cardiovascolare o positività alla mutazione di JAK2V617F, poiché il tasso atteso di sanguinamenti (1%/paziente/anno) è inferiore al beneficio previsto" - Barbui, 2012, (8)

"Io raccomando l'uso di ASA a basse dosi (81 mg/die, range 40-100 mg/die) in tutti i pazienti con TE a basso rischio, che non presentino controindicazioni maggiori, incluso un vWa clinicamente significativo, (cioè con attività del cofattore di ristocetina $<30\%$), che si associ a conte piastriniche estreme ($>1000 \times 10^9/L$)" - Teferi Am J Haem 2013 (7)

TERAPIA CITORIDUTTIVA

Poiché, se necessaria, la citoriduzione va proseguita per periodi di tempo molto lunghi, se non a vita, è necessario tenere in considerazione non solo l'efficacia nel prevenire il rischio trombotico, ma anche l'impatto su potenziali rischi a lunga distanza, in particolare la crescita, la fertilità e la possibilità di evoluzione mielofibrotica o leucemica.

Questo, oltre alle considerazioni di cui sopra, limitano il suo uso a un numero molto scarso di pazienti pediatrici, in cui la diagnosi di TE sia stata confermata da tutti i criteri disponibili. La citoriduzione può esser presa in considerazione anche in pazienti con gravi sintomi clinici resistenti all'ASA, piastrinosi estreme, splenomegalia in crescita progressiva (4, 8).

Gli agenti citoriduttivi utilizzabili in età pediatrica sono: idrossicarbamide (idrossiurea), anagrelide, alfa-interferone.

Idrossicarbamide, HU, Idrossiurea)

L'idrossiurea è un farmaco chemioterapico antimetabolita, largamente impiegato nella terapia della TE. Esso ha dimostrato di ridurre significativamente il rischio trombotico sia

venoso che arterioso (anche forse per l'effetto sui leucociti); solitamente viene associato all'ASA (36). E' quindi considerato il farmaco di prima linea per la terapia della TE ad alto rischio.

In genere si somministra alla dose iniziale di 15-30 mg/kg/die (500-1500 mg al giorno). Una volta raggiunta la risposta, la dose va modulata in base ai valori dell'emocromo (GB>2500 x 10⁹/L, Pts normali). Consente un buon controllo delle complicanze vascolari ed i pazienti godono di buona qualità di vita. Può provocare tossicità ematologica, ulcere torpide agli arti inferiori e ulcere orali. La possibilità di indurre trasformazione maligna è oggi considerata aneddotica (7). Il suo uso a lungo termine in bambini e adulti affetti a drepanocitosi, sembra escludere effetti seri su crescita, fertilità e trasformazione maligna (37), ma quest'ultimo dato dovrebbe essere considerato con cautela in patologie clonali quali TE. In caso di concepimento e gravidanza, OHU va sospeso (3 mesi prima nei maschi, 6 mesi nelle femmine (6).

Anagrelide

L'anagrelide è un agente antiaggregante che riduce il numero delle piastrine mediante una soppressione selettiva della megacariocitopoiesi. Il farmaco viene somministrato in modo continuativo per bocca a dosi giornaliere variabili da 0,5 a 2,5 mg. L'anagrelide può presentare effetti collaterali quali cefalea, ritenzione idrica, palpitazioni e scompenso cardiaco. Il suo uso è per ora suggerito dalla letteratura solo in caso di resistenza o intolleranza agli altri citoreducitori. In particolare, il controllo degli effetti ematologici richiede l'esecuzione periodica della biopsia osteomidollare. E' autorizzato in pediatria a partire dai 12 anni; sono descritti in letteratura alcuni piccoli gruppi di pazienti trattati senza effetti collaterali per lungo tempo (38).

Idrossicarbamide ed anagrelide sono stati confrontati in due studi specifici. Il più numeroso (PT1, Harrison, 2005: HU + ASA vs Anagrelide +ASA) (36), ha mostrato una maggiore efficacia di HU sulla prevenzione della trombosi arteriosa e di Anagrelide nella trombosi venosa. Inoltre il gruppo trattato con Anagrelide ha presentato maggior incidenza di fibrosi midollare, forse legato alla imperfetta selezione dei pazienti. Infatti, l'esclusione dei casi di Mielofibrosi Primitiva (PMF) ha permesso nello studio Anhydret (anche se con diversa numerosità dei pazienti) di non trovare più alcuna incidenza di fibrosi e di dimostrare la non inferiorità tra i due farmaci (39).

Alfa-Interferone

L'interferone alfa (α -IFN) possiede una spiccata attività antiproliferativa sulla linea megacariocitaria. Il farmaco ha dimostrato una buona efficacia nella TE, consentendo di ottenere una risposta ematologica nel 90% circa dei pazienti (40). L'assenza di rischio mutageno e teratogeno lo rende particolarmente sicuro nei pazienti di età inferiore ai 40 anni e nelle donne fertili o in caso di gravidanza. I problemi legati all'impiego dell' α -IFN sono costituiti dalla via di somministrazione sottocutanea e dagli effetti collaterali che spesso conducono all'interruzione del trattamento nel 20-30% dei pazienti. Il dosaggio medio di α -IFN è di 3 MUI per 3 volte la settimana. Migliore compliance si ottiene usando α -IFN pegilato in dosi settimanali di 90 ug, che ha ottenuto anche risposte molecolari sostenute (riduzione del clone JAK2 mutato nel 70-80% dei casi e sua scomparsa nel 5-10%) (41). Queste caratteristiche lo renderebbero il farmaco preferibile per l'età pediatrica,

ma gli effetti collaterali sono poco tollerati dai bambini. Mancano peraltro ancora dati definitivi di confronto sulla sua efficacia nella riduzione del rischio trombotico.

VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA ALLA TERAPIA

In caso di terapia citoriduttiva, è importante chiarire i criteri di risposta alla terapia. Questa infatti può essere valutata a livello ematologico (numero di piastrine, sintomatologia), molecolare (carico allelico di mutazioni *JAK2/MPL/CALR*), istopatologico (normalizzazione dei megacariociti e assenza di fibrosi) (42). In termini pratici, si definisce risposta completa alla terapia un valore di piastrine inferiore alle $450 \times 10^9/L$ e dei globuli bianchi inferiore a $10 \times 10^9/L$, con scomparsa di segni e sintomi associati (per esempio splenomegalia), laddove presenti all'esordio della malattia. Va ricordato però che anagrelide non riduce la splenomegalia, a differenza degli altri due farmaci. Lo studio delle tre classi di risposta non è però chiaramente correlato con il beneficio sul rischio trombotico e permette di comprendere solo parzialmente il ruolo dei diversi farmaci citoriducenti. Per l'età pediatrica si tratta di valutazioni impegnative, ma che potrebbero dare informazioni accurate all'interno di uno studio clinico.

PROPOSTA DI RACCOMANDAZIONI

Il lavoro di Giona et al. (4) ha mostrato come l'atteggiamento terapeutico molto conservativo attualmente suggerito per i pazienti giovani ed esteso alla pediatria si sia affermato nel tempo, con il crescere della consapevolezza e delle conoscenze sulle TE in generale e pediatriche. Non si tratta però, come già visto, di un comportamento diffuso. Anche la letteratura riporta numerosi casi di terapie citoriduttive in bambini senza criteri di alto rischio. E' quindi importante formulare delle raccomandazioni chiare in ambito pediatrico, in modo di offrire ai bambini con TE il trattamento migliore, sia per ridurre i sintomi che per evitare le complicanze (43).

Possiamo affermare che:

- Sicuramente i rari bambini con trombosi maggiori meritano terapia citoriduttiva
- Non è noto se sia necessario EVITARE la trombosi o se sia sufficiente prevenire la ripetizione dell'evento (confronto con le Trombofilie familiari)
- Il numero di piastrine che può favorire le complicanze emorragiche non è ancora stabilito
- L'approccio wait and watch va confrontato con qualsiasi trattamento

I criteri di risposta alla terapia rivisti nel 2013 potrebbero essere applicati alla valutazione nei bambini sottoposti a citoriduzione (42), anche se l'esecuzione degli studi istologici rappresenta un aggravio clinico per il paziente. Ciononostante, tutti i bambini sottoposti a terapia citoriduttiva dovrebbero essere monitorati per possibile evoluzione fibrotica con

biopsia osteomidollare (cfr: Follow-up). Per il momento, la valutazione della risposta molecolare è considerata solo nell'ambito di studi.

Non ci sono dati in merito alla sospensione della citoriduzione, alla quale dovrebbe eventualmente fare seguito, in caso di conte persistentemente ridotte, terapia con ASA (secondo l'indicazione di Brighton , 31).

Le incertezze che ancora permangono in quest'ambito suggeriscono di arruolare i pazienti con diagnosi di TE/TS accuratamente eseguita in studi prospettici, in modo di permettere un adeguato confronto con le linee guida proposte per l'adulto ed eventualmente mettere in luce le possibili differenze.

RACCOMANDAZIONI del gruppo di studio AIEOP:

1. Diagnosi accurata di TE/TS

2. TE/TS a BASSO RISCHIO (non eventi trombotici)

2.1 TE/TS senza sintomi micro vascolari:

terapia citoriduttiva: mai indicata

terapia antiaggregante

- non è indicata neanche in presenza di conta piastrinica estrema ($>1500 \times 10^9/L$)

- da valutare (in assenza di controindicazioni cliniche o vWa) nei seguenti casi

- in presenza di fattori di rischio cardiovascolari o di familiarità

- in casi JAK2v617F mutati (non noto CAL-R)

2.2 TE/TS Sintomatica (con sintomi micro vascolari):

- conta pts $< 1500 \times 10^9/L$: ASA a dosi basse (1-5 mg/kg, max 100 mg/die)

- conta pts $>1500 \times 10^9/L$: ASA riduzione a dosaggi minimi efficaci

2.3 TE/TS con eritromelalgie : possibile aumento del dosaggio di ASA e BID (max 500 mg x 2) o associare un altro antiaggregante (dipiridamolo)

2.4 TE/TS con sintomi ischemici cerebrali (TIA): valutare citoriduzione+ASA

2-5 TE/TS sintomatica con emorragie/vWa: valutare citoriduzione

2.6 TE/TS con splenomegalia progressiva: citoriduzione con HU/ α -IFN

In questi casi, obiettivo della terapia antiaggregante è la risoluzione dei sintomi.

3 Trombosi presente: TE/TS a ALTO RISCHIO: citoriduzione

3.1- iniziare con HU+ASA

3.1 se intolleranza o resistenza: α -IFN

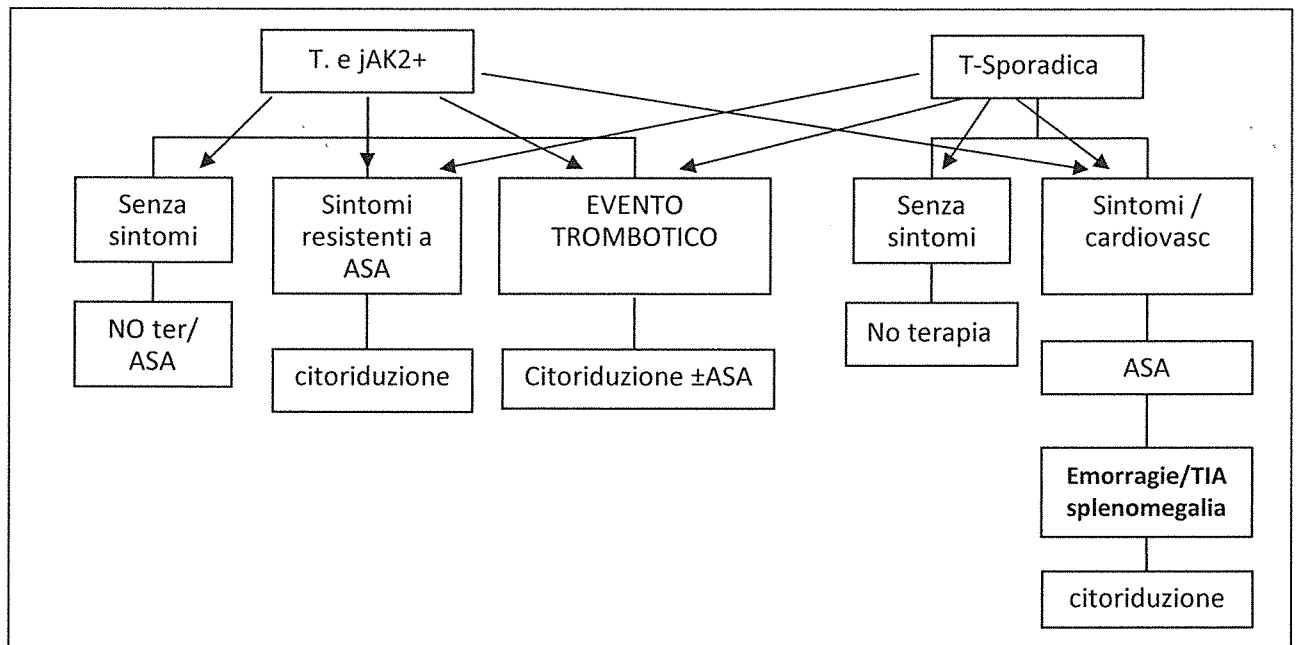
3.1 se intolleranza o resistenza Anagrelide (NO ASA)

3.2 associare sempre ASA se Trombosi arteriosa

3.3. Se TVP Trattamento antitrombotico (anticoagulanti orali, LMWH):

In questi ultimi casi, l'obiettivo della terapia citoriduttiva è la risposta ematologica.

FLOW CHART TERAPIA



Riferimenti bibliografici essenziali

- 1) Harrison CN, Bareford D, Butt N, Campbell P, Conneally E, Drummond M, Erber W, Everington T, Green AR, Hall GW, Hunt BJ, Ludlam CA, Murrin R, Nelson-Piercy C, Radia DH, Reilly JT, Van der Walt J, Wilkins B, McMullin MF. Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *Br J Haematol*. 2010; 149: 352-75.
- 2) Barbui T. How to manage children and young adults with myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2012; 26:1452-1457.
- 3) Fu R, Zhang L, Yang R. Paediatric essential thrombocythaemia: clinical and molecular features, diagnosis and treatment. *Br J Haematol*. 2013;163: 295-302.
- 4) Giona F, Teofili L, Moleti ML, Martini M, Palumbo G, Amendola A, Mazzucconi MG, Testi AM, Pignoloni P, Orlando SM, Capodimonti S, Nanni M, Leone G, Larocca LM, Foà R. Thrombocythemia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biologic features, treatment, and long-term outcome. *Blood*. 2012;119: 2219-2227.
- 5) Putti MC, Giona F, Consarino C, et al. Retrospective Evaluation of 90 Children with Essential Thrombocythemia: The AIEOP Experience. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2008; 112: 664.
- 6) Finazzi G. How to manage essential thrombocythemia. *Leukemia*. 2012; 26: 875-882.
- 7) Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2013; 88: 507-516.
- 8) Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, Gisslinger H, Buxhofer-Ausch V, De Stefano V, Betti S, Rambaldi A, Vannucchi AM, Tefferi A. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood* 2012;120: 5128-5133.
- 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; 27; 332: 1132-1136.
- 10) Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, Spinelli O, Delaini F, Marchioli R, Borrelli G, Rambaldi A, Barbui T. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood* 2007;109: 2310-2313.

- 11) Passamonti F, Rumi E, Pascutto C, Cazzola M, Lazzarino M. Increase in leukocyte count over time predicts thrombosis in patients with low-risk essential thrombocythemia. *J Thromb Haemost.* 2009; 7:1587-1589.
- 12) Barbui T, Carobbio A, Finazzi G, Vannucchi AM, Barosi G, Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Salmoiraghi S, Zilio P, Ottomano C, Marchioli R, Cuccovillo I, Bottazzi B, Mantovani A, Rambaldi A. Inflammation and thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: different role of C-reactive protein and pentraxin 3. *Haematologica.* 2011; 96: 315-318.
- 13) Trifa AP, Cucuiann A, Popp RA, Coada CA, Costache RM, Militaru MS, Vesa SC, Pup IV. The relationship between Factor V Leiden, prothrombin G20210A and MTHF mutation and the first major thrombotic episode in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Ann Haematol* 2014; 93: 203-209
- 14) Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT, Duffy A, Boyd EM, Bench AJ, Scott MA, Vassiliou GS, Milligan DW, Smith SR, Erber WN, Bareford D, Wilkins BS, Reilly JT, Harrison CN, Green AR. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005; 366: 1945-1953.
- 15) Cheung B, Radia D, Pantelidis P, Yadegarfar G, Harrison C. The presence of the JAK2 V617F mutation is associated with a higher haemoglobin and increased risk of thrombosis in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol.* 2006; 132: 244-245.
- 16) Finazzi G, Rambaldi A, Guerini V, Carobbo A, Barbui T. Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2 V617F mutation status. *Haematologica.* 2007 Jan;92(1):135-6.
- 17) Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bogani C, Verrucci M, Ponziani V, Longo G, Bosi A, Vannucchi AM. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005; 19: 1847-1849.
- 18) Lussana F, Caberlon S, Pagani C, Kamphusen PW, Boller HR, Cattaneo M. Association of the V617F JAK2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythemia or idiopathic myelofibrosis: a systematic review. *Thromb Res* 2009; 124: 409-417.
- 19) De Stefano V, Za T, Rossi E, Vannucchi AM, Ruggeri M, Elli E, Micò C, Tieghi A, Cacciola RR, Santoro C, Vianelli N, Guglielmelli P, Pieri L, Scognamiglio F, Cacciola E, Rodeghiero F, Pogliani EM, Finazzi G, Gugliotta L, Leone G, Barbui T. Increased risk of recurrent thrombosis in patients with essential thrombocythemia carrying the homozygous JAK2V617F mutation. *Ann Haematol* 2010; 85: 97-100

- 20) Passamonti F, Thiele J, Girodon F, Rumi E, Carobbio A, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Ruggeri M, Randi ML, Gangat N, Vannucchi AM, Gianatti A, Gisslinger B, Müllauer L, Rodeghiero F, d'Amore ES, Bertozzi I, Hanson CA, Boveri E, Marino F, Maffioli M, Caramazza D, Antonioli E, Carrai V, Buxhofer-Ausch V, Pascutto C, Cazzola M, Barbui T, Tefferi A. A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization-defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. Blood. 2012; 120: 1197-1201
- 21) Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, Them NC, Berg T, Gisslinger B, Pietra D, Chen D, Vladimer GI, Bagienski K, Milanese C, Casetti IC, Sant'Antonio E, Ferretti V, Elena C, Schischlik F, Cleary C, Six M, Schalling M, Schönegger A, Bock C, Malcovati L, Pascutto C, Superti-Furga G, Cazzola M, Kralovics R. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. N Engl J Med. 2013; 369: 2379-2390.
- 22) Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P, Pacilli A, Pancrazzi A, Pieri L, Fanelli T, Bosi A, Vannucchi A. Impact of Calreticulin Mutations on Clinical and Hematological Phenotype and Outcome in Essential Thrombocythemia. Blood. 2014; 123:1552-1555
- 23) Tefferi A, Wassie E, Lasho T, Finke C, Belachev AA, Ketterling R, Hanson C, Pardanani A, Gangat N, Wolanskyj A. Calreticulin mutation and long term survival in essential thrombocythemia. Leukemia, 2014; 1-4
- 24) Gangat N, Wassie E, Lasho T, Finke C, Ketterling R, Hanson C, Pardanani A, Wolanskyj A, Maffioli M, Casalone R, Passamonti F, Tefferi A. Mutations and thrombosis in essential thrombocythemia: prognostic interaction with age and thrombosis history. Eur J Haematol. 2014 Jun [Epub ahead of print]
- 25) Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, Randi ML, Bertozzi I, Vannucchi AM, Antonioli E, Gisslinger H, Buxhofer-Ausch V, Gangat N, Rambaldi A, Tefferi A, Barbui T. Incidence and risk factors for bleeding in 1104 patients with essential thrombocythemia or prefibrotic myelofibrosis diagnosed according to the 2008 WHO criteria. Leukemia. 2012; 26: 716-719.
- 26) Tefferi A, Gangat N, Wolanskyj AP. Management of extreme thrombocytosis in otherwise low-risk essential thrombocythemia: does number matter? Blood 2006; 108: 2493-2494.
- 27) Van Genderen PJJ, Budde A, Michiels JJ, van Strik R, van Vliet HH. The reduction of large von Willebrand factor multimers in plasma in essential thrombocythemia is related to the platelet count Br J Haematol 1996; 93: 962-965
- 28) Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. Br J 2005;128: 275-290.

- 29) 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; 102: 466-471
- 30) 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
- 31) Brighton TA, Eikelboom JW, Mann K, Mister R, Gallus A, Ockelford P, Gibbs H, Hague W, Xavier D, Diaz R, Kirby A, Simes J. Low dose aspirin for preventing recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2012; 367: 1979-1987.
- 32) Besses C, Kiladjian JJ, Griesshammer M, Gugliotta L, Harrison C, Coll R, Smith J, Abhyankar B, Birgegård G. Cytoreductive treatment patterns for essential thrombocythemia in Europe. Analysis of 3643 patients in the EXELS study. *Leuk Res* 2013; 37: 162-168.
- 33) Alvarez-Larrán A, Pereira A, Arellano-Rodrigo E, Hernández-Boluda JC, Cervantes F, Besses C. Cytoreduction plus low-dose aspirin versus cytoreduction alone as primary prophylaxis of thrombosis in patients with high-risk essential thrombocythaemia: an observational study. *Br J Haematol* 2013; 161: 865-871.
- 34) Alvarez-Larrán A, Cervantes F, Pereira A, Arellano-Rodrigo E, Pérez-Andreu V, Hernández-Boluda JC, Ayats R, Salvador C, Muntanola A, Bellosillo B, Vicente V, Hernández-Nieto L, Burgaleta C, Xicoy B, Besses C. Observation versus antiplatelet therapy as primary prophylaxis for thrombosis in low-risk essential thrombocythemia. *Blood*. 2010; 116: 1205-1210.
- 35) Eleftheriou D, Levin M, Shingadia D, Tulloh R, Klein NJ, Brogan PA, Management of Kawasaki disease *Arch Dis Child* 2014; 99: 74-83.
- 36) 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
- 37) De Montalembert M, Davies SC. Is hydroxyurea leukemogenic in children with sickle cell disease? *Blood*. 2001; 98:2878-2879
- 38) Lackner H, Urban C, Benesch M, Moser A, Sovinz P, Schwinger W, Dornbusch HJ. Long-term use of anagrelide in the treatment of children with essential thrombocythemia. *Eur J Haematol* 2006;77:358-359.
- 39) Gisslinger H1, Gotic M, Holowiecki J, Penka M, Thiele J, Kvasnicka HM, Kralovics R, Petrides PE. Anagrelide compared with hydroxyurea in WHO-classified essential thrombocythemia: the ANAHYDRET Study, a randomized controlled trial *Blood*. 2013; 121: 1720-1728.
- 40) Kiladjian JJ, Chomienne C, Fenaux P. Interferon-alpha therapy in bcr-abl-negative myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2008; 22:1990-1998.
- 41) Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Manshouri T, Luthra R, Estrov Z, Pierce S, Richie MA, Borthakur G, Konopleva M, Cortes J, Verstovsek S. Pegylated interferon alfa-

2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. J Clin Oncol. 2009; 27: 5418-5424.

42) Barosi G, Mesa R, Finazzi G, Harrison C, Kiladjian JJ, Lengfelder E, McMullin MF, Passamonti F, Vannucchi AM, Besses C, Gisslinger H, Samuelsson J, Verstovsek S, Hoffman R, Pardanani A, Cervantes F, Tefferi A, Barbui T. Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project. Blood. 2013;121: 4778-4781.

43) Randi ML, Putti MC. Essential thrombocythaemia in children: is a treatment needed? Expert Opin Pharmacother. 2004;5(5):1009-1014.

Capitolo V

FOLLOW UP

Le difficoltà incontrate nel delineare la diagnosi e il trattamento delle trombocitosi in età pediatrica si riflettono anche nello stabilirne un adeguato follow up. Attualmente infatti non disponiamo di dati di letteratura che possano aiutare a definire quali esami effettuare, con quale tempistica e per quanto tempo. Il follow up dovrà quindi ragionevolmente basarsi su tre criteri principali:

- 1) causa della trombocitosi (reattiva o primitiva)
- 2) possibile evolutività
- 3) sorveglianza delle complicanze.

Nei casi di *trombocitosi reattive*, che rappresentano percentualmente la quota più rilevante delle trombocitosi in età pediatrica, il follow up verrà stabilito in riferimento alla patologia di base e seguirà quindi le indicazioni derivate da protocolli in uso presso le singole realtà o linee guida specifiche fino a normalizzazione della quota piastrinica. In caso di risoluzione della causa principale con persistenza della trombocitosi è necessario rivedere la diagnosi di trombocitosi reattiva.

Nei casi di *trombocitosi primitive* il discorso è reso più complesso da almeno due aspetti: il primo concerne la difficoltà nel fare riferimento a dati della letteratura poichè essi riguardano principalmente la popolazione adulta, affetta per lo più da Trombocitemia essenziale; la seconda è relativa alla possibile diversità evolutiva e al diverso rischio di complicanze essendo le due popolazioni, quella pediatrica e quella adulta, differenti per cause della trombocitosi (forme ereditarie, più frequenti nelle cohorti pediatriche, vs forme monoclonali) e per la presenza, nella popolazione adulta, di fattori di rischio aggiuntivi (stili di vita, fumo, ipertensione, iperlipidemia, diabete) favorenti l'insorgenza di trombosi (1). Inoltre, alcune peculiarità rendono non del tutto applicabili i criteri WHO per la definizione della trombocitemia essenziale in età pediatrica (2). Le complicanze delle trombocitosi primitive riguardano gli eventi trombotici o emorragici e la possibile evoluzione verso fibrosi midollare o leucemia franca. I dati circa l'incidenza di tali complicanze sono riferibili per lo più alla popolazione adulta (3). I dati su pazienti pediatrici sono a tale riguardo incerti e necessitano di una raccolta prospettica più ampia per valutarne la reale incidenza; inoltre nella popolazione pediatrica studiata sembrano coesistere entità differenti (le forme sporadiche simili a quelle essenziali dell'adulto e le forme ereditarie) che sembrano avere una diversa prognosi (4,5). In un recente studio esclusivamente pediatrico si evidenzia inoltre come una quota rilevante di pazienti sia affetta da forme ereditarie (6); lo stesso studio non mostra differenze per quanto concerne le modalità di esordio, le caratteristiche ematologiche e l'aspetto midollare (caratterizzato da fibrosi assente o di grado lieve all'esordio) nel gruppo con trombocitemia non familiare e trombocitemia familiare (TF) e, nell'ambito delle prime, tra il sottogruppo di pazienti con

mutazione *JAKV617F* e *JAK* wild-type. Inoltre, il burden mutazionale *JAKV617F* non sembra essere influenzato dalla terapia citoreducente. Nessun paziente di questa coorte ha presentato eventi trombotici come modalità d'esordio mentre si conferma un'incidenza aumentata di tali eventi in pazienti con TF da mutazioni *MPLS505A*, come da precedenti dati della letteratura (6,7). Per quanto riguarda l'aumento della reticolina midollare (grado I-II) accompagnato dalla comparsa di splenomegalia, si sono registrati nel 8% dei pazienti con T. non familiare e in nessun paziente con TE. Per la possibile diversità evolutiva e il rischio di complicanze nei pazienti pediatrici tale lavoro suggerisce la necessità di escludere *in primis* le forme familiari correlate a mutazioni germinali di geni noti nei pazienti pediatrici, al fine di evitare indagini non appropriate o iter diagnostici errati.

Sulla base di tali considerazioni, si possono suggerire quindi follow up in parte comuni a tutti i pazienti e in parte diversificati a seconda della causa, nell'ambito delle trombocitosi primitive:

- 1) tutti i pazienti pediatrici affetti da Trombocitosi primitiva necessitano di valutazioni almeno semestrali comprendenti: emocromo + formula, striscio periferico e valutazione degli organi parenchimali;
- 2) anche se il rischio trombotico in tali pazienti è inferiore a quanto riportato negli adulti, poichè la concomitanza di leucocitosi, infezioni e interventi chirurgici sembra aumentare tale rischio, occorre effettuare un'attenta sorveglianza soprattutto in pazienti con forme ereditarie (*MPL S505A*) e forse in TE *JAK2V617F* positivi. In tali circostanze; in particolare, occorre prendere in considerazione la profilassi con eparina a basso peso molecolare in pazienti con TP nel post-operatorio (1);
- 3) e' consigliata l'esecuzione della biopsia ossea all'esordio e almeno ogni tre anni, per valutare il grado di fibrosi, nei pazienti in trattamento con anagrelide data la possibile insorgenza di mielofibrosi farmaco correlata (1, 8). Inoltre va eseguita in caso di comparsa di splenomegalia o per variazioni del quadro clinico
- 4) Si ritiene inoltre necessario consigliare uno stile di vita adeguato a prevenire l'insorgenza di complicanze agli adolescenti con trombocitemia primitiva. Occorre pertanto raccomandare l'astensione da fumo, alcool e droghe.

Riferimenti bibliografici essenziali

- 1) Harrison C.N., Bareford D. et al "Guideline for investigation and managements of adult and children presenting with a thrombocytosis" Br J Haematol, 2010;149:352-75
- 2) Teofili L., Giona F., "The revised WHO diagnostic criteria for Ph-negative myeloproliferative diseases are not appropriate for the diagnosis screening of childhood polycythemia vera and essential thrombocythemia". Blood 2007;110(9):3384-6
- 3) Passamonti F, Rumi E et al "Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients". Haematologica 2008;93:1645-51

- 4) Dror Y, Blanchette V." Essential thrombocythaemia in children". Br J Haematol 1999;107:691-8
- 5) Dame C., Sutor A.H. "Primary and secondary thrombocytosis in childhood". Br J Haematol 2005;129:165-77
- 6) Giona F., Teofili L et. al "Thrombocytemia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biological features, treatment, and long term outcome Blood 2012;119:2219-27
- 7) Teofili L. Giona F. et al "Hereditary thrombocytosis caused by MPLSer505Asn is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. Haematologica 2010; 95 (1):65-70
- 8) Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, et al "Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. " N Engl J Med. 2005; 353: 33-45