

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Dottorato di Ricerca in Metodologia Clinica

Ciclo XXIV

Tesi di Dottorato di Ricerca

La mutazione *JAK2* (V617F) e la trombosi venosa cerebrale

Dr Serena Maria Passamonti

Matricola n. R08130

Tutor Dr Ida Martinelli

Coordinatore Prof Marco Cattaneo

Anno Accademico 2010-2011

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Dottorato di Ricerca in Metodologia Clinica

Ciclo XXIV

Tesi di Dottorato di Ricerca

La mutazione *JAK2* (V617F) e la trombosi venosa cerebrale

Dr Serena Maria Passamonti

Matricola n. R08130

Tutor Dr Ida Martinelli (chiedere se ida o pmm)

Coordinatore Prof Marco Cattaneo

Anno Accademico 2010-2011

INTRODUZIONE

La trombosi è la principale causa di morte e malattia nei pazienti affetti da malattie mieloproliferative croniche cromosoma Philadelphia negative quali trombocitemia essenziale, policitemia vera e mielofibrosi idiopatica.¹ Le trombosi venose in sedi atipiche sono frequenti e caratteristiche di queste patologie. La trombosi splancnica, per esempio, insorge nel 5-10% dei pazienti con malattia mieloproliferativa,^{2,3} ed è la prima manifestazione di una malattia mieloproliferativa sottostante non ancora diagnosticata nel 25-66% dei pazienti.⁴

Nel 2005 è stata descritta la mutazione somatica nel gene Janus Kinase 2 (*JAK2*); la sostituzione dell'aminoacido valina con l'aminoacido fenilalanina al codone 617 (V617T) comporta un'aumentata attività della proteina tirosin-chinasica *JAK2* ed è caratteristica del clone patologico nelle malattie mieloproliferative.⁵ La mutazione *JAK2* (V617T), infatti, si riscontra nel 50-60% dei pazienti con trombocitemia essenziale e mielofibrosi idiopatica, e nel 95% di quelli con policitemia vera.^{1,5} Dal 2008 la ricerca della mutazione *JAK2* (V617T) è stata inserita come criterio diagnostico per le malattie mieloproliferative nelle linee guida della World Health Organization (WHO) ed è comunemente ricercata in pazienti con trombosi splancniche.^{6,7}

La trombosi venosa cerebrale è una patologia rara che insorge in circa l'1% dei pazienti con malattia mieloproliferativa³. Non è ancora noto se, come la trombosi splancnica, possa essere prodromica di una malattia mieloproliferativa sottostante e ancora misconosciuta.

Fino ad oggi solo pochi e piccoli studi hanno valutato la presenza della mutazione *JAK2* (V617T) nei pazienti con trombosi venosa cerebrale, e la sua prevalenza in questa patologia varia dallo 0% al 6.2% a seconda delle casistiche.⁸⁻¹³ Nello studio di maggior dimensioni, che arruolava 87 pazienti con trombosi venosa cerebrale, la mutazione *JAK2* (V617T) è stata trovata solo in un paziente (1,1%).¹⁰

SCOPO DELLO STUDIO

Abbiamo ipotizzato che anche la trombosi venosa cerebrale, così come quella splancnica, potesse essere un "campanello di allarme" di una malattia mieloproliferativa misconosciuta e sottostante. Per questo motivo abbiamo condotto uno studio prospettico su una vasta coorte di pazienti con un primo episodio di trombosi venosa cerebrale ricercando la mutazione *JAK2* (V617T) al momento dell'episodio trombotico. Inoltre, dato che i nostri pazienti vengono seguiti regolarmente, abbiamo valutato la probabilità di sviluppare una malattia mieloproliferativa nel tempo.

PAZIENTI E METODI

Pazienti

La coorte iniziale era formata da pazienti consecutivi con un primo episodio di trombosi venosa cerebrale, giunti al nostro Centro Trombosi da gennaio 1991 ad ottobre 2010 per eseguire uno screening di trombofilia. Da questi sono stati esclusi i pazienti che presentavano concomitanti neoplasie cerebrali o altre neoplasie e quelli giunti al nostro Centro dopo più di dodici mesi dall'evento trombotico. Di ogni paziente, al momento del prelievo, è stata raccolta un'anamnesi accurata con particolare attenzione alla sede della trombosi, i sintomi, gli eventuali fattori di rischio (infezioni, patologie autoimmuni, trauma, intervento chirurgico recente, assunzione di estroprogestinico, gravidanza, puerperio) e studiata la trombofilia, che era il motivo per cui giungevano. In assenza dei fattori di rischio di cui sopra la trombosi è stata considerata idiopatica. Solo i pazienti con diagnosi documentata (angioTC, risonanza magnetica, angio RM o angiografia) sono stati inclusi nello studio.

La diagnosi di malattia mieloproliferativa è stata posta seguendo le linee guida in uso corrente che però sono cambiate negli ultimi anni. Per lo scopo di questo studio, per valutare se la malattia mieloproliferativa era concomitante alla trombosi venosa cerebrale, abbiamo utilizzando retrospettivamente i nuovi criteri diagnostici approvati nel 2008 dalla World Health Organization (WHO)⁶ anche nei pazienti che avevano avuto l'episodio prima del 2008, quando cioè erano in vigore i precedenti criteri diagnostici. I pazienti sono stati seguiti con follow-up annuale o recandosi personalmente al Centro, o telefonicamente se impossibilitati a venire.

Tutti i pazienti hanno eseguito un emocromo completo annualmente; coloro che non sono stati in grado di venire al Centro hanno comunque eseguito gli emocromi annuali in altra sede e poi inviati al Centro via fax.

Abbiamo considerato inizio del follow-up per lo sviluppo della malattia mieloproliferativa dopo un primo episodio di trombosi venosa cerebrale la data di esordio della trombosi venosa cerebrale; la fine del follow-up è invece o la data della diagnosi della malattia mieloproliferativa, o la data di morte per qualsiasi patologia, oppure il 20 marzo 2011 (per scelta nostra). Tutti i pazienti hanno un follow-up di almeno sei mesi.

Il Comitato Etico della Fondazione ha approvato lo studio, che è stato condotto e redatto secondo le linee guida STROBE degli studi osservazionali.¹⁴ Tutti i pazienti hanno firmato il consenso informato a partecipare allo studio.

Esami di laboratorio

Alla prima visita tutti i pazienti hanno eseguito un emocromo completo e lo screening di trombofilia, che comprende: la ricerca su DNA del fattore V Leiden e della mutazione G20210A della protrombina;^{15,16} il dosaggio funzionale e/o antigenico di antitrombina, proteina C e proteina S;¹⁷ la ricerca degli anticorpi antifosfolipidi (lupus anticoagulante, anticorpi anticardiolipina e anti- β 2 glicoproteina I);¹⁸ il dosaggio dell' omocisteina dopo digiuno notturno e dopo carico orale con metionina¹⁹.

Il DNA dei pazienti che hanno acconsentito è stato congelato e conservato e, su questo campione, è stata poi per questo studio ricercata la mutazione *JAK2* (V617F).

I test genetici sono stati effettuati su DNA estratto con metodica home-made²⁰ da leucociti da sangue periferico. La mutazione *JAK2* (V617F) è stata ricercata utilizzando la metodica ARMS (amplificatory refractory mutation system) ad alta sensibilità (0.05% per allele mutato). Il tipo di oligonucleotidi e le condizioni per l'esecuzione del test sono disponibili su richiesta. I campioni che presentavano una banda in corrispondenza dell'allele *JAK2* (V617F) mutato sono stati poi testati con la metodica PCR quantitativa (real-time polymerase chain reaction-based allelic discrimination assay) e considerati positivi se l'allele mutato era presente in più del 1% di tutti gli alleli, secondo le ultime linee guida.²¹

L'emocromo è stato considerato normale o alterato secondo i criteri WHO per la diagnosi delle malattie mieloproliferative.⁶

Analisi Statistica

Le variabili continue sono state espresse come mediana, minimo e massimo; le variabili categoriche in numeri e percentuali. Per le variabili categoriche il confronto tra gruppi nella tabella 2 x 2 è stato fatto utilizzando il test di Fisher. L'incidenza annuale di malattia mieloproliferativa è stata calcolata separatamente per i pazienti *JAK2* (V617F) positivi e *JAK2* (V617F) negativi, dividendo il numero di eventi per numero complessivo di anni/paziente. Al fine di evitare bias di selezione, abbiamo escluso quei pazienti che avevano già sviluppato

prima della trombosi cerebrale una malattia mieloproliferativa. L'incidenza e il 95% intervallo di confidenza (95%CI) sono stati calcolati secondo la distribuzione di Poisson.

La curva cumulativa di sopravvivenza libera da malattia mieloproliferativa nei pazienti portatori e nei pazienti non-portatori della mutazione *JAK2* (V617F) è stata calcolata utilizzando il metodo di Kaplan-Meier e il confronto tra i due gruppi è stato fatto usando il log-rank test. Una $P \leq 0.05$ è stata scelta come cut-off di significatività statistica.

Tutta l'analisi statistica è stata fatta usando il software statistico SPSS (release 17.0, Chicago, Illinois, USA).

RISULTATI

Duecentotrentotto pazienti con un primo episodio di trombosi venosa cerebrale sono giunti al nostro Centro per eseguire uno screening di trombofilia nel periodo indicato; trentasette sono stati esclusi per diversi motivi: il tempo tra la trombosi venosa cerebrale e il prelievo era maggiore di un anno; presentavano una concomitante neoplasia cerebrale o altro tumore; la trombosi cerebrale non era obiettivamente documentata; non avevano firmato il consenso alla conservazione del DNA (vedi Figura 1), per cui 191 erano elegibili per lo studio. Di questi però altri 39 sono stati esclusi in quanto il DNA per la ricerca della mutazione *JAK2* (V617F) non era più disponibile, per cui i pazienti testati per la mutazione *JAK2* (V617F) sul campione di DNA al momento della trombosi erano 152.

La Tabella 1 mostra le caratteristiche generali della popolazione dello studio. Quasi tre-quarti dei pazienti erano donne. La trombosi venosa cerebrale coinvolgeva più di un seno in 75 pazienti (49.3%), era idiopatica in 41 (27%) e associata a due o più fattori di rischio in 14 (9.2%). Il più frequente fattore di rischio per la trombosi venosa cerebrale era l'utilizzo di estroprogestinici (74.5% delle donne) e la presenza di trombofilia (55.9%), in particolare la presenza in forma eterozigote della mutazione G20210A a carico del gene che codifica per la protrombina e una iperomocisteinemia (Tabella 1). Più di un'anomalia trombofilica è stata riscontrata in 15 pazienti (9.9%). Durante il follow-up 94 pazienti (62%) sono venuti personalmente al Centro, mentre i rimanenti 58 (38%) sono stati contattati telefonicamente.

Sette pazienti (4.6%) sono stati perduti al follow-up e due sono morti per altre patologie (diverse da malattia mieloproliferativa).

La mutazione *JAK2* (V617F) al momento della trombosi è stata riscontrata in 10 pazienti su 152 (6.6%); di questi dieci, cinque avevano già un emocromo alterato secondo le attuali linee guida WHO per la diagnosi delle malattie mieloproliferative. In questi 5 pazienti la biopsia midollare ha confermato la diagnosi di trombocitemia essenziale in 3 pazienti, policitemia vera e malattia mieloproliferativa "non meglio classificabile" nei restanti 2 (Tabella 2). In un altro paziente, che presentava splenomegalia e un emocromo nella norma, la biopsia ossea era diagnostica per mielofibrosi idiopatica.

Tutti i pazienti, ad eccezione di questi sei che avevano sviluppato una malattia mieloproliferativa in concomitanza con la trombosi venosa cerebrale, sono stati seguiti nel tempo per una mediana 7.8 anni (da 6 mesi a 21.3 anni), per un totale di 1173.5 pazienti-anni. Tre pazienti che avevano un emocromo normale al momento della trombosi venosa cerebrale hanno sviluppato una trombocitemia essenziale durante il follow-up, (il tempo dalla trombosi era compreso tra 2 e 3.5 anni), con una incidenza annuale pari a 0.26% pazienti-anno (95% CI 0.05-0.64). Solo un paziente *JAK2* (V617F) positivo al momento della trombosi ha mantenuto fino ad oggi (3 anni di follow-up) un emocromo e dei livelli plasmatici di eritropoietina normali; la biopsia ossea è risultata borderline per malattia mieloproliferativa.

I 142 pazienti (93.4%) restanti avevano tutti un emocromo normale e la mutazione *JAK2* V617T era assente al momento della trombosi venosa cerebrale. Sono stati tutti invitati a

tornare al Centro tra febbraio e marzo 2011 per ripetere un emocromo e per ritestare la mutazione *JAK2* (V617T). Diciotto di questi (12.7%) non sono venuti per l'eccessiva lontananza dal Centro. Nei 124 pazienti (87.3%) che sono invece venuti, la mutazione *JAK2* (V617T) è rimasta assente. Un paziente ha sviluppato un'eritrocitosi non altrimenti giustificata durante il follow-up (2 anni dopo la trombosi venosa cerebrale) e ha iniziato a sottoporsi a salassi per mantenere un ematocrito inferiore a 45%. L'eritropoietina plasmatica e la massa eritrocitaria erano normali ma il volume plasmatico ridotto. Anche la biopsia midollare non era diagnostica per malattia mieloproliferativa. In questo paziente alla comparsa dell'eritrocitosi, abbiamo ricercato la mutazione *JAK2* esone 12,²² anch'essa associata alla policitemia vera anche se meno comune della mutazione *JAK2* (V617T), che però è risultata negativa.

Nel complesso, la malattia mieloproliferativa è stata diagnosticata in 9 su 10 pazienti *JAK2* positivi (90%) e in nessuno dei 142 pazienti *JAK2* (V617F) negativi (Fischer's exact test, $p < 0.0001$). La Figura 2 mostra le curve di sopravvivenza libera da malattia dopo un primo episodio di trombosi venosa cerebrale nei pazienti con e senza la mutazione *JAK2* (V617F) [log-rank test χ^2 : 159 ($p < 0.0001$)].

DISCUSSIONE

Questo studio mostra che la trombosi venosa cerebrale può essere la prima manifestazione clinica di una malattia mieloproliferativa cronica, quale trombocitemia essenziale, policitemia vera o mielofibrosi idiopatica. Nella nostra coorte di pazienti con trombosi venosa cerebrale una malattia mieloproliferativa (principalmente la trombocitemia essenziale) è stata diagnosticata in 6.6% pazienti, di cui circa la metà al tempo della trombosi e l'altra durante il follow-up. La mutazione *JAK2* (V617F) era già presente al tempo della trombosi venosa cerebrale in tutti i pazienti che hanno sviluppato la malattia mieloproliferativa, inclusi quelli che avevano un emocromo normale e nessun altro sintomo di malattia.

Se la trombosi venosa cerebrale sia o no associata, come la trombosi splancnica, alla malattia mieloproliferativa è ancora dibattuto. In letteratura sono disponibili solo pochi studi mirati e l'utilità di testare la mutazione *JAK2* (V617F) nei pazienti è controversa. Nello studio che ha arruolato più pazienti (87 pazienti con trombosi venosa profonda) solo un paziente, che presentava anche piastrinosi concomitante, presentava la mutazione *JAK2* (V617T).¹⁰ In altri tre studi di dimensioni minori^{9,12,13} la mutazione non è stata riscontrata in nessun paziente con trombosi cerebrale; infine nell'ultimo⁸ la mutazione *JAK2* aveva una prevalenza del 6% nella casistica in oggetto, e gli autori concludevano che nei pazienti con trombosi venosa cerebrale la mutazione andava ricercata; nessuno di questi aveva ancora sviluppato la malattia mieloproliferativa verosimilmente perché ancora in forma latente.

Il nostro studio ha confermato l'ipotesi iniziale, e uno dei punti di forza è proprio la lunga durata del follow-up dopo un primo episodio di trombosi venosa cerebrale. Ciò che emerge dal nostro studio è che i pazienti con trombosi venosa cerebrale possono avere in concomitanza all'evento trombotico una malattia mieloproliferativa oppure sviluppare la malattia negli anni successivi all'evento se sono portatori della mutazione *JAK2* (V617T), mentre i pazienti che non hanno la mutazione al tempo della trombosi non la acquisiscono durante il follow-up e non hanno un rischio maggiore di sviluppare la malattia mieloproliferativa rispetto alla popolazione generale. Dato che circa la metà dei pazienti *JAK2* (V617F) positivi avevano un emocromo normale al tempo della trombosi, la ricerca di questa mutazione è raccomandabile proprio per diagnosticare da subito la patologia latente.

La patogenesi della trombosi nei pazienti con malattia mieloproliferativa è dovuta a complessi meccanismi di interazione tra leucociti, piastrine e cellule endoteliali.²³ Avere un emocromo normale in presenza della mutazione *JAK2* (V617T) supporta l'ipotesi che l'aumentato rischio trombotico associato alla malattia mieloproliferativa sia dovuto più alla attivazione dei leucociti che all'aumentata massa eritrocitaria e piastrinica circolante.

Questo studio presenta alcuni limiti. Tutti i pazienti sono stati regolarmente seguiti con controlli annuali ma la mutazione è stata cercata retrospettivamente sui campioni di DNA estratto da leucociti e stoccato al momento della trombosi venosa cerebrale. Nei pazienti che durante il follow-up hanno presentato alterazioni dell'emocromo, quali trombocitosi o eritrocitosi, la mutazione *JAK2* (V617) è stata ricercata e la malattia mieloproliferativa è stata

diagnosticata. In questi pazienti *JAK2* (V617F) positivi la mutazione è stata poi ricercata anche sul campione "storico" stoccato al momento della trombosi venosa cerebrale, quando l'emocromo ancora era normale, e proprio su questo campione la mutazione era già presente. Un altro limite è che la mutazione *JAK2* (V617F) è stata ricercata su DNA estratto da leucociti *in toto* anziché granulociti, il che rende la metodica meno sensibile. Questo potrebbe avere portato a sottostimare la prevalenza della mutazione *JAK2* (V617F) nella nostra coorte di pazienti, oltre al fatto che non sia stato possibile valutare se questa era presente in forma eterozigote o omozigote. Inoltre abbiamo ricercato solo la mutazione *JAK2* (V617T) e la possibilità che alcuni pazienti possano avere altre mutazioni associate a malattia mieloproliferativa, quali *JAK2* esone 12 o MPL,²² sebbene molto più rare, non può essere esclusa. Questo potrebbe essere un'altra ragione di sottostima dell'associazione tra la trombosi venosa cerebrale e le malattie mieloproliferative. Infine purtroppo il DNA dei circa il 20% dei pazienti eleggibili per lo studio non era più disponibile. Supponendo nella peggiore delle ipotesi che in tutti questi pazienti la mutazione fosse assente, la frequenza della mutazione *JAK2* (V617T) nei pazienti con trombosi venosa cerebrale scenderebbe dal 6.6 al 5.2%, restando comunque elevata.

Quali sono le implicazioni cliniche di una diagnosi "precoce" di malattia mieloproliferativa nei pazienti con trombosi venosa cerebrale? Questi pazienti sono ad alto rischio di sviluppare un'altra trombosi, non solo perchè hanno la malattia mieloproliferativa, anche se latente, ma soprattutto perchè hanno già avuto un primo evento trombotico cerebrale.²⁴ Solitamente i

pazienti con trombosi venosa cerebrale vengono trattati con terapia anticoagulante orale per un periodo di tempo limitato, in base alla presenza o meno di concomitanti fattori di rischio per trombosi rimovibili e rimossi, oltre che alla presenza di anomalie trombofiliche.^{25,26} Forse i pazienti con trombosi venosa cerebrale portatori della mutazione *JAK2* (V617T) non dovrebbero sospendere la terapia anticoagulante anche se l'evento è incorso in concomitanza di un fattore di rischio transitorio e rimosso. La scelta di iniziare una terapia citoriduttiva, l'interferon- α oppure gli inibitori del *JAK2* dovrebbe essere valutata caso per caso.^{7,27}

In conclusione, una malattia mieloproliferativa cronica andrebbe sospettata ed esclusa nei pazienti con trombosi venosa cerebrale, indipendentemente dalla presenza di fattori di rischio noti, trombofilia compresa. La mutazione *JAK2* (V617F) dovrebbe essere ricercata in tutti i pazienti con trombosi venosa cerebrale indipendentemente dall'emocromo perché la probabilità di avere una malattia mieloproliferativa concomitante all'evento trombotico oppure latente, e che quindi si manifesterà nel follow-up, è elevata in chi è portatore della mutazione.

FIGURE E TABELLE

Figura 1. Study flow-diagram.

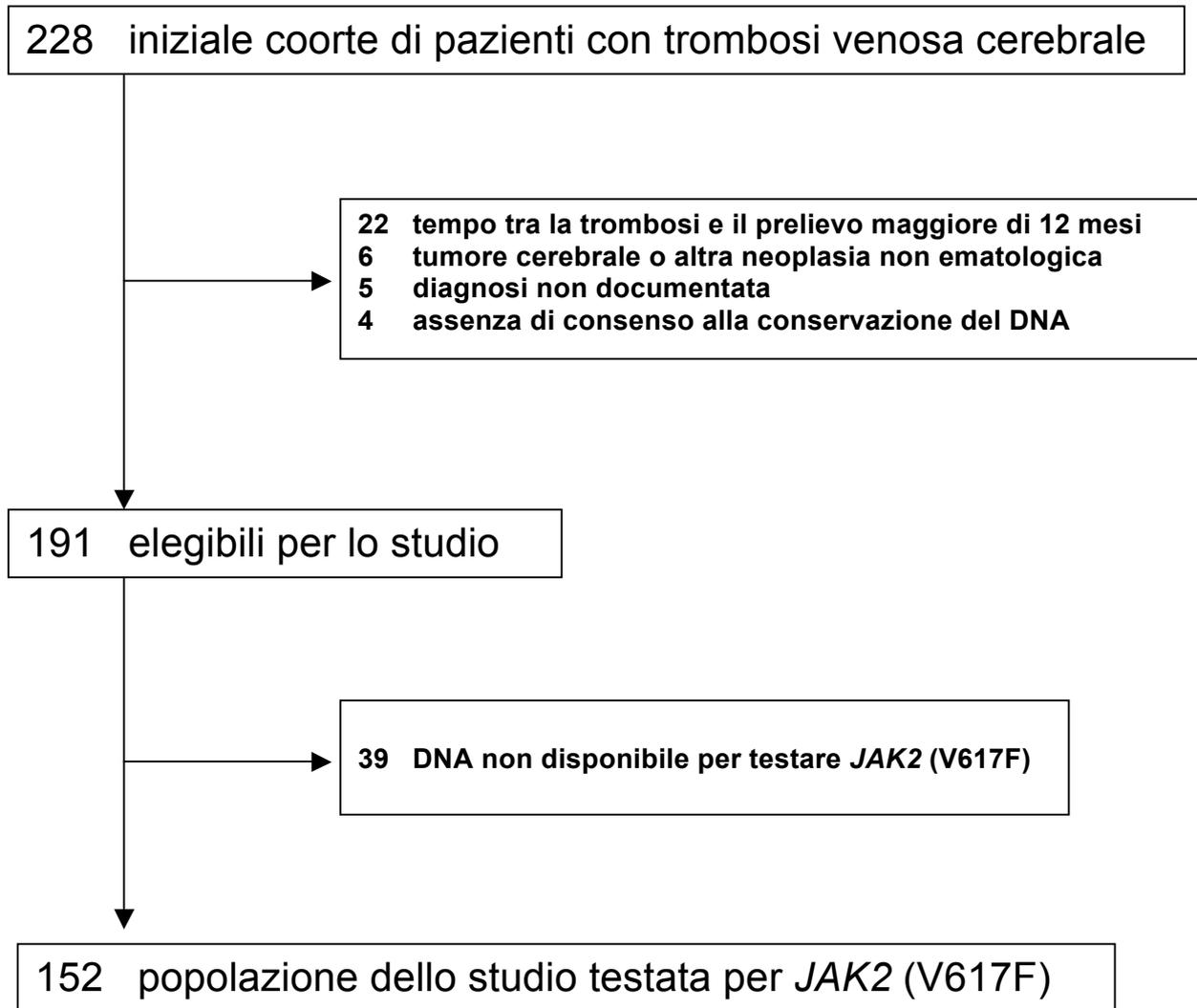


Tabella 1. Caratteristiche generali della popolazione dello studio.

Maschio/Femmina	40/112
Età alla prima trombosi venosa cerebrale, mediana (min-max)	35 (16-79)
Età alla prima visita, mediana (min-max)	36 (16-80)
Body mass index, mediana (min-max)	23.6 (14.5-41.5)
Sede della trombosi, n (%)	
- seno sagittale superiore	25 (16.4)
- seno laterale	38 (25)
- seno retto	4 (2.6)
- seno cavernoso	2 (1.3)
- vene corticali	4 (2.6)
- vena giugulare	3 (1.9)
- seno sagittale inferiore	1 (0.6)
- sede multipla	75 (49.3)
Fattori di rischio per trombosi venosa cerebrale, n (%) [†]	
- infezione	13 (8.5)
- patologia autoimmune o infiammatoria	6 (3.9)
- trauma	4 (2.6)
- chirurgia	11 (7.2)
- utilizzo di estroprogestinici*	76 (74.5)
- gravidanza/puerperio*	11 (10.8)
Thrombofilia, n (%) [†]	85 (55.9)
- fattore V Leiden	17 (11.2)
- protrombina G20210A	33 (27.7)
- deficit di antitrombina, proteina C o proteina S	7 (4.6)
- anticorpi antifosfolipidi	11(7.2)
- iperomocisteinemia	34 (22.4)
Segni e sintomi, n (%)	
- ipertensione intracranica	131 (86.2)
- cefalea	129 (84.9)
- nausea/vomito	41 (27)
- papilledema	11 (7.2)
- diplopia	7 (4.6)
- fotofobia	4 (2.6)
- difetto del VI nervo cranico	3 (2.0)
- difetti neurologici focali	79 (52.0)
- parestesie	24 (15.8)
- calo del visus	24 (15.8)
- afasia/disartria	13 (8.6)
- paralisi	28 (18.4)
- vertigine	14 (9.2)
- convulsioni	31 (20.4)
- alterazioni dello stato di coscienza	35 (23.0)
- disordine della memoria	24 (15.8)
- coma	11 (7.2)

* percentuale calcolata su 102 donne in età fertile; i contraccettivi orali e la gravidanza sono mutualmente esclusivi

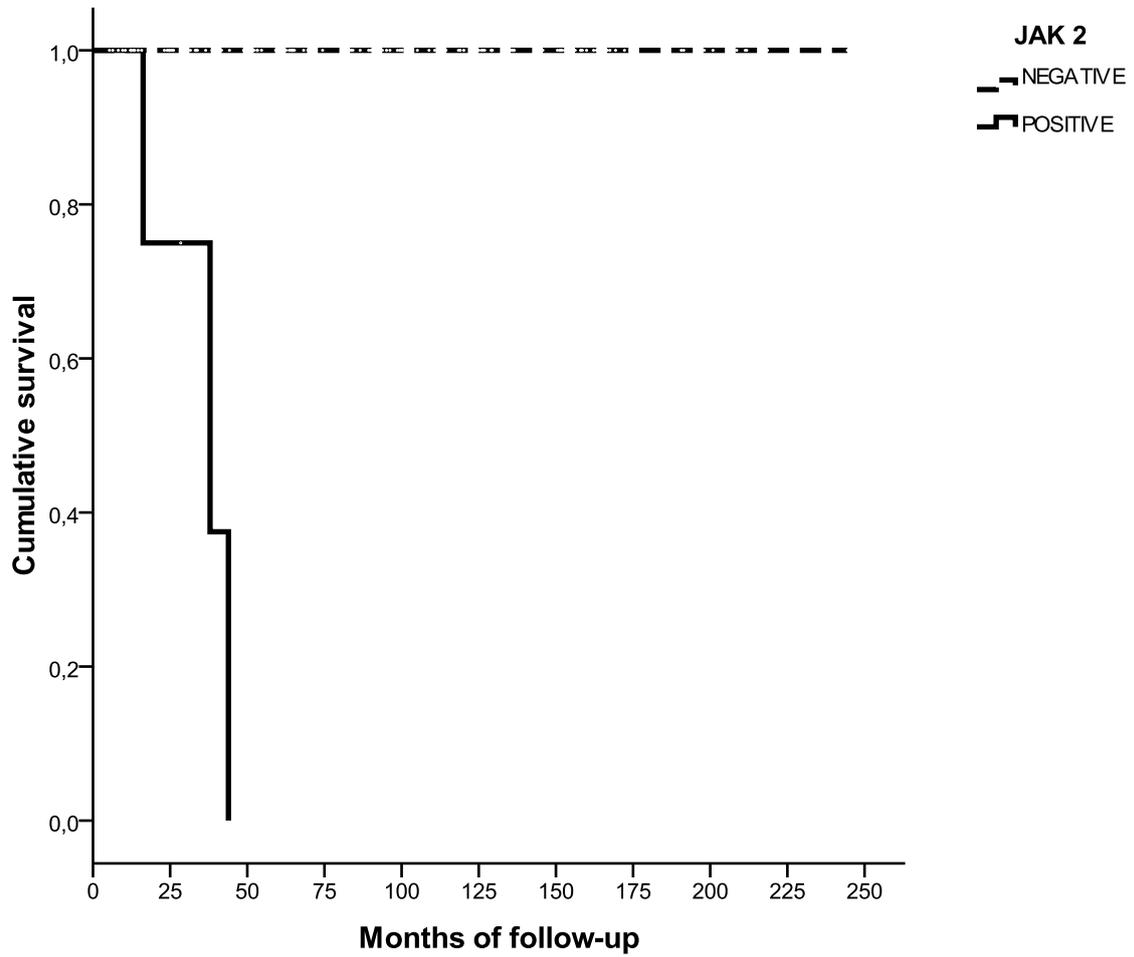
† alcuni pazienti hanno più di un fattore di rischio o più di una anomalia della coagulazione

Tabella 2. Fattori di rischio per trombosi venosa cerebrale, tipo di malattia mieloproliferativa e carica allelica di *JAK2* (V617F) nei pazienti con la mutazione *JAK2* (V617T) al momento della trombosi.

ID#	Sesso	Data della trombosi venosa cerebrale	Età alla trombosi venosa cerebrale	Fattori di rischio per la trombosi venosa cerebrale	Tempo trascorso tra la trombosi venosa cerebrale e la diagnosi di malattia mieloproliferativa	Tipo di malattia mieloproliferativa	<i>JAK2</i> (V617F) carica allelica al tempo della trombosi venosa cerebrale
1	F	Nov 1997	38	estroprogestinici	3.5 anni	Trombocitemia essenziale	NA
2	M	Ago 1998	31	nessuno	3 anni	Trombocitemia essenziale	10.7%
3	M	Gen 1999	76	carenza di proteina S	concomitante	Non classificabile	33.1%
4	F	Feb 2000	22	protrombina G20210A	concomitante	Trombocitemia essenziale	25.8%
5	M	Mag 2000	28	iperomocisteinemia	concomitante	Trombocitemia essenziale	27%
6	F	Feb 2003	56	nessuno	concomitante	Trombocitemia essenziale	31.2%
7	M	Giu 2004	72	Otite e rettocolite ulcerativa	concomitante	Policitemia vera	NA
8	F	Gen 2007	49	nessuno	concomitante	Mielofibrosi idiopatica	11.4%
9	M	Nov 2008	69	protrombina G20210A	3 anni	ND	2.3%
10	F	Ott 2009	25	estroprogestinici e protrombina G20210A	2 anni	Trombocitemia essenziale	5.9%

NA = non applicabile; ND = non diagnostico

Figura 2. Curve di sopravvivenza libera da malattia mieloproliferativa in pazienti con trombosi venosa cerebrale con e senza mutazione *JAK2* (V617F).



Log rank $\chi^2 = 159$ ($p < 0.0001$)

BIBLIOGRAFIA

1. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2006;355:2452-66
2. Anger BR, Seifried E, Scheppach J, Heimpel H. Budd-Chiari syndrome and thrombosis of other abdominal vessels in the chronic myeloproliferative diseases. *Klin Wochenschr* 1989;67:818-25
3. Bazzan M, Tamponi G, Schinco P, et al. Thrombosis-free survival and life expectancy in 187 consecutive patients with essential thrombocytemia. *Ann Haematol* 1999;78:539-43
4. Austin SK, Lambert JR. The JAK2 V617F mutation and thrombosis. *Br J Haematol* 2008;143:307-20
5. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain of function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-90
6. Swerdlow SH, Campo E, Harris ML, et al. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC 2008
7. Vannucchi AM, Guglielmelli P, Tefferi A. Advances in understanding and management of myeloproliferative neoplasms. *CA Cancer J Clin* 2009;59:171-91
8. De Stefano V, Fiorini A, Rossi E, et al. Incidence of the JAK2 V617F mutation among patients with splanchnic or cerebral venous thrombosis and without overt chronic myeloproliferative disorders. *J Thromb Haemost* 2007;5:708-14
9. Colaizzo D, Amitrano L, Iannaccone L, et al. Gain-of-function gene mutations and venous thromboembolism: distinct roles in different clinical settings. *J Med Genet* 2007;44:412-6
10. Bellucci S, Cassinat B, Bonnin N, Marzac C, Crassard I. The V617F JAK2 mutation is not a frequent event in patients with cerebral venous thrombosis without overt chronic myeloproliferative disorders. *Thromb Haemost* 2008;99:1119-20
11. De Stefano V, Rossi E, Za T, Chiusolo P, Leone G. The JAK2 V617F mutation in patients with cerebral venous thrombosis: a rebuttal. *Thromb Haemost* 2008;99:1121

12. Xavier SG, Gadelha T, Schaffel R, et al. Low prevalence of the JAK2V617F in patients with ischemic stroke or cerebral venous thrombosis. *Blood Coagul Fibrinol* 2008;19:468-9
13. Koopman K, Mulder AB, De Heyser J, Luijckx GJ, Van Der Meer J. JAK2-V617F mutation in cerebral venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2009;7:1039-40
14. Vandembroucke JP, von Elm E, Altman DG, et al, for the STROBE initiative. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Ann Intern Med* 2007;147:W-163-W-194
15. Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-7
16. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88:3698-703
17. Tripodi A. Review of the clinical and diagnostic utility of laboratory tests for the detection of congenital thrombophilia. *Sem Thromb Haemost* 2005;31:25-32
18. Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb haemost* 2009;7:1737-40
19. Zighetti ML, Cattaneo M, Falcon CR, et al. Absence of hyperhomocysteinemia in ten patients with primary pulmonary hypertension. *Thromb Res* 1997;85:279-82
20. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215
21. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, et al. Relation between JAK2 (V617F) mutation status, granulocytes activation, and constitutive mobilization of CD34+ cells into peripheral blood in myeloproliferative disorders. *Blood* 2006;107:3676-82
22. Passamonti F, Elena C, Schnittger S, et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood* 2011;117:2813-16
23. Cervantes F, Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A. Blood cell activation in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 2009;94:1484-8

24. De Stefano V, Za T, Rossi E, et al; GIMEMA CMD-Working Party. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocytemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica* 2008;93:372-80
25. Einhäupl K, Stam J, Bousser MG, et al. EFNS guideline on the treatment of cerebral venous and sinus thrombosis in adult patients. *Eur J Neurol* 2010;17:1229-1235
26. Martinelli I, Bucciarelli P, Passamonti SM, Battaglioli T, Previtalli E, Mannucci PM. Long-term evaluation of the risk of recurrence after cerebral sinus-venous thrombosis. *Circulation* 2010, 121:2740-6
27. Vannucchi AM. From palliation to targeted therapy in myelofibrosis. *N Engl J Med* 2010;363:1180-2