

## Ematologia pediatrica

Domenico Roberti,  
Immacolata Tartaglione,  
Maddalena Casale,  
Saverio Scianguetta,  
Silverio Perrotta

Dipartimento della Donna,  
del Bambino e di Chirurgia  
generale e specialistica,  
Università degli Studi della  
Campania "Luigi Vanvitelli",  
Napoli

## Quando i globuli rossi aumentano

### Riassunto

Valori di emoglobina superiori al 97° percentile caratterizzano la condizione di eritrocitosi. L'aumento dei globuli rossi può essere associato ad alcune condizioni fisiologiche, come l'altitudine, patologiche, come la disidratazione, o ad alcuni stili di vita, come il fumo di sigaretta. Queste condizioni, insieme alla carenza marziale, che invece può mascherare un'eritrocitosi, vanno escluse prima di avviare qualunque iter diagnostico. Gli esami di primo livello, rappresentati dalla determinazione della saturazione di ossigeno, dell'emogasanalisi con la determinazione della p50 e dal dosaggio dell'eritropoietina (EPO) sierica, sono utili per direzionare lo *screening* molecolare. Bassi livelli di EPO sono tipici delle eritrocitosi primarie causate da mutazioni del recettore dell'eritropoietina o da policitemia vera. Livelli alti, o inappropriatamente normali, di EPO sono invece tipici delle eritrocitosi secondarie, come ad esempio quelle causate da alterazioni del sistema sensore dell'ossigeno o da emoglobine ad alta affinità per l'ossigeno. Essendo rare e ancora scarsamente caratterizzate clinicamente, l'approccio terapeutico alle eritrocitosi pediatriche è oggetto di studi e di discussione e al momento si raccomanda un approccio terapeutico individualizzato per ogni paziente. In generale, è importante mantenere una buona idratazione, ed evitare attività che aumentino la viscosità ematica e mettere in atto manovre di prevenzione dei fenomeni di tromboembolismo, in caso di attività che ne predispongano l'insorgenza.

### Summary

*Erythrocytosis is characterized by an increase in the red blood cell mass defined by haemoglobin and haematocrit values above the 97th percentile for age and sex. It can be due to physiological processes, such as high altitude living, pathological conditions, like dehydration, or personal habits, including smoking. These conditions, as well as iron deficiency, a potential confounding factor, must be ruled out before additional examinations for absolute erythrocytosis are made. First line exams include oxygen saturation evaluation, venous blood gas analysis with p50 measurement and plasmatic erythropoietin (EPO) dosage, whose results may guide molecular screening. Low plasmatic levels of EPO are typical of primary erythrocytosis, showing endogenous erythroid colony formation in vitro, such as in familial erythrocytosis type 1 and polycythemia vera. High or inappropriately normal EPO values are a feature of erythrocytosis due to a defective Oxygen Sensing mechanism or to abnormal haemoglobin with high oxygen affinity. The proper therapeutic approach is still debated due to the rarity and heterogeneity of these conditions and, to date, patient-tailored therapy and follow-up are recommended. Maintaining good hydration and avoiding any kind of physical activity that can increase blood viscosity (i.e. diving with oxygen, climbing, sky-diving, smoking) is mandatory, as well as performing venous thromboembolism prophylaxis when needed.*

## Metodologia della ricerca bibliografica

È stata effettuata una ricerca degli articoli più rilevanti, utilizzando come motore di ricerca PubMed e come parole chiave: “erythrocytosis”, “polycythemia”, “erythropoietin”, “oxygen-sensing pathway”, “hemoglobin”. Sono stati anche tenuti presenti articoli di revisione e capitoli di libri di più recente pubblicazione. Alcuni dei lavori citati sono derivati dall’analisi delle referenze bibliografiche degli articoli selezionati.

## Introduzione

L’emocromo è senza dubbio l’esame del sangue più frequentemente prescritto e spesso ritenuto il più semplice da interpretare; al contempo, alcune sue alterazioni possono creare una serie di difficoltà diagnostiche, come si verifica, ad esempio, nel caso di un aumento di parametri quali l’emoglobina e l’ematocrito. Obiettivo di questa revisione è quello di fornire una guida all’inquadramento diagnostico e alla gestione di pazienti nei quali, spesso in maniera incidentale, si riscontra una eritrocitosi.

## Obiettivi della revisione

- Definire il bambino/adolescente con livelli aumentati di Hb
- Classificare l’eritrocitosi
- Riportare un algoritmo diagnostico
- Descrivere le possibili manifestazioni cliniche dell’eritrocitosi
- Orientarsi sui diversi meccanismi etiopatogenetici
- Valutare le attuali strategie terapeutiche

## Definizione

Il termine eritrocitosi è utilizzato per identificare un gruppo eterogeneo di patologie caratterizzate da un’espansione del compartimento eritroide, con conseguente aumento dei valori di emoglobina e di ematocrito al di sopra delle 2 deviazioni standard (DS) o 97° percentile rispetto a soggetti di pari età e sesso. Tuttavia vanno considerate anche altre condizioni nell’inquadramento di un’eritrocitosi, prima tra tutte l’altitudine (la vita in alta montagna determina un aumento fisiologico dell’emoglobina), la razza (i livelli medi di emoglobina nei soggetti di razza nera sono mediamente inferiori) o le abitudini di vita del paziente (si veda, ad esempio, l’eritrocitosi spuria dei fumatori).

Inoltre, l’eritrocitosi può essere relativa o assoluta. Nella forma relativa l’aumento della massa eritrocitaria non è reale, ma relativo a una riduzione della massa plasmatica. Tale evenienza in età pediatrica si realizza molto facilmente per la disidratazione secondaria, ad esempio, a diarrea, all’uso di diuretici o semplicemente alla scarsa introduzione di liquidi. D’altra parte, nella

valutazione di un quadro di eritrocitosi, bisogna anche considerare che uno stato di carenza di ferro può anche mascherare una condizione di eritrocitosi. Per tali motivi viene definita eritrocitosi assoluta un aumento dell’emoglobina superiore alle 2 DS (97° percentile) in un bambino senza carenza marziale, in stato di benessere e con buona idratazione almeno nelle 72 h precedenti il prelievo. In ogni caso, la presenza di un ematocrito superiore al 56% nelle femmine e 60% nei maschi è sufficiente, di per sé, a configurare direttamente il quadro di eritrocitosi assoluta (Pearson, 1991). Le forme assolute possono essere poi suddivise in primarie e secondarie; ed entrambe possono essere congenite o acquisite. La forma primaria è caratterizzata da un’intrinseca alterazione dei progenitori eritroidi, che si espandono indipendentemente dallo stimolo dell’eritropoietina (EPO). Queste forme si caratterizzano per i bassi livelli di EPO, dovuti al fisiologico *feedback* negativo indotto dall’aumento autonomo della massa eritrocitaria. L’unica forma di eritrocitosi primaria congenita fino a oggi conosciuta è quella causata da mutazioni del recettore dell’EPO (EPOR). Le eritrocitosi secondarie, invece, sono caratterizzate dall’espansione del compartimento eritroide in seguito a stimoli “esterni” e pertanto sono caratterizzate da alti livelli sierici dell’EPO. Esistono eritrocitosi secondarie congenite causate da difetti intra-eritrocitari, quali ad esempio quelle causate dalle emoglobine ad alta affinità per l’ossigeno, e forme causate da alterazioni del sistema sensore dell’ossigeno (Cario et al., 2013).

## Classificazione

### Eritrocitosi primarie

Le eritrocitosi primarie sono forme caratterizzate da aumentata sintesi degli eritrociti da parte del midollo emopoietico, dovuta a un’intrinseca ipersensibilità, presente anche in vitro, dei progenitori eritroidi (BFU-E e CFU-E). L’EPO è un ormone prodotto dai reni e in misura minore dal fegato e dal cervello, che ha come funzione principale la regolazione della produzione dei globuli rossi da parte del midollo osseo.

Tra le forme di eritrocitosi primarie meglio caratterizzate vi sono l’eritrocitosi familiare di tipo I (ECYT1) e la policitemia vera (PV), entrambe contraddistinte da livelli sierici molto bassi di EPO.

La ECYT1, anche conosciuta come policitemia primaria congenita e familiare, è una forma ereditaria, solitamente dominante, anche se esistono forme de novo, dovuta a mutazioni troncanti del gene del recettore dell’EPO (EPOR) che lasciano il recettore sempre attivo e non permettono la sua degradazione (Box 1) (Huang et al., 2010).

La PV è una forma clonale acquisita con leucocitosi e/o trombocitosi e con splenomegalia, con prevalente amplificazione del compartimento eritroide, molto rara in età pediatrica e causata da mutazioni del gene tiro-

**BOX 1**

- **Recettore dell'eritropoietina**

Il gene *EPO* codifica per il recettore dell'Epo e mappa nel genoma umano in 19p13.3-p13.2. In condizioni fisiologiche, il legame di Epo al suo recettore determina fosforilazione della sua estremità citoplasmatica e di *JAK2*, permettendone così la sua attivazione. Tale processo viene poi "spento" dal legame di altri fattori alla porzione citoplasmatica di *EPO* (Huang et al., 2010).

sin chinasi citoplasmatica Janus 2 (*JAK2*). La mutazione più frequente è la V617F e comporta un'attivazione costitutiva della chinasi che migliora la sopravvivenza cellulare e aumenta la produzione di cellule ematiche. Negli ultimi anni un altro *cluster* di mutazioni di *JAK2* è stato riscontrato nell'esone 12, con un quadro di PV o di eritrocitosi idiopatica (Percy et al., 2007; Bento et al., 2016) (Tab. I).

### Eritrocitosi secondarie

Le eritrocitosi secondarie sono generalmente dovute a fattori intrinseci o estrinseci al globulo rosso, che determinano una disregolazione dell'eritropoiesi e sono caratterizzate da livelli sierici di EPO molto elevati. Tuttavia, per meccanismi di adattamento, alcune forme secondarie possono mostrare anche livelli di EPO inappropriatamente normali. L'aumento della produzione di EPO può essere dovuto a una risposta fisiologica a una condizione di ipossia, a una produzione ectopica su base tumorale o a una disregolazione generale dei meccanismi di *Oxygen Sensing*. Fanno parte delle eritrocitosi secondarie congenite anche quelle dovute alla presenza di varianti emoglobiniche ad alta affinità o alla persistenza di alte percentuali di Hb fetale, e le rarissime forme da deficit di 2,3-bifosfoglicerato o da incremento ereditario dell'ATP da iperfunzione della piruvato chinasi (PK) (Cario et al., 2013).

La prima forma di eritrocitosi secondaria congenita, descritta nel 1966, era dovuta alla formazione di una variante anomala dell'emoglobina ad alta affinità per l'ossigeno, nota come l'emoglobina di Chesapeake. Da allora, sono state descritte più di 200 varianti emoglobiniche ad alta affinità per l'ossigeno, tutte con trasmissione autosomica dominante. L'iperaffinità per l'ossigeno è determinata da anomalie strutturali delle globine, dovute a sostituzioni aminoacidiche localizzate nei punti d'interazione  $\alpha$ 1- $\beta$ 2, che interferiscono con la struttura quaternaria dell'emoglobina, o nella zona C-terminale della  $\beta$  globina, essenziale per l'effetto Bohr e per il legame con il 2,3DPG (geni *HBB* e *HBA*) (Bento et al., 2014). Il risultato funzionale di quest'aumentata affinità per l'ossigeno è una riduzione della concentrazione di ossigeno nei tessuti periferici,

con successiva ipersecrezione a livello renale di EPO e conseguente eritrocitosi.

Un'altra forma di eritrocitosi secondaria congenita da cause intra-eritrocitarie è dovuta al deficit di 2,3-difosfoglicerato (DPG), che è un fosfato organico che lega l'emoglobina, riducendone notevolmente l'affinità per l'ossigeno. Il deficit congenito, autosomico recessivo, di difosfoglicerato mutasi (gene *BPGM*), un enzima coinvolto nella sintesi del 2,3DPG, determina una carenza di questo fattore, con conseguente stabilizzazione dell'emoglobina nella configurazione ad alta affinità per l'ossigeno e, pertanto, un minore rilascio di ossigeno a livello dei tessuti periferici.

Anche un'iperattività su base congenita della piruvato chinasi (gene *PKLR*), un enzima intraeritrocitario, sembrerebbe essere causa di un aumento dei livelli di ATP e di una diminuzione del 2,3DPG, causando di conseguenza eritrocitosi (Bento et al., 2014).

Alterata cessione periferica di ossigeno, invece, è alla base delle forme di eritrocitosi da Metaemoglobinemia, condizione in cui il ferro contenuto nell'eme è nella sua forma ossidata, passando da ferroso a ferrico. Clinicamente, la presenza di cianosi accompagnata a valori normali di PaO<sub>2</sub>, ma bassa saturazione misurata al pulsiossimetro, pongono il sospetto di metaemoglobinemia. Le forme congenite sono di tre tipi: autosomiche recessive da deficit del citocromo b5 reductasi (gene *CYB5R3*) (che converte il ferro da ferrico a ferroso), deficit del citocromo b5 (gene *CYB5A*) e le forme autosomiche dominanti di Malattia da emoglobina M (gene *HBB*) in cui vi è una spontanea ossidazione del ferro da ferroso a ferrico (Patnaik e Tefferi, 2009).

Altre forme di eritrocitosi congenite secondarie sono quelle dovute ad alterazioni del sistema sensore dell'ossigeno (Box 2, Fig. 1). Tali forme in realtà dovrebbero essere considerate miste, perché hanno sia una crescita spontanea in vitro dei progenitori eritroidi (caratteristica delle forme primitive), sia un aumento dei livelli sierici di EPO (caratteristica delle forme secondarie).

Le eritrocitosi da alterazione del sistema sensore dell'ossigeno (Figg. 1C, D e E) sono:

- l'eritrocitosi familiare di tipo 2 (ECTY2) da mutazione del gene Von Hippel-Lindau (*VHL*), autosomica recessiva;
- l'eritrocitosi familiare di tipo 3 (ECYT3), dovuta a mutazioni del gene *EGLN1*, codificante per la proteina *Prolyl Hydroxylase Domain 2* (PHD2), autosomica dominante;
- l'eritrocitosi familiare di tipo 4 (ECYT4), causata da mutazioni del gene *EPAS1*, che codifica per il fattore di trascrizione *hypoxia-inducible factor-2* (HIF2  $\alpha$ ), autosomica dominante.

Tra le eritrocitosi secondarie acquisite vi sono quelle da produzione ectopica di EPO, come da neoplasie del fegato (epatoma, HCC), del sistema nervoso centrale (emangioblastoma), del rene (nefroblastoma, carcinoma a cellule renali) o del sistema endocrino (i.e. feocromocitoma) e le eritrocitosi da aumentata produzione

**Tabella I.** Classificazione dell'eritrocitosi.

<b>Eritrocitosi primarie</b>	<b>Espansione del compartimento eritroide da alterazioni intrinseche dei progenitori eritroidi</b>
Congenite	
	Eritrocitosi familiare tipo 1- ECTY1 (EPOR)
Acquisite	
	Policitemia vera (JAK2)
<b>Eritrocitosi secondarie</b>	<b>Espansione del compartimento eritroide da alterazioni estrinseche</b>
Congenite	
	Hb ad alta affinità per l'ossigeno
	Deficit 2,3 bifosfoglicerato (deficit e mutazioni di <i>BPGM</i> , mutazioni attivanti <i>PKLR</i> )
	Metaemoglobinemia
	<b>Alterazioni dell'Oxigen Sensing:</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• eritrocitosi familiare tipo 2 - ECTY2 (VHL)</li> <li>• eritrocitosi familiare tipo 3 - ECTY 3 (EGLN1)</li> <li>• eritrocitosi familiare tipo 4 - ECTY4 (EPAS1)</li> </ul>
Acquisite	
	<b>Aumento fisiologico di Epo dovuto a patologie:</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• cardiache (cardiopatie cianogene – mixoma atriale)</li> <li>• respiratorie (patologie “ipossiche” polmonari – fumo –apnee notturne – sindromi ipoventilatorie – anomalie arterovenose polmonari – sindrome TEMPI)</li> <li>• renali (stenosi arteria renale – cisti renali – trapianto renale – idronefrosi – malformazioni renali – nefrocalcinosi – sindrome di Bartter)</li> <li>• epatiche (cirrosi epatica)</li> <li>• paratiroidea (iperparatiroidismo)</li> </ul>
	<b>Produzione autonoma di Epo per tumori:</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• renali (idronefroma – Wilms – adenoma – emangioma – sarcoma)</li> <li>• epatici (epatoma – amartoma – angiosarcoma – emangioma -carcinoma)</li> <li>• SNC (emangioma cerebellare – meningioma)</li> <li>• endocrini (feocromocitoma)</li> </ul>
	<b>Incremento degli androgeni plasmatici:</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sindrome di Cushing e iperaldosteronismo primario</li> <li>• tumori secernenti androgeni nelle donne</li> <li>• iperandrogenismo gestazionale</li> </ul>
	<b>Iatrogene:</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• altitudine</li> <li>• doping</li> <li>• androgeni</li> <li>• tossicità da Cobalto</li> <li>• avvelenamento da ossido di Carbonio</li> </ul>
<b>Eritrocitosi idiopatiche</b>	

fisiologica di EPO (secondaria a patologie polmonari, cardiache, epatiche o renali). Tali forme sono generalmente rare e tutte caratterizzate da livelli sierici di EPO elevati (Tab. I).

## Algoritmo diagnostico

In linea generale, quando s'identifica un bambino con un valore di emoglobina superiore alle 2 DS (97° percentile) rispetto a soggetti di pari età e sesso, l'approccio diagnostico deve essere indirizzato verso l'individuazione di una forma congenita piuttosto che di una

PV, essendo quest'ultima, a differenza dell'età adulta, molto rara in età pediatrica.

Un'anamnesi approfondita e un esame obiettivo completo sono fondamentali nell'inquadramento dell'eritrocitosi.

Le forme congenite andranno sospettate se è presente familiarità positiva per eritrocitosi, salassoterapia, eventi trombotici o morte improvvisa e nei casi a insorgenza molto precoce (< 2 anni). Ulteriori elementi di sospetto per forme congenite sono: ipotensione arteriosa, aumento della frequenza cardiaca e respiratoria, ipertensione polmonare e presenza di vene varicose

**BOX 2**

- **Sistema sensore dell'ossigeno**

Il sistema sensore dell'ossigeno rappresenta un complesso *pathway* che permette all'organismo di adattarsi a una situazione di ipossia, sia cronica che acuta. HIF è il principale fattore di trascrizione coinvolto in tale *pathway*. HIF è costituito da 2 subunità  $\alpha$  e  $\beta$ , entrambe costitutivamente espresse. La subunità  $\alpha$  presenta tre isoforme:  $1\alpha$ ,  $2\alpha$  e  $3\alpha$ . Modelli murini hanno confermato che l'isoforma HIF2 $\alpha$  è quella maggiormente coinvolta nella risposta all'ipossia. HIF $\alpha$  può essere rapidamente degradata in condizioni normossiche grazie a una serie di idrossilazioni, catalizzate dagli enzimi PHD1, PHD2 e PHD3, a carico del dominio ODD (Dominio di Degradazione O<sub>2</sub>-dipendente). L'attività idrossilasica dipende dal ferro e dalla disponibilità di ossigeno. L'idrossilazione sito specifica costituisce un motivo di riconoscimento da parte dell'ubiquitin-ligasi VHL che, attivandosi, determina la degradazione di HIF $\alpha$ . In condizioni di ipossia questo processo è interrotto, perché l'azione della PHD è limitata dalla carenza di ossigeno. HIF attiva non solo l'Epo, ma anche vari geni con funzioni incluse nel meccanismo di risposta all'ipossia: regolazione del tono vasale, angiogenesi (VEGF, PDGF), glicolisi anaerobica e introito cellulare di glucosio (Franke et al., 2013) (Figg. 1A e B).

(tipiche della forma VHL- correlata). Storia familiare o personale positiva per malattie croniche cardiache, renali, respiratorie o abitudine al fumo di sigaretta o all'uso di sostanze dopanti sono invece più indicativi di forme secondarie, così come una bassa saturazione di ossigeno o la presenza di cianosi indirizzerebbero maggiormente verso una patologia cardio-respiratoria o alla presenza di metaemoglobinemia.

Sintomi da iperviscosità ematica, come cefalea, vertigini, disturbi visivi, acufeni, epistassi, palpitazioni e dispnea, dolore o parestesie agli arti inferiori, possono essere presenti sia nelle forme congenite che acquisite e devono essere sempre ricercati, al fine di indirizzare la tempestività dell'intervento terapeutico.

In assenza di sintomi clinici riferibili all'iperviscosità ematica, in assenza di carenza marziale (che potrebbe sottostimare l'entità dell'eritrocitosi) e con una testimoniata buona idratazione almeno nell'arco delle 72 h precedenti il prelievo, si consiglia la ripetizione dell'esame emocromocitometrico (comprendente anche la valutazione dei reticolociti) per almeno altre due volte nell'arco dei successivi tre mesi a distanza di almeno un mese l'uno dall'altro. Laddove l'aumento dell'Hb al di sopra delle 2 DS (97° percentile) sia confermato nei tre emocromi si procede con una serie di esami labo-

ratoristici e di indagini molecolari, che possono portare alla diagnosi definitiva (Fig. 2).

Gli esami di primo livello sono: la determinazione della saturazione di ossigeno, l'emogasanalisi venosa per la determinazione della p50, l'elettroforesi dell'Hb per alcune varianti emoglobiniche ad alta affinità e il dosaggio dell'EPO sierica. In base al risultato di questi esami è possibile direzionare lo *screening* molecolare per i maggiori difetti genetici finora conosciuti.

### Determinazione della saturazione di ossigeno

Se inferiore al 92% valutare cause acquisite cardiache o polmonari, se invece maggiore del 92% effettuare emogasanalisi con valutazione della p50.

### Valutazione p50

La p50 rappresenta il valore di pO<sub>2</sub> al quale la metà dei siti di legame dell'emoglobina sono occupati dall'ossigeno e può essere facilmente calcolata essendo a conoscenza dei valori di pO<sub>2</sub>, pH e SatO<sub>2</sub> (Agarwal et al., 2007). In caso di p50 bassa effettuare *in primis* HPLC dell'emoglobina con analisi molecolare dei geni dell'alfa e della beta globina e poi l'analisi del gene BPGM e PKLR che causano deficit del 2,3 DPG.

In caso di normalità della p50 o se non eseguita, effettuare il dosaggio sierico dell'EPO (Fig. 2).

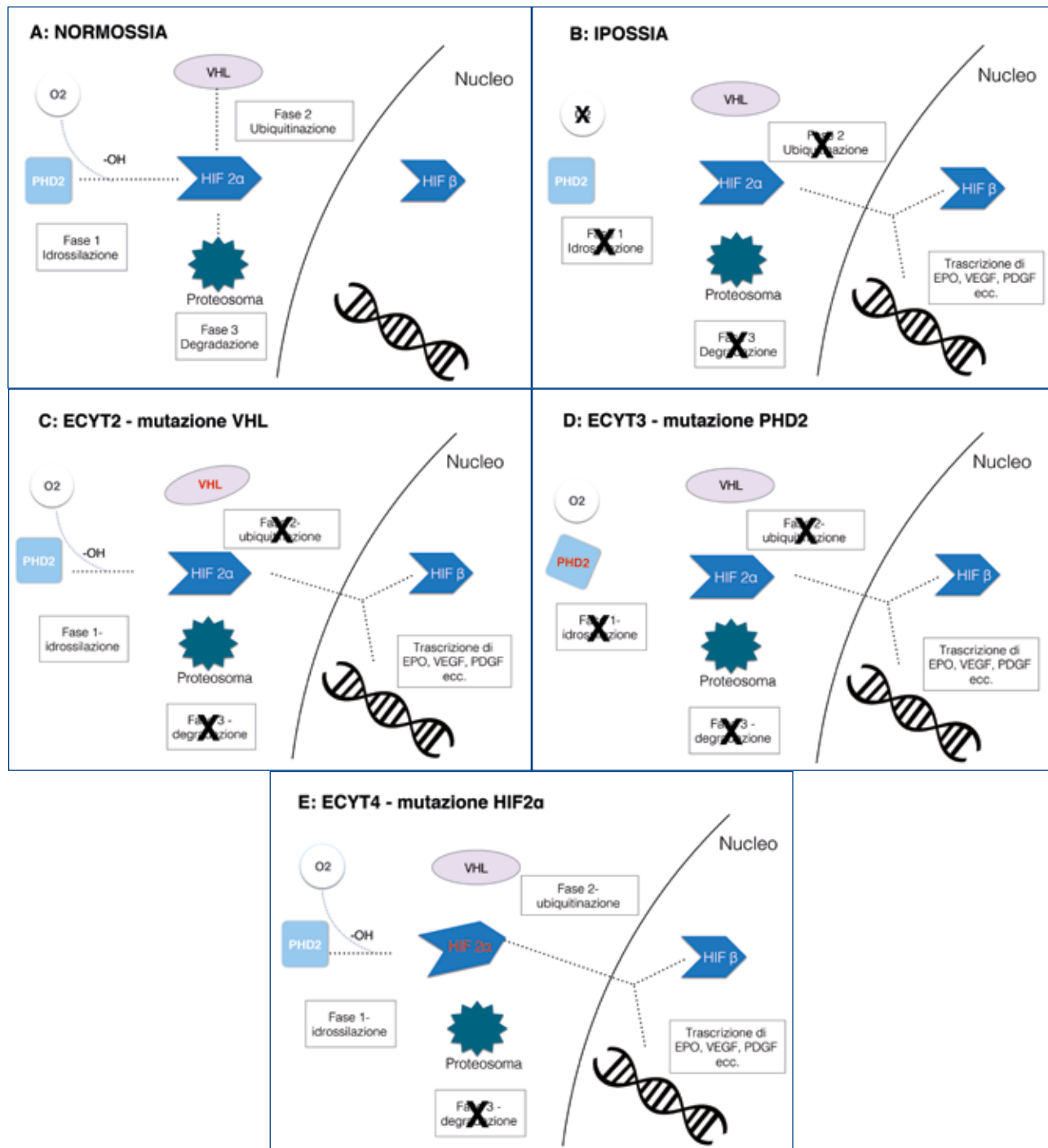
### Dosaggio sierico dell'EPO

Se EPO bassa (< 5 mU/ml) sequenziare, soprattutto in caso di familiarità, esone 7 e 8 del gene EPOR e, in caso di negatività o in caso di splenomegalia, leucocitosi e/o piastrinosi, esone 12 e 14 di JAK2.

Se EPO aumentata, o inappropriatamente normale, effettuare lo *screening* dei geni del sistema sensore dell'ossigeno fino a oggi conosciuti per essere responsabili di eritrocitosi congenite, e in particolare: VHL se i genitori risultano con Hb nella norma, o PHD2 e HIF2 $\alpha$  se l'eritrocitosi è dominante.

Se il paziente ha un valore di EPO sierica particolarmente aumentata, considerare anche le indagini volte alla diagnosi di tumori secernenti EPO e alla diagnosi di stenosi dell'arteria renale.

Ovviamente questo algoritmo diagnostico ha qualche limite soprattutto alla luce dei recenti approcci esclusivamente genetici che hanno evidenziato mutazioni in geni che non sarebbero stati analizzati se ci si fosse basati esclusivamente sui livelli di EPO sierica e/o sull'ereditarietà. Infatti, recentemente, sono state descritte in pazienti con eritrocitosi mutazioni in altri geni, di cui però non è stato ancora formalmente dimostrato il nesso causativo con la diagnosi di eritrocitosi, quali EPO (trasmissione dominante), GF11B (autosomico recessivo), KDM6A (autosomico recessivo), BHLHE41 (autosomico recessivo/dominante?), EGLN2, HIF3A and OS9 (Camps et al., 2016). Una volta raggiunta la diagnosi etiologica ogni forma



**Figura 1.** Regolazione del sistema sensore dell'ossigeno ed effetto delle sue alterazioni sull'espressione dell'Epo. Sistema sensore in condizioni di normossia (A) e ipossia (B). Patogenesi dell'eritrocitosi da mutazioni dei geni VHL (C), PHD2 (D) e HIF2α (E).

di eritrocitosi andrà indirizzata verso un programma di follow-up individualizzato e verso eventuali terapie, sulle quali purtroppo non esistono a oggi evidenze sulla loro indicazione ed efficacia.

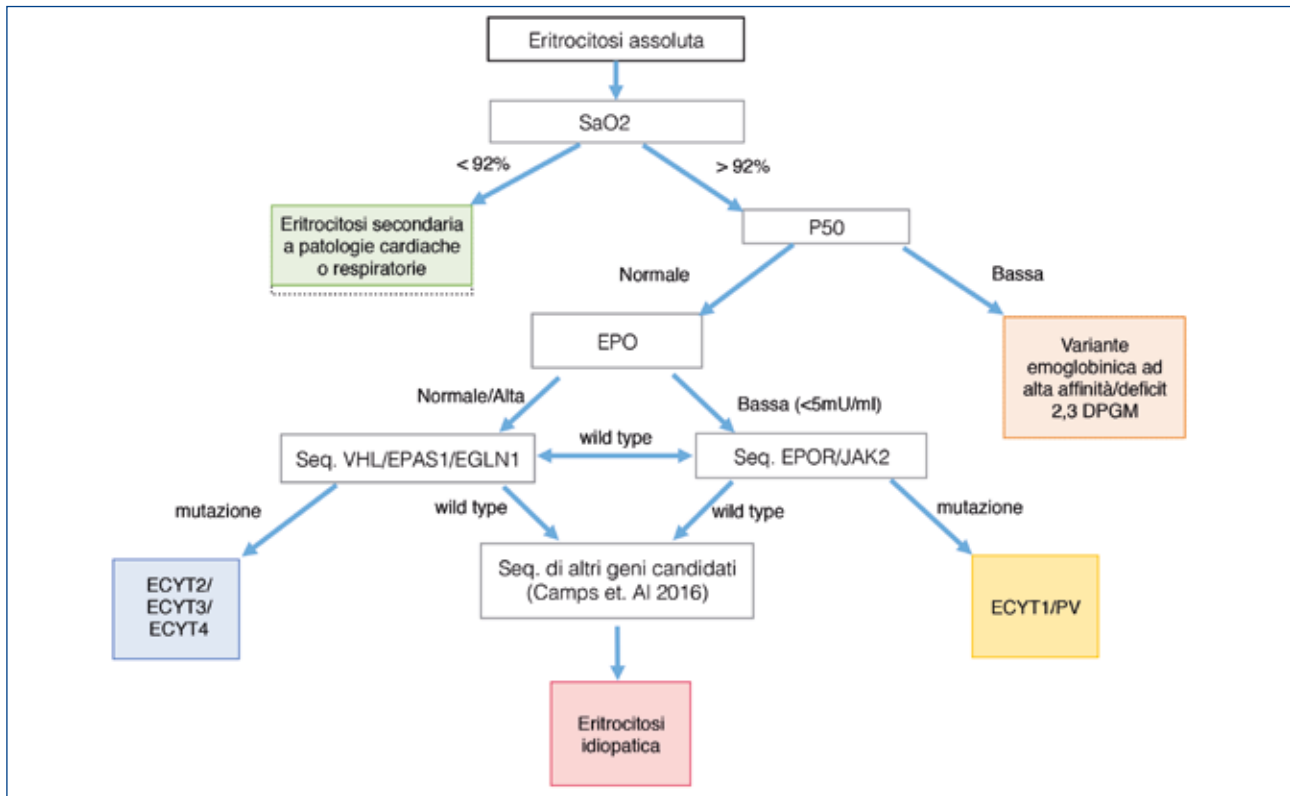
### Manifestazioni cliniche

Dati di correlazione genotipo-fenotipo, valutazioni sistematiche e prospettive sulla presentazione clinica

e biochimica di pazienti pediatrici con eritrocitosi sono quasi del tutto assenti in letteratura. Dati a oggi disponibili riguardano *case report* o analisi retrospettive su piccoli gruppi di pazienti. È da precisare che in circa il 40-50% delle eritrocitosi clinicamente congenite non si raggiunge una diagnosi causativa (Bento et al., 2013).

### ECTY1

La forma di eritrocitosi dipendente da mutazioni del



**Figura 2.** Algoritmo per la diagnosi di eritrocitosi.

gene EPOR è caratterizzata da EPO sierica molto bassa e da trasmissione autosomica dominante, ma esistono anche casi *de novo*. In genere i pazienti hanno un'insorgenza precoce dell'eritrocitosi con una milza di dimensioni normali. Le manifestazioni cliniche sono quelle dovute all'aumento della massa eritrocitaria e comprendono pletora, sindrome da iperviscosità (astenia, cefalea, vertigini, disturbi visivi e uditivi, parestesie, mialgia), sintomi da ipoperfusione cerebrale, eventi tromboembolici venosi e/o arteriosi. La gravità della sintomatologia è estremamente variabile e non è correlata con i livelli medi di ematocrito o con le terapie praticate (Bento et al., 2016).

### **Policitemia vera (PV)**

In età pediatrica tale disordine è estremamente raro e quindi i dati di letteratura sono mancanti. Tali pazienti sembrerebbero avere una minore incidenza di complicazioni gravi rispetto alla controparte adulta, ma in ogni caso più alta rispetto alle altre forme di eritrocitosi pediatriche (Cario et al., 2009). Alcuni studi hanno dimostrato che i pazienti pediatrici con la PV hanno meno frequentemente la mutazione classica JAK2(V617F) mentre presentano altre mutazioni dell'esone 12 di JAK2 (Percy et al., 2007; Karow et al., 2015).

### **Emoglobina a elevata affinità per l'ossigeno**

Tali forme di eritrocitosi sono trasmesse con carattere autosomico dominante. La diagnosi viene fatta

mediante la determinazione su prelievo ematico venoso della p50, che risulta ridotta, con una deviazione a sinistra della curva di dissociazione della ossiemoglobina, in presenza di un normale dosaggio del 2,3DPG. Solo un terzo di tutte le varianti emoglobiniche che determinano un'aumentata affinità per l'ossigeno sono associate a eritrocitosi secondaria, poiché, in diversi casi, l'aumento dell'affinità per l'ossigeno è molto lieve, oppure la variante emoglobinica è presente in quantità troppo bassa, oppure l'eritrocitosi può essere mascherata dall'emolisi, quando la variante emoglobinica è anche instabile. La maggior parte dei pazienti affetti sono asintomatici o presentano segni clinici aspecifici da correlare con l'iperviscosità ematica (eritrosi del volto e delle mucose, cefalea, vertigini, acufeni, ipertensione arteriosa).

Una lista aggiornata delle varianti emoglobiniche è disponibile su <http://globin.cse.psu.edu/hbvar/menu.html>

### **ECTY2**

La maggior parte dei dati clinici su questa forma di eritrocitosi riguarda un gruppo omogeneo di pazienti presente nella regione della Chuvashia in Russia e dovuto a un deficit su base genetica della degradazione di HIF da parte di VHL (Ang et al., 2002). Da sottolineare l'esistenza di un altro *cluster* della malattia localizzato in Italia, con un'alta prevalenza della mutazione nell'isola di Ischia (Perrotta et al., 2006).

La ECTY2 è trasmessa in maniera autosomica recessiva e i pazienti di questi due *cluster* sono tutti omozigoti per la mutazione Arg200Trp del gene VHL, con identico aplotipo, e pertanto si ipotizza una comune origine genetica. Sono stati poi identificati pazienti con differenti mutazioni del gene VHL in omozigosi o doppia eterozigosi.

La ECTY2 è caratterizzata da ipotensione arteriosa sistemica, aumentata incidenza di vene varicose, emangiomi vertebrali, ipertensione polmonare e una bassa conta piastrinica e leucocitaria. È stato dimostrato come alcune di queste complicanze siano comunque legate alla patogenesi di questa forma di eritrocitosi e in particolare all'aumentata trascrizione di geni regolati da HIF come il *vascular endothelial growth factor* (VEGF) (responsabile dell'ipotensione arteriosa e delle vene varicose) e l'endotelina 1 (responsabile dell'ipertensione polmonare). Studi retrospettivi hanno evidenziato una maggiore associazione con trombosi arteriose e venose, eventi vascolari cerebrali e diminuita aspettativa di vita (età media 42 anni). Da sottolineare che in tale popolazione non è stata riscontrata l'efficacia di terapie flebotomiche o antiaggreganti nel ridurre le complicanze o nel migliorare l'aspettativa di vita (Gordeuk e Prchal, 2006).

Il meccanismo fisiopatologico alla base di tale forma di eritrocitosi spiega anche la loro diversa dinamica cardio-respiratoria, per cui tali pazienti hanno un'aumentata frequenza respiratoria e cardiaca in normossia, che aumenta drammaticamente in condizioni di ipossia. Inoltre i vasi polmonari mostrano un tono maggiore e una maggiore reattività alla diminuzione della tensione di ossigeno rispetto ai controlli (Smith et al., 2006; Bushuev et al., 2006).

Pazienti affetti da tale forma di eritrocitosi hanno inoltre elevati valori plasmatici di omocisteina, glutatone e cistein-glicina, nonché bassi livelli di cisteina ed epcidina, così come glucosio ed emoglobina glicosilata (Sergueeva et al., 2008; Gordeuk et al., 2011; McClain et al., 2013).

Nella popolazione pediatrica, in particolare, è stato dimostrato come tali pazienti soffrono di cefalea e dolori alle gambe in misura maggiore rispetto a una popolazione normale di pari età. Tali pazienti hanno un aumentato rischio di complicanze gravi a breve termine, che correla con la presenza nella storia clinica di vertigini, aumentata frequenza cardiaca e utilizzo di antistaminici (Sergueeva et al., 2015).

L'unico studio prospettico fino a oggi effettuato nell'eritrocitosi congenita, è stato su una popolazione adulta e ha valutato gli eventi trombotici in pazienti con ECTY2 a 6-10 anni dall'arruolamento. Questo studio ha riscontrato un aumentato rischio di eventi trombotici di 9,6 volte, non correlato ai valori di ematocrito alla diagnosi, bensì al fumo, all'età, alla terapia cronica con flebotomie e/o pentossifillina e all'overespressione di geni, quali *THBS1*, *CXCL2* ed *EREG*. Ha inoltre dimostrato un aumento significativo del rischio

di trombosi nei pazienti con livelli sierici di trombospondina 1 maggiori di 3448 ng/mL (Sergueeva et al., 2017).

### ECTY3-4

Le eritrocitosi dovute a mutazioni germinali dei geni *EGLN1* ed *EPAS1* hanno caratteristiche cliniche sovrapponibili a quelle da mutazioni del gene *VHL* (Percy et al., 2006; Percy et al., 2008). Tali forme sono dominanti anche se è stato descritto un caso de novo nel caso di *HIF2α*. Il meccanismo etiopatogenetico risulta in un'inattivazione di *PHD2* o in una stabilizzazione di *HIF2α*. Tali forme hanno valori di EPO elevati o inappropriatamente normali. Le forme dovute a mutazioni del gene *EGLN1* sembrerebbero avere una maggiore tendenza a sviluppare complicanze cardiovascolari (Minamishima et al., 2008; Wilson et al., 2016).

Da sottolineare, inoltre, il ruolo di mutazioni di *EPAS1*, in genere somatiche ma in un caso anche germinale, in pazienti con associazione di eritrocitosi e tumori del sistema nervoso. HIF infatti, oltre a essere un regolatore chiave nel *pathway* dell'*Oxygen Sensing*, gioca un ruolo importante nello sviluppo e differenziamento della cresta neurale, per il funzionamento della midollare del surrene e dei paragangli. In particolare *HIF2α* è necessario per lo sviluppo dei paragangli e per la sintesi di catecolamine. Recentemente, sono state riportate alcune mutazioni somatiche in *HIF2α* in individui che presentavano sia eritrocitosi, che tumori (feocromocitomi, paragangliomi, somatostatini) (Zhuang et al., 2012). Queste mutazioni comportano una maggiore stabilità di *HIF2α* che, avendo un'emivita più lunga, garantisce l'iperespressione non solo di EPO, ma anche di altri geni ipossia-inducibili, importanti per la trasformazione neoplastica (Jochmanová et al., 2014). L'unica mutazione germinale associata a eritrocitosi e paragangliomi multipli è stata identificata nell'esone 9 (c.1121T/A; p.Phe374Tyr) e induce un cambiamento conformazionale tale da ridurre l'interazione con pVHL (Lorenzo et al., 2013).

### Eritrocitosi idiopatiche

La diagnosi di eritrocitosi idiopatica è in realtà una diagnosi di esclusione, e pertanto è una forma clinica poco definibile e molto eterogenea.

Uno studio che ha confrontato casi di eritrocitosi idiopatica con casi di eritrocitosi familiare e di PV ha messo in evidenza che i casi idiopatici si avvicinano per età di insorgenza a quelli di PV, essendo presenti in pazienti di età maggiore. Essi hanno un aumento dell'EPO comparabile ai casi familiari e un'incidenza di splenomegalia ed eventi trombotici minore rispetto ai casi di PV. Inoltre, l'aumento delle piastrine riscontrato di norma nei pazienti con PV era solamente sporadico nei casi di eritrocitosi idiopatica. Tali caratteristiche delle eritrocitosi "idiopatiche" suggeriscono un substrato genetico a penetranza variabile, ma fino a ora sconosciuto (Randi et al., 2016).



## Terapia

Gli autori raccomandano un approccio terapeutico individualizzato basato sulle caratteristiche cliniche e genetiche di ogni paziente.

Suggerimenti generali comprendono la necessità di mantenere una buona idratazione e di evitare attività che potenzialmente possano aumentare la viscosità ematica quali immersioni con bombole, alpinismo, paracadutismo, fumo, e di mettere in atto manovre di prevenzione di fenomeni di tromboembolismo in caso di attività che ne predispongano l'insorgenza, come voli a lunga distanza.

I principali argomenti di discussione riguardo la gestione di tali pazienti sono:

- salassoterapia
- terapia marziale
- terapia antiaggregante
- *follow-up*

### Salassoterapia

L'aumento della viscosità ematica comporta di norma un aumentato rischio trombotico per cui, nella popolazione adulta con PV, la salassoterapia è mandatoria; in tale contesto, insieme alla riduzione della viscosità ematica, si cerca di determinare uno stato di carenza marziale, tale da far sì che l'eritron sia meno stimolato.

Le eritrocitosi pediatriche, d'altra parte, hanno un substrato genetico e fisiologico estremamente diverso da quelle adulte; inoltre, in tale fragile categoria di pazienti vi è necessità di evitare uno stato di carenza marziale, per permettere un normale accrescimento e sviluppo psicofisico mediante una corretta funzione di enzimi dipendenti dal ferro.

A tale riguardo gli autori di tale revisione richiamano a una cautela nell'esecuzione della salassoterapia in pazienti che hanno un'alterazione generalizzata dei meccanismi di *Oxygen Sensing* (mutazioni di *VHL*, *HIF2 $\alpha$*  e *PHD2*), a meno di precedenti eventi trombotici o di sintomatologia fortemente correlata all'aumentata viscosità ematica.

Nelle altre forme di eritrocitosi, quali quelle da mutazioni del gene *EPO*R e nella Hb ad alta affinità, la salassoterapia deve essere valutata caso per caso, mentre la PV deve essere trattata come quelle nella popolazione adulta.

Le eritrocitosi secondarie devono essere anch'esse valutate in maniera individuale, focalizzandosi *in primis* su una pronta risoluzione del quadro patologico di base.

Gli autori di tale revisione consigliano sempre e comunque di considerare l'ematokrito "teorico" del paziente piuttosto che quello reale (ossia il valore a cui corrisponderebbe l'ematokrito se l'MCV fosse al 50esimo percentile per età) al fine di indicare o meno la terapia flebotomica. Tale suggerimento è in considerazione dell'elevata prevalenza di carenza marziale in tali patologie che, causando microcitemia, può mascherare

un marcato aumento della conta eritrocitaria e un'aumentata ampiezza di distribuzione eritrocitaria, fattori di per se estremamente predittivi di un aumentato rischio trombotico.

Comunque, la salassoterapia deve essere sempre consigliata in pazienti che hanno avuto precedenti episodi trombotici e/o con elevato rischio trombofilico o fortemente sintomatici. La quantità di sangue da prelevare è pari a 5-7 ml/kg e la frequenza dei salassi dipende dal valore di ematokrito iniziale.

### Terapia marziale

Il metabolismo del ferro è un complesso processo che coinvolge proteine cellulari ed extracellulari, nonché composti organici.

L'eterogeneità di funzioni di tale elemento, essendo esso co-fattore di numerosi enzimi, ne spiega l'estrema importanza per un corretto funzionamento di ogni organismo cellulare.

In particolare una carenza marziale in età pediatrica può comportare uno stato caratterizzato da astenia, scarsa attenzione e difficoltà mnemoniche, scarso rendimento scolastico, alterazioni della cute, del derma e degli annessi, ritardo nella guarigione delle ferite, ritardo dello sviluppo psicofisico e sessuale, sindrome delle gambe senza riposo, cheiliti angolari e stomatiti, e glossite atrofica.

Gli autori di questa *review* consigliano quindi la supplementazione marziale in bambini affetti da eritrocitosi, almeno fino al completamento dello sviluppo puberale e psicofisico.

Tale suggerimento è basato anche su studi molecolari condotti sul modello della Policitemia di Chuvash. È stato dimostrato, infatti, che in condizioni di normossia, la carenza di ferro provoca una *down-regulation* dell'isoforma specifica *HIF2 $\alpha$* , per la presenza di una regione sensibile al ferro nella 5' UTR del gene. Questo provoca uno squilibrio di espressione tra le due isoforme *HIF1 $\alpha$*  e *HIF2 $\alpha$* , a favore della prima, con un ulteriore stimolo pro-trombotico (Zhang et al., 2014).

### Terapia antiaggregante

Pazienti con PV necessitano di terapia anti-aggregante con acido acetilsalicilico a basse dosi poiché è stato dimostrato, in pazienti adulti, che tale terapia è associata a una riduzione del rischio di eventi trombotici fatali e della mortalità, senza aumento del rischio di eventi emorragici maggiori. Tale discorso vale in generale, anche se con un livello di evidenza minore, per tutte le eritrocitosi secondarie.

Tuttavia, le eritrocitosi da alterazione del Sistema Sensore dell'Ossigeno, sebbene presentino un maggior rischio trombotico rispetto alla popolazione sana, in base ai dati disponibili dalla letteratura, e a nostro avviso, non dovrebbero essere trattate con terapia anti-aggregante. Tale consiglio clinico è dovuto al fatto che meccanismi di compenso (come l'ipotensione sistemica e la piastrinopenia presenti in tali forme) bilanciano

il maggior rischio trombotico dovuto all'aumentata viscosità ematica.

È comunque buona norma porre in terapia anti-aggregante ogni paziente che abbia presentato un evento trombotico maggiore nella storia clinica.

### Follow-up

Non esistono a oggi evidenze circa la frequenza dei controlli clinici, ematici e strumentali di questi pazienti. In generale, i pazienti con eritrocitosi da mutazioni dei geni del Sistema Sensore dell'Ossigeno devono essere monitorati per il rischio di ipertensione polmonare, vene varicose, trombosi arteriose e venose ed emangiomi vertebrali.

## Conclusioni e prospettive future

L'esiguo numero di pazienti pediatrici affetti da eritrocitosi non consente di dare indicazioni prognostiche a lungo termine né di dare indicazioni terapeutiche e di prevenzione basate sull'evidenza. Essenziale sarà la costituzione di banche dati e di studi retrospettivi e soprattutto prospettici, volti a comprendere quale sia la migliore gestione clinica e terapeutica di tali giovani

pazienti. Inoltre sono necessari investimenti volti all'identificazione delle basi patogenetiche delle numerose forme di eritrocitosi "idiopatiche".

Da un punto di vista terapeutico, soprattutto per le rare forme di PV pediatrica e per le Eritrocitosi da alterazioni del sistema dell'*Oxygen Sensing*, estremamente promettenti sono gli inibitori di *JAK2*, quali il Ruxolitinib, già approvato dalla FDA per il trattamento della PV negli adulti. Il Ruxolitinib è stato utilizzato con successo in tre pazienti affetti da *ECTY2* e al momento è in corso uno studio clinico per valutarne gli effetti su un gruppo maggiore di pazienti (Zhou et al., 2016).

In futuro, potrebbe esserci l'utilizzo di inibitori delle selectine (primo tra tutti il crizanlizumab, inibitori della *P-selectin*), che stanno riscuotendo un grande interesse nel trattamento degli episodi vaso-occlusivi in pazienti con anemia a cellule falciformi. Tali inibitori riducendo i fenomeni di adesione eritrocita-endotelio-piastrine, potrebbero idealmente ridurre l'incidenza dei fenomeni trombotici nei pazienti con eritrocitosi.

Infine, sarebbe utile la valutazione, da tempo proposta ma mai valutata, dell'utilizzo degli antagonisti del recettore delle endoteline nei casi di eritrocitosi che sono a rischio di ipertensione polmonare.

## Box di orientamento

- **Cosa sapevamo prima**

L'eritrocitosi è una patologia rara causata soprattutto dalle emoglobine ad alta affinità per l'ossigeno e da mutazioni del recettore dell'eritropoietina.

- **Cosa sappiamo adesso**

Diverse forme a insorgenza giovanile sono causate da alterazioni dei geni coinvolti nel Sistema Sensore dell'Ossigeno e possono causare complicanze gravi.

- **Quali ricadute sulla pratica clinica**

Il pediatra dovrebbe considerare, nella sua pratica clinica, non solo l'emoglobina quando è al di sotto del 3° percentile ma anche quando è al di sopra del 97°, indirizzando il paziente verso un percorso diagnostico ed a volte terapeutico in base al tipo di eritrocitosi e alla sintomatologia del bambino.

### Bibliografia

Agarwal N, Mojica-Henshaw MP, Simmons ED, et al. *Familial polycythemia caused by a novel mutation in the beta globin gene: essential role of p50 in evaluation of familial polycythemia*. *Int J Med Sci* 2007;4:232-6.

\* Utile articolo con file excel per il calcolo della p50.

Ang SO, Chen H, Gordeuk VR, et al. *Endemic polycythemia in Russia: mutation in the VHL gene*. *Blood Cells Mol Dis* 2002;28:57-62.

\* Primo lavoro che ha descritto l'etiopatogenesi di una forma di eritrocitosi da de-

ficit dell'*Oxygen Sensing pathway*- ECTY2.

Bento C, Almeida H, Maia TM, et al. *Molecular study of congenital erythrocytosis in 70 unrelated patients revealed a potential causal mutation in less than half of the cases (Where is/are the missing gene(s)?)*. *Eur J Haematol* 2013;91:361-8.

Bento C, Percy MJ, Gardie B, et al. *Genetic basis of congenital erythrocytosis: mutation update and online databases*. *Hum Mutat* 2014;35:15-26.

\*\* Lavoro multicentrico realizzato da un consorzio europeo di esperti con accurata descrizione delle basi genetiche delle eritrocitosi congenite e presentazione di un *data-base online*.

Bento C, McMullin MF, Percy M, et al. *Primary familial and congenital polycythemia*. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., Eds. *GeneReviews*® Seattle (WA): University of Washington, Seattle 2016, pp. 1993-2017.

\* Ottima revisione sia clinica, che molecolare dell'ECTY1.

Bushuev VI, Miasnikova GY, Sergueeva AI, et al. *Endothelin-1, vascular endothelial growth factor and systolic pulmonary artery pressure in patients with Chuvash polycythemia*. *Haematologica* 2006;91:744-9.

Camps C, Petousi N, Bento C, et al. *Gene panel sequencing improves the diagnostic work-up of patients with idiopathic erythro-*

cytosis and identifies new mutations. *Haematologica* 2016;101:1306-18.

\* Descrizione di un assay multi-comprendente per la diagnostica delle eritrocitosi su base familiare e identificazione di nuovi geni potenzialmente causativi di malattia.

Cario H, McMullin MF, Pahl HL. *Clinical and hematological presentation of children and adolescents with polycythemia vera*. *Ann Hematol* 2009;88:713-9.

Cario H, McMullin MF, Bento C, et al. *Erythrocytosis in children and adolescents-classification, characterization, and consensus recommendations for the diagnostic approach*. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60:1734-8.

\* Ottima revisione sulle forme di eritrocitosi pediatriche.

Franke K, Gassmann M, Wielockx B. *Erythrocytosis: the HIF pathway in control*. *Blood*. 2013;122:1122-8.

\*\* Revisione esaustiva sul pathway dell'Oxygen Sensing e il ruolo svolto nelle eritrocitosi familiari.

Gordeuk VR, Prchal JT. *Vascular complications in Chuvash polycythemia*. *Semin Thromb Hemost* 2006;32:289-94.

Gordeuk VR, Miasnikova GY, Sergueeva AI, et al. *Chuvash polycythemia VHLR200W mutation is associated with down-regulation of hepcidin expression*. *Blood* 2011;118:5278-82.

Huang LJ, Shen YM, Bulut GB. *Advances in understanding the pathogenesis of primary familial and congenital polycythemia*. *Br J Haematol* 2010;148:844-52.

\*\* Revisione del meccanismo di regolazione di EPOR e il ruolo svolto nella PFCP.

Jochmanová I, Zelinka T, Widimský J Jr, et al. *HIF signaling pathway in pheochromocytoma and other neuroendocrine tumors*. *Physiol Res* 2014;63(Suppl 2):S251-62.

Karow A, Nienhold R, Lundberg P, et al. *Mutational profile of childhood myeloproliferative neoplasms*. *Leukemia* 2015;29:2407-9.

Lorenzo FR, Yang C, Ng Tang Fui M, et al. *A novel EPAS1/HIF2A germline mutation in*

*a congenital polycythemia with paraganglioma*. *J Mol Med (Berl)* 2013;91:507-12.

McClain DA, Abuelgasim KA, Nourai M, et al. *Decreased serum glucose and glycosylated hemoglobin levels in patients with Chuvash polycythemia: a role for HIF in glucose metabolism*. *J Mol Med (Berl)* 2013;91:59-67.

Minamishima YA, Moslehi J, Bardeesy N, et al. *Somatic inactivation of the PHD2 prolyl hydroxylase causes polycythemia and congestive heart failure*. *Blood* 2008;111:3236-44.

Patnaik MM, Tefferi A. *The complete evaluation of erythrocytosis: congenital and acquired*. *Leukemia* 2009;23:834-44.

Pearson TC. *Apparent polycythemia*. *Blood Rev* 1991;5:205-13.

Percy MJ, Zhao Q, Flores A, et al. *A family with erythrocytosis establishes a role for prolyl hydroxylase domain protein 2 in oxygen homeostasis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:654-9.

\* Primo lavoro che ha descritto una famiglia con mutazione del gene *EGLN1* causativa di eritrocitosi.

Percy MJ, Scott LM, Erber WN, et al. *The frequency of JAK2 exon 12 mutations in idiopathic erythrocytosis patients with low serum erythropoietin levels*. *Haematologica* 2007;92:1607-14.

Percy MJ, Furlow PW, Lucas GS, et al. *A gain-of-function mutation in the HIF2A gene in familial erythrocytosis*. *N Engl J Med* 2008;358:162-8.

\*\* Prima mutazione di *EPAS1* in una forma di eritrocitosi familiare.

Perrotta S, Nobili B, Ferraro M, et al. *Von Hippel-Lindau-dependent polycythemia is endemic on the island of Ischia: identification of a novel cluster*. *Blood* 2006;107:514-9.

\* Descrizione di un vasto cluster di ECTY2 nell'isola di Ischia con stesso aplotipo della popolazione russa della Chuvashia.

Randi ML, Bertozzi I, Cosi E, et al. *Idiopathic erythrocytosis: a study of a large cohort with a long follow-up*. *Ann Hematol*.2016;95:233-7.

Sergueeva AI, Miasnikova GY, Okhotin

DJ, et al. *Elevated homocysteine, glutathione and cysteinylglycine concentrations in patients homozygous for the Chuvash polycythemia VHL mutation*. *Haematologica* 2008;93:279-82.

Sergueeva AI, Miasnikova GY, Polyakova LA, et al. *Complications in children and adolescents with Chuvash polycythemia*. *Blood* 2015;125:414-5.

\* Unica descrizione clinica sistematica di un gruppo omogeneo di pazienti pediatriche affetti da eritrocitosi familiare.

Sergueeva A, Miasnikova G, Shah BN, et al. *Prospective study of thrombosis and thrombospondin-1 expression in Chuvash polycythemia*. *Haematologica* 2017; [Epub ahead of print].

\* Primo studio prospettico nelle eritrocitosi congenite.

Smith TG, Brooks JT, Balanos GM, et al. *Mutation of von Hippel-Lindau tumour suppressor and human cardiopulmonary physiology*. *PLoS Med* 2006;3:e290.

Wilson R, Syed N, Shah P. *Erythrocytosis due to PHD2 mutations: a review of clinical presentation, diagnosis, and genetics*. *Case Rep Hematol* 2016;2016:6373706.

Zhang X, Zhang W, Ma SF, et al. *Iron deficiency modifies gene expression variation induced by augmented hypoxia sensing*. *Blood Cells Mol Dis* 2014;52:35-45.

\* Studio molecolare sugli effetti della carenza marziale sull'espressione differenziale delle isoforme di HIF e dei loro geni target.

Zhou AW, Knoche EM, Engle EK, et al. *Clinical improvement with JAK2 inhibition in Chuvash polycythemia*. *N Engl J Med* 2016;375:494-6.

\*\* Risultati clinici preliminari riguardo l'uso di un inibitore di JAK2- ruxolotinib – in pazienti con ECTY2.

Zhuang Z, Yang C, Lorenzo F, et al. *Somatic HIF2A gain-of-function mutations in paraganglioma with polycythemia*. *N Engl J Med* 2012;367:922-30.

## Corrispondenza

### Silverio Perrotta

Dipartimento della Donna, del Bambino e di Chirurgia generale e specialistica, Università degli studi della Campania "Luigi Vanvitelli", via L. de Crecchio 4, 80138 Napoli - E-mail: silverio.perrotta@unicampania.it