



centro hospitalar
do Porto



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

6º Ano

DOENÇAS MIELOPROLIFERATIVAS

Catarina Filipa Amorim Meireles

Orientador: Dr^a Luciana Pinho

RESUMO

As doenças mieloproliferativas constituem um grupo heterogéneo de patologias, com origem numa célula progenitora hematopoética totipotente, onde ocorre produção excessiva de um ou mais dos elementos sanguíneos sem displasia significativa e em que há tendência para hematopoise extramedular, mielofibrose e transformação para leucemia aguda. A classificação da Organização Mundial de Saúde inclui sete doenças mieloproliferativas crónicas: leucemia mielóide crónica, leucemia neutrofílica crónica, mastocitose sistémica, policitemia vera, mielofibrose primária, trombocitose essencial e doença mieloproliferativa não classificável. A sua heterogenidade fenotípica tem uma base genética. Na verdade, a mieloproliferação anormal justifica-se pela activação constitucional de vias de transdução de sinais, causadas por rearranjos genéticos ou mutações que afectam as proteínas tirosina cinases ou moléculas relacionadas. Nos últimos anos, foram descritas novas mutações nos genes MPL e JAK2, que permitiram ampliar o conhecimento sobre as bases moleculares destas doenças e deste modo, aperfeiçoar a sua capacidade de diagnóstico e tratamento. Estas descobertas resultaram no desenvolvimento de terapêutica molecular dirigida, como é o caso dos inibidores JAK2. Estes fármacos têm sido efectivos no controlo da hiperproliferação de células hematopoéticas e no alívio dos sintomas constitucionais. Os ensaios clínicos que estão a decorrer permitirão uma melhor avaliação sobre os benefícios e segurança destes compostos.

História

Em 1892, Louis Henri Vaquez fez a primeira descrição de um caso de policitemia vera (PV), num doente com eritrocitose e hepatoesplenomegalia marcada.¹ A mielofibrose foi inicialmente

caracterizada por Gustav Hueck, que detectou a presença de fibrose medular e hematopoise extramedular num doente com mielofibrose primária (PMF, na sigla em inglês).² A trombocitose essencial (ET) foi descrita, em 1934, por Emil Epstein e Alfred Goedel, em doentes com trombocitose sem marcada eritrocitose.³

Em 1951, William Dameshek introduziu o conceito de “doenças mieloproliferativas” (MPD) englobando a leucemia mielóide crónica (CML), a PV, a ET e a PMF.⁴ Este conceito reunia patologias hematológicas com características fenotípicas semelhantes, maturação celular preservada e com hiperproliferação de um ou mais elementos sanguíneos. A descoberta do cromossoma Filadélfia (Ph) em 1960,⁵ associado à CML, demonstrou que a mutação carcinogénica das células estaminais totipotenciais estaria na base das MPDs.⁶

Classificação

Em 1903, William Osler publicou um estudo descrevendo quatro doentes com cianose crónica, policitemia e esplenomegalia. Na sequência deste, foram criados os primeiros critérios de diagnóstico de PV.⁷

Em 1975, o Polycythemia Vera Study Group (PVSG) publicou um conjunto de critérios de diagnóstico de forma a garantir que os doentes com policitemia secundária ou aparente, fossem excluídos dos protocolos de tratamento.⁸ Segundo estes critérios, era necessário demonstrar uma saturação normal de oxigénio na hemoglobina e um aumento da massa eritrocitária, através da medição do volume sanguíneo usando eritrócitos marcados. Outros critérios como a esplenomegalia, a leucocitose, a trombocitose, a elevação da fosfatase alcalina leucocitária, o aumento dos níveis séricos de vitamina B₁₂ ou da capacidade de ligação da vitamina B₁₂ livre, apresentavam baixa sensibilidade e especificidade.

Os critérios de PMF propostos pelo PVSG incluíam fibrose envolvendo mais de um terço da área de secção da biópsia medular, esplenomegalia, reacção

sanguínea leucoeritoblástica, ausência de elevação da massa eritrocitária e ausência do cromossoma filadélfia.⁹

À medida que o conhecimento sobre a PV, ET e PMF se foi expandindo, outros grupos foram propondo diferentes critérios de diagnóstico.³⁰⁻³³

Numa tentativa de uniformizar o diagnóstico destas doenças, em 2001, a Organização Mundial de Saúde (WHO),¹⁴ desenvolveu um sistema de classificação que incluía no grupo das doenças mieloproliferativas crónicas (CMPD) as formas clássicas propostas por Dameshek, a síndrome hipereosinofílica/leucemia eosinofílica crónica (CEL), a leucemia neutrofílica crónica (CNL) e as CMPDs não classificáveis.

Em 2008, a revisão do sistema de classificação da WHO levou à alteração da nomenclatura das MPDs para neoplasias mieloproliferativas (MPN), realçando o facto de que neste grupo de doenças, a mieloproliferação tem um carácter neoplásico e não reactivo.^{15,16} A mastocitose sistémica (SM) foi inserida neste grupo, dado que é uma doença de células clonais estaminais com muitas características em comum com as outras MPNs. (Tabela1)

Tabela 1. Classificação da WHO das neoplasias mieloproliferativas.

Policitemia vera
Trombocitose essencial
Mielofibrose primária
Leucemia mielóide crónica
Leucemia neutrofílica crónica
Mastocitose sistémica
Neoplasia mieloproliferativa não classificável

Definição

As MPNs partilham uma série de características entre si, nomeadamente, a origem numa célula progenitora hematopoiética totipotente, o excesso de produção de um ou mais dos elementos sanguíneos sem displasia significativa, uma predilecção por hematopoise extramedular, mielofibrose e transformação, em diferentes proporções, para leucemia aguda. Contudo,

existe uma heterogeneidade fenotípica significativa. Algumas doenças, como a CML, a CNL e a CEL, expressam primariamente um fenótipo mielóide, enquanto noutras, como a PV, a PMF e a ET, predomina uma hiperplasia eritróide ou megacariocítica.¹⁷

Bases moleculares

Virtualmente, cada via intracelular de transdução de sinal é assegurada por uma cascata mediada por cinases. Os seres humanos expressam mais de 500 cinases, que levam à fosforilação de proteínas distintas, tipicamente nos resíduos de tirosina, serina ou treonina.¹⁸

A mieloproliferação anormal surge da activação constitucional de vias de transdução de sinais, causadas por rearranjos genéticos ou mutações que afectam as proteínas tirosina cinases ou moléculas relacionadas.^{19,20} Como exemplo, temos o rearranjo BCR-ABL na CML,²¹ os rearranjos dos receptores A e B do factor de crescimento derivado de plaquetas (PDGFRB²², PDGFRA^{23,24}) e do receptor 1 do factor de crescimento de fibroblastos (FGFR1)²⁵ nas doenças eosinofílicas e mutações do gene KIT que codifica o receptor do factor de células estaminais (SCF) na SM.^{26,27}

Em 2005, a descoberta da mutação na cinase Janus 2 (JAK2V617F),²⁸⁻³² permitiu alargar o conhecimento relativamente à patogénese das MPDs BCR-ABL negativas clássicas. Esta mutação resulta de uma permuta do nucleótido G por T na posição 1849 do exão 14, ocorrendo substituição da valina por fenilalanina no codão 617. A mutação está localizada no domínio da pseudo-cinase JH2, resultando na perda do controlo auto-inibitório da JAK2. Como consequência, a JAK2 mutada encontra-se num estado constitucionalmente fosforilado, independentemente da associação do ligando ao seu receptor. A mutação JAK2V617F é encontrada em mais

de 95% dos doentes com PV, em 60% com ET e 50% com PMF.³³

Posteriormente, descobriram-se mutações adicionais em JAK2³⁴ e no receptor de trombopoietina MPL.^{35,36} Em doentes com clínica sugestiva de PV e sem a mutação JAK2V617F, foram detectadas várias anomalias genéticas envolvendo o exão 12 da JAK2, responsáveis por menos de 2% dos casos de PV.^{34,37} Os doentes com mutações missense ou com deleções do exão 12 têm frequentemente eritrocitose isolada, e por isso, uma clínica semelhante à eritrocitose idiopática.

Outra anomalia molecular recorrente nas MPNs é a mutação somática no codão 515 da MPL.^{35,36} O MPL é o receptor da citocina trombopoietina (TPO) e é expresso nos progenitores hematopoiéticos e nas células da linhagem megacariocítica.³⁸ As duas mutações mais comuns de MPL são a W515L (substituição de triptofano por leucina) e a W515K (substituição de triptofano por lisina). Estas mutações foram detectadas em 5-10% dos doentes com PMF³⁹ e em mais de 9% dos doentes com ET e sem mutação JAK2V617F.^{40,41} Entretanto, foram descritas outras mutações mais raras de MPL (W515S, W515A e S505N), associadas a trombocitose familiar hereditária.⁴² Por oposição ao que se sucede com a mutação JAK2V617F, a doença induzida pela mutação MLPW515L é caracterizada por uma evolução rapidamente fatal, trombocitose marcada, leucocitose e fibrose medular, todas remanescentes da PMF.³⁵ Alguns doentes apresentam simultaneamente mutação MPL e JAK2 617F.⁴³

A codificação genética de PDGFRA está envolvida no possível desenvolvimento de anomalias genéticas associadas a eosinofilia.^{44,45} A anomalia mais frequente é devida a uma microdelecção no cromossoma 4q12, onde o PDGFRA está localizado, resultando no gene de fusão FIP1L1-PDGFRB.²³ A mutação PDGFRB está envolvida nos rearranjos²² associados à

eosinofilia que responde à terapêutica com o imatinib.⁴⁶ O PDGFRB está localizado no cromossoma 5q31-32 e também pode sofrer fusão. Um dos mais comuns é o gene ETV6/TEL no cromossoma 12p13.⁴⁷ A proteína de fusão activa constitutivamente as vias celulares normais associadas ao PDGFRB.⁴⁸

A mutação D816V localizada no domínio catalítico do receptor de tirosina cinase c-KIT (localizado no cromossoma 4q12) ocorre na SM.⁴⁹ O c-KIT é o receptor do SCF, uma citocina envolvida na geração e diferenciação dos mastócitos.

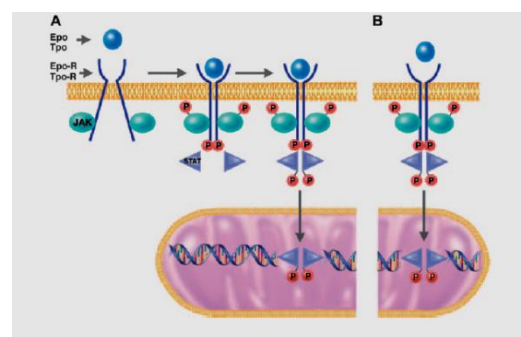


Figura 1. Via de transdução de sinal JAK/STAT. (A) Normalmente, os progenitores eritróides e megacariocíticos necessitam da ligação da EPO ou da TPO aos respectivos receptores (EPO-R ou TPO-R) para iniciar a sequência intracelular de fosforilação, conduzindo à activação do factor de crescimento. (B) No doente com MPD, que possui a mutação JAK2V617F, a via de transdução de sinal JAK/STAT está constitucionalmente activada, na ausência da ligação da EPO ou da TPO aos seus receptores.¹⁷⁷

Hereditariedade nas doenças mieloproliferativas

As formas hereditárias de MPD podem ser divididas em dois grupos. Um primeiro grupo constituído por síndromes hereditárias que afectam uma linhagem com hereditariedade mendeliana, que revelam uma elevada penetrância e hematopoiese policlonal. No segundo grupo existe uma predisposição hereditária para MPD, sendo caracterizado por baixa penetrância (ex. JAK2V617F).^{50,51}

O protótipo do primeiro grupo são as mutações envolvendo o receptor da eritropoetina (EPO), que vão truncar o domínio intracelular desse receptor tornando os progenitores eritróides hipersensíveis à EPO. Deste modo, os doentes apresentam hematócrito elevado e baixos níveis de EPO.^{52,53} Recentemente, foram encontradas mutações em genes que regulam a resposta à hipoxia, como o VHL, o HIF-2 α e o PHD2, em síndromes de policitemia familiar com elevados níveis de EPO.^{54,55} A trombocitose familiar sem envolvimento de outras linhagens pode ser causada por mutações em TPO e MPL.⁵⁶

Recentemente, foram estudadas numerosas famílias com predisposição hereditária para MPD.⁵⁷ As mutações no gene TET2 podem ocorrer em doentes com MPD esporádica e outras malignidades hematopoiéticas,^{58,59} mas estas surgem como mutações somáticas restritas ao sistema hematopoiético.⁶⁰

Neoplasias mieloproliferativas clássicas

A PV, a ET e a PMF partilham várias características,⁶¹ como a origem numa célula estaminal hematopoiética totipotente, manifestações clínicas semelhantes, no caso da PV e ET a propensão para evoluir para mielofibrose, e a possibilidade de se transformarem em leucemia mielóide aguda (ANL).⁶²

Além disso, apresentam hipersensibilidade à EPO, o que leva ao crescimento de progenitores eritróides *in vitro* na ausência de citocinas.⁶³ Este processo corresponde à formação de “colónias eritróides endógenas” (EEC),^{64,65} que são observadas em 100% dos casos de PV e em 30-50% dos casos de ET e de PMF. A hipersensibilidade envolve também outras citocinas como a interleucina-3 (IL-3), o SCF, o factor 1 de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), o factor estimulante de colónias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF) e a TPO. A formação de colónias megacariocíticas

endógenas é observada na maioria dos casos de MPN, incluindo na ET sem EEC.⁶⁶

De facto, considerando as similaridades será razoável questionar se a PV, a ET e a PMF são doenças separadas, diferentes manifestações da mesma doença ou uma combinação de ambos, sendo que as evidências moleculares actuais suportam a última possibilidade.^{57,68}

A PV e a ET são doenças relativamente indolentes,⁶⁹ associadas a uma modesta redução da esperança média de vida. Contudo, a maioria dos doentes acaba por ter uma ou mais complicações graves e potencialmente fatais directamente atribuídas à doença. Por outro lado, a PMF tem uma evolução mais severa na maioria dos casos e a sobrevivência é significativamente afectada.

As MPNs clássicas estão entre as neoplasias hematológicas mais frequentes e afectam predominantemente a população idosa. Na verdade, a idade avançada, o sexo masculino e a raça branca foram identificados como factores de risco.⁷⁰

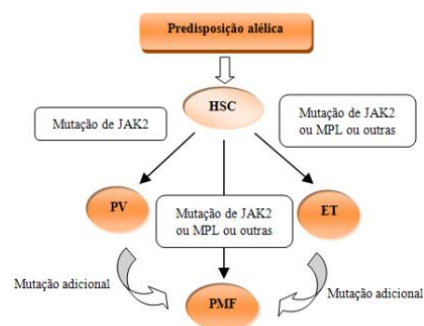


Figura 2. Patogénese das MPDs (adaptado do programa de educação da American Society of Hematology de 2006).

Policitemia vera

A PV é a MPN mais comum, presumivelmente porque representa o fenótipo final das mutações activas de JAK2.^{32,71}

A eritrocitose é a marca da PV, sem esta o diagnóstico não pode ser estabelecido, nem a PV pode ser distinguida das demais MPNs. Quando a PV é uma hipótese de

diagnóstico, é útil determinar a massa eritrocitária e o volume plasmático. É preciso ter em consideração que a expansão do volume plasmático, mesmo na ausência de esplenomegalia, pode mascarar um verdadeiro aumento da massa eritrocitária na PV.⁷²⁻⁷⁴ Deste modo, os valores de hemoglobina e hematócrito sozinhos não permitem estabelecer a presença de eritrocitose.

De acordo com as guidelines da WHO de 2008, a PV deve ser suspeitada em doentes com níveis de hemoglobina superiores a 18,5 g/dL nos homens ou 16,5 g/dL nas mulheres ou níveis de hemoglobina superiores a 17 g/dL nos homens ou a 15 g/dL nas mulheres se associados a um aumento sustentado de pelo menos 2 g/dL relativamente à linha de base individual.¹⁵ Outro critério major no diagnóstico da PV é a presença de mutação na JAK2. Critérios minor de diagnóstico são o baixo nível sérico de EPO, histologia da medula óssea compatível com MPN e o crescimento de colónias eritróides endógenas. (Tabela 2)

Tabela 2. Critérios da WHO de policitemia vera.

Critérios Major		
Hemoglobina > 18.5 g/dL no homem, 16.5 g/dL na mulher ou outra evidência de aumento do volume de eritrócitos.		
Presença de JAK2V617F ou outra mutação funcionalmente similar como a mutação JAK2 no exão 12.		
Critérios Minor		
Biópsia	medular	demonstrando hiperplasticidade com mieloproliferação das 3 linhagens.
Formação <i>in vitro</i> de colónias eritróides endógenas.		

O diagnóstico de PV requer a presença de ambos os critérios major e um critério minor ou o primeiro critério major e dois critérios minor.

A esplenomegalia pode ser o sinal de apresentação inicial da PV, mas esta é detectada mais frequentemente pela descoberta incidental de valores elevados de hemoglobina ou hematócrito. Com a excepção do prurido após o banho, nenhum

sintoma distingue a PV de outras causas de eritrocitose. A eritrocitose causa hiperviscosidade, podendo levar ao aparecimento de sintomas neurológicos como vertigem, cefaleias, alterações visuais e acidentes isquémicos transitórios. A hipertensão sistólica é também uma característica da elevação da massa eritrocitária. Em alguns doentes, a trombose venosa ou arterial pode ser a manifestação de apresentação. A trombose venosa intra-abdominal é particularmente comum em mulheres jovens e pode ser catastrófica se ocorrer uma obstrução súbita e completa da veia hepática. A isquemia das extremidades dos dedos, fácil formação de hematoma, epistaxe ou hemorragia gastrointestinal podem ocorrer devido à estase vascular ou trombocitose. Eritema, ardor e dor nas extremidades, um complexo de sintomas conhecido como eritromelalgia, é outra complicação da trombocitose da PV. Devido à grande renovação de células hematopoiéticas, hiperuricemia com gota secundária, cálculos de ácido úrico e sintomas causados por hipermetabolismo também podem complicar esta doença.¹⁷

As principais complicações da PV estão directamente relacionadas com o aumento da viscosidade sanguínea, associada à elevação da massa eritrocitária e indirectamente ao aumento do *turnover* eritrocitário, de leucócitos e de plaquetas com aumento concomitante na produção de ácido úrico e citocina. Um aumento súbito do tamanho do baço pode ser associado a enfarte esplénico. Em alguns doentes, a mielofibrose é acompanhada de hematopoiese extramedular significativa, de hepatoesplenomegalia e de anemia dependente de transfusão. A organomegalia pode associar-se a desconforto, hipertensão portal e caquexia. A transformação para ANL, nos doentes que não foram expostos a quimioterapia ou radiação, é pouco frequente. O desenvolvimento de leucemia está relacionado com idade mais avançada, mas não com a duração da doença,

sugerindo que a exposição ao tratamento será um factor de risco mais importante do que a doença em si.¹⁷

A patogénese da trombose nas MPNs é multifactorial, podendo estar associada ao aumento de massa eritrocitária e à função plaquetária anormal.⁷⁵ No entanto, nem a trombocitose nem o aumento do hematócrito (pelo menos até 52%) estão claramente associados com a ocorrência de trombose.⁷⁶ A maioria dos eventos trombóticos ocorre nos dois primeiros anos a seguir ao diagnóstico.⁷⁷ Alguns estudos demonstraram que o risco cumulativo de trombose durante o curso da doença varia entre os 2,5% e 5%, dependendo se o doente se encontra no grupo de baixo ou alto risco.⁷⁸ Num grande estudo retrospectivo de doentes com PV ou ET que tiveram um evento cardiovascular prévio, a taxa de recorrência foi de 5,6% ao ano, com uma probabilidade cumulativa de 49,9% em 10 anos.⁷⁹

A taxa de mortalidade é dependente da idade, sendo 1,6 vezes ou 3,3 vezes superior à população de referência, em doentes com menos ou mais de 50 anos, respectivamente.⁸⁰

Trombocitose essencial

A ET é uma doença incomum, com incidência de 1 a 2/100 000 e uma predominância no sexo feminino, ao contrário das outras MPNs.^{81,82}

Uma predisposição hereditária para a ET e outras MPNs foi reconhecida inicialmente, em famílias contendo múltiplos indivíduos afectados. Estes são frequentemente portadores de mutações em JAK2 e são clinicamente indistinguíveis daqueles com doença esporádica.⁵⁷ Esta predisposição familiar foi confirmada num estudo, que demonstrou um risco relativo de desenvolver ET de 7,4 nos familiares de primeiro grau de indivíduos afectados.⁸³ Três estudos publicados em 2009, encontram valores de cerca de metade destes para a predisposição hereditária.⁸⁴⁻⁸⁶

Como a trombocitose isolada pode ser uma manifestação clínica inicial de PV, PMF ou CML, a ET deve ser vista não apenas como um diagnóstico de exclusão, como também não deve ser considerada uma entidade clínica única.⁸⁷ Na revisão dos critérios da WHO, o limiar de plaquetas para diagnóstico de ET baixou de $600 \times 10^9/L$ para $450 \times 10^9/L$. Este nível de trombocitose não é específico da ET, podendo surgir na trombocitose reactiva. Geralmente, quanto mais elevada é a contagem de plaquetas, maior é o grau de especificidade do diagnóstico.⁸⁸ Depois de excluir causas óbvias de trombocitose reactiva (défice de ferro, trauma, infecção, etc), o teste para a mutação JAK2V617F pode ser útil. A presença da mutação JAK2V617F confirma uma trombocitose clonal, mas a colheita de sangue periférico e o exame histológico da medula óssea devem ser realizados para confirmar o diagnóstico de ET. A CML também pode apresentar-se com trombocitose, por isso, a presença de BCR-ABL deve ser excluída. Além disso, para distinguir a ET da PMF pré-fibrótica, que é caracterizada por marcada trombocitose no sangue periférico, a medula óssea deve ter proliferação megacariocítica com elevado número de megacariócitos maduros sem desvio para a esquerda. No sangue periférico não deve haver evidência de leucoeritroblastose. A ausência de JAK2 não excluiu a possibilidade de ET, dada a grande proporção de doentes que não são portadores desta mutação. Apenas 4% dos doentes com ET sem mutação JAK2V617 terão mutação em MPL,^{36,41,89} contudo se presente não sugere trombocitose clonal. (Tabela 3)

Tabela 3. Critérios da WHO de trombocitose essencial.

Contagem plaquetária $\geq 450 \times 10^9/L$
Biópsia medular demonstrando proliferação preferencial da linhagem megacariocítica com número aumentado de megacariócitos maduros e grandes.
Sem critérios para PV, PMF, CML, síndromes mielodisplásicas e outras neoplasias mielóides
Demonstração de JAK2V617F ou outro marcador clonal ou Na ausência de JAK2V617F, sem evidência de trombocitose reactiva

O diagnóstico de ET requer a presença dos 4 critérios.

Clinicamente, a ET é identificada com mais frequência de modo incidental, quando uma contagem de plaquetas é obtida numa avaliação médica de rotina. Nenhum sintoma ou sinal é específico de ET, mas os doentes podem apresentar tendência para episódios hemorrágicos ou trombóticos expressados por fácil formação de hematomas e oclusões microvasculares.¹⁷ O envolvimento do sistema microcirculatório é comum e manifesta-se por eritromelalgia,⁹⁰ acidentes isquémicos transitórios, alterações auditivas e visuais transitórias, cefaleias recorrentes e parestesias. Todavia, desconhece-se a incidência de envolvimento do sistema circulatório.⁹¹

Ao exame físico pode ser detectada esplenomegalia ligeira. A esplenomegalia maciça é mais indicativa de outra MPN, em particular a PV, PMF e CML.¹⁷

A anemia é rara, mas uma leucocitose neutrofílica ligeira pode ocorrer. A grande massa de plaquetas circulantes pode dificultar a medição exacta do potássio sérico, devido à libertação de potássio das plaquetas aquando da formação do coágulo sanguíneo. Este tipo de hipercaliémia é um artefacto laboratorial e não está associado a alterações electrocardiográficas. De igual modo, a medição do oxigénio arterial pode ser inexacta, a menos que o sangue seja colhido com gelo. Os tempos de protrombina e trombolastina parcial são

normais, enquanto alterações da função plaquetária podem estar presentes. Contudo, nenhuma alteração da função plaquetária é característica da ET e nenhuma permite prever o risco de hemorragia clinicamente significativa ou de trombose. A trombose arterial é mais comum na ET, enquanto a trombose venosa é mais comum na PV.⁹¹ Alguns estudos demonstraram que o risco cumulativo de trombose durante o curso da doença varia entre os 1,9% e 3%, dependendo se o doente se encontra no grupo de baixo ou alto risco.⁷⁸ Recentemente a contagem de leucócitos no momento do diagnóstico foi reportada como sendo um preditor independente de trombose na ET e PV,⁹² mas não é claro se a relação é casual.

Mielofibrose primária

A PMF atinge principalmente os indivíduos na sexta década de vida ou mais velhos. É a MPN clássica menos comum⁹³ e a mais difícil de definir dado o mimetismo fenotípico de uma grande variedade de doenças hematológicas e não hematológicas. É também a única MPN na qual a biópsia da medula óssea é essencial para estabelecer o diagnóstico.⁹⁴

Tal como na ET, a presença da mutação JAK2V617F ou da mutação de MPL pode ser útil para distinguir de uma fibrose medular reactiva. A fibrose por si só não é sinónimo de PMF e o diagnóstico de PMF pode ser estabelecido mesmo na ausência de fibrose patente. Na PMF, a medula óssea demonstra marcada proliferação megacariocítica com atipia, evidenciada por megacariócitos pequenos a grandes com razão núcleo/citoplasma alterada e que é acompanhada de fibrose. Nos casos de PMF pré-fibrótica, quando a fibrose reticular está ausente, as alterações megacariocíticas são acompanhadas de aumento da celularidade medular, proliferação de granulócitos e por vezes de eritropoiese. De forma a distinguir da CML, a mutação BCR-ABL deve ser excluída. Os critérios minor que ajudam a

estabelecer o diagnóstico de PMF incluem a leucoeritroblastose, aumento dos níveis de LDH, anemia e esplenomegalia palpável.¹⁵ (Tabela 4)

Nenhum sintoma ou sinal é específico para a PMF. Muitos doentes são assintomáticos à apresentação e a doença em geral é detectada pela descoberta de uma esplenomegalia e/ou hemogramas anormais durante um exame de rotina. Ao contrário das outras MPNs clássicas, a sudorese noturna, a astenia e a perda ponderal podem ser sintomas de apresentação.⁹⁵ A anemia é geralmente ligeira no início. A hepatomegalia pode acompanhar a esplenomegalia, mas é incomum quando esta está ausente. A linfadenopatia isolada deve sugerir outro diagnóstico. A medula em geral não é aspirável devido à mielofibrose e o Rx ósseo revela osteosclerose. A hematopoiese extramedular pode causar ascite, hipertensão pulmonar e portal, obstrução intestinal e ureteral ou tamponamento pericárdico. O aumento esplênico pode ser suficientemente rápido para causar enfarte esplênico com febre e dor torácica pleurítica. Podem ocorrer hiperuricemia e gota secundária.¹⁷

A esperança de vida na PMF é significativamente inferior à da população em geral.^{96,97} Entre as principais causas de morte estão sequelas da hipertensão portal, trombose em vários locais anatómicos, falência cardíaca, infecções, hipertensão pulmonar, hemorragias causadas por trombocitopenia ou defeitos hemostáticos e a transformação em AML.⁹⁸ Foram desenvolvidos sistemas de estadiamento de prognóstico da PMF, que permitem a distinção entre doentes com alto e baixo risco de alteração da taxa de sobrevivência. O mais usado é o score de Lille, que inclui a anemia e a contagem alterada de leucócitos como variáveis e distingue de forma efectiva, doentes com tempo de sobrevivência que varia entre 1 e 8 anos.⁹⁹

Tabela 4. Critérios da WHO de mielofibrose primária.

<p>Critérios Major Presença de proliferação megacariocítica e atipia, acompanhada de fibrose por reticulina ou colagénio Ou Na ausência de fibrose reticular significativa, as alterações megacariocíticas devem ser acompanhadas de aumento da celularidade medular caracterizada por proliferação granulocítica e diminuição da eritropoiese (fase pré-fibrótica) Sem critérios para PV, CML, doenças mielodisplásicas ou outras doenças mielóides Demonstração de JAK2V617F ou outro marcador clonal (ex. MPLW515K/L) Ou Na ausência de marcadores clonais, sem evidência de mielofibrose secundária</p>
<p>Critérios Minor Leucoeritroblastose Aumento da LDL sérica Anemia Esplenomegalia</p>

O diagnóstico de PMF requer a presença dos 3 critérios major e 2 critérios minor.

Terapêutica citoredutora na PV e ET

As opções de tratamento devem ser baseadas na estratificação dos doentes de acordo com o seu nível de risco. No processo de estratificação tem-se em consideração a idade (maior ou menor que 60 anos) e a existência de factores de risco ou eventos cardiovasculares prévios. A utilidade de outros factores de risco como a leucocitose ou o tipo de mutação, aguardam por validação antes que possam ser usadas.¹⁰⁰

A flebotomia é a pedra angular do tratamento da PV nos doentes de baixo risco, e tem como meta alcançar e manter um valor de hematócrito inferior a 45% nos homens e a 42% nas mulheres, de acordo com recomendações standardizadas.¹⁰¹ Inicialmente, a flebotomia permite reduzir a hiperviscosidade sanguínea, trazendo a massa eritrocitária para a sua faixa normal. Em seguida, as flebotomias periódicas permitem mantê-la dentro da faixa normal, limitando a disponibilidade de ferro para a eritropoiese. Contudo, podem surgir

sintomas devido ao défice grave e prolongado de ferro. De facto, a fadiga afecta bastante a qualidade de vida dos doentes com PV.⁶⁹ Existem opiniões diversas relativamente ao valor de hematócrito a atingir com as flebotomias.¹⁰²

Os doentes com PV de alto risco devem realizar terapêutica mielossupressora, eventualmente em associação com flebotomia e hidroxiureia (HU). A HU é um antimetabolito que bloqueia a síntese de DNA. A superioridade da HU relativamente à flebotomia foi sugerida numa análise comparativa,¹⁰³ mas ainda não foi efectuado nenhum ensaio randomizado.

O uso de baixas doses de ácido acetilsalicílico na PV foi explorado no estudo da European Collaboration on Low-dose Aspirin in Polycythemia (ECLAP), que randomizou 518 doentes de baixo risco num ensaio duplamente cego.¹⁰⁴ O número de mortes por eventos cardiovasculares, enfartes do miocárdio e de eventos tromboembólicos major foi significativamente reduzido pelo ácido acetilsalicílico, com apenas um ligeiro aumento das hemorragias major. Assim, na ausência de história significativa de hemorragias, alergia ao fármaco, asma grave ou intolerância gástrica, é recomendado o uso de baixa dose de ácido acetilsalicílico (100mg/dia).

Os doentes de baixo risco e com ET assintomática não necessitam de tratamento. A HU é vista como tratamento de primeira linha nos doentes com ET, que necessitam de terapêutica citorredutora.¹⁰⁵ De facto, é o único citorredutor em que já foi provada a capacidade de redução de eventos trombóticos.¹⁰⁶ A HU foi superior ao anagrelide, na prevenção da trombose arterial no estudo Medical Research Council Primary Thrombocythemia-1 (MRC PT-1).¹⁰⁷ Sendo que, os doentes com mutação JAK2V617F obtiveram uma melhor resposta e necessitaram de doses menores de HU para controlar a trombocitose. Nos doentes de alto risco,

procura-se atingir o nível de 400 a $450 \times 10^9/L$ de plaquetas com a terapêutica.¹⁰⁸ Existem preocupações quanto à possibilidade da HU estar associada ao aumento de risco de transformação em AML. Mas, as evidências actuais sugerem que, qualquer risco de AML é provável que seja baixo e que deve ser balanceado com a expectativa de redução de eventos trombóticos.¹⁰⁹ Ao contrário da PV, a segurança e a eficácia do uso de baixas doses de ácido acetilsalicílico na ET não foi formalmente comprovada, mas a maioria dos doentes de risco intermédio e alto são aconselhados a utilizar este fármaco. Doses mais altas, até 500mg/dia, podem ser necessárias para o controlo de sintomatologia aguda, devido às alterações microvasculares, particularmente na eritromelalgia. Os casos de trombocitose grave são considerados como contra-indicação ao uso de ácido acetilsalicílico, dada a possibilidade de aumento do risco de hemorragia devido a doença adquirida de Von Willebrand.^{91,110,111,112}

Fármacos não citotóxicos para a PV e ET

O interferão α (INF α) tem múltiplas actividades contra a proliferação e diferenciação das células progenitoras hematopoiéticas, que podem justificar a sua utilização nos doentes jovens com PV e ET. Todavia, efeitos laterais agudos e crónicos podem causar descontinuação do tratamento num terço dos doentes. O INF α é efectivo na redução do hematócrito e da contagem de plaquetas^{113,114} e nenhum evento hemorrágico foi registado entre os 55 doentes com PV, que foram seguidos durante 13 anos.¹¹⁵ No entanto, não existe nenhum ensaio randomizado que mostre a sua eficácia na prevenção da trombose. Uma diminuição da carga de mutação JAK2V617F foi sugerida por um estudo¹¹⁶, enquanto noutro estudo as alterações foram mínimas¹¹⁷. Como o INF α não é teratogénico, nem atravessa a barreira

placentária, é recomendado quando é necessário realizar citorredução durante a gravidez.¹¹⁸

O anagralide, um inibidor de fosfodiesterase, reduz a contagem plaquetária por inibição selectiva da diferenciação megacariócítica e tem sido usado em doentes de alto risco com ET.¹¹⁹ Na maioria dos doentes atinge-se um controlo adequado da trombocitose, embora efeitos laterais cardiovasculares (palpitações, cefaleias e menos frequentemente insuficiência cardíaca congestiva) possam levar à descontinuação do tratamento.^{120,121} Considera-se que este fármaco é destituído de qualquer potencial leucemogénico, mas não deve ser prescrito durante a gravidez. O estudo PT-1 demonstrou que a conjugação de ácido acetilsalicílico com anagralide, é inferior à sua conjugação com a HU nos doentes de alto risco.¹²² A contagem plaquetária foi equivalente, mas os doentes que receberam anagralide tiveram menor tolerância ao tratamento e apresentaram níveis mais elevados de trombose arterial, hemorragias major e transformação mielofibrótica, embora os níveis de trombose venosa tivessem sido mais altos com a HU. Por outro lado, o tratamento com anagralide está ligado ao aparecimento de uma anemia progressiva e aumento da fibrose medular.¹²³ Apesar de tudo, o anagralide pode ser usado com sucesso no controlo da contagem de plaquetas nos doentes com PV ou ET que são refractários ou que desenvolvem efeitos laterais importantes à HU.¹²⁴

Tratamento da PMF

O único tratamento com potencial curativo na PMF é o transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas (HSC).¹²⁵ Este deve ser reservado para doentes de alto risco, após uma avaliação clínica cuidadosa, tendo em consideração a opção pela participação em ensaios clínicos com novos fármacos. A estratégia

mieloablativa e os esquemas de condicionamento com intensidade reduzida revelaram uma eficácia semelhante em termos de sobrevivência, mas com uma menor taxa de mortalidade na última opção para os doentes idosos. Assim, a estratégia mieloablativa será mais apropriada para os doentes mais jovens, enquanto os esquemas de condicionamento com intensidade reduzida serão mais úteis nos doentes idosos.¹²⁶ Todo o transplante visa reconstituir uma hematopoiese normal. A obtenção de efeito do novo sistema imunológico resultante, contra uma determinada patologia do receptor, o chamado efeito enxerto contra doença, é um objectivo secundário.¹²⁷ Nos doentes que têm recaída após transplante, um efeito do enxerto contra a mielofibrose pode ser demonstrado através da infusão de linfócitos do doador, assistindo-se a uma notável redução da fibrose medular.^{128,129} Entre os factores com impacto favorável na sobrevivência global dos doentes que foram transplantados estão: regime condicionado com bussulfano/ciclofosfamida, idade jovem, alta contagem de plaquetas, poucas comorbilidades, cariótipo normal, hemoglobina superior a 100g/L, ausência de blastos circulantes e ausência de osteosclerose.¹³⁰⁻¹³²

Como a terapêutica farmacológica não modifica significativamente o curso da doença e é pouco efectiva, está reservada aos doentes que apresentam anemia sintomática ou esplenomegalia. Androgénios, prednisona,¹³² factores estimulantes da eritropoiese¹³⁴⁻¹³⁶ e danazol^{137,138} podem ser usados em alguns doentes. Baixa dose de talidomida em combinação com prednisona melhora a anemia ou a trombocitopenia em 30% a 50% dos casos.^{139,140} A lenalidomida produziu respostas excelentes e duráveis nos doentes com PMF que tem del(aq),¹⁴¹ podendo ser recomendada como tratamento de primeira linha neste grupo. Quando há necessidade de controlar o excesso de

mieloproliferação, a HU é o fármaco de escolha.¹⁴² Outros fármacos, incluindo o bussulfano,¹⁴³ melfalano¹⁴⁴ e 2-clorodesoxiadenosina¹⁴⁵ foram usados nomeadamente nos doentes refractários à HU, mas os resultados foram insatisfatórios.

A esplenectomia tem um papel no alívio dos sintomas mecânicos associados a esplenomegalia e pode também melhorar a anemia em cerca de 25% dos doentes dependentes de transfusões.¹⁴⁶ Contudo, a esplenectomia na PMF está associada a uma mortalidade relacionada com o procedimento de 10%. Além disso, mais de 25% dos doentes apresentam-se com hepatomegalia acelerada e trombocitose muito elevada após a esplenectomia.¹⁴⁷ A utilidade da esplenectomia antes da realização do transplante permanece controversa.¹⁴⁸ A irradiação esplénica é reservada aos doentes que não podem efectuar esplenectomia, mas esta é pouco eficaz e as citopenias subsequentes são por vezes graves.

O tratamento com radiação tem um papel bem definido na hematopoiese extramedular sem localização esplénica ou hepática.^{149,150}

Terapêutica molecular dirigida

O envolvimento das vias JAK-STAT na maioria dos doentes com MPNs clássicas e a evidência experimental que sugere que o mesmo tipo de anomalias está presente nos doentes em que esta mutação não é detectada, justifica os esforços no sentido de criar fármacos inibidores da JAK.

Os inibidores competitivos da tirosina cinase conferem uma potente inibição ao ocuparem os locais de ligação do ATP. Mas, como estes locais são estruturalmente conservados entre todas as cinases, é um grande desafio desenvolver inibidores JAK selectivos que não se liguem a outras classes de proteínas tirosina cinases. Apesar de tudo, há diferenças subtis, mas aparentes, nos locais activos das cinases

entre as 4 JAKs (JAK1, JAK2, JAK3 e tirosina quinase 2), que podem ser usadas para atingir a selectividade desejada. A tirosina (Tyr) 931 na JAK2, que está no ponto principal da região de ligação da adenina e que pode fornecer um dos locais de contacto dos inibidores da JAK2, representa a única diferença da JAK2 e as restantes JAKs.^{151,152}

Dada a localização da mutação JAK2V617F num local fora da região de ligação do ATP à JAK2, os inibidores competitivos da cinase JAK2 não são susceptíveis de distinguir entre as enzimas JAK2 com mutação das sem mutação. Assim, se justifica que os inibidores tenham uma actividade mielossupressora adversa, se administrados em doses que inibam totalmente a enzima mutante.¹⁵³

Todos os inibidores JAK2 reduzem efectivamente a fosforilação da STAT5, a proliferação celular e a sobrevivência das células que expressam JAK2V617F.¹⁵⁴⁻¹⁵⁸ Alguns inibidores são mais selectivos para a JAK2 do que outros. O TG101348, o XL019 e o R723 são inibidores JAK2 selectivos, enquanto que o INCB018424 e o CYT387 aparentam ter actividade em JAK1 e JAK2. Embora a selectividade de TG101348, XL019 e R723 relativamente a outras JAKs seja observada nas células, a diferença não é tão acentuada como os ensaios bioquímicos sugerem,^{159,160} sendo necessário comprovar a sua selectividade através de ensaios clínicos. Curiosamente, as células que expressam JAK2V617F parecem ser mais sensíveis aos inibidores JAK2 que as células que não são portadoras da mutação, permitindo que os inibidores JAK2 tenham uma boa janela terapêutica.¹⁶¹

De acordo com os últimos estudos, os inibidores JAK2 são geralmente bem tolerados, exibindo poucos efeitos adversos.¹⁶²⁻¹⁶⁴ Um dos efeitos notáveis destes fármacos é a dramática diminuição da esplenomegalia. Uma redução rápida do tamanho palpável do baço de mais de 50%, foi detectada na maioria dos doentes num

período de 2 ou 3 meses.¹⁶³⁻¹⁶⁵ Com o INCB018424 a redução da esplenomegalia foi independente da presença ou não de mutação JAK2,¹⁵² enquanto apenas os doentes com mutação JAK2V617F ou MPLW515L demonstraram reduções superiores a 50% quando tratados com XL019.¹⁶⁵ A maioria dos doentes demonstra significativa melhoria da sintomatologia constitucional, incluindo o aumento do apetite, ganho ponderal, diminuição do prurido e dos suores nocturnos.^{163,165,166}

O tratamento com os inibidores INCB018424 e o XL019 suprimiu rapidamente as citocinas pró-inflamatórias e os factores de crescimento dos doentes com PMF.^{165,167} Por oposição, nenhuma mudança consistente nos níveis de citocinas plasmáticas foi reportada nos doentes tratados com TG101348.¹⁶⁴

Há uma redução clara da carga de mutação JAK2V617F durante o tratamento com os inibidores JAK2.¹⁶³ Mas, a total erradicação de células portadoras da mutação não foi documentada em nenhum estudo.

Ainda não foi reportada a normalização da fibrose medular nos doentes com PMF sujeitos aos inibidores JAK2, ainda que esta tenha sido atingida em modelos animais.^{168,169} A formação de tecido cicatricial fibroso ao longo da doença, pode não ser reversível com os inibidores. Outra alternativa é a de que a erradicação incompleta das células portadoras de mutação possam ser a causa da falência.

Os resultados dos ensaios clínicos que estão a decorrer, permitirão uma melhor avaliação sobre os benefícios e segurança destes compostos.

INCB018424

O INCB018424 é um potente inibidor não selectivo da JAKs. De acordo com os estudos efectuados até ao momento, este fármaco tem sido bem tolerado.¹⁷⁰⁻¹⁷²

Levou a uma rápida diminuição da esplenomegalia em mais de 93% dos

doentes com uma linha média de base de tamanho esplénico superior a 20 cm. Permitiu também um ganho ponderal, dependente da dose, que foi mais pronunciado nos doentes com menor índice da massa corporal.¹⁶³ O tratamento com o INCB018424 melhorou o hipercatabolismo e a diminuição da leptina sérica, presumivelmente por inibição da JAK1 e JAK2.¹⁶⁶ A PMF é caracterizada por elevados níveis circulantes de células CD34, que se correlacionam com o estadio da doença. O INCB018424 conduziu à redução das células CD34.¹⁶⁷ Foi obtida apenas uma diminuição modesta da carga de mutação JAK2V617F na medula e sangue periférico, após 3 meses de tratamento.¹⁷⁰ Assistiu-se a uma diminuição dramática do nível de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6 e TNF α .¹⁶⁷ Estudos farmacodinâmicos realizados em doentes com PMF, demonstraram normalização da sinalização excessiva de STAT3, supressão de factores angiogénicos e fibrinogénicos como o factor de crescimento endotelial (VEGF) e o factor de crescimento de fibroblastos (FGF).¹⁶⁷

TG101348

O TG101348 é um inibidor selectivo da JAK2. Apresenta como efeitos laterais não hematológicos náuseas/vómitos (68%) e diarreia (54%), que podem ser controlados com anti-eméticos ou que resolvem espontaneamente. Não foi observada toxicidade neurológica. Uma redução do tamanho esplénico superior a 50% foi detectada em todos os doentes e em metade destes ocorreu resolução completa da esplenomegalia. Houve resolução da leucocitose em todos os doentes. Dos 24 doentes com mutação JAK2V617F, 30% sofreram redução superior a 50% da carga de mutação.¹⁶⁴

XL019

O XL019 exhibe uma potente actividade contra a JAK2 e demonstra boa

selectividade nos ensaios bioquímicos *in vitro*.^{157,165}

A sua eficácia foi avaliada em doentes com PMF e com PV resistente ao tratamento standard. Não foram observados eventos hematológicos adversos relacionados com a terapêutica (trombocitopenia, anemia, neutropenia). Contudo, foram relatadas parestesias, neuropatia periférica e confusão.¹⁶⁵

Ocorreu diminuição da leucocitose e do número de blastos circulantes, bem como melhoria dos sintomas constitucionais, da anemia e do prurido. Assistiu-se a uma redução modesta da carga de mutação (10%).¹⁶⁵

SB1518

O SB1518 é um inibidor selectivo da cinase JAK2 e do seu mutante JAK2V617F.^{155,173}

Nos ensaios demonstrou ter efeito terapêutico significativo dependente da dose, incluindo normalização da contagem elevada de leucócitos, resolução da hepatoesplenomegalia, prolongamento do tempo de sobrevivência, alívio da anemia e da trombocitopenia.¹⁵⁵

O SB1518 tem sido testado em doentes com PMF, linfoma de Hodgkin, linfoma de células B, AML, leucemia mielomonocítica crónica (CMML) e CML.¹⁵⁵

CYT387

Nos ensaios bioquímicos *in vitro*, o CYT387 revelou uma potente actividade inibitória sobre JAK1 e JAK2 e uma menor capacidade de inibição de JAK3.¹⁵⁸

Tal como outros inibidores JAK2, o CYT387 suprime o crescimento de colónias eritróides portadoras de mutação nos doentes com PV. Conduziu também à normalização do hematócrito e do número de leucócitos, diminuição da carga de mutação, resolução da esplenomegalia e redução da mielofibrose.¹⁶⁹

Lestaurtinib (CEP-701)

Este inibidor tem sido avaliado em doentes com PV e ET.¹⁵⁶

As respostas ao tratamento com CEP-701 incluem a redução da esplenomegalia, diminuição da carga de mutação JAK2V617F num número limitado de doentes, normalização dos níveis de ferro e de EPO.¹⁷⁴

Contudo, observou-se o aumento do número de plaquetas e leucócitos nalguns doentes.¹⁷⁴

Os efeitos adversos mais frequentemente associados à sua toma são de natureza gastrointestinal e constitucional.¹⁷⁴

AZD-1480

Nos ensaios, o AZD-1480 bloqueou a activação da ATAT5, inibiu a proliferação celular, induziu a apoptose nos megacariócitos JAK2V617F positivos. Este composto tem vindo a ser testado em doentes com PMF.¹⁷⁵

R723

O R723 é um inibidor potente e altamente selectivo da JAK2. Foi analisado em modelos animais, mas outros estudos são necessários para assegurar a sua efectividade.¹⁷⁶

Endereço

ICBAS, Largo Professor Abel Salazar, nº 2, 4099-003 Porto, Portugal; e-mail: catfam@gmail.com.

Referências

1. Vaquez H. On a special form of cyanosis accompanied by excessive and persistent erythrocytosis. *Comp Rend Soc Biol.* 1892; 12:384-388.
2. Heuck G. Two cases of leukemia with peculiar blood and bone marrow findings, respectively. *Arch Pathol Anat.* 1879; 78:475-496.
3. Epstein E, Goedel A. Hemorrhagic thrombocythemia with a cascular, scerotic spleen. *Virchows Arch.* 1934; 293: 233-248.
4. Dameshek W. Some speculations on myeloproliferative syndromes. *Blood.* 1951; 6: 372-375.
5. Nowell PC, Hungerford DA. Chromosomestudies on normal and leukemic human leukocytes. *J Natl Cancer Inst.* 1960; 25: 85-109.

6. Admsom JW. The pathogenesis of myeloproliferative syndromes. *Br J Haematol.* 1978; 38: 299-303.
7. Osler W. Chronic cyanosis, with polycythemia and enlarged spleen: a new clinical entity. *Am J Med Sci.* 1903; 126:176-201.
8. Berlin NI. Diagnosis and classification of the polycythemias. *Semin Hematol.* 1975; 12:339-351.
9. Laszlo, J. Myeloproliferative disorders (MPD): myelofibrosis, myelosclerosis, extramedullary hematopoiesis, undifferentiated MPD, and hemorrhagic thrombocytopenia. *Seminars in Hematology.* 1975; 2, 409-432.
10. McMullin M, Bareford D, Campbell P, et al. Guidelines for the diagnosis, investigation and management of polycythaemia/erythrocytosis. *Br J Haematol.* 2005; 130:174-195.
11. McMullin M, Reilly J, Campbell P, et al. Amendment to the guideline for diagnosis and investigation of polycythaemia/erythrocytosis. *Br J Haematol.* 2007; 138:821-822.
12. Michiels JJ, Juvonen E. Proposal for revised diagnostic criteria of essential thrombocythemia and polycythemia vera by the Thrombocythemia Vera Study Group. *Semin Thromb Hemost.* 1997; 23:339-347.
13. Barosi G, Ambrosetti A, Finelli C, et al. The Italian Consensus Conference on Diagnostic Criteria for Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia. *Br J Haematol.* 1999; 104:730-737.
14. Jaffe ES, Harris NI, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. *Lyon: IARC Press;* 2001.
15. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. *JARC Lyon.* 2008.
16. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, et al. Proposals and rationale for revision of the WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood.* 2007; 110: 1092-1097.
17. Fauci, Braunwald, Isselbacher, et al. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 17th ed. 2008.
18. Constantinescu SN. A new era small molecule screening: from new targets, such as JAK2 V617F, to complex cellular screens. *J Cell Mol Med.* 2009; 13:212-214.
19. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL, Finke CM, et al. Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer.* 2007; 109: 2279-2284.
20. Keersmaecker K, Cools J. Chronic myeloproliferative disorders: a tyrosine kinase tale. *Leukemia.* 2006; 20:200-205.
21. Rowley JD. Letter: a new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and giemsa staining. *Nature.* 1973; 243: 290-293.
22. Golub TR, Barker GF, Lovett M, Gilliland DG. Fusion of PDGF receptor beta to a novel ets-like gene, tel, in chronic myelomonocytic leukemia with t(5;12) chromosomal translocation. *Cell.* 1994; 77:307-316.
23. Cools J, DeAngelo DJ, Gotlib J, et al. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N Engl J Med.* 2003; 348:1201-1214.
24. Pardanani A, Brockman SR, Paternoster SF, et al. FIP1L1-PDGFR α fusion: prevalence and clinicopathologic correlates in 89 consecutive patients with moderate to severe eosinophilia. *Blood.* 2004; 104:3038-3045.
25. Xiao S, Nalabolu SR, Aster JC, et al. FGFR1 is fused with a novel zinc-finger gene, ZNF198, in the t(8;13) leukaemia/lymphoma syndrome. *Nat Genet.* 1998; 18:84-87.
26. Nagata H, Worobec AS, Oh CK, et al. Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood mononuclear cells of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disorder. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92:10560-10564.
27. Garcia-Montero AC, Jara-Acevedo M, Teodosio C, et al. KIT mutation in mast cells and other bone marrow hematopoietic cell lineages in systemic mast cell disorders: a prospective study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) in a series of 113 patients. *Blood.* 2006; 108:2366-2372.
28. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell.* 2005; 7:387-397.
29. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet.* 2005; 365:1054-1061.
30. Jones AV, Kreil S, Zoi K, et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood.* 2005; 106:2162-2168.
31. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med.* 2005; 352:1779-1790.
32. James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signaling causes polycythaemia vera. *Nature.* 2005; 434:1144-1148.
33. Delhommeau F, Pisani DF, James C, Casadevall N, Constantinescu S, Vainchenker W. Oncogenic mechanisms in myeloproliferative disorders. *Cell Mol Life Sci.* 2006; 63:2939-2953.
34. Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med.* 2007; 356:459-468.
35. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med.* 2006; 3:e270.
36. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood.* 2006; 108:3472-3476.
37. Pietra D, Li S, Brisci A, et al. Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. *Blood.* 2007; 111:1686-1689.
38. Kaushansky K. The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. *J Clin Invest.* 2005; 115:3339-3347.
39. Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bergamaschi G, et al. Anaemia characterises patients with myelofibrosis harbouring Mpl mutation. *Br J Haematol.* 2007; 137:244-247.
40. Beer PA, Campbell P, Scott LM, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood.* 2008; 112:141-149.
41. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W_L/K mutation in essential thrombocythemia. *Blood.* 2008; 112:844-847.
42. Williams DM, Kim AH, Rogers O, Spivak JL, Moliterno AR. Phenotypic variations and new mutations in JAK2 V617F negative polycythemia vera, erythrocytosis, and idiopathic myelofibrosis. *Exp Hematol.* 2007; 35:1641-1646.
43. Lasho TL, Pardanani A, McClure RF, et al. Concurrent MPL515 and JAK2V617F mutations in myelofibrosis: chronology of clonal emergence and changes in mutant allele burden over time. *Br J Haematol.* 2006; 135:683-687.

44. Fletcher S, Bain B. Diagnosis and treatment of hypereosinophilic syndromes. *Curr Opin Hematol*. 2007; 14:37–42.
45. Buitenhuis M, Verhagen LP, Cools J, Coffey PJ. Molecular mechanisms underlying FIP1L1-PDGFR α -mediated myeloproliferation. *Cancer Res*. 2007; 67:3759–3766.
46. Wilkinson K, Velloso ER, Lopes LF, et al. Cloning of the t(1;5)(q23;q33) in a myeloproliferative disorder associated with eosinophilia: involvement of PDGFR β and response to imatinib. *Blood*. 2003; 102: 4187–4190.
47. Wang LC, Swat W, Fujiwara Y, et al. The TEL/ETV6 gene is required specifically for hematopoiesis in the bone marrow. *Genes Dev*. 1998; 12: 2392–2402.
48. Carroll M, Tomasson MH, Barker GF, Golub TR, Gilliland DG. The TEL/platelet-derived growth factor beta receptor (PDGF beta R) fusion in chronic myelomonocytic leukemia is a transforming protein that self-associates and activates PDGF beta R kinase-dependent signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996; 93:14845–14850.
49. Valent P. Systemic mastocytosis. *Cancer Treat Res*. 2008; 142:399–419.
50. Skoda R, Prchal JT. Lessons from familial myeloproliferative disorders. *Semin Hematol*. 2005; 42(4):266–273.
51. Skoda R. The genetic basis of myeloproliferative disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007; 2007:1–10.
52. Prchal JT, Crist WM, Goldwasser E, Perrine G, Prchal JF. Autosomal dominant polycythemia. *Blood*. 1985; 66(5):1208–14.
53. de la Chapelle A, Träskelin AL, Juvonen E. Truncated erythropoietin receptor causes dominantly inherited benign human erythrocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90(10):4495–9.
54. Ang SO, Chen H, Hirota K, Gordeuk VR, Jelinek J, Guan Y, et al. Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia. *Nat Genet*. 2002; 32(4):614–621.
55. Semenza GL. Involvement of oxygen-sensing pathways in physiologic and pathologic erythropoiesis. *Blood*. 2009; 114(10):2015–2019.
56. Ding J, Komatsu H, Wakita A, Kato-Uranishi M, Ito M, Satoh 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.
57. Bellanne-Chantelot C, Chaumarel I, Labopin M, Bellanger F, Barbu V, De Toma C, et al. Genetic and clinical implications of the Val617Phe JAK2 mutation in 72 families with myeloproliferative disorders. *Blood*. 2006; 108(1):346–352.
58. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, James C, Trannoy S, Masse A, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med*. 2009; 360(22):2289–2301.
59. Langemeijer SM, Kuiper RP, Berends M, Knops R, Aslanyan MG, Massop M, et al. Acquired mutations in TET2 are common in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2009; 41(7):838–842.
60. Saint-Martin C, Leroy G, Delhommeau F, Panelatti G, Dupont S, James C, et al. Analysis of the ten-eleven translocation 2 (TET2) gene in familial myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2009; 114(8):1628–1632.
61. Spivak JL. Diagnosis of the myeloproliferative disorders: resolving phenotypic mimicry. *Semin Hematol*. 2003; 40:1–5.
62. Tefferi A, Gangat N, Wolanskyj AP, et al. 20_ yr without leukemia or fibrotic transformation in essential thrombocythemia or polycythemia vera: predictors at diagnosis. *Eur J Haematol*. 2008; 80:386–390.
63. Casadevall N, Vainchenker W, Lacombe C, et al. Erythroid progenitors in polycythemia vera: demonstration of their hypersensitivity to erythropoietin using serum free cultures. *Blood*. 1982; 59:447–4451.
64. Garçon L, Rivat C, James C, et al. Constitutive activation of STAT5 and Bcl-xL overexpression can induce endogenous erythroid colony formation in human primary cells. *Blood*. 2006; 108:1551–1554.
65. Prchal JF, Axelrad AA. Letter: Bonemarrow responses in polycythemia vera. *N Engl J Med*. 1974; 290:1382.
66. Michiels JJ, De Raeve H, Hebeda K, et al. WHO bone marrow features and European clinical, molecular, and pathological (ECMP) criteria for the diagnosis of myeloproliferative disorders. *Leuk Res*. 2007; 31:1031–1038.
68. Moliterno AR, Williams DM, Rogers O, Spivak JL. Molecular mimicry in the chronic myeloproliferative disorders: reciprocity between quantitative JAK2 V617F and Mpl expression. *Blood*. 2006; 108:3913–3915.
69. Mesa RA, Niblack J, Wadleigh M, et al. The burden of fatigue and quality of life in myeloproliferative disorders (MPDs): an international Internet-based survey of 1179 MPD patients. *Cancer*. 2007; 109:68–76.
70. Rollison DE, Howlader N, Smith MT, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001–2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood*. 2008; 112:45–52.
71. Cassinat B, Laguille C, Gardin C, et al. Classification of myeloproliferative disorders in the JAK2 era: is there a role for red cell mass? *Leukemia*. 2008; 22:452–453.
72. Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management. *Blood*. 2002; 100:4272–4290.
73. Lamy T, Devillers A, Bernard M, et al. Inapparent polycythemia vera: an unrecognized diagnosis. *Am J Med*. 1997; 102:14–20.
74. Hassoun H, Pavlovsky M, Mansoor S, Stopka T. Diagnosis of polycythemia vera in an anemic patient. *South Med J*. 2000; 93:710–712.
75. Landolfi R, Di Gennaro L, Falanga A. Thrombosis in myeloproliferative disorders: pathogenetic facts and speculation. *Leukemia*. 2008; 22:2020–2028.
76. Di Nisio M, Barbui T, Di Gennaro L, et al. The haematocrit and platelet target in polycythemia vera. *Br J Haematol*. 2007; 136:249–259.
77. Policitemia GIS. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. Gruppo Italiano Studio Policitemia. *Ann Intern Med*. 1995; 123:656–664.
78. Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol*. 2005; 23:2224–2232.
79. De Stefano V, Za T, Rossi E, et al. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica*. 2008; 93:208–218.
80. Cervantes F, Passamonti F, Barosi G. Life expectancy and prognostic factors in the classic BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Leukemia*. 2008; 22:905–914.
81. Rozman C, Giral M, Felio E, Rubio D, Cortes MT. Life expectancy of patients with chronic nonleukemic myeloproliferative disorders. *Cancer*. 1991; 67:2658–2663.
82. Passamonti F, Rumi E, Pungolino E, et al. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med*. 2004; 117:755–761.
83. Landgren O, Goldin LR, Kristinsson SY, Helgadóttir EA, Samuelsson J, Björkholm M. Increased

- risks of polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myelofibrosis among 24,577 first-degree relatives of 11,039 patients with myeloproliferative neoplasms in Sweden. *Blood*. 2008; 112:2199-2204.
84. Olcaydu D, Harutyunyan A, Jager R, et al. A common JAK2 haplotype confers susceptibility to myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet*. 2009; 41:450-454.
85. Kilpivaara O, Mukherjee S, Schram AM, et al. A germline JAK2 SNP is associated with predisposition to the development of JAK2(V617F)-positive myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet*. 2009; 41:455-459.
86. Jones AV, Chase A, Silver RT, et al. JAK2 haplotype is a major risk factor for the development of myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet*. 2009; 41:446-449.
87. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2006; 355:2452-2466.
88. Buss DH, Cashell AW, O'Connor ML, Richards F, Case LD. Occurrence, etiology, and clinical significance of extreme thrombocytosis: a study of 280 cases. *Am J Med*. 1994; 96:247-25.
89. Schnittger S, Bacher U, Haferlach C, et al. Characterization of 35 new cases with four different MPLW515 mutations and essential thrombocytosis or primary myelofibrosis. *Haematologica*. 2009; 94:141-144.
90. Michiels JJ, Berneman Z, Van Bockstaele D, van der Planken M, De Raeve H, Schroyens W. Clinical and laboratory features, pathobiology of platelet-mediated thrombosis and bleeding complications, and the molecular etiology of essential thrombocythemia and polycythemia vera: therapeutic implications. *Semin Thromb Hemost*. 2006; 32:174-207.
91. Elliott MA, Tefferi A. Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. 2005; 128:275-290.
92. Wolanskyj AP, Schwager SM, McClure RF, Larson DR, Tefferi A. Essential thrombocythemia beyond the first decade: life expectancy, long-term complication rates, and prognostic factors. *Mayo Clin Proc*. 2006; 81:159-166.
93. Taylor KM, Shetta M, Talpaz M, et al. Myeloproliferative disorders: usefulness of X-linked probes in diagnosis. *Leukemia*. 1989; 3:419-422.
94. Spivak JL, Silver RT. The revised WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocytosis, and primary myelofibrosis: an alternative proposal. *Blood*. 2008; 112:231-239.
95. Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *N Engl J Med*. 2000; 342(17):1255-1265.
96. Tefferi A, Huang J, Schwager S, et al. Validation and comparison of contemporary prognostic models in primary myelofibrosis: analysis based on 334 patients from a single institution. *Cancer*. 2007; 109: 2083-2088.
97. Cervantes F, Barosi G, Demory JL, et al. Myelofibrosis with myeloid metaplasia in young individuals: disease characteristics, prognostic factors and identification of risk groups. *Br J Haematol*. 1998; 102: 684-690.
98. Tefferi A. Primary myelofibrosis. *Cancer Treat Res*. 2008; 142:29-49.
99. Dupriez B, Morel P, Demory JL, et al. Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 195 cases with a new scoring system. *Blood*. 1996; 88:1013-1018.
100. Beer PA, Green AR. Pathogenesis and management of essential thrombocythemia. *Hematology*. 2009; 621-628.
101. Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB, Fruchtman SM, Berlin NI, Wasserman LR. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol*. 1986; 23:132-143.
102. Streiff MB, Smith B, Spivak JL. The diagnosis and management of polycythemia vera in the era since the Polycythemia Vera Study Group: a survey of American Society of Hematology members' practice patterns. *Blood*. 2002; 99:1144-1149.
103. Murphy S, Peterson P, Iland H, Laszlo J. Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Semin Hematol*. 1997; 34:29-39.
104. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med*. 2004; 350: 114-124.
105. Barbui T, Barosi G, Grossi A, et al. Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2004; 89:215-232.
106. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M, et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med*. 1995; 332:1132-1136.
107. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al. 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.
108. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, et al. Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood*. 2008; 112:3135-3137.
109. 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.
110. Budde U, Schaefer G, Mueller N, et al. Acquired von Willebrand's disease in the myeloproliferative syndrome. *Blood*. 1984; 64:981-985.
111. Castaman G, Lattuada A, Ruggeri M, Tosi E, Mannucci PM, Rodeghiero F. Platelet von Willebrand factor abnormalities in myeloproliferative syndromes. *Am J Hematol*. 1995; 49:289-293.
112. Kessler CM. Propensity for hemorrhage and thrombosis in chronic myeloproliferative disorders. *Semin Hematol*. 2004; 41:10-14.
113. Jabbour E, Kantarjian H, Cortes J, et al. PEG-IFN-alpha-2b therapy in BCR-ABL-negative myeloproliferative disorders: final result of a phase 2 study. *Cancer*. 2007; 110:2012-2018.
114. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O, et al. A phase II trial of pegylated interferon alpha-2b therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia: feasibility, clinical and biologic effects, and impact on quality of life. *Cancer*. 2006; 106:2397-2405.
115. Silver RT. Long-term effects of the treatment of polycythemia vera with recombinant interferon-alpha. *Cancer*. 2006; 107:451-458.
116. Kiladjian JJ, Cassinat B, Turlure P, et al. High molecular response rate of polycythemia vera patients treated with pegylated interferon alpha-2a. *Blood*. 2006; 108:2037-2040.
117. Jones AV, Silver RT, Waghorn K, et al. Minimal molecular response in polycythemia vera patients treated with imatinib or interferon alpha. *Blood*. 2006; 107:3339-3341.
118. Barbui T, Finazzi G. Myeloproliferative disease in pregnancy and other management issues. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006:246-252.
119. Birgegard G. Anagrelide treatment in myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost*. 2006; 32:260-266.

- 120.** Fruchtmann SM, Pettit RM, Gilbert HS, Fiddler G, Lyne A. Anagrelide: analysis of long-term efficacy, safety and leukemogenic potential in myeloproliferative disorders. *Leuk Res.* 2005; 29:481–491.
- 121.** Steurer M, Gastl G, Jedrzejczak WW, et al. Anagrelide for thrombocytosis in myeloproliferative disorders: a prospective study to assess efficacy and adverse event profile. *Cancer.* 2004; 101:2239–2246.
- 122.** Barbui T, Finazzi G. Therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia is driven by the cardiovascular risk. *Semin Thromb Hemost.* 2007; 33:321–329.
- 123.** Campbell PJ, Bareford D, Erber WN, et al. Reticulin accumulation in essential thrombocythemia: prognostic significance and relationship to therapy. *J Clin Oncol.* 2009; 27:2991–2999.
- 124.** Barosi G, Besses C, Birgegard G, et al. A unified definition of clinical resistance/intolerance to hydroxyurea in essential thrombocythemia: results of a consensus process by an international working group. *Leukemia.* 2007; 21:277–280.
- 125.** Kroger N, Mesa RA. Choosing between stem cell therapy and drugs in myelofibrosis. *Leukemia.* 2008; 22:474–486.
- 126.** Rondelli D, Barosi G, Bacigalupo A, et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation with reduced-intensity conditioning in intermediate- or high-risk patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood.* 2005; 105:4115–4119.
- 127.** Giclio A, Kaliks R. Principios de hematología clínica. Editora Malone. 2007; 218.
- 128.** Byrne JL, Beshti H, Clark D, et al. Induction of remission after donor leucocyte infusion for the treatment of relapsed chronic idiopathic myelofibrosis following allogeneic transplantation: evidence for a 'graft vs. myelofibrosis' effect. *Br J Haematol.* 2000; 108:430–433.
- 129.** Cervantes F, Rovira M, Urbano-Ispizua A, Rozman M, Carreras E, Montserrat E. Complete remission of idiopathic myelofibrosis following donor lymphocyte infusion after failure of allogeneic transplantation: demonstration of a graft-versus-myelofibrosis effect. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 26:697–699.
- 130.** Deeg HJ, Guardiola P. Allogeneic hemopoietic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome or myelofibrosis. *Int J Hematol.* 2002; 76(suppl 2):29–34.
- 131.** Guardiola P, Anderson JE, Bandini G, et al. Allogeneic stem cell transplantation for agnogenic myeloid metaplasia: a European Group for Blood and Marrow Transplantation, Societe Francaise de Greffe de Moelle, Gruppo Italiano per il Trapianto del Midollo Osseo, and Fred Hutchinson Cancer Research Center Collaborative Study. *Blood.* 1999; 93:2831–2838.
- 132.** Barosi G, Bacigalupo A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Curr Opin Hematol.* 2006; 13:74–78.
- 133.** Silverstein MN. Agnogenic myeloid metaplasia. Acton, Mass: Publishing Science Group; 1975.
- 134.** Rodriguez JN, Martino ML, Dieguez JC, Prados D. rHuEpo for the treatment of anemia in myelofibrosis with myeloid metaplasia. Experience in 6 patients and meta-analytical approach. *Haematologica.* 1998; 83:616–621.
- 135.** Cervantes F, Alvarez-Larran A, Hernandez-Boluda JC, et al. Darbepoetin-alpha for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol.* 2006; 134:184–186.
- 136.** Cervantes F, Alvarez-Larran A, Hernandez-Boluda JC, Sureda A, Torrebadei M, Montserrat E. Erythropoietin treatment of the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: results in 20 patients and review of the literature. *Br J Haematol.* 2004; 127:399–403.
- 137.** Cervantes F, Hernandez-Boluda JC, Alvarez A, Nadal E, Montserrat E. Danazol treatment of idiopathic myelofibrosis with severe anemia. *Haematologica.* 2000; 85:595–599.
- 138.** Cervantes F, Alvarez-Larran A, Domingo A, Arellano-Rodrigo E, Montserrat E. Efficacy and tolerability of danazol as a treatment for the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: long-term results in 30 patients. *Br J Haematol.* 2005; 129:771–775.
- 139.** Elliott MA, Mesa RA, Li CY, et al. Thalidomide treatment in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol.* 2002; 117: 288–296.
- 140.** Mesa RA, Elliott MA, Schroeder G, Tefferi A. Durable responses to thalidomide-based drug therapy for myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Mayo Clin Proc.* 2004; 79:883–889.
- 141.** Tefferi A, Lasho TL, Mesa RA, Pardanani A, Ketterling RP, Hanson CA. Lenalidomide therapy in del(5)(q31)-associated myelofibrosis: cytogenetic and JAK2V617F molecular remissions. *Leukemia.* 2007; 21:1827–1828.
- 142.** Lofvenberg E, Wahlin A. Management of polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis with hydroxyurea. *Eur J Haematol.* 1988; 41:375–381.
- 143.** Naqvi T, Baumann MA. Myelofibrosis: response to busulfan after hydroxyurea failure. *Int J Clin Pract.* 2002; 56:312–313.
- 144.** Petti MC, Latagliata R, Spadea T, et al. Melphalan treatment in patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol.* 2002; 116:576–581.
- 145.** Tefferi A, Silverstein MN, Li CY. 2-Chlorodeoxyadenosine treatment after splenectomy in patients who have myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Brit J Haematol.* 1997; 99:352–357.
- 146.** Tefferi A, Mesa RA, Nagorney DM, Schroeder G, Silverstein MN. Splenectomy in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 223 patients. *Blood.* 2000; 95:2226–2233.
- 147.** Mesa RA, Nagorney DS, Schwager S, Allred J, Tefferi A. Palliative goals, patient selection, and perioperative platelet management: outcomes and lessons from 3 decades of splenectomy for myelofibrosis with myeloid metaplasia at the Mayo Clinic. *Cancer.* 2006; 107:361–370.
- 148.** Ciurea SO, Sadegi B, Wilbur A, et al. Effects of extensive splenomegaly in patients with myelofibrosis undergoing a reduced intensity allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2008; 141:80–83.
- 149.** Steensma DP, Hook CC, Stafford SL, Tefferi A. Low-dose, single-fraction, wholelung radiotherapy for pulmonary hypertension associated with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol.* 2002; 118:813–816.
- 150.** Houck WA, Mesa RA, Tefferi A. Antemortem presentation and management of nonhepatosplenic extramedullary hematopoiesis in myelofibrosis with myeloid metaplasia [abstract]. *Blood.* 2000; 96:747a.
- 151.** Lucet IS, Fantino E, Styles M, Bamert R, Patel O, Broughton SE, et al. The structural basis of Janus kinase 2 inhibition by a potent and specific pan-Janus kinase inhibitor. *Blood.* 2006; 107(1):176–183.
- 152.** Williams NK, Bamert RS, Patel O, Wang C, Walden PM, Wilks AF, et al. Dissecting specificity in the Janus kinases: the structures of JAK-specific inhibitors complexed to the JAK1 and JAK2 protein tyrosine kinase domains. *J Mol Biol.* 2009; 387(1):219–232.
- 153.** Verstovsek S. Therapeutic potential of JAK2 inhibitors. *American Society of Hematology.* 2009:636–642.
- 154.** Geron I, Abrahamsson AE, Barroga CF, Kavalchik E, Gotlib J, Hood JD, et al. Selective inhibition of JAK2-driven erythroid differentiation of

- polycythemia vera progenitors. *Cancer Cell*. 2008; 13(4):321–330.
- 155.** Goh KC, Ong WC, Hu C, Hentze H, Liang AL, Stunkel W, et al. SB1518: a potent and orally active JAK2 inhibitor for the treatment of myeloproliferative disorders. *ASH Annu Meet Abstr*. 2007; 110(11):538.
- 156.** Hexner EO, Serdikoff C, Jan M, Swider CR, Robinson C, Yang S, et al. Lestaurtinib (CEP701) is a JAK2 inhibitor that suppresses JAK2/STAT5 signaling and the proliferation of primary erythroid cells from patients with myeloproliferative disorders. *Blood*. 2008; 111(12):5663–5671.
- 157.** Paquette R, Sokol L, Shah NP, Silver RT, List AF, Clary DO, et al. A phase I study of XL019, a selective JAK2 inhibitor, in patients with polycythemia vera. *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):2810.
- 158.** Pardanani A, Lasho T, Smith G, Burns CJ, Fantino E, Tefferi A. CYT387, a selective JAK1/JAK2 inhibitor: in vitro assessment of kinase selectivity and preclinical studies using cell lines and primary cells from polycythemia vera patients. *Leukemia*. 2009; 23(8):1441–1445.
- 159.** Lasho TL, Tefferi A, Hood JD, Verstovsek S, Gilliland DG, Pardanani A. TG101348, a JAK2-selective antagonist, inhibits primary hematopoietic cells derived from myeloproliferative disorder patients with JAK2V617F, MPLW515K or JAK2 exon 12 mutations as well as mutation negative patients. *Leukemia*. 2008; 22(9):1790–1792.
- 160.** Burns CJ, Bourke DG, Andrau L, Bu X, Charman SA, Donohue AC, et al. Phenylaminopyrimidines as inhibitors of Janus kinases (JAKs). *Bioorg Med Chem Lett*. 2009; 19(20):5887–5892.
- 161.** Fridman J, Nussenzweig R, Liu P, Rodgers J, Burn T, Haley P, et al. Discovery and preclinical characterization of INCB018424, a selective JAK2 inhibitor for the treatment of myeloproliferative disorders. *ASH Annu Meet Abstr*. 2007; 110(11):3538.
- 162.** Pardanani AD, Gotlib J, Jamieson C, Cortes J, Talpaz M, Stone RM, et al. A phase I study of TG101348, an orally bioavailable JAK2-selective inhibitor, in patients with myelofibrosis. *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):97.
- 163.** Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani AD, Thomas D, Cortes J, Mesa RA, et al. The JAK inhibitor, INCB018424, demonstrates durable and marked clinical responses in primary myelofibrosis (PMF) and post-polycythemia/essential thrombocythemia myelofibrosis (post PV/ETMF). *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):1762.
- 164.** Pardanani A, Gotlib J, Jamieson C, Cortes J, Talpaz M, Stone R, et al. TG101348, a JAK2-selective inhibitor, is well tolerated in patients with myelofibrosis and shows substantial therapeutic activity accompanied by a reduction in JAK2V617F allele burden. In: Coco FL, editor. *14th Congress of the European hematology association*. Berlin; 2009.
- 165.** Shah NP, Olszynski P, Sokol L, Verstovsek S, Hoffman R, List AF, et al. A phase I study of XL019, a selective JAK2 inhibitor, in patients with primary myelofibrosis, post-polycythemia vera, or post-essential thrombocythemia myelofibrosis. *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):98.
- 166.** Mesa RA, Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani AD, Friedman S, Newton R, et al. INCB018424, a selective JAK1/2 inhibitor, significantly improves the compromised nutritional status and frank cachexia in patients with myelofibrosis (MF). *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):1760.
- 167.** Tefferi A, Kantarjian HM, Pardanani AD, Mesa RA, Newton RC, Scherle PA, et al. The clinical phenotype of myelofibrosis encompasses a chronic inflammatory state that is favorably altered by INCB018424, a selective inhibitor of JAK1/2. *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):2804.
- 168.** Wernig G, Kharas MG, Okabe R, Moore SA, Leeman DS, Cullen DE, et al. Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera. *Cancer Cell*. 2008; 13(4):311–20. 180.
- 169.** Bumm TGP, Tyner JW, Deininger J, Loriaux M, VanDyke J, Druker BJ, et al. Effects of CYT387, a potent novel JAK2 inhibitor on JAK2–V617F induced MPD. *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):856.
- 170.** Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani AD, Burn T, Vaddi K, Redman J, et al. Characterization of JAK2 V617F allele burden in advanced myelofibrosis (MF) patients: no change in V617F:WT JAK2 ratio in patients with high allele burdens despite profound clinical improvement following treatment with the JAK inhibitor, INCB018424. *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):2802.
- 171.** Verstovsek S, Kantarjian H, Pardanani A, Thomas D, Cortes J, Mesa R, et al. INCB018424, an oral, selective JAK2 inhibitor, shows significant clinical activity in a phase I/II study in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis (post-PV/ET MF). *ASH Annu Meet Abstr*. 2007; 110(11):558.
- 172.** Verstovsek S, Kantarjian HM, Pardanani A, Thomas DA, Cortes JE, Mesa R, et al. A phase I/II study of INCB018424, an oral, selective JAK inhibitor, in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis (post-PV/ET MF). *J Clin Oncol*. 2008; 26(May 20 suppl; abstr 7004). 2008 ASCO Annual Meeting.
- 173.** Verstovsek S, Odenike O, Scott B, Estrov Z, Cortes J, Thomas DA, Wood J, Ethirajulu K, Lowe A, Zhu HJ, Kantarjian H, Deeg HJ. Phase I dose-escalation trial of SB1518, a novel JAK2/FLT3 inhibitor, in acute and chronic myeloid diseases, including primary or post-essential thrombocythemia/polycythemia vera myelofibrosis. *ASH Annu Meet Abstr*. 2009; abstract number 3905.
- 174.** Moliterno AR, Roboz GJ, Carroll M, Luger S, Hexner E, Bensen-Kennedy DM. An open-label study of CEP-701 in patients with JAK2 V617F-positive polycythemia vera and essential thrombocytosis. *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):99.
- 175.** Napper A. Drug discovery and development of innovative therapeutics—IBC's 13th annual world congress. Approaches to cancer therapy. *IDrugs*. 2008; 11(10):705–9.
- 176.** Markovtsov V, Tonkin E, Fang S, Liu C, Gelman M, Lang W, et al. In vitro and in vivo inhibition of JAK2 signaling by potent and selective JAK2 inhibitor. *ASH Annu Meet Abstr*. 2008; 112(11):3721.
- 177.** Schafer AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood*. 2006; 107: 4214–4222.