



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2014/2015

Lígia Rodrigues dos Santos
Myelofibrosis: recent advances in
diagnosis and therapy

março, 2015

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Lígia Rodrigues dos Santos
Myelofibrosis: recent advances in
diagnosis and therapy

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Hematologia Clínica

Tipologia: Monografia

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Doutor Manuel Areias Sobrinho Simões**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Acta Médica Portuguesa**

março, 2015

FMUP

Eu, Lúcia Rodrigues dos Santos, abaixo assinado, nº mecanográfico 200905970, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23/03/2015

Assinatura conforme cartão de identificação:

Lúcia Rodrigues dos Santos

NOME

Lúgia Rodrigues dos Santos

CARTÃO DE CIDADÃO OU PASSAPORTE (se estrangeiro)

E-MAIL

TELEFONE OU TELEMÓVEL

13890439

mimed09020@med.up.pt

914991138

NÚMERO DE ESTUDANTE

DATA DE CONCLUSÃO

200905970

Março de 2015

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

Hematologia Clínica

TÍTULO DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

Myelofibrosis: recent advances in diagnosis and therapy

ORIENTADOR

Doutor Manuel Areias Sobrinho Simões

COORDENADOR (se aplicável)

É autorizada a reprodução integral desta ~~Dissertação~~/Monografia (riscar o que não interessa) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projectos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23/03/2015

Assinatura conforme cartão de identificação:

Lúgia Rodrigues dos Santos

Myelofibrosis: recent advances in diagnosis and therapy
Mielofibrose: avanços recentes no diagnóstico e terapêutica

Lígia Santos^a; Manuel Sobrinho-Simões^b

^a Medical Student at Faculty of Medicine of Porto University, Portugal

^b MD, PhD, Department of Clinical Hematology, Centro Hospitalar de São João and Faculty of Medicine of Porto University, Portugal

Contacto

E-mail: mimed09020@med.up.pt

Morada: Faculdade de Medicina da Universidade do Porto
Alameda Prof. Hernâni Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal

Título para o cabeçalho da revista:

PMF: advances in diagnosis and therapy

Myelofibrosis: recent advances in diagnosis and therapy

Mielofibrose: avanços recentes no diagnóstico e terapêutica

Abstract

Primary myelofibrosis is a malignant clonal myeloproliferative neoplasm.

In spite of some recent advances in our knowledge about primary myelofibrosis, the few treatment options available still leave this disease as the “classic” *BCR-ABL*-negative myeloproliferative neoplasm with the highest mortality rate. Primary myelofibrosis is molecularly and clinically heterogeneous; treatment decisions are based on risk-stratification scores, of which Dynamic International Prognostic Scoring System Plus is the most recent one.

The *JAK2* V617F mutation, described in 2005, was the first to be associated with the pathogenesis of the *BCR-ABL*-negative myeloproliferative neoplasms, including primary myelofibrosis. Many other mutations have been identified in smaller subgroups of patients. However, a significant portion of patients remained without molecular characterization until the discovery of calreticulin mutations in 2013, essential for an earlier diagnosis and with an impact on disease progression and prognosis.

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation remains the only disease-modifying, potentially curative therapy. The search for drugs that would interfere with the molecular pathogenesis of primary myelofibrosis led to the development of JAK inhibitors, effective even in patients with unmutated *JAK2*. Within these, ruxolitinib is the only one approved. Several studies demonstrate its effect on splenomegaly reduction and symptomatic improvement; whether it significantly increases survival is still a matter of controversy.

In this article we review the diagnostic criteria and risk-stratification, as well as the recent advances in pathophysiology and management of primary myelofibrosis. We also identify the discoveries in its biology and their implication in prognosis and management of this disease.

Keywords: Myeloproliferative Disorders, Primary Myelofibrosis, Janus Kinase 2, Calreticulin

Myelofibrosis: recent advances in diagnosis and therapy

Mielofibrose: avanços recentes no diagnóstico e terapêutica

Resumo

A mielofibrose primária é uma das neoplasias mieloproliferativas.

Apesar de alguns avanços recentes no nosso conhecimento acerca da patogénia molecular da mielofibrose primária, as poucas opções terapêuticas existentes explicam que esta continue a ser, de entre as neoplasias mieloproliferativas “clássicas” *BCR-ABL*-negativas, a que tem maior mortalidade. A mielofibrose primária é muito heterogénea molecular e clinicamente; as decisões terapêuticas baseiam-se na estratificação dos doentes de acordo com esquemas de classificação de risco, sendo o *Dynamic International Prognostic Scoring System Plus* o mais recente.

A mutação *JAK2 V617F*, descrita em 2005, foi a primeira a ser associada às neoplasias mieloproliferativas *BCR-ABL*-negativas, incluindo a mielofibrose primária. Posteriormente, várias mutações foram identificadas em subgrupos de doentes. No entanto, uma proporção significativa dos doentes permanecia sem caracterização molecular até à descrição das mutações da calreticulina em 2013. Estas mutações facilitam o diagnóstico e fornecem informação relevante para estimar o risco de progressão e o prognóstico da doença.

O transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas continua a ser o único tratamento que comprovadamente altera a história natural da doença, sendo potencialmente curativo. A procura de fármacos que interferissem especificamente com a patogénese molecular da mielofibrose primária levou ao desenvolvimento dos inibidores da JAK, eficazes mesmo em doentes sem a mutação *JAK2 V617F*. Dentro destes, o ruxolitinib é o único aprovado. Vários estudos demonstram a sua eficácia na diminuição da esplenomegalia e na melhoria sintomática; o seu potencial efeito de aumento relevante da sobrevida é motivo de controvérsia.

Neste artigo revemos os critérios de diagnóstico, a estratificação do risco e os avanços recentes na patofisiologia e abordagem da mielofibrose primária. Identificamos também as descobertas acerca da sua biologia e o seu impacto no prognóstico e terapêutica.

Palavras-chave: Neoplasias Mieloproliferativas, Mielofibrose Primária, Janus Kinase 2, Calreticulina

Introduction

Primary myelofibrosis (PMF) is a malignant clonal myeloproliferative neoplasm (MPN).¹

MPNs are a group of diseases characterized by stem cell-derived clonal myeloproliferation which are primarily distinguished based on the predominant hyperproliferative cell type. The World Health Organization (WHO) classification of MPNs includes the four “classic” MPNs: PMF, chronic myeloid leukemia (CML), polycythemia vera (PV) and essential thrombocythemia (ET).^{1, 2} Instead of primary (*de novo*), myelofibrosis can be secondary to PV (post-PV) or ET (post-ET).³

PMF is the MPN with the greatest impact on patient quality of life mainly due to the wide variability of symptoms, including sometimes severe constitutional symptoms, and to the few available effective therapeutic options for the management of these patients.^{2, 4}

Throughout this article we will focus on PMF and in recent developments related to its pathogenesis and therapeutic strategies. Thus, we will start by describing briefly the disease and its clinical manifestations, followed by diagnostic criteria and risk-stratification. Lastly, we will identify and describe recent advances in the understanding of disease biology, and its possible implication in prognosis and management.

Clinical manifestations

The clinical features of PMF are variable and include progressive anemia, leukopenia or leukocytosis, and thrombocytopenia or thrombocytosis, characteristically with a leukoerythroblastic peripheral blood smear.³ Bone marrow fibrosis and extramedullary hematopoiesis can lead to splenomegaly (with associated manifestations such as early satiety, left upper quadrant pain or multiple splenic infarction); hepatomegaly; and may affect almost any other organ (lymphadenopathy, involvement of body cavities, gastrointestinal or genitourinary tracts, lung or central nervous system).³ An abnormal cytokine expression profile contributes to constitutional symptoms such as fever, fatigue and night sweats. Patients can also experience bone pain, pruritus and

weight loss.² Nevertheless, the symptomatic burden is very variable and patients are asymptomatic in a number of cases, especially early in the course of the disease.^{4, 5}

The disease-associated complications are infections, thrombotic complications, hemorrhagic events, symptomatic portal hypertension, progressive marrow failure, transformation into acute myeloid leukemia (AML) in 20% of patients and early death.^{2, 3, 6}

Diagnosis

Diagnosis is based in clinical manifestations, laboratory abnormalities, peripheral blood smear characteristics, bone marrow morphology and in molecular and cytogenetic features.^{2, 3}

The diagnosis of PMF requires that the 2008 WHO diagnostic criteria are met. The major criteria include: (1) megakaryocyte proliferation and atypia with reticulin and/or collagen fibrosis or prefibrotic PMF features (megakaryocytes alterations and increased marrow cellularity, granulocytic proliferation and commonly decreased erythropoiesis) without reticulin fibrosis; (2) absent of WHO criteria for CML, PV, myelodysplastic syndromes (MDS) or other myeloid neoplasm; and (3) presence of *JAK2* V617F mutation or other clonal marker, or absence of proven reactive causes of bone marrow fibrosis.² In PMF, atypical megakaryocytes are small to large, with abnormal nuclear/cytoplasmic ratio and hyperchromatic and irregularly folded nuclei and dense clustering.² The minor diagnostic criteria are: (1) leukoerythroblastosis; (2) raised serum lactate dehydrogenase (LDH) level; (3) anemia; and (4) palpable splenomegaly. PMF diagnosis requires meeting all three major criteria and two minor criteria.²

Despite the use of these criteria, some differential diagnosis remain difficult, particularly between some forms of MDS with fibrosis and PMF; and between ET and some early forms of PMF (prefibrotic PMF). These distinctions are important for prognosis and treatment decisions.²

Risk-stratification

PMF is a clinically heterogeneous disease. Several scores have been developed for assessing prognosis of individual patients, and thus tailor treatment decisions.

The International Prognostic Scoring System (IPSS) is used to evaluate the prognosis at the time of diagnosis and is based on five risk factors: age >65 years, the presence of constitutional symptoms, hemoglobin (Hgb) <10 g/dL, leukocyte count >25x10⁹/L and circulating blasts ≥1%. Patients are divided into four groups: low, intermediate-1, intermediate-2 and high-risk, according to the presence of 0, 1, 2 or ≥3 risk factors, respectively.³

The Dynamic International Prognostic Scoring System (DIPSS) is a modified version of IPSS that is validated for use at any stage of the disease and takes into account the same variables.³ However, in this scoring system, Hgb <10g/dL counts as 2 points in the definition of risk categories.³ Thus, the DIPSS risk groups are: low (no adverse risk factors), intermediate-1 (1 or 2 points), intermediate-2 (3 or 4 points) and high-risk (5 or 6 points).³ DIPSS Plus is the upgrading of DIPSS that, in addition to the five risk factors aforementioned, considers three more independent predictors of inferior survival: platelet count <100x10⁹/L, red blood cell transfusion dependence and unfavourable karyotype (+8, -7/7q-, i(17q), inv(3), -5/5q-, 12p- or 11q23 rearrangement or complex karyotypes).^{3, 5} The DIPSS Plus risk groups are low (0 risk factors), intermediate-1 (1 risk factor), intermediate-2 (2 or 3 risk factors) and high-risk (≥4 risk factors). The corresponding median survivals are approximately 15.4, 6.5, 2.9 and 1.3 years.³ The DIPSS Plus can also be utilized at any time during the disease course and is the most discriminating in prognostic prediction.³ Its use is therefore preferred over earlier scoring systems.

An additional category, “very high-risk”, can be considered in some patients that have characteristics of poorly prognosis, like a monosomal karyotype, inv(3)/i(17q) abnormalities, or any two of circulating blasts >9%, leukocyte count ≥ 40x10⁹/L, or other unfavourable karyotype.² These features give patients a >80% two-year mortality and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (ASCT) should be considered.²

Pathogenesis

Until 2005 little was known about the pathogenesis of the *BCR-ABL*-negative MPNs.⁷⁻⁹ With the discovery of the Janus kinase 2 (*JAK2*) V617F mutation in that year, the etiology of this group of diseases became better understood.⁷⁻⁹ Beyond this and other somatic mutations described thenceforth, epigenetics and the stem cell microenvironment are also important factors to the MPNs development. In addition, in PMF there is an abnormal cytokine profile that contributes to an inflammatory state.^{4, 10, 11}

JAK2 is included in a family of cytoplasmic non-receptors tyrosine kinases (Janus kinases) together with *JAK1*, *JAK3* and *TYK2*.¹² It is involved in myeloid cell proliferation and differentiation, mediating cytokine activity and signal transduction.^{5, 13} The corresponding protein has four elements: (1) JAK homology 1 (JH1), a tyrosine kinase domain; (2) JAK homology 2 (JH2); (3) SRC homology 2 domain (SH2); and (4) FERM (Band 4.1, Erzin, Radixin, Moesin) homology domain, a binding site for type 1 cytokine receptors.⁷⁻⁹ The JH2 is a pseudokinase domain that inhibits *JAK2* auto-phosphorylation.^{7-9, 14} *JAK2* is physiologically activated by binding of erythropoietin, thrombopoietin, interferon γ , stem cell factor (SCF) and granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) and several interleukins to their receptors.¹⁵ Its stimulation leads to activation of signal transducer and activator of transcription (STAT), mitogen activated protein kinases (MAPK), phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) and their downstream pathways, that result in cellular proliferation and survival signalling.¹⁴

The V617F mutation results in the substitution of a single amino acid (a valine for a phenylalanine) at the JH2 domain of *JAK2*, with loss of the auto-inhibitory activity of this domain, leading to *JAK2* constitutive activation.⁷⁻⁹ This mutation is present in 50-60% of patients with PMF and is thought to be associated with a greater severity of symptoms, as well as an increased risk of several complications.^{5, 7-9} Furthermore, it is also found in PV ($\approx 95\%$), ET ($\approx 50\%$) and less frequently in MDS and AML.¹⁶ The correlation between presence of the mutation and prognosis is unclear because there are many controversial studies.¹⁵ Allele burden is the ratio between the proportion of mutant allele and the total *JAK2* ($\frac{JAK2\ V617F}{JAK2\ V617F + \text{wil-type } JAK2}$) and it was believed that it could be important to understand the severity of disease at diagnosis, in a direct proportion.⁵ However, the real contribution of allele burden for the survival rate and leukemic transformation is under discussion.^{5, 13} It is known that a high allele burden is associated

with a larger spleen and increased myeloproliferation.⁵ Because of its prevalence and importance in the pathogenesis of PMF, the *JAK2* V617F mutation is already considered in the WHO diagnostic criteria, allowing a faster and most specific diagnosis.¹⁴ It can also be significant to monitor therapy and determine molecular remission.¹⁴

Many other mutations dysregulate the JAK-STAT signalling pathway, which has a known central role in the pathogenesis of MPNs.

Somatic mutations in exon 12 of *JAK2* and in the myeloproliferative leukemia virus pro-oncogene (*MPL*), that encodes the thrombopoietin receptor, directly affect JAK-STAT signalling, with its activation even in the absence of ligand binding.^{17, 18} They are typically detected in patients negative for *JAK2* V617F mutations.^{10, 13, 14, 19} *JAK2* exon 12 mutations are related to erythroid myeloproliferation and are found in nearly 3% of PV patients.^{10, 14, 17, 20} Therefore, nearly all PV patients are molecularly characterized by a *JAK2* mutation.^{21, 22} *MPL* exon 10 mutations, associated with megakaryocyte myeloproliferation, are present in approximately 3% and 10% of patients with ET and PMF, respectively, and are not found in PV or other myeloid disturbances.^{2, 10, 14, 23} In PMF, some of the *MPL* mutations appear to be associated with female gender, older age, more severe anemia and transfusional dependence.^{23, 24}

The following mutations can co-exist with the aforementioned mutations in *JAK2* and *MPL*; their clinical significance is often unclear. *LNK* [Src homology 2 B3 (SH2B3)] and *CBL* (Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene) loss of function mutations can have an impact on JAK-STAT signalling.^{2, 10} Other mutations that affect regulation of gene expression lead to epigenetic modifications of some pathways (including JAK-STAT); they are more rarely found in PMF and are mostly associated with disease progression, rather than initiation.^{19, 25, 26} Mutations in *ASXL1* (Additional Sex Combs-Like 1), *TET2* (TET oncogene family member 2), *EZH2* (enhancer of zeste homolog 2), *DNMT3A* (DNA cytosine methyltransferase 3a), *IDH1/2* (isocitrate dehydrogenase 1 and 2), *IKZF1* (IKAROS family zinc finger 1) and others are part of this group.^{2, 10, 27} Spliceosome mutations such as *SF3B1* (splicing factor 3B subunit 1), *SRF2* (serine/arginine-rich splicing factor 2) and *U2AF1* (U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1) have been described in MPNs and are commonly associated with a poor prognosis.^{2, 28}

Despite all the described mutations, more than 30% of patients with PMF and ET remained without molecular characterization, which complicated the diagnostic and prognostic evaluation and, perhaps, the possible development of molecularly targeted

therapies.^{21, 22} This situation changed dramatically in 2013 with the discovery of the second most common mutations in these patients, the calreticulin (*CALR*) gene mutations, found in 20-25% of patients with ET and PMF.^{25, 26} These are almost exclusively present in patients without *JAK2* and *MPL* mutations.²⁹

The *CALR* protein comprises 3 domains, wherein the C-terminal domain is responsible for binding of several Ca²⁺ molecules, participating in its regulation, and ends with a KDEL (lysine, aspartic acid, glutamic acid and leucine amino acids) sequence that determines the endoplasmic reticulum location of *CALR*, related to the quality control of newly synthesized proteins.^{21, 25, 26, 30} Besides, *CALR* can be expressed in extracellular or intracellular compartments, as well as in the cell surface, with functions as diverse as regulation of proliferative, apoptosis and immune responses.²⁶

All *CALR* somatic mutations described are insertions or deletions within exon 9, including the C-terminal domain, which leads to variable loss of Ca²⁺ binding sites and KDEL sequence, resulting in altered functions and abnormal proliferation of mutated cells.^{25, 26} Its exact role in the development of MPNs is not yet clearly elucidated, but it is believed that this mutation confers an advantage to the megakaryocytic lineage and probably occurs early in MPN pathogenesis.^{21, 22} Due to the STAT5 pathway activation, cytokine independent cell growth evidenced *in vitro* and the proven effectiveness of JAK inhibitors in patients with mutated *CALR*, it is thought that the mutant protein also affects JAK-STAT signalling.^{19, 21, 22, 25, 29, 31} Type 1 (52 base pair deletion) and 2 (5 base pair insertion) *CALR* mutations are the most frequent, type 1 being the most prevalent in PMF and conferring it a better prognosis.^{20-22, 25, 29} When compared with *JAK2* mutations, *CALR* mutations in PMF are associated with younger age at diagnosis, lower hemoglobin level and leukocyte count, higher platelet count and lower DIPSS-Plus score, related with longer survival.^{20, 25, 30, 31}

It is important to note that about 10% of PMF patients remain without an identifiable mutation in *JAK2*, *CALR* or *MPL*. These so called “triple-negative” patients may pose diagnostic problems.^{21, 25}

Impact of mutations in diagnosis, risk-stratification and prognosis

There is no isolated founding mutation described in PMF responsible for disease initiation and development. We know that somatic mutations in *JAK2*, *CALR* or *MPL* are

the most frequently associated with the disease and are related to differences in phenotype, but the real role of each one singly in the burden of PMF is unclear, mainly their function in early disease or later on PMF progression.^{19, 29}

CALR mutations are almost exclusively present in PMF or ET, so they can be a new central marker for the diagnosis of these MPNs in addition to *JAK2* V617F and other pathogenic mutations already included in the major criteria. Its inclusion in criteria could lead to a more accurate, earlier diagnosis.²¹

There are differences among the groups with different mutations, especially concerning overall survival. *CALR* mutated patients have the better prognosis with the longer survival; the “triple-negative” patients the worst one, with a median survival of just over two years and a greater risk of leukemic transformation.^{20, 25, 29, 30} Another mutation that has phenotypic and significant prognostic impact is *ASXL1* mutation.^{2, 3} The group of patients with unmutated *CALR* and mutated *AXL1* and the group of “triple-negative” patients are the ones with the worst prognosis in PMF; its screening should be included in risk-stratification scores, as high-risk disease.³⁰ Other somatic mutations in *EZH2*, *SRSF2* and *IDH1/2* can be involved in disease progression, but do not appear to have a significant impact as unfavourable prognosis markers.^{20, 28, 29}

Accordingly, the molecular characterization of patients could be a substantial part of the survival forecast, and its inclusion in prognostic scores would be the next step to better define risk-stratified treatment.

Therapy

Despite of the research efforts on PMF, its treatment is still far from ideal and the average life expectancy of these patients remains short, generally 5 to 7 years.⁵ There is, however, substantial variation in symptomatic burden and life expectancy of PMF patients. Accordingly, it is generally agreed that the therapeutic approach should be risk-adapted, based on DIPSS-Plus score and on individual patient characteristics.²

The only disease-modifying, potentially curative treatment remains ASCT.³² Its applicability is limited by donor availability and by very significant procedure-associated morbidity and mortality (among other factors, related to graft-versus-host disease); it also entails some risk of disease relapse.^{2, 19, 32} This is reserved for the relatively small fraction of patients that are deemed eligible.^{19, 32}

In the low or intermediate-1 risk categories, the presence and severity of symptoms is important to define the need for treatment.² PMF patients that are asymptomatic in these low risk categories do not require specific treatment, and a watch-and-wait approach is generally adopted.² The remaining may be treated symptomatically, with attention to the adverse effects inherent to any pharmacological therapy.² They can benefit from androgens, danazol or thalidomide with or without prednisone as first line in anemia.² Lenalidomide can also be used, mostly in patients who do not respond to the previous options. For the splenomegaly symptoms control, hydroxyurea is used primarily; rarely, these patients may require splenectomy or splenic irradiation.² Symptoms as bone pain, fatigue, pruritus and those related to extramedullary hematopoiesis can also be a justification to symptomatically treat these patients.²

Patients with intermediate-2 or high-risk PMF can be considered for ASCT (applicable only to selected patients), or investigational therapies.²

The search for new drugs, particularly those affecting the major hallmark of PMF and other MPNs - the JAK-STAT pathway -, is aimed at changing the paradigm of treatment of this disease, with an emphasis on potentially altering its natural history.¹⁹ JAK inhibitors remain the “big bet” for PMF treatment, even in *JAK2* V617F mutation negative patients and in *CALR* mutated patients, with several proven benefits.^{19, 33}

Ruxolitinib is the only approved by the Food and Drug Administration (since 2011) for patients with intermediate-2 or high-risk PMF.^{2, 4, 34} This is a JAK 1 and 2 inhibitor with a significant and durable effect in spleen size reduction, related symptoms and constitutional symptoms, with a consequent improvement in quality of life and functioning in a majority of patients.^{35, 36} Its use resulted also in body weight gain and in a rise in total cholesterol, which is advantageous to counter the catabolic state typical of PMF.¹⁹ Effectiveness in constitutional symptoms improvement is theoretically related to the quick reduction of pro-inflammatory cytokines as interleukin 6 (IL-6) and tumour necrosis factor alpha (TNF- α).^{2, 4, 6, 19} However, ruxolitinib is associated with development or worsening of anemia and thrombocytopenia, both dose dependent and potentially reversible, limiting the use of this drug in a number of patients.^{2, 4, 34-36} Fatigue, diarrhea, peripheral edema, ecchymosis, dizziness and headache are other common adverse effects.^{4, 14, 35, 36} The discontinuation of the drug can result in a “withdrawal syndrome”, with worsening of disease symptoms.^{2, 35}

Ruxolitinib has no consistent effect in *JAK2* V617F allele burden reduction or in bone marrow fibrosis resolution, whose real impact on prognosis is unclear.⁴ The

combination of ruxolitinib with other therapies, particularly aimed at reducing its hematological adverse effects, is also under investigation.⁴

There is ongoing investigation on other JAK inhibitors, including drugs with different efficacy and tolerability profiles, for example momelotinib (CYT387), pacritinib (SB1518), fedratinib (SAR302503) or LY2784544, the unique selective *JAK2* V617F inhibitor, among several others.^{10, 14, 19} Momelotinib is the only that leads to an improvement in hemoglobin levels, with some patients becoming transfusional independent.^{5, 14, 23} Pacritinib has several gastrointestinal effects but no significant hematologic toxicity.^{4, 5, 14} An improvement in constitutional symptoms apparently independent of cytokine reduction is achieved with fedratinib, also the only one that has been demonstrated to have a significant effect on allele burden reduction, whose relevance is not established yet.^{5, 14}

The drugs under investigation for monotherapy or combination therapy include, in addition to JAK inhibitors: immunomodulatory agents such as lenalidomide and pomalidomide; histone deacetylase inhibitors (givinostat, panobinostat, pracinostat, vorinostat); hypomethylation agents (5-azacytidine); drugs affecting pathways downstream of JAK-STAT, as mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors (everolimus), RAS/RAF/MEK inhibitors and others.^{2, 4, 19, 31} Antifibrotic agents, directed at bone marrow fibrosis resolution, are also under investigation.¹⁹

Future development of new agents, perhaps specifically targeting the newly discovered *CALR* mutations, may add benefit to current therapies.

Impact of JAK inhibitors on the survival

Ruxolitinib is the most studied agent for possible impact in prognosis of patients with PMF. For PMF patients in the intermediate-2 and high-risk categories, median survival is less than 4 years, so prolonging the survival of these patients is clearly a major goal.³⁷ Several studies apparently show a decreased mortality rate with the use of ruxolitinib.³⁵⁻³⁸ This prolonged survival seems to be independent from the non-reduction in *JAK2* V617F allele burden; it is possibly related to the reduction in spleen size and symptoms and improvement in quality of life obtained by the treatment.^{19, 37, 39} While ruxolitinib's effect on splenomegaly and reduction in constitutional symptoms in selected

patients is unquestionable, its effect on survival prolongation in PMF is still a matter of heated controversy.¹⁹

Concluding remarks

PMF remains a disease with a negative impact on life expectancy and quality of life.

The *JAK2* V617F mutation and the more recently described *CALR* mutations contributed to an enlargement of the knowledge about the pathophysiology of this disease and to an advance in molecular characterization, prognosis stratification and therapeutic perspectives.

The treatment of these patients is far from ideal because of lack of agents that affect the burden and the natural history of the disease, in addition to the reduction in inflammatory cytokines and symptoms that has already been achieved. Ruxolitinib, the only approved JAK inhibitor, clearly improves splenomegaly and symptoms in selected patients. Whether it significantly improves survival is still a matter of controversy.

It is essential to better understand the real importance of the mutations that have been found in PMF, especially with regard to its application in diagnosis and risk-stratification. The search for new drugs directed at particular targets, like more selective agents for the *JAK2* V617F mutation and even drugs acting in mutated *CALR*, should continue. The aim is to find therapies that are able to alter the natural history of the disease, ideally replacing ASCT (a procedure for which only a minority of patients is eligible) as a “curative” approach.

References

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC. Lyon 2008.
2. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2013;88(2):141-50.
3. Reilly JT, McMullin MF, Beer PA, Butt N, Conneally E, Duncombe A, et al. Guideline for the diagnosis and management of myelofibrosis. *Br J Haematol*. 2012;158(4):453-71.
4. Gowin K, Mesa R. Emerging therapies for the treatment of chronic Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasm-associated myelofibrosis. *Expert Opin Investig Drugs*. 2013;22(12):1603-11.
5. Mesa RA. The evolving treatment paradigm in myelofibrosis. *Leuk Lymphoma*. 2013;54(2):242-51.
6. Verstovsek S. Changing myelofibrosis's natural course at last. *Blood*. 2014;123(12):1776-7.
7. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*. 2005;365(9464):1054-61.
8. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*. 2005;7(4):387-97.
9. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005;352(17):1779-90.
10. Tefferi A, Pardanani A. JAK inhibitors in myeloproliferative neoplasms: rationale, current data and perspective. *Blood Rev*. 2011;25(5):229-37.
11. Santos FP, Verstovsek S. Efficacy of ruxolitinib for myelofibrosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15(10):1465-73.
12. Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, Gilliland DG. Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(9):673-83.
13. Tibes R, Bogenberger JM, Geyer HL, Mesa RA. JAK2 inhibitors in the treatment of myeloproliferative neoplasms. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012;21(12):1755-74.
14. Harrison C, Verstovsek S, McMullin MF, Mesa R. Janus kinase inhibition and its effect upon the therapeutic landscape for myelofibrosis: from palliation to cure? *Br J Haematol*. 2012;157(4):426-37.
15. Quintas-Cardama A. The role of Janus kinase 2 (JAK2) in myeloproliferative neoplasms: therapeutic implications. *Leuk Res*. 2013;37(4):465-72.
16. Reddy MM, Deshpande A, Sattler M. Targeting JAK2 in the therapy of myeloproliferative neoplasms. *Expert Opin Ther Targets*. 2012;16(3):313-24.
17. Scott LM, Tong W, Levine RL, Scott MA, Beer PA, Stratton MR, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med*. 2007;356(5):459-68.

18. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med.* 2006;3(7):e270.
19. Savona MR. Are we altering the natural history of primary myelofibrosis? *Leuk Res.* 2014;38(9):1004-12.
20. Andrikovics H, Krahling T, Balassa K, Halm G, Bors A, Koszarska M, et al. Distinct clinical characteristics of myeloproliferative neoplasms with calreticulin mutations. *Haematologica.* 2014;99(7):1184-90.
21. Guglielmelli P, Bartalucci N, Rotunno G, Vannucchi AM. Calreticulin: a new horizon for the testing and treatment of myeloproliferative neoplasms. *Expert Rev Hematol.* 2014;7(4):423-5.
22. Levine RL. Another piece of the myeloproliferative neoplasms puzzle. *N Engl J Med.* 2013;369(25):2451-2.
23. Sonbol MB, Firwana B, Zarzour A, Morad M, Rana V, Tiu RV. Comprehensive review of JAK inhibitors in myeloproliferative neoplasms. *Ther Adv Hematol.* 2013;4(1):15-35.
24. Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bergamaschi G, Rosti V, Villani L, Antonioli E, et al. Anaemia characterises patients with myelofibrosis harbouring Mpl mutation. *Br J Haematol.* 2007;137(3):244-7.
25. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2013;369(25):2379-90.
26. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med.* 2013;369(25):2391-405.
27. Bhagwat N, Levine RL, Koppikar P. Sensitivity and resistance of JAK2 inhibitors to myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol.* 2013;97(6):695-702.
28. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, Finke C, Mannarelli C, et al. CALR and ASXL1 mutations-based molecular prognostication in primary myelofibrosis: an international study of 570 patients. *Leukemia.* 2014;28(7):1494-500.
29. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2014;123(24):3714-9.
30. Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, Ketterling R, Hanson CH, et al. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons. *Leukemia.* 2014;28(7):1472-7.
31. Stein BL, Swords R, Hochhaus A, Giles F. Novel myelofibrosis treatment strategies: potential partners for combination therapies. *Leukemia.* 2014;28(11):2139-47.
32. Gupta V, Gotlib J, Radich JP, Kroger NM, Rondelli D, Verstovsek S, et al. Janus kinase inhibitors and allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(9):1274-81.
33. Passamonti F, Caramazza D, Maffioli M. JAK inhibitor in CALR-mutant myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2014;370(12):1168-9.
34. Tefferi A. Challenges facing JAK inhibitor therapy for myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2012;366(9):844-6.
35. Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, Levy RS, Gupta V, DiPersio JF, et al. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2012;366(9):799-807.

36. Harrison C, Kiladjian JJ, Al-Ali HK, Gisslinger H, Waltzman R, Stalbovskaya V, et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2012;366(9):787-98.
37. Passamonti F, Maffioli M, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Barbui T, et al. Impact of ruxolitinib on the natural history of primary myelofibrosis: a comparison of the DIPSS and the COMFORT-2 cohorts. *Blood.* 2014;123(12):1833-5.
38. Diamantidis MD. Ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med.* 2012;366(21):2031; author reply 2-4.
39. Mascarenhas J, Hoffman R. A comprehensive review and analysis of the effect of ruxolitinib therapy on the survival of patients with myelofibrosis. *Blood.* 2013;121(24):4832-7.

ANEXO

Normas de publicação da Acta Médica Portuguesa.

Normas de Publicação da Acta Médica Portuguesa



Acta Médica Portuguesa's Publishing Guidelines

Conselho Editorial ACTA MÉDICA PORTUGUESA
Acta Med Port 2015, 26 Janeiro 2015

1. MISSÃO

Publicar trabalhos científicos originais e de revisão na área biomédica da mais elevada qualidade, abrangendo várias áreas do conhecimento médico, e ajudar os médicos a tomar melhores decisões.

Para atingir estes objectivos a Acta Médica Portuguesa publica artigos originais, artigos de revisão, casos clínicos, editoriais, entre outros, comentando sobre os factores clínicos, científicos, sociais, políticos e económicos que afectam a saúde. A Acta Médica Portuguesa pode considerar artigos para publicação de autores de qualquer país.

2. VALORES

- Promover a qualidade científica.
- Promover o conhecimento e actualidade científica.
- Independência e imparcialidade editorial.
- Ética e respeito pela dignidade humana.
- Responsabilidade social.

3. VISÃO

Ser reconhecida como uma revista médica portuguesa de grande impacto internacional.

Promover a publicação científica da mais elevada qualidade privilegiando o trabalho original de investigação (clínico, epidemiológico, multicêntrico, ciência básica).

Constituir o fórum de publicação de normas de orientação.

Ampliar a divulgação internacional.

Lema: "Primum non nocere, primeiro a Acta Médica Portuguesa"

4. INFORMAÇÃO GERAL

A Acta Médica Portuguesa é a revista científica com revisão pelos pares (*peer-review*) da Ordem dos Médicos. É publicada continuamente desde 1979, estando indexada na PubMed / Medline desde o primeiro número. Desde 2010 tem Factor de Impacto atribuído pelo Journal Citation Reports - Thomson Reuters.

A Acta Médica Portuguesa segue a política do livre acesso. Todos os seus artigos estão disponíveis de forma integral, aberta e gratuita desde 1999 no seu site www.actamedicaportuguesa.com e através da Medline com interface PubMed.

A taxa de aceitação da Acta Médica Portuguesa, em

2014, foi de aproximadamente de 20% dos mais de 700 manuscritos recebidos anualmente.

Os manuscritos devem ser submetidos *online* via "Submissões Online" <http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/about/submissions#online> Submissions.

A Acta Médica Portuguesa rege-se de acordo com as boas normas de edição biomédica do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), do Committee on Publication Ethics (COPE), e do EQUATOR Network Resource Centre Guidance on Good Research Report (desenho de estudos).

A política editorial da Revista incorpora no processo de revisão e publicação as Recomendações de Política Editorial (*Editorial Policy Statements*) emitidas pelo Conselho de Editores Científicos (Council of Science Editors), disponíveis em <http://www.councilscienceeditors.org/i4a/pages/index.cfm?pageid=3331>, que cobre responsabilidades e direitos dos editores das revistas com arbitragem científica. Os artigos propostos não podem ter sido objecto de qualquer outro tipo de publicação. As opiniões expressas são da inteira responsabilidade dos autores. Os artigos publicados ficarão propriedade conjunta da Acta Médica Portuguesa e dos autores.

A Acta Médica Portuguesa reserva-se o direito de comercialização do artigo enquanto parte integrante da revista (na elaboração de separatas, por exemplo). O autor deverá acompanhar a carta de submissão com a declaração de cedência de direitos de autor para fins comerciais.

Relativamente à utilização por terceiros a Acta Médica Portuguesa rege-se pelos termos da licença *Creative Commons* 'Atribuição – Uso Não-Comercial – Proibição de Realização de Obras Derivadas (by-nc-nd)'.

Após publicação na Acta Médica Portuguesa, os autores ficam autorizados a disponibilizar os seus artigos em repositórios das suas instituições de origem, desde que mencionem sempre onde foram publicados.

5. CRITÉRIO DE AUTORIA

A revista segue os critérios de autoria do "International Committee of Medical Journal Editors" (ICMJE).

Todos designados como autores devem ter participado significativamente no trabalho para tomar responsabilidade

pública sobre o conteúdo e o crédito da autoria.

Autores são todos que:

1. Têm uma contribuição intelectual substancial, directa, no desenho e elaboração do artigo
2. Participam na análise e interpretação dos dados
3. Participam na escrita do manuscrito, revendo os rascunhos; ou na revisão crítica do conteúdo; ou na aprovação da versão final
4. Concordam que são responsáveis pela exactidão e integridade de todo o trabalho

As condições 1, 2, 3 e 4 têm de ser reunidas.

Autoria requer uma contribuição substancial para o manuscrito, sendo pois necessário especificar em carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho.

Ser listado como autor, quando não cumpre os critérios de elegibilidade, é considerado fraude.

Todos os que contribuíram para o artigo, mas que não encaixam nos critérios de autoria, devem ser listados nos agradecimentos.

Todos os autores, (isto é, o autor correspondente e cada um dos autores) terão de preencher e assinar o “Formulário de Autoria” com a responsabilidade da autoria, critérios e contribuições; conflitos de interesse e financiamento e transferência de direitos autorais / *copyright*.

O autor Correspondente deve ser o intermediário em nome de todos os co-autores em todos os contactos com a Acta Médica Portuguesa, durante todo o processo de submissão e de revisão. O autor correspondente é responsável por garantir que todos os potenciais conflitos de interesse mencionados são correctos. O autor correspondente deve atestar, ainda, em nome de todos os co-autores, a originalidade do trabalho e obter a permissão escrita de cada pessoa mencionada na secção “Agradecimentos”.

6. COPYRIGHT / DIREITOS AUTORAIS

Quando o artigo é aceite para publicação é mandatório o envio via *e-mail* de documento digitalizado, assinado por todos os Autores, com a partilha dos direitos de autor entre autores e a Acta Médica Portuguesa.

O(s) Autor(es) deve(m) assinar uma cópia de partilha dos direitos de autor entre autores e a Acta Médica Portuguesa quando submetem o manuscrito, conforme minuta publicada em anexo:

Nota: Este documento assinado só deverá ser enviado quando o manuscrito for aceite para publicação.

Editor da Acta Médica Portuguesa

O(s) Autor(es) certifica(m) que o manuscrito intitulado: _____ (ref.

AMP _____) é original, que todas as afirmações apresentadas como factos são baseados na investigação do(s) Autor(es), que o manuscrito, quer em parte quer no todo, não infringe nenhum *copyright* e não viola nenhum direito da privacidade, que não foi publicado em parte ou no todo e que não foi submetido para publicação, no todo ou em parte, noutra revista, e que os Autores têm o direito ao *copyright*.

Todos os Autores declaram ainda que participaram no trabalho, se responsabilizam por ele e que não existe, da parte de qualquer dos Autores conflito de interesses nas afirmações proferidas no trabalho.

Os Autores, ao submeterem o trabalho para publicação, partilham com a Acta Médica Portuguesa todos os direitos a interesses do *copyright* do artigo.

Todos os Autores devem assinar

Data: _____

Nome (maiúsculas): _____

Assinatura: _____

7. CONFLITOS DE INTERESSE

O rigor e a exactidão dos conteúdos, assim como as opiniões expressas são da exclusiva responsabilidade dos Autores. Os Autores devem declarar potenciais conflitos de interesse. Os autores são obrigados a divulgar todas as relações financeiras e pessoais que possam enviesar o trabalho.

Para prevenir ambiguidade, os autores têm que explicitamente mencionar se existe ou não conflitos de interesse.

Essa informação não influenciará a decisão editorial mas antes da submissão do manuscrito, os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

Se os autores têm dúvidas sobre o que constitui um relevante interesse financeiro ou pessoal, devem contactar o editor.

8. CONSENTIMENTO INFORMADO e APROVAÇÃO ÉTICA

Todos os doentes (ou seus representantes legais) que possam ser identificados nas descrições escritas, fotografias e vídeos deverão assinar um formulário de consentimento informado para descrição de doentes, fotografia e vídeos. Estes formulários devem ser submetidos com o manuscrito.

A Acta Médica Portuguesa considera aceitável a omissão de dados ou a apresentação de dados menos específicos para identificação dos doentes. Contudo, não aceitaremos a alteração de quaisquer dados.

Os autores devem informar se o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética da instituição de acordo com a declaração de Helsínquia.

9. LÍNGUA

Os artigos devem ser redigidos em português ou em inglês. Os títulos e os resumos têm de ser sempre em português e em inglês.

10. PROCESSO EDITORIAL

O autor correspondente receberá notificação da recepção do manuscrito e decisões editoriais por *email*.

Todos os manuscritos submetidos são inicialmente revistos pelo editor da Acta Médica Portuguesa. Os manuscritos são avaliados de acordo com os seguintes critérios: originalidade, actualidade, clareza de escrita, método de

estudo apropriado, dados válidos, conclusões adequadas e apoiadas pelos dados, importância, com significância e contribuição científica para o conhecimento da área, e não tenham sido publicados, na íntegra ou em parte, nem submetidos para publicação noutros locais.

A Acta Médica Portuguesa segue um rigoroso processo cego (*single-blind*) de revisão por pares (*peer-review*, externos à revista). Os manuscritos recebidos serão enviados a peritos das diversas áreas, os quais deverão fazer os seus comentários, incluindo a sugestão de aceitação, aceitação condicionada a pequenas ou grandes modificações ou rejeição. Na avaliação, os artigos poderão ser:

- a) aceites sem alterações;
- b) aceites após modificações propostas pelos consultores científicos;
- c) recusados.

Estipula-se para esse processo o seguinte plano temporal:

- Após a recepção do artigo, o Editor-Chefe, ou um dos Editores Associados, enviará o manuscrito a, no mínimo, dois revisores, caso esteja de acordo com as normas de publicação e se enquadre na política editorial. Poderá ser recusado nesta fase, sem envio a revisores.

- Quando receberem a comunicação de aceitação, os Autores devem remeter de imediato, por correio electrónico, o formulário de partilha de direitos que se encontra no *site* da Acta Médica Portuguesa, devidamente preenchido e assinado por todos os Autores.

- No prazo máximo de quatro semanas, o revisor deverá responder ao editor indicando os seus comentários relativos ao manuscrito sujeito a revisão, e a sua sugestão de quanto à aceitação ou rejeição do trabalho. O Conselho Editorial tomará, num prazo de 15 dias, uma primeira decisão que poderá incluir a aceitação do artigo sem modificações, o envio dos comentários dos revisores para que os Autores procedam de acordo com o indicado, ou a rejeição do artigo.

Os Autores dispõem de 20 dias para submeter a nova versão revista do manuscrito, contemplando as modificações recomendadas pelos peritos e pelo Conselho Editorial. Quando são propostas alterações, o autor deverá enviar, no prazo máximo de vinte dias, um *e-mail* ao editor respondendo a todas as questões colocadas e anexando uma versão revista do artigo com as alterações inseridas destacadas com cor diferente.

- O Editor-Chefe dispõe de 15 dias para tomar a decisão sobre a nova versão: rejeitar ou aceitar o artigo na nova versão, ou submetê-lo a um ou mais revisores externos cujo parecer poderá, ou não, coincidir com os resultantes da primeira revisão.

- Caso o manuscrito seja reenviado para revisão externa, os peritos dispõem de quatro semanas para o envio dos seus comentários e da sua sugestão quanto à aceitação ou recusa para publicação do mesmo.

- Atendendo às sugestões dos revisores, o Editor-Chefe poderá aceitar o artigo nesta nova versão, rejeitá-lo ou voltar a solicitar modificações. Neste último caso, os Autores

dispõem de um mês para submeter uma versão revista, a qual poderá, caso o Editor-Chefe assim o determine, voltar a passar por um processo de revisão por peritos externos.

- No caso da aceitação, em qualquer das fases anteriores, a mesma será comunicada ao Autor principal. Num prazo inferior a um mês, o Conselho Editorial enviará o artigo para revisão dos Autores já com a formatação final, mas sem a numeração definitiva. Os Autores dispõem de cinco dias para a revisão do texto e comunicação de quaisquer erros tipográficos. Nesta fase, os Autores não podem fazer qualquer modificação de fundo ao artigo, para além das correcções de erros tipográficos e/ou ortográficos de pequenos erros. Não são permitidas, nomeadamente, alterações a dados de tabelas ou gráficos, alterações de fundo do texto, etc.

- Após a resposta dos Autores, ou na ausência de resposta, após o decurso dos cinco dias, o artigo considera-se concluído.

- Na fase de revisão de provas tipográficas, alterações de fundo aos artigos não serão aceites e poderão implicar a sua rejeição posterior por decisão do Editor-Chefe.

Chama-se a atenção que a transcrição de imagens, quadros ou gráficos de outras publicações deverá ter a prévia autorização dos respectivos autores para dar cumprimento às normas que regem os direitos de autor.

11. PUBLICAÇÃO FAST-TRACK

A Acta Médica Portuguesa dispõe do sistema de publicação *Fast-Track* para manuscritos urgentes e importantes desde que cumpram os requisitos da Acta Médica Portuguesa para o *Fast-Track*.

- a) Os autores para requererem a publicação *fast-track* devem submeter o seu manuscrito em <http://www.actamedicaportuguesa.com/> “submeter artigo” indicando claramente porque consideram que o manuscrito é adequado para a publicação rápida. O Conselho Editorial tomará a decisão sobre se o manuscrito é adequado para uma via rápida (*fast-track*) ou para submissão regular;

- b) Verifique se o manuscrito cumpre as normas aos autores da Acta Médica Portuguesa e que contém as informações necessárias em todos os manuscritos da Acta Médica Portuguesa.

- c) O Gabinete Editorial irá comunicar, dentro de 48 horas, se o manuscrito é apropriado para avaliação *fast-track*. Se o Editor-Chefe decidir não aceitar a avaliação *fast-track*, o manuscrito pode ser considerado para o processo de revisão normal. Os autores também terão a oportunidade de retirar a sua submissão.

- d) Para manuscritos que são aceites para avaliação *fast-track*, a decisão Editorial será feita no prazo de 5 dias úteis.

- e) Se o manuscrito for aceite para publicação, o objectivo será publicá-lo, online, no prazo máximo de 3 semanas após a aceitação.

12. REGRAS DE OURO ACTA MÉDICA PORTUGUESA

- a) O editor é responsável por garantir a qualidade da

revista e que o que publica é ético, actual e relevante para os leitores.

b) A gestão de reclamações passa obrigatoriamente pelo editor-chefe e não pelo bastonário.

c) O peer review deve envolver a avaliação de revisores externos.

d) A submissão do manuscrito e todos os detalhes associados são mantidos confidenciais pelo corpo editorial e por todas as pessoas envolvidas no processo de peer-review.

e) A identidade dos revisores é confidencial.

f) Os revisores aconselham e fazem recomendações; o editor toma decisões.

g) O editor-chefe tem total independência editorial.

h) A Ordem dos Médicos não interfere directamente na avaliação, selecção e edição de artigos específicos, nem directamente nem por influência indirecta nas decisões editoriais.

i) As decisões editoriais são baseadas no mérito de trabalho submetido e adequação à revista.

j) As decisões do editor-chefe não são influenciadas pela origem do manuscrito nem determinadas por agentes exteriores.

k) As razões para rejeição imediata sem peer review externo são: falta de originalidade; interesse limitado para os leitores da Acta Médica Portuguesa; conter graves falhas científicas ou metodológicas; o tópico não é coberto com a profundidade necessária; é preliminar de mais e/ou especulativo; informação desactualizada.

l) Todos os elementos envolvidos no processo de peer review devem actuar de acordo com os mais elevados padrões éticos.

m) Todas as partes envolvidas no processo de peer review devem declarar qualquer potencial conflito de interesses e solicitar escusa de rever manuscritos que sintam que não conseguirão rever objectivamente.

13. NORMAS GERAIS

ESTILO

Todos os manuscritos devem ser preparados de acordo com o "AMA Manual of Style", 10th ed. e/ou "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals".

Escreva num estilo claro, directo e activo. Geralmente, escreva usando a primeira pessoa, voz activa, por exemplo, "Analisámos dados", e não "Os dados foram analisados". Os agradecimentos são as excepções a essa directriz, e deve ser escrito na terceira pessoa, voz activa; "Os autores gostariam de agradecer". Palavras em latim ou noutra língua que não seja a do texto deverão ser colocadas em itálico.

Os componentes do manuscrito são: Página de Título, Resumo, Texto, Referências, e se apropriado, legendas de figuras. Inicie cada uma dessas secções em uma nova página, numeradas consecutivamente, começando com a página de título.

Os formatos de arquivo dos manuscritos autorizados incluem o *Word* e o *WordPerfect*. Não submeta o manuscrito em formato PDF.

SUBMISSÃO

Os manuscritos devem ser submetidos online, via "Submissão Online" da Acta Médica Portuguesa <http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/about/submissions#onlineSubmissions>.

Todos os campos solicitados no sistema de submissão *online* terão de ser respondidos.

Após submissão do manuscrito o autor receberá a confirmação de recepção e um número para o manuscrito.

Na primeira página/ página de título:

a) Título em **português e inglês**, conciso e descritivo

b) Na linha da autoria, liste o Nome de todos os Autores (primeiro e último nome) com os títulos académicos e/ou profissionais e respectiva afiliação (departamento, instituição, cidade, país)

c) Subsídio(s) ou bolsa(s) que contribuíram para a realização do trabalho

d) Morada e *e-mail* do Autor responsável pela correspondência relativa ao manuscrito

e) Título breve para cabeçalho

Na segunda página

a) Título (sem autores)

b) Resumo em **português e inglês**. Nenhuma informação que não conste no manuscrito pode ser mencionada no resumo. Os resumos não podem remeter para o texto, não podendo conter citações nem referencias a figuras.

c) Palavras-chave (*Keywords*). Um máximo de 5 *Keywords* em inglês utilizando a terminologia que consta no Medical Subject Headings (MeSH), <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>, devem seguir-se ao resumo.

Na terceira página e seguintes:

■ Editoriais:

Os Editoriais serão apenas submetidos por convite do Editor. Serão comentários sobre tópicos actuais. Não devem exceder as 1.200 palavras nem conter tabelas/figuras e terão um máximo de 5 referências bibliográficas. Não precisam de resumo.

■ Perspectiva:

Artigos elaborados apenas por convite do Conselho Editorial. Podem cobrir grande diversidade de temas com interesse nos cuidados de saúde: problemas actuais ou emergentes, gestão e política de saúde, história da medicina, ligação à sociedade, epidemiologia, etc.

Um Autor que deseje propor um artigo desta categoria deverá remeter previamente ao Editor-Chefe o respectivo resumo, indicação dos autores e título do artigo para avaliação.

Deve conter no máximo 1200 palavras (excluindo as referências e as legendas) e até 10 referências bibliográficas. Só pode conter uma tabela ou uma figura. Não precisa de resumo.

■ Artigos Originais:

O texto deve ser apresentado com as seguintes secções: Introdução (incluindo Objectivos), Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos (se aplicável), Referências, Tabelas e Figuras.

Os Artigos Originais não deverão exceder as 4.000 palavras, excluindo referências e ilustrações. Deve ser acompanhado de ilustrações, com um máximo de 6 figuras/tabelas e 60 referências bibliográficas.

O resumo dos artigos originais não deve exceder as 250 palavras e serão estruturados (com cabeçalhos: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão).

A Acta Médica Portuguesa, como membro do ICMJE, exige como condição para publicação, o registo de todos os ensaios num registo público de ensaios aceite pelo ICMJE (ou seja, propriedade de uma instituição sem fins lucrativos e publicamente acessível, por ex. clinicaltrials.gov). Todos os manuscritos reportando ensaios clínicos têm de seguir o CONSORT *Statement* <http://www.consort-statement.org/>.

Numa revisão sistemática ou meta-análise de estudos randomizados siga as PRISMA *guidelines*.

Numa meta-análise de estudos observacionais, siga as MOOSE *guidelines* e apresente como um ficheiro complementar o protocolo do estudo, se houver um.

Num estudo de precisão de diagnóstico, siga as STARD *guidelines*.

Num estudo observacional, siga as STROBE *guidelines*.

Num *Guideline* clínico incentivamos os autores a seguir a GRADE *guidance* para classificar a evidência.

■ Artigos de Revisão:

Destinam-se a abordar de forma aprofundada, o estado actual do conhecimento referente a temas de importância. Estes artigos serão elaborados a convite da equipa editorial, contudo, a título excepcional, será possível a submissão, por autores não convidados (com ampla experiência no tema) de projectos de artigo de revisão que, julgados relevantes e aprovados pelo editor, poderão ser desenvolvidos e submetidos às normas de publicação.

Comprimento máximo: 3500 palavras de texto (não incluindo resumo, legendas e referências). Não pode ter mais do que um total de 4 tabelas e / ou figuras, e não mais de 50-75 referências.

O resumo dos artigos de revisão não deve exceder as 250 palavras e serão estruturados (com cabeçalhos: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão).

■ Caso Clínico:

O relato de um caso clínico com justificada razão de publicação (raridade, aspectos inusitados, evoluções atípicas, inovações terapêuticas e de diagnóstico, entre outras). As secções serão: Introdução, Caso Clínico, Discussão, Bibliografia.

O texto não deve exceder as 1.000 palavras e 15 refe-

rências bibliográficas. Deve ser acompanhado de figuras ilustrativas. O número de tabelas/figuras não deve ser superior a 5.

Inclua um resumo não estruturado que não exceda 150 palavras, que sumarie o objectivo, pontos principais e conclusões do artigo.

■ Imagens em Medicina (Imagem Médica):

A Imagem em Medicina é um contributo importante da aprendizagem e da prática médica. Poderão ser aceites imagens clínicas, de imagiologia, histopatologia, cirurgia, etc. Podem ser enviadas até duas imagens por caso.

Deve incluir um título com um máximo de oito palavras e um texto com um máximo de 150 palavras onde se dê informação clínica relevante, incluindo um breve resumo do historial do doente, dados laboratoriais, terapêutica e condição actual. Não pode ter mais do que três autores e cinco referências bibliográficas. Não precisa de resumo.

Só são aceites fotografias originais, de alta qualidade, que não tenham sido submetidas a prévia publicação. Devem ser enviados dois ficheiros: um com a qualidade exigida para a publicação de imagens e outra que serve apenas para referência em que o topo da fotografia deve vir indicado com uma seta. Para informação sobre o envio de imagens digitais, consulte as «Normas técnicas para a submissão de figuras, tabelas ou fotografias».

■ Guidelines / Normas de orientação:

As sociedades médicas, os colégios das especialidades, as entidades oficiais e / ou grupos de médicos que desejem publicar na Acta Médica Portuguesa recomendações de prática clínica, deverão contactar previamente o Conselho Editorial e submeter o texto completo e a versão para ser publicada. O Editor-Chefe poderá colocar como exigência a publicação exclusiva das recomendações na Acta Médica Portuguesa.

Poderá ser acordada a publicação de uma versão resumida na edição impressa cumulativamente à publicação da versão completa no *site* da Acta Médica Portuguesa.

■ Cartas ao Editor:

Devem constituir um comentário a um artigo da Acta Med Port ou uma pequena nota sobre um tema ou caso clínico. Não devem exceder as 400 palavras, nem conter mais de uma ilustração e ter um máximo de 5 referências bibliográficas. Não precisam de resumo.

Deve seguir a seguinte estrutura geral: Identificar o artigo (torna-se a referência 1); Dizer porque está a escrever; fornecer evidência (a partir da literatura ou a partir de uma experiência pessoal) fornecer uma súmula; citar referências.

A(s) resposta(s) do(s) Autor(es) devem observar as mesmas características.

Uma Carta ao editor discutindo um artigo recente da Acta Med Port terá maior probabilidade de aceitação se for submetida quatro semanas após a publicação do artigo.

Abreviaturas: Não use abreviaturas ou acrónimos no título nem no resumo, e limite o seu uso no texto. O uso de acrónimos deve ser evitado, assim como o uso excessivo e desnecessário de abreviaturas. Se for imprescindível recorrer a abreviaturas não consagradas, devem ser definidas na primeira utilização, por extenso, logo seguido pela abreviatura entre parênteses. Não coloque pontos finais nas abreviaturas.

Unidades de Medida: As medidas de comprimento, altura, peso e volume devem ser expressas em unidades do sistema métrico (metro, quilograma ou litro) ou seus múltiplos decimais.

As temperaturas devem ser dadas em graus Celsius (°C) e a pressão arterial em milímetros de mercúrio (mm Hg).

Para mais informação consulte a tabela de conversão “Units of Measure” no *website* da AMA Manual Style.

Nomes de Medicamentos, Dispositivos ou outros Produtos: Use o nome não comercial de medicamentos, dispositivos ou de outros produtos, a menos que o nome comercial seja essencial para a discussão.

IMAGENS

Numere todas as imagens (figuras, gráficos, tabelas, fotografias, ilustrações) pela ordem de citação no texto.

Inclua um título/legenda para cada imagem (uma frase breve, de preferência com não mais do que 10 a 15 palavras).

A publicação de imagens a cores é gratuita.

No manuscrito, são aceitáveis os seguintes formatos: BMP, EPS, JPG, PDF e TIF, com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

As Tabelas/Figuras devem ser numeradas na ordem em que são citadas no texto e assinaladas em numeração árabe e com identificação, figura/tabela. Tabelas e figuras devem ter numeração árabe e legenda. Cada Figura e Tabela incluídas no trabalho têm de ser referidas no texto, da forma que passamos a exemplificar:

Estes são alguns exemplos de como uma resposta imunitária anormal pode estar na origem dos sintomas da doença de Behçet (Fig. 4).

Esta associa-se a outras duas lesões cutâneas (Tabela 1).

Figura: Quando referida no texto é abreviada para Fig., enquanto a palavra Tabela não é abreviada. Nas legendas ambas as palavras são escritas por extenso.

Figuras e tabelas serão numeradas com numeração árabe independentemente e na sequência em que são referidas no texto.

Exemplo: Fig. 1, Fig. 2, Tabela 1

Legendas: Após as referências bibliográficas, ainda no ficheiro de texto do manuscrito, deverá ser enviada legenda detalhada (sem abreviaturas) para cada imagem. A imagem tem que ser referenciada no texto e indicada a sua localização aproximada com o comentário “Inserir Figura nº 1... aqui”.

Tabelas: É obrigatório o envio das tabelas a preto e

branco no final do ficheiro. As tabelas devem ser elaboradas e submetidas em documento *word*, em formato de tabela simples (*simple grid*), sem utilização de tabuladores, nem modificações tipográficas. Todas as tabelas devem ser mencionadas no texto do artigo e numeradas pela ordem que surgem no texto. Indique a sua localização aproximada no corpo do texto com o comentário “Inserir Tabela nº 1... aqui”. Neste caso os autores autorizam uma reorganização das tabelas caso seja necessário.

As tabelas devem ser acompanhadas da respectiva legenda/título, elaborada de forma sucinta e clara.

Legendas devem ser auto-explicativas (sem necessidade de recorrer ao texto) – é uma declaração descritiva.

Legenda/Título das Tabelas: Colocada por cima do corpo da tabela e justificada à esquerda. Tabelas são lidas de cima para baixo. Na parte inferior serão colocadas todas as notas informativas – notas de rodapé (abreviaturas, significado estatístico, etc.) As notas de rodapé para conteúdo que não caiba no título ou nas células de dados devem conter estes símbolos *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡, §§, ||||, ¶¶.

Figuras: Os ficheiros «figura» podem ser tantos quantas imagens tiver o artigo. Cada um destes elementos deverá ser submetido em ficheiro separado, obrigatoriamente em versão electrónica, pronto para publicação. As figuras (fotografias, desenhos e gráficos) não são aceites em ficheiros *word*.

Em formato TIF, JPG, BMP, EPS e PDF com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

As legendas têm que ser colocadas no ficheiro de texto do manuscrito.

Caso a figura esteja sujeita a direitos de autor, é responsabilidade dos autores do artigo adquirir esses direitos antes do envio do ficheiro à Acta Médica Portuguesa.

Legenda das Figuras: Colocada por baixo da figura, gráfico e justificada à esquerda. Gráficos e outras figuras são habitualmente lidos de baixo para cima.

Só são aceites imagens de doentes quando necessárias para a compreensão do artigo. Se for usada uma figura em que o doente seja identificável deve ser obtida e remetida à Acta Médica Portuguesa a devida autorização. Se a fotografia permitir de forma óbvia a identificação do doente, esta poderá não ser aceite. Em caso de dúvida, a decisão final será do Editor-Chefe.

• **Fotografias:** Em formato TIF, JPG, BMP e PDF com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

• **Desenhos e gráficos:** Os desenhos e gráficos devem ser enviados em formato vectorial (AI, EPS) ou em ficheiro bitmap com uma resolução mínima de 600 dpi. A fonte a utilizar em desenhos e gráficos será obrigatoriamente Arial.

As imagens devem ser apresentadas em ficheiros separados submetidos como documentos suplementares, em condições de reprodução, de acordo com a ordem em que

são discutidas no texto. As imagens devem ser fornecidas independentemente do texto.

AGRADECIMENTOS (facultativo)

Devem vir após o texto, tendo como objectivo agradecer a todos os que contribuíram para o estudo mas não têm peso de autoria. Nesta secção é possível agradecer a todas as fontes de apoio, quer financeiro, quer tecnológico ou de consultoria, assim como contribuições individuais. Cada pessoa citada nesta secção de agradecimentos deve enviar uma carta autorizando a inclusão do seu nome.

REFERÊNCIAS

Os autores são responsáveis pela exactidão e rigor das suas referências e pela sua correcta citação no texto.

As referências bibliográficas devem ser citadas numericamente (algarismos árabes formatados sobrescritos) por ordem de entrada no texto e ser identificadas no texto com algarismos árabes. **Exemplo:** “Dimethylfumarate has also been a systemic therapeutic option in moderate to severe psoriasis since 1994¹³ and in multiple sclerosis.¹⁴”

Se forem citados mais de duas referências em sequência, apenas a primeira e a última devem ser indicadas, sendo separadas por traço.⁵⁻⁹

Em caso de citação alternada, todas as referências devem ser digitadas, separadas por vírgula.^{12,15,18}

As referências são alinhadas à esquerda.

Não deverão ser incluídos na lista de referências quaisquer artigos ainda em preparação ou observações não publicadas, comunicações pessoais, etc. Tais inclusões só são permitidas no corpo do manuscrito (ex: P. Andrade, comunicação pessoal).

As abreviaturas usadas na nomeação das revistas devem ser as utilizadas pelo National Library of Medicine (NLM) *Title Journals Abbreviations* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>

Notas: Não indicar mês da publicação.

Nas referências com 6 ou menos Autores devem ser nomeados todos. Nas referências com 7 ou mais autores devem ser nomeados os 6 primeiros seguidos de “et al”.

Seguem-se alguns exemplos de como devem constar os vários tipos de referências.

Artigo:

Apelido Iniciais do(s) Autor(es). Título do artigo. Título das revistas [abreviado]. Ano de publicação; Volume: páginas.

1. Com menos de 6 autores

Miguel C, Mediavilla MJ. Abordagem actual da gota. *Acta Med Port.* 2011;24:791-8.

2. Com mais de 6 autores

Norte A, Santos C, Gamboa F, Ferreira AJ, Marques A, Leite C, et al. Pneumonia Necrotizante: uma complicação rara. *Acta Med Port.* 2012;25:51-5.

Monografia:

Autor/Editor AA. Título: completo. Edição (se não for a primeira). Vol.(se for trabalho em vários volumes). Local de publicação: Editor comercial; ano.

1. Com Autores:

Moore, K. *Essential Clinical Anatomy*. 4th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

2. Com editor:

Gilstrap LC 3rd, Cunningham FG, VanDorsten JP, editors. *Operative obstetrics*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2002.

Capítulo de monografia:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

Relatório Científico/Técnico:

Lugg DJ. Physiological adaptation and health of an expedition in Antarctica: with comment on behavioural adaptation. Canberra: A.G.P.S.; 1977. Australian Government Department of Science, Antarctic Division. ANARE scientific reports. Series B(4), Medical science No. 0126

Documento electrónico:

1. CD-ROM

Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

2. Monografia da Internet

Van Belle G, Fisher LD, Heagerty PJ, Lumley TS. *Biostatistics: a methodology for the health sciences* [e-book]. 2nd ed. Somerset: Wiley InterScience; 2003 [consultado 2005 Jun 30]. Disponível em: Wiley InterScience electronic collection

3. Homepage/Website

Cancer-Pain.org [homepage na Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01; [consultado 2002 Jul 9]. Disponível em: <http://www.cancer-pain.org/>.

PROVAS TIPOGRÁFICAS

Serão da responsabilidade do Conselho Editorial, se os Autores não indicarem o contrário. Neste caso elas deverão ser feitas no prazo determinado pelo Conselho Editorial, em função das necessidades editoriais da Revista. Os autores receberão as provas para publicação em formato PDF para correcção e deverão devolvê-las num prazo de 48 horas.

ERRATA E RETRACÇÕES

A Acta Médica Portuguesa publica alterações, emendas ou retracções a um artigo anteriormente publicado. Alterações posteriores à publicação assumirão a forma de errata.

NOTA FINAL

Para um mais completo esclarecimento sobre este assunto aconselha-se a leitura do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* do International Committee of Medical Journal Editors, disponível em <http://www.ICMJE.org>.