



PATOGÉNESIS DE LAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

*Una aproximación a las
neoplasias mieloproliferativas*



Tabla de contenidos

1	Resumen.....	página 4
2	Introducción	página 5
3	Mielofibrosis.....	página 6
4	Policitemia vera	página 7
5	Trombocitemia esencial.....	página 7
6	Patogénesis de las NMP	página 8
7	Mutaciones en la señalización de JAK/STAT	página 10
8	La mutación JAK2V617F	página 11
9	Implicaciones clínicas de la señalización desregulada de JAK.....	página 11
10	Una mutación para múltiples fenotipos	página 12
	10.1. Hipótesis de la dosificación génica	página 12
	10.2. Hipótesis de la especificidad celular.....	página 13
	10.3. Hipótesis de los antecedentes genéticos del paciente	página 14
	10.4. Hipótesis del segundo <i>hit</i>	página 14
	10.5. Cómo conciliar estas hipótesis de trabajo	página 15
11	Mutaciones en MPL.....	página 16
12	Mutaciones en LNK	página 17
13	Conclusiones	página 17
14	Referencias	página 18



1. Resumen

La familia de tirosina quinasas Janus quinasa (JAK) es crítica para la propagación de las señales mediadas por citoquinas responsables de la hematopoyesis e inflamación.^{1,2} Diversos estudios han descrito la desregulación de la vía de señalización JAK en pacientes con neoplasias mieloproliferativas (NMP).¹ La desregulación de la vía de señalización JAK puede estar causada por diversas mutaciones, ya sean mutaciones que afectan directamente a la proteína JAK, mutaciones en los receptores asociados a JAK, o mutaciones en otras moléculas asociadas a la vía de señalización JAK. Todos los mecanismos producen la transmisión de señales en ausencia de citoquinas unidas. La mutación más habitual es una mutación puntual que genera la proteína JAK2V617F. Esta mutación está prácticamente omnipresente en pacientes con policitemia vera (PV), y aparece en más del 50% de los pacientes con mielofibrosis (MF) y trombocitemia esencial (TE).³

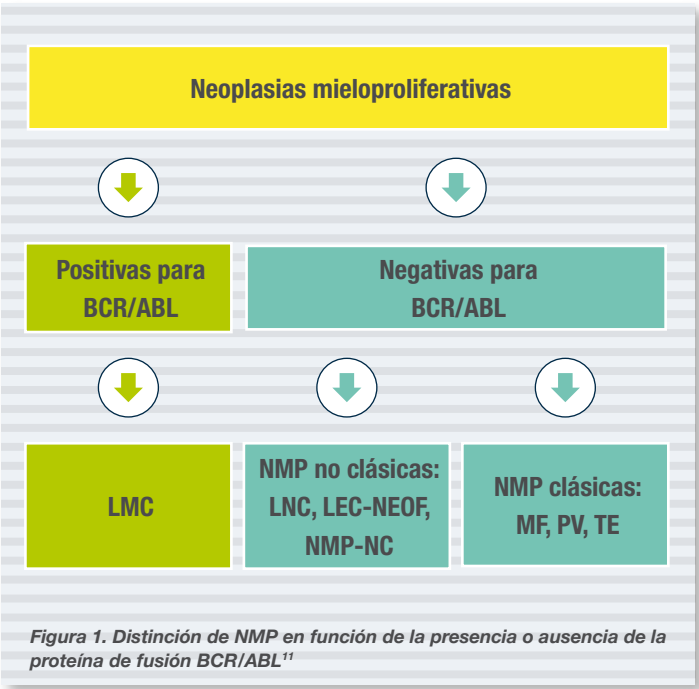
Además de la mutación JAK2V617F, en pacientes con NMP se han identificado otros mecanismos de desregulación en la cascada de señalización de JAK. Estos mecanismos incluyen mutaciones en el exón 12 de JAK2, mutaciones en el receptor de MPL (receptor responsable de la señalización de la trombopoyetina [TPO]) que provoca que JAK esté activa de forma aberrante, y mutaciones en la proteína LNK (una proteína que regula negativamente la señalización de JAK).⁴⁻⁸ Además de estas mutaciones conocidas, también se ha demostrado que los pacientes con NMP tienen activado JAK1 de forma constitutiva en sangre periférica y niveles elevados de citoquinas proinflamatorias que están señalizadas a través de JAK1.^{2,9} Es probable que la inflamación sostenida sea la responsable de los síntomas generales experimentados por los pacientes con NMP. Por tanto, la desregulación de JAK1 puede desempeñar un papel en este aspecto de la enfermedad.²

Aunque los estudios han demostrado claramente que la desregulación de la señalización de JAK es clave para la patogénesis de las NMP, el desarrollo de 3 fenotipos distintos a partir de un tipo de mutación sigue siendo un área de investigación activa.¹⁰



2. Introducción

Las neoplasias mieloproliferativas (NMP) se caracterizan por una hematopoyesis displásica e ineficaz como resultado de la expansión clonal de un progenitor de células madre hematopoyéticas (HSC). Las NMP se pueden dividir en 2 grandes clases en función de la presencia o ausencia del cromosoma Filadelfia que produce la proteína de fusión BCR/ABL: la leucemia mieloide crónica (LMC) positiva para BCR/ABL, y NMP negativas para BCR/ABL. Dentro de las NMP negativas para BCR/ABL existen 3 NMP **“clásicas” que incluyen la mielofibrosis (MF), la policitemia vera (PV) y la trombocitemia esencial (TE)**; y las NMP “no clásicas”, que incluyen la leucemia neutrofílica crónica (LNC), la mastocitosis sistémica, la leucemia eosinofílica crónica no especificada de otra forma (LEC-NEOF), y NMP no clasificables (NMP-NC) (Figura 1).^{11,12}



Las 3 NMP clásicas constituyen un continuo de enfermedades y comparten características clínicas y biológicas comunes.¹

Características comunes a las NMP clásicas:

- 1 Hipersensibilidad a las citoquinas eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), y a la trombopoyetina (TPO).
- 2 La presencia de formación de colonias eritroides endógenas (CEE).
- 3 Aumento de la expresión de policitemia rubra vera-1 (PRV1) en granulocitos y reducción en el nivel de expresión del receptor de TPO (MPL) en plaquetas y megacariocitos.
- 4 Prevalencia de mutaciones en la vía de la Janus quinasa (JAK).

Aunque hay solapamiento clínico entre estas enfermedades, cada una de estas NMP tiene características distintas.



3. Mielofibrosis

La mielofibrosis (MF) se caracteriza por fibrosis de la médula ósea, esplenomegalia (síntomas asociados: molestias mecánicas, dolor subcostal izquierdo, disnea, citopenias asociadas, hipertensión portal y riesgo de infarto esplénico), anemia y síntomas generales, como cansancio, pérdida de peso, sudoración nocturna, prurito, fiebre y dolor óseo, muscular o abdominal.¹³⁻¹⁵ Aunque la MF puede ser de naturaleza primaria (MFP), también se puede desarrollar como consecuencia de la progresión patológica de TE o PV (MF post-TE o MF post-PV).¹³ A pesar de que puede ser difícil distinguir la MF post-PV o post-TE de la MFP, no parece haber una diferencia pronóstica o terapéutica entre estas manifestaciones, y la mayoría de ensayos clínicos incluyen a los dos grupos de pacientes con MF.¹³ La MF es una enfermedad debilitante y potencialmente mortal con una supervivencia media de 27 meses en pacientes de alto riesgo.¹⁶ Las 3 causas de muerte más comunes en pacientes con MF son la transformación a leucemia mieloide aguda (LMA), progresión de la enfermedad sin transformación, y episodios trombóticos y cardiovasculares.¹⁶

La MF se caracteriza por fibrosis de la médula ósea, esplenomegalia, anemia y síntomas generales, como cansancio, pérdida de peso, sudoración nocturna, prurito, fiebre y dolor de huesos, muscular o abdominal.



4. Policitemia vera

La policitemia vera (PV) se caracteriza por la proliferación clonal de las células madre del linaje de células eritroides, mieloides o de megacariocitos, y predominantemente produce un incremento en la cantidad de eritrocitos, que da lugar a hipervolemia e hiperviscosidad de la sangre. También es habitual entre pacientes con PV el incremento del recuento de leucocitos y plaquetas e hiperplasia de médula ósea.¹⁷ Los pacientes con PV presentan esplenomegalia con síntomas asociados de molestias mecánicas, dolor subcostal izquierdo, disnea, citopenias asociadas, hipertensión portal y riesgo de infarto esplénico. Además, son habituales, y con frecuencia graves en pacientes con PV, síntomas generales como sudoración nocturna, pesadez abdominal, saciedad temprana y prurito, y requieren de control sintomático.^{13,15,18}



5. Trombocitemia esencial

La trombocitemia esencial (TE) se caracteriza por hiperplasia de los megacariocitos (sin fibrosis de médula ósea) y trombocitosis persistente que da lugar a complicaciones trombóticas y hemorrágicas frecuentes. Los criterios diagnósticos de 2008 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) definen la TE principalmente por un recuento sostenido de plaquetas de al menos $450 \times 10^9/L$.¹¹



6. Patogénesis de las NMP

Descripción general de la señalización de JAK/STAT:

Una característica común de las 3 NMP clásicas es que la señalización de JAK está desregulada. La familia JAK de tirosina quinasas está involucrada en la transducción de señales mediada por citoquinas a través de la vía JAK/STAT (*Signal Transducers and Activators of Transcription*, en inglés -transductores de señales y activadores de la transcripción). Existen 4 miembros de la familia JAK: JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2.¹⁹

- 1 La señalización de JAK1 desempeña un papel en la linfopoyesis y las respuestas de citoquinas.
- 2 La señalización de JAK2 media en la eritropoyesis.
- 3 La señalización de JAK3 está involucrada en el desarrollo, proliferación y respuesta inmunitaria de los linfocitos.
- 4 TYK2 participa en la mediación de señales de citoquinas.

La señalización desregulada de JAK es un rasgo distintivo de las NMP.

La vía JAK/STAT es activada por citoquinas que se unen a sus respectivos receptores de la superficie celular, provocando un cambio conformacional en el receptor. Este cambio conformacional permite que el receptor se homodimerice o se heterodimerice, haciendo que las moléculas JAK asociadas se aproximen lo suficiente para que se puedan trans-fosforilar entre sí.²⁰ Las moléculas JAK activadas fosforilan restos de la cola citoplásmica del receptor que actúan como sitios de acoplamiento para STAT. Una vez STAT se une a la cola del receptor, es fosforilada por JAK, y a continuación se disocia del receptor y forma un homo- o heterodímero con otra molécula STAT. El dímero STAT se traslada hacia el núcleo de la célula e inicia la transcripción de genes específicos (*Figura 2*).¹⁹

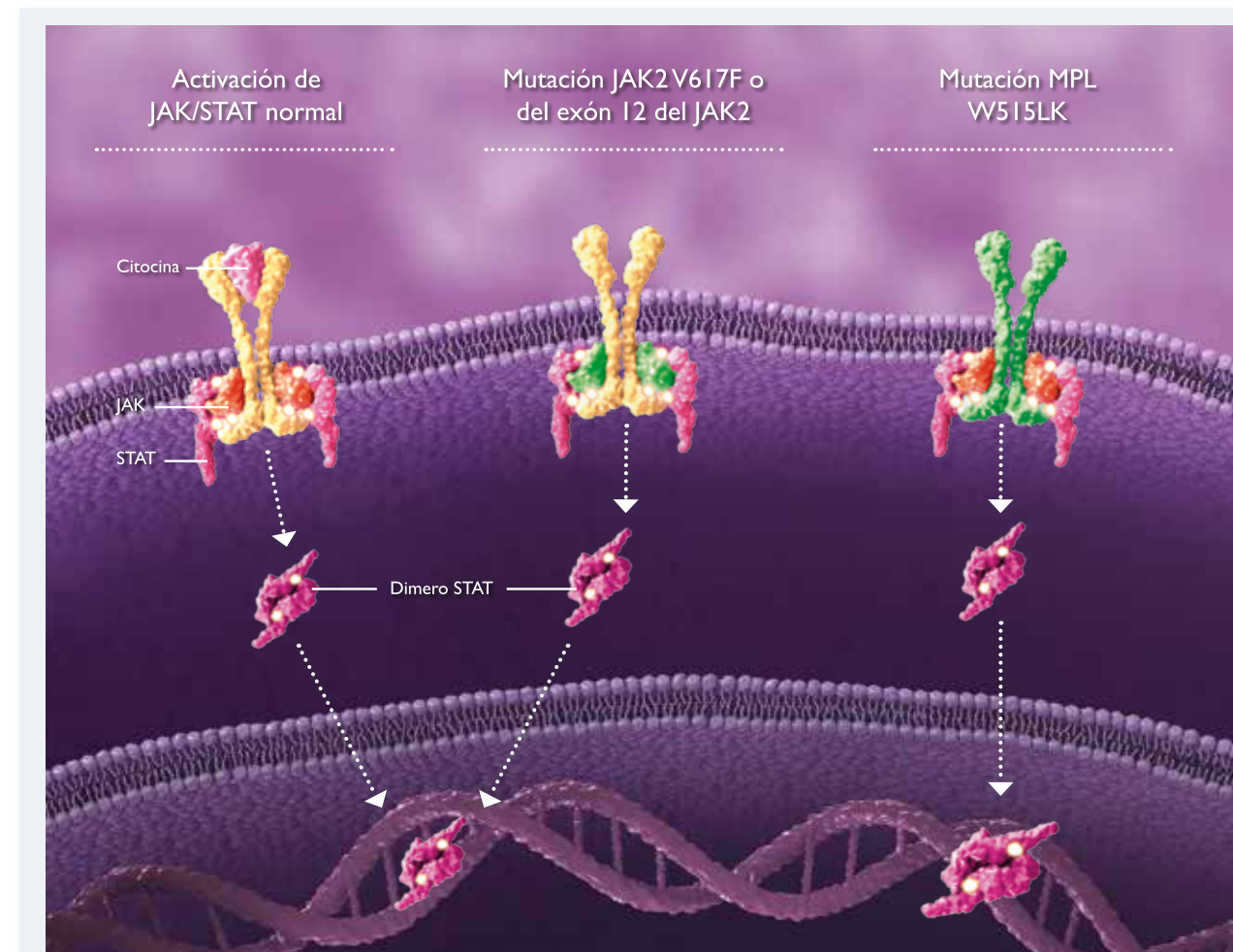


Figura 2. La cascada de señalización de JAK/STAT durante la activación normal y la activación desregulada (adaptado de Levine 2007).²¹

Las diferentes células y tejidos expresan combinaciones de receptores distintos que responden a citoquinas únicas en su microentorno. Existen alrededor de 36 combinaciones de receptores de citoquinas que responden aproximadamente a 38 citoquinas, todas ellas que utilizan combinaciones de las 4 moléculas JAK para propagar señales específicas (*Tabla 1*).²² La vía JAK/STAT desempeña un papel crucial en la hematopoyesis y la inflamación. Se ha demostrado que JAK2 es la molécula JAK predominante, activada en respuesta a ligandos tipo 1, que incluyen EPO, GM-CSF y TPO, y son responsables del desarrollo y la proliferación de células hematopoyéticas. Las citoquinas que regulan la inflamación (IL-6, IL-10, e interferón-gamma) producen señalizaciones a través de JAK, y usan predominantemente JAK1.²² La desregulación de la señalización de JAK/STAT probablemente produce un incremento de la señalización proinflamatoria e incrementa la proliferación de células hematopoyéticas. Se han observado niveles elevados de citoquinas proinflamatorias (incluyendo IL-6 e IL-10, entre otras) en el suero de pacientes con MF.²³ Además, TGF- β , PDGF, FGF-b y VEGF se han relacionado con fibrosis de médula ósea, osteosclerosis y angiogénesis asociada a MF.²³

7. Mutaciones en la señalización de JAK/STAT

Se han identificado mutaciones que afectan a la señalización de JAK/STAT en pacientes con MF, PV y TE. La desregulación se puede producir de diferentes maneras, incluyendo mutaciones dentro de la propia proteína JAK, mutaciones en el receptor asociado a JAK, o mutaciones en otras proteínas relacionadas con la señalización de JAK.

La mutación más común es la mutación JAK2V617F. Sin embargo, otras mutaciones que se producen con cierta frecuencia incluyen mutaciones en el exón 12 de JAK2 y mutaciones en MPL.³ Recientemente también se han identificado mutaciones en la proteína de regulación negativa LNK en pacientes con NMP.³

La desregulación de la señalización de JAK se puede producir de diferentes maneras, incluyendo mutaciones en la proteína JAK, mutaciones en los receptores asociados a JAK, o mutaciones en otras proteínas relacionadas con la señalización de JAK.

	JAK1	JAK1	JAK3	TYK2
JAK1	IL-10		IL-2	
	IL-6		IL-4	
	IL-11	IFN-γ	IL-7	
	OSM	G-CSF	IL-9	IFN-α/β
	LIF		IL-15	
	CNTF		IL-21	
JAK2	IL-22			
		EPO		
		TPO		
		IL-3		
		IL-5		IL-12
		Leptin		IL-23
		GM-CSF		
		Prolactin		
		GH		

Tabla 1. Citoquinas y sus combinaciones de JAK asociadas.²²

8. La mutación JAK2V617F

La mutación más común que aparece en pacientes con NMP es la mutación somática JAK2V617F, en la que un cambio de nucleótidos G>T en posición 1849 del exón 14 da lugar a la sustitución de fenilalanina por valina en el codón 617.^{1,12} Esta mutación se da en aproximadamente el 65% de los pacientes con MF, en el 96% de los pacientes con PV y en el 55% de los pacientes con TE.³ La mutación JAK2V617F se encuentra en el dominio JH2 de JAK2 (Figura 3). Se cree que mutaciones dentro de esta región del dominio pseudoquinasa interfieren con el efecto inhibitor que JH2 ejerce sobre JH1, impidiendo que JAK2 abandone la conformación activa.¹

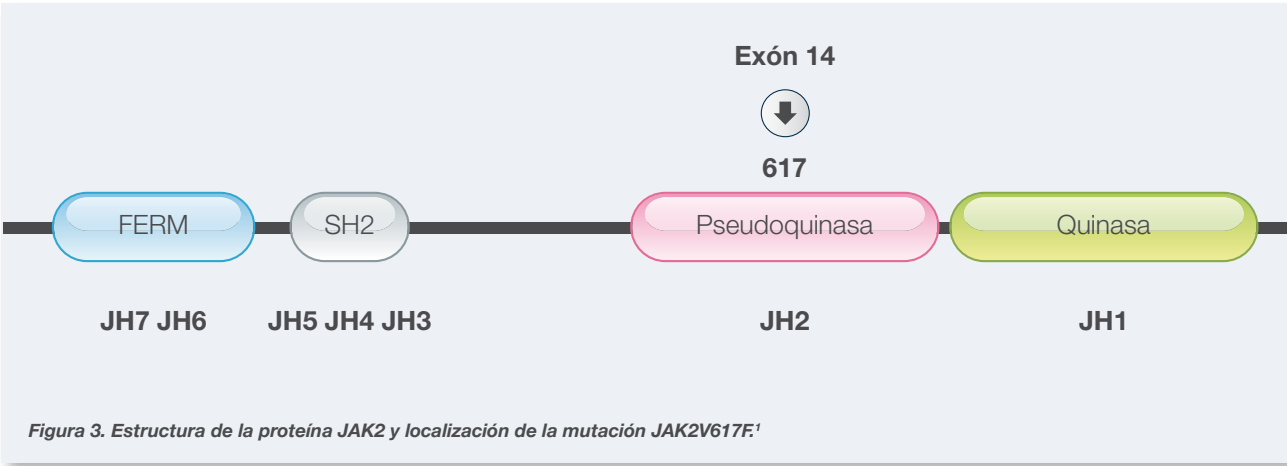


Figura 3. Estructura de la proteína JAK2 y localización de la mutación JAK2V617F.¹

9. Implicaciones clínicas de la señalización desregulada de JAK

Aún están por dilucidar todas las asociaciones de la mutación JAK2V617F con los riesgos clínicos. La estratificación del riesgo en pacientes con MF ha demostrado que la presencia de la mutación JAK2V617F no lleva asociada un incremento de la mortalidad u otros indicadores pronósticos. No obstante, hay estudios que señalan que pacientes con TE y PV positivos para V617F presentan un mayor riesgo de trombosis y episodios trombóticos y tienen un riesgo más elevado de transformación en MF.²⁴

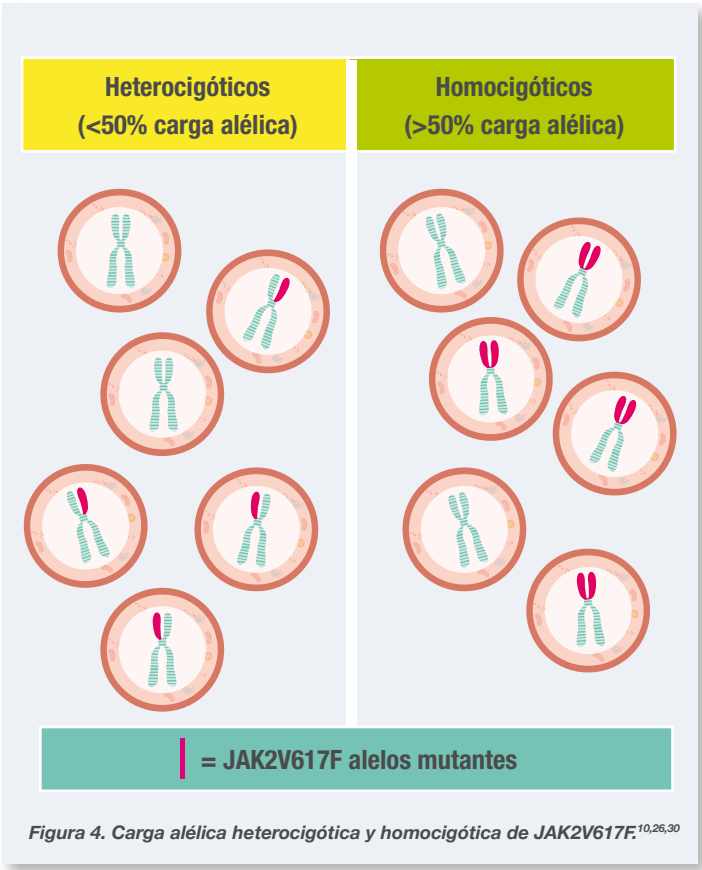


10. Una mutación de múltiples fenotipos

Es interesante que una sola mutación pueda ser responsable de 3 trastornos distintos, aunque similares. El cómo una mutación puede tener 3 fenotipos es un ámbito activo de investigación con varias hipótesis de trabajo.

10.1. Hipótesis de la dosificación génica.....

La mutación JAK2V617F se encuentra en estado homocigótico o heterocigótico en pacientes con NMP.²⁵ Los pacientes homocigóticos para JAK2V617F presentan un nivel de JAK2 mutante superior al 50% de su ADN total de JAK2 (genes mutantes más genes naturales [WT]), mientras aquellos que son heterocigóticos se caracterizan por tener un nivel total de JAK2 mutante inferior a 50% del ADN total de JAK2 (Figura 4).¹⁰ La hipótesis de la dosificación génica sugiere que la diversidad fenotípica está correlacionada con la proporción de alelos mutantes de JAK2V617F y alelos WT. Cuanto mayor sea la proporción de alelos mutantes, mayor será el nivel de actividad quinasa generado por la proteína mutante. Esta hipótesis propone que un bajo nivel de actividad quinasa produce un fenotipo de megacariocitos/TE, mientras que un nivel elevado de actividad quinasa produce un fenotipo eritroide/PV. Niveles sostenidos de actividad quinasa darían lugar a MF.²⁶ Esta hipótesis considera que estas enfermedades son un continuo fenotípico.



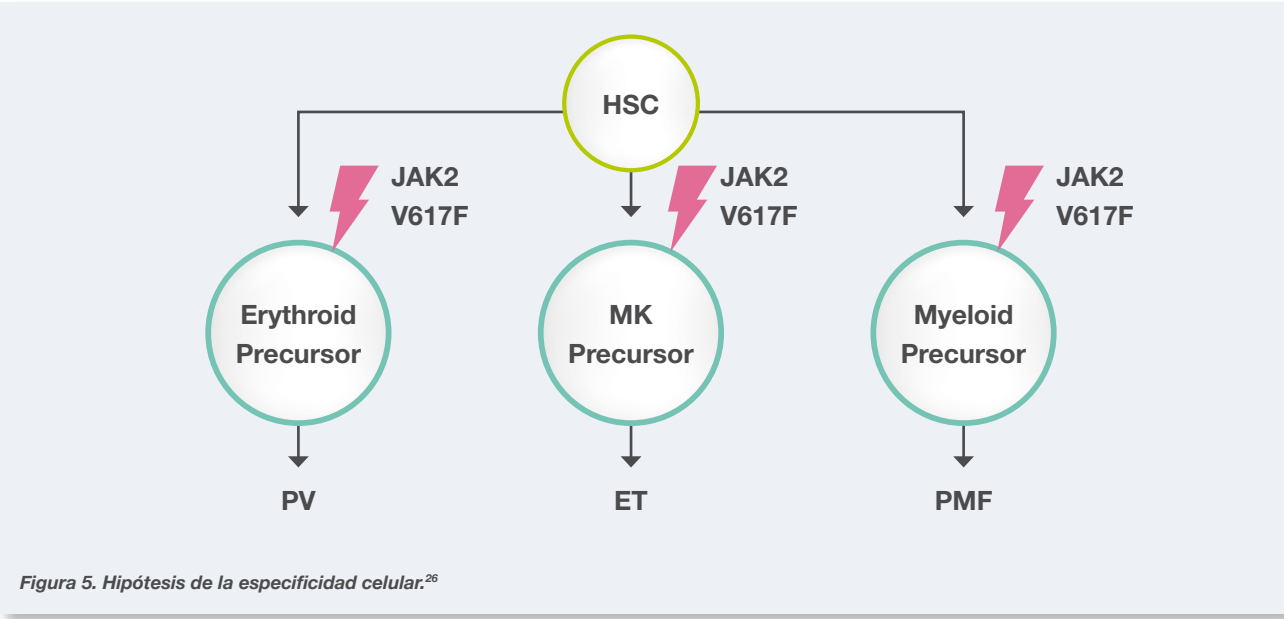
Esta hipótesis está respaldada por varias observaciones:

- 1 La homocigosis es habitual entre pacientes con MF y PV, pero poco frecuente en pacientes con TE.^{10,27}
- 2 Los pacientes con PV que presentan una elevada carga alélica de JAK2V617F tienen unos niveles de hemoglobina más altos y mayores tasas de transformación fibrótica que los pacientes heterocigóticos con PV, y son más propensos a que se produzca la progresión de la enfermedad de PV a MF post-PV.²⁸

- 3 Los modelos animales han demostrado una relación entre la proporción JAK2V617F/JAK2WT y el fenotipo NMP. Los ratones transgénicos que tenían bajos niveles de expresión del gen JAK2V617F presentaban fenotipos correlacionados con los síntomas de TE, y los ratones con altos niveles de expresión de JAK2V617F presentaban fenotipos similares a PV.²⁹

10.2. Hipótesis de la especificidad celular.....

Se ha demostrado que las NMP son enfermedades clonales y por tanto es posible que la mutación JAK2V617F se pueda haber producido en una célula con propensión a diferenciarse en un linaje específico. Es decir, si la mutación se produjo en células progenitoras propensas a convertirse en megacariocitos, el paciente desarrollará TE. Si la mutación JAK2V617F se produjo en una célula madre con capacidad de producir los 3 linajes celulares (granulocitos, eritroides y plaquetas), el paciente desarrollaría MF (Figura 5).²⁶



La hipótesis de la especificidad celular ha sido respaldada por estudios que muestran que los linajes granulocíticos, eritroblásticos, megacariocíticos y linfoides contenían células positivas para JAK2V617F en pacientes con PV y MF.^{26,31,32}

10.3. Hipótesis de los antecedentes genéticos del paciente.....

Una tercera hipótesis es que en todos los pacientes con NMP se produce la misma mutación JAK2V617F. Sin embargo, el fenotipo puede ser diferente dependiendo de los antecedentes genéticos del paciente.

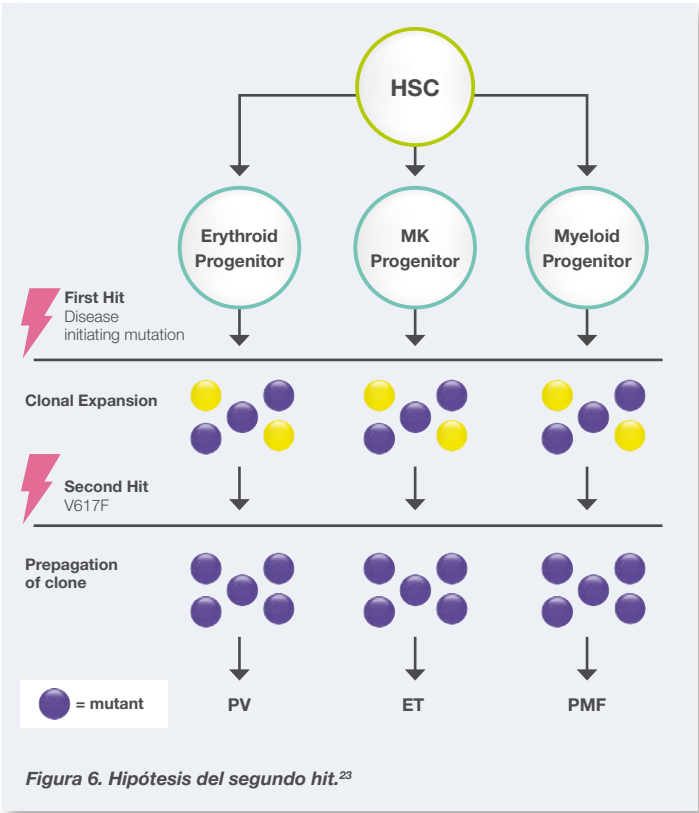
Esta hipótesis ha sido respaldada tanto por modelos animales como por observaciones clínicas:

- 1
- La expresión de JAK2V617F en ratones Balb/c produjo leucocitosis y fibrosis de reticulina de médula ósea. Sin embargo, en un modelo de ratón C57BL/6, la leucocitosis fue más leve y solo se observó fibrosis en el bazo.^{33,34}
- 2
- El genotipado de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en pacientes con NMP reveló que algunos SNP en JAK2 y EpoR estaban asociados preferentemente a algunas enfermedades. Sin embargo, no se ha establecido una correlación definitiva entre el haplotipo y el fenotipo.³⁵

10.4. Hipótesis del segundo hit.....

La hipótesis del segundo *hit* asume que la mutación JAK2V617F no es el único episodio de mutación que aparece en pacientes con NMP, sino que se produce un episodio previo que sería distinto para cada una de las 3 enfermedades (Figura 6).

Las evidencias que respaldan esta hipótesis se basan en estudios de clonalidad. Estos estudios sugieren que una mutación inicial (“primer *hit*”) sería la responsable de la expansión clonal y que la mutación JAK2V617F aparece como “segundo *hit*” en un marco ya clonal.²⁶ Además, los pacientes con NMP positivas para JAK2V617F cuya enfermedad se transforma en LMA con frecuencia presentan LMA negativa para JAK2V617F. Esto sugiere el escenario improbable de un origen *de novo* de la LMA negativa para JAK2V617F, o la presencia de un origen clonal común de la NMP positiva para JAK2V617F y LMA negativa para JAK2V617F.²⁶



10.5. Cómo conciliar estas hipótesis de trabajo.....

A día de hoy, no hay suficientes evidencias para entender completamente cómo una sola mutación puede ser responsable de 3 fenotipos distintos de NMP (MF, PV y TE). Es muy probable que, en última instancia, la responsable en determinar si se desarrolla MF, PV o TE sea una combinación de uno o más de los eventos anteriormente mencionados. La dosis del alelo JAK2V617F contribuye al fenotipo de la enfermedad, pero muy probablemente en combinación con otras variables.¹⁰

Otras mutaciones genéticas en NMP:

- 1
- Mutaciones en el exón 12:**
Se han identificado una serie de mutaciones de JAK2 en el exón 12 en pacientes con PV negativa para JAK2V617F; la más común es la mutación N542-E543del de JAK2 (Figura 7A).^{3,4} Aunque la incidencia global de las mutaciones del exón 12 en pacientes con PV es de aproximadamente el 3%, casi todos los pacientes que son negativos para JAK2V617F presentan una mutación en el exón 12.⁴ Los pacientes con esta mutación normalmente padecen mielopoyesis eritroide, bajos niveles de EPO en suero y son más jóvenes en el momento del diagnóstico.⁴ Los pacientes con una mutación en el exón 12 tienen un fenotipo clínico distinto de los pacientes con mutaciones JAK2V617F. Estos pacientes tienen una señalización a través de JAK2 más independiente de ligando y mayores niveles de fosforilación de JAK2, ERK1 y EKR.⁴ Además, la observación de que la mayoría de los pacientes con TE no presentan mutaciones en el exón 12 está correlacionada con el hallazgo de que un bajo nivel de señalización de JAK2 favorece la trombocitosis, mientras que el incremento de señalización de JAK2 favorece la eritrocitosis.⁴

Las mutaciones en JAK2 son tan comunes entre pacientes con NMP que se han incorporado a los criterios diagnósticos de estos trastornos. La presencia de una mutación JAK2V617F u otras mutaciones funcionalmente similares, tales como el exón 12 de JAK2, es uno de los principales criterios diagnósticos para PV. También se han incorporado mutaciones JAK2V617F u otros marcadores clonales a los criterios diagnósticos de TE y MF.²⁴

- 2
- Señalización proinflamatoria mediante JAK1:**
Se ha demostrado que los pacientes con MF tienen niveles elevados de citoquinas proinflamatorias en circulación, incluyendo IL-6, TNF- α , IL-2, IL-15 e IFN- α .^{2,9,23} Es probable que el aumento sostenido de señales proinflamatorias sea responsable del estado hipercatabólico y los síntomas generales que experimentan los pacientes con NMP.²

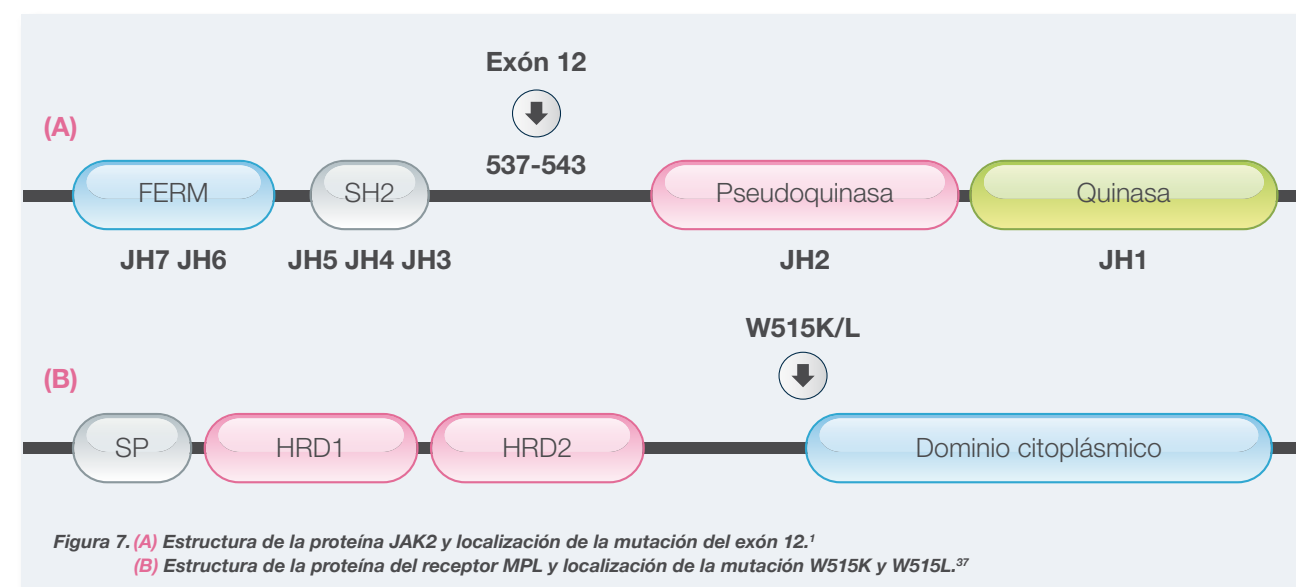
Muchas de estas citoquinas utilizan las moléculas JAK1, y en menor grado las moléculas JAK2, para propagar sus señales proinflamatorias (Tabla 1).²² Además, se ha encontrado JAK1 activa de forma constitutiva en la sangre periférica de pacientes con MF, lo que indica que las vías JAK1 se activan de forma anómala en pacientes con NMP.²

Los niveles de citoquinas proinflamatorias están incrementados en pacientes con NMP y probablemente son responsables de los síntomas generales que experimentan estos pacientes. Muchas de estas citoquinas utilizan JAK1 para propagar señales proinflamatorias.



11. Mutaciones en MPL

El receptor MPL es responsable de la transmisión de señales que regulan la proliferación y diferenciación de megacariocitos y plaquetas después de la estimulación de TPO. Se han identificado mutaciones en el gen de MPL en pacientes con NMP. La primera mutación identificada en MPL fue la mutación W515L en pacientes con MF negativa para JAK2V617F (*Figura 7B*). Desde este descubrimiento inicial, se ha descrito la mutación MPLW515K y otras mutaciones de MPL en el exón 10 en aproximadamente el 3% de los pacientes con TE y el 10% de los pacientes con MF. Entre los pacientes con TE, las mutaciones en MPL se han asociado a edad avanzada, niveles más bajos de hemoglobina, aumento del recuento de plaquetas, síntomas microvasculares y mayor riesgo de trombosis arterial.³⁶ En pacientes con MF, esta mutación se ha asociado al sexo femenino, edad avanzada, niveles más bajos de hemoglobina y mayor probabilidad de acabar dependiendo de transfusión.³⁶



12. Mutaciones en LNK

LNK (SH2B3) es una proteína adaptadora acoplada a la membrana plasmática que inhibe la señalización de JAK2.^{3,8} LNK ejerce su efecto regulador negativo sobre JAK2 mediante la unión al receptor de MPL y, por estimulación en presencia de TPO, LNK se une fuertemente a JAK2, impidiendo la activación descendente de STAT.⁸ LNK tiene la capacidad de inhibir la actividad de JAK2 tanto en la variante génica normal como en la mutante.³ Se han utilizado modelos de ratón con el gen de LNK inactivado para confirmar la importancia de esta mutación. Estos ratones muestran características de NMP, incluyendo esplenomegalia, hiperplasia de megacariocitos, leucocitosis y trombocitosis.⁸ Se han identificado mutaciones en esta proteína reguladora en pacientes con NMP negativas para JAK2V617F y negativas para MPLW515L; estos pacientes presentaban un incremento en la señalización de STAT.⁸



13. Conclusiones

- 1 La desregulación de la cascada de señalización de JAK/STAT es habitual entre pacientes con NMP. La desregulación se puede producir por varios mecanismos diferentes que dan lugar a la señalización aberrante de JAK, y que incluye una serie de mutaciones en la proteína JAK (mutación V617F o en el exón 12), en los receptores asociados a JAK (mutaciones en MPL) u otras proteínas asociadas a la señalización de JAK (LNK).
- 2 Los pacientes con NMP experimentan síntomas generales graves que probablemente son debidos al aumento de la señalización proinflamatoria. Se ha demostrado que estos pacientes presentan niveles incrementados de citoquinas proinflamatorias en circulación, que están señalizadas a través de JAK1. Se ha encontrado JAK1 activa de forma constitutiva en la sangre periférica de pacientes con MF.



14. Referencias

1. Smith CA, Fan G. Hum Pathol 2008;39:795-810.

2. Quintás-Cardama A, Vaddi K, Liu P, *et al.* Blood 2010;115:3109-17.

3. Tefferi A, Vainchenker W. J Clin Oncol 2011;29:573-82.

4. Scott LM, Tong W, Levine RL, *et al.* N Engl J Med 2007;356:459-68.

5. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, *et al.* Blood 2008;112:844-7.

6. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, *et al.* Blood 2008;112:141-9.

7. Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bergamaschi G, *et al.* Br J Haematol 2007;137:244-7.

8. Oh ST, Simonds EF, Jones C, *et al.* Blood 2010;116:988-92.

9. Panteli KE, Hatzimichael EC, Bouranta PK, *et al.* Br J Haematol 2005;130:709-15.

10. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, *et al.* Leukemia 2008;22:1299-1307.

11. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, *et al.* Blood 2009;114:937-51.

12. Tefferi A, Skoda R, Vardiman JW. Nat Rev Clin Oncol 2009;6:627-37.

13. Abdel-Wahab OI, Levine RL. Annu Rev Med 2009;60:233-45.

14. Mesa RA, Niblack J, Wadleigh M, *et al.* Cancer 2007;109:68-76.

15. Mesa RA. Blood. 2009;113:5394-400.

16. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, *et al.* Blood 2009;113:2895-901.

17. Schafer AI. Blood 2006;107:22.

18. Tefferi A. Am J Hematol 2008;83:491-7.

19. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Immunol Rev 2009;273-87.

20. Vainchenker W, Dusa A, Constantinescu SN. Semin Cell Dev Biol 2008;19:385-93.

21. Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, *et al.* Nat Rev Cancer 2007;7:673-83.

22. Murray PJ. J Immunol 2007;178:2623-9.

23. Tefferi A, Vaidya R, Caramazza D, *et al.* J Clin Oncol 2011;29:1356-63.

24. Barbui T, Barosi G, Birgegård G, *et al.* J Clin Oncol 2011;29:761-70.

25. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, *et al.* N Engl J Med 2005;352:1779-90.

26. James C. Hematology 2008;69-75.

27. Scott LM, Scott MA, Campell PJ, *et al.* Blood 2006;108:2435-7.

28. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, *et al.* Cancer 2006;106:631-5.

29. Tiedt R, Hao-Shen H, Sobas MA, *et al.* Blood 2008;111:3931-40.

30. Passamonti F, Rumi E. Haematologica 2009;94:7-10.

31. Delhommeau F, Dupont S, Tonetti C, *et al.* Blood 2007;109:71-7.

32. Ishii T, Bruno E, Hoffman R, *et al.* Blood 2006;108:3128-34.

33. Wernig G, Mercher T, Okabe R, *et al.* Blood 2006;107:4274-81.

34. Zaleskas VM, Krause DS, Lazarides K, *et al.* PLoS One. 2006 Dec 20;1:e18.

35. Pardanani A, Fridley BL, Lasho TL, *et al.* Blood 2008;111:2785-9.

36. Patnaik MM, Lasho TL, Finke CM, *et al.* Leukemia 2010;24:1283-9.

37. Vannucchi AM, Guglielmelli P, Tefferi A. Ca Cancer J Clin 2009;59:171-91.

18

19

