

Ruxolitinib

Raquel María Bengió

raquelbengio@hotmail.com



**NUEVAS
DROGAS**

*Fecha de recepción: 08/03/2013
Fecha de aprobación: 15/03/2013*

HEMATOLOGIA, Vol. 17 N° 1: 60-66
Enero-Abril, 2013

INTRODUCCIÓN

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMP) son un grupo de trastornos clonales de las células progenitoras hematopoyéticas multipotentes. Incluyen la policitemia vera (PV), la trombocitemia esencial (TE) y la mielofibrosis primaria (MFP). La PV y TE pueden progresar a mielofibrosis (MF), cuadros conocidos como mielofibrosis post PV ó mielofibrosis post TE, que son clínicamente indistinguibles de MF primaria. Esta nomenclatura surge del consenso del IWG-MR (International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment) Se estima que 3% de TE y 10-15% de los casos MFP pueden transformarse en leucemia mieloide aguda (LMA) [Vannucchi et al. 2009]. Clínicamente, de modo general, estas entidades se presentan con recuentos de células sanguíneas anormales que varían según el subtipo de patología (eritrocitosis predominante en PV, trombocitosis en TE, mientras que los recuentos pueden ser variablemente anormales en MF), la esplenomegalia, hepatomegalia, focos de hematopoyesis extramedular, síntomas constitucionales debilitantes y una propensión a desarrollar trombosis y complicaciones hemorrágicas, se suman al cuadro clínico de modo variable.

Esa población celular anormal libera diversas citocinas y factores de crecimiento (PDGF, TGF γ , bFGF y calmodulina) que inducen diversos cambios en la arquitectura medular y son responsables de muchas de las manifestaciones sistémicas de la enfermedad.

IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES PARA NMP

Un gran avance en la comprensión de la patogénesis molecular de NMP se produjo en 2005, cuando la mutación JAK2 V617F fue descrita en prácticamente todos los pacientes con PV y alrededor del 60% de la ET o PMF [Baxter et al. 2005; James et al. 2005; Kralovics et al. 2005; Levine et al. 2005]. Posteriormente, varias mutaciones se han descrito en otros genes que pueden operacionalmente agruparse en tres dominios principales: mutaciones asociadas con la quinasa Janus transductor de señales y activador de la transcripción (JAK /STAT), mutaciones que afectan a genes implicados en la regulación epigenética y mutaciones preferentemente, aunque no exclusivamente, en asociación con la progresión de la enfermedad o transformación a leucemia. Los ejemplos son, respectivamente, las mutaciones en el exón 10, MPL o receptor de trombopoyetina, que se encuentran en torno al 5-10% de los pacientes con TE o PMF [Pikman et al. 2006; Guglielmelli et al. 2007; Vannucchi et al. 2008; Pardanani et al. 2011]; mutaciones JAK2 en exón 12 en alrededor de 2-3% que son los casos V617F-negativos pero con alta sospecha de PV [Scott et al. 2007; Passamonti et al. 2011], CBL [Grand et al. 2009] y LNK [Oh et al. 2010], las mutaciones en TET2, EZH2, ASXL1, y otras muy poco frecuentes en la actualidad.

Las mutaciones en IDH1/IDH2, Ikaros, p53, LNK y DNMT3A se han descrito preferentemente en casos de evolución a LMA [Green y Beer, 2010; Jager et al. 2010; Pardanani et al. 2010; Abdel-Wahab et al.2011; Ha y Jeon, 2011; Harutyunyan et al. 2011]. La

complejidad molecular vinculable a la fisiopatogenia de las NMPs no está totalmente esclarecida, si bien mucho se ha avanzado en este aspecto. La prosecución de las investigaciones en el tema es incesante y la actualización de este aspecto resulta crucial en la búsqueda de terapias dirigidas para estas patologías que aun no pueden ser curadas farmacológicamente.

La mutación JAK2 V617F es altamente prevalente en las NMP y después de la descripción publicada en 2005, prosiguió la investigación y desarrollo de inhibidores de JAK2. Ruxolitinib rápidamente se incorporaría en estudios de investigación al escenario terapéutico de estos procesos. En modelos de NMP, y sobre células Ba/F3 que sobreexpresan JAK2V617F expuestas a ruxolitinib (inhibidor JAK1 y JAK2), se observó una reducción de la fosforilación de JAK2, STAT5, y ERK1/2, y consecuentemente un deterioro de la proliferación celular y la inducción de la apoptosis [Quintas Cardama et al. 2010]. Desde el reporte de los primeros resultados favorables en estudios clínicos, el uso de ruxolitinib se incorporó como un nuevo recurso terapéutico que se sumaría a las nuevas opciones de tratamiento en mielofibrosis.

MIELOFIBROSIS

De todas las NMPs, la MFP tiene un curso más grave con una supervivencia media de unos 6 años, aunque algunos pacientes sobreviven más de 10 años. Las causas de muerte entre los 1054 pacientes con MFP reportados por el Grupo de Trabajo Internacional para la Investigación y Tratamiento de la mielofibrosis (GTI-MRT) fueron la leucemia en el 31%, fase

‘avanzada o gastada’ sin transformación leucémica en un 19%, trombosis en el 14%, sangrado en el 5%, infecciones en un 10%, hipertensión portal en el 4%, segunda neoplasia en el 4%, y otras causas en el 10% [Cervantes et al. 2009].

Las más frecuentes manifestaciones de MFP fueron mencionadas precedentemente pero se destacan: por sus implicancias clínicas la esplenomegalia, las citopenias y un espectro de síntomas debilitantes constitucionales, incluida la caquexia severa, que comprometen severamente la calidad de vida en la gran mayoría de los pacientes. Los hallazgos de laboratorio incluyen anemia, trombocitopenia o trombocitosis, leucopenia o leucocitosis y una médula ósea con hiperplasia prominente y característica de megacariocitos displásicos; aumento de la fibrosis de reticulina y colágeno, así como osteosclerosis en la fase más avanzada, prácticamente terminal.

Estos cambios en la arquitectura de la médula son reactivos y mediados en gran parte por una serie de citocinas liberadas localmente y factores de crecimiento, pero que de forma lenta son potencialmente reversibles después de un exitoso trasplante de células madre (TSC) hasta ahora el recurso único, potencialmente curativo de la MF

Criterios diagnósticos según OMS 2008 para MFP se resumen en la Tabla 1.

ENFOQUE TERAPEUTICO ANTES DE RUXOLITINIB

Las decisiones terapéuticas en la MFP son a menudo un dilema, sea para decidir la propuesta a participar en ensayos clínicos o realizar el trasplante

TABLA 1

Criterios mayores	Criterios menores
1) Proliferación y megacariocitos atípicos + fibrosis colágena o reticulínica [Ante la ausencia de fibrosis reticulínica: cambios megacariocíticos + aumento de celularidad, proliferación granulocítica y/o eritropoyesis disminuida]	1) LDH aumentada
2) No reunir criterios de OMS para LMC Ph+, PV, TE, SMD u otras neoplasias mieloides	2) Anemia
3) Presencia de JAK2 V617F u otro marcador clonal (por ej, MPL W515 L/K) o ausencia de fibrosis reactiva en médula ósea	3) Esplenomegalia palpable 4) Leucoeritroblastosis

El diagnóstico de mielofibrosis debe incluir: 3/3 criterios mayores y 2/4 criterios menores.

alogénico de "stem cell" que debe ser precoz. Resulta primordial una estratificación precisa del riesgo de los pacientes en términos de sobrevida global y sobrevida libre de progresión.

La sobrevida desde el momento del diagnóstico, se evalúa mejor por el International Prognostic Score System (IPSS) desarrollado por el International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MPN RT) mientras que un IPSS dinámico = DIPSS (Dynamic International Prognostic Score System) es el modelo utilizado para estimar la sobrevida en cualquier momento del curso de la enfermedad.

Ambos IPSS y DIPSS utilizan cinco factores de riesgo para la sobrevida que son: edad >65 años, hemoglobina <10 g/dL, leucocitos >25x10⁹/L, blastos circulantes ≥ 1%, y los síntomas constitucionales; con el fin de clasificar a los pacientes en cuatro grupos de riesgo: bajo, intermedio-1, intermedio-2 y alto riesgo. Más recientemente, han sido descritos factores pronóstico para la sobrevida en MF independientes de IPSS que incluyen: la necesidad de transfusiones de glóbulos rojos, el cariotipo desfavorable, y la trombocitopenia.

Gangat et al. (*J Clin Oncol*. 2011; 29:392-397) publica los resultados del IWG-MPN RT y destaca el DIPSS como importante herramienta, para evaluar el pronóstico de los pacientes con mielofibrosis. El total de los factores pronósticos para la categorización incluye:

- Blastos en sangre ≥ 1%
- Anemia (Hb < 10g/dL)
- Síntomas constitucionales
- Edad >65 años
- Necesidad de transfusiones
- Leucocitosis > 25x10⁹/L
- Cariotipo desfavorable
- Trombocitopenia

En base a estos parámetros se puede categorizar a los pacientes en:

Otra ventaja de DIPSS es que se puede aplicar tanto al diagnóstico como en cualquier etapa de la

Grupo de riesgo	Número de factores	Mediana de sobrevida, años
Alto	> 4	1,8
Intermedio-2	3 - 4	3,6
Intermedio-1	1 - 2	7,8
Bajo	0	17,5

evolución de la enfermedad, permitiendo predecir evolución a fases mas avanzadas y de este modo rectificar la estrategia terapéutica.

OPCIONES TERAPÉUTICAS SEGÚN RIESGO

Los objetivos actuales del tratamiento farmacológico en pacientes con mielofibrosis en la práctica clínica incluyen la reducción de esplenomegalia, y la mejoría de los síntomas y los recuentos sanguíneos. Mejor calidad de vida.

Los tratamientos de elección según el riesgo se pueden resumir como se describe en Tablas 2 y 3 [Mesa 2009a]

Los resultados de los tratamientos farmacológicos convencionales se usan para el control sintomático de la MF, el resto se evaluará en capítulos sucesivos.

ANTECEDENTES DE ESTUDIOS PRECLINICOS Y CLINICOS CON RUXOLITINIB

Modelos in vitro e in vivo basados en células que exhiben la mutación V617F y en ratones trasplantados con estas células, fueron el racional para demostrar la actividad de ruxolitinib [Tiedt et al. 2008, Wernig et al. 2006]. Los modelos preclínicos demostraron efectos reproducibles respecto a la reducción de esplenomegalia y de los síntomas constitucionales entre otros, atribuidos al descenso de citoquinas proinflamatorias circulantes que aparecían como consecuencia de la activación de las vías de señalización JAK-STAT. La desactivación de dicha vía, inducida por Ruxolitinib y los inhibidores de JAK2, explicarían el beneficio terapéutico. Tam-

TABLA 2

Riesgo Bajo/Intermedio-1:

- Terapias convencionales
- Trials clínicos
- Trasplante de CPH

TABLA 3

Riesgo Intermedio-2/Alto:

- Corticoesteroides
- Hidroxiurea
- Eritropoyetina
- Radioterapia
- Trials clínicos
- Trials clínicos
- IMiDs*
- Terapia target (por ej, antiJAK, antimTOR)
- Reguladores epigenéticos (por ej, HIDACs)
- Trasplante de CPH

*Inmunomoduladores: Talidomida, Lenalidomida.

bién se constató mejoría variable pero no significativa del componente mieloproliferativo en estos procesos, pero al mismo tiempo se estableció la ausencia de potencial para erradicar la enfermedad.

Un estudio fase I de dosis escalada (estudio 251) con ruxolitinib comenzó muy poco después de la descripción inicial de la mutación JAK2 V617F [James et al. 2005].

En MF los resultados de este estudio fueron favorables y sin precedentes [Vannucchi, 2010]. Los beneficios clínicos se pueden concentrar en dos áreas principales de discusión: reducción de la esplenomegalia y mejoría de los síntomas constitucionales. Se demostró que una mediana de reducción del volumen del bazo por IRM fue del 33% y por palpación fue del 52%.

La reducción de esplenomegalia fue significativa, pero los resultados posiblemente aún más sorprendentes del estudio 251 fueron los beneficios clínicos para los pacientes: los síntomas constitucionales y sus consecuencias se controlaron muy eficientemente. Así la evaluación de calidad de vida de pacientes con MF fue realizada según el Formulario de Evaluación de Síntomas MF (MF-SAF) [Mesa et al. 2009b], y a lo largo del ensayo clínico se demostró una mejoría significativa en los síntomas asociados a MF. Es interesante, pero probablemente no es sorprendente que en el estudio 251, los resultados respecto al status mutacional de JAK2 de los pacientes fueron equivalentes, independientemente de la mutación V617F positiva o negativa y también respecto al subtipo de MF (MF primaria ó post-PV ó MF post-TE).

Se reportó una disminución modesta de la carga alélica mutante JAK2 a pesar del notable beneficio clínico tan significativo, lo que sugiere que el modo de acción podría ser a través de la inhibición de la señalización de JAK1 y posterior reducción de las citoquinas proinflamatorias, o también como consecuencia de la señalización aberrante JAK2 o que otras vías de señalización activadas sean el evento primario en el desencadenamiento de la enfermedad. De hecho los datos reportados de la reducción de carga alélica con ruxolitinib, y otros inhibidores de JAK marca un contraste significativo con el efecto que inducen los agentes inhibidores de TK en LMC. Imatinib y otros inhibidores producen una reducción logarítmica del BCR-ABL que incluye la remisión molecular.

La toxicidad y la seguridad de la fase I/II se analizan conjuntamente, en la evaluación de los estudios fase III.

Estudios Fase III con Ruxolitinib: COMFORT I y II

La efectividad de Ruxolitinib como agente simple ha sido evaluada en varios estudios entre los que se

pueden mencionar: los **COMFORT trials** (Controlled Myelofibrosis Study with Oral JAK Inhibitor treatment), el programa **CUP** (Compassionate Use Program), el estudio **JUMP** (Jak inhibitor Ruxolitinib in Myelofibrosis Patients) y el trial **UK EAP SISTER**.

El COMFORT I, es un estudio controlado, randomizado, doble ciego, que evalúa eficacia y seguridad de Ruxolitinib contra la droga placebo en MF primaria ó post-PV ó post-TE. Reunió un total de 309 pacientes de USA, Canadá y Australia. La dosis inicial de Ruxolitinib dependió del recuento basal de plaquetas: 15 mg cada 12 hs en pacientes con valores entre 100-200 $\times 10^9/L$ y 20 mg cada 12 hs en pacientes con valores superiores a 200 $\times 10^9/L$. Se individualizaron las dosis según seguridad y eficacia en el curso del protocolo.

Los resultados que arrojó este estudio demostraron que Ruxolitinib produjo para la semana 24 de iniciado el tratamiento una disminución de aproximadamente el 33% del tamaño del bazo en el 42% de los pacientes, reducción superior al 50% del total de los síntomas constitucionales en el 46,1% de los pacientes y mejoría en la calidad de vida evaluada por escalas controladas (EORTC QLQ C30 Scores en MF); significativamente superiores en comparación con la droga placebo [Verstovsek et al 2012a].

Los efectos adversos que se presentaron durante el período de evaluación fueron equimosis, cefaleas, mareos, los cuales disminuyeron con la reducción progresiva de la dosis.

De acuerdo al reciente reporte en ASH 2012 de Verstovsek et al. la sobrevida global comparando Ruxolitinib vs. Placebo mostró un Hazard Ratio= 0.58 con una $p= 0.028$, con CI 95% es decir, estadísticamente significativa a favor del brazo de tratamiento con Ruxolitinib vs placebo. La mediana de seguimiento fue de 102 semanas (25 meses).

El COMFORT II, es un estudio abierto, randomizado, que compara la eficacia de Ruxolitinib vs. la mejor terapia disponible. Enroló un total de 219 pacientes de diversos países de Europa entre los que se destacan España, Francia, Italia, Alemania, Bélgica, Holanda, Suecia y el Reino Unido.

Los resultados que arrojó el estudio demostraron una rápida reducción de la esplenomegalia (a la semana 24 y 48) en el brazo de Ruxolitinib sobre la mejor terapia disponible. A su vez también hubo una reducción de las citoquinas circulantes y un mejoramiento de los síntomas y calidad de vida de los pacientes. [Harrison 2011]

Los eventos adversos no hematológicos ocurrieron en <10% de los pacientes y estos fueron categorizados como leves o moderados según la severidad: equimo-

sis, cefaleas, mareos .Los eventos adversos hematológicos incluyeron la anemia y la trombocitopenia grado 3 y 4, reversible con modificación de dosis o suspensiones temporarias. En un número reducido se requirió la discontinuación del tratamiento

Los estudios COMFORT mostraron un avance significativo en el manejo de la MF, con un profundo impacto en la modificación del tamaño del bazo y las complicaciones derivadas de la misma, así como la remisión de los síntomas constitucionales que impactan de forma contundente en la calidad de vida.

Se han reportado sucesivamente estudios experimentales con otros inhibidores de JAK2 con similares mecanismos de acción: TG101348 [Wernig et al. 2008], CYT387 [Pardanani et al. 2009; Tyner et al. 2010], LY2784544 [Florensa et al. 2010; Ma et al. 2010], y Leustartinib (CEP701) [Hexner et al. 2008] Entre los inhibidores anteriormente mencionados se destaca que el principal efecto beneficioso se traduce en el mejoramiento de la esplenomegalia y los síntomas constitucionales y ocasionalmente en la mejoría de la anemia. En algunos, la eficacia terapéutica aún no se encuentra reportada

Al presente, se mencionan en recientes publicaciones, una serie de inhibidores de JAK2: SAR 302503, Pacritinib, CYT 387, LY 2784544, NS 018, BMS 911543, CEP 701, entre otros. Están siendo evaluados en trials clínicos como agentes experimentales. El único aprobado para uso en la práctica clínica hasta el momento es Ruxolitinib INC 424 (Jakavi®): en USA fue en Noviembre del 2011, por la FDA para pacientes con MFP, MF post-PV y MF post-TE, con riesgo intermedio y alto; mientras que en Europa, la EMEA lo hizo en Abril del 2012. Se aguarda la aprobación en Argentina en futuro próximo.

Extendiendo la experiencia a casos específicos o puntuales de MF: se encuentran en curso dos ensayos clínicos con Ruxolitinib en mielofibrosis con plaquetas entre $50 \times 10^9/L$ y $99 \times 10^9/L$; pero se requiere un mayor seguimiento para extraer conclusiones definitivas.

La terapia con Ruxolitinib marca una etapa trascendente que se asocia al descubrimiento y desarrollo de productos innovadores, hecho fundamental en el avance científico del manejo de NMP y que posicionan al tratamiento como una alternativa para pacientes no candidatos al trasplante. Si bien produce una rápida respuesta y marcados beneficios clínicos en cuanto a la reducción de la esplenomegalia y mejoría de los síntomas constitucionales, raramente mejora la anemia, revierte la fibrosis medular, o restituye la hematopoyesis adecuadamente. Por otro lado hay casos que muestran efectos adversos o falta de respuesta al mismo. Para estas situaciones se encuentran en curso

TABLA 4

Pacientes intolerantes o que progresan con Ruxolitinib:
<ul style="list-style-type: none"> • Ruxolitinib + SAR302503 = estudio JAKARTA2

TABLA 5

Pacientes cuyo objetivo es reducir la anemia o plaquetopenia:
<ul style="list-style-type: none"> • Ruxolitinib + EPO • Ruxolitinib + Pomalidomida (en curso)

TABLA 6

Para profundizar los beneficios del Ruxolitinib:
<ul style="list-style-type: none"> • Ruxolitinib + TAMO = (beneficios con inducción pre trasplante con ruxolitinib) : pendiente • Ruxolitinib + pegIFN (en curso) • Ruxolitinib + Panobinostat (en curso)

diversos estudios clínicos que asocian Ruxolitinib con otras opciones terapéuticas especialmente para la mielofibrosis y aun no demostradas por grandes series, en PV ó TE.

En las Tablas 4, 5, y 6 se describen algunos ejemplos de tratamientos que en la actualidad se proponen como terapia combinada con Ruxolitinib.

FUTUROS DESAFÍOS

Se esperan resultados concluyentes de estudios en curso que abordan extensión casuística y nuevos aspectos del tratamiento con Ruxolitinib en NMP, y también de estudios que evalúan nuevos compuestos. Mencionaré a continuación algunos ejemplos de estos nuevos desafíos.

El uso de Ruxolitinib en PV y TE resistente mostró beneficios clínicos durables en la PV avanzada con resolución de la esplenomegalia, independencia de flebotomías, mejoría de los parámetros hematológicos y de los síntomas, con baja tasa de toxicidad.

Se evalúa el rol de Ruxolitinib en la transformación de NMP en leucemia aguda.

En TE y PV refractarias a otros tratamientos mencionados, se encuentran en curso ensayos clínicos que evalúan inhibidores y combinaciones. Cabe mencionar el estudio llamado RESPONSE (Randomized Study of Efficacy and Safety in Polycythemia Vera with JAK inhibitor INCB018424 versus la mejor terapia disponible. En TE resistente se redujo la tasa de mortalidad por complicaciones trombóticas. El por-

centaje de respuesta global fue del 90% de los cuales la respuesta completa fue en el 26% y las respuestas parciales en el 64%.^[Verstovsek 2011]

Se describen recientemente estudios preliminares con varios compuestos con diferentes mecanismos de acción en fases preclínicas y clínicas en mielofibrosis: Inhibidores de la proteína de choque de calor y los inhibidores de histonas desacetilasa que inducen la degradación de JAK2 y la regulación negativa de la señalización oncogénica intracelular, que puede superar la resistencia a los inhibidores de JAK2. La reversión de la fibrosis de médula ósea sigue siendo un reto terapéutico en esta enfermedad, y anticuerpos monoclonales dirigidos al factor de crecimiento transformante- β y otros inmunomodulares como los IMiDs pueden resultar eficaces en asociación o como monoterapia.

REFERENCIAS

1. Abdel-Wahab O, Pardanani A, Rampal R, Lasho T, Levine R and Tefferi, A. (2011) DNMT3A mutational analysis in primary myelofibrosis, chronic myelomonocytic leukemia and advanced phases of myeloproliferative neoplasms. **Leukemia** 25: 1219-1220.
2. Baxter E, Scott L, Campbell P, East C, Fourouclas N, Swanton S. et al. (2005) Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. **Lancet** 365: 1054-1061.
3. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly J, Morra E. et al. (2009) New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the international Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. **Blood** 113: 2895-2901.
4. Florensa L, Bellosillo B, Arenillas L, Ma L, Walgren R, Alvarez A. et al. (2010) LY2784544, a novel JAK2 inhibitor, decreases in vitro growth of hematopoietic human progenitors from JAK2 V617F positive polycythemia vera patients. **ASH Annual Meeting Abstracts** 116: 5054.
5. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, George G, Begna K, Schwager S. et al. (2011) DIPSS plus: a refined dynamic international prognostic scoring system for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. **J Clin Oncol** 29: 392-397.
6. Grand F.H, Hidalgo-Curtis C.E, Ernst T, Zoi K, Zoi C, McGuire C. et al. (2009) Frequent CBL mutations associated with 11q acquired uniparental disomy in myeloproliferative neoplasms. **Blood** 113 (24): 6182-6192.
7. Green A, Beer P. (2010) Somatic mutations of IDH1 and IDH2 in the leukemic transformation of myeloproliferative neoplasms. **N Engl J Med** 362: 369-370.
8. Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bergamaschi G, Rosti V, Villani L, Antonioli E. et al. (2007) Anaemia characterises patients with myelofibrosis harbouring MPL mutation. **Br J Haematol** 137: 244-247.
9. Ha J, Jeon D. (2011) Possible new LNK mutations in myeloproliferative neoplasms. **Am J Hematol** 86: 866-868.
10. Harrison CD, et al. 47th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology; 2011. Chicago, IL. Abstract LBA6501
11. Harrison C, Kiladjian J, Gisslinger H, Niederwieser D, Passamonti F, Waltzman R. et al. (2011) Ruxolitinib provides reductions in splenomegaly across subgroups: an analysis of spleen response in the COMFORT-II study. **Blood** 118: abstract 279.
12. Harutyunyan A, Klampfl T, Cazzola M, Kralovics R. (2011) P53 Lesions in leukemic transformation. **N Engl J Med** 364: 488-490.
13. Hexner E, Serdikoff C, Jan M, Swider C, Robinson C, Yang, S. et al. (2008) Lestaurtinib (CEP701) is a JAK2 inhibitor that suppresses JAK2/STAT5 signaling and the proliferation of primary erythroid cells from patients with myeloproliferative disorders. **Blood** 111: 5663-5671.
14. Jager R, Gisslinger H, Passamonti F, Rumi E, Berg T, Gisslinger B. et al. (2010) Deletions of the transcription factor ikaros in myeloproliferative neoplasms. **Leukemia** 24: 1290-1298.
15. James C, Ugo V, Le Couedic J, Staerk J, Delhommeau F, Lacout, C. et al. (2005) A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signaling causes polycythemia vera. **Nature** 434: 1144-1148.
16. Kralovics R, Passamonti F, Buser A, Teo S, Tiedt R, Passweg J. et al. (2005) A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. **N Engl J Med** 352: 1779-1790.
17. Levine R, Wadleigh M, Cools J, Ebert B, Wernig G, Huntly B. et al. (2005) Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. **Cancer Cell** 7: 387-397.
18. Ma L, Zhao B, Walgren R, Clayton J, Blosser W, Burkholder, T. et al. (2010) Efficacy of LY2784544, a small molecule inhibitor selective for mutant JAK2 kinase, in JAK2 V617F-induced hematologic malignancy models. **ASH Annual Meeting Abstracts** 116: 4087.
19. Mesa R, Schwager S, Radia D, Cheville A, Hussein K, Niblack J. et al. (2009b) The Myelofibrosis Symptom Assessment Form (MFSAF): an evidence-based brief inventory to measure quality of life and symptomatic response to treatment in myelofibrosis. **Leukemia Res** 33: 1199-1203.
20. Mesa R. (2009a) How I treat symptomatic splenomegaly in patients with myelofibrosis. **Blood** 113: 5394-5400
21. Oh ST, Simonds EF, Jones C, Hale MB, Goltsev Y, Gibbs KD. Jr. et al. (2010) Novel mutations in the inhibitory adaptor protein LNK drive JAK-STAT signaling in patients with myeloproliferative neoplasms. **Blood** 116(6): 988-992.
22. Pardanani A, Gotlib J, Jamieson C, Cortes J, Talpaz M, Stone R. et al. (2009a) A phase I study of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in myelofibrosis: clinical response is accompanied by significant reduction in JAK2V617F allele burden. **Blood** 114: abstract 755.
23. Pardanani A, Guglielmelli P, Lasho T, Pancrazzi A, Finke C., Vannucchi A. et al. (2011c) Primary myelofibrosis with or without mutant MPL: comparison of survival and clinical features involving 603 patients. **Leukemia** 25: 1834-1839.
24. Pardanani A, Lasho T, Finke C, Oh S, Gotlib J, Tefferi A. (2010) LNK mutation studies in blastphase myeloproliferative neoplasms, and in chronicphase disease with TET2, IDH, JAK2 or MPL mutations. **Leukemia** 24: 1713-1718.
25. Passamonti F, Elena C, Schnittger S, Skoda R, Green A, Girardon F. et al. (2011) Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. **Blood** 117: 2813-2816.
26. Pikman Y, Lee B, Mercher T, McDowell E, Ebert B, Gozo M. et al. (2006) MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. **PLoS Med** 3: e270.
27. Quintas-Cardama A, Vaddi K, Liu P, Manshourti T, Li J, Scherle P. et al. (2010) Preclinical characterization of the selective JAK1/2 inhibitor INCB018424: therapeutic implications for the treatment of myeloproliferative neoplasms. **Blood** 115: 3109-3117.

28. Scott L, Tong W, Levine R, Scott M, Beer P, Stratton M. et al. (2007) JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. **N Engl J Med** 356: 459-468.
29. Tiedt R, Hao-Shen H, Sobas M, Looser R, Dirnhofer S, Schwaller J. et al. (2008) Ratio of mutant JAK2-V617F to wild-type JAK2 determines the MPD phenotypes in transgenic mice. **Blood** 111: 3931-3940.
30. Tyner J, Bumm T, Deininger J, Wood L, Aichberger K, Loriaux M. et al. (2010) CYT387, a novel JAK2 inhibitor, induces hematologic responses and normalizes inflammatory cytokines in murine myeloproliferative neoplasms. **Blood** 115: 5232-5240.
31. Vannucchi A. (2010) From palliation to targeted therapy in myelofibrosis. **N Engl J Med** 363: 1180-1182.
32. Vannucchi, A., Guglielmelli, P. and Tefferi, A. (2009) Advances in understanding and management of myeloproliferative neoplasms. **CA Cancer J Clin** 59: 171-191.
33. Verstovsek, S., et al. (2011) Durable Responses with the JAK1/ JAK2 Inhibitor, INCB018424, In Patients with Polycythemia Vera (PV) and Essential Thrombocythemia (ET) Refractory or Intolerant to Hydroxyurea (HU). ASH 2011 Abstract 313
34. Verstovsek, S. et al. (2012a) **NEJM** Mar 1; 366 (9): 799-807
35. Verstovsek, S., Mesa, R., Gotlib, J., Kantarjian, M., et al. (2012b) Long-Term Outcome of Ruxolitinib Treatment in Patients with Myelofibrosis: Durable Reductions in Spleen Volume, Improvements in Quality of Life, and Overall Survival Advantage in COMFORT-I **Blood**; 120: Abstract 800
36. Wernig, G., Kharas, M., Okabe, R., Moore, S., Leeman, D., Cullen, D. et al. (2008) Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera. **Cancer Cell** 13: 311-320.