

Revisão / Review

A mutação *JAK2 V617F* e as síndromes mieloproliferativas

JAK2 V617F mutation and the myeloproliferative disorders

Bárbara C. R. Monte-Mór
Fernando F. Costa

*Síndromes mieloproliferativas (SMPs) são doenças hematopoéticas de origem clonal que apresentam amplificação de uma ou mais linhagens mielóides. Policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE), mielofibrose idiopática (MF) e leucemia mielóide crônica (LMC) são consideradas SMPs clássicas e apresentam características clínicas e biológicas comuns. Ao contrário de LMC, cuja etiologia está relacionada à proteína constitutivamente ativa Bcr-Abl, o mecanismo molecular de PV, TE e MF permaneceu por muito tempo desconhecido. Esta revisão se foca na recente descoberta da mutação *JAK2 V617F* em pacientes com PV, TE e MF, sua relação com o fenótipo mieloproliferativo e implicações na abordagem clínica de pacientes. Rev. bras. hematol. hemoter. 2008;30(3):241-248.*

Palavras-chave: *JAK2 V617F; síndromes mieloproliferativas; policitemia vera; trombocitemia essencial; mielofibrose idiopática.*

Introdução

"Síndromes mieloproliferativas" (SMPs) foi o termo cunhado em 1951, quando William Dameshed observou que policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE), mielofibrose idiopática (MF) e leucemia mielóide crônica (LMC) apresentavam várias características clínicas e biológicas similares.¹ Já em 2002, além das SMPs clássicas, a Organização Mundial de Saúde (OMS) incluiu em sua classificação doenças mieloproliferativas menos frequentes, como leucemia neutrofílica crônica (LNC), síndrome hipereosinofílica/leucemia eosinofílica crônica (SHE/LEC) e outras, não classificáveis.²

As SMPs se originam por proliferação clonal de um progenitor hematopoético pluripotencial,³⁻⁶ levando à hematopoese exacerbada com expansão de uma ou mais linhagens.⁷ Entre as manifestações clínicas comuns às SMPs estão hiperplasia de medula óssea, hematopoese extramedular ocasionando esplenomegalia, transformação para leucemia aguda, desenvolvimento de mielofibrose e alto risco de hemorragia e trombose.⁷

Progenitores hematopoéticos de SMPs possuem características biológicas marcantes, como hipersensibilidade a diversas citocinas, incluindo eritropoetina (EPO), interleucina 3 (IL-3), *stem cell factor* (SCF), *insulin like growth factor* (IGF-1), *granulocyte macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) e trombopoetina (TPO)⁸⁻¹² e a habilidade de gerar, *in vitro*, colônias eritróides independentes de eritropoetina, conhecidas como colônias eritróides endógenas.⁸

A descoberta de *JAK2 V617F*

Apesar de compartilharem aspectos clínicos e biológicos comuns, as etiologias da PV, da TE e da MF permaneceram por muito tempo desconhecidas, enquanto a fisiopatologia de outras SMPs e de algumas neoplasias mielóides relacionadas já indicavam papel importante de tirosinquinases alteradas. Proteínas fusionadas hiperativas, resultantes de translocações, forneceram a base genética de SMPs, como Bcr-Abl na LMC¹³ e FIP1L1-PDGFRalpha em alguns casos de SHE.¹⁴ Da mesma forma, FOP-FGFR1 e BCR-JAK2 foram associadas à LMC atípica,^{15,16} e tel-PDGFRbeta à

Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro) – Faculdade de Ciências Médicas – Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) Campinas-SP.

Correspondência: Fernando F. Costa
Rua Carlos Chagas, 480 – Cidade Universitária – Barão Geraldo
13083-970 – Campinas-SP – Brasil
Tel.: (19) 3788-8734; Fax: (19) 3289-1089
E-mail: ferreira@unicamp.br

leucemia mielomonocítica crônica (LMMC),¹⁷ duas síndromes mielodisplásicas/mieloproliferativas. Ainda, mutações relevantes para a patologia de mastocitose sistêmica (MS) foram descritas nos genes *KIT* e *PDGFRA*.¹⁸

O grande número de estudos concernentes às SMPs finalmente resultou, entre março e abril de 2005, na descrição de uma única mutação no gene *JAK2*, recorrente em pacientes com SMPs clássicas, Bcr-Abl negativas.¹⁹⁻²³ A proteína *JAK2*, pertencente à família das *Janus quinases*, é também uma tirosina-quinase, fosforilada em resposta à ação de diversas citocinas, ativando assim diferentes vias de sinalização intracelular e participando do processo de transdução do sinal.²⁴ Trata-se de uma mutação pontual, a substituição de uma guanina por timina (G → T) no éxon 14 do gene *JAK2*, levando à substituição de uma valina por fenilalanina (V → F) na posição 617 da proteína codificada (*JAK2* V617F). Esta alteração é somática, adquirida, sendo detectada em células de linhagem eritróide e mielóide, mas não em células T¹⁹⁻²¹ ou células da mucosa bucal.²²

Métodos sensíveis demonstram a mutação em mais de 95% de pacientes com PV e em 50%-60% de pacientes com TE ou MF.²⁵ Em nosso estudo com pacientes brasileiros, utilizando metodologia de reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de digestão enzimática, detectamos a mutação em 96% de pacientes com PV, 28% de pacientes com TE e 56% de pacientes com MF.²⁶ A mutação *JAK2* V617F pode também ser encontrada em outras doenças mielóides, incluindo leucemia mielóide aguda (LMA), síndromes mielodisplásicas (SMD), LMMC, leucemia monomielocítica juvenil (LMMJ), LNC, SHE/LEC, MS e SMPs atípicas.²⁷⁻²⁹ No entanto, *JAK2* V617F não é encontrada em eritrocitose secundária,²⁰ em casos de SMP com alteração molecular definida, como Bcr-Abl ou outras tirosino-quinases hiperativas,^{27,28} em doenças linfóides agudas ou crônicas²⁸⁻³¹ ou em neoplasias não-hematológicas.³²

JAK2 V617F e o fenótipo mieloproliferativo

Desde sua descoberta, a relevância da mutação *JAK2* V617F na gênese das SMPs foi intensivamente estudada. Com relação à atividade tirosino-quinase e sinalização intracelular induzidas pela mutação, experimentos com diferentes linhagens celulares transfectadas com *JAK2* V617F demonstraram autofosforilação constitutiva de *JAK2*, fosforilação constitutiva do fator de transcrição *STAT5* e ativação das vias *ERK* e *PI(3)K/Akt*,^{20,22,23} além da indução de transcrição dependente de *STAT5* na ausência de *EPO*.²⁰

Esta sinalização exacerbada levaria tanto à hipersensibilidade quanto à independência de fatores de crescimento, como demonstrado em curvas de crescimento de linhagens transfectadas com *JAK2* V617F na ausência ou em concentrações crescentes de *IL-3* ou *EPO*.²⁰⁻²²

Ensaio de siRNA com redução de expressão de *JAK2* mostraram diminuição de diferenciação eritróide normal em

células de pacientes portadores de PV, assim como inibição da formação de colônias eritróides espontâneas.²⁰ Concentrações crescentes de um inibidor de *JAK2* também causaram diminuição da proliferação de células da linhagem HEL, portadoras da mutação *JAK2* V617F.²² Camundongos letalmente irradiados que tiveram seu sistema hematopoético reconstituído por células contendo a mutação desenvolveram eritrocitose, com aumento de hematócrito a 60%.²⁰

Além destes achados, compatíveis com o fenótipo observado nas SMPs, nota-se que a mutação ativadora de *JAK2* explicaria outras alterações, também descritas em SMPs:

1- Dos fatores de crescimento aos quais os progenitores SMP são hipersensíveis, *EPO*, *TPO*, *IL-3*, *GM-CSF* e *SCF* utilizam *JAK2* para sinalização intracelular.³³

2- Alterações observadas em diversas moléculas de sinalização intracelular ativadas pela via *JAK2*, como ativação constitutiva de *STAT3*,³⁴ superexpressão de *Bcl-xl*³⁵ e aumento de atividade *Akt*.³⁶

3- Envolvimento da via *JAK2* na diferenciação eritróide terminal.³⁷

4- Perda de heterozigose devido à recombinação mitótica no braço curto do cromossomo 9,³⁸ onde se localiza o gene *JAK2*.

Como colocado por Kaushansky: "Tudo faz sentido!"³⁹ No entanto, esta descoberta permitiu que outras importantes questões fossem levantadas, por exemplo, como uma única mutação pode desencadear três doenças com características distintas (PV, TE e MF)? Que mecanismos moleculares são ativados nas diferentes linhagens hematopoéticas? Que mecanismos determinam a doença nos pacientes em que não se detecta a mutação?

Como uma única mutação pode desencadear três doenças distintas?

Atualmente três hipóteses são propostas para se compreender como a mesma mutação poderia dar origem a três doenças fenotipicamente distintas. A primeira postula que o fenótipo da doença dependeria da natureza da célula progenitora afetada pela mutação. Uma segunda hipótese seria de que o nível da atividade quinase gerada pela mutação determinaria o perfil da doença. Ainda uma terceira considera que eventos alternativos e/ou adicionais poderiam ser responsáveis pela variedade clínica ou mesmo preceder a mutação.^{40,41}

Natureza da célula progenitora

Os fenótipos de PV, TE e MF variam pela extensão com que as linhagens eritrocitária, megacariocítica ou granulocítica estão envolvidas.⁴² Na PV, há aumento proeminente de massa eritrocitária, enquanto em TE a contagem de plaquetas aumenta dramaticamente.⁴³ Em mielofibrose, a hiperproliferação de células mielóides e megacariocíticas na medula óssea estimula a proliferação de fibroblastos residentes, levando à deposição de colágeno e fibrose da medula

óssea.⁴³ Poder-se-ia, portanto, especular que a clínica destas doenças é determinada pela capacidade da célula progenitora afetada pela mutação de se diferenciar nas diferentes linhagens. No entanto, esta hipótese parece ser pouco provável, uma vez que evidências recentes demonstram que, ao menos em PV e MF, a célula mutada tem caráter multipotencial.^{44,45}

Nível de atividade JAK2 V617F

Esta segunda hipótese sugere que baixos níveis de atividade quinase favoreceriam um fenótipo megacariocítico (TE), e altos níveis, um fenótipo eritróide (PV). Atividade quinase sustentada, dependendo do nível e tempo de exposição, levariam à mielofibrose.^{40,41} Diversas evidências parecem suportar este mecanismo proposto, como experimentos em modelos animais e análises de zigose em pacientes.

Em camundongos letalmente irradiados que tiveram seu sistema hematopoético reconstituído por células com superexpressão de *JAK2 V617F*, observou-se rápido aparecimento de eritrocitose e, após alguns meses de exposição, aparecimento de mielofibrose, mimetizando a evolução natural da doença no homem.^{46,47} Ainda, trombocitose transitória só foi observada no grupo expressando baixos níveis de *JAK2 V617F*.⁴⁶

Já em pacientes com SMPs, a zigose parece ter papel importante na determinação do fenótipo. A homozigose aumenta a atividade quinase mutada não só por duplicação gênica decorrente de recombinação mitótica,²¹ como provavelmente também pela falta de competição com a proteína selvagem,²⁰ e o clone homozigoto teria uma vantagem proliferativa.⁴⁰ De fato, em alguns pacientes com PV se observou transição de uma população mista heterozigota/homozigota para uma população predominantemente homozigota.^{48,49}

Quantificações de *JAK2 V617F* em SMPs mostraram que a grande maioria de pacientes com TE é heterozigota para a mutação (93-100%), enquanto 28% (21-35%) de pacientes com PV e 14% de pacientes com MF (0-21%) são homozigotos.²⁹

A avaliação da clínica de pacientes com SMPs à luz destas observações indica que pacientes com TE positivos para a mutação poderiam ser vistos como uma manifestação incompleta de PV. Comparados a pacientes com TE *JAK2 V617F*-negativos, a mutação confere à TE características de PV, incluindo nível aumentado de hemoglobina e resposta similar a tratamento.⁵⁰ Em PV, observou-se que pacientes homozigotos apresentaram níveis de hemoglobina e taxas de transformação fibrótica maiores que pacientes heterozigotos para a mutação.⁵¹ Ainda, pacientes com fibrose apresentaram maior quantidade de alelo mutado que indivíduos sem fibrose, e pacientes com PV cuja doença evoluiu para MF têm granulócitos predominantemente homozigotos,⁴⁹ sugerindo que altos níveis de atividade JAK2 quinase poderiam levar à fibrose.

Assim, sugere-se que PV, TE e MF poderiam ser interpretadas como etapas diferentes da mesma doença, cujo pro-

cesso se iniciaria pela mutação em heterozigose levando à TE, sendo a progressão para PV e MF regulada por eventos que aumentariam a atividade quinase e pelo tempo de exposição.^{40,41} Nota-se também que este modelo seria compatível com o padrão geral de evolução clínica, severidade e prevalência das três doenças.⁴¹

Entre os eventos que aumentam a atividade JAK2 V617F poderiam estar a duplicação do alelo mutado por recombinação mitótica,²¹ trissomia 9p,⁵² ou outros, como desregulação de fosfatases,⁵³ proteínas supressoras de sinalização de citocinas (SOCS)⁵⁴ e polimorfismos ou mutações em receptores de citocinas.⁵⁵ Neste sentido, haveria uma sobreposição entre as hipóteses "nível de atividade JAK2 V617F" e "eventos adicionais e/ou alternativos", para explicar a diversidade clínica em SMPs.

Eventos adicionais e/ou alternativos

Uma terceira hipótese seria de que outros eventos, que não a mutação *JAK2 V617F*, poderiam determinar o fenótipo final da doença ou mesmo preceder a mutação.

Além das já citadas alterações que afetam diretamente a atividade JAK2 V617F, destacam-se outros modificadores. De uma forma geral, o contexto genético parece influenciar no desenvolvimento da doença induzida pela mutação, como observado em diferentes linhagens de camundongos letalmente irradiados que tiveram seu sistema hematopoético reconstituído por células *JAK2 V617F*.⁴⁷ Sugere-se também que o sexo poderia ser um outro fator, pois nota-se que TE é mais comum em mulheres e PV, em homens.⁵⁰ Ainda, pacientes com MF apresentam alta frequência de anormalidades cromossômicas,⁵⁶ que poderiam contribuir para o fenótipo da doença.

De outro modo, um estudo com SMPs familiares mostra que também, nestes casos, a mutação *JAK2 V617F* é adquirida, sugerindo que poderiam haver fatores genéticos anteriores, precedendo e favorecendo a ocorrência da mutação.⁵⁷ A observação de clones leucêmicos *JAK2 V617F*-negativos em pacientes SMP *JAK2 V617F*-positivos indicariam que a mutação pode não ser o evento clonogênico inicial da doença.^{58,59}

Que mecanismos moleculares são ativados nas diferentes linhagens hematopoéticas?

Como anteriormente discutido, os estudos iniciais mostram que *JAK2 V617F* é uma quinase constitutivamente ativa, porém os exatos mecanismos moleculares pelos quais esta mutação induz sinalização independente de citocina não são conhecidos.⁶⁰

A hipótese atualmente mais aceita para explicar os efeitos de *JAK2 V617F* prediz que a proteína mutante interage com o receptores normalmente ligados por JAK2, ou seja, receptor para EPO (EPOR), receptor para TPO (TPOR ou Mpl), receptor para *granulocyte-specific colony-stimulating factor* (G-CSF) (G-CSFR) e outros, e que estes complexos sejam as

entidades constitutivamente ativas.⁶⁰ Estudos sobre a interação entre a proteína mutada e os receptores parecem suportar esta hipótese.

Primeiramente, ensaios *in vitro* mostraram que células portando somente JAK2 mutada respondem à presença de citocinas e, ainda, que os mecanismos possam não ser os mesmos induzidos por JAK2 WT ativada; sugerem que JAK2 V617F tem de capacidade se ligar aos receptores e ativar sinalização via domínios citosólicos do receptor.⁶¹

A seguir, com relação à maturação e ao tráfego intracelular de receptores, sabe-se que JAK2 WT promove estes processos para EPOR⁶² e TPOR.⁶³ JAK2 WT é também necessária à estabilização da forma madura de TPOR, sua localização na superfície celular e reciclagem.⁶³ Evidências iniciais mostraram que JAK2 V617F promove eficientemente o tráfego de EPOR, mas não de TPOR (Staerk *et al*, *manuscript in preparation*).⁶⁰ Infere-se, deste modo, que pacientes homocigotos para a mutação tenham baixa expressão de TPOR na superfície celular.⁶⁰ Esta hipótese concordaria com observações anteriores de que plaquetas e megacariócitos de pacientes com PV e pacientes com MF apresentam níveis baixos de TPOR na superfície celular⁶⁴ e maturação deficiente deste receptor.⁶⁵

Um terceiro aspecto relevante é a observação de que a proteína mutada, expressa em níveis endógenos, requer co-expressão de receptor homodimérico de tipo 1, como EPOR, TPOR ou G-CSFR para independência de fatores de crescimento e ativação constitutiva da via JAK-STAT.⁶⁶ Este fenômeno poderia contribuir para a restrição da patogênese induzida por JAK2 V617F à linhagem mielóide, uma vez que a linhagem linfóide não expressa receptores do tipo 1.⁴⁰

Ainda com relação à atividade da mutação, descreveu-se interação de JAK2 V617F com a via do receptor IGF-1 (IGF1R),⁶¹ fato este que explicaria a hipersensibilidade a IGF-1 descrita em progenitores SMPs.¹⁰

Apesar destes achados indicarem que haveria uma interação diferencial da proteína mutada com os receptores expressos nas diferentes linhagens hematopoéticas, ainda permanece desconhecido o papel destes complexos JAK2 V617F-receptor no desenvolvimento de PV, TE e MF.

Que alterações são responsáveis pelo desenvolvimento da doença em paciente JAK2 V617F-negativo?

Mesmo que diversos estudos relacionem a mutação JAK2 V617F a SMPs, nota-se que uma proporção significativa de pacientes com TE e pacientes com MF são negativos para a mutação. No intuito de se identificarem, nestes pacientes, os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da doença, descobriu-se recentemente uma mutação ativadora somática no domínio transmembrana de Mpl (MPL W515L) em 9% de pacientes com MF JAK2 V617F-negativos.⁶⁷ A mutação MPL W515L conferiu crescimento independente de citocinas e hipersensibilidade à TPO, além de sinalização intracelular aumentada.⁶⁷ No modelo animal expressando a

mutação, observou-se fenótipo mieloproliferativo, com trombocitose marcante, hematopoese extramedular levando à esplenomegalia e fibrose.⁶⁷ Um estudo posterior descreveu uma nova mutação MPL (MPL W515K) e concluiu que mutações MPL estão presentes em 5% de pacientes com MF e 1% de pacientes com TE, mas não em PV ou outras doenças mielóides.⁶⁸ Tomados em conjunto, estes trabalhos sugerem que mutações MPL sejam relevantes para a fisiopatologia de TE e MF.

Ainda, quatro novas mutações foram descritas no éxon 12 do gene JAK2 em dez pacientes com PV negativos para JAK2 V617F. Todas elas parecem ser mutações somáticas, presentes apenas em pacientes com fenótipo policitemico JAK2 V617F-negativos e não em pacientes com TE.⁶⁹ Curiosamente, diferente da mutação JAK2 V617F, que está presente em homocigose na maioria das dos progenitores hematopoéticos em PV,⁴⁸ as recém-descritas mutações no éxon 12 de JAK2 estão presentes em heterocigose nestas células.⁶⁹ Ainda assim, são responsáveis por hipersensibilidade a fatores de crescimento e ativação de vias associadas a sinalização de EPO, sendo que três delas, contendo a substituição K539L, geraram níveis de fosforilação JAK2 e vias associadas notadamente mais altos que JAK2 V617F.⁶⁹ Os modelos animais reproduziram fenótipos similares ao observado em pacientes portando as mutações K539L, ou seja, hematócrito elevado e contagem de leucócitos e de plaquetas mais baixas que as observadas para células JAK2 V617F.⁶⁹ Estes resultados parecem concordar com a hipótese de que baixos níveis de atividade JAK2 V617F estariam associados à TE e altos, à PV.

JAK2 V617F e a abordagem clínica em SMPs

A descoberta de mutações, principalmente JAK2 V617F, em pacientes SMP tem implicações diretas para a abordagem clínica, ou seja, diagnóstico, prognóstico e terapia destas doenças.

Neste sentido, um aspecto relevante a ser considerado é a detecção de JAK2 V617F. Variações marcantes na frequência da mutação são observadas entre os diferentes estudos, e acredita-se que um dos fatores responsáveis por estas diferenças seja a sensibilidade do método utilizado.²⁹ Atualmente, diversas técnicas para detecção de JAK2 V617F têm sido desenvolvidas, testadas e validadas quanto à sua sensibilidade e especificidade.^{27,70-72} A sensibilidade do teste pode também ser afetada tanto pelo tipo celular (neutrófilos X outras células) quanto pelo ácido nucleico extraído (DNA genômico X RNA) da amostra a ser analisada.²⁹ Espera-se que, em breve, comparações entre as técnicas sejam realizadas para esclarecimento destas questões.

Um resultado positivo para JAK2 V617F tem significado claramente distinto para PV, TE e MF, porém parece ser relevante para o estabelecimento de novos critérios diagnósticos para as três doenças. Recentemente, clínicos, cien-

tistas e patologistas especializados na área propuseram uma revisão dos critérios da OMS.⁷³ Conforme previamente exposto, a mutação *JAK2* V617F é específica para doenças mielóides neoplásicas, e sua detecção exclui policitemia secundária ou trombocitose/mielofibrose decorrentes de outras doenças.⁷³ *JAK2* V617F ou mutações no éxon 12 de *JAK2* estão presentes em virtualmente todos os pacientes com PV. Por isso, na nova proposta, é considerada como um critério maior, substituindo a maioria dos critérios A e B atuais da OMS⁷³ e simplificando drasticamente o diagnóstico de PV. Por outro lado, em TE e MF, a mutação está presente em cerca de 50% dos pacientes e sua detecção é sugerida como um teste complementar, não excluindo a necessidade de biópsia de medula óssea.⁷³

Também de grande importância para a prática clínica é a compreensão do papel de *JAK2* V617F no prognóstico dos pacientes SMP. Demonstrou-se que a mutação está relacionada a marcadores biológicos como formação de colônias eritróides espontâneas (CEE)⁷⁴ e superexpressão de PRV-1^{74,75} anteriormente descritos em SMPs.^{8,76} Também está associada à ativação de plaquetas⁷⁷ e granulócitos⁴⁹ e à mobilização constitutiva de células CD34+.⁴⁹ Paralelamente, estudos mostram que, em TE, a mutação está associada a altos níveis de hemoglobina, contagem de neutrófilos e taxa de transformação para PV,^{50,78} baixos níveis de EPO sérica e ferritina,⁵⁰ além de maior risco de eventos trombóticos.⁷⁹ Já em pacientes com PV, observou-se que homocigotos para a mutação têm maior incidência de prurido, maiores níveis de hemoglobina ao diagnóstico e taxa de transformação fibrótica.⁵¹ Tanto em pacientes com PV quanto em pacientes com TE, a homocigose para *JAK2* V617F está associada à maior frequência de transformação mielofibrótica.⁸⁰ Em MF, achou-se que *JAK2* V617F está associada a contagens mais elevadas de neutrófilos e leucócitos, menor necessidade de transfusão e pior sobrevida.⁸¹

No que concerne ao tratamento de SMPs, descreveu-se que pacientes com TE positivos para a mutação, fenotipicamente similares a pacientes com PV, são mais sensíveis ao tratamento com hidroxiuréia do que pacientes com TE *JAK2* V617F-negativos,⁵⁰ o que poderia sugerir mudanças em protocolos de tratamento em função da presença da mutação. A quantificação de *JAK2* V617F por técnicas de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR), seria uma maneira, como Bcr-Abl em LMC, de se avaliar a intensidade da doença em um paciente, sendo realizada ao diagnóstico e sequencialmente testada ao longo do tratamento,⁴¹ como já mostrado para pacientes com PV tratados com interferon alfa⁸² e um paciente MF que recebeu transplante de células tronco alogênicas.⁸³ Obviamente, referindo-se ao tratamento de pacientes, o principal benefício esperado, observada a inibição específica de Bcr-Abl por imatinib e sua eficácia no tratamento de LMC,⁸⁴ é o desenvolvimento de terapia molecular também para SMPs *JAK2* V617F-positivas.

Conclusão

A recente descoberta da mutação *JAK2* V617F contribuiu significativamente para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos de SMPs Bcr-Abl negativas. Diversas evidências *in vitro* e *in vivo* associam a mutação à sinalização intracelular exacerbada e proliferação eritróide. Estudos atuais procuram compreender como um única mutação poderia estar envolvida na gênese de três doenças fenotipicamente distintas como PV, TE e MF, além de caracterizar os exatos mecanismos moleculares desencadeados. De outro modo, outras mutações em *JAK2* e *MPL* já foram identificadas em pacientes negativos para mutação *JAK2* V617F. Além disso, destaca-se o impacto imediato com relação à abordagem clínica das SMPs, no que concerne ao diagnóstico, prognóstico e tratamento dos pacientes. Assim, torna-se evidente a expectativa de avanços no esclarecimento da fisiopatologia das SMPs, na detecção rotineira da mutação para diagnóstico e acompanhamento dos pacientes e no desenvolvimento de terapia alvo específica para *JAK2* V617F.

Abstract

Myeloproliferative disorders are clonal hematopoietic diseases that are characterized by the amplification of one or more myeloid lineages. Polycythemia vera, essential thrombocythemia, idiopathic myelofibrosis and chronic myeloid leukemia are considered classic myeloproliferative disorders and share common clinical and biological features. While the genetic basis of chronic myeloid leukemia is shown to be the constitutive active protein BCR-ABL, the main molecular lesions in polycythemia vera, essential thrombocythemia and idiopathic myelofibrosis remain unknown. This review focuses on the recent discovery of the JAK2 V617F mutation, its relationship to the myeloproliferative phenotype and implications in the clinical approach of patients. Rev. bras. hematol. hemoter. 2008;30(3):241-248.

Key words: *JAK2* V617F; myeloproliferative disorders; polycythemia vera; essential thrombocythemia; idiopathic myelofibrosis.

Referências Bibliográficas

1. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood*. 1951;6(4):372-5
2. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*. 2002;100(7):2292-302.
3. Fialkow PJ, Gartler SM, Yoshida A. Clonal origin of chronic myelocytic leukemia in man. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1967; 58(4):1468-71.
4. Adamson JW, Fialkow PJ, Murphy S, Prchal JF, Steinmann L. Polycythemia vera: stem-cell and probable clonal origin of the disease. *N Engl J Med*. 1976;295(17):913-6.
5. Jacobson RJ, Salo A, Fialkow PJ. Agnogenic myeloid metaplasia: a clonal proliferation of hematopoietic stem cells with secondary myelofibrosis. *Blood*. 1978;51(2):189-94.

6. Fialkow PJ, Faguet GB, Jacobson RJ, Vaidya K, Murphy S. Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell. *Blood*. 1981;58(5):916-9.
7. Spivak JL, Barosi G, Tognoni G, Barbui T, Finazzi G, Marchioli R et al. Chronic myeloproliferative disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2003:200-24.
8. Prchal JF, Axelrad AA. Letter: Bone-marrow responses in polycythemia vera. *N Engl J Med*. 1974;290(24):1382.
9. Dai CH, Krantz SB, Dessypris EN, Means RT, Jr., Horn ST, Gilbert HS. Polycythemia vera. II. Hypersensitivity of bone marrow erythroid, granulocyte-macrophage, and megakaryocyte progenitor cells to interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*. 1992;80(4):891-9.
10. Correa PN, Eskinazi D, Axelrad AA. Circulating erythroid progenitors in polycythemia vera are hypersensitive to insulin-like growth factor-1 in vitro: studies in an improved serum-free medium. *Blood*. 1994;83(1):99-112.
11. Dai CH, Krantz SB, Green WF, Gilbert HS. Polycythemia vera. III. Burst-forming units-erythroid (BFU-E) response to stem cell factor and c-kit receptor expression. *Br J Haematol*. 1994;86(1):12-21.
12. Axelrad AA, Eskinazi D, Correa PN, Amato D. Hypersensitivity of circulating progenitor cells to megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHu MGDF) in essential thrombocythemia. *Blood*. 2000;96(10):3310-21.
13. Deininger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2000;96(10):3343-56.
14. Cools J, DeAngelo DJ, Gotlib J, Stover EH, Legare RD, Cortes J et al. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N Engl J Med*. 2003;348(13):1201-14.
15. Guasch G, Delaval B, Arnoulet C, Xie MJ, Xerri L, Sainy D et al. FOP-FGFR1 tyrosine kinase, the product of a t(6;8) translocation, induces a fatal myeloproliferative disease in mice. *Blood*. 2004;103(1):309-12.
16. Griesinger F, Hennig H, Hillmer F, Podleschny M, Steffens R, Pies A et al. A BCR-JAK2 fusion gene as the result of a t(9;22)(p24;q11.2) translocation in a patient with a clinically typical chronic myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. 2005;44(3):329-33.
17. Golub TR, Barker GF, Lovett M, Gilliland DG. Fusion of PDGF receptor beta to a novel ets-like gene, tel, in chronic myelomonocytic leukemia with t(5;12) chromosomal translocation. *Cell*. 1994;77(2):307-16.
18. Tefferi A, Pardanani A. Clinical, genetic, and therapeutic insights into systemic mast cell disease. *Curr Opin Hematol*. 2004;11(1):58-64.
19. 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.
20. James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythemia vera. *Nature*. 2005;434(7037):1144-8.
21. 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.
22. 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.
23. Zhao R, Xing S, Li Z, Fu X, Li Q, Krantz SB et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem*. 2005;280(24):22788-92.
24. Ihle JN, Witthuhn BA, Quelle FW, Yamamoto K, Silvennoinen O. Signaling through the hematopoietic cytokine receptors. *Annu Rev Immunol*. 1995;13:369-98.
25. Campbell PJ, Green AR. The myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2006;355(23):2452-66.
26. Monte-Mór BCR, Cunha AF, Pagnano KBB, Saad ST, Lorand-Metze I, Costa FF. JAK2 V617F prevalence in Brazilian patients with polycythemia vera, idiopathic myelofibrosis and essential thrombocythemia. *Genet Mol Biol*. 2007;30(2):336-8.
27. Jones AV, Kreil S, Zoi K, Waghorn K, Curtis C, Zhang L et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood*. 2005;106(6):2162-8.
28. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V, Bueso-Ramos C, Prchal JT, Verstovsek S et al. JAK2 mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML, and megakaryocytic leukemia. *Blood*. 2005;106(10):3370-3.
29. Tefferi A, Pardanani A. Mutation screening for JAK2V617F: when to order the test and how to interpret the results. *Leuk Res*. 2006;30(6):739-44.
30. Levine RL, Loriaux M, Huntly BJ, Loh ML, Beran M, Stoffregen E et al. The JAK2V617F activating mutation occurs in chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia, but not in acute lymphoblastic leukemia or chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2005;106(10):3377-9.
31. Scott LM, Campbell PJ, Baxter EJ, Todd T, Stephens P, Edkins S et al. The V617F JAK2 mutation is uncommon in cancers and in myeloid malignancies other than the classic myeloproliferative disorders. *Blood*. 2005;106(8):2920-1.
32. Lee JW, Kim YG, Soung YH, Han KJ, Kim SY, Rhim HS et al. The JAK2 V617F mutation in de novo acute myelogenous leukemias. *Oncogene*. 2006;25(9):1434-6.
33. Parganas E, Wang D, Stravopodis D, Topham DJ, Marine JC, Teglund S et al. Jak2 is essential for signaling through a variety of cytokine receptors. *Cell*. 1998;93(3):385-95.
34. Roder S, Steimle C, Meinhardt G, Pahl HL. STAT3 is constitutively active in some patients with Polycythemia rubra vera. *Exp Hematol*. 2001;29(6):694-702.
35. Silva M, Richard C, Benito A, Sanz C, Olalla I, Fernandez-Luna JL. Expression of Bcl-x in erythroid precursors from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med*. 1998;338(9):564-71.
36. Dai C, Chung IJ, Krantz SB. Increased erythropoiesis in polycythemia vera is associated with increased erythroid progenitor proliferation and increased phosphorylation of Akt/PKB. *Exp Hematol*. 2005;33(2):152-8.
37. Ugo V, Marzac C, Teyssandier I, Larbret F, Lecluse Y, Debili N et al. Multiple signaling pathways are involved in erythropoietin-independent differentiation of erythroid progenitors in polycythemia vera. *Exp Hematol*. 2004;32(2):179-87.
38. Kralovics R, Guan Y, Prchal JT. Acquired uniparental disomy of chromosome 9p is a frequent stem cell defect in polycythemia vera. *Exp Hematol*. 2002;30(3):229-36.
39. Kaushansky K. On the molecular origins of the chronic myeloproliferative disorders: it all makes sense. *Blood*. 2005;105(11):4187-90.
40. Delhommeau F, Pisani DF, James C, Casadevall N, Constantinescu S, Vainchenker W. Oncogenic mechanisms in myeloproliferative disorders. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(24):2939-53.
41. Villeval JL, James C, Pisani DF, Casadevall N, Vainchenker W. New insights into the pathogenesis of JAK2 V617F-positive myeloproliferative disorders and consequences for the management of patients. *Semin Thromb Hemost*. 2006;32(4 Pt 2):341-51.

42. Spivak JL. The chronic myeloproliferative disorders: clonality and clinical heterogeneity. *Semin Hematol.* 2004;41(2 Suppl 3):1-5.
43. Pahl HL. Towards a molecular understanding of polycythemia rubra vera. *Eur J Biochem.* 2000;267(12):3395-401.
44. Delhommeau F, Dupont S, Tonetti C, Masse A, Godin I, Le Couedic JP *et al.* Evidence that the JAK2 G1849T (V617F) mutation occurs in a lymphomyeloid progenitor in polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis. *Blood.* 2007;109(1):71-7.
45. Jamieson CH, Gotlib J, Durocher JA, Chao MP, Mariappan MR, Lay M *et al.* The JAK2 V617F mutation occurs in hematopoietic stem cells in polycythemia vera and predisposes toward erythroid differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103(16):6224-9.
46. Lacout C, Pisani DF, Tulliez M, Gachelin FM, Vainchenker W, Villeval JL. JAK2V617F expression in murine hematopoietic cells leads to MPD mimicking human PV with secondary myelofibrosis. *Blood.* 2006;108(5):1652-60.
47. Wernig G, Mercher T, Okabe R, Levine RL, Lee BH, Gilliland DG. Expression of Jak2V617F causes a polycythemia vera-like disease with associated myelofibrosis in a murine bone marrow transplant model. *Blood.* 2006;107(11):4274-81.
48. Scott LM, Scott MA, Campbell PJ, Green AR. Progenitors homozygous for the V617F mutation occur in most patients with polycythemia vera, but not essential thrombocythemia. *Blood.* 2006;108(7):2435-7.
49. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Della Porta MG, Boveri E, Pascutto C *et al.* Relation between JAK2 (V617F) mutation status, granulocyte activation, and constitutive mobilization of CD34+ cells into peripheral blood in myeloproliferative disorders. *Blood.* 2006;107(9):3676-82.
50. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT *et al.* Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet.* 2005; 3; 366 (9501): 1945-53.
51. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, Strand JS, Elliott M, Mesa R *et al.* The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera. *Cancer.* 2006; 106(3):631-5.
52. Andrieux JL, Demory JL. Karyotype and molecular cytogenetic studies in polycythemia vera. *Curr Hematol Rep.* 2005;4(3):224-9.
53. Xu MJ, Sui X, Zhao R, Dai C, Krantz SB, Zhao ZJ. PTP-MEG2 is activated in polycythemia vera erythroid progenitor cells and is required for growth and expansion of erythroid cells. *Blood.* 2003; 102(13):4354-60.
54. Hookham MB, Elliott J, Suessmuth Y, Staerk J, Ward AC, Vainchenker W *et al.* The myeloproliferative disorder-associated JAK2 V617F mutant escapes negative regulation by suppressor of cytokine signaling 3. *Blood.* 2007;109(11):4924-9.
55. Moliterno AR, Williams DM, Gutierrez-Alamillo LI, Salvatori R, Ingersoll RG, Spivak JL. Mpl Baltimore: a thrombopoietin receptor polymorphism associated with thrombocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(31):11444-7.
56. Bench AJ, Pahl HL. Chromosomal abnormalities and molecular markers in myeloproliferative disorders. *Semin Hematol.* 2005; 42(4):196-205.
57. Bellanne-Chantelot C, Chaumarel I, Labopin M, Bellanger F, Barbu V, De Toma C *et al.* Genetic and clinical implications of the Val617Phe JAK2 mutation in 72 families with myeloproliferative disorders. *Blood.* 2006;108(1):346-52.
58. Campbell PJ, Baxter EJ, Beer PA, Scott LM, Bench AJ, Huntly BJ *et al.* Mutation of JAK2 in the myeloproliferative disorders: timing, clonality studies, cytogenetic associations, and role in leukemic transformation. *Blood.* 2006;108(10):3548-55.
59. Theocharides A, Boissinot M, Girodon F, Garand R, Teo SS, Lippert E *et al.* Leukemic blasts in transformed JAK2-V617F-positive myeloproliferative disorders are frequently negative for the JAK2-V617F mutation. *Blood.* 2007;110(1):375-9.
60. Staerk J, Kallin A, Royer Y, Diaconu CC, Dusa A, Demoulin JB, *et al.* JAK2, the JAK2 V617F mutant and cytokine receptors. *Pathol Biol.* 2007;55(2):88-91.
61. Staerk J, Kallin A, Demoulin JB, Vainchenker W, Constantinescu SN. JAK1 and Tyk2 activation by the homologous polycythemia vera JAK2 V617F mutation: cross-talk with IGF1 receptor. *J Biol Chem.* 2005;280(51):41893-9.
62. Huang LJ, Constantinescu SN, Lodish HF. The N-terminal domain of Janus kinase 2 is required for Golgi processing and cell surface expression of erythropoietin receptor. *Mol Cell.* 2001;8(6):1327-38.
63. Royer Y, Staerk J, Costuleanu M, Courtoy PJ, Constantinescu SN. Janus kinases affect thrombopoietin receptor cell surface localization and stability. *J Biol Chem.* 2005;280(29):27251-61.
64. Moliterno AR, Hankins WD, Spivak JL. Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med.* 1998;338(9):572-80.
65. Moliterno AR, Spivak JL. Posttranslational processing of the thrombopoietin receptor is impaired in polycythemia vera. *Blood.* 1999;94(8):2555-61.
66. Lu X, Levine R, Tong W, Wernig G, Pikman Y, Zarnegar S *et al.* Expression of a homodimeric type I cytokine receptor is required for JAK2V617F-mediated transformation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(52):18962-7.
67. 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.
68. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M *et al.* MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood.* 2006;108 (10):3472-6.
69. 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.
70. James C, Delhommeau F, Marzac C, Teyssandier I, Couedic JP, Giraudier S *et al.* Detection of JAK2 V617F as a first intention diagnostic test for erythrocytosis. *Leukemia.* 2006;20(2):350-3.
71. McClure R, Mai M, Lasho T. Validation of two clinically useful assays for evaluation of JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Leukemia.* 2006;20(1):168-71.
72. Campbell PJ, Scott LM, Baxter EJ, Bench AJ, Green AR, Erber WN. Methods for the detection of the JAK2 V617F mutation in human myeloproliferative disorders. *Methods Mol Med.* 2006; 125:253-64.
73. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA *et al.* Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood.* 2007;110(4): 1092-7.
74. Goerttler PS, Steimle C, Marz E, Johansson PL, Andreasson B, Griesshammer M *et al.* The Jak2V617F mutation, PRV-1 overexpression, and EEC formation define a similar cohort of MPD patients. *Blood.* 2005;106(8):2862-4.
75. Tefferi A, Sirhan S, Lasho TL, Schwager SM, Li CY, Dingli D *et al.* Concomitant neutrophil JAK2 mutation screening and PRV-1 expression analysis in myeloproliferative disorders and secondary polycythaemia. *Br J Haematol.* 2005;131(2):166-71.

76. Klippel S, Strunck E, Busse CE, Behringer D, Pahl HL. Biochemical characterization of PRV-1, a novel hematopoietic cell surface receptor, which is overexpressed in polycythemia rubra vera. *Blood*. 2002;100(7):2441-8
77. Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, Villamor N, Colomer D, Cervantes F. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica*. 2006;91(2):169-75.
78. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ *et al*. JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol*. 2005;131(2):208-13.
79. Finazzi G, Rambaldi A, Guerini V, Carobbo A, Barbui T. Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2 V617F mutation status. *Haematologica*. 2007;92(1):135-6.
80. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Rambaldi A, Barosi G, Marchioli R *et al*. Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood*. 2007;110(3):840-6.
81. Campbell PJ, Griesshammer M, Dohner K, Dohner H, Kusec R, Hasselbalch HC *et al*. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. *Blood*. 2006;107(5):2098-100.
82. Kiladjian JJ, Cassinat B, Turlure P, Cambier N, Rousset M, Bellucci S *et al*. High molecular response rate of polycythemia vera patients treated with pegylated interferon alpha-2a. *Blood*. 2006; 108 (6): 2037-40.
83. Ruiz-Arguelles GJ, Garces-Eisele J, Reyes-Nunez V, Ruiz-Delgado GJ, Rosillo C, Camoriano JK. Clearance of the Janus kinase 2 (JAK2) V617F mutation after allogeneic stem cell transplantation in a patient with myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Am J Hematol*. 2007;82(5):400-2.
84. Mauro MJ, O'Dwyer ME, Druker BJ. ST1571, a tyrosine kinase inhibitor for the treatment of chronic myelogenous leukemia: validating the promise of molecularly targeted therapy. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2001;48 Suppl 1:S77-8

Avaliação: Editor e dois revisores externos

Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 20/06/2007

Aceito: 17/07/2007