

Desregulação da apoptose em neoplasias mieloproliferativas crônicas

Apoptosis deregulation in myeloproliferative neoplasms

Raquel Tognon¹, Natália de Souza Nunes¹, Fabíola Attié de Castro¹

RESUMO

As neoplasias mieloproliferativas crônicas cromossomo Filadélfia negativas são doenças hematológicas clonais que se caracterizam pela independência ou pela hipersensibilidade dos progenitores hematopoiéticos às citocinas. Os mecanismos celulares e moleculares envolvidos na fisiopatologia das neoplasias mieloproliferativas crônicas ainda não estão totalmente esclarecidos. Achados fisiopatológicos relevantes para as neoplasias mieloproliferativas crônicas estão associados às alterações genéticas como, por exemplo, a mutação somática no gene que codifica o JAK2 (JAK2V617F). A desregulação do processo de morte celular programada, denominada apoptose, parece participar da patogênese dessas doenças. Sabe-se que a desregulação da expressão dos genes pró- e antiapoptóticos promove a resistência das células à apoptose, culminando com o acúmulo das células mieloides e estabelecendo a neoplasia. Esta revisão enfocou as alterações na regulação da apoptose em neoplasias mieloproliferativas crônicas e a importância da melhor compreensão desse mecanismo para o desenvolvimento de novas terapias para essas doenças.

Descritores: Doenças mieloproliferativas-mielodisplásicas; Apoptose/fisiopatologia; Proteínas proto-oncogênicas c-bcl-2; Receptores de morte celular

ABSTRACT

Philadelphia-chromosome negative chronic myeloproliferative neoplasms are clonal hematologic diseases characterized by hematopoietic progenitor independence from or hypersensitivity to cytokines. The cellular and molecular mechanisms involved in the pathophysiology of myeloproliferative neoplasms have not yet been fully clarified. Pathophysiologic findings relevant for myeloproliferative neoplasms are associated with genetic alterations, such as, somatic mutation in the gene that codifies JAK-2 (JAK V617F). Deregulation of the process of programmed cellular death, called apoptosis, seems to participate in the pathogenesis of these disorders. It is known that expression deregulation of pro- and anti-apoptotic genes promotes cell resistance to apoptosis, culminating with the accumulation of myeloid cells and establishing neoplasms. This review will focus on

the alterations in apoptosis regulation in myeloproliferative neoplasms, and the importance of a better understanding of this mechanism for the development of new therapies for these diseases.

Keywords: Myelodysplastic-myeloproliferative diseases; Apoptosis/physiopathology; Proto-oncogene proteins c-bcl-2; Receptors, death domain

INTRODUÇÃO

A apoptose é um tipo de morte celular programada, geneticamente regulada, que é desencadeada quando a célula se expõe a determinados estímulos fisiológicos, patogênicos ou citotóxicos. As células em apoptose apresentam características morfológicas típicas, como redução do volume celular, pregas na membrana citoplasmática, condensação e fragmentação do DNA e manutenção da integridade das organelas, ocorrendo a formação de corpos apoptóticos e, posteriormente, fagocitose por macrófagos⁽¹⁾. Esse processo é altamente regulado por vias de sinalização celular e proteínas pró- e antiapoptóticas, que controlam as etapas nele envolvidas.

Na literatura, vários estudos mostram que a desregulação da apoptose está envolvida na fisiopatologia de numerosas entidades nosológicas, como doenças degenerativas, autoimunes e neoplasias^(2,3). A alteração da molécula antiapoptótica *BCL-2* foi associada ao prognóstico e à resposta à terapia para leucemia linfocítica crônica, linfoma não Hodgkin e leucemia mieloide aguda^(4,5). As células de pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) apresentam resistência à apoptose e alteração da expressão de genes da família *BCL-2*, como *MCL-1* e *BCL-W*, dentre outros⁽⁶⁾.

Esta revisão abordou os mecanismos da apoptose e compilou os dados da literatura que tratam da desregulação do processo de morte celular programada nas neoplasias mieloproliferativas crônicas (NMPC) cromos-

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Autor correspondente: Raquel Tognon – Avenida do Café, s/n – Monte Alegre – CEP: 14040-903 – Ribeirão Preto, SP, Brasil – Tel.: (16) 3602-0657 – E-mail: raquelgtg@focfrp.usp.br

Data de submissão: 2/11/2012 – Data de aceite: 31/10/2013

somo Filadélfia (Ph) negativas, policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE) e mielofibrose (MF) primária. O objetivo também abrangeu discutir a importância da melhor compreensão desse mecanismo para o desenvolvimento de novas terapias para tais doenças.

Neoplasias mieloproliferativas crônicas cromossomo Filadélfia negativas

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a PV, a TE e a MF devem ser classificadas como NMPC cromossomo Ph negativas (Ph⁻)⁽⁷⁾. Essas neoplasias resultam da expansão clonal da célula-tronco hematopoiética alterada e caracterizam-se pela independência ou pela hipersensibilidade dos progenitores hematopoiéticos a citocinas, hiperplasticidade da medula óssea⁽⁸⁾ e pela possível presença de mutações adquiridas nos genes JAK2, TET2, CBL, AXSL1 e MPL⁽⁹⁾. A suspeita diagnóstica pode surgir após o aparecimento de sintomas iniciais, como aumento da massa eritrocítica, leucocitose, trombocitose ou graus variados de citopenias. A progressão das NMPC caracteriza-se pelo aparecimento de esplenomegalia, fibrose medular e/ou transformação em síndrome mielodisplásica ou leucemia aguda^(8,10).

Dentre as alterações moleculares envolvidas na fisiopatologia das NMPC, a descrição da mutação no gene da tirosina quinase JAK2, em 2005, teve grande impacto. A mutação que ocorre na JAK2 é pontual e consiste na substituição da base nucleotídica G por T, na posição 1.849 do gene, o que conduz a troca de valina pela fenilalanina no domínio pseudoquinase JH2 da sequência polipeptídica da JAK2. Essa tirosina quinase é responsável por alterações na sinalização da via JAK-STAT, que transduz o sinal de receptores de citocinas e fatores de crescimento imprescindíveis para o desenvolvimento das células da linhagem mieloide como, por exemplo, o fator estimulante de colônia (CSF) e a trombopoetina (TPO), entre outros. Com a alteração, a tirosina torna-se constitutivamente ativada, aumenta a sinalização da via JAK/STAT, ativa vias sinalizadoras PI3K, RAS e STAT5, e causa hiperresponsividade à sinalização de citocinas, aumento da proliferação celular e resistência à apoptose^(11,12).

Na tentativa de elucidar como uma mutação conduz às três doenças, PV, TE e MF, várias hipóteses foram postuladas, tais como: a presença de mutações adicionais; a ocorrência da mutação em diferentes estágios de diferenciação, e as diferenças na porcentagem de alelos mutados e na genética dos pacientes⁽¹³⁾. Outras mutações, inclusive em outro éxon da JAK2, têm sido relatadas em pacientes JAK2V617F negativos. As mutações no éxon 12 da JAK2 também afetam aminoácidos localizados no domínio pseudoquinase, sugerindo um mecanismo de ação semelhante ao da JAK2V617F⁽⁹⁾.

Alterações na regulação do processo de apoptose parecem contribuir ao mieloacúmulo e à mieloproliferação nas NMPC⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Apoptose e neoplasias mieloproliferativas crônicas Ph negativas

Existem duas principais vias de sinalização responsáveis pela ativação da apoptose: a intrínseca e a extrínseca. A via intrínseca ou mitocondrial pode ser iniciada por diversos estímulos apoptogênicos, como quimioterápicos, que causam danos ao DNA, ruptura de microtúbulos, e deficiência ou ausência de fatores de crescimento celulares. Esses estímulos desencadeiam a liberação de fatores apoptogênicos do espaço interno da mitocôndria, como citocromo c, *second mitochondria-derived activator of caspase/direct inhibitor of apoptosis protein-binding protein with low PI* (Smac/DIABLO), Omi/Htr-2, *apoptosis-inducing factor* (AIF) e endonuclease G. O citocromo c liberado liga-se ao *apoptosis protease-activator factor 1* (Apaf-1) e à procaspase-9, formando o complexo denominado apoptossomo. A caspase-9 é ativada, promovendo a ativação da caspase-3 e da cascata proteolítica. Os fatores Smac/DIABLO neutralizam o efeito das proteínas inibidoras de apoptose (IAPs), como c-IAPs e survivina, e amplificam o sinal apoptótico. Acredita-se que AIF e endonuclease G contribuam para modificações nucleares como condensação da cromatina^(17,18).

A via extrínseca é ativada por receptores de morte da família do fator de necrose tumoral (TNF); dentre eles estão: TNFR1 e TNFR2 (receptores TNF), CD95 (Apo-1/Fas) e *TRAIL R1/DR4* e *TRAIL R2/DR5* (receptores de TNF *related apoptosis-inducible ligand*). Quando estes são estimulados por seus agonistas (FasL e TRAIL, por exemplo), eles conduzem à trimerização do receptor e ao recrutamento de proteínas adaptadoras (interação homotípica) com o domínio de morte (DD, sigla do inglês *death domain*) e o domínio efetor de morte (DED, do inglês *death-effector domain*). Essa ligação recruta as caspases iniciadoras, como a caspase-8, e promove a formação da estrutura multimolecular denominada *death-inducing signalling complex* (DISC). A oligomerização da caspase-8 durante a formação do DISC induz à sua ativação por autoclivagem e, em seguida, à ativação de caspases executoras, como a caspase-3, 6 e 7. O protótipo de ativação da via extrínseca da apoptose pode ser representado pelo estímulo da via FAS-FasL^(17,18). Outro conjunto de ligantes e receptores importantes para a ativação da apoptose por receptores de morte são os já mencionados TRAIL, membro da superfamília do TNF, e seus receptores DR4 e DR5. As caspases executoras atuam em diversos substratos no citoplasma e no núcleo, resultando na morte da célula por apop-

tose. A via extrínseca é regulada principalmente pelas moléculas *caspase-8-like (FLICE)-inhibitory proteins (C-FLIP)*, que possui um domínio muito semelhante ao da caspase-8, porém sem atividade catalítica e pela molécula *FAS apoptosis inhibitory molecule (FAIM)*, que antagoniza a ligação de *FAS* ao seu receptor e interfere na expressão de *C-FLIP*⁽¹⁹⁾. A ativação da via intrínseca é controlada principalmente pelas proteínas da família *BCL-2*, cujos membros são as proteínas antiapoptóticas (*BCL-2, BCL-X_L, BCL-W, MCL-1* e *A1*) e pró-apoptóticas (*Bax, Bak, Bad, Bid, Bim, Bok, Bik, BMF, Boo, BCL-X_s, PUMA* e *NOXA*)^(18,19).

Além das moléculas reguladoras da apoptose pertencentes à via de receptor de morte e dos membros da família *BCL-2*, destacam-se as IAP, que inibem as caspases executoras. Essa família de proteínas é composta por numerosos membros; dentre eles, os mais estudados são *XIAP, CIAP-1, CIAP-2* e *survivina*. Podem-se destacar, como funções dos IAPs, a inibição das caspases efetoras 3 e 7, e a ativação da caspase 9⁽²⁾.

Em 1998, Fernandez-Luna et al. escreveram uma revisão da literatura e incluíram dados do próprio laboratório sobre a patogênese da PV, concluindo que, na PV, outros fatores, além da eritropoetina (Epo), teriam papel importante na produção de células eritroides, entre eles o *IGF-1*, o qual, além de outros efeitos, po-

deria interferir na apoptose, aumentando a expressão de *BCL-X_L*, elevada em PV, e causando o acúmulo de células na ausência de Epo⁽²⁰⁾. Em 2006, Zeuner et al. analisaram a diferenciação de células eritroides em cultura celular e observaram que células de pacientes com PV *JAK2V617F* positivos deram origem a um maior número de células na presença de inibidores da via extrínseca da apoptose, apresentaram menor ativação de caspase induzida por estímulo dessa mesma via e, ainda, que esses pacientes apresentaram maior expressão do antiapoptótico *c-FLIPshort*⁽²¹⁾.

Em 2004, Zhang et al. avaliaram a expressão de *BCL-X_L* durante a diferenciação megacariocítica em pacientes com TE e constataram que a expressão dessa proteína estava diminuída precocemente em culturas de megacariócitos *in vitro*, na presença de TPO. Esse dado sugeria que a desregulação dessa expressão poderia explicar, ao menos em parte, a superprodução e a diferenciação de plaquetas, já que *BCL-X_L* é essencial para a megacariocitopoese⁽²²⁾. Florena et al. mostraram, em biópsias de pacientes com TE e MF, o aumento de marcação de *BCL-X_L* em TE e, em MF, a elevação da marcação para *Bax, Bad* e *caspase-3*, nos megacariócitos⁽²³⁾.

Gasparotto et al. detectaram, em células *CD34+* e leucócitos de pacientes com PV, alteração da expressão de genes antiapoptóticos *BCL-2, CIAP-2, CIAP-1*,

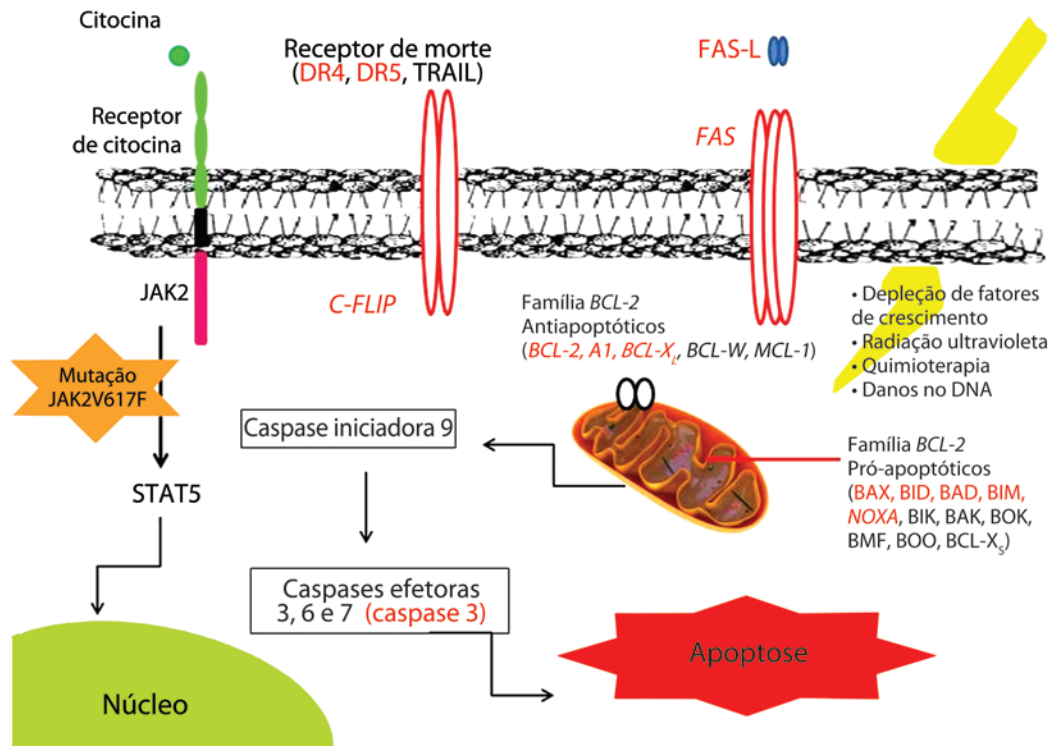


Figura 1. Representação das vias extrínseca e intrínseca da apoptose celular e da via JAK/STAT em células de pacientes com neoplasias mieloproliferativas (policitemia vera, trombocitemia essencial e mielofibrose primária). As moléculas que regulam a apoptose, cuja expressão está alterada nessas neoplasias, estão destacadas em vermelho. Ilustração: Natália de Souza Nunes

C-FLIP e *AI*, e pró-apoptóticos *NOXA*, *FAS* e *BAX*, que controlam a apoptose⁽¹⁴⁾. Tognon et al. relataram a desregulação da expressão de moléculas da via extrínseca, como *FAS*, *FASL*, *FAIM*, *C-FLIP*, e os receptores de TRAIL-DR4 e DR5 em PV, TE e MF⁽¹⁶⁾ e da via intrínseca, como o aumento da expressão dos genes antiapoptóticos *AI*, *BCL-2*, *BCL-X_L* e *BCL-W* e diminuição da expressão dos genes *BID* e *BIM_{EL}*, em leucócitos, em TE e MF⁽¹⁵⁾. Além disso, foi descrita a resistência das células de pacientes à apoptose em ensaios funcionais com indutores apoptogênicos clássicos⁽¹⁶⁾, além da associação da porcentagem de alelos mutados JAK2V617F com a expressão dos genes pró-apoptóticos *BAX*, *BIK* e *BAD*, assim como a correlação entre a expressão dos genes *AI*, *BAX* e *BIK* e o gene *PRVI*, receptor de superfície celular envolvido nos processos de proliferação celular⁽¹⁵⁾. As alterações de expressão de moléculas envolvidas na regulação da apoptose em NMPC, já descritas na literatura, estão compiladas na figura 1.

Todos esses estudos aqui descritos, que mostram alteração na expressão de moléculas que participam da regulação das vias intrínseca e extrínseca da apoptose, assim como os achados de estudos funcionais, que mostraram resistência à apoptose, indicam que a desregulação da apoptose nas NMPC é um mecanismo envolvido na fisiopatologia dessas doenças. Os achados de associação das alterações com a presença da mutação JAK2V617F nos pacientes permitem inferir que a elevada atividade da tirosina quinase interfere na expressão de vários genes relacionados à proliferação e à morte celular. A relação da expressão de moléculas da apoptose com a JAK2 ou STAT5 tem sido mostrada na literatura há um bom tempo. Em modelos de NMPC, Gozgit et al. mostraram o efeito de inibidores da JAK2 na expressão de *BCL-X_L* e *BAD*⁽²⁴⁾, e Rubert et al. demonstraram a inter-relação entre a atividade da JAK2 com a expressão de *BIM*, *MCL-1* e *BCL-X_L*⁽²⁵⁾.

O entendimento dos mecanismos fisiopatológicos faz-se necessário para que se desenvolvam terapias com alvos específicos. A identificação das principais moléculas alteradas nas NMPC permite o desenvolvimento de fármacos mais direcionados na fisiopatologia da doença, com alta eficácia e menores efeitos adversos, o que contribui para a adesão do paciente às terapias.

Tratamento das neoplasias mieloproliferativas crônicas

Atualmente, os pacientes com NMPC são tratados com citorredutores (hidroxicarbamida), imunomoduladores (por exemplo: interferon alfa – IFN- α – oral e talidomida), agentes bloqueadores de citocinas (antagonista de interleucina – IL – 5 e 6) e inibidores de tirosina quinase JAK2⁽²⁶⁾.

Desde a descrição da mutação JAK2V617F, em 2005, começou-se a busca por um fármaco que tivesse como alvo essa tirosina quinase e que pudesse ser utilizado no tratamento de pacientes com NMPC. Em 2011, existiam alguns inibidores da JAK quinase que estavam em fase avançada de estudo clínico, como o INCB018424 (ruxolitinib), o TG101348, o SB1518 e o CEP-701 (lestaurtini-be)⁽²⁷⁾. Estudos com essas drogas mostraram que todas reduzem a esplenomegalia e os sintomas constitucionais, sem alterar as características moleculares ou histológicas presentes nas NMPC⁽²⁷⁾. Em novembro de 2011, o INCB018424 (Incyte/NOVARTIS), foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de pacientes com MF de risco intermediário e alto (nome comercial: Jakafi®, Incyte Corp.) após dois estudos de fase III que mostraram a redução da esplenomegalia e a melhora dos sintomas. Esses estudos também mostraram que tanto pacientes positivos quanto negativos responderam ao tratamento com esse inibidor. Evidências recentes mostraram que o tratamento poderia mudar o curso da doença, mas os estudos não mostram grandes mudanças no grau de fibrose e na redução da carga alélica para pacientes com JAK2V617F^(28,29).

Um aspecto relevante no desenvolvimento de novas terapias para neoplasias seria a possibilidade de desenvolver novas drogas que tenham como alvos moléculas fundamentais para regulação de vias de sinalização celular envolvidas em proliferação e morte celular, como a via da apoptose. A inibição de moléculas antiapoptóticas da família *BCL-2*, com moléculas que mimetizam o domínio BH3-only (*ABT-737* e *AT-101*, dentre outras); com oligonucleotídeos *antisense* ou RNA de interferência, são abordagens investigadas no tratamento de neoplasias⁽³⁰⁾. Essa estratégia objetiva a sensibilização das células à apoptose e parece promissora para as NMPC, visto que alterações na expressão de moléculas reguladoras da apoptose têm sido descritas nessas desordens. Moléculas antagonistas de IAPs e oligonucleotídeos *antisense* para IAPs são investigados como terapia para neoplasias, por exemplo, de pulmão, com drogas em fase de testes pré-clínicos e clínicos⁽²⁾.

Vislumbra-se, no futuro, a possibilidade da utilização das moléculas envolvidas na apoptose como marcadores de prognóstico e diagnóstico para essas doenças.

REFERÊNCIAS

1. Thomadaki H, Scorilas A. BCL2 family of apoptosis-related genes: functions and clinical implications in cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2006;43(1):1-67.
2. Fulda S, Vucic D. Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(2):109-24. Erratum in: *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(4):331.
3. Favaloro B, Allocati N, Graziano V, Di Ilio C, De Laurenzi V. Role of Apoptosis in disease. *Aging*. 2012;4(5):330-49.

4. Reed JC, Tanaka S. Somatic point mutations in the translocated bcl-2 genes of non-Hodgkin's lymphomas and lymphocytic leukemias: implications for mechanisms of tumor progression. *Leuk Lymph*. 1993;10(3):157-63.
5. Reed JC. Bcl-2-family proteins and hematologic malignancies: history and future prospects. *Blood*. 2008;111(7):3322-30. Erratum in: *Blood*. 2008;112(2):452.
6. Aichberger KJ, Mayerhofer M, Krauth MT, Skvara H, Florian S, Sonneck K, et al. Identification of mcl-1 as a BCR/ABL-dependent target in chronic myeloid leukemia (CML): evidence for cooperative antileukemic effects of imatinib and mcl-1 antisense oligonucleotides. *Blood*. 2005;105(8):3303-11.
7. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-51.
8. Kaushansky K. On the molecular origins of the chronic myeloproliferative disorders: it all makes sense. *Blood*. 2005;105:4187-90.
9. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia*. 2010;24(6):1128-38.
10. Emanuel RM, Dueck AC, Geyer HL, Kiladjian JJ, Slot S, Zweegman S et al. Myeloproliferative Neoplasm (MPN) Symptom Assessment Form Total Symptom Score: Prospective International Assessment of an Abbreviated Symptom Burden Scoring System Among Patients With MPNs. *J Clin Oncol*. 2012;30(33):4098-103.
11. Vainchenker W, Delhommeau F, Villeval J. Molecular pathogenesis of the myeloproliferative diseases. *Hematology education: the education program for the annual congress of the European Hematology Association; Berlin, Germany: European Hematology Association; 2007:239-46.*
12. Santos FP, Verstovsek S. Therapy with JAK2 inhibitors for myeloproliferative neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2012;26(5):1083-99.
13. Passamonti F, Rumi E. Clinical relevance of JAK2 (V617F) mutant allele burden. *Haematologica*. 2009;94(1):7-10.
14. Gasparotto EP, Tognon R, Ferreira AF, Oliveira GL, Palma PV, Zanichelli MA, et al. Deregulated expression of A1, Bcl-2, Bcl-xL, and Mcl-1 antiapoptotic proteins and Bid, Bad, and Bax proapoptotic genes in polycythemia vera patients. *Braz J Pharm Sci*. 2011;47:873-86.
15. Tognon R, Gasparotto EP, Neves RP, Nunes NS, Ferreira AF, Palma PV, et al. Deregulation of apoptosis-related genes is associated with PRV1 overexpression and JAK2 V617F allele burden in Essential Thrombocythemia and Myelofibrosis. *J Hematol Oncol*. 2012;5:2.
16. Tognon R, Gasparotto EP, Leroy JM, Oliveira GL, Neves RP, Carrara RC, et al. Differential expression of apoptosis-related genes from death receptor pathway in chronic myeloproliferative diseases. *J Clin Pathol*. 2011;64(1):75-82.
17. Fulda S, Debatin KM. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene*. 2006;25(34):4798-811.
18. Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther*. 2005;4(2):139-63.
19. Huo J, Xu S, Guo K, Zeng Q, Lam KP. Genetic deletion of faim reveals its role in modulating c-FLIP expression during CD95-mediated apoptosis of lymphocytes and hepatocytes. *Cell Death Differ*. 2009;16(7):1062-70.
20. Fernandez-Luna JL, Silva M, Richard C, Sanz C, Benito A. Pathogenesis of polycythemia vera. *Haematologica*. 1998;83(2):150-8.
21. Zeuner A, Pedini F, Signore M, Ruscio G, Messina C, Tafuri A, et al. Increased death receptor resistance and FLIPshort expression in polycythemia vera erythroid precursor cells. *Blood*. 2006;107(9):3495-502.
22. Zhang L, Zhao H, Sun A, Lu S, Liu B, Tang F, et al. Early down-regulation of Bcl-xL expression during megakaryocytic differentiation of thrombopoietin-induced CD34+ bone marrow cells in essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2004;89(10):1199-206.
23. Florena AM, Tripodo C, Di Bernardo A, Iannitto E, Guarnotta C, Porcasi R, et al. Different immunophenotypical apoptotic profiles characterise megakaryocytes of essential thrombocythaemia and primary myelofibrosis. *J Clin Pathol*. 2009;62(4):331-8.
24. Gozgit JM, Beberitz G, Patil P, Ye M, Parmentier J, Wu J, et al. Effects of the JAK2 inhibitor, AZ960, on Pim/BAD/BCL-xL survival signaling in the human JAK2 V617F cell line SET-2. *J Biol Chem*. 2008;283(47):32334-43.
25. Rubert J, Qian Z, Andraos R, Guthy DA, Radimerski T. Bim and Mcl-1 exert key roles in regulating JAK2V617F cell survival. *BMC Cancer*. 2011;11:24.
26. Barosi G, Rosti V. Novel strategies for patients with chronic myeloproliferative disorders. *Curr Opin Hematol* 2009;16(2):129-34.
27. Pardanani A, Tefferi A. Targeting myeloproliferative neoplasms with JAK inhibitors. *Curr Opin Hematol*. 2011;18(2):105-10.
28. Deisseroth A, Kaminskas E, Grillo J, Chen W, Saber H, Lu HL, et al. U.S. Food and Drug Administration approval: ruxolitinib for the treatment of patients with intermediate and high-risk myelofibrosis. *Clin Cancer Res*. 2012;18(12):3212-7.
29. Mascarenhas J, Mughal TI, Verstovsek S. Biology and Clinical Management of Myeloproliferative Neoplasms and Development of the JAK Inhibitor Ruxolitinib. *Curr Med Chem*. 2012;19(26):4399-413.
30. Burz C, Berindan-Neagoe I, Balacescu O, Irimie A. Apoptosis in cancer: key molecular signaling pathways and therapy targets. *Acta Oncol*. 2009;48(6):811-21.