

Contents lists available at [ScienceDirect](#)**Acta Haematologica Polonica**journal homepage: www.elsevier.com/locate/achaem**Praca poglądowa/Review**

Przewlekłe nowotwory mieloproliferacyjne Ph ujemne – czerwienica prawdziwa i nadpłytkowość samoistna – kiedy hydroksykarbamid jest nieskuteczny

Chronic Myeloproliferative Neoplasms (Ph negative) – Polycythaemia Vera and Essential Thrombocythaemia; when hydroxycarbamide treatment proves ineffective

Joanna Góra-Tybor*

Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa, Polska

**INFORMACJE O ARTYKULE**

Historia artykułu:

Otrzymano: 05.02.2015

Zaakceptowano: 20.02.2015

Dostępne online: 05.03.2015

Słowa kluczowe:

- czerwienica prawdziwa
- nadpłytkowość samoistna
- oporność
- leczenie

Keywords:

- Polycythaemia Vera
- Essential Thrombocythaemia
- Resistance
- Therapy

A B S T R A C T

Polycythaemia Vera (PV) and Essential Thrombocythaemia (ET) are classical Chronic Myeloproliferative Neoplasms BCR-ABL(-). Despite their low incidence rates, survival of PV and ET patients is high, thereby making up a significant proportion of those cared for at the haematology clinic. Most patients requiring cytoreductive therapy receive hydroxycarbamide (HU) as the drug of choice, however around 20% prove to be either HU resistant or intolerant. In such cases, this article discusses the therapeutic options available for their treatment.

© 2015 Published by Elsevier Sp. z o.o. on behalf of Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii.

* Adres do korespondencji: Klinika Hematologii Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02-776 Warszawa, Polska. Tel.: +48 22 34 96 334; fax: +48 22 34 96 327.

Adres email: joannagora@op.pl.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2015.03.001>

0001-5814/© 2015 Published by Elsevier Sp. z o.o. on behalf of Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii.

Wstęp

Główną przyczyną chorobowości i umieralności pacjentów z PV i ET są powikłania zakrzepowo-zatorowe. W dużym badaniu epidemiologicznym obejmującym 1638 pacjentów z PV (ECLAP; *European Collaboration on Low-dose Aspirin*) śmiertelność związana z powikłaniami sercowo-naczyniowymi odpowiadała za 41% wszystkich zgonów i wynosiła 1,5% pacjentów/rok [1]. Skumulowana częstość powikłań zakrzepowo-zatorowych (z wyłączeniem śmiertelnych) wynosiła 3,8:100 pacjentów na rok, nie stwierdzono różnic w częstości powikłań tętniczych i żylnych. Prospektywne badania dotyczące pacjentów z ET wykazały częstość powikłań zakrzepowo-zatorowych wynoszącą 2–4% chorych/rok, z częstością powikłań tętniczych trzykrotnie wyższą od żylnych [2].

Dlatego też głównym celem leczenia, zarówno dla pacjentów z PV, jak i ET jest przede wszystkim zmniejszenie ryzyka powikłań zakrzepowych. Leczenie ma również na celu zmniejszenie objawów ogólnych związanych z chorobą i splenomegalią. Jednocześnie przy decyzji o włączeniu terapii należy wziąć pod uwagę ryzyko transformacji białaczkowej PV i ET.

Podejmując decyzję o włączeniu terapii u chorego na PV i ET, bierze się pod uwagę grupę ryzyka, do której kwalifikuje się pacjent. Do powszechnie przyjętych czynników ryzyka w PV i ET należą wiek powyżej 60 lat i przebycie epizodu zakrzepowego w przeszłości. Wszyscy pacjenci z PV i ET należący do grupy niskiego ryzyka (<60. roku życia i bez epizodów zakrzepowych) powinni być leczeni kwasem acetylosalicylowym i, w przypadku chorych na PV,

krwiopustami mającymi na celu utrzymanie hematokrytu (Hct) < 45%. Pacjenci znajdujący się w grupie wyższego ryzyka (>60. roku życia i/lub z powikłaniami zakrzepowymi w wywiadzie) wymagają dodatkowo terapii cytoredukcyjnej. Dla większości lekiem pierwszego wyboru jest hydroksykarbamid (HU). Początkowa dawka HU wynosi zazwyczaj 0,5 g 2 razy na dobę, a następnie należy ją dostosować do parametrów morfologii krwi obwodowej [3–6]. U około 10% chorych rozwija się oporność na HU, najczęściej wyrażająca się pojawieniem się jedno- lub dwuliniowej cytopenii. U dalszych 10% pacjentów obserwuje się objawy nietolerancji HU, takie jak owrzodzenia na skórze i śluzówkach, gorączkę, objawy ze strony przewodu pokarmowego [7]. Kryteria oporności i nietolerancji dla HU sformułowane przez ELN (*European Leukemia Net*) zamieszczono w tabelach I i II [6]. U pacjentów wymagających wdrożenia terapii II rzutu stosuje się takie leki, jak interferon alfa (IFN α), anagrelid (dla pacjentów z ET) lub busulfan [3–6]. Prowadzone są też badania nad skutecznością nowych grup leków przede wszystkim inhibitorów kinazy JAK [8, 9].

Interferon alfa

IFN α jest skutecznym >lekiem I i II linii u pacjentów z PV i ET. Lek ten jest zazwyczaj stosowany w dawce 3 mln j. podskórnie (sc) 3 razy w tygodniu lub w formie pegylowanej (PEG) 45–180 μ g sc 1 raz w tygodniu. Należy jednak podkreślić, że opublikowane badania z zastosowaniem IFN α nie miały charakteru randomizowanego, przeprowadzone były na stosunkowo niewielkich grupach pacjentów,

Tabela I – Kryteria nietolerancji/oporności na hydroksymocznik (HU) u pacjentów z czerwienicą prawdziwą (PV) wg ELN (2011) [6]

Table I – European Leukemia Net Definition of Resistance/Intolerance to Hydroxyurea in Patients With Polycythaemia Vera (2011) [6]

1. Konieczność krwiopustów, pomimo przynajmniej 3-miesięcznej terapii HU, w dawce ≥ 2 g/d lub
2. Niekontrolowana mieloproliferacja (płytki $>400 \times 10^9/L$, leukocyty $>10 \times 10^9/L$, pomimo przynajmniej 3-miesięcznej terapii HU, w dawce ≥ 2 g/d lub
3. Redukcja wielkości śledziona < 50% (w ocenie palpacyjnej) lub utrzymywanie się objawów związanych ze splenomegalią, pomimo przynajmniej 3-miesięcznej terapii HU, w dawce ≥ 2 g/d lub
4. Liczba neutrofilii $<1,0 \times 10^9/L$ lub płytek $<100 \times 10^9/L$ lub Hgb <10 g/dL na najniższej dawce HU pozwalającej na utrzymanie całkowitej lub częściowej odpowiedzi kliniczno-hematologicznej lub
5. Niehematologiczne objawy niepożądane HU, takie jak: owrzodzenia na skórze i śluzówkach lub inne objawy skórno-śluzówkowe, gorączka, objawy ze strony przewodu pokarmowego

HU – hydroksymocznik; Hgb – hemoglobina

Tabela II – Kryteria nietolerancji/oporności na hydroksymocznik (HU) u pacjentów z nadpłytkowością samoistną (ET) wg ELN (2011) [6]

Table II – European Leukemia Net Definition of Resistance/Intolerance to Hydroxyurea in Patients With Essential Thrombocythaemia (2011) [6]

1. Płytki $>600 \times 10^9/L$ pomimo przynajmniej 3-miesięcznej terapii HU, w dawce ≥ 2 g/d lub
2. Płytki $>400 \times 10^9/L$, leukocyty $<2,5 \times 10^9/L$ na dowolnej dawce HU lub
3. Płytki $>400 \times 10^9/L$, Hgb <10 g/dL na dowolnej dawce HU lub
4. Niehematologiczne objawy niepożądane HU takie jak: owrzodzenia na skórze i śluzówkach, lub inne objawy skórno-śluzówkowe, gorączka, objawy ze strony przewodu pokarmowego

HU – hydroksymocznik; Hgb – hemoglobina

z zastosowaniem różnych preparatów IFN, a przy ocenie odpowiedzi kierowano się różnymi kryteriami [10-14].

Kiladjian i wsp. zastosowali PEG IFN α u 40 pacjentów z PV, uzyskując po roku terapii 95% całkowitych odpowiedzi (CR) [12]. Co więcej, u większości chorych odnotowano zmniejszenie ilości alleli JAK2+ (mediana wyjściowa 45%, a następnie 22,5%, 17,5%, 5% i 3% po 12, 18, 24 i 36 miesiącach terapii). U 7 pacjentów stwierdzono całkowitą odpowiedź molekularną. Tylko u 3 (8%) chorych wystąpiła konieczność przerwania terapii z powodu toksyczności. Huang i wsp. opublikowali wyniki prospektywnego badania obserwacyjnego porównującego skuteczność HU i IFN α -2b u 123 pacjentów z ET i 136 z PV [14]. U pacjentów z ET i dodatnią mutacją JAK obserwowano istotnie wyższy odsetek odpowiedzi hematologicznych (OHR) w grupie leczonej IFN α (83,3% versus 61,4%, $p < 0,01$). Co więcej, w tej grupie pacjentów stwierdzono istotnie dłuższy 5-letni czas wolny od progresji (PFS) (75,9% vs 47,6%, $p < 0,05$). W grupie chorych na PV nie obserwowano różnic w odsetku OHR (70,3% vs 70,8%, $p > 0,05$), natomiast pacjenci leczeni IFN α mieli istotnie więcej odpowiedzi molekularnych (54,7% vs 19,4%, $p < 0,01$). Podobnie jak w grupie pacjentów z ET, chorzy na PV leczeni IFN α mieli istotnie dłuższy 5-letni PFS (66,3% vs 46,7%, $p < 0,01$). Chorzy leczeni IFN α mieli także istotnie lepszą kontrolę objawów związanych z zaburzeniami mikrokrążenia, w szczególności parestezji (14,1% vs 37,5%) i erytromelalgii (9,4% vs 29,2%) ($p < 0,01$). IFN α był dobrze tolerowany, u żadnego pacjenta nie odstawiono leku z powodu objawów niepożądanych. W badaniu fazy II przeprowadzonym przez Quintas-Cardama i wsp. PEG-IFN α -2a zastosowano u 79 pacjentów (40 z PV i 39 z ET) [13]. Odpowiedzi hematologiczne obserwowano u 80% pacjentów z PV i 81% z ET (całkowite odpowiednio u 70% i 76% chorych). Odpowiedzi molekularne stwierdzono u 54% chorych w grupie PV i 38% wśród chorych z ET JAK+ (w tym całkowite odpowiednio u 14% i 6%). Tolerancja leczenia była dobra, tylko 10% pacjentów wymagało odstawienia leku z powodu objawów niepożądanych.

Podsumowując, należy podkreślić znaczną skuteczność IFN α w terapii pacjentów z PV i ET. Stosowanie IFN α pozwala na uzyskanie całkowitych remisji hematologicznych (CHR), u większości chorych, a ponadto powoduje zmniejszenie ilości alleli JAK2+. U części pacjentów obserwowano długie okresy remisji po odstawieniu leczenia. Terapia IFN α częściej niż klasycznymi lekami cytostatycznymi powoduje zniesienie objawów ogólnych PV, zwłaszcza świądu oraz objawów związanych z zaburzeniami mikrokrążenia, takich jak erytromelalgia i parestezje. Nie wiadomo, czy IFN α może mieć wpływ na przebieg ET i PV, zwłaszcza na obniżenie odsetków transformacji do ostrej białaczki szpikowej (AML) i mielofibrozy (MF). Bardzo oczekiwane są wyniki randomizowanych badań porównujących skuteczność IFN α i HU (Interferon Alpha-2b vs HU; NCT01259856 oraz *monopegylated interferon alpha 2b* vs HU; NCT01949805).

U znacznego odsetka chorych terapia IFN α wiąże się z występowaniem objawów niepożądanych, co u około 20-25% prowadzi do zmiany leczenia. Można przypuszczać, że wprowadzenie do terapii interferonów pegylowanych pozwoli na zmniejszenie toksyczności [10-13].

Anagrelid

Anagrelid jest lekiem działającym wybiórczo na układ płytkotwórczy poprzez hamujący wpływ na dojrzewanie i poliploidyzację megakariocytów. Wyniki badania UK-PT1 porównującego skuteczność HU i anagrelidu w grupie 809 pacjentów z ET wysokiego ryzyka opublikowane w 1995 roku wykazały, że w grupie leczonej anagrelidem występowało więcej tętnicznych powikłań zakrzepowych (OR 2,16; $p = 0,03$), powikłań krwotocznych (OR 2,61; $p = 0,008$) oraz transformacji do MF (OR 2,92; $p = 0,01$), natomiast istotnie mniej żylnych powikłań zakrzepowych (OR 0,27, $p = 0,006$) [15]. Kolejne badanie porównujące HU i anagrelid, przeprowadzone w grupie 259 chorych z rozpoznaniem ET zgodnym z kryteriami WHO z 2008 roku, nie wykazało różnic w skuteczności obydwu leków w zakresie częstości powikłań zakrzepowych i krwotocznych [16]. W badaniu nie raportowano danych dotyczących transformacji ET w AML i MF.

Busulfan

U osób starszych, powyżej 70. roku życia, można rozważyć stosowanie busulfanu należącego do cytostatyków alkilujących [3-6]. Należy pamiętać o mielotoksycznym działaniu tego leku i ryzyku nieodwracalnego uszkodzenia szpiku. Nie można też wykluczyć leukemogennego działania busulfanu, zwłaszcza stosowanego w kolejnej linii leczenia. Zazwyczaj początkowa dawka wynosi 4 mg/dobę. W przypadku obniżenia liczby PLT poniżej 150 G/L i/lub liczby WBC poniżej 5 G/L należy zmniejszyć dawkę leku do 2 mg/dobę, natomiast zmniejszenie liczby PLT poniżej 100 G/L i/lub WBC poniżej 3 G/L wiąże się z koniecznością odstawienia leku.

Alvarez-Larrán i wsp. zastosowali busulfan u 36 pacjentów opornych lub nietolerujących HU (15 z PV i 21 z ET) [17]. CHR uzyskało 83% chorych, u 3 spośród 9 badanych pacjentów (33%) stwierdzono częściową odpowiedź molekularną. Busulfan wymagał odstawienia u 27 pacjentów (75%), u 18 (67%) w związku z osiągnięciem CHR, u 8 (30%) z powodu toksyczności hematologicznej, u 1 chorego z powodu transformacji do AML. Po medianie obserwacji wynoszącej 721 dni u 2 chorych wystąpiła transformacja do AML i u 1 do zespołu mielodysplastycznego (MDS).

Inhibitory kinazy JAK – ruksolitynib

U większości pacjentów z PV stwierdza się obecność mutacji somatycznych genu kinazy tyrozynowej JAK2 (*Janus kinase 2*; 9p24), u 96% dotyczą one eksonu 14 (mutacja V617F) i u 3% eksonu 12. Kinaza JAK2 należy do cytoplazmatycznych kinaz tyrozynowych i jest elementem szlaku sygnałowego zależnego od receptorów cytokinowych, prowadzącego do aktywacji czynników transkrypcyjnych STAT (*signal transducers and activators of transcription*). Mutacje kinazy JAK2 prowadzą do jej konstytutywnej aktywacji. Mutację JAK2 V617F stwierdza się również u około 50% pacjentów z ET, kolejnych 3-5%

chorych charakteryzuje się obecnością mutacji genu *MPL* (*myeloproliferative leukemia virus oncogene*; 1p34) W515L/K w receptorze dla trombopoetyny (TPO) [18–20]. W 2013 roku dwie niezależne grupy badawcze zidentyfikowały mutacje somatyczne nowego onkogenu *CALR* (*calreticulin*), kodującego białko kalretikulinę występujące u około 80% pacjentów z ET i mielofibrozą (MF; *myelofibrosis*), nie będących nosicielami mutacji *JAK2* i *MPL* [21, 22]. *CALR* jest wysoce konserwatywnym białkiem zaangażowanym w różnorodne procesy istotne dla funkcjonowania komórki, takie jak proliferacja i apoptoza. Zlokalizowana w retikulum endoplazmatycznym *CALR* kontroluje prawidłowe składanie glikoprotein i moduluje homeostazę wapniową [23]. Mutacje genu *CALR*, podobnie jak mutacja *JAK*, powodują konstytutywną aktywację szlaku *STAT* [22].

Można zatem przypuszczać, że u pacjentów z PV i ET skuteczne okażą się leki z grupy inhibitorów kinazy *JAK1* i *JAK2*, takie jak ruksolitinib.

W badaniu II fazy z zastosowaniem ruksolitynybu u 34 pacjentów z PV nietolerujących lub opornych na HU wykazano, że lek ten powoduje obniżenie Hct poniżej 45% bez konieczności krwioupuścić u 97% chorych [8]. U większości chorych obserwowano poprawę w zakresie świądu, nocnych potów, bólów kostnych, a także normalizację rozmiarów śledziony. Najczęstszymi objawami niepożądanymi była małopłytkowość i niedokrwistość, które w stopniu 3 wg CTCAE wystąpiły u 3 pacjentów i u wszystkich ustąpiły po zmniejszeniu dawki leku.

Vannucchi i wsp. opublikowali wyniki randomizowanego badania III fazy porównującego skuteczność ruksolitynybu i standardowej terapii (ST) w grupie 222 pacjentów opornych lub nietolerujących HU [9]. Celem pierwszorzędnym badania było niezależnienie od krwioupuścić (Hct < 45%) i zmniejszenie śledziony o co najmniej 35% w 32. tygodniu leczenia. Cel pierwszorzędowy spełniło 21% pacjentów w grupie ruksolitynybu i 1% w grupie ST ($p < 0,001$). Kontrola Hct została osiągnięta odpowiednio u 60% i 20% w grupie ruksolitynybu i ST. CHR stwierdzono u 24% chorych leczonych ruksolitynybem i 9% w grupie ST ($p = 0,003$). Ponadto w grupie ruksolitynybu obserwowano istotnie lepszą kontrolę objawów ogólnych i objawów związanych z zaburzeniami mikrokrążenia (50% vs 5%). Tolerancja leczenia była dobra, w grupie ruksolitynybu obserwowano niedokrwistość 3. i 4. stopnia u 2% pacjentów i małopłytkowość 3. i 4. stopnia u 5%, w grupie leczonej ST odpowiednie odsetki wynosiły 0% i 4%. U pacjentów leczonych ruksolitynybem częściej obserwowano zakażenia *Herpes zoster* (6% vs 0%). Powikłania zakrzepowe wystąpiły u 1 chorego leczonego ruksolitynybem i 6 otrzymujących ST. Badanie wykazało znacznie lepszą skuteczność ruksolitynybu w porównaniu z ST u pacjentów z PV opornych lub nietolerujących HU zarówno pod względem kontroli Hct, jak i zmniejszenia objawów ogólnych. Należy jednak podkreślić, że w grupie ST ponad 60% chorych otrzymywało HU (mimo spełnienia kryterium oporności lub nietolerancji) i tylko 11% było leczonych $INF\alpha$. Odzwierciedla to najprawdopodobniej rutynowe postępowanie lekarskie w warunkach tzw. *real life*.

Inhibitory deacetylazy histonów

Wykazano, że deacetylazy histonów odgrywają znaczącą rolę w epigenetycznej regulacji ekspresji genów związanej z patogenezą MPN BCR-ABLminus [24]. Stąd próby zastosowania leków z grupy inhibitorów deacetylaz histonów (HDACi) u pacjentów z PV i ET opornych na HU.

Andersen i wsp. włączyli do badania II fazy z zastosowaniem vorinostatu 19 pacjentów z ET i 44 z PV [25]. W badanej grupie znajdowali się zarówno pacjenci wcześniej nie leczeni, jak i oporni na HU. Odpowiedź hematologiczną obserwowano u 35% chorych, a odsetek pacjentów ze świądem zmniejszył się z 19% do 0%. U 65% chorych obserwowano zmniejszenie ilości allele *JAK2* V617F. W badanej grupie obserwowano znaczną toksyczność vorinostatu, u 28 chorych odstawiono lek z powodu występowania objawów niepożądanych, takich jak biegunka, zmęczenie, uszkodzenie nerek.

Lepszą tolerancję HDACi obserwowali autorzy badania II fazy z zastosowaniem givinostatu w połączeniu z HU u 44 pacjentów z PV opornych na HU [26]. Odpowiedź hematologiczną obserwowano u 50% chorych, u ponad 60% stwierdzono ustąpienie świądu. Leki były dość dobrze tolerowane, objawy niepożądane spowodowały odstawienie vorinostatu u 8 chorych (18%), tylko u 2 pacjentów odnotowano objawy niepożądane 3. stopnia.

Świąd i objawy związane z zaburzeniami mikrokrążenia

Pomimo normalizacji parametrów morfologii krwi, u chorych z PV może się utrzymywać uporczywy świąd. Klasyczne leczenie cytostatyczne z zastosowaniem HU jest często nieskuteczne. Wskazane są wówczas leki z grupy blokerów receptora histaminowego 1, cholestyramina, selektywne inhibitory wychwytu serotoniny (np. paroksetyna), a także fotochemioterapii PUVA (*Psoralen ultra-violet*). Objawy erytromelalgii często znosi kwas acetylosalicylowy, niekiedy konieczne dla osiągnięcia skuteczności jest zwiększenie częstości podawania do 2 razy na dobę [3–6].

W przypadku utrzymywania się objawów skuteczna może okazać się zmiana terapii na $INF\alpha$. Bardzo obiecujący pod względem kontroli objawów ogólnych wydaje się również inhibitor kinazy *JAK* – ruksolitinib [8, 9].

Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

- [1] Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol* 2005;23:2224–2232.
- [2] Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood* 2011;117:5857–5859.
- [3] Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2013;88:507–516.
- [4] Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2015 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2015;90:163–173.
- [5] Passamonti F. How I treat polycythemia vera. *Blood* 2012;120:275–284.
- [6] Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2011;29:761–770.
- [7] Alvarez-Larrán A, Pereira A, Cervantes F, et al. Assessment and prognostic value of the European LeukemiaNet criteria for clinicohematologic response, resistance, and intolerance to hydroxyurea in polycythemia vera. *Blood* 2012;119:1363–1369.
- [8] Verstovsek S, Passamonti F, Rambaldi A, et al. A phase 2 study of ruxolitinib, an oral JAK1 and JAK2 inhibitor, in patients with advanced polycythemia vera who are refractory or intolerant to hydroxyurea. *Cancer* 2014;120:513–520.
- [9] Vannucchi AM, Kiladjan JJ, Griesshammer M, et al. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera. *N Engl J Med* 2015;372:426–435.
- [10] Silver RT. Are all interferons the same for therapy in polycythemia vera? *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2013;13 (Suppl 2):S305–S306.
- [11] Kiladjan JJ, Mesa RA, Hoffman R. The renaissance of interferon therapy for the treatment of myeloid malignancies. *Blood* 2011;117:4706–4715.
- [12] Kiladjan JJ, Cassinat B, Chevret S, et al. Pegylated interferon-alfa-2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood* 2008;112:3065–3072.
- [13] Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Manshoury T, et al. Pegylated interferon alfa2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. *J Clin Oncol* 2009;27:5418–5424.
- [14] Huang BT, Zeng QC, Zhao WH, Li BS, Chen RL. Interferon α -2b gains high sustained response therapy for advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera with JAK2V617F positive mutation. *Leuk Res* 2014;38:1177–1183.
- [15] Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, et al. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 2005;353:33–45.
- [16] Gisslinger H, Gotic M, Holowiecki J, et al. Anagrelide compared to hydroxyurea in WHO-classified essential thrombocythemia: the ANAHYDRET Study, a randomized controlled trial. *Blood* 2013;121:1720–1728.
- [17] Alvarez-Larrán A, Martínez-Avilés L, Hernández-Boluda JC, et al. Busulfan in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia refractory or intolerant to hydroxyurea. *Ann Hematol* 2014;93:2037–2043.
- [18] Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054–1061.
- [19] James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144–1148.
- [20] Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007;356:459–468.
- [21] Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* 2013;369:2391–2405.
- [22] Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2013;369:2379–2390.
- [23] Michalak M, Groenendyk J, Szabo E, Gold LI, Opas M. Calreticulin, a multiprocess calcium-buffering chaperone of the endoplasmic reticulum. *Biochem J* 2009;417:651–666.
- [24] Skov V, Larsen TS, Thomassen M, et al. Increased gene expression of histone deacetylases in patients with Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Leukemia & Lymphoma* 2012;53:123–129.
- [25] Andersen CL, Mortensen NB, Klausen TW, et al. A phase II study of vorinostat (MK-0683) in patients with polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* 2013;162:498–508.
- [26] Finazzi G, Vannucchi AM, Martinelli V, et al. A phase II study of Givinostat in combination with hydroxycarbamide in patients with polycythaemia vera unresponsive to hydroxycarbamide monotherapy. *Br J Haematol* 2013;161:688–694.