

## Influencia de la carga alélica del JAK2V617F en pacientes cubanos con trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria

Influence of JAK2V617F allelic burden in Cuban patients with essential thrombocythemia and primary myelofibrosis

Lesbia Fernández Martínez<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8359-3061>

Heidys Garrote Santana<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8449-1278>

Ana María Amor Vigil<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9182-2664>

Carmen Alina Díaz Alonso<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6544-0662>

Julio Dámaso Fernández Águila<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1949-443X>

Kalia Lavaut Sánchez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6906-2259>

Annelys González González<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8042-3155>

Rosa María Lam Díaz<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9909-3862>

Yamilé Quintero Sierra<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6872-4326>

Adrián Romero González<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5029-9616>

Daniel Cabrera Hernández<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1135-2891>

<sup>1</sup>Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Hospital General Universitario “Gustavo Aldereguía Lima”, Cienfuegos, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [rchematologia@infomed.sld.cu](mailto:rchematologia@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** La frecuencia de la mutación JAK2V617F se estima entre el 50 y 60 % en pacientes con trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria. El 30 % de los pacientes con policitemia vera y mielofibrosis primaria. Entre 2-4 % de los pacientes con trombocitemia esencial presentan pérdida de heterocigosidad.

**Objetivos:** Evaluar la influencia de la carga alélica de la mutación JAK2V617F y su relación con variables clínico-hematológicas en el diagnóstico de estas enfermedades en pacientes cubanos.

**Métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo y longitudinal en el Instituto de Hematología e Inmunología entre 2010 y 2020. Se incluyeron todos los pacientes con sospecha de trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria con muestras de ADN válidas. Se les cuantificó la carga alélica de la mutación por PCR en tiempo real.

**Resultados:** Se detectó la mutación en 66,7 % de los diagnosticados con trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria. El 62,5 % de los pacientes con mielofibrosis primaria fueron homocigotos a la mutación, mientras que en la trombocitemia esencial solo el 20,8 %. La diferencia de medias de cargas alélicas entre ambas enfermedades fue estadísticamente significativa. No se encontraron diferencias significativas en la comparación de las variables clínicas y hematológicas en estas enfermedades ni asociación con la carga alélica con excepción de las plaquetas en la mielofibrosis primaria.

**Conclusiones:** El estudio estuvo limitado por la escasa muestra de pacientes, pero se corresponde con otras investigaciones que sostienen el concepto de que la presentación fenotípica de las neoplasias mieloproliferativas está influenciada por la carga mutacional del JAK2V617F.

**Palabras clave:** JAK2V617F; trombocitemia esencial; mielofibrosis primaria.

## ABSTRACT

**Introduction:** The frequency of the JAK2V617F mutation is estimated to be between 50 % and 60 % in patients with essential thrombocythemia and primary myelofibrosis. 30 % of patients with polycythemia vera and primary myelofibrosis and 2-4 % of patients with essential thrombocythemia show loss of heterozygosity.

**Objectives:** To evaluate the influence of the allelic load of the JAK2V617F mutation in the diagnosis of these diseases in Cuban patients and its relationship with clinical-hematological variables.

**Methodology:** A retrospective, descriptive and longitudinal study was carried out at the Institute of Hematology and Immunology between 2010 and 2020. All patients with suspected essential thrombocythemia and primary myelofibrosis with valid DNA samples were included. The allelic load of the mutation was quantified by real-time PCR.

**Results:** The mutation was detected in 66.7 % of those diagnosed with essential thrombocythemia and primary myelofibrosis. 62.5 % of the patients with primary myelofibrosis were homozygous for the mutation, while in essential thrombocythemia only 20.8 %. The difference in mean allelic loads between both diseases was statistically significant. No significant differences were found in the comparison of clinical and hematological variables in these diseases or association with allelic load, with the exception of platelets in primary myelofibrosis.

**Conclusions:** The study was limited by the small sample of patients, but it corresponds to other investigations that support the concept that the phenotypic presentation of myeloproliferative neoplasms is influenced by the mutational load of JAK2V617F.

**Keywords:** JAK2V617F; essential thrombocythemia; primary myelofibrosis.

Recibido: 28/12/2021

Aceptado: 10/10/2022

## Introducción

La mutación JAK2V617F presente en las neoplasias mieloproliferativas (NMP) clásicas *BCR-ABL1* negativas consiste en el cambio de una guanina por una timina en el nucleótido 1 849 del exón 14 del gen *JAK2* en el cromosoma 9. Esto genera el cambio de una valina (V) por fenilalanina (F) en la posición 617 del dominio autoinhibitorio JH2 del JAK2. Como consecuencia, se produce una activación constitutiva de la proteína JAK2 en ausencia de la unión del ligando al receptor hematopoyético, que provoca una intensificación permanente de la vía de JAK/STAT y en menor extensión de las vías Ras-MAPK y PI3K/AKT, que contribuyen a una excesiva diferenciación y proliferación de células mieloides, eritroides y megacariocíticos.<sup>(1,2,3)</sup>

Esta mutación es la alteración molecular más prevalente descrita en la NPM clásicas *BCR-ABL1* negativas, un grupo fenotípicamente diverso de hemopatías malignas de origen clonal caracterizadas por una sobreproducción simple o multilineal de los elementos eritroides, mieloides y megacariocíticos.<sup>(4,5)</sup> En la trombocitemia esencial (TE) y la mielofibrosis primaria (MFP) alrededor del 50-60 % de los casos presentan la alteración molecular V617F del JAK2.<sup>(3,5,6)</sup>

La mutación JAK2V617F puede estar presente en un estado heterocigoto o puede progresar a la homocigosidad. La pérdida de heterocigosidad (LOH, por sus siglas en inglés) se produce con mayor frecuencia por un evento de recombinación mitótica homóloga del brazo corto del cromosoma 9 entre el alelo mutante y el no mutado del *JAK2* que resulta en disomíauniparental (9pUPD). En consecuencia, la cantidad de JAK2 mutado versus no mutado puede variar significativamente, lo que introduce el concepto de carga alélica.

El término de homocigosidad se emplea para indicar a aquellos pacientes en quienes el nivel del alelo mutante es mayor que el 50 % del *JAK2* total (mutante más no mutado). La LOH del

JAK2V617 se ha observado en aproximadamente el 30 % de los pacientes con policitemia vera (PV) y MFP, en comparación con solo el 2-4 % de los pacientes con TE.<sup>(3,7,8,9)</sup>

La detección de esta mutación y la cuantificación de su carga alélica es útil en el establecimiento del pronóstico, el fenotipo de la enfermedad, las complicaciones y la evolución de las NMP. De hecho, la carga alélica del JAK2V617F parece correlacionarse con mayor riesgo de trombosis y evolución a una mielofibrosis secundaria en la PV y, posiblemente, en la TE. Por otra parte, la baja carga alélica se asocia con una reducción de la supervivencia en la MFP.<sup>(10,11)</sup>

Este trabajo se propuso evaluar la influencia de la carga alélica de la mutación JAK2V617F en el diagnóstico de los pacientes cubanos con TE y MFP y su relación con variables clínico-hematológicas en estas enfermedades.

## Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo y longitudinal en pacientes que tenían estudios previos de la mutación JAK2V617F por reacción en cadena de la polimerasa alelo específico cualitativo en el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) en el periodo de julio de 2010 a diciembre de 2020.

Los criterios de elegibilidad incluyeron a todos los pacientes con sospecha de TE y MFP con muestras de ADN genómico válidas para ser procesadas y que cumplieran con los criterios diagnósticos para las NMP clásicas *BCR-ABL1* negativas emitidas por la OMS en 2016. No se admitieron los pacientes que presentaban otra patología o condición que pudiera influir en los resultados de las investigaciones de laboratorio y aquellos en los que no se pudo obtener información en las historias clínicas acerca de las variables útiles al estudio.

La muestra estuvo constituida por 53 pacientes con sospecha de TE, MFP y NMP no clasificadas procedentes del IHI y del servicio de Hematología del Hospital “Gustavo Aldereguía Lima” ubicado en la provincia de Cienfuegos.

Se empleó el libro de registro del laboratorio de biología molecular para seleccionar a los pacientes con diagnóstico presuntivo de TE y MFP con estudio molecular de la mutación JAK2V617F.

Todos los diagnósticos fueron reevaluados utilizando las historias clínicas en la que se obtuvieron los siguientes datos: edad, sexo, hemoglobina, conteo global de leucocitos y plaquetas, así como la presencia de esplenomegalia, hepatomegalia, antecedentes de trombosis arterial o venosa y de sangrado. Esta información fue corroborada por los hematólogos de asistencia.

Se seleccionaron aquellos pacientes cuyas muestras de ADN obtenidas de sangre periférica anticoagulada con EDTA y conservadas en el laboratorio de Biología Molecular del IHI presentaban una concentración de ADN genómico mayor o igual a 10 ng/μL y un cociente de A260/A280 superior a 1,7 (comprobado a través del equipo espectrofotómetro de microplacas EPOCH).

Las muestras más antiguas fueron aisladas mediante cloroformo-álcool isoamílico (24:1) y precipitación con etanol absoluto mientras que en las más recientes se empleó el QIAamp DNA Blood Mini Kit (cat. no. 51104) de QIAGEN, Alemania.

Las muestras de ADN genómico fueron normalizadas en una concentración de 10 ng/μL diluidas en solución tampón TE, provisto por el fabricante del kit ipsogen JAK2 RGQ PCR (cat. no. 673613) de QIAGEN, Alemania.

Se les cuantificó la carga alélica de la mutación por PCR en tiempo real en el equipo Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

Este ensayo se centra en el principio de hidrólisis de oligonucleótidos de la qPCR. Se realizó el procesamiento analítico según las especificaciones del fabricante. Los valores de C<sub>T</sub> se plotearon en el software del equipo en los que se obtuvo una curva de calibración de los alelos mutados (MT, por sus siglas en inglés) y no mutados (WT, por sus siglas en inglés).

La curva estándar se utilizó para calcular el log<sub>10</sub> del número de copias de los alelos nativos y mutados en las muestras desconocidas. Los resultados se expresaron como porcentaje de JAK2V617F según la siguiente fórmula:

$$(\%) \text{ JAK2V617F} = \frac{\text{CN MT}}{(\text{CN MT} + \text{CN WT})} \cdot 100$$

Para facilitar el cálculo de los resultados se creó una hoja de cálculo en el programa Excel y se introdujo los valores de C<sub>T</sub>, así como al intercepto y pendiente de cada curva estándar de WT y MT para que devolviera el resultado en porcentaje.

De acuerdo con la literatura revisada el porcentaje de la carga alélica del JAK2V617F por qPCR-AE se agrupó como: heterocigoto (≥ 0,042- 50 %), homocigoto (≥ 51 %) y no detectado (≤ 0,042 %). Los heterocigotos se subdividieron a su vez en bajo (0,042-25 %) y medio (≥26-50 %). Se respetó el límite de detección establecido por el fabricante del kit.

La información se recopiló en una planilla de recolección de datos, que constituyó la fuente primaria. Se creó una base de datos utilizando el Microsoft Office Excel 2010. Toda la

información fue revisada y clasificada para ser sometida después a las distintas etapas de análisis estadísticos.

### **Análisis estadístico**

El procesamiento de los datos se realizó con el empleo del paquete estadístico SPSS versión 15.0 para Windows y con el paquete estadístico Past 4.03.

Como medida de resumen para las variables cuantitativas se utilizaron la mediana, la media y la desviación estándar y para las cualitativas las frecuencias absolutas y relativas.

Para determinar asociación entre las variables clínicas y la mutación se utilizó la prueba Chi Cuadrado de independencia.

Se empleó el análisis de regresión lineal simple y la correlación lineal por rangos de Spearman para establecer la asociación entre la carga alélica y las variables cuantitativas continuas.

La comparación de las variables de laboratorio se realizó mediante la prueba de Mann-Whitney y prueba de Kruskal-Wallis para dos y tres grupos respectivamente. En estas pruebas se tuvo en cuenta un nivel de significación de 0,05. En caso de encontrarse diferencias significativas en las comparaciones de tres grupos, para saber cuáles diferían entre sí, se realizaron las comparaciones a posteriori mediante la prueba de Mann-Whitney acompañada de la corrección de Bonferroni, con un nivel de significación de 0,017.

### **Procedimientos éticos**

Para realizar esta investigación se contó con la autorización de la dirección del IHI, con la aprobación del Consejo Científico y del Comité de Ética de las Investigaciones, de la institución. Se respetó lo establecido en los principios básicos de la Declaración de Helsinki que contiene las recomendaciones a seguir en la investigación en seres humanos.

Las muestras de ADN empleadas para el estudio fueron obtenidas con anterioridad para estudios de la mutación JAK2V617F. Se garantizó en todo momento, la integridad del paciente y la confidencialidad de la información.

### **Resultados**

Se incluyeron 53 pacientes con sospecha de NMP con una relación mujer/hombre: 2,8 y un rango de edad de 31 a 78 años.

Se evaluaron 36 pacientes con sospecha de TE, 12 de MFP y 5 de NMP no clasificada.

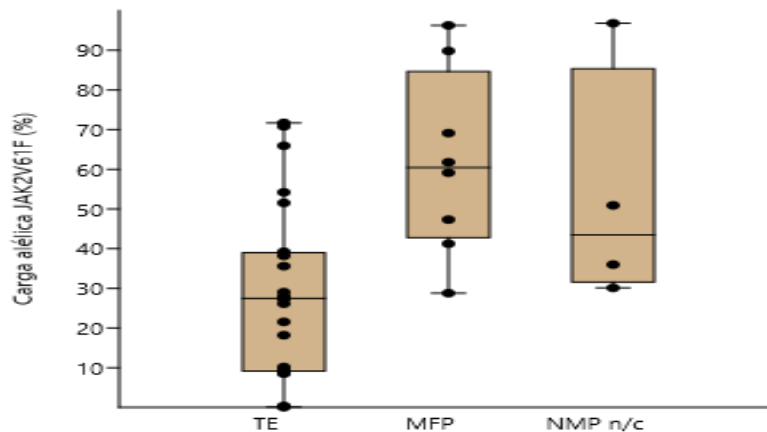
Del total de los pacientes estudiados, se detectó la presencia de la mutación JAK2V617F en 66,7 % de los diagnosticados con TE (24) y MFP (8) y en el 80 % de los enfermos con NMP no clasificada. (Tabla 1).

**Tabla 1** - Comparación de la carga alélica del JAK2V617F y características demográficas en pacientes con trombocitemia esencial, mielofibrosis primaria y neoplasias mieloproliferativas (NMP) no clasificadas

Características	Trombocitemia esencial (n=36)	Mielofibrosis primaria (n=12)	NMP no clasificable (n=5)	P
JAK2V617F, n (%)	24 (66,7)	8 (66,7)	4 (80,0)	0,22
Edad en años, media (rango)	55,5 (31-76)	61,5 (40-75)	63 (38- 78)	0,22
Sexo, M/F	7/29	4/8	3/2	0,12
Carga alélica del JAK2V617F media (rango)	28,3 (0,09-71,71)	61,7 (28,8-96,28)	53,46 (30,12-96,82)	0,004*
Bajo 0, 042-25 %, n (%)	10 (41,7)	0	0	
Medio, 26-50 %, n (%)	9 (37,5)	3 (37,5)	3 (75)	
Alto, 51-100 %, n (%)	5 (20,8)	5 (62,5)	1 (25)	

Se observaron diferencias entre la MFP y la TE con respecto a la distribución de las cargas alélicas según los grupos definidos en este estudio. El 62,5 % de los pacientes con MFP fueron homocigotos a la mutación, mientras que en la TE solo el 20,8 % presentó pérdida de la heterocigosidad. De igual modo, la diferencia en el promedio de cargas alélicas entre ambas enfermedades de los pacientes en los que se detectó la mutación fue significativa ( $p=0,028$ ) (Tabla 1) (Fig. 1).

Dentro de los pacientes heterocigotos al JAK2V617F con TE se encontraron tres pacientes femeninas con carga mutacional inferior al 1 %, que no se detectaron en los estudios por PCR-AE cualitativos.



**Fig. 1** - Comparación de medias entre neoplasia mieloproliferativa (NMP) no clasificadas, mielofibrosis primaria (MFP) y trombocitemia esencial (TE). Se observan diferencias entre los valores medios de las cargas alélicas del *JAK2V617*, en los que la trombocitemia esencial presenta menores cargas alélicas.

### Carga alélica del *JAK2V617F* en la trombocitemia esencial

En este grupo, de los 24 pacientes positivos a la mutación, 19 enfermos, el 79,1 % fueron heterocigotos al *JAK2V617F*.

Se apreció un incremento de la edad con relación al aumento de la carga alélica, pero esto no representó una diferencia significativa.

Hubo predominio del sexo femenino en todos los grupos estudiados, que fue absoluto en aquellas pacientes con carga alélica inferior al 25 %. No se encontraron diferencias significativas en la comparación de las variables clínicas y hematológicas (Tabla 2).

**Tabla 2** - Comparación de variables demográficas y clínico-hematológicas en la trombocitemia esencial según grupos de cargas alélicas

Características	Carga alélica <i>JAK2V617F</i>			p
	<25 %	26-50 %	≥ 50 %	
n(%)	10 (41,6)	9 (37,5)	5 (20,8)	
% de carga alélica del <i>JAK2V617F</i>	8,6 (0,09-21,56)	30,9 (26,16-39,23)	62,8 (51,54-71,71)	
Edad en años, media (rango)	50 (32-68)	57,6 (44-76)	60,2 (44-72)	0,26
Sexo M/F	-/10	4/5	2/3	0,056
Hemoglobina (g/L) media (rango)	132,2 (103-149)	137,3 (96-157)	132,2 (96-149)	0,63
Conteo de plaquetas (x 10 <sup>9</sup> /L) media (rango)	811,5 (446-1071)	922 (570-1538)	770 (350-1202)	0,76
Conteo de leucocitos(x 10 <sup>9</sup> /L) media (rango)	8,6 (5,4-12,5)	12,04 (5,3-29,7)	10,7 (4,8-16,9)	0,38
Hepatomegalia, n (%)	1 (10)	1 (11.1)	0	0,74
Esplenomegalia, n (%)	2 (20)	2 (22.2)	1 (20)	0,9
Trombosis, n (%)	1 (10)	0	0	0,48



Sangrado, <i>n</i> (%)	1 (10)	0	0	0,48
------------------------	--------	---	---	------

En este estudio se evaluó la correlación entre la carga alélica y la edad, la hemoglobina, el conteo de plaquetas y de leucocitos. No se pudo evidenciar una asociación entre estos parámetros y la tendencia de la carga mutacional para este grupo estudiado (Fig. 2).

### Carga alélica del JAK2V617F en la mielofibrosis primaria

En la muestra estudiada de pacientes con MFP no se registraron pacientes con baja carga alélica (inferior a 25 %). Hubo predominio de pacientes homocigotos a la mutación (62,8 %).

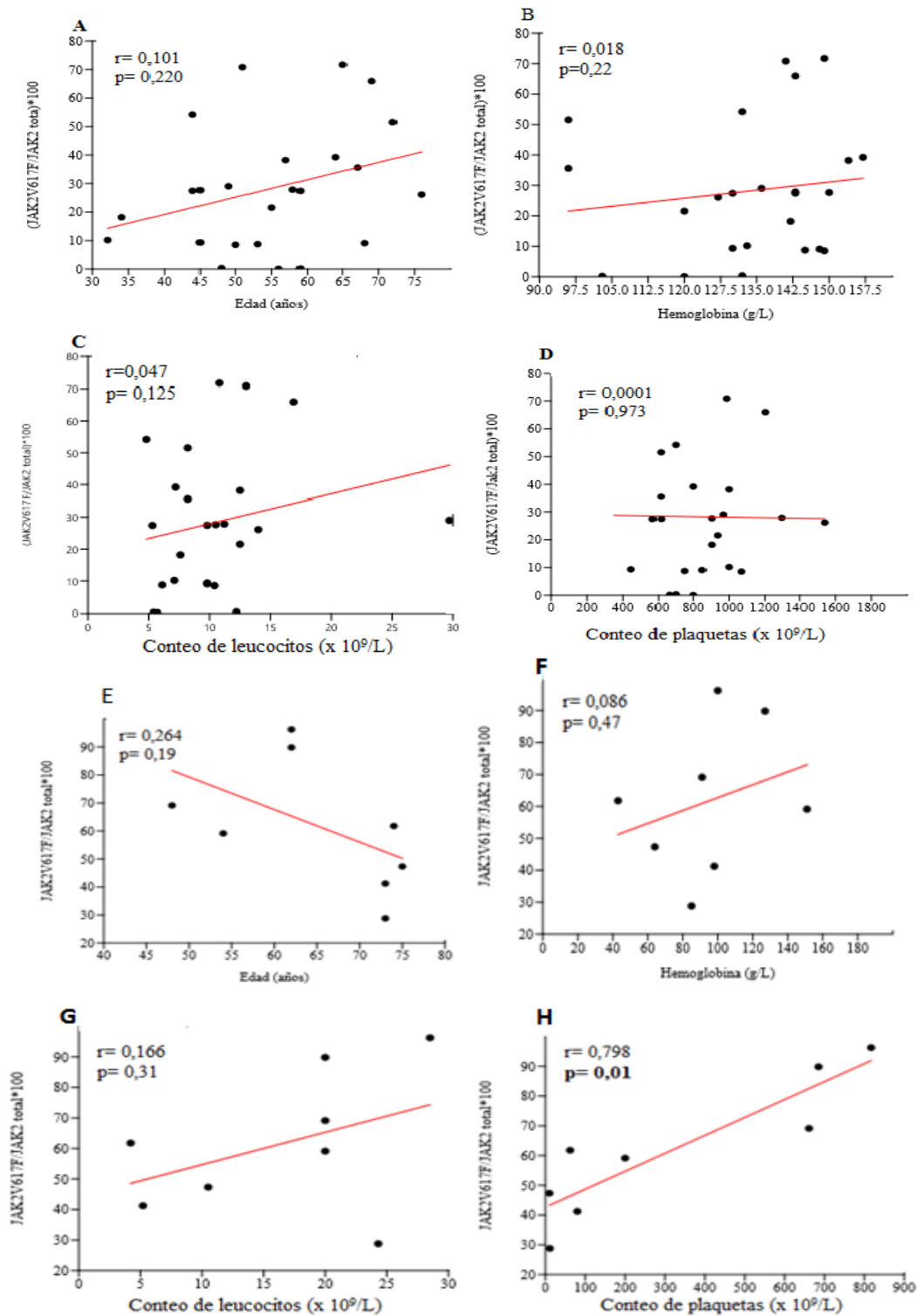
Se observó una tendencia a agrupar a los pacientes de mayor edad y menor conteo de plaquetas en el grupo de menor carga mutacional, aunque esta disposición no puede ser considerada estadísticamente significativa (Tabla 3).

**Tabla 3** - Comparación de variables demográficas y clínico-hematológicas en la mielofibrosis primaria según grupos de cargas alélicas en la mielofibrosis primaria

Características	Carga alélica JAK2V617F		p
	26-50 %	≥ 50 %	
<i>n</i> (%)	3 (37,5)	5 (62,8)	
% de carga alélica, media (rango)	28,8 (28,8-47,3)	75,2 (59,1-96,28)	
Edad en años, media (rango)	73,6 (73-75)	60 (48-74)	0,13
Sexo M/F	½	¼	0,18
Hemoglobina (g/L) media (rango)	82,3 (64-98)	102,4 (43-151)	0,37
Conteo de plaquetas (x 10 <sup>9</sup> /L) media (rango)	33,6 (10-80)	485 (62-817)	0,07
Conteo de leucocitos (x 10 <sup>9</sup> /L), media (rango)	13,3 (5,2-24,3)	18,5 (4,2-28,5)	0,75
Hepatomegalia, <i>n</i> (%)	1 (33,3)	2 (40)	0,85
Esplenomegalia, <i>n</i> (%)	3 (100)	5 (100)	n/s
Trombosis, <i>n</i> (%)	0	0	n/s
Sangrado, <i>n</i> (%)	0	1 (20)	0,4

Leyenda: n/s: no significativo.

Se pudo establecer una asociación positiva entre la proporción de la carga alélica y el conteo de plaquetas en este grupo mediante la correlación lineal por rangos de Spearman con un valor de probabilidad inferior a 0,05 (p: 0,013). El resto de las variables cuantitativas evaluadas no mostraron similar comportamiento (Fig.2).



**Fig. 2** - Correlación entre la carga alélica del *JAK2V617F* y la edad, hemoglobina, leucocitos y plaquetas en la trombotocitemia esencia (A, B, C, y D) y la mielofibrosis primaria (E, F, G y H). Se encontró asociación positiva entre la carga alélica y el conteo de plaquetas mediante la correlación lineal por rangos de Spearman en la mielofibrosis primaria. No se evidenció correlación con el resto de las variables.

## Discusión

La mutación somática adquirida JAK2V617F es la alteración molecular más común asociada a las NMP. Las investigaciones actuales estiman su presencia entre 50 al 60 %<sup>(3,5,6)</sup> aunque *Rumi* y *Cazzola*<sup>(6)</sup> consideraron hasta un 65 % de los pacientes con TE y MFP. En este estudio la mutación se encontró en 24 pacientes con TE (24/36) y en 8 enfermos con MFP (8/12), que representa el 66,7 % para cada una de ellas, superior a estudios previos.

Sin embargo, estudios similares han mostrado una prevalencia de la mutación alta. *Park* y otros<sup>(12)</sup> en una investigación realizada en Corea con 151 pacientes encontraron que 85,2 % de los pacientes con TE y el 83,3 % de los que presentaron MFP portaban esta mutación.

*Singdong* y otros,<sup>(13)</sup> en otro trabajo que incluyó 100 pacientes demostró la presencia del JAK2V617F en el 75,4 % de los pacientes con TE (41/55), pero solo en el 25 % (1/4) de los casos con MFP se encontró la alteración molecular. Otro estudio realizado en Portugal con 133 individuos con NMP mostró una elevada prevalencia de la mutación en la TE (70,9 %) y apenas 35,7 % en la MFP.<sup>(14)</sup> Estas diferencias pudieran explicarse por el limitado número de pacientes incluidos en este ensayo en comparación con estudios poblacionales que incluyeron gran cantidad de sujetos.

Con relación a la influencia de la carga alélica del JAK2V617F, se observó diferencia significativa en el porcentaje del alelo mutado entre la TE y la MFP. También se observó un predominio de LOH entre los pacientes con MFP con respecto al grupo de la TE. De igual modo, tampoco se encontraron pacientes con MFP y cargas alélicas inferiores al 25 %, grupo predominante en pacientes con diagnóstico de TE. Estos hallazgos son consistentes con otros estudios previos que mostraron una alta carga alélica en la MFP en contraste con la TE y también coinciden con investigaciones que sugirieron que la carga alélica puede contribuir a diferenciar entre los subtipos de NMP.<sup>(11,12,15,16)</sup>

La presencia de la mutación JAK2V617F fue detectada mediante qPCR, en tres pacientes con cargas alélicas inferiores al 1 %, que no habían sido identificadas por PCR-AE cualitativa. Se conoce que la técnica de qPCR posee mayor sensibilidad que la PCR cualitativa y por tanto permite la detección de casos con bajo porcentaje alélico.<sup>(17)</sup> Esto justifica la introducción de la qPCR en el país como parte del diagnóstico molecular de las NMP clásicas *BCR-ABL1* negativas, lo cual permitiría estar al nivel de las recomendaciones internacionales para el estudio de la mutación JAK2V617F.<sup>(18)</sup>

La influencia de la carga alélica en la TE y la MFP ha sido ampliamente abordada por diversos autores. *Vannucchi* y otros, realizaron una recopilación de los efectos fenotípicos atribuidos a la

presencia del JAK2V617F en la TE y la MFP, teniendo en cuenta los resultados de otros investigadores.<sup>(19)</sup>

Los pacientes con TE positivos a esta mutación, en comparación con los no mutados, se caracterizan por presentar altos niveles de hemoglobina y leucocitos, bajo conteo de plaquetas y un incremento del riesgo de trombosis venosa y una médula ósea hiper celular con mielopoyesis estimulada.

En la MFP, la mutación se ha correlacionado con un alto conteo de leucocitos y hemoglobina; y variabilidad en el conteo de plaquetas y de manifestaciones clínicas como prurito. Diferentes estudios han mostrado discrepancia en relación a la relevancia del JAK2V617F en el pronóstico de la MFP.<sup>(19)</sup>

*Guglielmelli* y otros, confirmaron que los pacientes con más baja carga alélica con MFP tienen un tiempo de progresión más corto hacia la anemia y la leucopenia. Además, tenían una supervivencia global significativamente reducida en comparación con los de mayores cargas alélicas.<sup>(20)</sup>

Solamente en la MFP se pudo establecer una asociación positiva entre el conteo de plaquetas y la carga alélica. Las diferencias entre este estudio y lo reportado internacionalmente puede ser atribuido al número de participantes en este grupo en comparación con los trabajos sobre el tema que involucran una gran cohorte de pacientes.

No obstante, *Ha* y otros,<sup>(16)</sup> en un estudio que incluyó 103 pacientes (68,8 % con TE y 52,9 % con MFP) solo encontraron diferencias significativas en la edad y la presencia de organomegalia con relación a la carga alélica en la TE. No informaron ninguna relación en la MFP.

*Yow* y otros,<sup>(15)</sup> en otra investigación en los que participaron 128 sujetos con NMP tampoco establecieron asociación entre la carga de la mutación y los parámetros hematológicos. Por otra parte, *Gángó* y otros<sup>(21)</sup> notificaron diferencias significativas en el conteo de leucocitos, plaquetas y la enzima LDH, pero no en los casos de MFP. Ese estudio involucró 652 individuos (55,8 % con TE y 58,6 % en la MFP). En todos estos estudios hubo coincidencia, al igual que en este trabajo, en las diferencias entre las medias de las cargas alélicas de la MFP y la TE en los pacientes positivos a la mutación.

Aunque los criterios diagnósticos de la OMS no establecen un valor de corte específico de la carga alélica para la clasificación de las NMP, la determinación de la misma puede resultar una herramienta diagnóstica valiosa en la discriminación de los subtipos de NMP.<sup>(22)</sup> Además, pudiera ser muy útil en la evaluación de la respuesta al tratamiento.

## Conclusiones

Nuestro estudio estuvo limitado por la pequeña muestra de pacientes, principalmente en la MFP. Esto impidió realizar una interpretación estadística adecuada de los resultados. No obstante, estuvo en correspondencia con otras investigaciones que sostienen el concepto de que la presentación fenotípica de las NMP está influenciada por la carga mutacional del JAK2V617F.

## Referencias bibliográficas

1. Komrokji R, Kuykendall A, Padron E, Verstovsek S. Myelofibrosis. En: Greer JP, Rodgers GM, Glader B, Arber DA, Means R, List AF, *et al*, eds. Wintrobe's clinical hematology. 14th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019. p. 5437-68.
2. Jang MA, Choi CW. Recent insights regarding the molecular basis of myeloproliferative neoplasms. Korean J Intern Med. 2020 Jan;35(1):1-11. DOI: <https://10.3904/kjim.2019.317>
3. Schischlik F, Kralovics R. Mutations in myeloproliferative neoplasms – their significance and clinical use. Expert Rev Hematol. 2017 Nov;10(11):961-73. DOI: <https://10.1080/17474086.2017.1380515>
4. Greer JP, Rodgers GM, Glader B, Arber DA, Means R, List AF, *et al*, eds. Wintrobe's clinical hematology. 14th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.
5. Sharma V, Wright KL, Epling-Burnette PK, Reuther GW. Metabolic vulnerabilities and epigenetic dysregulation in myeloproliferative neoplasms. Front Immunol. 2020 Nov;11:604142. DOI: <https://10.3389/fimmu.2020.604142>
6. Rumi E, Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. Blood. 2017 Feb;129(6):680-92. DOI: <https://10.1182/blood-2016-10-695957>
7. Lanikova L, Babosova O, Prchal JT. Experimental modeling of myeloproliferative neoplasms. Genes (Basel). 2019 Oct;10(10):81. DOI: <https://10.3390/genes10100813>
8. González MS, De Brasi CD, Bianchini M, Gargallo P, Stanganelli C, Zalberg I, *et al*. Improved diagnosis of the transition to JAK2V617F homozygosity: the key feature for predicting the evolution of myeloproliferative neoplasms. PLoS One. 2014 Jan;9(1):e86401. DOI: <https://10.1371/journal.pone.0086401>
9. Kjær L. Clonal hematopoiesis and mutations of myeloproliferative neoplasms. Cancers (Basel). 2020 Jul;12(8):2100. DOI: <https://10.3390/cancers12082100>

10. Sazawal S, Singh K, Chhikara S, Chaubey R, Mahapatra M, Saxena R. Influence of JAK2V617F allele burden on clinical phenotype of polycythemia vera patients: A study from India. *South Asian J Cancer*. 2019 Apr-Jun; 8(2):127-9. DOI: [https://10.4103/sajc.sajc\\_161\\_18](https://10.4103/sajc.sajc_161_18)
11. Popova-Labachevska M, Panovska-Stavridis I, Eftimov A, KapedanovskaNestorovska A, Cevreska L, Ivanovski M, *et al.* Evaluation of the JAK2V617F mutational burden in patients with philadelphia chromosome Negative myeloproliferative neoplasms: A single-center experience. *Balkan J Med Genet*. 2019 Dec;22(2):31-36. DOI: <https://10.2478/bjmg-2019-0021>
12. Park SH, Chi HS, Cho YU, Jang S, Park CJ. The allele burden of JAK2 V617F can aid in differential diagnosis of Philadelphia Chromosome-Negative Myeloproliferative Neoplasm. *Blood Res*. 2013 Jun;48(2):128-32. DOI: <https://10.5045/br.2013.48.2.128>
13. Singdong R, Siriboonpiputtana T, Chareonsirisuthigul T, Kongruang A, Limsuwanachot N, Sirirat T, *et al.* Characterization and Prognosis Significance of JAK2 (V617F), MPL, and CALR Mutations in Philadelphia-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016 Oct;17(10):4647-53. DOI: <https://10.22034/apjcp.2016.17.10.4647>
14. Azevedo AP, Silva SN, Alice Reichert A, Lima F, Júnior E, Rueff J. Prevalence of the Janus kinase 2 V617F mutation in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms in a Portuguese population. *Biomed Rep*. 2017 Oct;7(4):370-6. DOI: <https://10.3892/br.2017.977>
15. Yow KS, Liu X, Chai CN, Tung ML, Yan B, Christopher D, *et al.* Relationship of JAK2 (V617F) Allelic Burden with Clinico- Haematological Manifestations of Philadelphia-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020 Sep;21(9):2805-10. DOI: <https://10.31557/APJCP.2020.21.9.2805>
16. Ha JS, Kim YK, Jung SI, Jung HR, Chung IS. Correlations between Janus Kinase 2 V617F Allele Burdens and Clinicohematologic Parameters in Myeloproliferative Neoplasms. *Ann Lab Med*. 2012 Nov;32(6):385-91. DOI: <https://10.3343/alm.2012.32.6.385>
17. Palumbo GA, Stella S, Pennisi MS, Piroso C, Fermo E, Fabris S, *et al.* The role of new technologies in myeloproliferative neoplasms. *Front Oncol*. 2019;9:321. DOI: <https://10.3389/fonc.2019.00321>
18. Asp J, Skov V, Bellosillo B, Kristensen T, Lippert E, Dicker F, *et al.* International external quality assurance of JAK2 V617F quantification. *Ann Hematol*. 2019;98(5):1111-8. DOI: <https://10.1007/s00277-018-3570-8>
19. Vannucchi AM, Pieri L, Guglielmelli P. JAK2 allele burden in the myeloproliferative neoplasms: effects on phenotype, prognosis and change with treatment. *Ther Adv Hematol*. 2011 Feb;2(1):21-32 DOI: <https://10.1177/2040620710394474>

20. Guglielmelli P, Pacilli A, Rotunno G, Rumi E, Rosti V, Delaini F, *et al.* Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of prefibrotic and overt primary myelofibrosis. *Blood*. 2017 Jun;129(24):3227-36. DOI: <https://10.1182/blood-2017-01-761999>
21. Gángó A, Mózes R, Boha Z, Kajtár B, Timár B, Király PA, *et al.* Quantitative assessment of JAK2 V617F and CALR mutations in Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res*. 2018 Feb;65:42-8. DOI: <https://10.1016/j.leukres.2017.12.005>
22. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, *et al.* The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and indepth discussion. *Blood Cancer J*. 2018 Feb;8(2):15. DOI: <https://10.1038/s41408-018-0054-y>

### Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

### Contribuciones de los autores

*Conceptualización:* Lesbia Fernández Martínez, Heidys Garrote Santana, Ana María Amor Vigil.

*Curación de datos:* Lesbia Fernández Martínez, Julio Dámaso Fernández Águila, Kalia Lavaut Sánchez, Yamilé Quintero Sierra, Adrián Romero González, Daniel Cabrera Hernández.

*Análisis formal:* Lesbia Fernández Martínez, Rosa María Lam.

*Investigación:* Lesbia Fernández Martínez, Heidys Garrote Santana, Ana María Amor Vigil, Carmen Alina Díaz Alonso, Annelys González González.

*Metodología:* Lesbia Fernández Martínez, Heidys Garrote Santana, Ana María Amor Vigil, Carmen Alina Díaz Alonso, Annelys González González.

*Redacción borrador- original:* Lesbia Fernández Martínez.

*Redacción revisión-edición:* Lesbia Fernández Martínez, Heidys Garrote Santana, Ana María Amor Vigil.