

**Caracterización de estudios analíticos en neoplasias mieloproliferativas crónicas  
BCR-ABL negativas y determinación de la frecuencia de las mutaciones  
JAK2V617F y CALR mediante revisiones sistemáticas de la literatura y  
metanálisis**

**Mónica Mejía Ochoa**

**Candidata a Magister en Microbiología y Bioanálisis**

**Profundización en hematología**

**Escuela de Microbiología**

**Universidad de Antioquia**

**Asesora**

**Paola Andrea Acevedo Toro**

**Microbióloga y Bioanalista. MSc Ciencias Básicas Biomédicas**

**Medellín**

**2018**

## Introducción

Las neoplasias hematológicas son un gran grupo de enfermedades malignas que exhiben alta diversidad en características clínicas, morfológicas, genotípicas, inmunofenotípicas, entre otras; en los últimos años, la Organización Mundial de la Salud (OMS), en colaboración con otras asociaciones y grupos de expertos, han agrupado estas entidades de acuerdo a sus características biológicas, lo cual facilita su abordaje integral tanto a nivel clínico como investigativo (1,2)

Uno de estos subgrupos es el de neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC), reciben este nombre por ser neoplasias de tipo maduro que se generan por un proceso acelerado de eritropoyesis eficaz. Clásicamente estas entidades se han subdividido de acuerdo a la presencia o ausencia del cromosoma Filadelfa o gen de fusión BCR-ABL en NMPC BCR-ABL positivas y NMPC BCR ABL negativas respectivamente. La principal entidad que representa el primer grupo es la leucemia mieloide crónica (LMC) que tiene una de las incidencias más altas. Las demás entidades que representan el segundo grupo, tienen incidencias menores y son: policitemia vera (PV), mielofibrosis primaria (MFP), trombocitemia esencial (TE), leucemia neutrofílica crónica (LNC) y NMPC no clasificables. (2).

La leucemia mieloide crónica es positiva para la mutación BCR ABL, ésta genera una oncoproteína de tipo tirosina quinasa responsable de la patogénesis y es el blanco para terapias específicas; actualmente el conocimiento y comprensión de esta enfermedad es amplio y el número de investigaciones desarrolladas en este tema es extenso. (3-4)

El subgrupo de las NMPC BCR ABL negativas clásicas, está compuesto por policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria, su incidencia a nivel mundial es baja. Una revisión sistemática desarrollada en el año 2014 por Titmarsh G y colaboradores reportó una incidencia global de PV de 0.84 por cada 100000 habitantes con incidencias de 0,86 y 0,74 en Europa y Norteamérica respectivamente; para trombocitemia esencial una incidencia global de 1.03 con incidencias de 1.03 y 0.96 en estos dos continentes. Para MFP se reportó una incidencia global de 0.47 por 100000 habitantes la cual no presenta diferencias marcadas entre regiones (5). En Colombia, la incidencia de NMPC no se conoce; sin embargo, según el anuario estadístico del Instituto Nacional de Cancerología, de 251 neoplasias hematológicas diagnosticadas en el año

2011, ocho eran del grupo NMPC; adicionalmente entre el año 2013 y 2014, la asociación colombiana de hematología reporto 179 casos de NMPC (6).

Las NMPC han sido muy bien caracterizadas a nivel clínico. Se ha demostrado que son entidades que cursan con hiper celularidad y hematopoyesis eficaz que a su vez causa esplenomegalia y hepatomegalia; así mismo, se ha evidenciado su curso insidioso, progresión a leucemia aguda, fallo medular, entre otras. (2)

A pesar de esto, la comprensión de los aspectos genéticos y moleculares de estas neoplasias fue limitada hasta 2005, a partir de este año, el descubrimiento de mutaciones en JAK2, MPL y CALR y su fuerte asociación con PV, TE y MFP, permitió esclarecer la patogénesis y la heterogeneidad de las bases genéticas de estas neoplasias; adicionalmente, se han demostrado importantes contribuciones de estas mutaciones con el curso clínico y pronóstico de la enfermedad (7-12). Con estos hallazgos, una cantidad importante de investigadores se han interesado en conocer con detalle aspectos biológicos, genéticos y moleculares de estas enfermedades lo que ha generado una producción científica alta.

En concordancia con lo anterior, el primer objetivo de esta investigación se planteó por la evidente necesidad de caracterizar las publicaciones en NMPC BCR-ABL Negativas, con el fin de determinar y establecer los ejes clave de investigación actual en el tema y de esta manera, dirigir el desarrollo de nuevas investigaciones. Para dar cumplimiento a este, se realizó una revisión sistemática de la literatura de estudios analíticos en NMPC BCR-ABL negativas; en ésta se identificaron 11.596 estudios de los cuales se incluyeron 45, su análisis detallado demostró alta heterogeneidad en los propósitos de investigación en aspectos como sintomatología, características de laboratorio, complicaciones hemorrágicas, caracterización genética, caracterización de procesos metabólicos, entre otras.

Una alta proporción de estudios se enfocó en la búsqueda de la mutación JAK2V617F con resultados heterogéneos en las técnicas diagnósticas y la proporción de pacientes con la mutación, sin embargo fue posible realizar un metanálisis para comparar la frecuencia de la mutación con ocho artículos que presentaron homogeneidad en la metodología empleada para la detección del marcador, así como en la población estudiada de pacientes con NMPC en la fase crónica de la enfermedad. La razón de odds para las comparaciones indicó que el riesgo de presentar esta mutación en los pacientes con PV es 3,0 el hallado

en TE y 4,0 el observado en las personas con MFP, al tiempo que la probabilidad de hallar la mutación en TE y MFP es estadísticamente similar.

El primer producto de esta investigación: *“Sistematización de estudios analíticos en policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria y metanálisis de la frecuencia de las mutaciones JAK2, CALR y MPL: 2000-2017”* se encuentra actualmente sometido para publicación en la revista BMC Genetics en versión en idioma inglés.

El desarrollo de esta primera revisión sistemática, evidenció gran interés de los investigadores por los aspectos genéticos y moleculares en NMPC, principalmente la búsqueda de JAK2V617F. Por la alta heterogeneidad hallada en la frecuencia de este marcador, se planteó una nueva revisión sistemática de estudios analíticos que reportaron esta mutación; se identificaron 12.845 de los cuales se seleccionaron 43 para la síntesis cualitativa y cuantitativa de la información. Se desarrolló un metanálisis con el fin de obtener la medida combinada del total de estudios individuales; adicionalmente se realizó meta regresión por técnica de detección para determinar si las diferencias podrían ser atribuidas a la sensibilidad y especificidad de cada metodología o a la calidad de los estudios incluidos. Los resultados no demostraron diferencias estadísticamente significativas entre las técnicas empleadas, así mismo se evidenciaron frecuencias altas de la mutación JAK2V617F en las tres neoplasias, con diferencias significativas en PV respecto a TE y MFP. Estos datos demuestran que en la práctica médica, se debe implementar un diagnóstico integral que incluya tanto marcadores biológicos como clínicos y moleculares, el cual se aplique para el abordaje de las tres NMPC BCR-ABL negativas.

El segundo producto de esta investigación: *“Prevalencia de la mutación JAK2 en neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativas: revisión sistemática 2007-2018.”* Fue presentado en modalidad de Poster en el 1st ASCO/ACHO international clinical trial workshop/ 3er congreso nacional de investigación en hematología y oncología.

Teniendo en cuenta que MFP es la NMPC con peor pronóstico, por sus rasgos clínicos como fibrosis medular, anemia grave, trombosis, sangrado y riesgo de progresión a leucemia. El tercer objetivo de esta investigación fue desarrollar una nueva revisión sistemática enfocada en determinar además de la frecuencia de JAK2V617F según las técnicas de detección, las posibles implicaciones que pueden tener factores como la edad,

características clínicas y criterios de diagnóstico, en la prevalencia de esta mutación en MFP. Los resultados obtenidos demuestran que la edad promedio de los pacientes fue mayor a 45 años, y que en la mayoría de estudios se emplearon criterios diagnósticos de la OMS, así mismo no se hallaron diferencias entre las técnicas empleadas; sin embargo, por el bajo poder estadístico de las comparaciones y el bajo número de pacientes incluidos en cada estudio, se recomienda la inclusión de un mayor número de individuos para lograr mayor sensibilidad en la tamización genética, así como la posibilidad de establecer asociaciones entre las características clínicas y la frecuencia de los marcadores moleculares.

El tercer producto de esta investigación: “*Metanálisis de la frecuencia de JAK2 en mielofibrosis primaria según la técnica de detección, 2007-2018*” Fue presentado en modalidad de Poster en el 18° Congreso Internacional del Colegio Nacional de Bacteriología CNB-Colombia.

Finalmente, después de describir con detalle la distribución de la mutación JAK2V617F en las tres NMPC, se hace necesario el abordaje de otros marcadores moleculares importantes para el diagnóstico de este grupo de enfermedades. Las mutaciones en el gen de calreticulina (CALR), descritas recientemente, se han convertido en el segundo marcador más importante y se incluyen actualmente como criterio mayor para diagnóstico de las NMPC (2). A pesar de que muchos estudios reportan frecuencias relativamente altas, otros autores han reportado frecuencias muy bajas (13,14). Esta heterogeneidad genética puede estar influenciada por variables propias de cada población y lugar geográfico como la genética poblacional, la tasa de mezcla étnica, entre otras.

Con el fin de determinar la frecuencia real de esta mutación, así como explorar si existen diferencias entre TE y MFP, se desarrolló una revisión sistemática con metanálisis. Se incluyeron 17 manuscritos que cumplieron criterios de inclusión y exclusión preestablecidos, el análisis de estos demuestra que la mutación CALR es un marcador molecular específico y de alta frecuencia en NMPC, que debe ser considerado e implementado en la práctica médica y de laboratorio para clasificar de manera específica este grupo de entidades hematológicas; adicionalmente, el metanálisis para la razón de odds (OR 0,9993) demuestra que no existen diferencias significativas en el riesgo de la presentación de CALR entre las dos neoplasias.

El cuarto producto de esta investigación titula “*Metanálisis de la frecuencia de CALR en pacientes con trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria*”.

Con el presente trabajo de investigación, se puede concluir que existe alta producción científica en el tema de NMPC que se centra en el continente asiático, Estados Unidos y Brasil; de esta producción científica, una proporción importante se enfocada en el estudio genético y molecular de estas neoplasias, principalmente en el estudio de las mutaciones JAK2, CALR y MPL. El análisis individual de los estudios que reportan la frecuencia de las mutaciones JAK2 y CALR, demostró alta heterogeneidad en la proporción de pacientes afectados. Sin embargo, el desarrollo de diferentes metanálisis permitió condensar esta información concluyendo que la frecuencia esperada para la mutación JAK2 es de 88,5% en PV, de 59,7% en TE y de 55,2% en MFP la cual no varía significativamente con diferentes técnicas de detección.

Por otra parte, la comparación de la frecuencia de las mutaciones en los diferentes diagnósticos permitió concluir que el riesgo de presentar esta mutación JAK2 en los pacientes con PV es 3,0 el hallado en TE y 4,0 el observado en las personas con MFP, al tiempo que la probabilidad de hallar la mutación en TE y MFP es estadísticamente similar. Respecto a las mutaciones en CALR, no se hallaron diferencias significativas en el riesgo de la presentación entre las dos neoplasias.

## **Referencias**

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM, Le, Bloomfield CD, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016; 127(20):2391–406.
2. Swerdlow S, Campo E, Harris N et al. World Health Organization Classification of Tumours of haematopoietic and lymphoid Tissues. 2017
3. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2014 update on diagnosis, monitoring, and management. *Am J Hematol*. 2014 May;89(5):547–56.
4. Kaleem B, Shahab S, Ahmed N, Shamsi TS. Chronic Myeloid Leukemia--Prognostic Value of Mutations. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(17):7415–23.

5. Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF, O'Rourke M, Mesa R, De Vocht F, et al. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol.* 2014; 89(6):581–7.
  6. Avello V, et al. *Acta Med Colomb Vol.* 42 N° 1 ~ 2017 35
  7. James C, Ugo V, Le Couedic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature.* 2005 28;434(7037):1144-8.
  8. Abe M, Suzuki K, Inagaki O, Sassa S, Shikama H. A novel MPL point mutation resulting in thrombopoietin-independent activation. *Leukemia.* 2002 Aug;16(8):1500-6.
  9. Ding J, Komatsu H, Wakita A, Kato-Uranishi M, Ito M, Satoh A, et al. Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. *Blood.* 2004 19;103(11):4198-200.
  10. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med.* 2013 10; 369(25):2379-90.
  11. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR Mutations in Myeloproliferative Neoplasms with Nonmutated JAK2. *N Engl J Med.* 2013 10; 369(25):2391-405.
  12. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2017; 129(6):667-79.
- KA
13. Li MY, Chao HY, Sun AN, Qiu HY, Jin ZM, Tang XW, et al. [Clinical significance of JAK2CALR and MPL gene mutations in 1 648 Philadelphia chromosome negative myeloproliferative neoplasms patients from a single center]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2017 Apr;38(4):295–300.
  14. Suboticki T, Mitrovic Ajtic O, Beleslin-Cokic BB, Nienhold R, Diklic M, Djikic D, et al. Angiogenic factors are increased in circulating granulocytes and CD34(+) cells of myeloproliferative neoplasms. *Mol Carcinog.* 2017 Feb;56(2):567–79.

**Sistematización de estudios analíticos en policitemia vera,  
trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria y metanálisis de la  
frecuencia de las mutaciones JAK2, CALR y MPL: 2000-2017**

**Systematization of analytical studies in polycythemia vera, essential  
thrombocythemia and primary myelofibrosis and meta-analysis of the  
frequency of JAK2, CALR and MPL mutations: 2000-2017**

Mónica Mejía Ochoa<sup>1</sup> Paola Andrea Acevedo Toro<sup>2</sup> Jaiberth Antonio Cardona-Arias<sup>3</sup>

1 Bacterióloga, MSc(C) Microbiología y Bioanálisis – énfasis Hematología. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

2 Microbióloga y Bioanalista. MSc Ciencias Básicas Biomédicas. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Tutora trabajo de Investigación

3 MyB, MSc Epidemiología, MSc Economía Aplicada. Estudiante Doctorado Salud Pública. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Facultad de medicina Universidad Cooperativa de Colombia. Medellín, Colombia.

**Correspondencia.**

Jaiberth Antonio Cardona Arias. Calle 67 Número 53 – 108, Bloque 5, oficina 103, Medellín, Colombia. Teléfono 2198486. Fax 2195486. E-mail jaiberthcardona@gmail.com

## Resumen

**Introducción:** Las investigaciones en neoplasias mieloproliferativas crónicas Filadelfia negativas son heterogéneas y dispersas; además, no se dispone de una sistematización de estudios analíticos en policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE) y mielofibrosis primaria (MFP).

**Objetivo:** Sistematizar los estudios analíticos en neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativos y comparar la frecuencia de las mutaciones JAK2, CALR y MPL en PV, TE y MFP en el periodo 2000-2017

**Métodos:** Revisión sistemática de la literatura y metanálisis con un protocolo *ex ante* de selección según fases de la guía PRISMA en 3 bases de datos interdisciplinarias. Se evaluó la reproducibilidad y calidad metodológica de los estudios por dos investigadores para garantizar reproducibilidad en la búsqueda y extracción de información

**Resultados:** Se incluyeron 45 estudios, la mayor proporción realizados en Estados Unidos, China, Brasil y Europa. La frecuencia de la mutación JAK2V617F osciló entre 46,7% y 100% en los pacientes con PV, entre 31,3% y 72,1% en TE y entre 25,0% y 85,7% en MFP. El riesgo de presentar esta mutación en PV es 3,0 veces el hallado en TE y 4,0 veces el hallado en MFP.

**Conclusión:** Dada la especificidad y altas frecuencias reportadas de la mutación JAK2V617F en este grupo de neoplasias, principalmente en PV, el diagnóstico de esta última enfermedad no debe realizarse únicamente por características clínicas y hematológicas sino también por la tamización genética de este marcador.

**Palabras clave:** Desórdenes mieloproliferativos; Mutación; Policitemia vera; Trombocitemia esencial; Mielofibrosis primaria; Metanálisis

## **Abstract**

**Introduction:** The studies in chronic Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms are heterogeneous, additionally it is necessary to systematize the analytical studies in polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF).

**Objective:** To systematize analytical studies in negative BCR-ABL chronic myeloproliferative neoplasms and to compare the frequency of JAK2, CALR and MPL mutations in PV, ET and PMF in the period 2000-2017

**Methods:** Systematic review of the literature and meta-analyses with an *ex ante* protocol of selection of papers according to guide PRISMA in 3 interdisciplinary databases. The reproducibility and methodological quality of the studies were evaluated by two researchers to guarantee reproducibility in the search and extraction of information.

**Results:** 45 studies were included, the higher proportion of United States, China, Brazil and Europe. The frequency of JAK2V617F mutation in PV was 46.7% to 100%, in ET 31.3% to 72.1% and in PMF 25.0% - 85.7%. The risk of JAK2V617F mutation in PV is 3.0 times that found in ET and 4.0 times the one found in PMF.

**Conclusion:** Given the specificity and high frequency of the JAK2V617F mutation in these neoplasms, mainly in PV, the diagnosis of PV should not be made only by clinical and haematological characteristics but also by the genetic screening of this molecular marker.

**Keywords:** Myeloproliferative disorder; Mutation; Polycythemia vera; Essential thrombocythemia; Primary myelofibrosis; Meta-analysis.

## **Introducción**

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC) constituyen un grupo de siete entidades clínicas dentro de las cuales se incluyen las de fenotipo BCR-ABL negativas denominadas NMPC Filadelfia negativas. Estas enfermedades se generan por un desorden clonal en las células madres hematopoyéticas que conduce a una excesiva producción de células maduras y su acumulación en sangre periférica. Los tres linajes afectados en los desórdenes BCR-ABL negativos son el eritroide, megacariocítico y granulocítico, los cuales generan policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE) y mielofibrosis primaria (MFP) respectivamente; esta última, según la clasificación más reciente de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2016, se subdivide en estado prefibrótico y fibrótico (1).

Desde el punto de vista clínico, los pacientes con NMPC están en riesgo de presentar diferentes complicaciones vasculares que incluyen trombosis venosa o arterial y sangrado; por otra parte, los pacientes con PV y TE pueden progresar a MFP y todos los pacientes con NMP pueden llegar a desarrollar una fase aguda de leucemia mieloide (2). En el ámbito mundial, la incidencia global de PV es 0,84 por 100.000 habitantes; mientras que para Europa y Norteamérica se ha registrado en 0,86 y 0,74 respectivamente; por su parte, los datos para TE incluyen una incidencia de 1,03 en el ámbito mundial, 1,03 en Europa y 0,96 en Norteamérica. Para MFP se ha reportado incidencia global de 0,47 por 100.000 habitantes la cual no presenta diferencias marcadas entre regiones. Es preciso mencionar que muchos reportes han sido realizados en países de altos ingresos por lo que probablemente en países de medianos y bajo ingresos, las NMPC se han clasificado erróneamente y sus incidencias pueden estar subestimadas (3). Por ejemplo en Colombia, la incidencia de NMPC no se conoce; sin embargo, según el anuario estadístico del Instituto Nacional de Cancerología, de 251 neoplasias hematológicas diagnosticadas en el año 2011, sólo ocho eran del grupo NMPC (4,5).

En 1951 William Dameshek propuso por primera vez que las NMPC, principalmente la leucemia mieloide crónica (LMC), PV, TE y MFP debían agruparse en un único grupo debido a que éstas comparten características clínicas y de laboratorio como el inicio insidioso, hepatomegalia, esplenomegalia y aumento de la celularidad en médula ósea (6). Esto derivó en que el diagnóstico, la estratificación de riesgo, la caracterización clínica y la evaluación del pronóstico de los pacientes con NMPC se fundamentara en análisis hematológicos de médula ósea y sangre periférica. Sin embargo, con el

advenimiento de la biología molecular, este panorama cambió notablemente a partir del año 2005, con el descubrimiento de cerca de 10 mutaciones en los genes JAK2, MPL y CALR identificados en PV, TE y MFP; cuya presencia y la ausencia de otros marcadores genéticos (BCR-ABL), han esclarecido su patogenia (7), evidenciado la heterogeneidad de las bases genéticas de estas neoplasias, al tiempo que han permitido reunirlos en el subgrupo de NMPC BCR-ABL negativas como grupo independiente de la leucemia mieloide crónica (8–10).

En este orden de ideas, se han desarrollado múltiples investigaciones en este grupo, algunas se han dirigido a determinar la frecuencia y utilidad de estas mutaciones en el diagnóstico, la monitorización clínica y el pronóstico de las NMPC, demostrando cómo su presencia, el orden de adquisición y la asociación con otros marcadores moleculares juegan un papel importante en el inicio de la enfermedad (11). Otros estudios a nivel genómico se han centrado en determinar la frecuencia e implicaciones clínicas y pronósticas de las mutaciones en JAK2, CALR y MPL denominadas como conductoras o “drivers” (12,13); otros han puesto de manifiesto la heterogeneidad en marcadores adicionales relacionados con vías de señalización celular (tirosina quinasa), estrés oxidativo, ciclo celular (p53) y eventos epigenéticos (14–17). Asimismo, en la evaluación de factores pronósticos y complicaciones, existe heterogeneidad en las variables medidas como son parámetros del hemograma, tipos de tratamientos usados, edad, entre otros (18,19).

Lo anterior evidencia una alta heterogeneidad en las principales variables reportadas en los estudios que han comparado diversas características de pacientes con PV, TE y MFP, lo que a su vez, demostraría un desconocimiento en los ejes clave para orientar investigaciones comparativas en este grupo de enfermedades. Frente a esta diversidad de estudios, algunas revisiones sistemáticas se han centrado en temas moleculares como la relación de una mutación específica con las características clínicas o pronóstico de una única enfermedad (20,21), la comparación de dos tipos de mutaciones a nivel pronóstico (22,23), el diagnóstico y terapia relacionados con una única mutación (24) y los factores asociados con el estilo de vida, condiciones ambientales, étnicas y familiares de los pacientes (25).

Pese a los antecedentes expuestos, no se dispone de una investigación que caracterice las publicaciones realizadas en este subgrupo de neoplasias, particularmente en algunas variables como años de realización, países, poblaciones de estudio, métodos de detección o principales objetivos de estudio. Además de esto, se hace necesaria la sistematización

de estudios analíticos que comparen diferentes aspectos de PV, TE y MFP dado que, a pesar de sus similitudes, genética y clínicamente existen marcadores que diferencian este subgrupo; entre los cuales se destacan la frecuencia de mutaciones como JAK2, MPL y CALR, que aportan información relevante sobre la supervivencia, el riesgo de trombosis y la estratificación de los pacientes en pronóstico favorable o desfavorable (10).

Por lo anterior, el objetivo de esta revisión fue sistematizar los estudios analíticos en neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativos y comparar la frecuencia de las mutaciones JAK2, CALR y MPL en PV, TE y MFP en el periodo 2000-2017.

## **Métodos**

**Tipo de estudio:** Revisión sistemática de la literatura con metanálisis.

**Protocolo de investigación según la guía PRISMA** *Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses* (26)

**Identificación:** Se realizó una búsqueda por sensibilidad (sin circunscribirse a términos tesauros, particularmente DeCS y MeSH) en tres bases de datos interdisciplinarias: Medline-Pubmed, Scielo y Science direct; además de una búsqueda manual en Google Scholar en la cual no se hallaron estudios adicionales a los identificados en las tres bases de datos. Estas tres bases garantizan la exhaustividad del protocolo, dado que Pubmed es una base de datos interdisciplinaria de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos con más de 14 millones de referencias de artículos biomédicos desde 1950; Scielo es igualmente interdisciplinaria y recoge publicaciones científicas de la comunidad de habla hispana y Latinoamérica, mientras que Science direct es una de las colecciones electrónicas más grandes del mundo.

La identificación de los términos de búsqueda se hizo por una cosecha de perlas, combinando las etapas del método tradicional y el método exhaustivo, esto es, identificar artículos relevantes en el tema, preferiblemente de revisiones bibliográficas; hallar los términos clave para su indización, buscar otros artículos relevantes en la base de datos con dichos términos, determinar otras bases de datos clave para la búsqueda, repetir este proceso en cada nueva base de datos hasta no hallar nuevos artículos. De esta forma se seleccionaron como términos de búsqueda: BCR ABL Negative, Chromosome Ph, Philadelphia chromosome, Philadelphia -Ph- chromosome y Philadelphia translocation (27), los cuales corresponden a los frecuentemente utilizados para definir el subgrupo de interés de las NMPC, además la clasificación con estos términos separa estas neoplasias

del subgrupo de leucemia mieloide crónica BCR-ABL positiva. Con cada término se hizo una búsqueda independiente y una conjugando todos los términos con el operador booleano OR así: [(BCR ABL Negative) OR ((Chromosome Ph) OR (Philadelphia chromosome) OR (Philadelphia –Ph- chromosome) OR (Philadelphia translocation))].

Tamización o aplicación de los criterios de inclusión: Se incluyeron estudios con los términos de búsqueda en título, resumen o palabras clave; sin límites de tiempo ni de idioma; artículos originales, estudios cuyo tema principal fuesen las neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativas, investigaciones realizadas en humanos y estudios in vivo. Los artículos obtenidos se exportaron a una fuente común y se eliminaron los títulos duplicados.

Es oportuno precisar que este protocolo no presentó limitaciones temporales de manera retrospectiva, y de manera prospectiva se hizo una última actualización en diciembre de 2017. La delimitación de la temporalidad del título se basó en la década del estudio más antiguo incluido en la revisión. Algunas de las sintaxis empleadas fueron chromosome ph[Title/Abstract]; BCR-ABL Negative[Title/Abstract]; TITLE-ABSTR-KEY(BCR ABL Negative); (((BCR ABL Negative[Title/Abstract]) OR Chromosome Ph[Title/Abstract]) OR Philadelphia chromosome[Title/Abstract]) OR Philadelphia (Ph) chromosome[Title/Abstract]) OR Philadelphia translocation[Title/Abstract]; TITLE-ABSTR-KEY(BCR ABL Negative) or TITLE-ABSTR-KEY(Chromosome Ph OR Philadelphia chromosome OR Ph chromosome OR Philadelphia translocation); (ti:(ab:(BCR ABL Negative OR Chromosome Ph OR Philadelphia chromosome OR Ph chromosome OR Philadelphia translocation)))).

Elección o aplicación de los criterios de exclusión: En esta fase se excluyeron los artículos con un número de pacientes menor de 10 dado que estos corresponden a estudios de caso o series de casos, manuscritos no disponibles en las bases de datos y en los cuales no se halló respuesta por parte de los autores, estudios con datos incompletos en variables centrales del estudio como aquellos que no especificaron el número de pacientes y el tipo de diagnóstico, estudios descriptivos que evaluaron sólo una enfermedad del grupo, estudios experimentales o clínicos y estudios que evaluaron pruebas diagnósticas.

Inclusión: Los estudios que cumplieron las etapas previas se incluyeron en la revisión, haciendo extracción de las variables título, autores, tipo de estudio, tema principal del estudio, revista, año de publicación, primer autor, país de estudio, número de pacientes totales y por tipo de enfermedad, características demográficas y clínicas de los pacientes

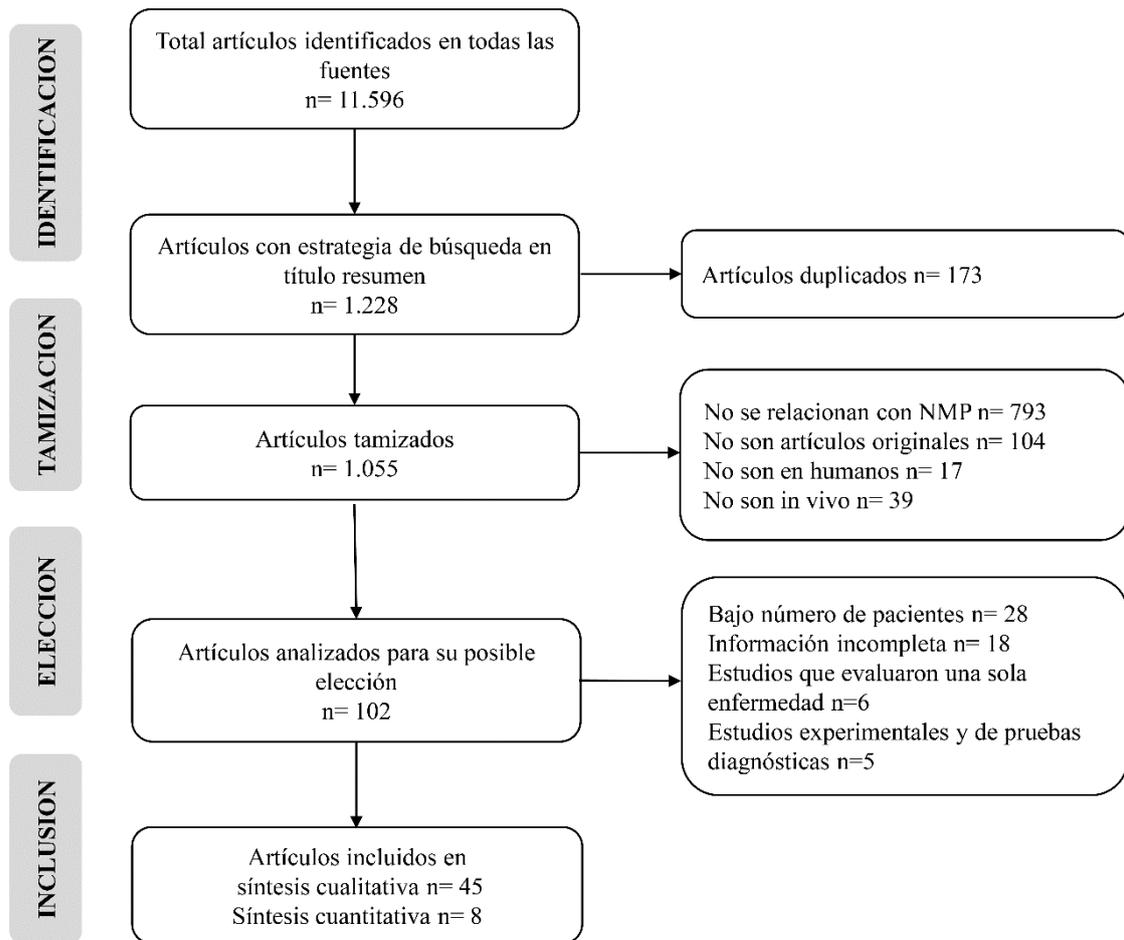
estudiados, objetivo principal del estudio. Con los estudios que reportaron la frecuencia de mutaciones en las tres enfermedades se realizó una síntesis cuantitativa.

**Evaluación de la reproducibilidad y la calidad metodológica:** La aplicación del protocolo de búsqueda y selección de los estudios fue realizada por dos investigadores de manera independiente para garantizar la reproducibilidad de la revisión; *a priori* se determinó que las discrepancias se resolverían por consenso; la fase de extracción de variables se realizó de manera independiente por dos investigadores y se obtuvo el índice kappa de 1.00 para las variables de país, año, población y registro de la mutación, para las demás (dado que su reporte era texto) se hizo reproducibilidad por un tercer revisor. Para la calidad metodológica se aplicó la guía STROBE que incluye criterios que permiten evaluar la validez interna y externa de los estudios incluidos (28).

**Análisis de la información:** las variables de estudio se describieron con frecuencias absolutas y relativas. Para los estudios que reportaron la frecuencia de la mutación JAK2V617F se realizó un metanálisis para una razón de odds. En el metanálisis se evaluó la heterogeneidad con el gráfico de Galbraith, el estadístico de Dersimonian y Laird's (Estadístico Q con distribución Ji-cuadrado) y el coeficiente RI; el sesgo de publicación con el estadístico de Begg y el método Funnel Plot, el análisis de sensibilidad con el gráfico de influencias. Los resultados finales del metanálisis se presentaron con el Forest Plot y el Metanálisis acumulado.

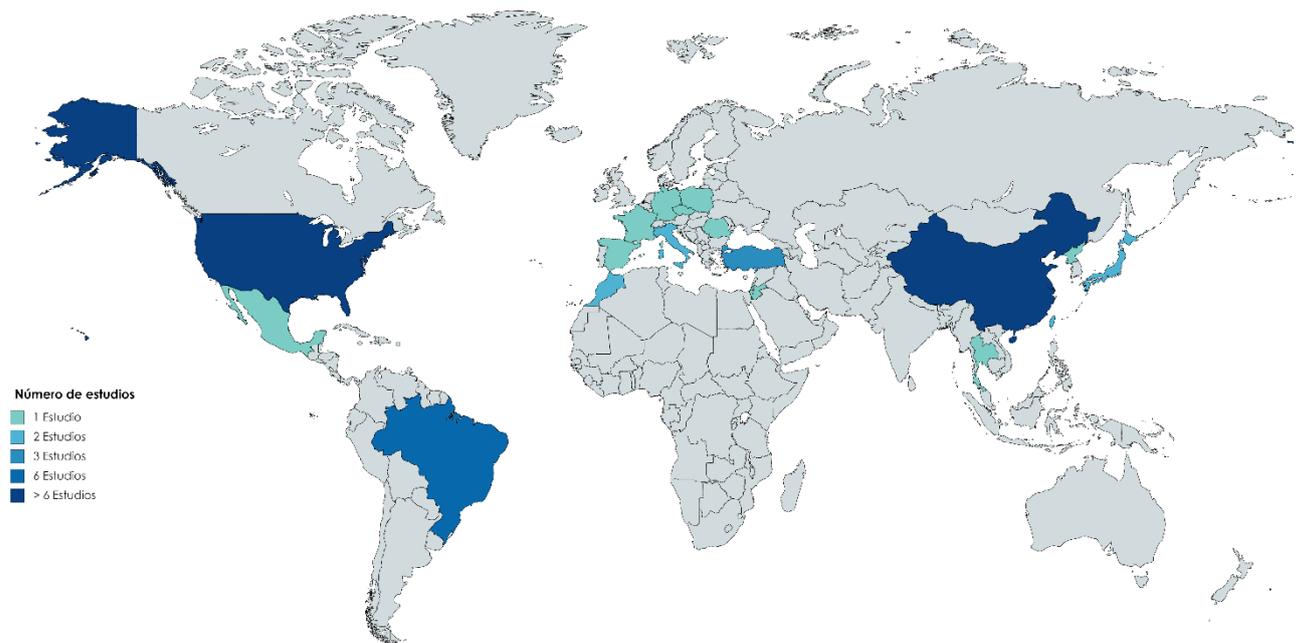
## **Resultados**

En la aplicación del protocolo de búsqueda y selección de los estudios, se obtuvieron 11.596 estudios sin aplicación de límites o filtros en las bases de datos, los cuales se redujeron a 1.228 que incluyeron los términos en título y/o resumen; tras aplicar los criterios de inclusión y exclusión se realizó la síntesis cualitativa de la información de 45 artículos y síntesis cuantitativa (metanálisis) de ocho estudios que compararon la frecuencia de la mutación JAK2V617F por tipo de enfermedad (Figura 1).



**Figura 1: Flujograma de búsqueda y selección de estudios.**

Al analizar la distribución de publicaciones por país, se obtuvo que estas fueron desarrolladas en 19 países diferentes siendo Estados Unidos, China y Brasil los que tenían el mayor número de estudios con diez, siete y seis respectivamente; los demás países tuvieron entre una y tres publicaciones (Figura 2).



**Figura 2: Frecuencia absoluta de estudios incluidos según el país.**

Con base en el año de publicación se identificaron estudios entre 2003 y 2017, siendo mayor la proporción de los años 2016 con 17,8% (n = 8 estudios) y 2015 con 17,8% (n = 8 estudios), mientras que entre el 2003 y el 2014 la frecuencia de estudios osciló entre uno y cuatro por año. En total se incluyeron 7.432 sujetos de estudio de los cuales el 23,8% (n = 1.772) corresponde a pacientes con PV, 32,8% (n = 2.438) con TE, 14,3% (n = 1.066) con MFP y el 29,0% a controles sanos (n = 1.044) y personas con otras enfermedades (n = 1.112) (Tabla 1).

**Tabla 1. Descripción de los estudios incluidos en la revisión según año de publicación y número de sujetos estudiados.**

<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>N PV</b>	<b>N TE</b>	<b>N MFP</b>	<b>N Otros</b>
Aviram A (17)	2003	31	56	10	0
Hsu H (29)	2004	16	30	0	17 <sup>a</sup> 51 <sup>b</sup>
Jelinek J (30)	2005	29	10	19	316 <sup>a</sup>
Jost E (31)	2007	9	7	0	23 <sup>a</sup>
Zhang S (32)	2007	23	40	8	23 <sup>a</sup>
Najfeld V (33)	2007	18	0	6	15 <sup>a</sup>
Suzuki R (34)	2007	15	21	5	8 <sup>a</sup>
Xu W (35)	2008	32	102	13	43 <sup>a</sup> 50 <sup>b</sup>

Lucia E (36)	2008	108	74	26	25 <sup>a</sup> 50 <sup>b</sup>
Tefferi A (37)	2009	26	13	32	0
Tefferi A (38)	2009	89	57	60	33 <sup>a</sup>
Aranaz P (14)	2010	4	15	4	21 <sup>a</sup>
Tripodi J (39)	2010	47	21	52	26 <sup>a</sup>
Chen X (40)	2011	15	70	18	0
Toyama K (41)	2011	25	82	8	0
Benmoussa A (42)	2011	19	8	12	31 <sup>a</sup>
da Silva R (43)	2012	52	81	11	0
Zhang X (44)	2012	51	66	17	0
Ho C (45)	2012	21	32	5	20 <sup>a</sup>
Pagliarini S (46)	2013	17	22	12	5 <sup>a</sup> 90 <sup>b</sup>
Patriarca A (47)	2013	26	55	9	8 <sup>a</sup>
Kim H (48)	2013	26	42	7	3 <sup>a</sup>
Wu Z (49)	2014	80	80	50	0
Kissova J (18)	2014	41	105	36	0
Payzin K (50)	2014	81	129	22	0
Macedo L (51)	2015	38	42	33	30 <sup>a</sup> 150 <sup>b</sup>
Ouyang Y (52)	2015	48	171	27	180 <sup>a</sup> 20 <sup>b</sup>
Kander E (19)	2015	118	144	63	26 <sup>a</sup>
Mahjoub S (53)	2015	22	17	17	0
Jaradat S (54)	2015	27	16	14	0
Labastida N (55)	2015	14	8	4	0
Duangnapatit B (56)	2015	68	83	6	0
Geduk A (57)	2015	7	43	16	30 <sup>b</sup>
Berzoti M (58)	2016	14	24	9	60 <sup>a</sup> 35 <sup>b</sup>
Macedo L (59)	2016	33	35	22	33 <sup>a</sup> 123 <sup>b</sup>
Didone A (60)	2016	20	28	20	68 <sup>a</sup>
Xu J (61)	2016	171	269	188	0
McFarland D (62)	2016	34	31	31	21 <sup>a</sup>
Wang J (63)	2016	17	11	23	42 <sup>a</sup> 43 <sup>b</sup>
Gardner J (64)	2016	7	3	3	34 <sup>a</sup>
Trifa A (15)	2016	140	140	48	363 <sup>b</sup>

Goel S (65)	2017	51	19	73	0
Smaili W (66)	2017	0	22	11	0
Gadomska G (67)	2017	19	46	7	39 <sup>b</sup>
Yildiz I (68)	2017	23	68	9	0
<b>Total</b>	<b>2003-2017</b>	<b>1772</b>	<b>2438</b>	<b>1066</b>	<b>2156</b>

<sup>a</sup> Otras enfermedades (hematológicas) <sup>b</sup> Controles sanos.

Se halló una alta heterogeneidad en la finalidad de los estudios. En un primer grupo se incluyen aquellos que caracterizan genéticamente las NMPC desde diferentes aspectos, entre los cuales vale destacar la detección de metilaciones (17), alteraciones epigenéticas (31), búsqueda de rearrreglos estructurales en JAK2 (33), genómica comparativa para el diagnóstico (37) e identificación de nuevos marcadores genéticos (14), mutaciones asociadas con patogénesis (58) o mutaciones en CALR en pacientes JAK2 negativos (66). Otro grupo de estudios se centraron en aspectos clínicos de las NMPC describiendo complicaciones hemorrágicas (19), manifestaciones clínicas (56), sintomatología (61) o la relación de características hematológicas con complicaciones clínicas (18). Finalmente, en un tercer subgrupo se incluyen publicaciones relacionadas con caracterización de procesos celulares y metabólicos como la medición de la expresión de proteína B catenin en NMPC BCR-ABL negativas (57), relación de moduladores inmunes (63), de polimorfismos en genes de estrés oxidativo (15) o medición de los niveles séricos de proteínas implicadas en procesos de angiogénesis en NMPC (67).

En 20 publicaciones se analizó la frecuencia de la mutación JAK2V617F en las tres enfermedades con resultados heterogéneos en las técnicas diagnósticas y la proporción de pacientes con la mutación, en este sentido la proporción de pacientes con la mutación osciló entre 46,7% y 100% en los pacientes con PV, entre 31,3% y 72,1% en TE y entre 25,0% y 85,7% en MFP (Tabla 2), la frecuencias menores se hallaron en poblaciones de Japón, Jordania y México, y las mayores en pacientes de Estados Unidos, Italia y Corea. De estos estudios, ocho realizaron la detección de la mutación con la prueba AS-PCR, a partir de esta información se realizaron tres metanálisis para comparar la frecuencia de la mutación entre las tres enfermedades.

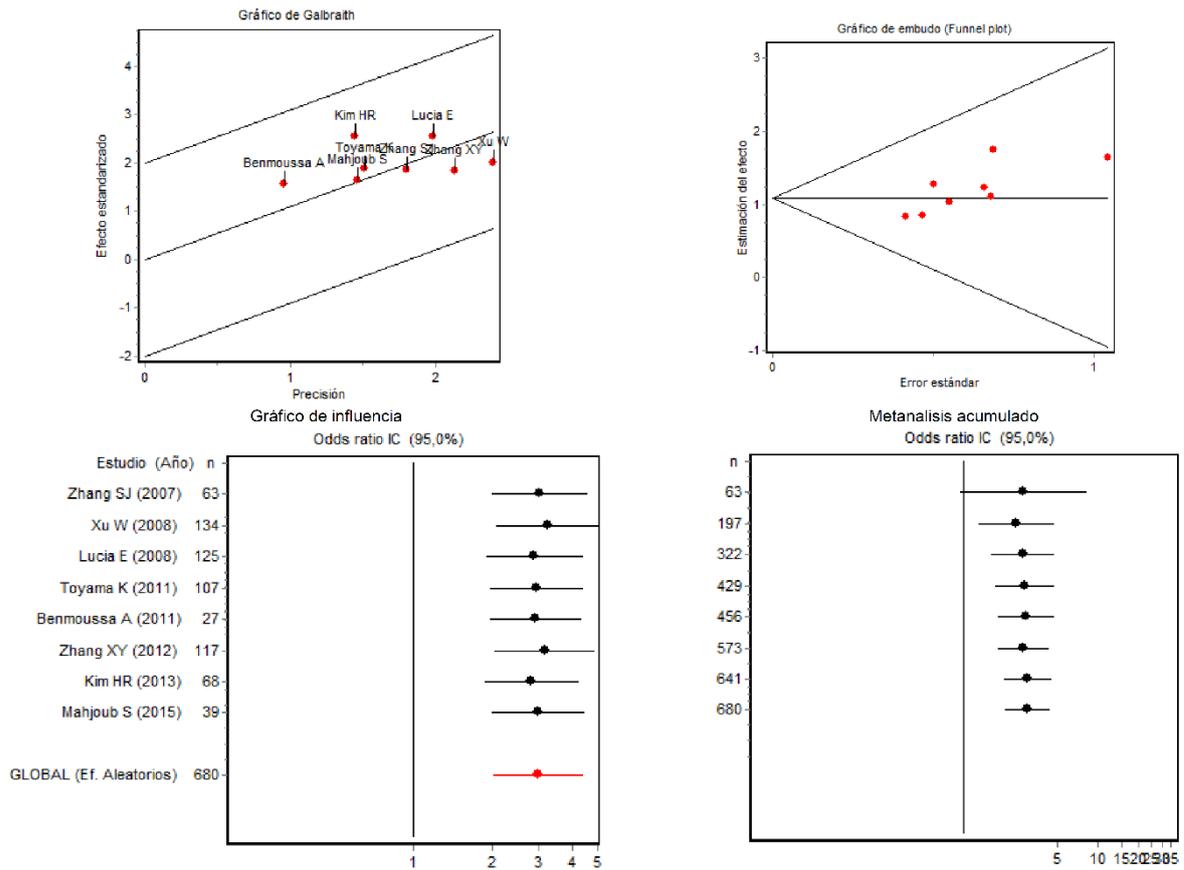
**Tabla 2. Frecuencia absoluta y relativa de la mutación JAK2V617F**

<b>Autor</b>	<b>Técnica</b>	<b>PV % (n)</b>	<b>TE % (n)</b>	<b>MFP % (n)</b>
--------------	----------------	-----------------	-----------------	------------------

Zhang SJ (32)	AS-PCR	69,6 (16)	45,0 (18)	37,5 (3)
Suzuki R (34)	Secuenciación	46,7 (7)	47,6 (10)	80,0 (4)
Xu W (35)	AS-PCR	62,5 (20)	42,2 (43)	38,5 (5)
Lucia E (36)	AS-PCR	90,2 (74)	72,1 (31)	63,2 (12)
Tefferi A (38)	RT-PCR	89,9 (80)	45,6 (26)	55,0 (33)
Toyama K (41)	AS-PCR	88,0 (22)	68,3 (56)	75,0 (6)
Benmoussa A (42)	AS-PCR	89,5 (17)	62,5 (5)	33,3 (4)
Zhang X (44)	AS-PCR	84,3 (43)	69,7 (46)	52,9 (9)
Ho C (45)	PCR en tiempo real	76,2 (16)	46,9 (15)	80,0 (4)
da Silva R (43)	PCR-RFLP	88,5 (46)	48,1 (39)	72,7 (8)
Kim H (48)	AS-PCR	88,5 (23)	57,1 (24)	85,7 (6)
Patriarca A (47)	PCR en tiempo real	100,0 (26)	63,6 (35)	66,7 (6)
Wu Z (49)	HRM	82,5 (66)	56,3 (45)	58,0 (29)
Payzin K (50)	PCR en tiempo real	95,1 (77)	68,2 (88)	77,3 (17)
Labastida N (55)	ARMS	62,5 (5)	35,7 (5)	25,0 (1)
Mahjoub S (53)	AS-PCR	72,7 (16)	47,1 (8)	66,7 (2)
Jaradat S (54)	Secuenciación	70,4 (19)	31,3 (5)	14,3 (2)
Gardner J (64)	HRM	100,0 (7)	66,7 (2)	33,3 (1)
Didone A (60)	PCR-RFLP	95,0 (19)	71,4 (20)	40,0 (8)
Yildiz I (68)	Secuenciación	73,9 (17)	61,8 (42)	55,6 (5)

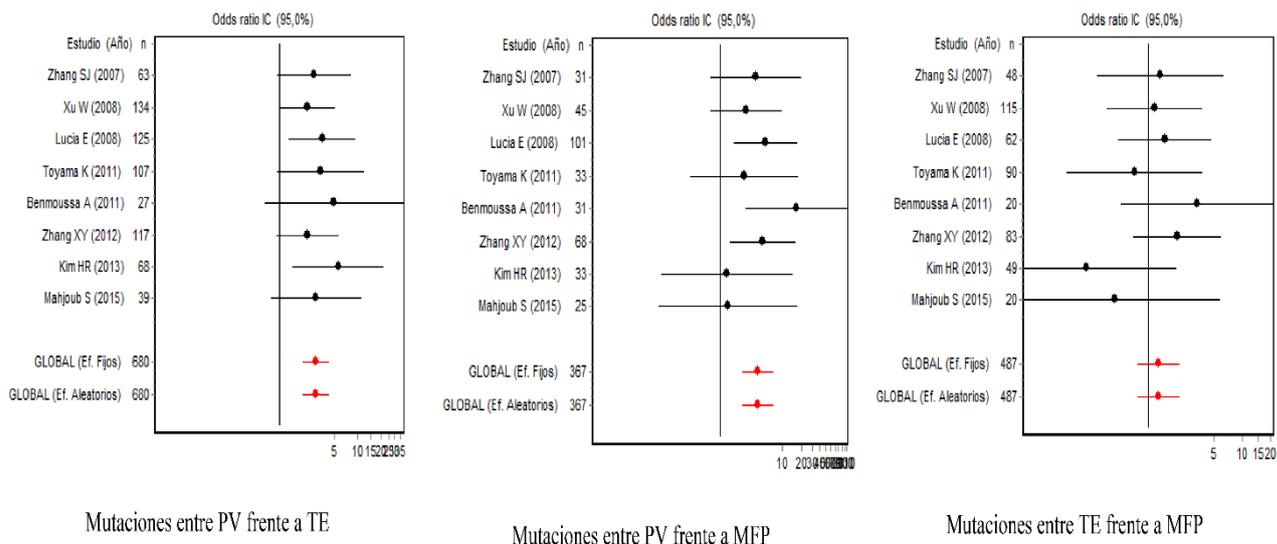
AS PCR: PCR alelo específica; RT-PCR: PCR de transcripción reversa; PCR-RFLP: PCR de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción; HRM: análisis de fusión de alta resolución; ARMS: Sistema de Mutación Refractario a la Amplificación por PCR

En la comparación de la razón de odds para la frecuencia de mutaciones en los pacientes con PV frente a los pacientes con TE, se halló homogeneidad entre los estudios (gráfico de Galbraith), no se presentó sesgo de publicación según el Funnel PLOT, el gráfico de influencia corroboró la pertinencia de una medida combinada dado que la exclusión de cada estudio en etapas sucesivas no generó cambios en la medida de resumen y el metanálisis acumulado corroboró que la conclusión derivada no se modifica con el aumento del tamaño de muestra o la inclusión de pacientes adicionales (Figura 3).



**Figura 3. Metanálisis para la comparación de la frecuencia de mutaciones JAK2 en PV en comparación con TE.**

Finalmente la razón de odds para la comparación de la frecuencia de mutaciones en los pacientes con PV frente a los sujetos con TE basado en un metanálisis de efectos fijos fue 3,0 (IC 95% = 2,0-4,4), para la comparación entre PV y MFP fue 4,0 (IC95% = 2,3-7,0), mientras que en la comparación entre TE y MFP se obtuvo una OR de 1,3 (IC 95% = 0,8-2,2), esto indica que el riesgo de presentar esta mutación en los pacientes con PV es 3,0 el hallado en TE y 4,0 el observado en las personas con MFP, al tiempo que la probabilidad de hallar la mutación en TE y MFP es estadísticamente similar (Figura 4).



**Figura 4. Forest Plot para la comparación de la frecuencia de mutaciones JAK2 entre PV - TE, PV - MFP y TE - MFP.**

## Discusión

En esta revisión se sistematizaron 45 estudios que compararon diferentes variables en 1.772 personas con PV, 2.438 con TE, 1.066 con MFP y 2.156 controles, con una mayor frecuencia de estudios de Estados Unidos, China y Brasil. 20 estudios analizaron la frecuencia de la mutación JAK2V617F en las tres enfermedades y el metanálisis evidenció que el riesgo de presentar esta mutación en PV es mucho mayor que el hallado en TE y MFP. Estos hallazgos evidencian la alta validez externa de esta revisión, al tiempo que pone de manifiesto un número reducido de investigaciones analíticas, una elevada diversidad en la comparación de parámetros clínicos y genéticos en las NMPC Filadelfia negativas, y pocos estudios sobre la frecuencia de mutaciones, lo que en conjunto, demuestra grandes potenciales para la orientación y consolidación de investigaciones en este grupo de neoplasias.

De acuerdo a las publicaciones incluidas en esta revisión sistemática, se evidencia que la mayor proporción de estudios proceden de Estados Unidos, China y Brasil lo que indica un interés creciente de estos países por el estudio de las NMPC, a los que se suman otros de Europa. En general, el mayor número de publicaciones proviene de países de medianos y altos ingresos, lo que podría suponer una relación entre el desarrollo investigativo en esta área y el acceso o disponibilidad de centros de referencia para el diagnóstico y tratamiento de este tipo de enfermedades; por ejemplo, en Estados Unidos se encuentran la Sociedad Americana de Hematología, la Sociedad de Leucemia y Linfoma, y la

Fundación de investigación en neoplasias mieloproliferativas; en Brasil la Asociación Brasileña de hematología, hemoterapia y terapia celular, en Europa la Asociación Europea de hematología y Sociedad Española de hematología y hemoterapia. El número de publicaciones en la región asiática, podría explicarse por el nivel gran avance económico y alta inversión en investigación y desarrollo de este continente, según el Instituto de Estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) para el año 2015, los porcentajes de inversión más altos corresponden a América del norte (2,79%), y Asia (2,46%).

Lo anterior se contrapone a otros lugares con baja frecuencia de estudios, como el caso colombiano, donde no se ha determinado la incidencia de este grupo de enfermedades y los pocos estudios, como la publicación de la Asociación Colombiana de Hematología, describen algunas características clínicas de los pacientes con NMPC, declarando un sinnúmero de limitaciones para llevar a cabo este tipo de investigaciones, como el déficit de profesionales en hematopatología y la falta de acceso a estudios especializados para el diagnóstico (5).

En la presente revisión sistemática la TE fue la enfermedad más reportada con un total de 2.438 individuos que corresponden a un 46,2% del total de pacientes con NMPC, seguido de PV con un 33,59% y MFP con un 20,2%. Esta distribución se correlaciona con las incidencias reportadas a nivel mundial para este grupo de neoplasias; por ejemplo, un estudio reciente realizado en Corea con 4.342 pacientes, mostró incidencias más altas para TE, seguida de PV y MFP (69). Un metanálisis realizado con publicaciones americanos y europeos principalmente, tuvo esta misma distribución en los tres diagnósticos (3); en Noruega, un estudio realizado en el año 2017 con 2.453 personas evidenció que TE puede tener prevalencias ligeramente más altas que PV, y de las tres, la MFP fue la de menor incidencia (70).

Por otra parte, se evidenció una elevada heterogeneidad en las finalidades de los estudios incluidos. Uno de los tópicos evaluados fueron las alteraciones epigenéticas, las investigaciones en este tema han sido muy pertinentes para explicar la patogénesis y evaluar la influencia de factores no genéticos en el desarrollo de NMPC (31). Actualmente, la epigenética constituye un importante tema de estudio en la rama de la farmacogenómica en muchos tipos de enfermedades; a través de ésta se intenta identificar blancos terapéuticos coadyuvantes para la terapia convencional, específicos para cada paciente, con lo cual se fomenta la aplicación de medicina personalizada (71). En adición, las publicaciones enfocadas en las características hematológicas y clínicas de las NMPC,

han sido muy valiosas puesto que han marcado las guías iniciales para el diagnóstico de pacientes sospechosos y definir conductas médicas y terapéuticas.

A pesar de la diversidad de publicaciones, en la presente revisión, se logró identificar el interés de algunos investigadores por la exploración y abordaje de las NMPC a nivel genético, tanto por la búsqueda de nuevas mutaciones, como por la determinación de la frecuencia e implicaciones a nivel diagnóstico, pronóstico y patogénesis de mutaciones ya descritas. Este interés se puede atribuir al impacto que han tenido los diferentes marcadores genéticos en la comprensión de este grupo de enfermedades, la reclasificación de las mismas al poder separarlas de la LMC como un grupo independiente (72), la orientación terapéutica a blancos más específicos y menos invasivos (73), el mejoramiento de la progresión de la enfermedad, entre otros.

Las mutaciones conductoras o “drivers” que incluyen alteraciones en los genes JAK, MPL y CALR, constituyen un tema de gran interés en esta área, su importancia radica en la alta frecuencia reportada en TE, PV y MFP así como su especificidad para el diagnóstico. En esta revisión se evidencia que el principal interés ha sido la frecuencia y correlación clínica de estas tres mutaciones; sin embargo, varios estudios evaluaron otras en el gen TET2, las cuales se relacionan con el desarrollo de crisis blástica y leucemia mieloide aguda; lo que supone una interesante línea de investigación en la actualidad (74). La mutación más frecuentemente estudiada fue JAK2V617F, ésta presentó proporción considerablemente mayor en PV; mientras que en TE y MFP se ha identificado que, ante la ausencia de JAK2, diferentes mutaciones en los genes CALR y MPL están presentes en una gran proporción de pacientes, y son responsables tanto del inicio como de la patogénesis de la enfermedad, alterando al igual que JAK2, importantes vías de señalización celular (75). En este orden de ideas, el metanálisis evidenció que la probabilidad de presentar esta mutación en los pacientes con PV es 3,0 el hallado en TE y 4,0 el expuesto en las personas con MFP, lo que confirma que la mutación JAK2V617F puede constituir un marcador muy significativo para el diagnóstico de PV. La presencia de esta mutación representa importantes implicaciones clínicas y pronósticas, dado que los pacientes homocigotos presentan mayor riesgo de esplenomegalia y de eventos cardiovasculares; específicamente en pacientes con PV este marcador se asocia con mayores niveles de hemoglobina, recuentos de neutrófilos y transformación fibrótica (76).

Estos hallazgos, en conjunción con recomendaciones de la OMS, evidencian que el diagnóstico de PV no debe aislarse de los marcadores genéticos y por lo tanto, debe

realizarse teniendo en cuenta tanto las características clínicas y hematológicas como la presencia o ausencia de esta mutación; al tiempo que las mutaciones en el exon 12 del gen JAK2 también deben ser consideradas antes de descartar PV (1).

Entre las limitaciones de este estudio se destaca la imposibilidad de explicar las fuentes de la heterogeneidad de los metanálisis, debido a que los estudios individuales no fueron exhaustivos en el reporte de resultados por subgrupos, así mismo por la heterogeneidad genética que no se puede medir por metanálisis como la variabilidad interindividual dada por la composición genotípica de cada población. La gran ventaja de este trabajo es que permitió caracterizar las publicaciones en NMPC en temas generales como años de publicación, países, temas de interés entre otros y, por medio de este estudio se determinó el panorama actual de las investigaciones analíticas en este grupo de enfermedades.

**Conclusión:** La mayor proporción de estudios provienen de países con alto desarrollo económico e investigativo y han sido publicadas principalmente en los últimos tres años. A pesar de la heterogeneidad hallada en las finalidades de los manuscritos, se evidenció un mayor interés por el abordaje genético, principalmente la mutación JAK2V617F. Dada la especificidad y altas frecuencias reportadas de la mutación JAK2V617F en este grupo de neoplasias, principalmente en PV, el diagnóstico de esta última enfermedad no debe realizarse únicamente por características clínicas y hematológicas sino también por la tamización genética de los pacientes.

**Conflicto de intereses:** Ningún autor declara conflicto de intereses para la publicación de este manuscrito.

**Financiación:** Recursos en especie de la Universidad de Antioquia.

## Referencias

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM, Le, Bloomfield CD, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391–406.
2. Rumi E, Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. *Blood* [Internet]. 2016;blood-2016-10-695957. Available from: <http://www.bloodjournal.org/lookup/doi/10.1182/blood-2016-10-695957>
3. Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF, O'Rourke M, Mesa R, De Vocht F, et

- al. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol.* 2014;89(6):581–7.
4. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D BF. *Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11.* Int Agency Res Cancer. 2013;
  5. S MH, C CP, C BD, S D, Q M, L JF, et al. Descripción de las características clínicas de las neoplasias mieloproliferativas crónicas ( NMPC ) Description of the clinical characteristics of chronic myeloproliferative neoplasms ( MPNs ) First report of the colombian registry of MPNs. 2017;35–41.
  6. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes [editorial]. *Blood.* 1951;6(4):372-375. *Blood.* United States; 2016 Feb;127(6):663.
  7. James C, Ugo V, Le Couédic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* [Internet]. 2005;434(7037):1144–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15793561>
  8. 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):1140–51.
  9. Nangalia J, Massie CEE, Baxter EJJ, Nice FLL, Gundem G, Wedge DCC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* [Internet]. 2013;369(25):2391–405. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1312542> %5Cn<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24325359> %5Cn<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3966280>
  10. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* [Internet]. 2013;369(25):2379–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24325356>
  11. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2017;129(6):667–79.
  12. Rumi E, Pietra D, Ferretti V, Klampfl T, Harutyunyan AS, Milosevic JD, et al. JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. *Blood.* United States;

- 2014 Mar;123(10):1544–51.
13. Rumi E, Pietra D, Pascutto C, Guglielmelli P, Martínez-Trillos A, Casetti I, et al. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood*. 2014;124(7):1062–9.
  14. Aranaz P, Ormazabal C, Hurtado C, Erquiaga I, Calasanz MJ, Garcia-Delgado M, et al. A new potential oncogenic mutation in the FERM domain of JAK2 in BCR/ABL1-negative and V617F-negative chronic myeloproliferative neoplasms revealed by a comprehensive screening of 17 tyrosine kinase coding genes. *Cancer Genet Cytogenet*. United States; 2010 May;199(1):1–8.
  15. Trifa AP, Banescu C, Dima D, Bojan AS, Tevet M, Moldovan VG, et al. Among a panel of polymorphisms in genes related to oxidative stress, CAT-262 C>T, GPX1 Pro198Leu and GSTP1 Ile105Val influence the risk of developing BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms. *Hematology*. England; 2016 Oct;21(9):520–5.
  16. Neri A, Fracchiolla NS, Radaelli F, Boletini A, Ribera S, Migliorini C, et al. p53 tumour suppressor gene and RAS oncogenes: molecular analysis in the chronic and leukaemic phases of essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. England; 1996 Jun;93(3):670–3.
  17. Aviram A, Witenberg B, Shaklai M, Blickstein D. Detection of methylated ABL1 promoter in philadelphia-negative myeloproliferative disorders. *Blood Cells Mol Dis*. United States; 2003;30(1):100–6.
  18. Kissova J, Bulikova A, Ovesna P, Bourkova L, Penka M. Increased mean platelet volume and immature platelet fraction as potential predictors of thrombotic complications in BCR/ABL-negative myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol*. Japan; 2014 Nov;100(5):429–36.
  19. Kander EM, Raza S, Zhou Z, Gao J, Zakarija A, McMahon BJ, et al. Bleeding complications in BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms: prevalence, type, and risk factors in a single-center cohort. *Int J Hematol*. Japan; 2015 Nov;102(5):587–93.
  20. Qin Y, Wang X, Zhao C, Wang C, Yang Y. The impact of JAK2V617F mutation on different types of thrombosis risk in patients with essential thrombocythemia: a meta-analysis. *Int J Hematol*. Japan; 2015 Aug;102(2):170–80.
  21. Kong H, Liu Y, Luo S, Li Q, Wang Q. Frequency of Calreticulin (CALR) Mutation and Its Clinical Prognostic Significance in Essential Thrombocythemia

- and Primary Myelofibrosis: A Meta-analysis. *Intern Med. Japan*; 2016;55(15):1977–84.
22. Kourie HR, Ameye L, Paesmans M, Bron D. Improved Survival of Calreticulin-Mutated Patients Compared With Janus Kinase 2 in Primary Myelofibrosis: A Meta-Analysis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk. United States*; 2016 May;16(5):264–8.
  23. Pei Y-Q, Wu Y, Wang F, Cui W. Prognostic value of CALR vs. JAK2V617F mutations on splenomegaly, leukemic transformation, thrombosis, and overall survival in patients with primary fibrosis: a meta-analysis. *Ann Hematol. Germany*; 2016 Sep;95(9):1391–8.
  24. Lengfelder E. [Diagnosis and therapy of polycythemia vera in the era of JAK2]. *Dtsch Med Wochenschr. Germany*; 2013 Feb;138(7):331–6.
  25. Anderson LA, Duncombe AS, Hughes M, Mills ME, Wilson JC, McMullin MF. Environmental, lifestyle, and familial/ethnic factors associated with myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol. United States*; 2012 Feb;87(2):175–82.
  26. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group TP. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses : The PRISMA Statement. 2009;6(7).
  27. Schlosser RW, Wendt O, Bhavnani S, Nail-chiwetalu B. Review Use of information-seeking strategies for developing systematic reviews and engaging in evidence-based practice : the application of traditional and comprehensive Pearl Growing . A review. 2006;
  28. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gotzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol. United States*; 2008 Apr;61(4):344–9.
  29. Hsu H-C, Tan L-Y, Au L-C, Lee Y-M, Lieu C-H, Tsai W-H, et al. Detection of bcr-abl gene expression at a low level in blood cells of some patients with essential thrombocythemia. *J Lab Clin Med. United States*; 2004 Feb;143(2):125–9.
  30. 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.*

- United States; 2005 Nov;106(10):3370–3.
31. Jost E, do O N, Dahl E, Maintz CE, Jousten P, Habets L, et al. Epigenetic alterations complement mutation of JAK2 tyrosine kinase in patients with BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Leukemia*. England; 2007 Mar;21(3):505–10.
  32. Zhang S, Li W, Song J, Xu W, Qiu H, Li J. [The investigation of JAK2 V617F point mutation in myeloproliferative disorders by allele-specific polymerase chain reaction in combination with sequence analysis]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. China; 2007 Aug;87(30):2109–12.
  33. Najfeld V, Cozza A, Berkofsky-Fessler W, Prchal J, Scalise A. Numerical gain and structural rearrangements of JAK2, identified by FISH, characterize both JAK2617V>F-positive and -negative patients with Ph-negative MPD, myelodysplasia, and B-lymphoid neoplasms. *Exp Hematol*. Netherlands; 2007 Nov;35(11):1668–76.
  34. Suzuki R, Onizuka M, Kojima M, Shimada M, Tsuboi K, Ogawa Y, et al. Infrequent hypermethylation of WIF-1 promoter in BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Tokai J Exp Clin Med*. Japan; 2007 Dec;32(4):131–5.
  35. Xu W, Li J-Y, Xia J, Zhang S-J, Fan L, Qiao C. MPL W515L mutation in Chinese patients with myeloproliferative diseases. *Leuk Lymphoma*. England; 2008 May;49(5):955–8.
  36. Lucia E, Martino B, Mammi C, Vigna E, Mazzone C, Gentile M, et al. The incidence of JAK2 V617F mutation in bcr/abl-negative chronic myeloproliferative disorders: assessment by two different detection methods. *Leuk Lymphoma*. England; 2008 Oct;49(10):1907–15.
  37. Tefferi A, Sirhan S, Sun Y, Lasho T, Finke CM, Weisberger J, et al. Oligonucleotide array CGH studies in myeloproliferative neoplasms: comparison with JAK2V617F mutational status and conventional chromosome analysis. *Leuk Res*. England; 2009 May;33(5):662–4.
  38. Tefferi A, Pardanani A, Lim K-H, Abdel-Wahab O, Lasho TL, Patel J, et al. TET2 mutations and their clinical correlates in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Leukemia*. England; 2009 May;23(5):905–11.
  39. Tripodi J, Hoffman R, Najfeld V, Weinberg R. Frequency of heterozygous TET2

- deletions in myeloproliferative neoplasms. *Cancer Manag Res. New Zealand*; 2010 Sep;2:219–23.
40. Chen X, Qi X, Tan Y, Xu Z, Xu A, Zhang L, et al. Detection of MPL exon10 mutations in 103 Chinese patients with JAK2V617F-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood Cells Mol Dis. United States*; 2011 Jun;47(1):67–71.
  41. Toyama K, Karasawa M, Yokohama A, Mitsui T, Uchiumi H, Saitoh T, et al. Differences in the JAK2 and MPL mutation status in the cell lineages of the bcr/abl-negative chronic myeloproliferative neoplasm subtypes. *Intern Med. Japan*; 2011;50(21):2557–61.
  42. Benmoussa A, Dehbi H, Fehri S, Quessar A, Nadifi S. JAK2-V617F mutation in Moroccan patients with myeloproliferative disorders: contribution, diagnosis and therapeutic prospects. *Pathol Biol (Paris). France*; 2011 Aug;59(4):e89-92.
  43. da Silva RR, Domingues Hatzlhofer BL, Machado CG de F, Lima AS de M, de Albuquerque DM, dos Santos MNN, et al. JAK2 V617F mutation prevalence in myeloproliferative neoplasms in Pernambuco, Brazil. *Genet Test Mol Biomarkers. United States*; 2012 Jul;16(7):802–5.
  44. Zhang X, Maimaitili Y, Li Y, An L, Mao M, Fu L, et al. [Detection and clinical significance of JAK2 V617F mutation in Chinese and Uyghur patients with chronic myeloproliferative in Xinjiang]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi. China*; 2012 Dec;33(12):1020–3.
  45. Ho C-L, Wu Y-Y, Hung H-M, Chang P-Y, Kao W-Y, Chen Y-C, et al. Rapid identification of heterozygous or homozygous JAK2(V617F) mutations in myeloproliferative neoplasms using melting curve analysis. *J Formos Med Assoc. Singapore*; 2012 Jan;111(1):34–40.
  46. Pagliarini-e-Silva S, Santos BC, Pereira EM de F, Ferreira ME, Baraldi EC, Sell AM, et al. Evaluation of the association between the JAK2 46/1 haplotype and chronic myeloproliferative neoplasms in a Brazilian population. *Clinics (Sao Paulo). Brazil*; 2013 Jan;68(1):5–9.
  47. Patriarca A, Colaizzo D, Tiscia G, Spadano R, Di Zacommo S, Spadano A, et al. TET2 mutations in Ph-negative myeloproliferative neoplasms: identification of three novel mutations and relationship with clinical and laboratory findings. *Biomed Res Int. United States*; 2013;2013:929840.
  48. Kim H-R, Choi H-J, Kim Y-K, Kim H-J, Shin J-H, Suh S-P, et al. Allelic expression imbalance of JAK2 V617F mutation in BCR-ABL negative

- myeloproliferative neoplasms. *PLoS One*. United States; 2013;8(1):e52518.
49. Wu Z, Zhang X, Xu X, Chen Y, Hu T, Kang Z, et al. The mutation profile of JAK2 and CALR in Chinese Han patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol*. England; 2014 Jul;7:48.
  50. Payzin KB, Savasoglu K, Alacacioglu I, Ozdemirkiran F, Mutlu BB, Bener S, et al. JAK2 V617F mutation status of 232 patients diagnosed with chronic myeloproliferative neoplasms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. United States; 2014 Dec;14(6):525–33.
  51. Macedo LC, Santos BC, Pagliarini-e-Silva S, Pagnano KBB, Rodrigues C, Quintero FC, et al. JAK2 46/1 haplotype is associated with JAK2 V617F--positive myeloproliferative neoplasms in Brazilian patients. *Int J Lab Hematol*. England; 2015 Oct;37(5):654–60.
  52. Ouyang Y, Qiao C, Wang J, Xiao L, Zhang S. [Analysis of CALR, JAK2 and MPL gene mutations in BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. China; 2015 May;95(18):1369–73.
  53. Mahjoub S, Baccouche H, Sahnoun M, Kaabi H, Manai Z, Slama H, et al. [The JAK2 mutation in myeloproliferative disorders: A predictive factor of thrombosis]. *Tunis Med*. Tunisia; 2015 Jul;93(7):474–7.
  54. Jaradat SA, Khasawneh R, Kamal N, Matalka I, Al-Bishtawi M, Al-Sweedan S, et al. Analysis of JAK2V617F mutation in Jordanian patients with myeloproliferative neoplasms. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. England; 2015 Dec;8(4):160–6.
  55. Labastida-Mercado N, Galindo-Becerra S, Garces-Eisele J, Colunga-Pedraza P, Guzman-Olvera V, Reyes-Nunez V, et al. The mutation profile of JAK2, MPL and CALR in Mexican patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. England; 2015 Mar;8(1):16–21.
  56. Duangnapasatit B, Rattarittamrong E, Rattanathammeth T, Hantrakool S, Chai-Adisaksopha C, Tantiworawit A, et al. Clinical Manifestations and Risk Factors for Complications of Philadelphia Chromosome-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Asian Pac J Cancer Prev*. Thailand; 2015;16(12):5013–8.
  57. Geduk A, Atesoglu EB, Tarkun P, Mehtap O, Hacıhanefioglu A, Demirsoy ET, et al. The Role of beta-Catenin in Bcr/Abl Negative Myeloproliferative

- Neoplasms: An Immunohistochemical Study. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* United States; 2015 Dec;15(12):785–9.
58. Berzoti-Coelho MG, Ferreira AF, de Souza Nunes N, Pinto MT, Junior MCR, Simoes BP, et al. The expression of Death Inducer-Obliterator (DIDO) variants in Myeloproliferative Neoplasms. *Blood Cells Mol Dis.* United States; 2016 Jul;59:25–30.
  59. Macedo LC, de Cesare Quintero F, Pagliari-E-Silva S, Pagnano KBB, Rodrigues C, de Alencar JB, et al. Association of TNF polymorphisms with JAK2 (V617F) myeloproliferative neoplasms in Brazilian patients. *Blood Cells Mol Dis.* United States; 2016 Mar;57:54–7.
  60. Didone A, Nardinelli L, Marchiani M, Ruiz ARL, de Lima Costa AL, Lima IS, et al. Comparative study of different methodologies to detect the JAK2 V617F mutation in chronic BCR-ABL1 negative myeloproliferative neoplasms. *Pract Lab Med.* Netherlands; 2016 Apr;4:30–7.
  61. Xu J, Xu Z, Wang J, Li B, Sun X, Qin T, et al. [The assessment of symptomatic burden among Ph/BCR- ABL negative myeloproliferative neoplasm patients]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* China; 2016 Jan;37(1):26–9.
  62. McFarland DC, Polizzi H, Mascarenhas J, Kremyanskaya M, Holland J, Hoffman R. Psychological Symptoms Among Patients With BCR-ABL-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *J Natl Compr Canc Netw.* United States; 2016 Dec;14(12):1563–70.
  63. Wang JC, Kundra A, Andrei M, Baptiste S, Chen C, Wong C, et al. Myeloid-derived suppressor cells in patients with myeloproliferative neoplasm. *Leuk Res.* England; 2016 Apr;43:39–43.
  64. Gardner J-A, Peterson JD, Turner SA, Soares BL, Lancor CR, Dos Santos LL, et al. Detection of CALR Mutation in Clonal and Nonclonal Hematologic Diseases Using Fragment Analysis and Next-Generation Sequencing. *Am J Clin Pathol.* England; 2016 Oct;146(4):448–55.
  65. Goel S, Paoli C, Iurlo A, Pereira A, Efficace F, Barbui T, et al. Socioeconomic burden of participation in clinical trials in patients with myeloproliferative neoplasms. *Eur J Haematol.* England; 2017 Jul;99(1):36–41.
  66. Smaili W, Doubaj Y, Laarabi FZ, Lyahyai J, Kerbout M, Mikdame M, et al. CALR gene mutational profile in myeloproliferative neoplasms with non-mutated JAK2 in Moroccan patients: A case series and germline in-frame

- deletion. *Curr Res Transl Med*. France; 2017 Jan;65(1):15–9.
67. Gadomska G, Stankowska K, Boinska J, Slusarz R, Tylicka M, Michalska M, et al. VEGF-A, sVEGFR-1, and sVEGFR-2 in BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms. *Medicina (Kaunas)*. Netherlands; 2017;53(1):34–9.
  68. Yildiz I, Yokus O, Gedik H. Janus kinase 2 mutations in cases with BCR-ABL-negative chronic myeloproliferative disorders from Turkey. *Avicenna J Med*. India; 2017;7(1):28–31.
  69. Lim Y, Lee JO, Bang SM. Incidence, Survival and Prevalence Statistics of Classical Myeloproliferative Neoplasm in Korea. *J Korean Med Sci*. Korea (South); 2016 Oct;31(10):1579–85.
  70. Roaldsnes C, Holst R, Frederiksen H, Ghanima W. Myeloproliferative neoplasms: trends in incidence, prevalence and survival in Norway. *Eur J Haematol*. England; 2017 Jan;98(1):85–93.
  71. Mughal TI, Gotlib J, Mesa R, Koschmieder S, Khoury HJ, Cortes JE, et al. Recent advances in the genomics and therapy of BCR/ABL1-positive and -negative chronic myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res*. England; 2018 Feb;67:67–74.
  72. Sabattini E, Bacci F, Sagrarnoso C, Pileri SA. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview. Vol. 102, *Pathologica*. Italy; 2010. p. 83–7.
  73. Griesshammer M, Sadjadian P. The BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms: a review of JAK inhibitors in the therapeutic armamentarium. *Expert Opin Pharmacother*. England; 2017 Dec;18(18):1929–38.
  74. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, Looser R, Hao-shen H, Nissen I, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. 2018;123(14):2220–9.
  75. Lavi N. Calreticulin Mutations in Myeloproliferative Neoplasms. 2014;5(4):1–8.
  76. Saeidi K. *Critical Reviews in Oncology / Hematology Myeloproliferative neoplasms : Current molecular biology and genetics*. Crit Rev Oncol / Hematol [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2016;98:375–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2015.11.004>

**Prevalencia de la mutación JAK2 en neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativas: revisión sistemática y metanálisis 2007-2018.**

**Prevalence of the JAK2 mutation in chronic BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms: systematic review and meta-analysis 2007-2018.**

Mónica Mejía Ochoa<sup>1</sup> Paola Andrea Acevedo Toro<sup>2</sup> Jaiberth Antonio Cardona-Arias<sup>3</sup>

1 Bacterióloga, MSc(C) Microbiología y Bioanálisis – énfasis Hematología. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

2 Microbióloga y Bioanalista. MSc Ciencias Básicas Biomédicas. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Tutora trabajo de Investigación

3 MyB, MSc Epidemiología, MSc Economía Aplicada. Estudiante Doctorado Salud Pública. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Facultad de medicina Universidad Cooperativa de Colombia. Medellín, Colombia.

**Correspondencia.**

Jaiberth Antonio Cardona Arias. Calle 67 Número 53 – 108, Bloque 5, oficina 103, Medellín, Colombia. Teléfono 2198486. Fax 2195486. E-mail jaiberthcardona@gmail.com

## **Resumen**

**Introducción:** La mutación JAK2 ha tenido gran impacto en el conocimiento de las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC); su utilidad como marcador diagnóstico se puede consolidar con el estudio de su prevalencia en Policitemia vera (PV), Trombocitemia esencial (TE) y Mielofibrosis primaria (MFP).

**Objetivo:** Metanalizar la prevalencia de la mutación JAK2 en PV, TE y MFP, 2007-2018

**Materiales y métodos:** revisión sistemática con metanálisis en cuatro bases de datos multidisciplinarias con un protocolo *a priori* con criterios de identificación, tamización, elegibilidad e inclusión según la guía PRISMA. Se garantizó la reproducibilidad en la búsqueda y extracción de información. La calidad metodológica se evaluó con la guía STROBE. Las variables se describieron con frecuencias. Se realizó metanálisis para la diferencia de prevalencias de la mutación JAK2 en PV, TE y MFP con sus intervalos de confianza del 95% o Prueba Z.

**Resultados:** Se incluyeron 43 estudios, 1970 pacientes con PV, 2652 con TE y 828 con MFP. Las publicaciones provienen de 22 países diferentes, principalmente de China (13,9%). La técnica más usada fue AS-PCR (34,8%) seguida de PCR en tiempo real (18,6%) y secuenciación (16,2%). La prevalencia global de la mutación JAK2V617F en PV fue 88,5%; 59,7% en TE y 55,2% en MFP sin cambios estadísticamente significativos según el tipo de prueba o la calidad metodológica de los estudios.

**Conclusión:** Se evidencian frecuencias altas de la mutación JAK2V617F en las tres neoplasias, con diferencias significativas en PV respecto a TE y MFP. Estos datos demuestran que en la práctica médica, se debe implementar un diagnóstico integral que incluya tanto marcadores biológicos como clínicos y moleculares, el cual se aplique para el abordaje de las tres NMPC BCR-ABL negativas y que no se limite únicamente a PV.

**Palabras clave:** Prevalencia; mutación JAK2; neoplasias mieloproliferativas crónicas; revisión sistemática; Metanálisis

## **Review**

**Introduction:** The JAK2 mutation has had a great impact on the knowledge of chronic myeloproliferative neoplasms (NMPC); its usefulness as a diagnostic marker can be consolidated with the study of its prevalence in polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (TE) and primary myelofibrosis (MFP).

**Objective:** To Meta-analyze the prevalence of the JAK2 mutation in PV, TE and MFP, 2007-2018

**Materials and methods:** systematic review with meta-analysis in four multidisciplinary databases, with an a priori protocol with identification, screening, eligibility and inclusion criteria according to the PRISMA guide. Reproducibility was guaranteed in the search and extraction of information. The methodological quality was evaluated with the STROBE guide. The variables were described with frequencies. Meta-analysis was performed for the difference in prevalence of the JAK2 mutation in PV, TE and MFP with their 95% confidence intervals or Z test.

**Results:** Forty-three studies were included, 1970 patients with PV, 2652 with ET and 828 with MFP. The publications come from 22 different countries, mainly from Korea (13.9%). The most used technique was AS-PCR (34.8%) followed by real-time PCR (18.6%) and sequencing (16.2%). The overall prevalence of the JAK2V617F mutation in PV was 88.5%; 59.7% in TE and 55.2% in MFP without statistically significant changes according to the type of test or the methodological quality of the studies.

**Conclusion:** High frequencies of the JAK2V617F mutation are evident in the three neoplasms, with significant differences in PV with respect to TE and MFP. These data demonstrate that in medical practice, a comprehensive diagnosis must be implemented that includes both biological and clinical and molecular markers, which is applied to address the three NMPC BCR-ABL negative and that is not limited only to PV.

**Keywords:** Prevalence; JAK2 mutation; Chronic Myeloproliferative neoplasms; systematic review; Meta-analysis.

## **Introducción**

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC) son un grupo de entidades hematológicas caracterizadas por una proliferación descontrolada de células clonales maduras en médula ósea y sangre periférica. De acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud del 2016, estas entidades se diferencian según variables genóticas y fenotípicas en leucemia mieloide crónica BCR-ABL positiva, leucemia neutrofílica crónica, policitemia vera (PV), mielofibrosis primaria (MFP), Trombocitemia esencial (TE), leucemia eosinofílica crónica y neoplasias mieloproliferativas no clasificables (1).

Particularmente PV, TE y MFP presentan una incidencia anual de 0,84, 1,03 y 0,47 por 100.000 personas respectivamente, y se denominan clásicamente como NMPC BCR-ABL negativas por no presentar la translocación (9;22) que es característica de la leucemia mieloide crónica y por lo tanto permite separarlas de esta entidad. Además de la ausencia del marcador BCR-ABL, a nivel genético, este subgrupo de neoplasias se caracteriza por la presencia de otros marcadores, principalmente JAK2, MPL y CALR. (2).

La primera aproximación genética de las NMPC se realizó en 2005, a través de secuenciación del gen JAK2, demostrando una estrecha relación entre alteraciones en este gen con PV (3). JAK2, codifica para una proteína Janus kinasa importante en la regulación de la mayoría de vías celulares al fosforilar factores de transcripción de la vía JAK-STAT, este es uno de los principales mecanismos celulares que regulan la proliferación, diferenciación, apoptosis y supervivencia celular (4). La principal alteración molecular presente en la mayoría de pacientes con PV, es JAK2V617F en el dominio pseudoquinasa JH2, en la cual un cambio específico de nucleótido de guanina por timina en el ADN, genera sustitución de valina por fenilalanina en el aminoácido 617 de la proteína; (5,6). Otros tipos de mutaciones en el exón 12 se han encontrado en una menor proporción de pacientes con PV, aproximadamente en 5% (4).

Desde su identificación en el año 2005, las alteraciones en el gen JAK2, han tenido gran impacto en el ámbito hematológico en diferentes aspectos; inicialmente, permitieron la comprensión a nivel molecular de la patogénesis de las NMPC por la activación constitutiva del receptor JAK2 en modelos murinos (7,8). Por otra parte las mutaciones en JAK2, especialmente JAK2V617F han resultado ser, para algunos autores, de gran importancia en la caracterización diagnóstica de las NMPC en la medida que permite identificar con alta especificidad PV; sin embargo, en otros casos, frecuencias bajas

reportadas para esta mutación han cuestionado su especificidad diagnóstica. Además del impacto de JAK2 en PV, este marcador juega un papel importante en la caracterización de MFP y TE, en las cuales se ha reportado una alta variabilidad en su frecuencia.

Varios estudios realizados en PV han mostrado frecuencias altas de JAK2V617F, mayores del 80% y hasta del 100% como es el caso de las investigaciones de Lucia E (2008) y Patriarca A (2013) (9,10); sin embargo, otros han mostrado frecuencias más bajas de la mutación como el de Suzuki R y cols en 2007 con una proporción del 46,7% y el de Labastida N y cols en 2015 del 62,5% (11,12).

Como se mencionó anteriormente, varios estudios han demostrado que el marcador JAK2V617F al igual que en PV, es responsable de la patogénesis y el desarrollo de TE y MFP, aunque en una menor proporción de pacientes. En TE las frecuencias de este marcador son heterogéneas entre estudios, oscilando entre 31,3% y 72,1% (9,13). Por su parte en MFP, las proporciones reportadas tienen un rango más amplio con frecuencias tan bajas como de 14,3% hasta frecuencias mayores de 70% (11,14).

Las diferencias expuestas podrían ser atribuidas a múltiples factores como la selección de individuos con diferentes condiciones clínicas, un bajo número de muestra que limita la validez externa de los resultados o que podría conducir a la subestimación o sobreestimación de la “real” frecuencia de JAK2; por ejemplo el estudio de Kim H y cols en 2013 reportó una alta frecuencia de la mutación en siete pacientes con MFP (14), por el contrario Labastida y cols en 2015 reportaron baja frecuencia de JAK2 en PV con ocho individuos (12). Por otra parte, también se encuentran diferencias atribuibles a la sensibilidad y especificidad de las técnicas de detección empleadas en cada estudio; en este sentido, se han reportado bajas frecuencias de JAK2 al usar técnicas de secuenciación (11,13); igualmente, el uso de la metodología ARMS por Labastida y cols en 2015 detectó frecuencias bajas del marcador (12), ; por el contrario, el uso de las técnicas de AS-PCR y PCR en tiempo real muestran una mayor detección de la mutación en pacientes con NMPC (9,10,14).

La baja sensibilidad atribuida a la secuenciación de tipo Sanger se debe a que necesita alto número de clonas mutadas para detectar la mutación, por el contrario la metodología de AS-PCR puede tener una sensibilidad alta, incluso con un número bajo de clonas mutadas, en la medida que se realice un correcto diseño de primers; al igual que esta última, la PCR en tiempo real puede llegar a ser altamente sensible cuando se tiene un estricto control de todas las variables analíticas incluido el diseño de primers y la selección de los genes control. Adicionalmente, con el fin de evitar sesgos en la aplicación

de las diferentes metodologías, se recomienda detectar la mutación en muestras extraídas partir de médula ósea, mantener estricto control de las condiciones y tiempo de almacenamiento de las muestras y realizar la extracción de ADN en el menor tiempo posible para evitar su degradación, estas condiciones permiten aumentar la sensibilidad de las pruebas.

Dada la gran heterogeneidad reportada para las frecuencias de la mutación JAK2V617F por los diferentes autores, se hace necesaria la sistematización de estudios analíticos en NMPC, cuyo fin sea determinar la frecuencia de este marcador; así mismo, la posibilidad de metanalizar estos datos y obtener una medida combinada del total de estudios individuales, que posibilite estudiar de manera precisa, la distribución del marcador en este grupo de neoplasias.

Por lo anterior, el objetivo de la presente revisión es metanalizar la prevalencia de la mutación JAK2 en PV, TE y MFP.

## **Métodos**

**Tipo de estudio:** Revisión sistemática de la literatura con metanálisis de medidas indirectas.

**Protocolo de investigación según la guía PRISMA** *Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses* (15)

Identificación: Se realizó una búsqueda por sensibilidad en Medline-Pubmed, Scielo, Science direct y Google Scholar. Estas bases son interdisciplinarias y evidencian gran exhaustividad en la búsqueda de la información; la primera es una de las principales bases de datos de Medicina de los Estados Unidos, Scielo es una base de datos interdisciplinaria de habla hispana y Latinoamérica, Science direct es una de las colecciones electrónicas más grandes del mundo y Google Scholar es un buscador especializado en la búsqueda de literatura científico-académica.

La identificación de los términos de búsqueda se hizo por una cosecha de perlas, con una exploración inicial en artículos de revisión bibliográfica relevantes en NMPC para hallar los términos clave y sus sinónimos en todas las bases de datos de la revisión sistemática. Después de la aplicación de esta cosecha de perlas, se identificó que los términos JAK2, polycythemia vera, primary myelofibrosis, essential thrombocythemia Chromosome Ph, Philadelphia chromosome, Philadelphia -Ph- chromosome, Philadelphia translocation y BCR ABL Negative son los más utilizados por los diferentes autores para referirse a las NMPC diferentes de la leucemia mieloide crónica y por lo tanto se definieron como los términos de búsqueda de la presente revisión (16).

Tamización o aplicación de los criterios de inclusión: Para esta fase se tomaron los artículos que contenían los términos de búsqueda en título, resumen o palabras clave; con los artículos obtenidos se realizó eliminación de duplicados. Posteriormente, se aplicaron cuatro criterios de inclusión: Estudios relacionados con el tema de interés (NMPC), investigaciones que reportaran la frecuencia de la mutación JAK2V617F en cada enfermedad, artículos originales y publicaciones en humanos o in vivo.

Es oportuno precisar que este protocolo no presentó limitaciones temporales de manera retrospectiva, y de manera prospectiva se hizo una última actualización en noviembre de 2018; la temporalidad se estableció con base en la publicación de mayor antigüedad. Algunas de las sintaxis empleadas fueron: (((JAK2[Title/Abstract]) AND polycythemia vera[Title/Abstract]) AND primary myelofibrosis[Title/Abstract]) AND essential thrombocythemia[Title/Abstract]; TITLE-ABSTR-KEY(BCR ABL Negative) or TITLE-ABSTR-KEY(Chromosome Ph OR Philadelphia chromosome OR Ph chromosome OR Philadelphia translocation); chromosome ph[Title/Abstract]; BCR-ABL Negative[Title/Abstract]; TITLE-ABSTR-KEY(BCR ABL Negative); (((BCR ABL Negative[Title/Abstract]) OR Chromosome Ph[Title/Abstract]) OR Philadelphia chromosome[Title/Abstract]) OR Philadelphia (Ph) chromosome[Title/Abstract]) OR Philadelphia translocation[Title/Abstract]; (ab:(JAK2 AND polycythemia vera AND primary myelofibrosis AND essential thrombocythemia)); (ti:(ab:(BCR ABL Negative OR Chromosome Ph OR Philadelphia chromosome OR Ph chromosome OR Philadelphia translocation)))).

Elección o aplicación de los criterios de exclusión: Tras la revisión completa de los manuscritos, se excluyeron los artículos con un número de pacientes menor de 10, estudios con información incompleta que no especificaron tipo de diagnóstico o no reportaron la frecuencia de la mutación en cada entidad, publicaciones en los que se evaluó una sola enfermedad (lo que impedía la comparación de la prevalencia de la mutación en la misma base poblacional), estudios experimentales o clínicos y que evaluaron pruebas diagnósticas.

Inclusión: La caracterización de los estudios se realizó con la extracción de variables título, autores, tipo de estudio, tema principal del artículo, revista, año de publicación, país, número de pacientes totales y por tipo de enfermedad, frecuencia de la mutación JAK2V617F en cada diagnóstico y técnica de detección de la mutación.

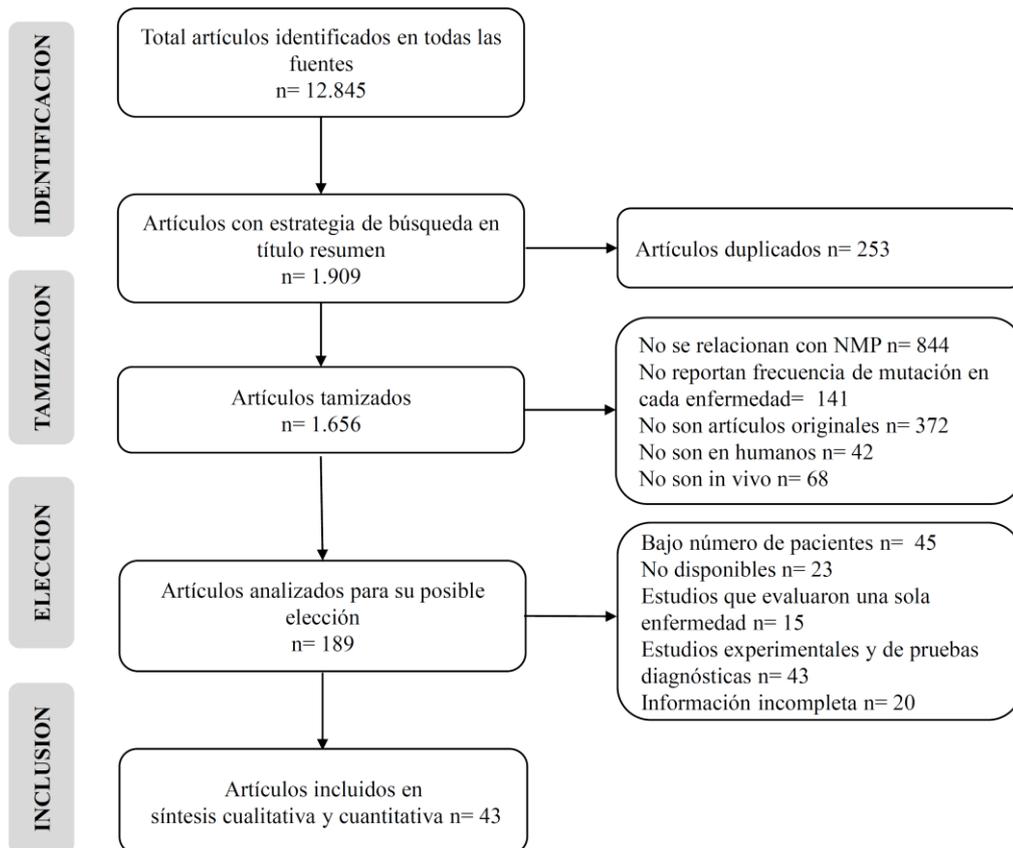
**Evaluación de la reproducibilidad y la calidad metodológica:** La búsqueda y selección de los estudios se realizó de manera independiente por dos investigadores para garantizar

la reproducibilidad de la revisión; *a priori* se determinó que las discrepancias se resolverían por consenso o remisión a un tercero; la fase de extracción de variables se realizó de manera independiente por dos investigadores y se obtuvo el índice kappa de 1.00 para las variables del estudio. Para la calidad metodológica se aplicó la guía STROBE (STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology) que incluye criterios que permiten evaluar la validez interna y externa de los estudios incluidos (17).

**Análisis de la información:** las variables de estudio se describieron con frecuencias absolutas y relativas. Para el análisis de la frecuencia de la mutación JAK2V617F, se realizó un metanálisis comparando la prevalencia de la mutación entre las tres enfermedades mediante intervalos de confianza del 95% para la diferencia de proporciones o Prueba Z. También se realizó meta-regresión según la técnica diagnóstica y la calidad metodológica de los artículos.

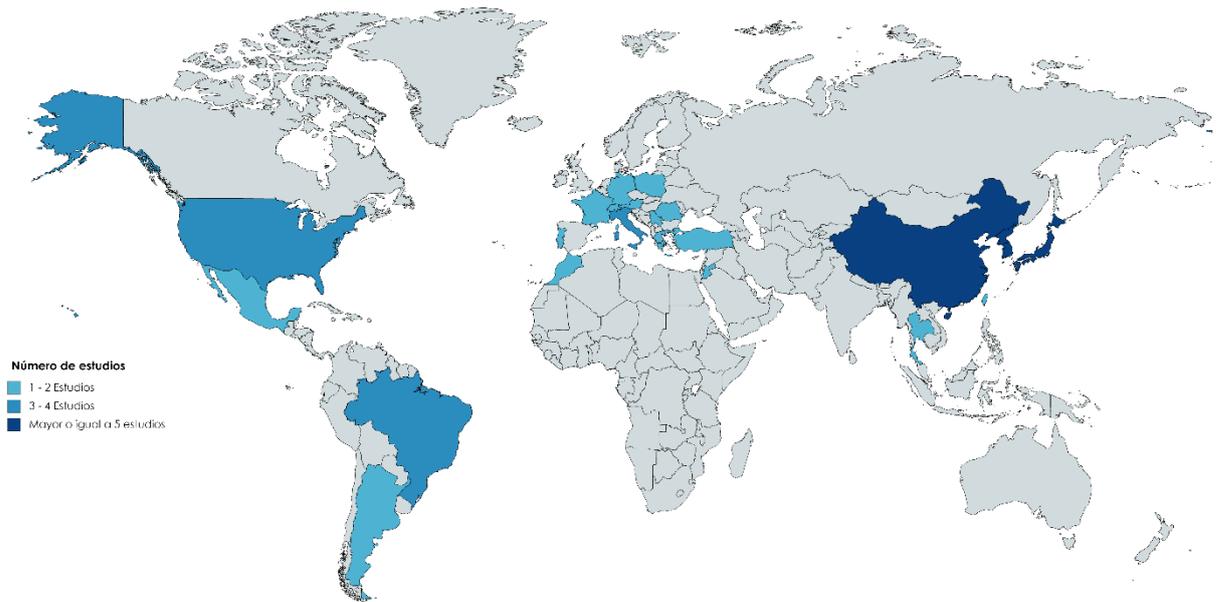
### **Resultados**

En la figura 1 se muestra el protocolo con las diferentes fases de la guía PRISMA. Se obtuvo un total de 12.845 estudios sin la aplicación de límites, tras restringirlos a título, resumen, palabra clave se obtuvieron 1.909 resultados; con la eliminación de duplicados y aplicación de los criterios de inclusión y exclusión se tomaron 43 publicaciones para la síntesis cualitativa y cuantitativa de la información.



**Figura 1: Flujograma de búsqueda y selección de estudios.**

Con base en la distribución temporal de los estudios se incluyeron publicaciones realizadas entre los años 2007 y 2018. El año con mayor número corresponde a 2015 con 6 estudios (14%), en los demás años el número de publicaciones osciló entre 1 y 4. Respecto a la distribución geográfica, las 43 publicaciones incluidas se desarrollaron en 22 países diferentes; de estos, Corea fue el país con mayor número de estudios con 6 (13,9%), seguidos de China y Japón con 5 cada uno (11,6%). Los demás países tuvieron entre una y cuatro publicaciones (Tabla 1, Figura 2).



**Figura 2: Distribución de estudios por país.**

La evaluación de la calidad metodológica de los estudios incluidos, evidencia que los artículos cumplen con más del 70% de los criterios de la guía STROBE; el criterio que menos se cumple es la explicación del tamaño de muestra y la discusión de la posibilidad de generalizar los resultados obtenidos (Figura 3)

<b>Criterios guía STROBE</b>	<b>Estudios que cumplen (%)</b>
<b>Título y resumen</b>	100
<b>Introducción</b>	
Fundamentación	100
Objetivo	100
<b>Metodología</b>	
Diseño del estudio	100
Descripción espacial - temporal	98
Descripción de participantes	98
Definición de variables	100
Fuentes de datos y medición	100
Control de sesgos	65
Tamaño del estudio	7
Variables cuantitativas	63
Métodos estadísticos	74
<b>Resultados</b>	
Participantes	100
Datos descriptivos	100
Datos del desenlace central	100
Resultados principales según el objetivo	100
Análisis adicionales	53
<b>Discusión</b>	
Resultados clave	100
Limitaciones	47
Interpretación de resultados	100
Generalización de resultados	21
<b>Otros datos</b>	
Financiación del estudio	47

**Figura 3: Evaluación de la calidad metodológica según guía STROBE.**

**Tabla 1: Descripción de estudios incluidos según año, país de publicación y técnica empleada**

<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>País</b>	<b>N pacientes</b>	<b>Técnica</b>
Speletas M (18)	2007	Grecia	12	AS-PCR
Suzuki R (11)	2007	Japón	41	Secuenciación
Zhang S (19)	2007	China	71	AS-PCR
Boveri E (20)	2008	Italia	93	PCR en tiempo real
Lucia E (9)	2008	Italia	144	AS-PCR
Pardanani A (21)	2008	Estados unidos	179	AS-PCR
Xu W (22)	2008	China	147	AS-PCR
Bang S (23)	2009	Corea	278	AS-PCR
Bojko P (24)	2009	Alemania	53	PCR en tiempo real
Medinger M (25)	2009	Suiza	96	AS-PCR

Tefferi A (26)	2009	Estados Unidos	206	RT-PCR
Kim J (27)	2010	Corea	139	AS-PCR
Trifa A (28)	2010	Rumania	149	ARMS
Benmoussa A (29)	2011	Marruecos	39	AS-PCR
Dos Santos L (30)	2011	Brasil	58	PCR en tiempo real
Toyama K (31)	2011	Japón	115	AS-PCR
Vadikolia C (32)	2011	Grecia	94	AS-PCR
da Silva R (33)	2012	Brasil	144	PCR-RFLP
Ha J (34)	2012	Corea	103	AS-PCR
Ho CL (35)	2012	Taiwán	58	PCR en tiempo real
Zhang X (36)	2012	China	134	AS-PCR
Kim H (14)	2013	Corea	75	AS-PCR
Park S (37)	2013	Corea	118	ARMS
Patriarca A (10)	2013	Italia	90	PCR en tiempo real
Payzin K (38)	2014	Turquía	232	PCR en tiempo real
Takata Y (39)	2014	Japón	78	SNP
Vytrva N (40)	2014	Austria	112	DHPLC
Wu Z (41)	2014	China	210	HRM
Borowczyk M (42)	2015	Polonia	178	ARMS
Jaradat SA (13)	2015	Jordania	57	Secuenciación
Kim S (43)	2015	Corea	191	Secuenciación
Labastida-Mercado N (12)	2015	México	26	ARMS
Mahjoub S (44)	2015	Francia	42	AS-PCR
Zhang S (45)	2015	China	63	Secuenciación
Didone A (46)	2016	Brasil	68	PCR-RFLP
Gardner JA (47)	2016	Estados Unidos	13	PCR por análisis de fragmentos
Matsumoto N (48)	2016	Japón	88	PCR en tiempo real
Singdong R (49)	2016	Tailandia	97	Secuenciación
Azevedo AP (50)	2017	Portugal	133	PCR en tiempo real
Lekovic D (51)	2017	Serbia	90	Secuenciación
Yildiz I (52)	2017	Turquía	100	Secuenciación
Misawa K (53)	2018	Japón	443	ABC-PCR
Ojeda MJ (54)	2018	Argentina	439	ARMS

AS PCR: PCR alelo específica; RT-PCR: PCR de transcripción reversa; ARMS: Sistema de Mutación Refractario a la Amplificación por PCR; PCR-RFLP: PCR de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción; HRM: análisis de fusión de alta resolución; SNP: Polimorfismo de nucleótido único; DHPLC: Cromatografía líquida desnaturizante de alto rendimiento; ABC-PCR: alternately binding probe competitive PCR

En la descripción de los estudios por técnica de detección, la metodología más utilizada fue la PCR alelo específica (AS-PCR) (34,8%), seguida de PCR en tiempo real (18,6%) y secuenciación (16,2%); las técnicas de HRM, PCR-RFLP, RT-PCR y ARMS, fragment analysis PCR, ABC-PCR y DHPLC y SNP fueron usadas en menor proporción (Tabla 1).

Las frecuencias de la mutación JAK2V617F oscilaron entre 46,7% y 100% en PV con una prevalencia global de 88,5%; en TE fluctuó entre 31,3 y 81,5% con una medida combinada de 59,7%, y en MFP el estudio con la menor proporción de la mutación registró un 14,3% y el mayor 85,7% para una medida global de 55,2% (Figura 4).

<b>Autor</b>	<b>% Policitemia</b>	<b>% Trombocitemia</b>	<b>% Mielofibrosis</b>
Suzuki R	46,7	47,6	80,0
Zhang S	69,6	45,0	37,5
Lucia E	90,2	72,1	63,2
Xu W	62,5	42,2	38,5
Tefferi A	89,9	45,6	55,0
Benmoussa A	89,5	62,5	33,3
Toyama K	88,0	68,3	75,0
da Silva R	88,5	48,1	72,7
Ho C	76,2	46,9	80,0
Zhang X	84,3	69,7	52,9
Kim H	88,5	57,1	85,7
Patriarca A	100,0	63,6	66,7
Payzin K	95,1	68,2	77,3
Wu Z	82,5	56,3	58,0
Jaradat S	70,4	31,3	14,3
Labastida N	62,5	35,7	25,0
Mahjoub S	72,7	47,1	66,7
Didone A	95,0	71,4	40,0
Gardner J	100,0	66,7	33,3
Yildiz I	73,9	61,8	55,6
kim S	87,9	63,3	57,4
Singdong R	94,7	74,5	25,0
Ha J	95,5	68,8	52,9
Speletas M	81,4	69,4	58,3
Dos Santos L	90,0	47,1	42,9
Zhang S	80,8	44,4	40,0
Pardanani A	94,0	48,3	51,4
Kim JT	91,7	52,8	46,2
Vytrva N	94,7	46,2	63,6
Misawa K	97,0	59,9	53,8
Bojko P	70,0	61,3	50,0
Azevedo AP	87,2	72,5	50,0
Vadikolia CM	96,2	60,7	71,4
Matsumoto N	84,2	55,8	57,1
Park SH	82,5	81,5	83,3
Trifa AP	88,4	56,9	60,0
Borowczyk M	94,3	60,5	36,4
Bang SM	85,8	61,0	33,3
Medinger M	78,3	58,3	53,8
Takata Y	100,0	60,8	36,4
Lekovic D	96,7	56,7	56,7
Boveri E	95,7	45,8	56,5
Ojeda MJ	94,9	61,2	63,3
<b>TOTAL</b>	<b>88,5</b>	<b>59,7</b>	<b>55,2</b>

**Figura 4: Prevalencia de la mutación JAK2V617F por enfermedad y por estudio**

**Tabla 2: comparación de la frecuencia de JAK2V617F por técnica y por diagnósticos**

<b>Frecuencia</b>	<b>PV % (n/N)</b>	<b>TE % (n/N)</b>	<b>MFP % (n/N)</b>
<b>Total</b>	<b>88,5 (1743/1970)</b>	<b>59,7(1582/2652)</b>	<b>55,2 (457/828)</b>
IC95% para un proporción	87,0-89,9	57,8-61,5	51,7-58,6
<b>AS-PCR</b>	86,0 (577/671)	59,5 (547/920)	52,8 (122/231)
IC95% para un proporción	83,3-88,7	56,2-62,7	46,1-59,5
<b>Secuenciación</b>	82,9 (180/217)	59,8 (177/296)	50,8 (64/126)
IC95% para un proporción	77,7-88,2	54,0-65,5	41,7-60,0
<b>PCR - RFLP</b>	90,3 (65/72)	54,1 (59/109)	51,6 (16/31)
IC95% para un proporción	82,7-97,8	44,3-63,9	32,4-70,8
<b>PCR tiempo real</b>	89,2 (239/268)	62,8 (258/411)	58,7 (74/126)
IC95% para un proporción	85,3-93,1	58,0-67,6	49,7-67,7
<b>HRM</b>	83,9 (73/87)	56,6 (47/83)	56,6 (30/53)
IC95% para un proporción	75,6-92,2	45,3-67,9	42,3-70,9

Al comparar la prevalencia de la mutación en cada enfermedad según la prueba de detección, no se hallaron diferencias estadísticas. Asimismo, se obtuvo que la prevalencia de la mutación en PV difiere significativamente respecto a TE en 28,8% (IC 95% para la diferencia de proporciones = 26,4% a 31,2%); en PV respecto a MFP se obtuvo una diferencia de 33,3% (IC 95% para la diferencia de proporciones = 29,5% a 37,0%); entre TE y MFP la diferencia fue de 4,5% (IC 95% para la diferencia de proporciones = 0,5% a 8,4%). Este comportamiento no fue afectado por la calidad metodológica de las publicaciones, dado que las prevalencias fueron estadísticamente iguales entre los estudios que cumplieron menos del 70% de los criterios de la guía STROBE en comparación con los manuscritos de alta calidad (que cumplen  $\geq 70\%$  de los ítems).

## **Discusión**

El análisis de publicaciones según el sitio geográfico, evidencia que el continente asiático es el de mayor producción científica en este tema (44% del total), siendo Corea el país con más estudios seguido de Japón y China; estos resultados demuestran brechas importantes frente a los hallazgos de América Latina y África, donde el desarrollo

investigativo sobre la prevalencia JAK2 es incipiente, lo que implica un desconocimiento de la distribución de este marcador, y de manera indirecta reflejarían un diagnóstico incompleto o dificultades para generar evidencia de alta calidad para justificar su inclusión en los algoritmos diagnósticos.

La prevalencia de la mutación JAK2V617F en los tres tipos de NMPC es alta; sin embargo, se evidencia que PV tiene una prevalencia global de 88,5% la cual es significativamente mayor comparada con la de TE y MFP. Estos datos se correlacionan con los hallazgos de estudios moleculares que han demostrado altas frecuencias de otros marcadores específicos para TE y MFP, en su orden de frecuencia son la mutación en el gen calreticulina (CALR) y en el receptor de trombopoyetina (MPL) (4,55).

CALR está presente en 25-30% de los pacientes con TE y MFP negativos para JAK2 (41,56) y MPL en un porcentaje más bajo de pacientes que generalmente no supera el 10% (57,58). Varios estudios han determinado que la presencia de estas mutaciones es excluyente (43,59–61), sin embargo, algunos autores han reportado la coexistencia de CALR y JAK2 en un porcentaje bajo de pacientes (62–64).

Teniendo en cuenta la distribución de estas tres mutaciones conductoras o “drivers” en TE y MFP, se puede establecer que cerca del 100% de pacientes pueden caracterizarse genéticamente; no obstante, existe un bajo porcentaje considerados triple negativos para estos marcadores. En PV por su parte, el pequeño porcentaje de pacientes negativos para la mutación JAK2V617F, generalmente presentan otros tipos de mutaciones en el exón 12 del mismo gen (65).

A pesar de que no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las metodologías empleadas, se puede determinar la PCR en tiempo real como la técnica con la que se encontraron las frecuencias más altas en TE y MFP y la segunda en PV, esto puede ser atribuido a que este tipo de PCR es cuantitativa y altamente sensible incluso cuando el número de células con la mutación es bajo; en adición, posee gran especificidad para la detección de mutaciones (66). La secuenciación es una metodología que permite realizar un análisis detallado de un fragmento de ADN o del genoma completo, sin embargo su sensibilidad está condicionada al subtipo de secuenciación empleada; en este sentido, la secuenciación de Sanger es una técnica con sensibilidad reducida, por lo que no es la metodología ideal para fines de tamización diagnóstica (67), lo que podría explicar las bajas frecuencias de JAK2 en PV y MFP en los estudios que la aplicaron (13,19,43,51).

Las limitaciones de la presente investigación incluyen el bajo número de pacientes en algunos subgrupos, lo que restó poder estadístico en algunas comparaciones. A esto se suma la ausencia de reporte de características clínicas en la mayoría de estudios incluidos, como valores de hemoglobina y leucocitos, los cuales se han asociado con valores más altos o bajos dependiendo del estado de mutación en JAK2 (68), esto impide determinar si la prevalencia del marcador está influenciada por variables clínicas. También debe resaltarse las limitaciones en la determinación de tamaño de muestra y posibilidades de generalización de resultados de varios estudios.

**Conclusión:** Se evidencian frecuencias altas de la mutación JAK2V617F en las tres neoplasias, con diferencias significativas en PV respecto a TE y MFP. Estos datos demuestran que en la práctica médica, se debe implementar un diagnóstico integral que incluya tanto marcadores biológicos como clínicos y moleculares, el cual se aplique para el abordaje de las tres NMPC BCR-ABL negativas y que no se limite únicamente a PV.

## REFERENCIAS

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM, Le, Bloomfield CD, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016; 127(20):2391–406.
2. Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF, O'Rourke M, Mesa R, De Vocht F, et al. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol*. 2014; 89(6):581–7.
3. James C, Ugo V, Le Couédic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* [Internet]. 2005; 434(7037):1144–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15793561>
4. Saeidi K. Critical Reviews in Oncology / Hematology Myeloproliferative neoplasms : Current molecular biology and genetics. *Crit Rev Oncol / Hematol* [Internet]. 2016; 98:375–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2015.11.004>
5. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo S-S, 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.
6. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJP, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential

thrombocytopenia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*. 2005; 7(4):387–97.

7. 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.

8. Lacout C, Pisani DF, Tulliez M, Gachelin FM, Vainchenker W, Villeval J-L. JAK2V617F expression in murine hematopoietic cells leads to MPD mimicking human PV with secondary myelofibrosis. *Blood*. 2006; 108(5):1652–60.

9. Lucia E, Martino B, Mammi C, Vigna E, Mazzone C, Gentile M, et al. The incidence of JAK2 V617F mutation in bcr/abl-negative chronic myeloproliferative disorders: assessment by two different detection methods. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49(10):1907–15.

10. Patriarca A, Colaizzo D, Tiscia G, Spadano R, Di Zacomo S, Spadano A, et al. TET2 mutations in Ph-negative myeloproliferative neoplasms: identification of three novel mutations and relationship with clinical and laboratory findings. *Biomed Res Int*. 2013; 2013:929840.

11. Suzuki R, Onizuka M, Kojima M, Shimada M, Tsuboi K, Ogawa Y, et al. Infrequent hypermethylation of WIF-1 promoter in BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Tokai J Exp Clin Med*. 2007; 32(4):131–5.

12. Labastida-Mercado N, Galindo-Becerra S, Garces-Eisele J, Colunga-Pedraza P, Guzman-Olvera V, Reyes-Nunez V, et al. The mutation profile of JAK2, MPL and CALR in Mexican patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2015; 8(1):16–21.

13. Jaradat SA, Khasawneh R, Kamal N, Matalka I, Al-Bishtawi M, Al-Sweedan S, et al. Analysis of JAK2V617F mutation in Jordanian patients with myeloproliferative neoplasms. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2015; 8(4):160–6.

14. Kim H-R, Choi H-J, Kim Y-K, Kim H-J, Shin J-H, Suh S-P, et al. Allelic expression imbalance of JAK2 V617F mutation in BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms. *PLoS One*. 2013; 8(1):e52518.

15. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group TP. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses : The PRISMA Statement. 2009;6(7).

16. Schlosser RW, Wendt O, Bhavnani S, Nail-chiwetalu B. Review Use of information-seeking strategies for developing systematic reviews and engaging in

evidence-based practice : the application of traditional and comprehensive Pearl Growing . A review. 2006;

17. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol.* 2008; 61(4):344–9.

18. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, Mandala E, Papadakis E, Kioumi A, et al. Correlations of JAK2-V617F mutation with clinical and laboratory findings in patients with myeloproliferative disorders. *Leuk Res.* 2007; 31(8):1053–62.

19. Zhang S, Li W, Song J, Xu W, Qiu H, Li J. [The investigation of JAK2 V617F point mutation in myeloproliferative disorders by allele-specific polymerase chain reaction in combination with sequence analysis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2007; 87(30):2109–12.

20. Boveri E, Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Elena C, Arcaini L, et al. Bone marrow microvessel density in chronic myeloproliferative disorders: a study of 115 patients with clinicopathological and molecular correlations. *Br J Haematol.* 2008; 140(2):162–8.

21. Pardanani A, Fridley BL, Lasho TL, Gilliland DG, Tefferi A. Host genetic variation contributes to phenotypic diversity in myeloproliferative disorders. *Blood.* 2008; 111(5):2785–9.

22. Xu W, Li J-Y, Xia J, Zhang S-J, Fan L, Qiao C. MPL W515L mutation in Chinese patients with myeloproliferative diseases. *Leuk Lymphoma.* 2008; 49(5):955–8.

23. Bang S-M, Lee J-S, Ahn JY, Lee JH, Hyun MS, Kim BS, et al. Vascular events in Korean patients with myeloproliferative neoplasms and their relationship to JAK2 mutation. *Thromb Haemost.* 2009 Mar; 101(3):547–51.

24. Bojko P, Abenhardt W, Schnittger S, Haferlach T. Mutations in the JAK2 and MPL genes and their correlation to clinical parameters in patients with chronic myeloproliferative disease. *Onkologie.* 2009 ;32(4):191–5.

25. Medinger M, Skoda R, Gratwohl A, Theocharides A, Buser A, Heim D, et al. Angiogenesis and vascular endothelial growth factor-/receptor expression in myeloproliferative neoplasms: correlation with clinical parameters and JAK2-V617F mutational status. *Br J Haematol.* 2009; 146(2):150–7.

26. Tefferi A, Pardanani A, Lim K-H, Abdel-Wahab O, Lasho TL, Patel J, et al. TET2 mutations and their clinical correlates in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Leukemia.* 2009; 23(5):905–11.

27. Kim JT, Cho YG, Choi SI, Lee YJ, Kim HR, Jang SJ, et al. [JAK2 V617F and exon 12 genetic variations in Korean patients with BCR/ABL1-negative myeloproliferative neoplasms]. *Korean J Lab Med.* 2010; 30(6):567–74.
28. Trifa AP, Cucuianu A, Petrov L, Urian L, Militaru MS, Dima D, et al. The G allele of the JAK2 rs10974944 SNP, part of JAK2 46/1 haplotype, is strongly associated with JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol.* 2010; 89(10):979–83.
29. Benmoussa A, Dehbi H, Fehri S, Quessar A, Nadifi S. JAK2-V617F mutation in Moroccan patients with myeloproliferative disorders: contribution, diagnosis and therapeutic prospects. *Pathol Biol (Paris).* 2011; 59(4):e89-92.
30. Dos Santos LC, Ribeiro JC da C, Silva NP, Cerutti J, da Silva MRR, Chauffaille M de LLF. Cytogenetics, JAK2 and MPL mutations in polycythemia vera, primary myelofibrosis and essential thrombocythemia. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2011; 33(6):417–24.
31. Toyama K, Karasawa M, Yokohama A, Mitsui T, Uchiumi H, Saitoh T, et al. Differences in the JAK2 and MPL mutation status in the cell lineages of the bcr/abl-negative chronic myeloproliferative neoplasm subtypes. *Intern Med.* 2011;50(21):2557–61.
32. Vadikolia CM, Tsatalas C, Anagnostopoulos K, Trypsianis G, Pantelidou D, Bazdiara I, et al. Proteolytic matrix metalloproteinases and inhibitors in BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms: correlation with JAK2 mutation status. *Acta Haematol.* 2011; 126(1):54–62.
33. da Silva RR, Domingues Hatzlhofer BL, Machado CG de F, Lima AS de M, de Albuquerque DM, dos Santos MNN, et al. JAK2 V617F mutation prevalence in myeloproliferative neoplasms in Pernambuco, Brazil. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012; 16(7):802–5.
34. Ha J-S, Kim Y-K, Jung S-I, Jung H-R, Chung I-S. Correlations between Janus kinase 2 V617F allele burdens and clinicohematologic parameters in myeloproliferative neoplasms. *Ann Lab Med.* 2012; 32(6):385–91.
35. Ho C-L, Wu Y-Y, Hung H-M, Chang P-Y, Kao W-Y, Chen Y-C, et al. Rapid identification of heterozygous or homozygous JAK2(V617F) mutations in myeloproliferative neoplasms using melting curve analysis. *J Formos Med Assoc.* 2012; 111(1):34–40.

36. Zhang X, Maimaitili Y, Li Y, An L, Mao M, Fu L, et al. [Detection and clinical significance of JAK2 V617F mutation in Chinese and Uyghur patients with chronic myeloproliferative in Xinjiang]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2012; 33(12):1020–3.
37. Park SH, Chi H-S, Cho Y-U, Jang S, Park C-J. The allele burden of JAK2 V617F can aid in differential diagnosis of Philadelphia Chromosome-Negative Myeloproliferative Neoplasm. *Blood Res*. 2013; 48(2):128–32.
38. Payzin KB, Savasoglu K, Alacacioglu I, Ozdemirkiran F, Mutlu BB, Bener S, et al. JAK2 V617F mutation status of 232 patients diagnosed with chronic myeloproliferative neoplasms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014; 14(6):525–33.
39. Takata Y, Seki R, Kanajii T, Nohara M, Koteda S, Kawaguchi K, et al. Association between thromboembolic events and the JAK2 V617F mutation in myeloproliferative neoplasms. *Kurume Med J*. 2014; 60(3–4):89–97.
40. Vytrva N, Stacher E, Regitnig P, Zinke-Cerwenka W, Hojas S, Hubmann E, et al. Megakaryocytic morphology and clinical parameters in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and primary myelofibrosis with and without JAK2 V617F. *Arch Pathol Lab Med*. 2014; 138(9):1203–9.
41. Wu Z, Zhang X, Xu X, Chen Y, Hu T, Kang Z, et al. The mutation profile of JAK2 and CALR in Chinese Han patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol*. 2014; 7:48.
42. Borowczyk M, Wojtaszewska M, Lewandowski K, Gil L, Lewandowska M, Lehmann-Kopydlowska A, et al. The JAK2 V617F mutational status and allele burden may be related with the risk of venous thromboembolic events in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *Thromb Res*. 2015; 135(2):272–80.
43. Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim J-A, Lee DS. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. *Am J Clin Pathol*. 2015; 143(5):635–44.
44. Mahjoub S, Baccouche H, Sahnoun M, Kaabi H, Manai Z, Slama H, et al. The JAK2 mutation in myeloproliferative disorders: A predictive factor of thrombosis. *Tunis Med*. 2015 ;93(7):474–7.
45. Ouyang Y, Qiao C, Wang J, Xiao L, Zhang S. Analysis of CALR, JAK2 and MPL gene mutations in BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2015; 95(18):1369–73.

46. Didone A, Nardinelli L, Marchiani M, Ruiz ARL, de Lima Costa AL, Lima IS, et al. Comparative study of different methodologies to detect the JAK2 V617F mutation in chronic BCR-ABL1 negative myeloproliferative neoplasms. *Pract Lab Med.* 2016; 4:30–7.
47. Gardner J-A, Peterson JD, Turner SA, Soares BL, Lancor CR, Dos Santos LL, et al. Detection of CALR Mutation in Clonal and Nonclonal Hematologic Diseases Using Fragment Analysis and Next-Generation Sequencing. *Am J Clin Pathol.* 2016; 146(4):448–55.
48. Matsumoto N, Mori S, Hasegawa H, Sasaki D, Mori H, Tsuruda K, et al. Simultaneous screening for JAK2 and calreticulin gene mutations in myeloproliferative neoplasms with high resolution melting. *Clin Chim Acta.* 2016; 462:166–73.
49. 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; 17(10):4647–53.
50. Azevedo AP, Silva SN, Reichert A, Lima F, Junior E, Rueff J. Prevalence of the Janus kinase 2 V617F mutation in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms in a Portuguese population. *Biomed reports.* 2017; 7(4):370–6.
51. Lekovic D, Gotic M, Skoda R, Beleslin-Cokic B, Milic N, Mitrovic-Ajtic O, et al. Bone marrow microvessel density and plasma angiogenic factors in myeloproliferative neoplasms: clinicopathological and molecular correlations. *Ann Hematol.* 2017; 96(3):393–404.
52. Yildiz I, Yokus O, Gedik H. Janus kinase 2 mutations in cases with BCR-ABL-negative chronic myeloproliferative disorders from Turkey. *Avicenna J Med.* 2017; 7(1):28–31.
53. Misawa K, Yasuda H, Araki M, Ochiai T, Morishita S, Shirane S, et al. Mutational subtypes of JAK2 and CALR correlate with different clinical features in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol.* 2018; 107(6):673–80.
54. Ojeda MJ, Bragos IM, Calvo KL, Williams GM, Carbonell MM, Pratti AF. CALR, JAK2 and MPL mutation status in Argentinean patients with BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms. *Hematology.* 2018; 23(4):208–11.
55. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2017; 129(6):667–79.

56. Andrikovics H, Krahling T, Balassa K, Halm G, Bors A, Koszarska M, et al. Distinct clinical characteristics of myeloproliferative neoplasms with calreticulin mutations. *Haematologica*. 2014; 99(7):1184–90.
57. Delic S, Rose D, Kern W, Nadarajah N, Haferlach C, Haferlach T, et al. Application of an NGS-based 28-gene panel in myeloproliferative neoplasms reveals distinct mutation patterns in essential thrombocythaemia, primary myelofibrosis and polycythaemia vera. *Br J Haematol*. 2016; 175(3):419–26.
58. Rozovski U, Verstovsek S, Manshoury T, Dembitz V, Bozinovic K, Newberry K, et al. An accurate, simple prognostic model consisting of age, JAK2, CALR, and MPL mutation status for patients with primary myelofibrosis. *Haematologica*. 2017; 102(1):79–84.
59. Rabade N, Subramanian PG, Kodgule R, Raval G, Joshi S, Chaudhary S, et al. Molecular genetics of BCR-ABL1 negative myeloproliferative neoplasms in India. *Indian J Pathol Microbiol*. 2018; 61(2):209–13.
60. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* [Internet]. 2013; 369(25):2379–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24325356>
61. Nangalia J, Massie CEE, Baxter EJJ, Nice FLL, Gundem G, Wedge DCC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* [Internet]. 2013; 369(25):2391–405. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1312542> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24325359> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3966280>
62. Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, Ketterling R, Hanson CH, et al. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons. *Leukemia*. 2014; 28(7):1472–7.
63. Lin Y, Liu E, Sun Q, Ma J, Li Q, Cao Z, et al. The Prevalence of JAK2, MPL, and CALR Mutations in Chinese Patients With BCR-ABL1-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2015; 144(1):165–71.
64. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, Looser R, Hao-Shen H, Nissen I, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014; 123(14):2220–8.

65. 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.
66. Segundo-Val IS, Sanz-Lozano CS. Introduction to the Gene Expression Analysis. *Methods Mol Biol*. 2016; 1434:29–43.
67. Grossmann V, Schnittger S, Schindela S, Klein H-U, Eder C, Dugas M, et al. Strategy for robust detection of insertions, deletions, and point mutations in CEBPA, a GC-rich content gene, using 454 next-generation deep-sequencing technology. *J Mol Diagn*. 2011 Mar; 13(2):129–36.
68. Guglielmelli P, Barosi G, Specchia G, Rambaldi A, Lo Coco F, Antonioli E, et al. Identification of patients with poorer survival in primary myelofibrosis based on the burden of JAK2V617F mutated allele. *Blood*. 2009; 114(8):1477–83.

**Metanálisis de la frecuencia de JAK2 en mielofibrosis primaria según la técnica de  
detección, 2007-2018**

**Meta-analysis of JAK2 frequency in primary myelofibrosis according to the  
detection test, 2007-2018**

Mónica Mejía Ochoa<sup>1</sup> Paola Andrea Acevedo Toro<sup>2</sup> Jaiberth Antonio Cardona-Arias<sup>3</sup>

1 Bacterióloga, MSc(C) Microbiología y Bioanálisis – énfasis Hematología. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

2 Microbióloga y Bioanalista. MSc Ciencias Básicas Biomédicas. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Tutora trabajo de Investigación

3 MyB, MSc Epidemiología, MSc Economía Aplicada. Estudiante Doctorado Salud Pública. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Facultad de medicina Universidad Cooperativa de Colombia. Medellín, Colombia.

**Correspondencia.**

Jaiberth Antonio Cardona Arias. Calle 67 Número 53 – 108, Bloque 5, oficina 103, Medellín, Colombia. Teléfono 2198486. Fax 2195486. E-mail jaiberthcardona@gmail.com

## **Resumen**

**Introducción:** El análisis de la mutación JAK2 es un marcador recomendado por la OMS para el diagnóstico de mielofibrosis primaria (MFP), su prevalencia en esta neoplasia es desconocida.

**Objetivo:** Metanalizar la prevalencia de la mutación JAK2 en MFP y compararla según la técnica de detección en los años 2007-2018.

**Métodos:** Revisión sistemática con metanálisis, usando 21 búsquedas en tres bases de datos multidisciplinarias. Se aplicaron las fases de identificación, tamización, elección e inclusión de la guía PRISMA. Se garantizó reproducibilidad y evaluación de la calidad metodológica. Los análisis se basaron en frecuencias y metanálisis para la prevalencia de la mutación con su intervalo de confianza del 95%.

**Resultados:** Se incluyeron 29 estudios con 744 pacientes, los cuales provienen principalmente de Corea, Brasil y China. La técnica más empleada fue AS-PCR, las prevalencias de la mutación JAK2 con ésta técnica oscilaron entre 33,3% y 71,4%; con PCR en tiempo real entre 42,9% y 77,3%, con secuenciación del 14,3% al 57,4% y en ARMS de 36,4% a 83,3%. La prevalencia de la mutación JAK2 no presentó diferencias estadísticamente significativas según el tipo de prueba diagnóstica utilizada.

**Conclusión:** Se evidencian altas frecuencias de la mutación JAK2V617F en MFP, lo que demuestra que el diagnóstico de esta entidad no debe realizarse únicamente por características clínicas y hematológicas sino también por la tamización genética de los pacientes.

**Palabras clave:** Prevalencia; Mutación; JAK2; Mielofibrosis primaria; Metanálisis

## **Abstract**

**Introduction:** JAK2 mutation is a marker recommended by the WHO for the diagnosis of primary myelofibrosis, its prevalence in this neoplasm is unknown.

**Objective:** To meta-analyze the prevalence of JAK2 mutation in MFP and to compare it according to the detection technique in the years 2007-2018.

**Methods:** Systematic review with meta-analysis using 21 searches in three multidisciplinary databases, following the phases of identification, screening, eligibility and inclusion of the PRISMA guide. Reproducibility and evaluation of methodological quality were guaranteed. The analyzes were based on frequencies and meta-analyzes for the prevalence of the mutation with its 95% confidence interval.

**Results:** Thirty-nine studies were included with 744 patients, which come mainly from Korea, Brazil and China. The most used technique was AS-PCR, the prevalences of JAK2 with this technique ranged between 33.3% and 71.4%; with real-time PCR between 42.9% and 77.3%, with sequencing from 14.3% to 57.4% and in ARMS from 36.4% to 83.3%. The prevalence of JAK2 did not present statistically significant differences according to the type of diagnostic test used.

**Conclusion:** There are high frequencies of the JAK2V617F mutation in MFP, which shows that the diagnosis of this entity should not be made only by clinical and hematological characteristics but also by the genetic screening of patients.

**Keywords:** Prevalence; JAK2 mutation; Primary Myelofibrosis; Meta-analysis

## Introducción

La mielofibrosis primaria (MFP) es una neoplasia mieloproliferativa crónica (NMPC) Filadelfia negativa; la más reciente clasificación de la Organización Mundial de la Salud la ha sub-clasificado en estado prefibrótico y fibrótico, dada la necesidad de diferenciarla de trombocitemia esencial. La incidencia anual estimada para esta enfermedad es de 0,5 a 1,5 casos por 100.000 personas, su prevalencia está en aumento debido al mejoramiento de su diagnóstico y la supervivencia (1,2).

Al igual que las demás NMPC, la MFP se caracteriza por expansión clonal de células madres hematopoyéticas que conlleva a una producción descontrolada de células maduras, principalmente megacariocitos y granulocitos; una característica que diferencia esta entidad de las demás que componen el grupo es la fibrosis reactiva en médula ósea, con manifestaciones clínicas como anemia grave, esplenomegalia, trombosis y sangrado (3). Es importante mencionar que la fibrosis en médula ósea puede darse por causas diferentes a MFP, incluidos los estados de reactividad y entidades hematológicas como algunas leucemias agudas; en tales casos la mielofibrosis se denomina secundaria (4).

Un recurso diagnóstico que ha permitido diferenciar los tipos de mielofibrosis y esclarecer la patogénesis de las NMPC ha sido la detección de diferentes mutaciones (4), clasificadas en “*drivers*” o conductoras y mutaciones cooperadoras, éstas últimas relacionadas con pronóstico y evolución de la enfermedad. Las “*mutaciones drivers*” se utilizan como marcadores diagnósticos, para el caso de MFP se recomienda la detección de JAK2, CALR y MPL, siendo más relevante la primera (1,4).

JAK2 es una proteína tipo Janus kinasa que participa en la vía de señalización JAK-STAT la cual regula diferentes procesos celulares como proliferación, diferenciación y apoptosis (5,6). La principal alteración en JAK2 identificada en MFP es JAK2V617F, en la que una sustitución de aminoácidos genera un producto proteínico alterado responsable de la patogénesis de la enfermedad (5,6).

Desde la identificación de la mutación JAK2 en MFP por James y Cols en el año 2005, el objetivo de varios estudios ha sido determinar su frecuencia, mostrando una elevada heterogeneidad, probablemente atribuible al tipo de población estudiada, así como a la variabilidad en los parámetros de validez diagnóstica de las pruebas empleadas para la detección del marcador. En tal sentido, se dispone de estudios con frecuencias tan bajas como del 14,3%, reportada por Jaradat en 2015, y tan altas como de 80,0% y 83,3% reportadas por Suzuki en 2007 y Park en 2013, respectivamente (7–9).

Con base en estos antecedentes de investigación, el objetivo de esta revisión sistemática es metanalizar la prevalencia de la mutación JAK2 en MFP y compararla según la técnica de detección.

## **Métodos**

**Tipo de estudio:** Revisión sistemática de la literatura con metanálisis de medidas indirectas.

**Protocolo de búsqueda y selección de estudios según la guía PRISMA *Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses* (10)**

Identificación: Se realizó una búsqueda sin limitaciones temporales en las bases de datos multidisciplinarias Medline, Pubmed, Scielo y Science direct para la cual se emplearon los términos primary myelofibrosis, JAK2, Chromosome Ph, Philadelphia chromosome, Philadelphia -Ph- chromosome, Philadelphia translocation y BCR ABL Negative. Cabe aclarar que la delimitación de la ventana de tiempo desde el 2007, se realizó *a posteriori*, con base en el estudio más antiguo hallado con el protocolo de revisión.

Tamización: Se incluyeron los artículos que contenían los términos de búsqueda en título, resumen o palabras clave; y se eliminaron los títulos duplicados. Posteriormente, se aplicaron como criterios de inclusión los estudios relacionados con el tema de interés (NMPC), investigaciones que reportaran la frecuencia de la mutación JAK2V617F en MFP, artículos originales y publicaciones en humanos o in vivo. Algunas sintaxis empleadas fueron: en Pubmed (((JAK2[Title/Abstract]) AND primary myelofibrosis[Title/Abstract]); chromosome ph[Title/Abstract]; BCR-ABL Negative[Title/Abstract]; en Science-Direct TITLE-ABSTR-KEY(BCR ABL Negative) or TITLE-ABSTR-KEY(Chromosome Ph OR Philadelphia chromosome OR Ph chromosome OR Philadelphia translocation); TITLE-ABSTR-KEY(BCR ABL Negative), y en Scielo (ti:(ab:(JAK2 primary myelofibrosis))).

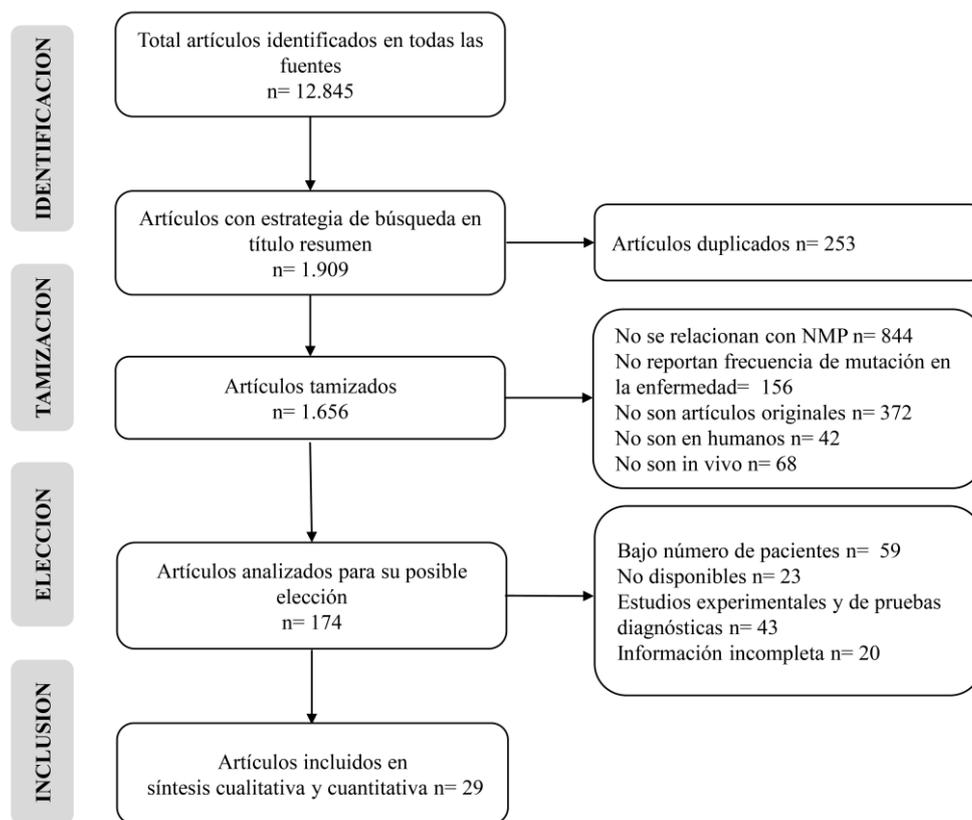
Elección: En la siguiente fase se excluyeron los artículos con un bajo número de pacientes (series de diez o menos casos), estudios con información incompleta que no especificaron tipo de diagnóstico o no reportaron la frecuencia de la mutación, estudios experimentales o clínicos y estudios que evaluaron pruebas diagnósticas.

Inclusión: la caracterización de los estudios se realizó con extracción de las variables título, autores, tipo de estudio, tema principal del estudio, revista, año de publicación, primer autor, país de estudio, número de pacientes evaluados, frecuencia de la mutación JAK2V617F, técnica de detección de la mutación y descripción de los sujetos de estudio.

**Análisis de reproducibilidad y evaluación de la calidad metodológica:** Se evaluó la reproducibilidad de la búsqueda de estudios y extracción de la información con dos investigadores que aplicaron el protocolo de manera independiente, resolviendo las discrepancias por consenso. La calidad metodológica se determinó con la guía STROBE (Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology).

**Análisis de la información:** Las variables de estudio se describieron con frecuencias absolutas y relativas, para el análisis de la frecuencia de la mutación JAK2V617F en MFP se realizó un metanálisis según la técnica de detección, mediante la estimación de proporciones con su intervalo de confianza del 95% y Prueba Z (intervalos de confianza para la diferencia de proporciones).

## Resultados



**Figura 1: Flujograma de búsqueda y selección de estudios**

Se obtuvo un total de 12.845 estudios sin la aplicación de límites, los cuales se restringen a 1.909 resultados con la búsqueda en título, resumen, palabra clave; se eliminaron 253 artículos duplicados, 1.482 artículos por no cumplir con los criterios de inclusión y 145 que cumplían con los criterios de exclusión, finalmente se tomaron 29 estudios para la síntesis cualitativa y cuantitativa de la información (Figura 1).

**Tabla 1: Descripción de estudios según año, país, edad y criterio diagnóstico.**

<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>País</b>	<b>Edad</b>	<b>Criterio diagnóstico</b>
<b>AS-PCR</b>				
Speletas M (11)	2007	Grecia	61,0 <sup>a</sup>	Criterios Italianos para el diagnóstico de MFP
Lucia E (12)	2008	Italia	No especifica	OMS 2001
Pardanani A (13)	2008	Estados unidos	58,0 <sup>a</sup>	OMS 2001
Xu W (14)	2008	China	48,0 <sup>b</sup>	OMS 2001
Bang S (15)	2009	Corea	No especifica	OMS 2001
Medinger M (16)	2009	Suiza	54,0 <sup>a</sup>	No especifica
Kim JT (17)	2010	Corea	58,3 <sup>b</sup>	OMS 2008
Benmoussa A (18)	2011	Marruecos	56,83 <sup>a</sup>	No especifica
Vadikolia CM (19)	2011	Grecia	66,5 <sup>a</sup>	OMS 2008
Ha J (20)	2012	Corea	67,3 <sup>a</sup>	OMS 2008
Zhang XY (21)	2012	China	No especifica	No especifica
<b>PCR tiempo real</b>				
Boveri E (22)	2008	Italia	58,0 <sup>a</sup>	OMS 2001
Dos Santos L (23)	2011	Brasil	59,3 <sup>a</sup>	OMS 2008
Payzin KB (24)	2014	Turquía	62,8 <sup>a</sup>	OMS 2008
Azevedo AP (25)	2017	Portugal	No especifica	OMS 2008
<b>Secuenciación</b>				
Jaradat SA (7)	2015	Jordania	No especifica	No especifica
Kim S (26)	2015	Corea	61,5 <sup>a</sup>	OMS 2008
Lekovic D (27)	2017	Serbia	62,0 <sup>a</sup>	OMS 2008
<b>ARMS</b>				
Trifa AP (28)	2010	Rumania	> 60,0 <sup>a</sup>	OMS 2001
Park SH (9)	2013	Corea	62,0 <sup>a</sup>	Expertos en el área (histopatología)
Borowczyk M (29)	2015	Polonia	56,0 <sup>a</sup>	OMS 2008
Ojeda MJ (30)	2018	Argentina	No especifica	OMS 2008
<b>PCR-RFLP</b>				
da Silva R (31)	2012	Brasil	No especifica	Diagnóstico clínico
Didone A (32)	2016	Brasil	62,3 <sup>b</sup>	OMS 2008
<b>Otras</b>				
Tefferi A (RT-PCR) (33)	2009	Estados unidos	50,5 <sup>a</sup>	OMS 2001
Takata Y (SNP) (34)	2014	Japón	69,3 <sup>a</sup>	OMS 2008
Vytrva N (DHPLC) (35)	2014	Austria	72,9 <sup>a</sup>	OMS 2001
Wu Z (HRM) (36)	2014	China	No especifica	OMS 2008
Misawa K (ABC-PCR) (37)	2018	Japón	60,0 <sup>a</sup>	OMS 2008

<sup>a</sup> Edad media de pacientes con MFP. <sup>b</sup> Edad media de pacientes con NMPC sin explicitar el de MFP.

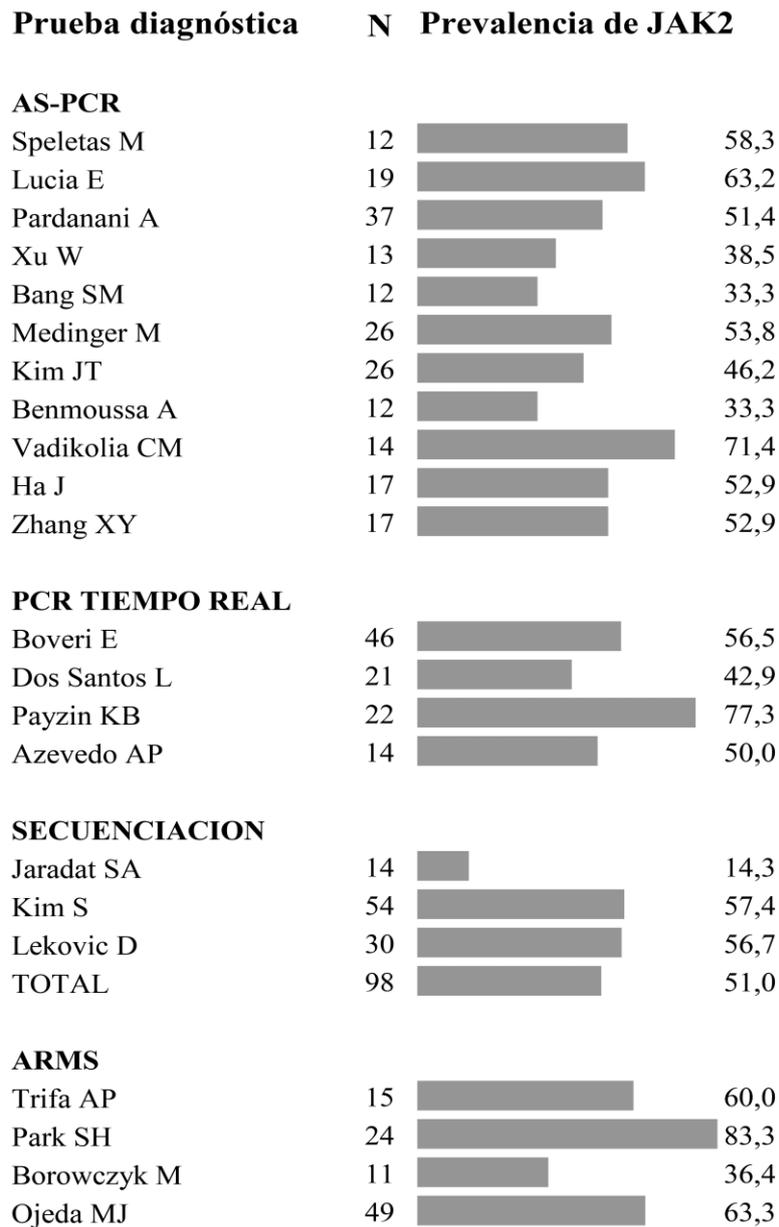
Los estudios se publicaron entre 2007 y 2018, los países con el mayor número de estudios fueron Corea (n=5), Brasil (n=3) y China (n=3), el análisis por continente muestra que el mayor número de estudios provienen de Europa y Asia con 38% cada uno, seguido de América con 21% y finalmente África con 3%. En los estudios que reportaron la edad

promedio de los sujetos ésta fue mayor a 45 años, y en la mayoría se emplearon criterios diagnósticos de la OMS (Tabla 1).

<b>Criterios de la guía STROBE</b>	<b>Estudios que cumplen (%)</b>
<b>Título y resumen</b>	100
<b>Introducción</b>	
Fundamentación	100
Objetivo	100
<b>Métodos</b>	
Diseño estudio	100
Descripción espacial - temporal	100
Descripción de participantes	100
Definición de variables	100
Fuentes de datos y medición	100
Control de sesgos	90
Tamaño del estudio	17
Variables Cuantitativas	62
Métodos Estadísticos	90
<b>Resultados</b>	
Participantes	100
Datos descriptivos	100
Datos del desenlace central	100
Resultados principales según el objetivo	100
Análisis adicionales	45
<b>Discusión</b>	
Resultados clave	97
Limitaciones	34
Interpretación de resultados	97
Generalización de resultados	10
Financiación del estudio	62

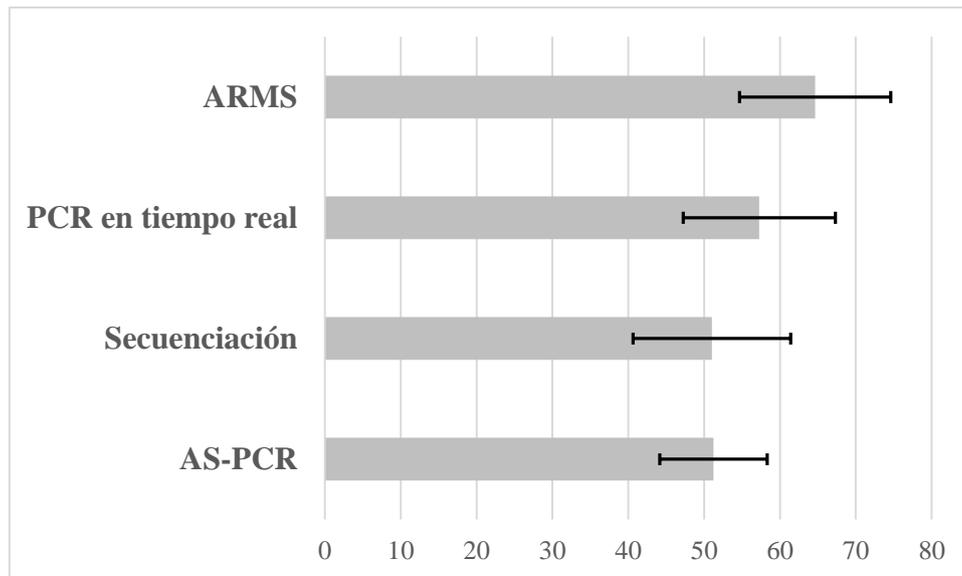
**Figura 2. Evaluación de la calidad metodológica.**

Todos los estudios presentaron excelente calidad metodológica dado que cumplieron con más del 70% de los criterios de la guía STROBE; sin embargo, la mayoría no explicitaron los parámetros para estimar el tamaño de muestra, ni discutió las limitaciones o posibilidades de generalización de los resultados (Figura 2).



**Figura 3. Prevalencia de JAK2 en los estudios que utilizaron PCR, secuenciación y ARMS.**

Con base en la aplicación de AS-PCR las prevalencias de JAK2 oscilaron entre 33,3% y 71,4%; con PCR en tiempo real el rango estuvo entre 42,9% y 77,3%, con secuenciación del 14,3% al 57,4% y en ARMS de 36,4% a 83,3% (Figura 3). Dos estudios que utilizaron PCR-RFLP reportaron prevalencia de 72,7% (31) y 40% (32), en el estudio de Takata con SNP fue 36,4% (34), Vytrva con DHPLC 63,6% (35), Wu Z con HRM 58,0% (36) y Misawa con ABC-PCR 53,8% (37).



**Figura 4. Metanálisis de medidas indirectas para la prevalencia de JAK2 según el uso de PCR, secuenciación y ARMS.**

La prevalencia de JAK2 no presentó diferencias estadísticamente significativas según el tipo de prueba diagnóstica utilizada; con prevalencia de 64,6% (IC95%=54,7-74,6) usando ARMS en 99 pacientes; 57,3% (IC95%=47,2-67,3) con PCR en tiempo real con 103 pacientes; 51,2% (IC95%=44,1-58,3) en 205 pacientes evaluados con AS-PCR y 51,0% (IC95%=40,6-61,4) en 98 pacientes analizados mediante secuenciación (Figura 4). No obstante, se debe aclarar que al comparar los grupos con la prevalencia más alta y la más baja, el poder estadístico fue 77,5%, lo que daría cuenta de un error  $\beta$  alto demostrando la necesidad de aumentar el número de investigaciones y de pacientes por estudio en esta enfermedad.

## Discusión

Los resultados del presente estudio demuestran que los países con el mayor número de publicaciones (Corea, Brasil y China) corresponden a aquellos que han dispuesto partidas presupuestales importantes en políticas de desarrollo e investigación, lo que podría implicar inversiones en tecnología de punta en sus servicios de hemato-oncología y centros e instituciones de investigación aplicada a este campo (38). En el caso de Sur América, se evidencia un desarrollo insuficiente en la búsqueda de mutaciones en los diferentes centros hematológicos, a pesar de que la mutación en JAK2 se incluya como criterio mayor de diagnóstico en la actualización de la OMS del año 2016; lo que impide el establecimiento de un diagnóstico preciso de la enfermedad que podría evitar la

confusión con otras causas de fibrosis medular, al tiempo que impide un estudio integral de la enfermedad (1,39).

Las altas frecuencias encontradas para la mutación JAK2 en este estudio ponen de manifiesto la necesidad de migrar de los sistemas de pronóstico convencionales basados principalmente en características clínicas como IPSS (Internacional Prognostic Scoring System) y DIPSS (Dinamyc Internacional Prognostic Scoring System), hacia el uso de nuevos sistemas que permiten la estratificación de riesgo de los pacientes basado en su perfil genético, principalmente con la detección de la mutación JAK2 (40–45).

En este orden de ideas, el bajo número de estudios en países Latinoamericanos podría sugerir falta de adherencia a los métodos de puntuación pronóstica de los nuevos sistemas internacionales basados en características genéticas y moleculares como *GIPSS* (*Genetically Inspired Prognostic Scoring System For Primary Myelofibrosis*) y *MIPSS* (*Mutation-Enhanced International Prognostic Scoring System*) que permiten la estratificación precisa del riesgo de los pacientes, tanto al momento del diagnóstico como en el seguimiento de la enfermedad, en términos de supervivencia y riesgo de progresión a leucemia (44,45).

Según la técnica utilizada, la prevalencia de las mutaciones en JAK2 no mostró una diferencia estadísticamente significativa, estos resultados pueden estar influenciados por un bajo poder estadístico (77,5%) producto del reducido número de estudios y pacientes analizados por cada una de las técnicas; incluso, al evaluar la calidad metodológica sólo el 17% describen cómo se llegó al tamaño de muestra, lo que afecta la estimación de la prevalencia. Esto puede estar sustentado en la dificultad para incluir pacientes con diagnóstico de MFP por su baja ocurrencia y búsqueda activa de casos a nivel mundial (46). Esta situación podría mejorarse con el desarrollo de estudios multicéntricos que permitan la inclusión de un mayor número de pacientes y de esta manera, mejorar la estimación de la prevalencia o aumentar el poder estadístico de las comparaciones realizadas en diferentes subgrupos.

El sistema de mutación refractaria a la amplificación (ARMS) y la PCR alelo específica (AS PCR) son métodos simples para detectar mutaciones que involucran cambios de una sola base o pequeñas deleciones, ambos pueden tener alta sensibilidad incluso con muy baja cantidad de células mutadas; sin embargo, este parámetro puede ser afectado por el tipo de mutación y diseño correcto de los primers (47–50). Por su parte, la PCR en tiempo real es altamente sensible y específica con tiempos de procesamiento muy cortos, a diferencia de las metodologías descritas, permite una cuantificación reproducible del

material genético; no obstante, esta técnica puede generar gran cantidad de datos inexactos cuando no se tiene un estricto control de calidad de las variables analíticas como la calidad de los estándares y la correcta selección del gen *housekeeping* (51,52).

La secuenciación es una técnica molecular que permite determinar con exactitud modificaciones específicas en secuencias génicas; sin embargo, a diferencia de las anteriores, su principal limitación, cuando se usa secuenciación de Sanger, es la baja sensibilidad analítica, y las altas concentraciones de ADN requeridas (53,54).

En concordancia con estas características, y a pesar de que en este estudio no se hallaron diferencias entre las técnicas empleadas por el bajo poder estadístico de las comparaciones, es preciso recomendar el uso de metodologías de secuenciación diferentes a Sanger, con el fin de lograr mayor sensibilidad en la tamización genética de los pacientes con MFP.

La principal limitación del presente trabajo radica en el bajo tamaño de muestra de los estudios incluidos, lo que demuestra la necesidad de desarrollar nuevas investigaciones en el tema. Respecto a las técnicas empleadas en las diferentes publicaciones, la mayoría tienen alta sensibilidad; sin embargo, de acuerdo con las recomendaciones del grupo GEMFIN y La Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia, no se recomienda el uso de metodologías como la secuenciación tipo Sanger, pirosecuenciación y PCR-RFLP por tener una sensibilidad baja que está limitada a un alto número de clonas mutadas (55).

**Conclusión:** Se evidenció una alta frecuencia de la mutación JAK2, demostrando que el diagnóstico de MFP no debe realizarse únicamente por características clínicas y hematológicas sino también por la búsqueda de marcadores moleculares específicos.

**Conflicto de intereses:** Los autores no declaran conflicto de interés para la publicación de este manuscrito.

**Financiación:** Recursos en especie de la Universidad de Antioquia.

## Referencias

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM, Le, Bloomfield CD, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016; 127(20):2391–406.
2. Swerdlow S, Campo E, Harris N et al. World Health Organization Classification of Tumours of haematopoietic and lymphoid Tissues. 2017

3. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2016; 91(12):1262–71.
4. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017; 129(6):667–79.
5. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo S-S, 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.
6. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJP, 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.
7. Jaradat SA, Khasawneh R, Kamal N, Matalka I, Al-Bishtawi M, Al-Sweedan S, et al. Analysis of JAK2V617F mutation in Jordanian patients with myeloproliferative neoplasms. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2015; 8(4):160–6.
8. Suzuki R, Onizuka M, Kojima M, Shimada M, Tsuboi K, Ogawa Y, et al. Infrequent hypermethylation of WIF-1 promoter in BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Tokai J Exp Clin Med*. 2007; 32(4):131–5.
9. Park SH, Chi H-S, Cho Y-U, Jang S, Park C-J. The allele burden of JAK2 V617F can aid in differential diagnosis of Philadelphia Chromosome-Negative Myeloproliferative Neoplasm. *Blood Res*. 2013; 48(2):128–32.
10. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group TP. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses : The PRISMA Statement. 2009;6(7).
11. Speletas M, Katodritou E, Daiou C, Mandala E, Papadakis E, Kioumi A, et al. Correlations of JAK2-V617F mutation with clinical and laboratory findings in patients with myeloproliferative disorders. *Leuk Res*. 2007;31(8):1053–62.
12. Lucia E, Martino B, Mammi C, Vigna E, Mazzone C, Gentile M, et al. The incidence of JAK2 V617F mutation in bcr/abl-negative chronic myeloproliferative disorders: assessment by two different detection methods. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49(10):1907–15.
13. Pardanani A, Fridley BL, Lasho TL, Gilliland DG, Tefferi A. Host genetic variation contributes to phenotypic diversity in myeloproliferative disorders. *Blood*. 2008; 111(5):2785–9.
14. Xu W, Li J-Y, Xia J, Zhang S-J, Fan L, Qiao C. MPL W515L mutation in Chinese patients with myeloproliferative diseases. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49(5):955–8.

15. Bang S-M, Lee J-S, Ahn JY, Lee JH, Hyun MS, Kim BS, et al. Vascular events in Korean patients with myeloproliferative neoplasms and their relationship to JAK2 mutation. *Thromb Haemost.* 2009; 101(3):547–51.
16. Medinger M, Skoda R, Gratwohl A, Theocharides A, Buser A, Heim D, et al. Angiogenesis and vascular endothelial growth factor-/receptor expression in myeloproliferative neoplasms: correlation with clinical parameters and JAK2-V617F mutational status. *Br J Haematol.* 2009; 146(2):150–7.
17. Kim JT, Cho YG, Choi SI, Lee YJ, Kim HR, Jang SJ, et al. JAK2 V617F and exon 12 genetic variations in Korean patients with BCR/ABL1-negative myeloproliferative neoplasms. *Korean J Lab Med.* 2010; 30(6):567–74.
18. Benmoussa A, Dehbi H, Fehri S, Quessar A, Nadifi S. JAK2-V617F mutation in Moroccan patients with myeloproliferative disorders: contribution, diagnosis and therapeutic prospects. *Pathol Biol (Paris).* 2011; 59(4):e89-92.
19. Vadikolia CM, Tsatalas C, Anagnostopoulos K, Trypsianis G, Pantelidou D, Bazdiara I, et al. Proteolytic matrix metallopeptidases and inhibitors in BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms: correlation with JAK2 mutation status. *Acta Haematol.* 2011; 126(1):54–62.
20. Ha J-S, Kim Y-K, Jung S-I, Jung H-R, Chung I-S. Correlations between Janus kinase 2 V617F allele burdens and clinicohematologic parameters in myeloproliferative neoplasms. *Ann Lab Med.* 2012; 32(6):385–91.
21. Zhang X, Maimaitili Y, Li Y, An L, Mao M, Fu L, et al. Detection and clinical significance of JAK2 V617F mutation in Chinese and Uyghur patients with chronic myeloproliferative in Xinjiang. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2012 ;33(12):1020–3.
22. Boveri E, Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Elena C, Arcaini L, et al. Bone marrow microvessel density in chronic myeloproliferative disorders: a study of 115 patients with clinicopathological and molecular correlations. *Br J Haematol.* 2008 ;140(2):162–8.
23. Dos Santos LC, Ribeiro JC da C, Silva NP, Cerutti J, da Silva MRR, Chauffaille M de LLF. Cytogenetics, JAK2 and MPL mutations in polycythemia vera, primary myelofibrosis and essential thrombocythemia. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2011; 33(6):417–24.
24. Payzin KB, Savasoglu K, Alacacioglu I, Ozdemirkiran F, Mutlu BB, Bener S, et al. JAK2 V617F mutation status of 232 patients diagnosed with chronic myeloproliferative neoplasms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2014; 14(6):525–33.

25. Azevedo AP, Silva SN, Reichert A, Lima F, Junior E, Rueff J. Prevalence of the Janus kinase 2 V617F mutation in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms in a Portuguese population. *Biomed reports*. 2017; 7(4):370–6.
26. Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim J-A, Lee DS. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. *Am J Clin Pathol*. 2015; 143(5):635–44.
27. Lekovic D, Gotic M, Skoda R, Beleslin-Cokic B, Milic N, Mitrovic-Ajtic O, et al. Bone marrow microvessel density and plasma angiogenic factors in myeloproliferative neoplasms: clinicopathological and molecular correlations. *Ann Hematol*. 2017 ;96(3):393–404.
28. Trifa AP, Cucuianu A, Petrov L, Urian L, Militaru MS, Dima D, et al. The G allele of the JAK2 rs10974944 SNP, part of JAK2 46/1 haplotype, is strongly associated with JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol*. 2010; 89(10):979–83.
29. Borowczyk M, Wojtaszewska M, Lewandowski K, Gil L, Lewandowska M, Lehmann-Kopydlowska A, et al. The JAK2 V617F mutational status and allele burden may be related with the risk of venous thromboembolic events in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *Thromb Res*. 2015 ;135(2):272–80.
30. Ojeda MJ, Bragos IM, Calvo KL, Williams GM, Carbonell MM, Pratti AF. CALR, JAK2 and MPL mutation status in Argentinean patients with BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms. *Hematology*. 2018 ;23(4):208–11.
31. da Silva RR, Domingues Hatzlhofer BL, Machado CG de F, Lima AS de M, de Albuquerque DM, dos Santos MNN, et al. JAK2 V617F mutation prevalence in myeloproliferative neoplasms in Pernambuco, Brazil. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012 ;16(7):802–5.
32. Didone A, Nardinelli L, Marchiani M, Ruiz ARL, de Lima Costa AL, Lima IS, et al. Comparative study of different methodologies to detect the JAK2 V617F mutation in chronic BCR-ABL1 negative myeloproliferative neoplasms. *Pract Lab Med*. 2016; 4:30–7.
33. Tefferi A, Pardanani A, Lim K-H, Abdel-Wahab O, Lasho TL, Patel J, et al. TET2 mutations and their clinical correlates in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Leukemia*. 2009; 23(5):905–11.

34. Takata Y, Seki R, Kanajii T, Nohara M, Koteda S, Kawaguchi K, et al. Association between thromboembolic events and the JAK2 V617F mutation in myeloproliferative neoplasms. *Kurume Med J.* 2014; 60(3–4):89–97.
35. Vytrva N, Stacher E, Regitnig P, Zinke-Cerwenka W, Hojas S, Hubmann E, et al. Megakaryocytic morphology and clinical parameters in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and primary myelofibrosis with and without JAK2 V617F. *Arch Pathol Lab Med.* 2014; 138(9):1203–9.
36. Wu Z, Zhang X, Xu X, Chen Y, Hu T, Kang Z, et al. The mutation profile of JAK2 and CALR in Chinese Han patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol.* 2014; 7:48.
37. Misawa K, Yasuda H, Araki M, Ochiai T, Morishita S, Shirane S, et al. Mutational subtypes of JAK2 and CALR correlate with different clinical features in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol.* 2018 ;107(6):673–80.
38. . Grupo Banco mundial: Gasto en investigación y desarrollo (% del PIB) [internet]. n.d [consultado 10 de julio 2018]. Disponible en:[https://datos.bancomundial.org/indicador/GB.XPD.RSDV.GD.ZS?view=map&year\\_high\\_desc=false](https://datos.bancomundial.org/indicador/GB.XPD.RSDV.GD.ZS?view=map&year_high_desc=false).
39. Abello V, Quintero G, Espinosa D, Solano M, Casas C, D Saavedra. Descripción de las características clínicas de las neoplasias mieloproliferativas crónicas ( NMPC ) Description of the clinical characteristics of chronic myeloproliferative neoplasms ( MPNs ) First report of the colombian registry of MPNs. 2017;35–41.
40. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Rumi E, Cazzola M, et al. Dynamic International Prognostic Scoring System (DIPSS) predicts progression to acute myeloid leukemia in primary myelofibrosis. Vol. 116, *Blood.* United States; 2010. p. 2857–8.
41. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, George G, Begna K, Schwager S, et al. DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol.* 2011; 29(4):392–7.
42. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly JT, Morra E, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood.* 2009; 113(13):2895–901.

43. Mesa RA, Passamonti F. Individualizing Care for Patients With Myeloproliferative Neoplasms: Integrating Genetics, Evolving Therapies, and Patient-Specific Disease Burden. *Am Soc Clin Oncol Educ book Am Soc Clin Oncol Annu Meet.* 2016; 35:e324-35.
44. Tefferi A, Guglielmelli P, Nicolosi M, Mannelli F, Mudireddy M, Bartalucci N, et al. GIPSS: genetically inspired prognostic scoring system for primary myelofibrosis. *Leukemia [Internet].* 2018; 32(7):1631–42.
45. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, Gangat N, Ketterling RP, Pardanani A, et al. MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol.* 2018; 36(17):1769–70.
46. Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF, O'Rorke M, Mesa R, De Vocht F, et al. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol.* 2014; 89(6):581–7.
47. Little S. Amplification-refractory mutation system (ARMS) analysis of point mutations. *Curr Protoc Hum Genet.* 2001; Chapter 9: Unit 9.8.
48. Dang RKB, Anthony RS, Craig JIO, Leonard RCF, Parker AC. Limitations of the use of single base changes in the p53 gene to detect minimal residual disease of breast cancer. *Mol Pathol.* 2002; 55(3):177–81.
49. Kang H-Y, Hwang J-Y, Kim S-H, Goh H, Kim M, Kim D-W. Comparison of allele specific oligonucleotide-polymerase chain reaction and direct sequencing for high throughput screening of ABL kinase domain mutations in chronic myeloid leukemia resistant to imatinib. *Haematologica.* 2006; 91(5):659–62.
50. Corless CL, Harrell P, Lacouture M, Bainbridge T, Le C, Gatter K, et al. Allele-specific polymerase chain reaction for the imatinib-resistant KIT D816V and D816F mutations in mastocytosis and acute myelogenous leukemia. *J Mol Diagn.* 2006; 8(5):604–12.
51. Arya M, Shergill IS, Williamson M, Gommersall L, Arya N, Patel HRH. Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Rev Mol Diagn.* 2005 Mar; 5(2):209–19.
52. Jozefczuk J, Adjaye J. Quantitative real-time PCR-based analysis of gene expression. *Methods Enzymol.* 2011; 500:99–109.
53. Tipu HN, Shabbir A. Evolution of DNA sequencing. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2015; 25(3):210–5.

54. Su Z, Ning B, Fang H, Hong H, Perkins R, Tong W, et al. Next-generation sequencing and its applications in molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011 ;11(3):333–43.
55. Blessés C, Cervantes F. Manual de recomendaciones en Neoplasias Mieloproliferativas Crónicas Filadelfia Negativas. Grupo Español de Neoplasias Filadelfia Negativas (GEMFIN). 2014; Available from: [http://www.sehh.es/images/stories/recursos/2014/documentos/guias/GUIA\\_GEMFIN.pdf](http://www.sehh.es/images/stories/recursos/2014/documentos/guias/GUIA_GEMFIN.pdf)

**Metanálisis de la frecuencia de CALR en pacientes con trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria**

**Meta-analysis of CALR frequency in patients with essential thrombocythemia and primary myelofibrosis**

Mónica Mejía Ochoa<sup>1</sup> Paola Andrea Acevedo-Toro<sup>2</sup> Luis Felipe Higuera Gutiérrez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Laboratorio Médico de Referencia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Profesora Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular.

<sup>3</sup> Profesor Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Facultad de medicina Universidad Cooperativa de Colombia. Medellín, Colombia.

**Correspondencia:** Mónica Mejía Ochoa. Carrera 20 Número 2 Sur – 185, Primer piso-Laboratorio. Medellín, Colombia. Teléfono 4440795. E-mail:monicamejia-07@hotmail.com

## Resumen

**Introducción:** Calreticulina es el segundo marcador molecular más importante de los algoritmos diagnósticos para las neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativas propuesto por la OMS del año 2016; las frecuencias reportadas para esta mutación son heterogéneas.

**Objetivo:** metanalizar la frecuencia de la mutación CALR en pacientes con TE y MFP en los años 2014-2018.

**Métodos:** Revisión sistemática de la literatura con metanálisis siguiendo las fases de identificación, tamización, elección e inclusión de la guía PRISMA. Se garantizó reproducibilidad de la información y se evaluó la calidad metodológica. Se calculó la prevalencia de CALR con frecuencias relativas, se realizó metanálisis de Odds ratio (OR) utilizando el modelo de efectos aleatorios.

**Resultados:** Se incluyeron 17 artículos en la síntesis cuantitativa, la mayoría realizados en países del continente asiático (China, Japón, Corea), los años de publicación fueron 2014 y 2018. La frecuencia de CALR entre los pacientes con TE osciló entre 8,3% (IC95% 5,5-11,2) y 68,1% (IC 95% 53,7-82,5) mientras que en los pacientes con MFP estuvo entre 5,3% (IC 95% 1,1-9,4) y 82,9% (IC95% 70,2-95,7). La *Odds ratio* de CALR en pacientes con TE frente a los pacientes con MFP fue de 0,9993 (IC95% 0,7635-1,308), lo que refleja que no hay diferencias significativas en el riesgo de la presentación de CALR entre las dos neoplasias.

**Conclusión:** La mutación CALR representa un marcador con frecuencias altas en el grupo de neoplasias mieloproliferativas crónicas BCR-ABL negativas, su tamización debe ser considerada e implementada en la práctica médica y de laboratorio para clasificar de manera específica este grupo de entidades hematológicas.

**Palabras clave:** neoplasias mieloproliferativas crónicas; Calreticulina; Trombocitemia esencial; Mielofibrosis primaria; revisión sistematica; Metanálisis

## **Review**

**Introduction:** Calreticulina is the second most important molecular marker in the algorithms diagnostic for the chronic BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms, proposed by the WHO in 2016; The frequencies reported for this mutation are heterogeneous.

**Objective:** to meta-analyze the frequency of the CALR mutation in patients with ET and MFP in the years 2014-2018.

**Methods:** Systematic review of the literature with meta-analysis following the identification, screening, selection and inclusion phases of the PRISMA guide. Reproducibility of the information was guaranteed and the methodological quality was evaluated. The prevalence of CALR with relative frequencies was calculated, Odds ratio (OR) meta-analysis was performed using the random effects model.

**Results:** We included 17 articles in the quantitative synthesis, most of them were made in countries of the Asian continent (China, Japan, Korea), the publication years were from 2014 to 2018. The frequency of CALR among patients with ET ranged from 8.3 % (95% CI 5.5-11.2) and 68.1% (95% CI 53.7-82.5) while in patients with MFP it was between 5.3% (95% CI 1.1- 9.4) and 82.9% (95% CI 70.2-95.7). The odds ratio of CALR in patients with ET compared to patients with MFP was 0.9993 (IC95% 0.7635-1.308), which reflects that there are no significant differences in the risk of the presentation of CALR between the two neoplasms

**Conclusion:** The CALR mutation represents a marker with high frequencies in the group of negative BCR-ABL chronic myeloproliferative neoplasms, its screening must be considered and implemented in medical and laboratory practice to classify this group of hematological entities in a specific way.

**Keywords:** Chronic Myeloproliferative neoplasms; calreticulin; Essential thrombocythemia; Primary myelofibrosis; systematic review; Meta-analysis.

## **Introducción**

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC) son desórdenes hematológicos clasificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), según sus características biológicas, como neoplasias con proliferación clonal descontrolada debido a que la producción celular se da de forma acelerada y conduce a la acumulación de células maduras en médula ósea y sangre periférica; los tres linajes mieloides (granulocítico, eritroide y megacariocítico) pueden estar relacionados con este grupo de enfermedades (1).

Clásicamente, el grupo de neoplasias mieloproliferativas crónicas se ha subdividido en dos grandes grupos de acuerdo a la presencia o ausencia del gen de fusión BCR-ABL en: NMPC BCR-ABL positivas y NMPC BCR-ABL negativas. La entidad que representa al primer grupo es la leucemia mieloide crónica (LMC), y en el segundo, se incluyen: Policitemia vera (PV), Trombocitemia Esencial (TE) y Mielofibrosis primaria (MFP) (2).

Las NMPC se desarrollan principalmente en la edad adulta entre la sexta y séptima década de vida, tienen una incidencia anual combinada de 6 casos por 100.000 personas. La LMC tiene una incidencia de 1-2 casos por 100.000 personas y la PV, TE y MFP tienen incidencias menores de 1 por 100.000 personas (1,3).

El enfoque multiparamétrico para la clasificación de neoplasias hematológicas propuesto por la OMS ha permitido integrar la información clínica, inmunofenotípica, morfológica y molecular de cada paciente para obtener diagnósticos precisos (4,5). En el estudio de las NMPC BCR-ABL Negativas, los hallazgos moleculares y genéticos, constituyen piezas claves en el diagnóstico, comprensión y abordaje de la enfermedad.

En la leucemia mieloide crónica se conoce hace más de 50 años la influencia que tienen las alteraciones citogenéticas y moleculares en la patogénesis (6,7); sin embargo, en las NMPC BCR-ABL Negativas, este panorama no es completamente claro, por lo que actualmente existen numerosas investigaciones enfocadas en determinar el mecanismo por el cual se desarrollan este grupo de alteraciones hematológicas.

Gracias a esas investigaciones se han identificado algunas mutaciones en estos pacientes que contribuyen a comprender aspectos relacionados con el desarrollo y evolución de estas neoplasias. La primera mutación descrita fue en el gen JAK2 por James y colaboradores (2005), quienes reportaron una estrecha relación con PV; además se ha demostrado que

JAK2 genera activación constitutiva de vías celulares relacionadas con proliferación (8,9). Tras el descubrimiento de JAK2, se han descrito otras alteraciones como las del gen del receptor de trombopoyetina (MPL) y en el gen de Calreticulina (CALR). Estas tres mutaciones son actualmente los principales marcadores moleculares en NMPC BCR-ABL negativas y se han denominado como mutaciones “drivers” o conductoras (9–12).

De las tres mutaciones drivers, Calreticulina es la más recientemente descrita, fue identificada por dos estudios simultáneos en el año 2013, a través de secuenciación completa de exones y secuenciación directa de genes en pacientes negativos para los otros dos marcadores; diferentes tipos de mutaciones han sido identificadas en este gen, sin embargo, se han reportado dos variantes principales clasificadas como mutación tipo I, y tipo II que se generan por una delección de 52 pares de bases y una inserción de 5 pares de bases respectivamente (11,12). CALR es una proteína multifuncional de retículo endoplásmico (RE), está involucrada en procesos como control de calidad de las proteínas del RE, actividad como chaperona, entre otras (13)

Actualmente, las mutaciones en CALR son consideradas como el segundo marcador molecular más importante después de JAK2, dada la relación que existe con el desarrollo de NMPC, así como por su alta frecuencia de presentación en estas neoplasias; adicionalmente, se incluye en las guías de la OMS como criterio mayor para el diagnóstico de TE y MFP (2).

A pesar de que en los dos primeros estudios que dieron lugar al descubrimiento de las mutaciones en CALR, las frecuencias descritas para la mutación en NMPC fueron entre el 25 y 30%; estudios posteriores han reportado frecuencias mucho más bajas, de 5,3% en MFP por Gou H y cols en 2015 y de 12,6% por Li M en TE, así como frecuencias altas, de 83% por Suboticki T y cols en 2017 en MFP. La heterogeneidad hallada, podría atribuirse al número y tipo de población evaluada, o estar influenciada por el subtipo de la enfermedad en la cual se calcule.

Con estos antecedentes de investigación, se hace necesaria la ejecución de una revisión sistemática que agrupe los estudios individuales, en los que se calcule la frecuencia de la mutación CALR en TE y MFP, y de esta manera, calcular la frecuencia global de la mutación en cada neoplasia, así como determinar si existen diferencias entre los dos diagnósticos.

## **Metodología**

**Tipo de estudio:** se realizó una revisión sistemática de la literatura con metanálisis siguiendo las etapas de identificación, tamización, elección e inclusión. (PRISMA (Preferred reporting items for systematic reviews and metaanalyses))

**Identificación:** Se emplearon los términos CALR, calreticulin, MPL y Thrombopoietin receptor restringidos a título/resumen en las bases de datos Pubmed, ScienceDirect y Scielo para un total de doce estrategias de búsqueda. Algunos de los algoritmos utilizados fueron: CALR[Title/Abstract], Calreticulin[Title/Abstract], (ab:(MPL)), (ab:(Thrombopoietin receptor)). Los resultados de la búsqueda fueron exportados a una fuente común (Gestor de referencias Zotero) y el cierre de esta fase se hizo con la eliminación de duplicados.

**Tamización:** Los estudios identificados fueron tamizados con la lectura del resumen y aplicando los siguientes criterios de inclusión, i) artículos publicados en inglés, español o portugués, ii) que fuesen estudios originales, iii) que fuesen realizados en humanos y iv) que traten sobre neoplasias mieloproliferativas crónicas.

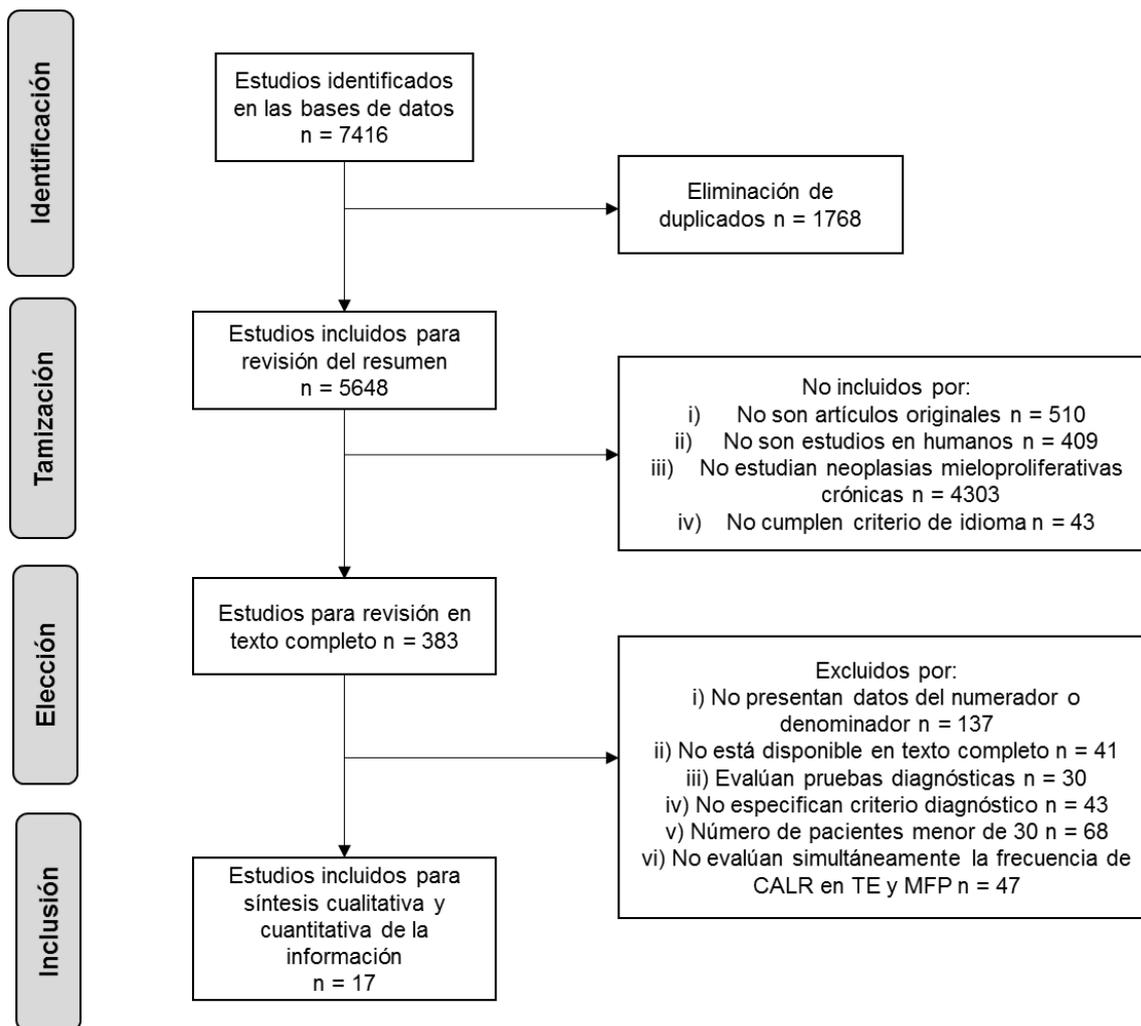
**Elección:** Una vez concluida la etapa de tamización se aplicaron los siguientes criterios de exclusión con la lectura de la totalidad del manuscrito, i) estudios que no presentan datos del numerador o el denominador para hacer el cálculo de la frecuencia, ii) artículos no disponibles en texto completo por restricciones en las bases de datos consultadas, iii) estudios que evaluaron pruebas diagnósticas, iv) estudios que no especificaron criterios de diagnóstico, v) investigaciones que incluyeran menos de 30 pacientes en al menos una de las neoplasias y vi) estudios que no evalúan simultáneamente la frecuencia de la mutación CALR en pacientes con trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria.

**Inclusión:** Con los artículos que pasaron las etapas anteriores se diseñó una base de datos en Excel que contenía las variables año de publicación, país, número de pacientes incluidos con cada neoplasia, criterios diagnósticos de la neoplasia, frecuencia de la mutación y la técnica diagnóstica de la mutación. La base de datos se diligenció por duplicado para garantizar la reproducibilidad de la extracción de la información, la cual se evaluó por el método de verificación de rangos (no hallar valores fuera del límite de la variable o no plausibles), sumado al cálculo del índice de kappa. La reproducibilidad de la selección de la información se garantizó con la aplicación del protocolo por dos investigadores de forma independiente, las discrepancias se resolvieron por consenso y referencia a un tercero.

**Análisis de la información:** Se calculó la prevalencia de la mutación CALR en pacientes con trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria con frecuencias relativas y su intervalo de confianza del 95%. La diferencia en la prevalencia de CALR entre las dos neoplasias al interior de cada estudio se hizo con la prueba Z para diferencia de proporciones. Con la frecuencia de CALR desagregada por neoplasia se realizó un metanálisis de Odds ratio (OR) utilizando el modelo de efectos aleatorios, dada la heterogeneidad de los artículos. El grado de heterogeneidad se evaluó con la prueba Q (Chi cuadrado) de DerSimonian y Laird acompañado del gráfico de Galbraith. El sesgo de publicación se valoró a través del FunnelPlot y el estadístico de Begg. Se realizó el ForestPlot como resultado total del metaanálisis para evidenciar diferencias en cada estudio y la diferencia global con sus respectivos intervalos de confianza. Finalmente, se hizo análisis de sensibilidad para verificar que el resultado global no estuviese influenciado por un estudio en particular. Los análisis se realizaron en EPIDAT versión 3.1

## **Resultados**

En la búsqueda inicial se identificaron 7416 estudios de los que se eliminaron 1768 duplicados. Se tamizaron con la lectura del resumen 5648 artículos, de ellos no fueron incluidos 5265 por no cumplir con los criterios de inclusión. En la etapa de elección se revisaron 383 manuscritos en texto completo y se excluyeron 366 por cumplir con los criterios de exclusión. Figura 1.



**Figura 1.** Flujograma de selección de estudios

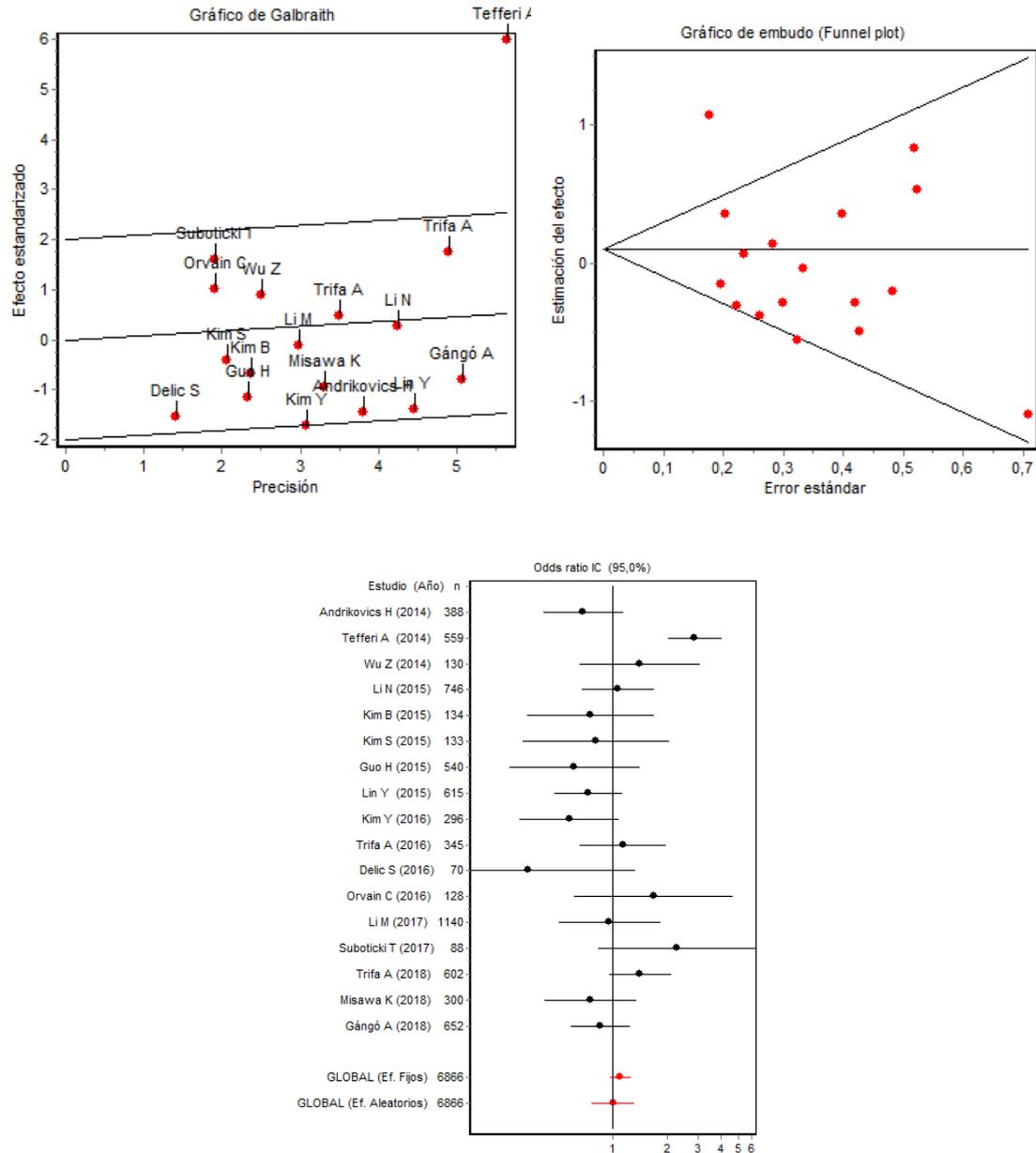
Se incluyeron 17 artículos en la síntesis cuantitativa, la mayoría (52,9% IC95% 27,8 - 77,0) realizados en países del continente asiático (China, Japón, Corea), seguidos de Europa (41,2% IC95% 18,4 - 67,1). Las investigaciones se realizaron entre 2014 y 2018 e incluyen 5043 pacientes con trombocitemia esencial (TE) y 1823 con mielofibrosis primaria (MFP). La frecuencia de CALR entre los pacientes con TE osciló entre 8,3% (IC95% 5,5-11,2) y 68,1% (IC 95% 53,7-82,5) mientras que en los pacientes con MFP estuvo entre 5,3% (IC 95% 1,1-9,4) y 82,9% (IC95% 70,2-95,7). En solo una investigación se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de la mutación CALR entre las dos neoplasias (30,5% IC 95% 25,0-35,9 frente a 55,8% IC95% 49,7-61,9 Vp 0,001), esta podría ser influenciada por el alto número de pacientes evaluados con MFP, en comparación con los demás estudios (21).

**Tabla 1.** Frecuencia de mutación CALR en pacientes con trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria

<b>Autor</b>	<b>País</b>	<b>n Trombocitemia esencial</b>	<b>CALR Frecuencia (IC 95%)</b>	<b>n Mielofibrosis primaria</b>	<b>CALR Frecuencia (IC 95%)</b>	<b>VP</b>
Kim S (14)	Corea	79	17,7 (8,7-26,8)	54	14,8 (4,4-25,2)	0,837
Li M (15)	China	1049	12,6 (10,5-14,6)	91	12,1 (4,8-19,3)	0,977
Andrikovics H (16)	Hungría	289	33,2 (27,6-38,8)	99	25,2 (16,2-34,3)	0,176
Guo H (17)	China	407	8,3 (5,5-11,2)	133	5,3 (1,1-9,4)	0,327
Li N (18)	China	614	20,2 (16,9-23,4)	132	21,2 (13,8-28,6)	0,885
Kim Y (19)	Corea	179	21,8 (15,5-28,1)	117	13,7 (7,0-20,3)	0,109
Kim B (20)	Corea	84	27,4 (17,2-37,5)	50	22 (9,5-34,5)	0,626
Tefferi A (21)	Estados Unidos	292	30,5 (25,0-35,9)	267	55,8 (49,7-61,9)	0,001*
Trifa A (22)	Rumania	454	26,4 (22,3-30,6)	148	33,8 (25,8-41,7)	0,105
Misawa K (23)	Japón	212	26,9 (20,7-33,1)	88	21,6 (12,4-30,7)	0,415
Gángó A (24)	Hungría	425	24,5 (20,3-28,7)	227	21,6 (16,0-27,1)	0,465
Trifa A (25)	Rumania	271	28,4 (22,8-34,0)	74	31,1 (19,9-42,3)	0,761
Wu Z (26)	China	80	25,0 (14,9-35,1)	50	32,0 (18,1-45,9)	0,505
Lin Y (27)	China	428	22,7 (15,6-26,7)	187	17,6 (11,9-23,4)	0,196
Suboticki T (28)	Serbia	47	68,1 (53,7-82,5)	41	82,9 (70,2-95,7)	0,175
Delic S (29)	Alemania	40	25,0 (10,3-39,7)	30	10,0 (2,1-26,5)	0,198
Orvain C (30)	Francia	93	12,9 (5,5-20,2)	35	20,0 (5,3-34,7)	0,467

Con la frecuencia de la mutación CALR desagregada por neoplasia se realizó un metanálisis de Odds ratio (OR). La prueba Q de Dersimonian y Laird's (Vp 0,001) y el gráfico Galbraith (Figura 2A) pusieron de manifiesto heterogeneidad entre estudios por lo que se utilizó un modelo de efectos aleatorios. El estadístico de Begg (Vp 0,9671) y el Funnel Plot (Figura 2B) no evidenciaron sesgo de publicación.

La *Odds ratio* de CALR en pacientes con TE frente a los pacientes con MFP estuvo entre 0,3472 (IC95% 0,2454 - 0,4912) y 3 (IC95% 0,7465-12,0569). La medida global bajo el modelo de efectos aleatorios fue de 0,9993 (IC95% 0,7635-1,308), lo que refleja que no hay diferencias significativas en el riesgo de la presentación de la mutación CALR entre las dos neoplasias (Figura 2C)



**Figura 2.** A) Análisis de heterogeneidad con el gráfico de Galbraith, B) sesgo de publicación con el Funnel Plot y C) metanálisis con el Forest Plot

En el análisis de sensibilidad se observó que el resultado global no está afectado significativamente por los estudios individuales, ya que la exclusión de cada uno de ellos no modifica la conclusión final. (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis de sensibilidad.

Estudio omitido	Año	n	OR	IC (95,0%)		Cambio relativo (%)
Andrikovics H	2014	6478	1,0296	0,7781	1,3623	2,89
Tefferi A	2014	6307	0,9167	0,7685	1,0934	-8,39
Wu Z	2014	6736	0,9809	0,7403	1,2996	-1,98
Li N	2015	6120	0,9935	0,7422	1,3301	-0,71
Kim B	2015	6732	1,0153	0,7678	1,3428	1,47
Kim S	2015	6733	1,0097	0,7639	1,3345	0,9
Guo H	2015	6326	1,0263	0,7784	1,3532	2,56
Lin Y	2015	6251	1,0252	0,7722	1,3611	2,45
Kim Y	2016	6570	1,0388	0,7895	1,3666	3,81
Trifa A	2016	6521	0,9899	0,7424	1,3199	-1,07
Delic S	2016	6796	1,0315	0,788	1,3502	3,08
Orvain C	2016	6738	0,9787	0,7417	1,2916	-2,19
Li M	2017	5726	1,0022	0,7541	1,332	0,16
Suboticki T	2017	6778	0,9673	0,7354	1,2724	-3,33
Trifa A	2018	6264	0,9704	0,7255	1,2979	-3,03
Misawa K	2018	6566	1,0198	0,7689	1,3525	1,91
Gángó A	2018	6214	1,012	0,7562	1,3544	1,13
GLOBAL		6866	1,0007	0,7646	1,3097	

## Discusión

Se identificaron 17 publicaciones que compararon la frecuencia de la mutación CALR en 5043 pacientes con TE y 1823 pacientes con MFP. El número de estudios hallados así como la frecuencia de pacientes incluidos, refleja el interés de investigadores y clínicos en entender en detalle las implicaciones que tiene la biología molecular en los diferentes aspectos relacionados con la enfermedad, como el inicio y desarrollo, diagnóstico, rasgos clínicos, asociación con pronóstico y evolución, entre otros. Así mismo, el alto número de artículos en este tema, demuestra la importancia que se debe atribuir a la tamización genética de todos los pacientes sospechosos de NMPC, y reafirman la necesidad de adherencia a los protocolos propuestos por la OMS, los cuales clasifican la mutación CALR como criterio mayor de diagnóstico y como el segundo marcador molecular más importante después de JAK2; con estos hallazgos se evidencia la importancia de

trascender de los parámetros morfológicos y clínicos a la inclusión de marcadores genéticos para un diagnóstico integral (2).

El descubrimiento de las mutaciones drivers (JAK2, CALR Y MPL) ha generado un gran avance en el área de la hematología, en la medida que permite el desarrollo de algoritmos diagnósticos cada vez más específicos para las NMPC, en este sentido, los marcadores moleculares permiten aclarar confusiones diagnósticas con patologías que presentan características clínicas y biológicas similares como eritrocitosis secundarias, fibrosis reactivas, entre otras (31,32). Por otra parte, la detección de mutaciones beneficia a los pacientes porque permite establecer asociaciones con el pronóstico y curso clínico, varios estudios han reportado que los pacientes con mutaciones en CALR presentan menores valores de hemoglobina y leucocitos, mayores recuentos de plaquetas y se asocian con menor riesgo de trombosis comparado con las demás mutaciones (12,33–36).

Pese a lo anterior, la mayoría de investigaciones están circunscritas a países asiáticos con altos recursos e inversión en investigación (37), lo que pone al descubierto, la necesidad de estudios en África, Norte y Suramérica que permitan conocer la distribución de los marcadores moleculares en cada región y de esta manera, influir en el desarrollo y aplicación de políticas de salud que incluyan su tamización y faciliten la obtención de diagnósticos precisos así como un correcto seguimiento de estas neoplasias.

En esta investigación se encontró que en pacientes con TE, la frecuencia de la mutación CALR osciló entre 8,3% y 68,1%. Esta heterogeneidad podría ser atribuida a diferentes factores, entre ellos, la región o país en el que se realice la tamización genética, la frecuencia más alta para la mutación CALR fue hallada en el estudio de Suboticki T y cols realizado en Serbia y frecuencias bajas en las publicaciones de Guo H y cols y Li M y cols realizados en China; sin embargo, el limitado número de estudios de cada país, impide metanalizar la frecuencia del marcador para dar conclusiones robustas a esta hipótesis. Otra posible fuente de heterogeneidad es el correcto diagnóstico de los pacientes, en este sentido, la frecuencia podría estar subestimada en pacientes erróneamente diagnosticados con NMPC, por tal motivo, es de utilidad evaluar los criterios diagnósticos empleados en cada manuscrito y determinar las frecuencias en cada uno de ellos.

En cuanto a los pacientes con MFP, las frecuencias estuvieron entre 5,3% y 82,9%, en este caso, las diferencias podrían ser atribuidas, además de los factores anteriormente mencionados, al bajo número de pacientes incluidos; en esta revisión se corroboró que

del grupo de NMPC, MFP es la entidad menos frecuente, con una incidencia anual que oscila de 0,22 a 0,99 casos por 100.000 personas la cual es significativamente menor comparada con la incidencia de TE; la dificultad de tamizar una población representativa de pacientes con MFP podría conducir también a la sub o sobreestimación de la frecuencia de la mutación CALR; de los estudios incluidos, el de Suboticki T y Delic S reportaron frecuencias heterogéneas de 82,9% y 10% con un número de pacientes bajo, de 41 y 30 respectivamente.

Al comparar la frecuencia de la mutación en los dos grupos de enfermedades, el metanálisis puso de manifiesto que no existen diferencias significativas (OR 0,9993). Este hallazgo, confirma que la mutación en CALR no es específica de una neoplasia sino de un grupo de ellas, lo cual puede explicarse por su fisiopatología; las mutaciones en CALR, al igual que JAK2 Y MPL, generan activación constitutiva de vías de señalización dependientes de receptores y citoquinas responsables de la proliferación celular, siendo la más importante la vía JAK-STAT. Dependiendo del receptor alterado, se generan diferentes fenotipos de la enfermedad, el receptor MPL conduce principalmente al desarrollo de TE y el receptor G-CSFR a MFP (9).

Como se mencionó anteriormente, la principal limitación de esta investigación radica en el bajo número de estudios en la mayoría de países, esto impide determinar si la frecuencia del marcador está influenciada por el tipo de población estudiada o por el número de pacientes incluidos.

Finalmente, el desarrollo de la presente revisión sistemática ha permitido demostrar que la mutación CALR representa un marcador molecular específico y de alta frecuencia en NMPC, que debe ser considerado e implementado en la práctica médica y de laboratorio para clasificar de manera específica este grupo de entidades hematológicas; adicionalmente, pone de manifiesto la necesidad de desarrollar nuevas revisiones sistemáticas que sinteticen la información clínica disponible en diferentes estudios individuales y de esta manera consolidar los conocimientos en este tema.

## Referencias

1. Swerdlow S, Campo E, Harris N et al. World Health Organization Classification of Tumours of haematopoietic and lymphoid Tissues. 2017
2. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM Le, Bloomfield CD, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391–406.
3. Titmarsh GJ, Duncombe AS, McMullin MF, O'Rourke M, Mesa R, De Vocht F, et al. How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol*. 2014;89(6):581–7.
4. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2016 Dec;91(12):1262–71.
5. 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 Jul;114(5):937–51.
6. NOWELL PC, HUNGERFORD DA. Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *J Natl Cancer Inst*. 1960 Jul;25:85–109.
7. Prieto F, Egozcue J, Forteza G, Marco F. Identification of the Philadelphia (Ph-1) chromosome. *Blood*. 1970 Jan;35(1):23–7.
8. James C, Ugo V, Le Couedic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*. 2005 Apr;434(7037):1144–8.
9. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017;129(6):667–79.
10. 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):1140–51.
11. Nangalia J, Massie CEE, Baxter EJJ, Nice FLL, Gundem G, Wedge DCC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N*

Engl J Med [Internet]. 2013;369(25):2391–405. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1312542> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24325359> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3966280>

12. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* [Internet]. 2013;369(25):2379–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24325356>

13. Michalak M, Corbett EF, Mesaeli N, Nakamura K, Opas M. Calreticulin: one protein, one gene, many functions. *Biochem J* [Internet]. 1999;344 Pt 2:281–92. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1220642&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

14. Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim J-A, Lee DS. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. *Am J Clin Pathol*. 2015 May;143(5):635–44.

15. Li MY, Chao HY, Sun AN, Qiu HY, Jin ZM, Tang XW, et al. [Clinical significance of JAK2CALR and MPL gene mutations in 1 648 Philadelphia chromosome negative myeloproliferative neoplasms patients from a single center]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2017 Apr;38(4):295–300.

16. Andrikovics H, Krahling T, Balassa K, Halm G, Bors A, Koszarska M, et al. Distinct clinical characteristics of myeloproliferative neoplasms with calreticulin mutations. *Haematologica*. 2014;99(7):1184–90.

17. Guo H, Chen X, Tian R, Chang J, Li J, Tan Y, et al. Frequencies, Laboratory Features, and Granulocyte Activation in Chinese Patients with CALR-Mutated Myeloproliferative Neoplasms. *PLoS One*. 2015;10(9):e0138250.

18. Li N, Yao Q-M, Gale RP, Li J-L, Li L-D, Zhao X-S, et al. Frequency and allele burden of CALR mutations in Chinese with essential thrombocythemia and primary

myelofibrosis without JAK2(V617F) or MPL mutations. *Leuk Res.* 2015 May;39(5):510–4.

19. Kim Y, Park J, Jo I, Lee GD, Kim J, Kwon A, et al. Genetic-pathologic characterization of myeloproliferative neoplasms. *Exp Mol Med.* 2016 Jul;48:e247.

20. Kim BH, Cho Y-U, Bae M-H, Jang S, Seo E-J, Chi H-S, et al. JAK2 V617F, MPL, and CALR Mutations in Korean Patients with Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis. *J Korean Med Sci.* 2015 Jul;30(7):882–8.

21. Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood.* 2014 Oct;124(16):2507–13; quiz 2615.

22. Trifa AP, Banescu C, Bojan AS, Voina CM, Popa S, Visan S, et al. MECOM, HBS1L-MYB, THRB-RARB, JAK2, and TERT polymorphisms defining the genetic predisposition to myeloproliferative neoplasms: A study on 939 patients. *Am J Hematol.* 2018 Jan;93(1):100–6.

23. Misawa K, Yasuda H, Araki M, Ochiai T, Morishita S, Shirane S, et al. Mutational subtypes of JAK2 and CALR correlate with different clinical features in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol.* 2018 Jun;107(6):673–80.

24. Gango A, Mozes R, Boha Z, Kajtar B, Timar B, Kiraly PA, et al. Quantitative assessment of JAK2 V617F and CALR mutations in Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res.* 2018 Feb;65:42–8.

25. Trifa AP, Banescu C, Tevet M, Bojan A, Dima D, Urian L, et al. TERT rs2736100 A>C SNP and JAK2 46/1 haplotype significantly contribute to the occurrence of JAK2 V617F and CALR mutated myeloproliferative neoplasms - a multicentric study on 529 patients. *Br J Haematol.* 2016 Jul;174(2):218–26.

26. Wu Z, Zhang X, Xu X, Chen Y, Hu T, Kang Z, et al. The mutation profile of JAK2 and CALR in Chinese Han patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol.* 2014 Jul;7:48.

27. Lin Y, Liu E, Sun Q, Ma J, Li Q, Cao Z, et al. The Prevalence of JAK2, MPL, and CALR Mutations in Chinese Patients With BCR-ABL1-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2015 Jul;144(1):165–71.
28. Suboticki T, Mitrovic Ajtic O, Beleslin-Cokic BB, Nienhold R, Diklic M, Djikic D, et al. Angiogenic factors are increased in circulating granulocytes and CD34(+) cells of myeloproliferative neoplasms. *Mol Carcinog*. 2017 Feb;56(2):567–79.
29. Delic S, Rose D, Kern W, Nadarajah N, Haferlach C, Haferlach T, et al. Application of an NGS-based 28-gene panel in myeloproliferative neoplasms reveals distinct mutation patterns in essential thrombocythaemia, primary myelofibrosis and polycythaemia vera. *Br J Haematol*. 2016 Nov;175(3):419–26.
30. Orvain C, Luque Paz D, Dobo I, Cottin L, Le Calvez G, Chauveau A, et al. Circulating Cd34+ cell count differentiates primary myelofibrosis from other Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms: a pragmatic study. *Ann Hematol*. 2016 Oct;95(11):1819–23.
31. Lee G, Arcasoy MO. The clinical and laboratory evaluation of the patient with erythrocytosis. *Eur J Intern Med*. 2015 Jun;26(5):297–302.
32. Michiels JJ, Berneman Z, Schroyens W, De Raeve H. Changing concepts of diagnostic criteria of myeloproliferative disorders and the molecular etiology and classification of myeloproliferative neoplasms: from Dameshek 1950 to Vainchenker 2005 and beyond. *Acta Haematol*. 2015;133(1):36–51.
33. Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P, Pacilli A, Pancrazzi A, Pieri L, et al. Rotunno 2014 Impact of calretinin mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in ET. 2016;123(10):1552–6.
34. Sun C, Zhou X, Zou Z-J, Guo H-F, Li J-Y, Qiao C. Clinical Manifestation of Calreticulin Gene Mutations in Essential Thrombocythemia without Janus Kinase 2 and MPL Mutations: A Chinese Cohort Clinical Study. *Chin Med J (Engl)*. 2016 Aug;129(15):1778–83.
35. Chen C-C, Gau J-P, Chou H-J, You J-Y, Huang C-E, Chen Y-Y, et al. Frequencies, clinical characteristics, and outcome of somatic CALR mutations in JAK2-unmutated essential thrombocythemia. *Ann Hematol*. 2014 Dec;93(12):2029–36.

36. Ojeda MJ, Bragos IM, Calvo KL, Williams GM, Carbonell MM, Pratti AF. CALR, JAK2 and MPL mutation status in Argentinean patients with BCR-ABL1-negative myeloproliferative neoplasms. *Hematology*. 2018 May;23(4):208–11.
37. . Grupo Banco mundial: Gasto en investigación y desarrollo (% del PIB) [internet]. n.d [consultado 10 de julio 2018]. Disponible en:[https://datos.bancomundial.org/indicador/GB.XPD.RSDV.GD.ZS?view=map&year\\_high\\_desc=false](https://datos.bancomundial.org/indicador/GB.XPD.RSDV.GD.ZS?view=map&year_high_desc=false).