

Metaanálisis de la frecuencia de JAK2 en mielofibrosis primaria según la técnica de detección

Meta-analysis of the frequency of JAK2 in primary myelofibrosis according to the detection method used

MÓNICA MEJÍA-OCHOA, PAOLA ANDREA ACEVEDO-TORO, JAIBERTH ANTONIO CARDONA-ARIAS
• MEDELLÍN (COLOMBIA)

DOI: <https://doi.org/10.36104/amc.2020.1462>

Resumen

Antecedentes y objetivo: en la literatura científica mundial la frecuencia de JAK2 presenta una alta heterogeneidad en las neoplasias mieloproliferativas crónicas. El objetivo de esta investigación fue analizar la prevalencia de la mutación JAK2 en mielofibrosis Primaria (MFP) y compararla según la técnica de detección en los años 2007-2018.

Material y métodos: revisión sistemática con metaanálisis, 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 metaanálisis para la prevalencia de la mutación con su intervalo de confianza de 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 JAK2 con esta técnica oscilaron entre 33.3 y 71.4%; con PCR en tiempo real entre 42.9 y 77.3%, con secuenciación de 14.3-57.4% y en ARMS de 36.4-83.3%. La prevalencia de 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 evidencia que el diagnóstico de esta entidad no debe realizarse únicamente por características clínicas y hematológicas sino también por la tamización genética de los pacientes. (*Acta Med Colomb* 2020; 45. DOI: <https://doi.org/10.36104/amc.2020.1462>).

Palabras clave: *prevalencia; mutación; JAK2; mielofibrosis primaria; metaanálisis.*

Abstract

Background and objective: in the global scientific literature, the frequency of JAK2 is highly heterogeneous in chronic myeloproliferative neoplasms. The objective of this study was to analyze the prevalence of the JAK2 mutation in primary myelofibrosis (PMF) and compare it according to the detection method used, from 2007-2018.

Materials and methods: a systematic review with meta-analysis, using 21 searches in three multidisciplinary databases. The PRISMA guideline phases of identification, screening, selection and inclusion were applied. Reproducibility and evaluation of the methodological quality were ensured. The analyses were based on frequencies and meta-analysis for the prevalence of the mutation with its 95% confidence interval.

Results: twenty-nine studies with 744 patients were included, mainly from Korea, Brazil and China. The most commonly used technique was AS-PCR, and the prevalence of JAK2 with this technique ranged from 33.3 to 71.4%; with real-time PCR ranging from 42.9 to 77.3%, sequencing

Dra. Mónica Mejía-Ochoa: Bacterióloga, MSc(C) Microbiología y Bioanálisis-Énfasis Hematología. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular, Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia; Dra. Paola Andrea Acevedo-Toro: Microbióloga y Bioanalista, MSc Ciencias Básicas Biomédicas. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular, Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia; Dr. Jaiberth Antonio Cardona-Arias: MyB, MSc Epidemiología, MSc Economía Aplicada, PhD (candidato) Salud Pública. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Facultad de Medicina Universidad Cooperativa de Colombia. Medellín (Colombia).
Correspondencia: Dr. Jaiberth Antonio Cardona-Arias. Medellín (Colombia).
E-mail jaiberthcardona@gmail.com
Recibido: 30/VIII/2019 Aceptado: 07/X/2020

from 14.3-57.4%, and ARMS from 36.4-83.3%. The prevalence of JAK2 showed no statistically significant differences according to the type of diagnostic test used.

Conclusion: high frequencies of the JAK2V617F mutation are seen in PMF, which shows that this entity should not be diagnosed solely based on clinical and hematological characteristics, but also on the patients' genetic screening. (*Acta Med Colomb* 2020; 45. DOI: <https://doi.org/10.36104/amc.2020.1462>).

Key words: prevalence; mutation; JAK2; 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 subclasificado en estado prefibrótico y fibrótico, dada la necesidad de diferenciarla de trombocitemia esencial. La incidencia anual estimada para esta enfermedad es 0.5-1.5 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” y “otras mutaciones”, 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 quinasa que participa en la vía de señalización JAK-STAT la cual regula diferentes procesos celulares como proliferación, diferenciación y apoptosis (5,6). La 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 JAK2 en MFP, 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 de 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 metaanalizar la prevalencia de la mutación JAK2 en MFP y compararla según la técnica de detección.

Material y métodos

Tipo de estudio: revisión sistemática de la literatura con metaanálisis 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*), cuyos criterios fueron aplicados por dos investigadores, con el fin de garantizar la reproducibilidad de esta fase.

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 metaanálisis de medidas indirectas según la técnica de detección (comparación de la prevalencia de la mutación según la técnica diagnóstica, pero a partir de estudios primarios que no hacen tal comparación, sino que reportaron la prevalencia de manera independiente por cada prueba de detección analizada), mediante la estimación de proporciones con su intervalo de confianza de 95% y Prueba Z (intervalos de confianza para la diferencia de proporciones).

Resultados

Se obtuvo un total de 12 845 estudios sin la aplicación de límites, los cuales se restringen a 1909 resultados con la búsqueda en título, resumen, palabra clave; se eliminaron 253 artículos duplicados, 1482 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).

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).

Todos los estudios presentaron excelente calidad metodológica, dado que cumplieron con más de 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).

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 de 14.3-57.4% y en ARMS de 36.4-83.3% (Figura 3). Dos estudios que utilizaron PCR-RFLP reportaron prevalencia

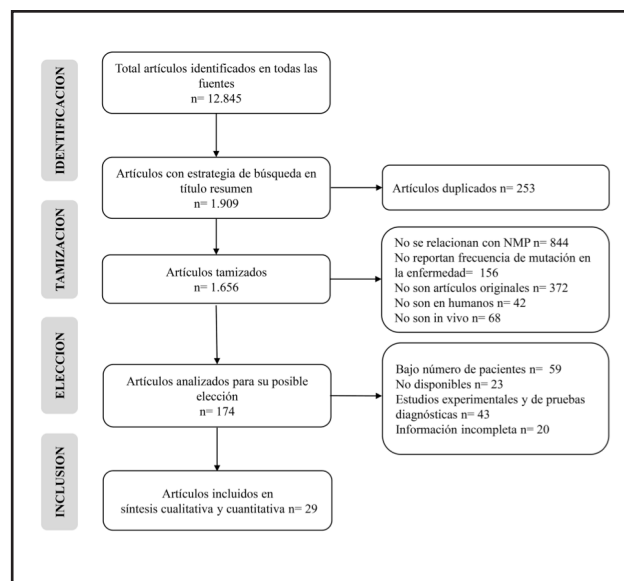


Figura 1. Flujograma de búsqueda y selección de estudios.

de 72.7 y 40% (32,32), en el estudio de Takata con SNP fue 36.4%, Vytrva con DHPLC 63.6%, Wu Z con HRM 58.0% y Misawa con ABC-PCR 53.8% (34-37).

Criterios de la guía STROBE	Estudios que cumplen (%)
Título y resumen	100
Introducción	
Fundamentación	100
Objetivo	100
Métodos	
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
Resultados	
Participantes	100
Datos descriptivos	100
Datos del desenlace central	100
Resultados principales según el objetivo	100
Análisis adicionales	45
Discusión	
Resultados clave	97
Limitaciones	34
Interpretación de resultados	97
Generalización de resultados	10
Financiación del estudio	62

Figura 2. Evaluación de la calidad metodológica de los estudios.

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

Autor	Año	País	Edad	Criterio diagnóstico
AS-PCR				
Speletas M (11)	2007	Grecia	61.0 ^a	Criterios Italianos para el diagnóstico
Lucia E (12)	2008	Italia	Sin dato	OMS 2001
Pardanani A (13)	2008	Estados Unidos	58.0 ^a	OMS 2001
Xu W (14)	2008	China	48.0 ^b	OMS 2001
Bang S (15)	2009	Corea	Sin dato	OMS 2001
Medinger M (16)	2009	Suiza	54.0 ^a	No especifica
Kim JT (17)	2010	Corea	58.3 ^b	OMS 2008
Benmoussa A (18)	2011	Marruecos	56.83 ^a	No especifica
Vadikolia CM (19)	2011	Grecia	66.5 ^a	OMS 2008
Ha J (20)	2012	Corea	67.3 ^a	OMS 2008
Zhang XY (21)	2012	China	Sin dato	No especifica
PCR tiempo real				
Boveri E (22)	2008	Italia	58.0 ^a	OMS 2001
Dos Santos L (23)	2011	Brasil	59.3 ^a	OMS 2008
Payzin KB (24)	2014	Turquía	62.8 ^a	OMS 2008
Azevedo AP (25)	2017	Portugal	Sin dato	OMS 2008
Secuenciación				
Jaradat SA (7)	2015	Jordania	Sin dato a	No especifica
Kim S (26)	2015	Corea	61.5 ^a	OMS 2008
Lekovic D (27)	2017	Serbia	62.0 ^a	OMS 2008
ARMS				
Trifa AP (28)	2010	Rumania	> 60.0 ^a	OMS 2001
Park SH (9)	2013	Corea	62.0 ^a	Expertos (histopatología)
Borowczyk M (29)	2015	Polonia	56.0 ^a	OMS 2008
Ojeda MJ (30)	2018	Argentina	Sin dato	OMS 2008
PCR-RFLP				
da Silva R (31)	2012	Brasil	Sin dato	Diagnóstico clínico
Didone A (32)	2016	Brasil	62.3 ^b	OMS 2008
Otras				
Tefferi A (RT-PCR) (33)	2009	Estados Unidos	50.5 ^a	OMS 2001
Takata Y (SNP) (34)	2014	Japón	69.3 ^a	OMS 2008
Vytrva N (DHPLC) (35)	2014	Austria	72.9 ^a	OMS 2001
Wu Z (HRM) (36)	2014	China	Sin dato	OMS 2008
Misawa K (ABC-PCR) (37)	2018	Japón	60.0 ^a	OMS 2008

^a Edad media de pacientes con MFP. ^b Edad media de pacientes con NMPC sin explicitar el de MFP.

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 analiza-

dos 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 β alto demostrando la necesidad de aumentar el número de investigaciones y de pacientes por estudio en esta enfermedad.

Discusión

Los resultados de esta revisión con 29 estudios y 744 pacientes evidencian que la principal técnica empleada fue AS-PCR, las prevalencias de JAK2 con esta técnica oscilaron entre 33.3 y 71.4%; con PCR en tiempo real entre 42.9 y 77.3%, con secuenciación de 14.3-57.4% y en ARMS de 36.4-83.3%.

La mayoría de estudios se realizaron en Corea, Brasil y China, países con partidas presupuestales importantes en políticas de desarrollo e investigación (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 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 criterios 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 bajo 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

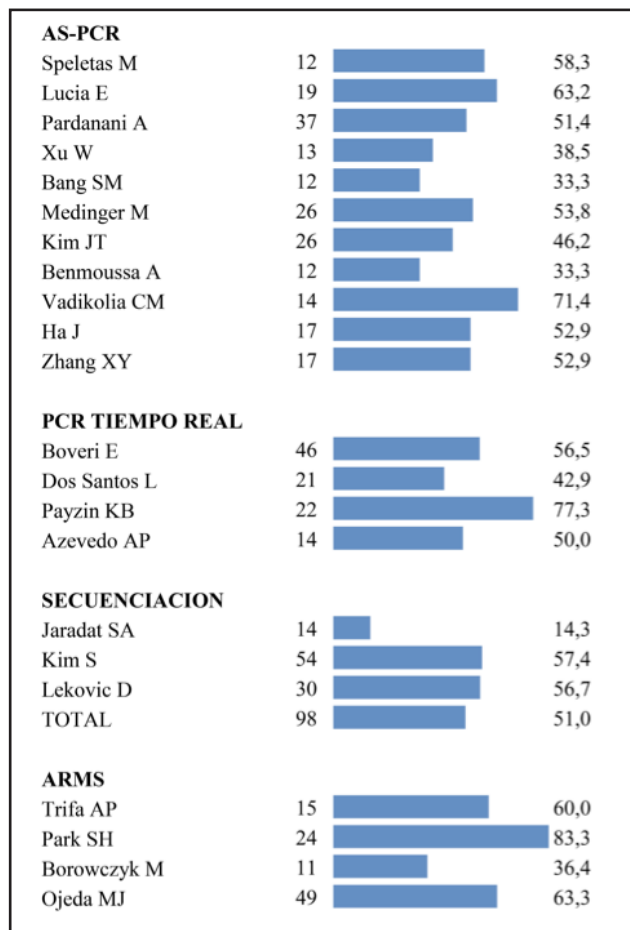


Figura 3. Prevalencia de JAK2 en los estudios que utilizaron PCR, secuenciación y ARMS.

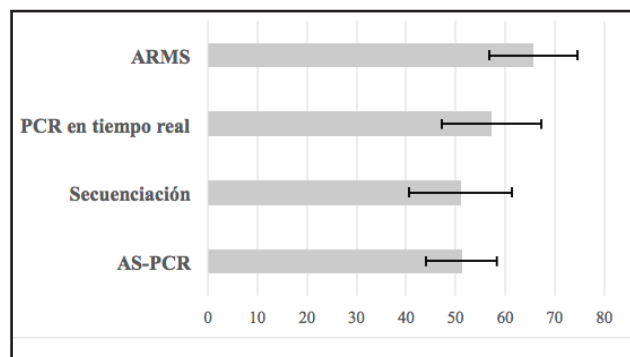


Figura 4. Metaanálisis de medidas indirectas para la prevalencia de JAK2 según el uso de PCR, secuenciación y ARMS.

activa de casos a nivel mundial (46). Esta situación podría mejorarse con el desarrollo de estudios multicéntricos que permiten 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). 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* (48).

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 (49).

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.

Entre las limitaciones del presente estudio se encuentra el bajo tamaño de muestra de los estudios incluidos, lo que demuestra la necesidad de desarrollar nuevas investigaciones en el tema; además, por el número de estudios y pacientes en cada técnica no se desarrolló un meta-análisis con robustez en la evaluación estadística de la heterogeneidad, el sesgo de publicación o la sensibilidad de las medidas de resumen; esto podría guardar relación con las restricciones de idioma utilizados y las estrategias de búsqueda en cada fuente consultada. En este orden de ideas, estudios posteriores deberían mejorar la exhaustividad de selección de artículos en este campo mediante el aumento de los idiomas de búsqueda, ampliar el número de términos, de fuentes consultadas, entre otras estrategias que minimicen potenciales sesgos de selección.

Respecto a las técnicas empleadas en los diferentes estudios, 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 (50).

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.

Referencias

- 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.
- Swerdlow S, Campo E, Harris N et al. World Health Organization Classification of Tumours of haematopoietic and lymphoid Tissues. 2017
- Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2016;**91**(12):1262–71.
- Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017;**129**(6):667–79.
- 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.
- Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly B, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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).
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

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, Ozdemir Kiran 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-Kopydłowska 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.
39. Abello V, Quintero G, Espinosa D, Solano M, Casas C, D Saavedra. Descripción de las características clínicas de las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC) Descripción de las características de las neoplasias mieloproliferativas crónicas (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'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.
47. Little S. Amplification-refractory mutation system (ARMS) analysis of point mutations. *Curr Protoc Hum Genet*. 2001; Chapter 9:Unit 9.8.
48. 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.
49. Tipu HN, Shabbir A. Evolution of DNA sequencing. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2015 ;**25**(3):210–5.
50. 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

