

## Primer consenso interinstitucional de neoplasias mieloproliferativas crónicas

Raúl Martínez-Castro<sup>1</sup>, Gilberto Barranco-Lampón<sup>2,3</sup>, Luara Arana-Luna<sup>4</sup>, José L. Álvarez-Vera<sup>4</sup>, Flavio Rojas-Castillejos<sup>5</sup>, Rosalinda Peñaloza-Ramírez<sup>6</sup>, Adrián A. Carballo-Zarate<sup>7</sup>, Irma Olarte-Carrillo<sup>1,8</sup>, Jaime Israel-García Minamy<sup>4</sup>, Javier López-Salazar<sup>4</sup>, Juan J. Navarrete<sup>9</sup>, Arturo Espinosa-Partida<sup>10</sup>, Yanet Ventura-Enríquez<sup>11,12</sup>, Josué I. Ruiz-Contreras<sup>4</sup>, Oyuky G. Aguirre-Reyes<sup>13</sup>, Irene Anaya-Cuéllar<sup>14</sup>, Jocelyn Aguilar-Luévano<sup>15</sup>, Hugo F. Díaz-Ramírez<sup>4</sup>, Wilfrido Herrera-Olivares<sup>16</sup>, José A. Aguilar-Hidalgo<sup>4</sup>, Luisa Ma. Alcívar-Cedeño<sup>17</sup>, Álvaro Hernández-Caballero<sup>18</sup>, Lourdes Elena Galaz-Cordero<sup>4</sup>, José A. de la Peña-Celaya<sup>4</sup>, Pamela Elena Báez-Islas<sup>19</sup>, Ramón A. Bates-Martín<sup>20</sup>, Ana Ma. de la Luz Cano-León<sup>21</sup>, Ma. Eugenia Espitia-Ríos<sup>4</sup>, Diego Barbosa<sup>4</sup>, Javier Morales-Adrián<sup>22</sup>, Martín J. Pacheco<sup>4</sup>, Nancy Delgado-López<sup>3</sup>, Yvette Neme-Yunes<sup>23</sup>, Alba E. Morales-Hernández<sup>25</sup>, Aldo Mújica-Martínez<sup>12</sup>, Alejandra B. Pérez-Lizardi<sup>3</sup>, Karen D. Pérez-Gómez<sup>25</sup>, Gabriel Barragán-Ibáñez<sup>26</sup>, Adolfo Martínez<sup>27</sup>, Karen Flores-Ordúñez<sup>28</sup>, Paulina Ramírez-Hoyos<sup>29</sup>, Ma. de los Ángeles Rosales-López<sup>4</sup>, Brenda L. Acosta-Maldonado<sup>30</sup>, Marco A. Jiménez-Ochoa<sup>31</sup>, Katheryn B. Garzón-Velásquez<sup>32</sup>, Eleazar Hernández-Ruiz<sup>4</sup>, Bosco M. McNally-Guillén<sup>33</sup>, Erick E. Saucedo-Montes<sup>34</sup>, Carolina Aguilar-Andrade<sup>35,36</sup>, Cindy L. Vivas-Arteaga<sup>4</sup>, Lidia V. Guerra-Alarcón<sup>37</sup>, Andrea I. Milán-Salvatierra<sup>38</sup>, Dafne I. Campa-Monroy<sup>3</sup>, Xóchitl Cota-Range<sup>39</sup>, Patricia Estrada-Domínguez<sup>25</sup>, Alinka S. García-Camacho<sup>3,40</sup>, Carolina García-Castillo<sup>41</sup>, Luisa I. Banda-García<sup>41</sup>, Vania Rodríguez-Sánchez<sup>4</sup>, Luis A. Meillón-García<sup>22</sup>, Elizabeth Urbina-Escalante<sup>3</sup>, Mario A. Martínez-Ramírez<sup>42</sup>, Sergio J. Loera-Fragoso<sup>43</sup>, Jorge Martínez-Corona<sup>44</sup>, Nidia Zapata-Canto<sup>2,45</sup>, Sue C. Gómez-Cortés<sup>3</sup>, Jesús E. Medina-Coral<sup>46</sup>, Liliana Mojica-Balderas<sup>47</sup>, Juan M. Pérez-Zúñiga<sup>4</sup>, Fernando J. Pérez<sup>48</sup>, José L. López-Arroyo<sup>40</sup>, Juan F. Zazueta-Pozos<sup>1</sup>, Eduardo Romero-Martínez<sup>49</sup>, Hilda Romero-Rodelo<sup>50</sup>, Ana L. Tapia-Enríquez<sup>14</sup>, Emely J. Soriano-Mercedes<sup>4</sup>, Óscar Salazar-Ramírez<sup>51</sup>, Shendel Paulina Vilchis-González<sup>52</sup>, Fredy Tepepa-Flores<sup>4</sup> y Martha Alvarado-Ibarra<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hematología, Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, Ciudad de México, México; <sup>2</sup>Servicio de Hematología, Hospital General de México, Ciudad de México, México; <sup>3</sup>Servicio de Hematología, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México; <sup>4</sup>Servicio de Hematología, Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Ciudad de México, México; <sup>5</sup>Servicio de Hematología, Hospital General de Zona No. 2, Instituto Mexicano del Seguro Social, Salina Cruz, Oax., México; <sup>6</sup>Servicio de Hematopatología, Hospital de Alta Especialidad de Oaxaca, Oaxaca, Oax., México; <sup>7</sup>Servicio de Hematopatología, Hospital Español de México, Ciudad de México, México; <sup>8</sup>Biología molecular, Hospital General de México, Ciudad de México, México; <sup>9</sup>Servicio de Hematopatología, Hospital General de México, Ciudad de México, México; <sup>10</sup>Servicio de Hematología, Hospital General Belisario Domínguez, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Tuxtla Gutiérrez, Chis., México; <sup>11</sup>Banco de Sangre, Hospital Centro Médico Naval, Ciudad de México, México; <sup>12</sup>Servicio de Hematología, Hospital Centro Médico Naval, Ciudad de México, México; <sup>13</sup>Servicio de Hematología, Instituto Mexicano del Seguro Social Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, Chih., México; <sup>14</sup>Servicio de Hematología, Hospital General Presidente Lázaro Cárdenas, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Chihuahua, Chih., México; <sup>15</sup>Servicio de Hematología, Hospital H+ Querétaro, Querétaro, Qro., México; <sup>16</sup>Servicio de Hematología, Hospital Regional de Puebla, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Puebla, Pue., México; <sup>17</sup>Servicio de Hematología, Grupo Médico Móvil, Manabí, Ecuador;

### \*Correspondencia:

Martha Alvarado-Ibarra

E-mail: normoblasto@gmail.com

0016-3813/© 2022 Academia Nacional de Medicina de México, A.C. Publicado por Permanyer. Este es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 04-05-2022

Fecha de aceptación: 09-05-2022

DOI: 10.24875/GMM.M22000663

Gac Med Mex. 2022;158(Supl 3):1-10

Disponible en PubMed

[www.gacetamedicademexico.com](http://www.gacetamedicademexico.com)

<sup>18</sup>Servicio de Hematología, Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional La Raza, Ciudad de México, México; <sup>19</sup>Servicio de Hematología, Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital de Zona No. 14, Hermosillo, Son., México; <sup>20</sup>Servicio de Hematología, Hospital Regional 1 de Octubre, Ciudad de México, México; <sup>21</sup>Servicio de Hematología, Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital General Regional No. 1, Querétaro, Qro., México; <sup>22</sup>Servicio de Hematología, Hospital Regional de Mérida, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Mérida, Yuc., México; <sup>23</sup>Servicio de Hematología, Centro Médico ABC, Ciudad de México, México; <sup>24</sup>Servicio de Hematología, Hospital General de Zona No. 27, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México, México; <sup>25</sup>Servicio de Hematología, Hospital Instituto Mexicano del Seguro Social Chihuahua, Hospital General de Zona No. 1, Chihuahua Chih., México; <sup>26</sup>Servicio de Hematología del Hospital Regional de Alta Especialidad de Oaxaca, Oaxaca, México; <sup>27</sup>Laboratorio de Hematología, Hospital General de México, Ciudad de México, México; <sup>28</sup>Servicio de Hematología, Hospital General de Zona No. 24, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México, México; <sup>29</sup>Medicina Interna, Hospital Español de México, Ciudad de México, México; <sup>30</sup>Unidad de trasplante de médula ósea, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México; <sup>31</sup>Unidad de trasplante de médula ósea, Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, Ciudad de México, México; <sup>32</sup>Medicina transfusional, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México; <sup>33</sup>Servicio de Hematología, Trasplante de médula ósea, Centro Médico de Especialidades, Ciudad Juárez, Chih., México; <sup>34</sup>Banco de Sangre, Hospital General Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado Tampico, Tampico, Tamps., México; <sup>35</sup>Banco de Sangre, Instituto Nacional de Cardiología, Ciudad de México, México; <sup>36</sup>Hospitalización, Instituto Mexicano del Seguro Social Carlos MacGregor, Ciudad de México, México; <sup>37</sup>Servicio de Hematología, Grupo CREHO, Guatemala, Guatemala; <sup>38</sup>Servicio de Hematología, Hospital Juárez de México, Ciudad de México, México; <sup>39</sup>Servicio de Hematología, San Telmo Medical Center, Aguascalientes, Ags., México; <sup>40</sup>Servicio de Hematología, Oncología Integral Satélite, Estado de México, México; <sup>41</sup>Servicio de Hematología, Hospital Central Militar, SEDENA, Ciudad de México, México; <sup>42</sup>Servicio de Hematología, Hospital Regional B, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado Veracruz, Ver., México; <sup>43</sup>Servicio de Hematología, Hospital Santiago Ramon y Cajal de Durango, Durango, Dgo., México; <sup>44</sup>Servicio de Hematología, Hospital Regional Valentín Gómez Farías, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Guadalajara, Jal., México; <sup>45</sup>Servicio de Hematología, Médica Sur, Ciudad de México, México; <sup>46</sup>Servicio de Hematología, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado Dr. Manuel Cárdenas de la Vega, Culiacán, Sin., México; <sup>47</sup>Servicio de Hematología, Hospital Universitario Martín Dockweiler, Santa Cruz, Bolivia; <sup>48</sup>Servicio de Hematología, Hospital Central Norte, PEMEX, Ciudad de México, México; <sup>49</sup>Servicio de Hematología, C.H. 5 de Diciembre, Mexicali, B.C., México; <sup>50</sup>Servicio de Hematología, Hospital Fray Junípero Serra, Tijuana, B.C., México; <sup>51</sup>Servicio de Hematología, Hospital General Dr. Darío Fernández Fierro, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Ciudad de México, México; <sup>52</sup>Servicio de Hematología, Hospital General Regional No. 2, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México, México

## Resumen

**Objetivo:** El objetivo del consenso es poner a disposición de los profesionales de las diferentes instituciones de salud pública en nuestro país, quienes se encuentran a cargo de estas enfermedades, la información más relevante y actualizada acerca de su diagnóstico y tratamiento en la práctica clínica. Con este consenso interinstitucional esperamos contribuir a mejorar la calidad de la atención de los pacientes con neoplasias mieloproliferativas crónicas a todo lo ancho y largo de la República Mexicana, con el fin de unificar criterios tanto en diagnóstico como en tratamiento de las diferentes enfermedades mieloproliferativas.

**PALABRAS CLAVE:** Neoplasia mieloproliferativa. Consenso. Diagnóstico.

## First inter-institutional consensus on chronic myeloproliferative neoplasms

### Abstract

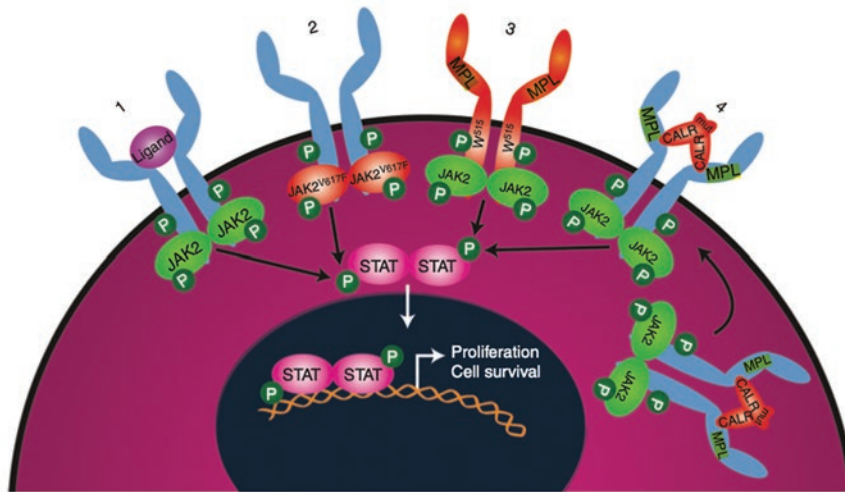
The objective of the consensus is to make available to the professionals of the different public health institutions in our country, who are in charge of these diseases, the most relevant and up-to-date information about their diagnosis and treatment in clinical practice. With this inter-institutional consensus we hope to contribute to improving the quality of care for patients with chronic myeloproliferative neoplasms throughout the Mexican Republic, in order to unify criteria in both diagnosis and treatment of the different myeloproliferative diseases.

**KEYWORDS:** Myeloproliferative neoplasm. Consensus. Diagnosis.

### Definición

Las neoplasias mieloproliferativas (NMP) crónicas son trastornos clonales crónicos de la hematopoyesis, caracterizados por la proliferación en la médula ósea de una o más de las líneas celulares, incluyendo la

proliferación eritroide, mieloide y megacariocítica, lo cual conlleva un incremento de células maduras en sangre periférica (SP). Las más relevantes en la práctica clínica son la leucemia mieloide crónica BCR-ABL 1 positivo y las NMP crónicas cromosoma Filadelfia (Ph) negativas clásicas<sup>1</sup>.



**Figura 1.** Las mutaciones de la vía de señalización JAK-STAT son suficientes para causar neoplasias mieloproliferativas. Normalmente, la señalización de JAK-STAT es activada por la unión del ligando a receptores de citocinas tipo 1, incluyendo MPL (receptor de la trombopoyetina), el receptor de la eritropoyetina (EPO) y el receptor del factor estimulante de colonias de granulocitos. En la situación 3 se muestra que la mutación de MPL en la posición W515 activa la vía de señalización JAK-STAT<sup>2</sup>.

**Tabla 1.** Mutaciones y mecanismos implicados en las neoplasias mieloproliferativas (NMP)

Función	Gen	Localización cromosómica	Proteína	Tipo de mutaciones	Frecuencia de mutaciones en NMP (%)			Impacto pronóstico
					PV	TE	MF	
Señalización intracelular	JAK2	9p24	JAK2	V617F (exón 14)	95-97	50-60	50-60	La alta carga alélica se asocia a un mayor riesgo de trombosis y fibrosis
				Exón 12	1-2			
	CALR	19p13.3-p13.2	Calreticulina	Inserciones y deleciones exón 9	Infrecuente	15-30	23-35	Favorable
	MPL	1p34	Receptor TPO	Exón 10: W515K/L/A	Infrecuente	3-5	5-10	Mayor riesgo de trombosis y fibrosis
Regulación epigenética	TET2	4q24	TET2	Mutaciones inactivantes	10-20	10-15	10-20	No concluyente
	IDH1/ IDH2	2q34/15q26	IDH1/2	Frecuentemente IDH1-R132 o IDH2-R140	Infrecuente	Infrecuente	3-6	Supervivencia global más corta
	DNMT3A	2p23	DNMT3A	Mutaciones inactivas	1-5	1-5	5-15	Transformación leucémica
	ASXL1	20q11	ASXL1	Mutaciones inactivas	2-5	2-5	13-25	Aumenta el riesgo de fibrosis y transformación leucémica. Supervivencia más corta
	EZH2	7q36	EXH2	Mutaciones inactivas	1-3	1	5-10	Aumenta el riesgo de fibrosis y transformación leucémica. Supervivencia más corta

Adaptada de referencia <sup>24</sup>.

Las NMP comprenden a la leucemia mieloide crónica BCR-ABL 1 positivo (LMC), policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE) y mielofibrosis primaria (MFP).

La clasificación actual más aceptada es la de la Organización Mundial de la Salud (OMS) con revisión en 2016, basada en criterios clínicos, histológicos y moleculares que se detallan a continuación<sup>1</sup>.

## Clasificación de las neoplasias mieloproliferativas crónicas

- Leucemia mieloide crónica (LMC) BCR-ABL 1 positivo.
  - NMP crónicas Ph negativas clásicas:
    - Policitemia vera (PV).
    - Trombocitemia esencial (TE).
    - Mielofibrosis primaria (MFP), la cual comprende:
      - Mielofibrosis primaria en fase inicial/prefibrótica.
      - Mielofibrosis primaria en fase de fibrosis establecida.
  - NMP crónicas poco frecuentes o no clásicas:
    - Leucemia neutrofílica crónica.
    - Leucemia eosinofílica crónica.
    - Neoplasia mieloproliferativa no clasificable.
- Otras neoplasias mieloides que tener en cuenta en el diagnóstico diferencial son:
- Mastocitosis.
  - Neoplasias mieloides/linfoides con eosinofilia y reordenamientos genéticos PDGFRA, PDGFRB, FGFR1 o PCM1-JAK2.
  - Neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas, especialmente la leucemia mielomonocítica crónica y la neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa con sideroblastos en anillo y trombocitosis.
  - Síndromes mielodisplásicos, en especial aquellos con fibrosis medular.
  - Leucemias agudas, en particular la panmielosis aguda con mielofibrosis.

El descubrir que las NMP clásicas Ph negativas presentan varias anomalías moleculares (incluida la JAK2 mutación V617F) abrió varios horizontes en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de dichos trastornos<sup>1</sup>.

## Aspectos moleculares de las neoplasias mieloproliferativas crónicas

### Mutaciones conductuales o driver

Las NMP Ph negativas se caracterizan por la presencia de alteraciones moleculares conductoras o *driver*

de la enfermedad. Están implicadas en el desarrollo del fenotipo mieloproliferativo que afectan a la vías de señalización JAK-STAT y a los receptores de crecimiento celular hematopoyético. Estas mutaciones afectan a los genes de la Janus cinasa 2 (*JAK2*), de la calreticulina (*CALR*) y *MPL* y su presencia se ha incorporado como criterio diagnóstico de estas entidades<sup>2</sup>.

### Mutaciones en el gen *JAK2*: mutación *v617f* y mutaciones en el exón 12

En el año 2005 se describió la presencia de la mutación V617F en el gen *JAK2* en los pacientes con NMP. El gen *JAK2* codifica la proteína JAK2, una cinasa que forma parte de la vía de transducción de señales JAK-STAT que utilizan los receptores de citocinas tipo I, como el receptor de la EPO, G-CSF, GM-CSF o TPO. La mutación JAK2 V617F consiste en el cambio de una guanina por una timidina en el nucleótido 1849 (c.1849 G>T) que está localizado en el exón 14 del gen *JAK2*. Esta alteración afecta al aminoácido 617 que se encuentra en el dominio pseudocinasa JH2 y produce un cambio de valina (V) por fenilalanina (F). Como consecuencia de este cambio se pierde la actividad inhibitoria del dominio JH2 sobre el dominio cinasa y se produce una activación constitutiva de la proteína JAK2, en ausencia de la unión del ligando al receptor hematopoyético. En definitiva, se trata de una mutación que provoca una ganancia de función, es decir, una activación permanente de esta vía de transducción de señales, y se considera una mutación conductora (*driver*) de estas entidades (Fig. 1)<sup>2</sup>.

La mutación JAK2 V617F se detecta en el 90-95% de pacientes con PV, el 60% de pacientes con TE y el 60% de pacientes con MFP (Tabla 1). La presencia de la mutación JAK2 V617F fue incorporada por la OMS en 2008 como criterio diagnóstico mayor en estas tres entidades y se ha mantenido en la revisión publicada en 2016<sup>1,2</sup>.

Aparte de la mutación JAK2 V617F localizada en el exón 14 del gen, se han descrito mutaciones en el exón 12 de *JAK2* en casos de PV y eritrocitosis idiopática negativas para JAK2 V617F. Su frecuencia se estima en un 2-3% del total de pacientes con PV. Estas mutaciones consisten en cambios puntuales, deleciones o inserciones que afectan a la zona de unión entre los dominios SH2 y JH2, y producen un efecto similar al de la mutación V617F. Los pacientes con mutaciones en el exón 12 de *JAK2* presentan un fenotipo más eritroide, con un curso clínico similar al de los pacientes con la mutación JAK2 V617F<sup>2,3</sup>.

## IMPLICACIÓN CLÍNICA DE LAS MUTACIONES EN JAK2

La presencia de la mutación JAK2 V617F no permite discriminar entre las distintas NPMC (PV vs. TE vs. MFP), requiriéndose además criterios diagnósticos clínicos, de laboratorio e histológicos para su clasificación. La ausencia de este marcador molecular no excluye el diagnóstico de PV, TE ni MFP, aunque en el caso de la PV la negatividad es poco probable. Esta mutación no afecta la supervivencia ni aumenta el riesgo de transformación leucémica en PV ni TE. En TE su presencia se asocia con un aumento del riesgo de trombosis arterial. En general la mutación JAK2 V617F se relaciona con edades mayores de presentación, niveles mayores de hemoglobina (Hb), leucocitosis y menor recuento plaquetario. Una carga alélica de JAK2 V617F mayor al 50% en PV se asocia a mayor transformación fibrótica, mientras que en pacientes con MFP, niveles bajos son de mal pronóstico<sup>3</sup>.

La mutación en el exón 12 se relaciona con mielopoyesis predominantemente eritroide, niveles de eritropoyetina sérica subnormales y menor edad al diagnóstico, pero en cuanto a pronóstico es similar a la mutación del exón 14<sup>2,3</sup>.

## METODOLOGÍA DE ESTUDIO DE LA MUTACIÓN JAK2 V617F

La detección de la mutación JAK2 V617F puede realizarse en SP o médula ósea (MO) mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), como PCR aleloespecífica o RFLP (polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción), mediante secuenciación de ADN o bien mediante Cast-PCR (*competitive allele-specific TaqMan PCR*)<sup>4</sup>.

La determinación de la carga alélica se encuentra aún poco estandarizada, efectuándose en la mayoría de los casos mediante PCR en tiempo real, a partir de ADN genómico de granulocitos. Se evalúa el porcentaje del alelo JAK2 V617F en relación con el total de copias del gen JAK2. La utilidad de la medición de la carga alélica en la estratificación de los pacientes en grupos de riesgo y el manejo terapéutico aún no ha sido definida<sup>3,4</sup>.

## Mutaciones en el gen CALR

A finales de 2013 se describieron mutaciones en el gen CALR, que codifica la proteína calreticulina. Esta

**Tabla 2. Recomendaciones para el diagnóstico molecular de las neoplasias mieloproliferativas (NMP)**

Determinación de JAK2V617F
– Todos los casos con sospecha de NMP
– Un resultado positivo confirma el diagnóstico de NMP, pero no informa el subtipo
– Un resultado negativo no excluye el diagnóstico de una NMP
Estudio de mutaciones exón 12 JAK2
– Solo en los casos JAK2V617F negativos con sospecha clínica de PV
Estudio de mutaciones exón 9 CALR
– Solo en los casos JAK2V617F negativos con sospecha clínica de MFP o TE
Estudio de mutaciones exón 10 MPL
– Solo en los casos JAK2V617F negativos y CALR negativos con sospecha clínica de MFP o TE
Estudio de secuenciación masiva (NGS)
– Sospecha de PV y JAK2 no mutado por técnica convencional
– Sospecha de TE o MFP con JAK2, CALR y MPL no mutados por técnica convencional
– MFP en todos los casos como factor pronóstico

MFP: mielofibrosis primaria; TE: trombocitemia esencial; PV: policitemia vera.  
Adaptada de referencia<sup>4</sup>.

proteína se localiza en el retículo endoplasmático y regula el correcto plegamiento de las proteínas, así como diferentes procesos celulares, tales como la proliferación y la respuesta inmunitaria. Las mutaciones detectadas en CALR consisten en deleciones e inserciones que afectan al último exón del gen (exón 9) y que provocan un truncamiento prematuro de la proteína. Las mutaciones más frecuentes son: la mutación tipo 1, que consiste en una deleción de 52 pb (CALR c.1092\_1143del; p.L367fs\*46); y la mutación tipo 2, que consiste en una inserción de 5 pb (CALR c.1154\_1155insTTGTC; p.K385fs\*47). Estas dos mutaciones se detectan en más del 80% de los pacientes que presentan el gen CALR mutado<sup>5</sup>.

Las mutaciones de CALR se han descrito en el 25-30% de los pacientes con TE y MFP que no presentan mutaciones en el gen JAK2 ni en el gen MPL, con los que son mutuamente excluyentes. La detección de mutaciones en CALR es criterio diagnóstico mayor de TE y de MFP, según la última revisión de la OMS, publicada en 2016<sup>1,5</sup>.

## IMPLICACIÓN CLÍNICA DE LA MUTACIÓN EN CALR

La evolución clínica de los pacientes CALR-positivos sería más indolente que la de los pacientes con mutaciones en JAK2. En el caso de la TE, los pacientes

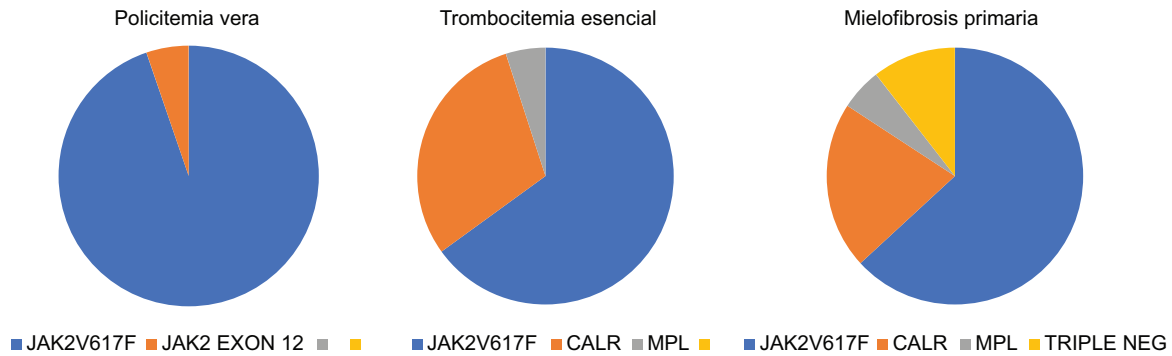


Figura 2. Frecuencia de las mutaciones JAK2V617F, exón 12 del JAK2, exón 10 del MPL y CALR en NMPC (adaptada de referencia<sup>23</sup>).

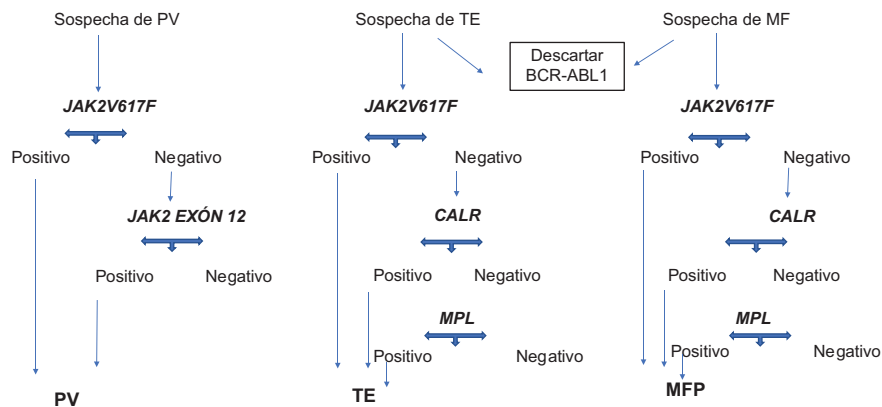


Figura 3. Algoritmo del estudio molecular de las neoplasias mieloproliferativas (adaptada de referencia<sup>24</sup>).

CALR-positivos presentan, respecto a los JAK2-positivos, cifras superiores de plaquetas e inferiores de leucocitos y Hb. La frecuencia de trombosis en este subgrupo es significativamente menor, mientras que existen datos controvertidos acerca de la evolución a MF post-TE. En el caso de la MFP, la positividad para CALR se asocia a menor probabilidad de presentar anemia, trombocitopenia, leucocitosis y menor requerimiento transfusional. Estos pacientes se incluyen en categorías DIPSS-plus inferiores a los que presentan la mutación JAK2 V617F, con una sobrevida más prolongada. Esta mejor sobrevida estaría restringida a los portadores de mutaciones CALR tipo 1, mientras que la sobrevida de pacientes con mutaciones CALR tipo 2 no difiere de aquella de los JAK2 positivos<sup>5,6</sup>.

### Mutaciones en MLP

Se han descrito varias mutaciones en las NMP más allá de JAK2 y CALR. Una pequeña proporción presenta mutaciones que afectan al gen que codifica el receptor

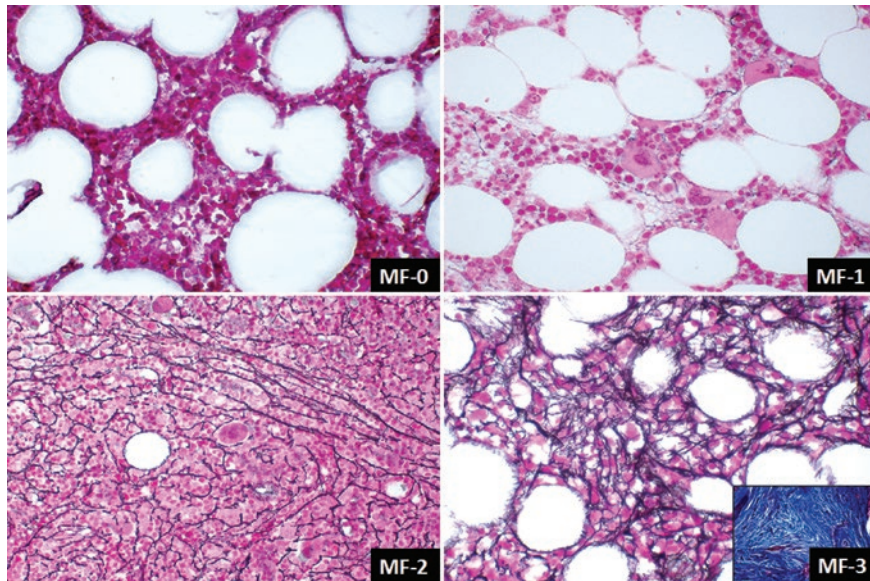
de la trombopoyetina, *MPL*, y provocan una ganancia de función mediante activación constitutiva de la vía de JAK-STAT independiente de citocinas y, con ello, la transducción de señales dependiente de este receptor<sup>7</sup> (Fig 1).

Estas mutaciones se producen principalmente en el exón 10 del gen. La mutación más frecuente es W515L, sin embargo, W515K, W515A, W515S y otras tal como S505N también han sido reportadas. Se han descrito en el 5% de MFP, en el 1-3% de TE y raramente en PV (< 1%)<sup>8</sup> (Tabla 2).

El análisis de las mutaciones en el exón 10 de *MPL* debe efectuarse para el diagnóstico de la TE y la MFP en los pacientes que no presentan ni la mutación JAK2 V617F, ni mutaciones en el gen *CALR*<sup>7,9</sup>.

### Pacientes triple negativos

Son aquellos negativos para las mutaciones en genes *driver* (*JAK2*, *CALR* y *MPL*). Los pacientes con MFP triple negativos constituyen, junto con los CALR-ASXL1 positivo, los subgrupos de peor pronóstico (Fig. 2)<sup>9</sup>.



**Figura 4.** Se muestran ejemplos de imágenes histológicas de los distintos grados de fibrosis. La fibrosis colagenosa se engloba también dentro de MF-3, como se muestra en el recuadro.

**Tabla 3.** Grados de la mielofibrosis adaptada de un consenso de expertos europeos

Grado	Descripción
MF-0	Líneas dispersas de retículo sin intersecciones ni entrecruzamientos Corresponde a médula ósea normal
MF-1	Redes no compactas de reticulina, con varios entrecruzamientos, especialmente en áreas perivasculares
MF-2	Incremento difuso y denso de las fibras de reticulina con extensos entrecruzamientos, ocasionalmente con focos de haces de colágeno u osteoesclerosis focal
MF-3	Incremento difuso y denso de las fibras de reticulina con abundantes entrecruzamientos con gruesas bandas de colágeno, asociados frecuentemente con osteoesclerosis significativa

Adaptada de Buhr et al., 2012<sup>10</sup>.

### Mutaciones cooperadoras

Se ha encontrado un gran número de otras mutaciones somáticas en pacientes con NMPC, pero su contribución a la patogénesis es en gran medida indefinida. Algunas de estas mutaciones pueden ser «impulsoras» del proceso maligno, mientras que otras pueden ser consecuencia de la inestabilidad genómica o estar relacionadas con la hematopoyesis clonal<sup>7</sup>.

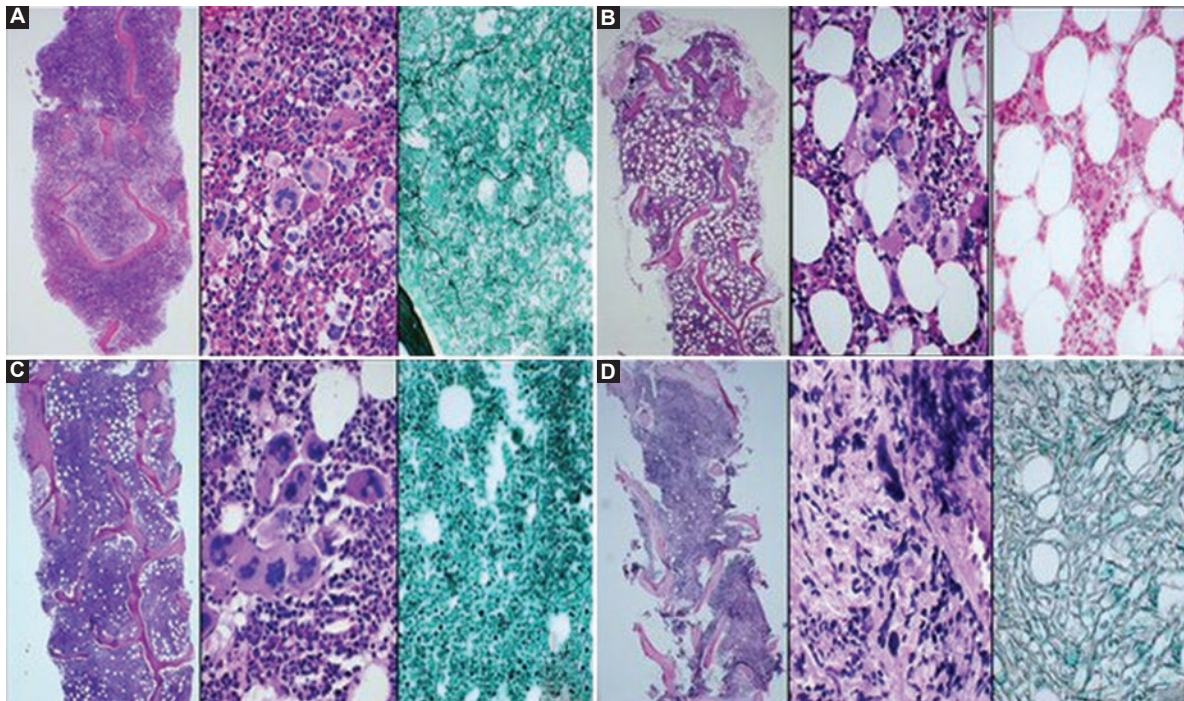
Las principales mutaciones en los reguladores epigenéticos son: TET2, IDH1/2, ASXL1, EZH2, DNMT3; de la maquinaria de *splicing* del ARN: SRSF2, U2AF1,

**Tabla 4.** Características histológicas que permiten diferenciar a las neoplasia mieloproliferativas

Diagnóstico	PV	TE	MFP-PRE	MFP-F	TR
Celularidad					
Hipercelular	+	-	+	+	-
Normocelular	-	+	-	-	+
Megacariocitos					
Hiperplasia	+	+	+	+	+
Formas gigantes	+	+	+/-	+/-	-
Hiperlobulados (astas de ciervo)	+	+	-	-	-
Hipercrómicos (nubarrón)	-	-	+	+	-
Formas pequeñas	-	-	-	+	-
Cúmulos ( <i>clusters</i> )	-	-	+	+/-	-
Serie mieloide					
Hiperplásica	+	-	+	+	-
Normal	-	+	-	-	+
Desviación a la izquierda	-	-	+/-	+/-	-
Serie eritroide					
Normal	-	+	+/-	+/-	+
Hiperplásica	+	-	-	-	-
Hipoplásica	-	-	-/+	+/-	-
Maduración megaloblástica	-	-	-/+	+/-	-
Grado de fibrosis					
MF-0/1	+	+	+	-	+
MF-2/3	-	-	-	+	-

MFP-PRE: mielofibrosis primaria prefibrótica; MFP-F: mielofibrosis primaria fibrótica; PV: policitemia vera; TE: trombocitemia esencial; TR: trombocitemia reactiva.

SF3B1; y de la regulación transcripcional: TP53, IKZF1, NF-E2, CUX1<sup>7</sup>. Estas mutaciones no son específicas



**Figura 5.** Se muestran ejemplos de los hallazgos patológicos en las neoplasias mieloproliferativas. **A:** policitemia vera, médula ósea notablemente hiper celular, con hiperplasia de las tres series hematopoyéticas y megacariocitos con núcleos hiperlobulados (astas de ciervo), la tinción de reticulina muestra un grado de fibrosis MF-1. **B:** trombocitemia esencial, médula ósea (MO) normocelular, con hiperplasia exclusivamente de la serie megacariocítica, con núcleos hiperlobulados (asta de ciervo), la tinción de reticulina muestra un grado de fibrosis MF-1. **C:** mielofibrosis primaria pre fibrótica, MO notablemente hiper celular, hiperplasia megacariocítica acentuada, con núcleos hiper cromáticos (nube de lluvia) y formando cúmulos, la tinción de reticulina muestra un grado de fibrosis MF-1. **D:** mielofibrosis primaria fibrótica, MO hiper celular, con hiperplasia de megacariocitos, con núcleos hiper cromáticos (nube de lluvia), la tinción de reticulina muestra un grado de fibrosis MF-3 (tomada de Raya et al., 2014<sup>23</sup>).

**Tabla 5.** Principales características morfológicas en la biopsia de médula ósea en las distintas neoplasias mieloproliferativas

Policitemia vera
– Médula ósea notablemente hiper celular
– Hiperplasia trilineal acentuada (panmielosis)
– Hiperplasia megacariocítica acentuada. Aumentados en tamaño, núcleos hiperlobulados (astas de ciervo), no forman cúmulos
– Adecuada maduración mieloide y eritroide
– Sin mielofibrosis (MF-0/MF-1)

**Tabla 6.** Principales características morfológicas en médula ósea: trombocitemia esencial

Trombocitemia esencial
– Médula ósea normocelular/ligeramente hiper celular
– Hiperplasia megacariocítica acentuada, aumentados en tamaño, núcleos hiperlobulados (astas de ciervo), no forman cúmulos
– Granulopoyesis y eritropoyesis adecuadas en cantidad y maduración
– Sin mielofibrosis (MF-0/MF-1)

de las NMPC, sino que se encuentran con igual o mayor frecuencia en síndromes mielodisplásicos y leucemias mieloides agudas. Se hallan en ancianos e involucradas en el proceso de transformación neoplásica y frecuentemente se asocian con progresión de enfermedad, por lo que son más prevalentes en pacientes con MFP o MF post-PV/TE. Aún no está establecido el rol de su estudio en la práctica diaria<sup>9</sup>.

### Caracterización molecular de las NMP

El análisis del estado mutacional de JAK2, CALR y MPL se realiza habitualmente a partir de SP, ya sea

sangre total o granulocitos. También puede determinarse en aspirados de MO. Dado que las alteraciones en estos genes son, en general, excluyentes entre sí<sup>2</sup>, la caracterización molecular se realiza de forma secuencial, tal y como se indica en la figura 3.

### Alteraciones anatomopatológicas de la médula ósea

El estudio anatomopatológico de la MO es fundamental para el correcto diagnóstico de las NMP (muestra óptima de 3 cm y no menor de 1.5 cm)<sup>10</sup>. Se debe realizar de forma sistemática tinción de

**Tabla 7. Principales características morfológicas en médula ósea: Mielofibrosis primaria prefibrótica**

Mielofibrosis primaria prefibrótica
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Médula notablemente hiper celular</li> <li>- Hiperplasia megacariocítica acentuada. Núcleos hiper cromáticos (nube de lluvia) con frecuente formación de cúmulos</li> <li>- Hiperplasia mielóide acentuada con adecuada maduración o desviación a la izquierda</li> <li>- Eritropoyesis adecuada en cantidad o hipoplásica, con adecuada maduración</li> <li>- Sin mielofibrosis (MF-0/MF-1)</li> </ul>

**Tabla 8. Principales características morfológicas en médula ósea: Mielofibrosis primaria fibrótica**

Mielofibrosis primaria fibrótica
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Médula hiper celular</li> <li>- Hiperplasia megacariocítica acentuada. Núcleos hiper cromáticos (nube de lluvia) formando cúmulos con relativa frecuencia</li> <li>- Hiperplasia mielóide moderada/accentuada con adecuada maduración o desviación a la izquierda</li> <li>- Eritropoyesis adecuada en cantidad o hipoplásica, con adecuada maduración o maduración megaloblástica</li> <li>- Franca mielofibrosis (MF-2/MF-3)</li> </ul>

hematoxilina-eosina y tinciones especiales, al menos para fibras de retículo, y opcionalmente tinción de Giemsa, Pearl y tricrómico de Masson<sup>11</sup>. En todos los casos se debe valorar el grado de fibrosis y reportarse con base en el sistema estandarizado que se muestra en la tabla 3. Se sugiere realizar estudios de inmunohistoquímica para detectar un aumento de células inmaduras (blastos) con las inmunotinciones para CD34 y CD117 (Fig. 4)<sup>11,12</sup>.

Se resumen a continuación las características histológicas en cada una de las NMP, así como en la tabla 4.

### **Diagnóstico molecular de las mutaciones de JAK2, CALR y MPL en pacientes con neoplasias mieloproliferativas en México**

Con respecto a la identificación de las mutaciones en los genes *JAK2*, *CALR* y *MPL* en pacientes con NMP en México, en el Departamento de Biología Molecular del Laboratorio de Estudios Especiales del Servicio de Hematología del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga hemos desarrollado una estrategia metodológica que tiene como finalidad la identificación de dichas alteraciones de manera rápida para que los

pacientes puedan beneficiarse de terapias dirigidas. La Cast-PCR (*competitive allele-specific TaqMan PCR*) se caracteriza por su alta sensibilidad y especificidad, ya que puede detectar cantidades mínimas de ADN mutado en una muestra que contiene grandes cantidades de ADN normal de tipo silvestre<sup>14,15</sup>.

La Cast-PCR utiliza oligonucleótidos específicos para el alelo mutado que compete con un oligonucleótido bloqueador de MGB para suprimir el alelo normal<sup>16,17</sup>. Puede detectar de manera robusta alelos mutados en un fondo de tipo silvestre tan bajo como el 0.1% y tiene una concordancia > 99% con otras tecnologías, incluida la tecnología basada en PCR digital y la secuenciación Sanger<sup>18</sup>. Es importante resaltar que a pesar de que la secuenciación de Sanger es el «estándar de oro» para la identificación de mutaciones debido a su baja tasa de falsos positivos y alta especificidad, tiene una serie de desventajas que incluyen la baja sensibilidad, el tiempo necesario para realizar el ensayo, el requisito de muestras de tejido de alta calidad y la necesidad de interpretación manual<sup>19</sup>.

A diferencia de otros métodos como el ARMS (*amplification refractory mutation system*), cuya sensibilidad es del 1%, y Sanger, del 10-25% (20,23-26), Cast-PCR lo supera al estar por el 0.1% de sensibilidad<sup>20</sup>. En el caso de la tecnología de secuenciación de próxima generación (NGS), la cual es utilizada para la detección de múltiples mutaciones, la desventaja es que requieren mucho tiempo y es demasiado costoso para la detección de un alelo genético específico. Además, los datos producidos por NGS no son fáciles para el análisis clínico habitual<sup>21</sup>. Entre las alteraciones *drivers* que hemos analizado en nuestro equipo de trabajo y publicado por medio de esta estrategia se encuentran las mutaciones en los genes *IDH1/IDH2* en pacientes con LAM<sup>22</sup>.

Actualmente el laboratorio cuenta con las sondas específicas para la determinación de las mutaciones específicas de los genes *JAK2*, que consisten en el cambio de una guanina por una timidina en el nucleótido 1849 (c.1849 G>T) que está localizado en el exón 14 del gen *JAK2*. Esta alteración afecta al aminoácido 617 (V617F). Por otro lado, las mutaciones para el gen *CALR* (calreticulina) pueden ser de dos tipos: mutación tipo 1, que consiste en una deleción de 52 pb, y la mutación tipo 2, que consiste en una inserción de 5. Finalmente, la mutación del gen *MPL* (receptor de la trombopoyetina), el cual tiene un cambio en el nucleótido 1544G>T, en el exón 10, codificando un cambio en la proteína en W515L. Dichas alteraciones son detectadas en nuestro servicio de hematología por medio de Cast-PCR.

Esta tecnología se considera un método rápido y económico en la práctica clínica que puede ser utilizado como prueba de diagnóstico en la detección de mutaciones de genes de interés en padecimientos oncohematológicos.

## Financiamiento

La presente investigación recibió apoyo de Novartis.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

## Bibliografía

- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127:2391-405.
- Marneth AE, Mullally A. The molecular genetics of myeloproliferative neoplasms. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2020;10:a034876.
- Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pardanani A, Tefferi A. Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal. *Leukemia*. 2008;22:1299-307.
- Olarte I, García A, Ramos C, Arratia B, Centeno F, Paredes J, et al. Detection of mutations in the isocitrate dehydrogenase genes (IDH1/IDH2) using Cast-PCR™ in patients with AML and their clinical impact in Mexico City. *Onco Targets Ther*. 2019;12:8023-31.
- 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;369:2391-405.
- Klampff T, Gisslinger H, Harutyunyan AS. Somatic mutation of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369:2379-90.
- 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;28:1472.
- Cabagnols X, Favale F, Pasquier F, Messaoudi K, Defour JP, Ianotto JC, et al. Presence of atypical thrombopoietin receptor (MPL) mutations in triple-negative essential thrombocythemia patients. *Blood*. 2016;127:333-42.
- Milosevic Feenstra JD, Nivarthi H, Gisslinger H, Leroy E, Rumi E, Chachoua I, et al. Whole-exome sequencing identifies novel MPL and JAK2 mutations in triple-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2016;127:325-32.
- Buhr T, Hedeba K, Vasiliki K, Porwit A, van der Walt J, Kreipe H. European Bone Marrow Working Group trial for reproducibility of World Health Organization criteria to discriminate essential thrombocythemia from prefibrotic primary myelofibrosis. *Haematologica*. 2012;97(3):360-5.
- Thiele J. Standardization of bone marrow features- does it work in hematology for discrimination of different disease patterns? *Histol Histopathol*. 2005;20:633-44.
- Vardiman J. Myeloproliferative neoplasms. En: Jaffe E, Harris N, Vardiman J, Campo E, Arber C. *Hematopathology*. Elsevier Saunders; 2011. pp. 698-732.
- Raya JM, Montes-Moreno S, Acevedo A, Ferrández A, Fraga M, García JF, et al. Pathology reporting of bone marrow biopsy in myelofibrosis; application of the Delphi consensus process to the development of a standardised diagnostic report. *J Clin Pathol*. 2014;67(7):620-5.
- Barbano R, Pasculli B, Coco M, Fontana A, Copetti M, Rendina M, et al. Competitive allele specific TaqMan PCR (Cast-PCR) is a sensitive, specific and fast method for BRAF V600 mutation detection in melanoma patients. *Sci Rep*. 2015;5:18592.
- Bolton L, Reiman A, Lucas K, Timms J, Cree IA. KRAS mutation analysis by PCR: a comparison of two methods. *PLoS One*. 2015;10(1):e0115672.
- Yang Y, Shen X, Li R, Shen J, Zhang H, Yu L. The detection and significance of EGFR and BRAF in cell-free DNA of peripheral blood in NS-CLC. *Oncotarget*. 2017;8(30):49773-82.
- Bronte G, Silvestris N, Castiglia M, Galvano A, Passiglia F, Sortino G, et al. New findings on primary and acquired resistance to anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer: ¿do all roads lead to RAS? *Oncotarget*. 2015;6(28):24780-96.
- Yang Y, Meng Y, Zhang H, Shen X, Li R, Yu L, et al. Detection of EGFR and BRAF mutations by competitive allele-specific TaqMan polymerase chain reaction in lung adenocarcinoma. *Oncol Lett*. 2018;15(3):3295-304.
- Gao J, Wu H, Wang L, Zhang H, Duan H, Lu J, et al. Validation of targeted next-generation sequencing for RAS mutation detection in FFPE colorectal cancer tissues: comparison with Sanger sequencing and ARMS-Scorpion real-time PCR. *BMJ Open*. 2016;6:e009532.
- Huebner C, Weber R, Lloyd RA. HRM assay for identification of low level BRAF V600E and V600K mutations using the CADMA principle in FFPE specimens. *Pathology*. 2017;49(7):776-83.
- Li K, Woo C, Mouanoutou M, Moy B, Langit E, Brzoska P, et al. Validation of the Ion AmpliSeq™ comprehensive cancer panel (CCP) using castPCR™ technologies. *Cancer Res*. 2013;73(8 Suppl):S4218. doi: 10.1158/1538-7445.AM2013-4218.
- Olarte I, García A, Ramos C. Detection of mutations in the isocitrate dehydrogenase genes (IDH1/IDH2) using Cast-PCR™ in patients with AML and their clinical impact in Mexico City. *Onco Targets Ther*. 2019;12:8023-31.
- Sociedad Argentina de Hematología. *Guías de diagnóstico y tratamiento*. Edición 2017.
- Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. *Manual de recomendaciones en neoplasias mieloproliferativas crónicas filadelfia negativas*. 3.ª edición. Grupo Español de Enfermedades Mieloproliferativas Crónicas Filadelfia Negativas; 2020.