

## COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS DE DETECCIÓN DE JAK2V617F EN PACIENTES CON ENFERMEDADES MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS PHILADELPHIA NEGATIVAS (EMPC PHI NEG)

Albizua E, Rapado I, Ayala R, Grande S, Martínez-López J.

*Hematología, Hospital 12 de Octubre. Madrid*

**Introducción:** La mutación JAK2V617F, que origina un aumento de la actividad tirosin kinasa de JAK2, es un evento fisiopatogénico crucial en las EMPC Ph neg; y una importante herramienta diagnóstica incluida como criterio mayor en la reciente revisión de la Organización Mundial de la Salud.

**Objetivo:** En nuestro estudio se analizan los resultados obtenidos mediante tres métodos para la mutación JAK2V617F en pacientes con EMPC, con otras patologías hematológicas y en individuos sanos.

**Materiales y métodos:** La distribución de las muestras de ADN de sangre periférica de 391 individuos (Hospitales 12 de Octubre, Getafe y Fuenlabrada) fue: 31 Policitemias Veras (PV), 35 Eritrocitosis Secundarias, 63 Trombocitemias Esenciales (TE), 38 Trombocitosis Secundarias, 4 Mielofibrosis Idiopáticas, 14 Leucemias Mieloides Crónicas, 19 Leucemias Mieloides Agudas, 19 Síndromes Mielodisplásicos, 20 Leucemias Linfáticas Crónicas y 148 controles sanos con niveles normales de hemoglobina y plaquetas.

La mutación JAK2V617F se analizó por tres métodos de PCR a tiempo real. Dos procedimientos consistían en el estudio de la curva de fusión obtenida con LightCycler 2.0 (Roche); en uno de ellos se empleó un ácido peptidonucleico (PNA) como inhibidor de la fluorescencia de la secuencia de ADN sin la mutación. En el tercer procedimiento, usando un cebador alelo específico (ASO-PCR), se cuantificó el fragmento mutado en ABI PRISM 7900 (Applied Biosystem). Los datos se analizaron mediante SPSS v11.

**Resultados:** El límite de sensibilidad, determinado mediante curvas de dilución del ADN de un paciente homocigoto en ADN sin la mutación, resultó: PCR LightCycler sin PNA 10% y con PNA 0,5%; y PCR ASO 0,1%. Los dos métodos más sensibles, PCR LightCycler con PNA y PCR ASO, proporcionaron resultados positivos de la mutación V617F en 2.0 y 1.4 % de los controles, respectivamente. Se obtuvieron la sensibilidad (SS), la especificidad (SP), y los valores predictivos positivo y negativo. La SS alcanzada con PCR ASO fue 87.1 y 61.3%, para PV y TE respectivamente. La SP con PCR LightCycler sin PNA, 100% para PV y TE. En el procedimiento cuantitativo se estableció como valor discriminante 1% de mutación a partir de la curva COR obtenida para PV, exigiendo una especificidad cercana al 99%. También se realizó la curva COR para el grupo de TE. El grado de acuerdo de los tres métodos fue bueno (coeficiente kappa > 0.71).

**Conclusiones:** Cualquiera de los tres métodos resultaría adecuado para *screening*; pero con fines pronósticos y para valorar la respuesta a un posible tratamiento es recomendable la cuantificación por PCR a tiempo real ASO.