

VALIDACIÓN DEL MÉTODO PCR MASA EN LA DETERMINACIÓN DE LA MUTACIÓN DE JAK2 EN COMPARACIÓN CON OTROS MÉTODOS MOLECULARES ESTANDARIZADOS. EXPERIENCIA DEL HOSPITAL SAN PEDRO DE LOGROÑO

D.K. García, J. Swen Crettaz, R. Ruiz García, V. Roldán Galiacho, B.A. Campeny Najara, D. Robles de Castro, M.M. Hermosilla Fernández, M.J. Nájera Irazu, M.P. Herrera Pérez, R.F. García Muñoz, M.P. Rabasa Baraibar
Hospital San Pedro. Logroño

Fundamento: El descubrimiento de la mutación JAK2 V617F en 2005 constituyó un gran avance en el conocimiento de la patogenia de las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPc) Phi negativas: policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE) y mielofibrosis primaria (MFP). Esta mutación se ha observado en el 90-95% de los casos con PV y en el 50% de los casos de TE y MFP. La presencia de la mutación de JAK2 V617F es especialmente útil en el diagnóstico de las NMPc Phi negativas, en su evolución y pronóstico.

Objetivos: Comparar y validar los resultados obtenidos en la determinación de la mutación de JAK2 V617F mediante PCR MASA con los métodos estandarizados: Kit comercial de Ipsogen, HRM y secuenciación.

Material y métodos: Se han analizado 31 muestras de DNA, de pacientes con sospecha de NM BCR-ABL negativas, por cuatro métodos cualitativos: 1. PCR tipo MASA (mutant allele specific amplification), 2. Real-time PCR Taqman comercial (Ipsogen) con 1% de sensibilidad realizada según indicaciones del fabricante 3. HRM (*high resolution melting*) para distinguir secuencias mutadas de las *wild type* y 4. Secuenciación.

Resultados: En las 31 muestras los resultados fueron idénticos al comparar el método MASA con el kit comercial de Ipsogen con 11 resultados positivos, 19 negativos y uno dudoso. El HRM discriminó 28 muestras, una de ellas incorrectamente debido a la muy baja carga tumoral. En 3 casos el HRM indicó la necesidad de la secuenciación, cuyos resultados fueron concordantes con los obtenidos con el kit comercial de Ipsogen. Dos muestras resultaron falsamente negativas por secuenciación, ambas con baja carga alélica de la mutación V617F.

Conclusiones: Los dos métodos de PCR (MASA de desarrollo propio y el de referencia kit Ipsogen) coincidieron en las 31 muestras analizadas. El HRM determinó correctamente 30 de 31 muestras, dando una con baja carga tumoral como negativa. La secuenciación identificó 29 de 31 muestras, dando 2 como negativas. Los cuatro métodos han demostrado especificidad equiparable.