

INTRODUCCIÓN EN NUESTRO MEDIO Y ANÁLISIS DE LA MUTACIÓN V617F DE JAK2 EN UN GRUPO DE ENFERMEDADES MIELOPROLIFERATIVAS CRÓNICAS CLÁSICAS FILADELFIA (FI) NEGATIVAS. CORRELACIÓN CON LA SOBREEXPRESIÓN DE PRV-1

L. Hernández-Nieto, M.C. Alonso, R. Rodríguez-Sánchez, J.M. Raya, M.T. Hernández-García, B.J. González-González, M.J. Rodríguez-Salazar, G. González-Brito, J.A. Ruano, M.L. Brito, M. Tapia, M.A. Guijo y E. Salido

Servicio de Hematología y Hemoterapia. Unidad Mixta de Investigación. Hospital Universitario de Canarias. Universidad de La Laguna. Tenerife.

Objetivos: Introducir en el estudio de las enfermedades mieloproliferativas crónicas Fi negativas [EMPCFI(-)] el análisis de la mutación V617F de JAK2, que recientemente ha sido reconocida como un marcador frecuente en estos procesos, casi específico de policitemia vera, en orden a valorar su frecuencia y papel diagnóstico en las distintas entidades del grupo.

Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 33 pacientes afectados de EMPCFI(-), agrupados según criterios internacionales vigentes, en los siguientes diagnósticos: 14 casos de policitemia vera (PV), 14 de trombocitemia esencial (TE) y 5 casos de EMPC indeterminada (EMPCI). Se extrajo DNA para el genotipado de la mutación, de granulocitos de sangre periférica. Alrededor de 0,1 #mg de DNA se sometió a amplificación mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR), utilizando oligonucleótidos específicos para el gen JAK2: JAK2-F: 5'-TGCTGAAAGTAGGAGAAAGTGC -3' y JAK2-R: 5'- CTGACACCTAGCTGTGATCCTG -3'. Éstos permiten la amplificación de un fragmento de 289 bp, en torno a la mutación V617F. El producto amplificado es digerido con el enzima de restricción BsaXI, que reconoce y corta sólo la secuencia codificante del alelo V. El análisis del producto de digestión en geles de electroforesis de acrilamida al 5% teñidos con bromuro de etidio permite el tipaje de los alelos F (banda de 289 bp) y V (bandas de 164 y 125). Como método confirmatorio, hemos usado la técnica FP-TDI, donde el producto de PCR es usado de molde para una reacción de extensión de base con el *primer* Jak2FPF: 5'-GGTTTTAAATTATGGAGTATGT -3', adyacente al cambio de base (G/A) responsable de la mutación. Usando nucleótidos ddG y ddA marcados con distintos fluorocromos, la identidad de la base adyacente al *primer* es analizada en un lector de placa de fluorescencia polarizada.

Resultados: De los 33 casos estudiados, presentaron la mutación V617F 13 de 14 pacientes con PV (92%), 6 de 14 con TE (42%) y 3 de 5 con EMPCI (60%). El diagnóstico de estos últimos será oportunamente revisado a la luz de estos datos. En 9 pacientes, 4 PV y 5 TE, se contó además con estudio de la expresión del gen PRV-1. En la mitad de los pacientes con PV éste estuvo sobreexpresado, mientras que de los 5 pacientes con TE, ninguno presentó sobreexpresión de PRV-1.

Conclusiones: Se comprueba por vez primera en nuestro medio la alta frecuencia de la mutación V617F de JAK2 en la PV, mientras que en la TE aquella es mucho menor. Nuestra observación comprueba el importante valor que este marcador genético posee en el diagnóstico de las EMPCFI(-). Dentro de los pacientes portadores de la mutación, la sobreexpresión de PRV-1 fue mucho más frecuente en la PV que en la TE. Deben continuar los esfuerzos para aclarar el significado de las PV JAK2 negativas y las TE JAK2 positivas, en la búsqueda de señas de identidad específicas para cada una de las entidades incluidas en el grupo.