



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Médicas

Carrera de Laboratorio Clínico

**“FRECUENCIA DE LA MUTACIÓN JAK2 V617F EN PACIENTES
CON NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS EN SOLCA-
CUENCA EN EL PERIODO 2015–2019”**

Proyecto de investigación previo a la obtención del título de

Licenciado en Laboratorio Clínico.

AUTORES:

Gabriela Isabel Jara Murillo

C.I. 010696554-4

gabyjara_12@hotmail.com

Christian Fernando Otavalo Anguisaca

C.I. 010734630-6

christian_fernando98@hotmail.com

Director:

Dr. Gabriele Davide Bigoni Ordoñez

C.I. 171190142-9

Cuenca-Ecuador.

03-Junio-2021



RESUMEN

ANTECEDENTES

Las neoplasias mieloproliferativas son un conjunto de trastornos clonales hematológicos originados por variantes patogénicas en genes reguladores del crecimiento celular, es por ello que en el 2016 la Organización Mundial de la Salud introdujo como uno de los principales criterios de diagnóstico para la policitemia vera, mielofibrosis primaria y trombocitemia esencial la detección de la mutación *JAK2 V617F*.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con neoplasias mieloproliferativas en SOLCA–Cuenca en el período 2015–2019.

METODOLOGÍA

Estudio de tipo descriptivo retrospectivo, en el cual se analizó y recopiló datos de historias clínicas de pacientes a los que se les realizó la prueba de la mutación *JAK2 V617F* en el Instituto del cáncer SOLCA-Cuenca entre los años 2015 y 2019, tomando en cuenta variables como: edad, sexo, residencia y tipo de neoplasia mieloproliferativa, para luego determinar frecuencias y relaciones de dependencia entre variables.

RESULTADOS

Se registró un total de 108 pacientes, de los cuales el 38,9% tenían un diagnóstico de neoplasia mieloproliferativa, estos pacientes se distribuían en: 64,29% con policitemia vera, 33,33% con trombocitemia esencial y 2,38% con mielofibrosis primaria; la frecuencia total para la mutación *JAK2 V617F* en las neoplasias mieloproliferativas fue del 21,3%.

CONCLUSIONES

JAK2 V617F es una variante patogénica prevalente en nuestro medio en pacientes con neoplasias mieloproliferativas, sin embargo esta frecuencias es menor comparada con la reportada por otros países, es por ello que su estudio posee gran relevancia al momento de determinar la causalidad de estas enfermedades.

PALABRAS CLAVES

Neoplasias mieloproliferativas. Gen *JAK2*. Mutación *JAK2 V617F*.



ABSTRACT

BACKGROUND

Myeloproliferative neoplasms are associated with haematological clonal tumors originating from pathogenetic variants and cell growth regulatory genes; that is why in 2016 the World Health Organization introduced the detection of the *JAK2 V617F* mutation as one of the main diagnostic criteria for polycythemia vera, primary myelofibrosis and essential thrombocythemia.

GENERAL OBJETIVE

To determine the frequency of the *JAK2 V617F* mutation in patients with Myeloproliferative Neoplasms in SOLCA-Cuenca in the period 2015-2019.

METHODOLOGY

Retrospective descriptive study, in which data was analyzed and collected from the medical records of patients who underwent the *JAK2 V617F* mutation test at the SOLCA-Cuenca Cancer Institute between 2015 and 2019, taking into account variables such as: age, sex, residence and type of myeloproliferative neoplasia, to later determine frequencies and dependency relationships between variables.

RESULTS

A total of 108 patients were registered, of which 38.9% had a diagnosis of myeloproliferative neoplasia, these patients were distributed in: 64.29% with polycythemia vera, 33.33% with essential thrombocythemia and 2.38% with primary myelofibrosis; the overall frequency for the *JAK2 V617F* mutation in myeloproliferative neoplasms was 21.3%.

CONCLUSIONS

JAK2 V617F is a pathogenic variant prevalent in our environment in patients with myeloproliferative neoplasms, however this frequency is lower compared to that reported by other countries, which is why its study is highly relevant when determining the causality of these diseases.

KEYS WORDS

Myeloproliferative neoplasms. *JAK2* gen. *JAK2 V617F* mutation.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN 2

CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL..... 7

CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL..... 8

CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL..... 9

CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL..... 10

DEDICATORIA..... 11

DEDICATORIA..... 12

AGRADECIMIENTO 13

AGRADECIMIENTO 14

CAPITULO I..... 15

 1. INTRODUCCIÓN..... 15

 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 16

 3. JUSTIFICACION 16

CAPITULO II..... 17

 FUNDAMENTO TEORICO 17

 2.1 La sangre y sus componentes 17

 a. Los eritrocitos o glóbulos rojos..... 17

 b. Los leucocitos o glóbulos blancos 18

 c. Las plaquetas..... 18

 2.2 Hematopoyesis 18

 2.3 Neoplasias mieloproliferativas 19

 a. Policitemia vera 20

 b. Mielofibrosis primaria 21

 c. Trombocitemia esencial 21

 2.4 Epidemiología 21

 2.5 Gen *JAK2* 21

 2.6 Mutación en el gen *JAK2* 22

 2.7 Diagnóstico de neoplasias mieloproliferativas..... 23

 a. Biometría hemática 23

 b. Frotis sanguíneo 23

 c. Biopsia y aspirado de médula ósea 24

 2.8 Diagnóstico molecular de las neoplasias mieloproliferativas 24



2.9 Detección molecular de la mutación *JAK2 V617F* mediante la reacción en cadena de la polimerasa tradicional. 25

CAPITULO III 27

 OBJETIVOS 27

 1. OBJETIVO GENERAL 27

 2. OBJETIVOS ESPECIFICOS 27

CAPITULO IV 28

 DISEÑO METODOLÓGICO..... 28

 1. TIPO DE ESTUDIO 28

 2. AREA DE ESTUDIO 28

 3. UNIVERSO Y MUESTRA 28

 4. UNIDAD DE ANÁLISIS 28

 5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN 28

 6. VARIABLES 29

 7. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES 29

 8. MÉTODOS, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS 29

 9. PROCEDIMIENTOS 30

 10. TABULACIÓN Y ANÁLISIS 30

 11. ASPECTOS ETICOS..... 30

CAPITULO V..... 32

 RESULTADOS..... 32

CAPITULO VI 38

 DISCUSIÓN 38

CAPITULO VII..... 41

 1. CONCLUSIONES 41

 2. RECOMENDACIONES 42

CAPITULO VIII..... 43

REFERENCIAS BIBLIGRÁFICAS 43

CAPÍTULO IX 51

 ANEXOS 51

 1. ANEXO 1. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES..... 51

 2. ANEXO 2. FORMULARIO 52

 3. ANEXO 3. OFICIO DIRIGIDO AL DR. ALVARADO DIRECTOR DEL INSTITUTO DEL CÁNCER SOLCA..... 53

 4. ANEXO 4. CONSENTIMIENTO INFORMADO..... 54





**CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA
PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

Yo, Gabriela Isabel Jara Murillo en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del proyecto de investigación “**Frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con Neoplasias mieloproliferativas en SOLCA–Cuenca en el periodo 2015–2019**”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este proyecto de investigación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 03 de Junio del 2021.

Gabriela Isabel Jara Murillo

C.I. 0106965544



**CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA
PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

Yo, Christian Fernando Otavalo Anguisaca en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del proyecto de investigación “**Frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con Neoplasias mieloproliferativas en SOLCA–Cuenca en el periodo 2015–2019**”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este proyecto de investigación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 03 de Junio del 2021.

Christian Fernando Otavalo Anguisaca

C.I. 0107346306



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Yo, Gabriela Isabel Jara Murillo, autora del proyecto de investigación **“Frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con Neoplasias mieloproliferativas en SOLCA–Cuenca en el periodo 2015–2019”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 03 de Junio del 2021.

Gabriela Isabel Jara Murillo

C.I. 0106965544



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Yo, Christian Fernando Otavalo Anguisaca, autor del proyecto de investigación “**Frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con Neoplasias mieloproliferativas en SOLCA–Cuenca en el periodo 2015–2019**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 03 de Junio del 2021.

Christian Fernando Otavalo Anguisaca

C.I. 0107346306



DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a mis padres, Clara y Jorge, quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, les agradezco por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía para no temer a las adversidades que se presenten. Agradezco a mis hermanos por el cariño y apoyo incondicional, durante este largo proceso de estudio y a toda mi familia gracias por sus palabras de aliento y por acompañarme en cada meta. Finalmente, dedico esta tesis a mis amigos y amigas que siempre han sido mi apoyo incondicional en momentos difíciles brindándome cada día sus mejores deseos.

Gabriela Isabel Jara Murillo.



DEDICATORIA

Dedicado con mucho amor para mi mamá, que desde pequeño cuidó de mí y me dejó de enseñanza los valores más importantes que tengo en mi vida, te agradezco por todo el sacrificio y lucha que hiciste para que me formara y sea feliz; ahora que concluye esta etapa en mi vida, quiero que sepas que lo logramos juntos.

Christian Fernando Otavalo Anguisaca



AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradezco a la Universidad de Cuenca por haberme aceptado ser parte de ella y abierto sus puertas de su seno científico para poder estudiar y culminar mi carrera, de igual manera quiero agradecer a los diferentes docentes que con esfuerzo me compartieron sus conocimientos y motivación para seguir adelante cada día. Gracias a mi tutor de tesis Dr. Gabriele Bigoni, que con gran dedicación nos impulsó a desarrollar esta tesis siempre apoyándome y guiándome en cada paso.

Durante toda esta etapa de estudio, el amor recibido, la dedicación, el tiempo y la paciencia con la que cada día mis padres se preocupaban por mi avance y desarrollo de esta tesis, es totalmente único, por ello quiero agradecer a mis padres, Clara y Jorge, quienes son mis promotores de sueños. Quiero agradecerles por cada día confiar en mí y sobre todo creer que puedo lograr todo lo que me proponga y llegar a cumplir todas mis expectativas, gracias a mi madre por guiarme en cada etapa de mi vida siempre con una sonrisa. Gracias a mi padre por desear y anhelar siempre lo mejor para mi vida, gracias por cada consejo que me guiaron durante mi vida.

Y para finalizar quiero agradecer a mis amigos y amigas que han estado dispuestos a ayudarme durante esta etapa, pues son ellos quienes me supieron motivar cuando más lo necesitaba y nunca dejaron que me rinda, nunca faltaron risas y comentarios positivos de su parte. Culmina una etapa en mi vida, pero comienza otra nueva.

Gabriela Isabel Jara Murillo.



AGRADECIMIENTO

A mis padres, por el apoyo, dedicación y amor que me han tenido.

A mis hermanos, por estar siempre a mi lado y apoyarme en cada momento.

Al Dr. Gabriele Bigoni, por todo el conocimiento, apoyo y motivación que me ha brindado.

A los docentes de la carrera de Laboratorio clínico de la Universidad de Cuenca por la excelente formación.

Christian Fernando Otavalo Anguisaca



CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

Las neoplasias mieloproliferativas constituyen un conjunto de trastornos hematológicos clonales, caracterizados por la excesiva producción de células sanguíneas u otras células en la médula ósea, y su acumulación en la sangre periférica (1). La actual clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) distingue ocho trastornos hematológicos que forman parte de las neoplasias mieloproliferativas, entre los cuales se encuentran la policitemia vera, la mielofibrosis primaria y la trombocitemia esencial. La etiología de estas neoplasias es el resultado de mutaciones somáticas en la célula madre hematopoyética, estas variante patogénica se produce principalmente en los genes *BCR-ABL1*, *JAK2*, *CALR* y *MPL* (2).

Este estudio se centra en la mutación *JAK2 V617F* del gen *Janus quinasa* que codifica una tirosina quinasa, encargada de promover la formación de las células sanguíneas en la médula ósea, esta alteración es detectada en aproximadamente un 95% de personas con policitemia vera, en un 50% de personas con trombocitemia esencial y en un 75% de personas con mielofibrosis primaria (3). Para el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas se utilizan técnicas de la biología molecular (identificación de las variantes patogénicas), histología de médula ósea y recuentos celulares del hemograma (1,2).



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los avances científicos y tecnológicos en el campo de la biología molecular han permitido alcanzar grandes hitos en el área de la salud, siendo estas técnicas hoy en día herramientas muy necesarias en el diagnóstico de diversas enfermedades. En el 2016 la OMS publicó la “*Classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues*”, una actualización de su guía de hematología publicada en el 2008; en la cual proporcionaba nuevos criterios para el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas, uno de ellos fue la determinación de la mutación *JAK2 V617F* como principal marcador molecular para el diagnóstico y control para estas enfermedades.

En la ciudad de Cuenca, el Instituto del Cáncer SOLCA, es el establecimiento oncológico más importante de la región, encargado del diagnóstico y tratamiento del cáncer en la provincia. Esta institución realiza la detección de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con neoplasias mieloproliferativas, para su diagnóstico oportuno. Sin embargo, en la actualidad no se ha publicado estudios sobre la frecuencia con la que se presenta esta mutación y sus factores asociados en nuestro medio, debido a esto como autores nos planteamos la necesidad de determinar, ¿Cuál es la frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con neoplasias mieloproliferativas, en nuestra región?

3. JUSTIFICACION

El presente proyecto de tesis se enfocará en determinar la frecuencia con la que se presenta la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con neoplasias mieloproliferativas en nuestra región, ya que esta información proporcionará a los profesionales salud, estadísticas actualizadas que permitirán hacer un mejor abordaje en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de estas enfermedades. Además, este estudio se enmarca dentro de las prioridades de investigación del Ministerio de Salud, en el área de neoplasias y de determinación de: perfil epidemiológico, predisposición genética y de nuevas tecnologías.



CAPITULO II

FUNDAMENTO TEORICO

2.1 La sangre y sus componentes

La sangre es un tejido conectivo especializado, que distribuye sustancias necesarias para el cuerpo como nutrientes y oxígeno, a través del sistema circulatorio impulsado por los movimientos contráctiles del corazón. Sus principales funciones son, el transporte de desechos metabólicos y dióxido de carbono, participa activamente en el proceso de coagulación, interviene en la respuesta inmunológica, mantiene la temperatura corporal equilibrada y transporta sustancias reguladoras como hormonas y enzimas (4). En los seres humanos la sangre está constituida en un 55% por plasma, que es la parte líquida y contiene sustancias como hormonas, proteínas, glucosa, entre otras, y el 45% restante corresponde la parte sólida, constituida por las células sanguíneas: eritrocitos, leucocitos y plaquetas (5).

a. Los eritrocitos o glóbulos rojos

Los eritrocitos son células ovales y bicóncavas con un diámetro aproximado entre 6-8 μ m, carentes de núcleo y de varios orgánulos, en su lugar albergan grandes cantidades de hemoglobina, una metaloproteína con capacidad de unión a moléculas de oxígeno. Estas células se originan en la médula ósea y poseen una vida promedio en la circulación sanguínea de 120 días aproximadamente (6).

Los glóbulos rojos son las células más abundantes en la sangre, en los hombres existe alrededor de 5-6 millones de células/ μ l y en las mujeres alrededor de 4-5 millones de células/ μ l. Estos valores pueden ser ligeramente diferentes entre personas debido a factores externos como la altitud, el embarazo, el ejercicio físico o la edad, sin que estos lleguen a considerarse como patológicos. Por el contrario, las alteraciones patológicas en el recuento de estas células corresponden a anemias, poliglobulias, eritroleucemias, enfermedades autoinmunes e infecciones, teniendo como factores etiológicos las alteraciones genéticas, la mala alimentación, microorganismos, la exposición a tóxicos, la radiación, entre otros (7).



b. Los leucocitos o glóbulos blancos

Los leucocitos son células que forman parte del sistema inmunitario las cuales son generadas en la médula ósea y participan activamente en la protección contra infecciones de origen viral, bacteriano, parasitario, entre otros. Estos se clasifican en: células mieloides (eosinófilos, basófilos, neutrófilos y monocitos) y células linfoides (linfocitos). El número de leucocitos en el organismo es de 5-10 mil células/ μl y tiene gran relevancia para el diagnóstico de inflamaciones, infecciones y neoplasias hematológicas (8).

c. Las plaquetas

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos formados a partir de megacariocitos, los mismos que junto con los factores de la coagulación actúan frente a hemorragias y lesiones, en el proceso de la cascada de coagulación, en la hemostasia. La morfología de estas células es alterable, cuando no están activadas son discoideas biconvexas mientras que al activarse forman proyecciones en su membrana celular. Las alteraciones numéricas de estas células son: la trombocitopenia o descenso en el número total de plaquetas, que puede ser resultado de una disminución en la producción o por el aumento en la destrucción de las mismas y la trombocitosis que es el aumento en el número total de plaquetas, causada por una producción no regulada (9).

2.2 Hematopoyesis

La hematopoyesis es el proceso por el cual se originan y maduran las células sanguíneas: eritrocitos, leucocitos y plaquetas, a partir de la célula madre hematopoyética multipotencial o progenitora en la médula ósea (*Ver Figura N°1*); estas células poseen propiedades de autorrenovación y de crecimiento indefinido, importantes para la proliferación celular (10). Las células madre multipotentes darán origen a los progenitores mieloides y linfoides de los cuales los progenitores mieloides formarán megacariocitos para dar paso a la formación de eritrocitos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos y monocitos, mientras que los progenitores linfoides darán origen a los linfocitos B y T. La hematopoyesis durante el desarrollo del ser humano posee varias localizaciones corporales, en el periodo fetal la hematopoyesis comienza en el saco vitelino y en la aorta gónada mesonefros, mientras que en la adultez este proceso se establecerá en el hígado, bazo, ganglios linfáticos y principalmente la médula ósea (11).

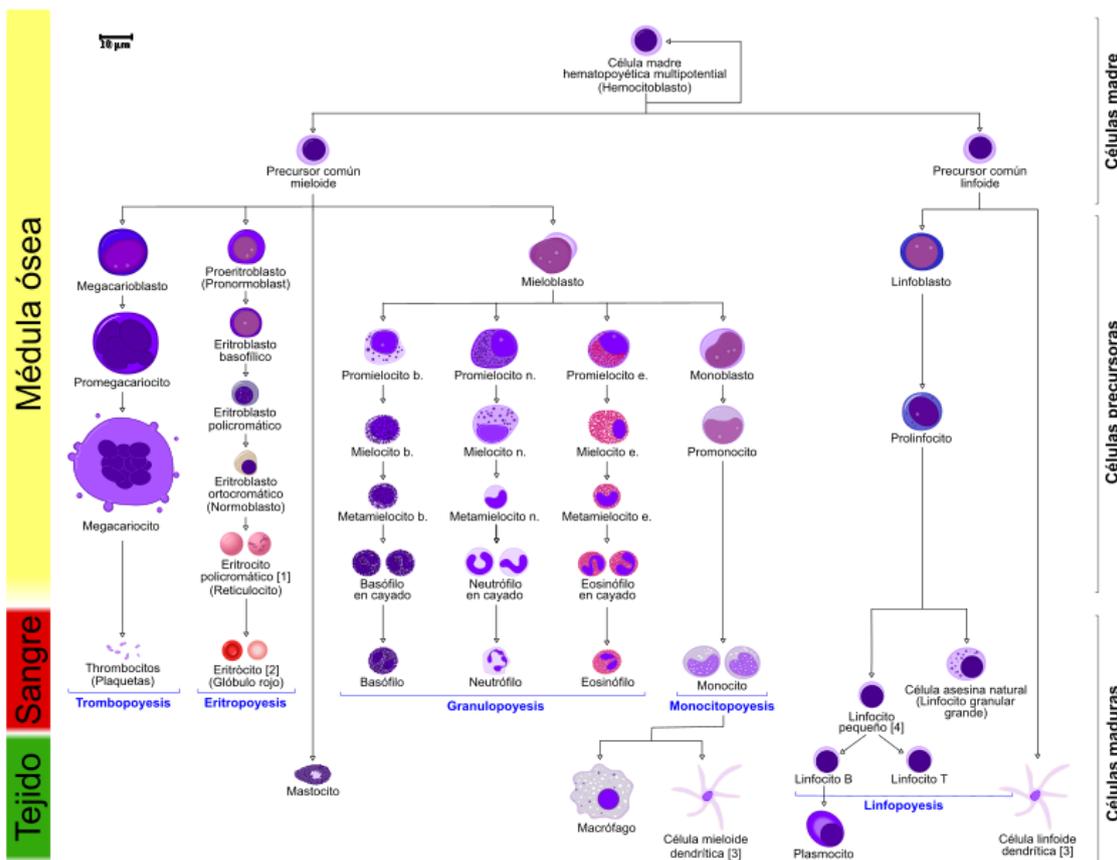


Figura N°1. Hematopoyesis. Obtenido de: Wikipedia

2.3 Neoplasias mieloproliferativas

Las neoplasias mieloproliferativas son un conjunto de trastornos hematológicos clonales dentro de la clasificación de neoplasias mieloides crónicas; las cuales resultan de mutaciones en factores transcripcionales de vías de división y proliferación celular. La célula madre hematopoyética produce demasiadas células maduras de las estirpes mieloides en la médula ósea y sangre periférica provocando varias patologías (2,3). Con el tiempo la acumulación de estas células en la sangre y en la médula ósea provoca en las personas que lo padecen distintas manifestaciones clínicas, dichas manifestaciones incluyen: cansancio, dificultad respiratoria, trombosis, anemia, hemorragia, infecciones frecuentes, alteraciones vasculares y en casos crónicos evolucionan a leucemia mieloide de tipo aguda hasta la muerte (12,13).

El término de neoplasia mieloproliferativa fue introducido en el 2008 por la OMS para describir la naturaleza clonal del conjunto de trastornos que conforman esta alteración hematológica, diferenciándose de las otras neoplasias mieloides crónicas como los

síndromes mielodisplásicos por la ausencia de displasia morfológica (14). Para el año 2016, producto de hallazgos genéticos se describieron las entidades clínico-patológicas pertenecientes a este grupo de enfermedades, las cuales son: leucemia mieloide crónica *BCR-ABL1*-positivo, leucemia neutrofílica crónica, policitemia vera, mielofibrosis primaria, trombocitemia esencial, leucemia eosinofílica crónica, mastocitosis y neoplasias mieloproliferativas no clasificadas (15).

Una subclasificación de estas neoplasias mieloproliferativas engloba la policitemia vera, la mielofibrosis primaria y la trombocitemia esencial, todas ellas negativas para la mutación *BCR-ABL1*, pero que pueden presentar alteraciones en los genes: *Janus quinasa 2 (JAK2 V617F)*, Calreticulina (*CALR*-indel) y en el oncogén del virus de la leucemia mieloproliferativa (*MPL W515L*) (14,15). (Ver **Figura N°2**);

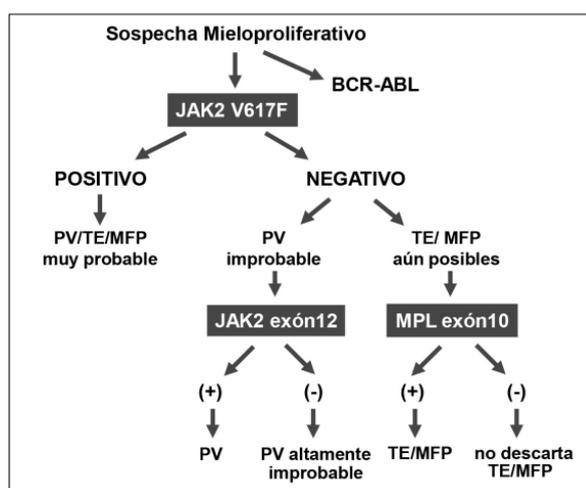


Figura N°2. Algoritmo molecular para el diagnóstico de neoplasias mieloproliferativas. Sociedad Argentina de Hematología.

a. Policitemia vera

Es la neoplasia mieloproliferativa más común, que se caracteriza por una elevada producción de eritrocitos en la médula ósea, lo que conlleva a una eritrocitosis, con el tiempo esta puede que ir acompañada de leucocitosis y trombocitemia, con morfologías normales. Como complicaciones el 30% de los pacientes desarrolla mielofibrosis e insuficiencia de la médula ósea; la leucemia aguda es otra complicación que puede ocurrir espontáneamente en el 1 al 2,5% de los casos (16), también existe un mayor riesgo de hemorragia y trombosis arterial o venosa. Las manifestaciones clínicas más comunes incluyen esplenomegalia, eventos microvasculares y prurito (17).



b. Mielofibrosis primaria

La Mielofibrosis primaria también conocida como mielofibrosis crónica idiopática o metaplasia mieloide agnogénica, consiste en la producción excesiva de tejido fibroso en la médula ósea por parte de los fibroblastos. La fisiopatología en esta neoplasia comprende un aumento en la circulación de células CD34 +, anemia, cambios variables en los recuentos tanto de plaquetas como de leucocitos y síntomas constitucionales debidos a la producción de citocinas inflamatorias. La formación de tejido fibroso excesivo en la médula ósea, puede llevar a complicaciones como aplasia medular y hepatoesplenomegalia por hematopoyesis extramedular (18).

c. Trombocitemia esencial

Como su nombre lo indica, esta neoplasia se caracteriza por la sobreproducción clonal de plaquetas debido a variantes patogénicas en genes reguladores de la proliferación celular, y al igual que las otras neoplasias mieloproliferativas tiene su origen en la médula ósea y pueden afectar otras líneas celulares. Las complicaciones que presenta esta enfermedad incluyen una predisposición a padecer trombosis o hemorragia (17,19).

2.4 Epidemiología

La incidencia mundial de las neoplasias mieloproliferativas es de 1,15-4,99 casos por cada 100.000 personas. La policitemia vera tiene una incidencia de 0,01-2,61 casos por cada 100.000 personas; la trombocitemia esencial tiene una incidencia de 0,21-2,27 casos por cada 100.000 personas, y la mielofibrosis primaria tiene una incidencia de 0,22-0,99 casos por cada 100,00 personas (20,21).

2.5 Gen *JAK2*

Como se describió anteriormente, existen diversos fenómenos biológicos involucrados en la etiología de las neoplasias mieloproliferativas, la mayoría de estos relacionados con alteraciones en los mediadores de señalización del crecimiento celular (3,22); un ejemplo de esto es el gen *JAK2*, que codifica una tirosin quinasa del mismo nombre que interviene en la vía de señalización *JAK/STAT* durante el proceso de transcripción (23). El gen *JAK2* forma parte de una familia de cuatro genes que codifican para cuatro proteínas diferentes denominadas *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* y *TYK2*, todas ellas con actividad tirosin quinasa asociadas a receptores de citocinas (24). Este gen fue identificado por primera vez en 1989 (25) y obtuvo su nombre por el Dios romano de las puertas y pasajes, Jano (26).



Las proteínas *JAK2* son importantes fisiológicamente a nivel celular ya que cumplen un papel importante en la transducción de señales de múltiples citocinas, relacionadas con la proliferación, diferenciación, supervivencia y apoptosis celular, debido a su capacidad tirosin quinasa citoplasmática, que cataliza la transferencia del grupo gamma-fosfato del adenosín trifosfato (ATP) a los grupos hidroxilo de residuos de tirosina específicos en moléculas de transducción de señales como las STAT (27). Los receptores a los que se encuentran ligadas las *JAK2* son de tipo I y II, y captan diversas citocinas, entre las que se encuentran las interleucinas, el interferón, la eritropoyetina, la trombopoyetina, la hormona del crecimiento, la leptina y los factores estimulantes de colonias (28).

En la hematopoyesis, durante el proceso transcripcional, las citocinas involucradas en este proceso (eritropoyetina, trombopoyetina, CSF, etc.) se unirán a sus receptores de membrana en la célula madre hematopoyética haciendo que las tirosin quinazas *JAK2* inicien el proceso de fosforilación y activen las proteínas citoplasmáticas STAT (*Signal Transducer and Activators of Transcription*), las mismas que se trasladarán al núcleo donde actuarán como factores transcripcionales (23,29).

Esta vía de señalización, es uno de los mecanismos moleculares más importantes mediante el cual nuestro organismo controla la cantidad y tipo de células en nuestra sangre, sin embargo activaciones patológicas en estas vías, ya sea por unión excesiva de ligandos o por mutaciones en los genes *JAK*, conllevará a una alta proliferación de células sanguíneas (30). A continuación, se describe las variantes patogénicas relacionadas con el gen *JAK2*, involucradas en las neoplasias mieloproliferativas.

2.6 Mutación en el gen *JAK2*

Las variantes patogénicas del gen *JAK2* son responsables de la mayoría de las neoplasias mieloproliferativas y hasta el momento se han descrito dos mutaciones importantes; la más frecuente *JAK2 V617F* en el exón 14, y en menor frecuencia las mutaciones en el exón 12 como por ejemplo *JAK2 K539L* (24,31,32). A pesar de la variabilidad genética entre estas dos mutaciones, ambas conducen a una activación constitutiva de la tirosin quinasa *JAK2* independientemente del ligando y a una hipersensibilidad de esta a los receptores de citocinas por sus ligandos.

La alteración *JAK2 V617F*, es una mutación puntual somática en la cual se sustituye una guanina por una timina (G:C→T:A) en el nucleótido 1849, provocando el cambio de una valina por una fenilalanina en la posición 617 del exón 14 del gen, que codifica el dominio



JH2 (3,31). *JH2* u homología 2 de *JAK* es un dominio de pseudoquinasa catalíticamente inactivo que forma parte de los cuatro dominios que conforman *JAK2*, este dominio tiene varias funciones reguladoras, una de las más importantes es inhibir la actividad de *JAK2* en ausencia de ligandos en el receptor de citocinas (26,29,33). Por lo tanto la mutación en el dominio *JH2* provocará una activación constitutiva de la proteína *JAK2* impulsando la proliferación celular en las neoplasias mieloproliferativas (34,35).

2.7 Diagnóstico de neoplasias mieloproliferativas

El estudio de las neoplasias mieloproliferativas requiere el uso de diversas herramientas diagnósticas entre las que se incluyen: el análisis clínico, exámenes de laboratorio como, la biometría hemática, el frotis sanguíneo, la detección molecular de genes mutados, y la valoración histológica de una biopsia de médula ósea. En cuanto al diagnóstico molecular la detección de la mutación *JAK2 V617F* se realiza en una muestra de sangre periférica total o médula ósea, siendo las células dianas para el análisis los granulocitos o los progenitores hematopoyéticos respectivamente (8, 9, 16).

Dentro del análisis clínico se sospecha de neoplasias mieloproliferativas, por la presencia de ciertos signos como: anemia, esplenomegalia, trombosis, poliglobulia, coagulopatías, cianosis, los mismos que son identificados a través de la observación y palpación a los pacientes y también a través de exámenes de laboratorio (8,9).

a. Biometría hemática

La biometría hemática es una prueba que nos permite conocer el número y la proporción de las células sanguíneas en nuestro cuerpo a través de una muestra representativa de sangre venosa. Proporciona resultados acerca de la morfología y tamaño de las distintas células que conforman la sangre. Para el estudio de las neoplasias mieloproliferativas, la biometría es un análisis imprescindible, ya que nos permite reconocer alteraciones numéricas y morfológicas en sangre periférica, por ejemplo, una elevación en el número de eritrocitos, elevación en la cantidad de hemoglobina y hematocrito relacionándolo con policitemia vera (8,9).

b. Frotis sanguíneo

Este examen hematológico consiste en la extensión de una pequeña cantidad de sangre sobre un portaobjetos con la finalidad de observar la morfología de las células sanguíneas. En las neoplasias mieloproliferativas es común observar un frotis leucoeritroblástico (8,9).



c. Biopsia y aspirado de médula ósea

El aspirado de médula ósea permite observar las células sanguíneas en sus diferentes estados de maduración, además proporcionará información sobre el tamaño, volumen, distribución y características morfológicas de cada uno de los linajes celulares (20). Así mismo este examen diferenciará los tres tipos de neoplasias mieloproliferativas, según el grado de proliferación eritroide, granulocítico y megacariocítico. Del mismo modo permitirá observar aumentos en el depósito de fibras de reticulina, que es un indicador clave en la mielofibrosis primaria (14,19).

2.8 Diagnóstico molecular de las neoplasias mieloproliferativas

La actual guía de diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas tiene en cuenta tanto los parámetros clínicos como los de laboratorio para lograr una correcta caracterización de estos trastornos, siendo los más importantes al momento del diagnóstico el estudio morfológico de la médula ósea y análisis molecular de las mutaciones *JAK2*, *CAL* y *MPL* (14).

El análisis de las variantes patogénicas en los genes *JAK2*, *CAL* y *MPL* permitirán descartar otras neoplasias mieloides crónicas y dirigir el tratamiento (15). La detección de la mutación *JAK2 V617F* en el exón 14 se encuentra en más del 95% de personas con policitemia vera, en un 50% de personas con trombocitemia esencial y en un 75% de personas con mielofibrosis primaria, siendo esta la mutación más representativa en las neoplasias mieloproliferativas (Ver **Figura N°3**) (3). Las mutaciones en *CAL*-indel se reportan entre un 25 y 35% de los pacientes con mielofibrosis primaria y la *MPL W515I* representan un 8% y 4% de casos en pacientes con mielofibrosis primaria y 4 trombocitemia esencial respectivamente (19).

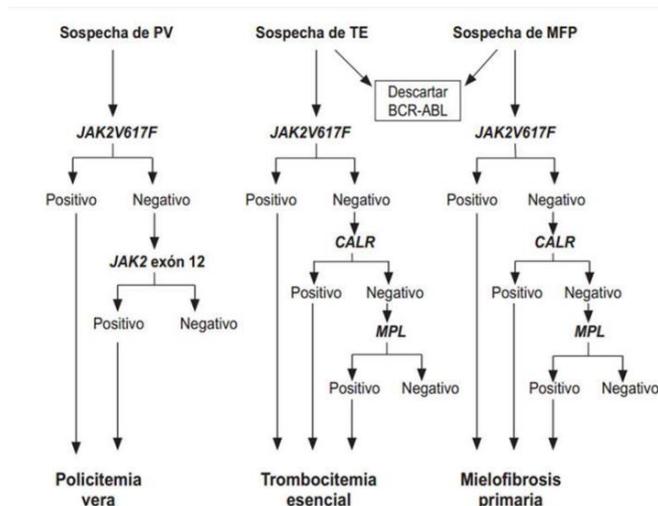


Figura N°3. Algoritmo diagnóstico de Neoplasias mieloproliferativas asociada a la mutación JAK2 V317F. Obtenido de: Revista Cubana de Hematología.

2.9 Detección molecular de la mutación *JAK2 V617F* mediante la reacción en cadena de la polimerasa tradicional.

Aunque esta mutación puede ser identificada mediante diversos métodos de análisis molecular, el más utilizado y sencillo de realizar, es la amplificación de la región *JAK2 V617F* por PCR tradicional en sangre periférica o médula ósea.

La Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR, es una técnica enzimática *in vitro*, a través de la cual se amplifica una secuencia específica del ADN con la finalidad de identificarla. Este método actualmente se ha convertido en una importante herramienta diagnóstica de diversas patologías genéticas, ya que posee una gran especificidad y sensibilidad. La técnica consiste en la utilización de oligonucleótidos o primers que reconocen la secuencia complementaria de la cadena de ADN diana y mediante una ADN Polimerasa comienza la amplificación de esta región. El mecanismo consiste en una primera fase de desnaturalización del ADN, seguida por una fase de unión a los primers o hibridación y por último la fase de extensión de los mismos mediado por la DNA polimerasa. Este proceso se repite varias veces o ciclos según los requerimientos de la técnica y al final se aísla el producto obtenido (21).

En el caso de la mutación *JAK2 V617F*, dado que esta se restringe al linaje mielóide, la técnica requiere un previo aislamiento de los clones mielóides ya que, sin este paso, su sensibilidad bajaría a un 20 y 30%. El método utilizado para este fin es la centrifugación en gradiente de Ficoll, que nos permitirá aislar las células mononucleares y linfocitos de



los granulocitos, de estos últimos se obtendrá el material genético para su amplificación (36).

Una vez obtenido los granulocitos, se extrae el material genético de estas células mediante técnicas de extracción y purificación del ADN. Estas técnicas comienzan con procesos de lisis celular y desnaturalización proteica, que destruirán las membranas celulares y proteínas, para liberar los ácidos nucleicos. Luego se realiza el aislamiento y purificación de ADN a través de procesos físicos ya sea mediante el uso de perlas magnéticas o de membranas de sílice, junto con soluciones de lavado (36,37).

Para la PCR se utiliza el método desarrollado por Baxter, con tres cebadores o primers; el primero denominado *JAK2 IC/Forward*, diseñado para una región *wild type* del gen, común para todas las personas y que servirá como control interno del experimento. El segundo y tercer primer denominados *JAK2-Reverse* y *JAK2-Forward* están diseñados para unirse al alelo mutante y contienen un desajuste intencional en el nucleótido 3' para mejorar su especificidad (36). Finalmente para el revelado de los resultados de PCR, se colocará los experimentos en un gel de agarosa y mediante marcadores de peso molecular, fluorocromos y luz UV, obtendremos un producto de amplificación de 364 pb correspondiente al control interno y otro de 203 pb si se encuentra la mutación (Ver **Figura N°4**) (38).

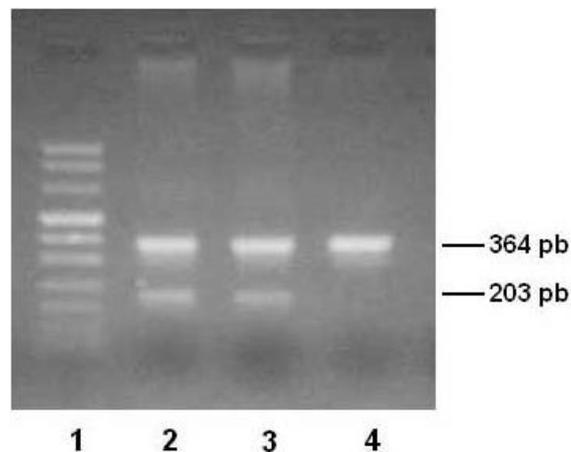


Ilustración N°4. Electroforesis de la PCR de la mutación JAK2 V617F. 1 Marcador de peso molecular. 2 Muestra positiva. 3 Control positivo. 4 Control negativo. Obtenido de: Vigil et al., 2013



CAPITULO III

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con Neoplasias Mieloproliferativas en SOLCA–Cuenca en el período 2015–2019.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes diagnosticados con Policitemia vera, Trombocitemia esencial, y Mielofibrosis primaria.
- Relacionar los factores asociados con la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con neoplasias Mieloproliferativas.



CAPITULO IV

DISEÑO METODOLÓGICO

1. TIPO DE ESTUDIO

Estudio de tipo descriptivo retrospectivo.

2. AREA DE ESTUDIO

Lugar: Instituto del cáncer SOLCA-Cuenca

Ubicación: Cuenca-Ecuador

Dirección: Av. del Paraíso y Agustín Landívar

3. UNIVERSO Y MUESTRA

El universo del estudio se encuentra conformado por la totalidad de aquellos pacientes a los que se les realizó la prueba para la detección de la mutación *JAK2 V617F*, con sospecha diagnóstica de policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria, entre los años 2015 y 2019 en el Instituto del Cáncer SOLCA–Cuenca; conformando una muestra de tipo probabilística.

4. UNIDAD DE ANÁLISIS

Pacientes con policitemia vera, trombocitemia esencial, mielofibrosis primaria u otras neoplasias hematológicas que presentan o no la mutación *JAK2 V617F*.

5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión

- Historias clínicas de pacientes a los que se les realizó la prueba para detección de la mutación *JAK2 V617F* con diagnóstico o sospecha de policitemia vera, trombocitemia esencial o mielofibrosis primaria evaluados en el período 2015-2019 en el Instituto del Cáncer SOLCA–Cuenca.

Criterios de exclusión

- Historias clínicas de pacientes a los que no se les realizó la prueba para detección de la mutación *JAK2 V617F* evaluados en el período 2015-2019 en el Instituto del Cáncer SOLCA–Cuenca para cualquier neoplasia mieloproliferativa.
- Historias clínicas de pacientes a los que no se les realizó un seguimiento de su enfermedad en el período 2015–2019 en el Instituto del Cáncer SOLCA–Cuenca.



6. VARIABLES

Variable Independiente

- Edad.
- Sexo.
- Residencia.
- Neoplasia mieloproliferativa.
- Año de diagnóstico

Variable Dependiente

- Mutación *JAK2 V617F*.

7. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Ver Anexo No 1.

8. MÉTODOS, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

• Método:

El modelo de análisis utilizado fue método estadístico descriptivo, mediante el cual se analizó la base de datos para obtener la frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en las neoplasias mieloproliferativas; también se determinó asociaciones entre la mutación *JAK2 V617F* y otras variables, aceptando un índice de confianza mayor al 95% ($p < 0,05$). Finalmente, los resultados serán representados mediante gráficos y tablas.

• Técnica

Se utilizó un formulario para la recolección de datos.

• Instrumentos

- Formulario de recolección de datos. Ver Anexo No 2.
- Software informático IBM-SPSS Statistics 25 (versión gratuita)
- Software informático Microsoft Excel 2013.



9. PROCEDIMIENTOS

Autorización

Con el fin de acceder a las historias clínicas de los pacientes del Instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca se entregó un oficio dirigido al Dr. Raúl Alvarado Corral, Director del Instituto. (Ver *Anexo No 3*).

Capacitación

Se recibió capacitación por parte del director de tesis, Dr. Gabriele Bigoni

Supervisión

El proyecto fue supervisado y asesorado por el Dr. Gabriele Bigoni, docente de la asignatura de Biología Molecular en la Carrera de Laboratorio Clínico, en calidad de tutor de tesis.

10. TABULACIÓN Y ANÁLISIS

Los datos obtenidos de los pacientes a través de los formularios, fueron tabulados con los programas estadísticos IBM-SPSS Statistics 25 (versión gratuita) y las gráficas se realizaron en el programa Microsoft Excel.

11. ASPECTOS ETICOS

Para la ejecución de dicho proyecto de investigación se obtuvo la aprobación del Comité de Bioética e Investigación del Área de la Salud y del Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Médicas.

Nuestra investigación cumple con los siguientes parámetros:

- **Confidencialidad:** Los datos obtenidos de las historias clínicas de los pacientes del Instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca, fueron manejados con absoluta confidencialidad, y para salvaguardar el anonimato de los participantes, se reemplazó su nombre por un código interno
- **Balance riesgo beneficio:** El riesgo de nuestra investigación es la posible exposición de los datos personales de los pacientes a terceros; mientras que el beneficio es el aporte de información estadística relevante acerca de la frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en pacientes con neoplasias mieloproliferativas en nuestra región.



- **Declaración de conflicto de intereses:** Como autores declaramos no tener ningún tipo de conflicto de intereses.
- **Idoneidad de investigadores:** Al ser estudiantes de último año de la carrera de Laboratorio Clínico, contamos con todos los conocimientos y cualificaciones necesarias para llevar a cabo el estudio.



CAPITULO V

RESULTADOS.

El total de nuestra población de estudio tras el análisis y selección de las historias clínicas según los criterios de inclusión y exclusión, fue conformada por 108 pacientes, 76 hombres y 32 mujeres. Dicha población estudiada se compone en su mayoría por personas de más de 60 años de edad (58,3%), de los cuales un 38,9% contaban con un diagnóstico de una neoplasia mieloproliferativa mientras que un 61,1% se encontraban con sospecha diagnóstica. En cuanto a la residencia, se describe que los pacientes eran provenientes de varias provincias del Ecuador, entre las que destaca la provincia del Azuay como la provincia con mayor número de pacientes a los que se les realizó la prueba de la mutación *JAK2 V617F*. (Ver *Tabla No 1*)

Tabla N°1. Caracterización de los pacientes que se realizaron la prueba de la mutación *JAK2 V617F* en el Instituto del cáncer SOLCA-Cuenca entre los años 2015-2019.

	Característica	No	%
Edad de los pacientes	0 – 15 años	3	2,8
	16 - 30 años	13	12,0
	31 - 45 años	11	10,2
	46 - 60 años	18	16,7
	Más de 60 años	63	58,3
	Total	108	100,0
Sexo	Masculino	76	70,4
	Femenino	32	29,6
	Total	108	100,0
Enfermedad	Policitemia vera	27	25,0
	Trombocitemia esencial	14	13,0
	Mielofibrosis primaria	1	0,9
	En sospecha diagnóstica	66	61,1
	Total	108	100,0
Residencia	Azuay	69	63,89
	Cañar	16	14,81
	El Oro	15	13,89
	Loja	4	3,70
	Otras	4	3,70
	Total	108	100,0

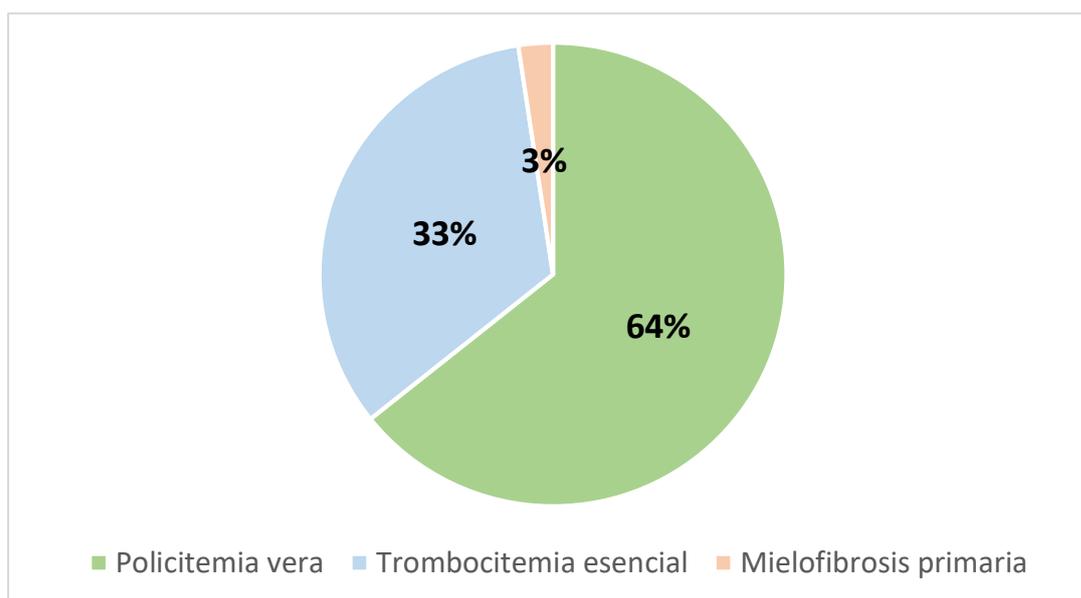
Fuente: Base de datos SOLCA.

Elaborado por: Los autores



Tras el análisis de los datos obtenidos nos encontramos con un total de 38,9% (42/108) de pacientes con diagnóstico de una neoplasia mieloproliferativa mencionada. De este total un 64,29% (27/42) tenían policitemia vera, 33,33% (14/42) trombocitemia esencial y 2,38% (1/42) mielofibrosis primaria, de manera que se logra observar una prevalencia de policitemia vera en los pacientes que conforman este estudio asociando dicha patología como prevalente en nuestro medio. (Ver **Gráfico N°1**).

Gráfico N°1. Distribución de las Neoplasias mieloproliferativas en el Instituto del cáncer SOLCA-Cuenca, 2015-2019.



Fuente: Base de datos SOLCA.

Elaborado por: Los autores

Al asociar la enfermedad de los pacientes con su respectivo sexo, se determinó que existe un mayor predominio de las patologías en pacientes del sexo masculino, incluso en nuestro medio con una frecuencia del 70,37%, mientras que para el sexo femenino se obtuvo una frecuencia del 29,63%. El sexo masculino representó un 74,1% de los casos registrado de policitemia vera y un 64,3% de pacientes con trombocitemia esencial; en cuanto a la mielofibrosis primaria solo se contó con un caso de una paciente de sexo femenino. En cuanto al grupo de pacientes que contaban con sospecha diagnóstica se registró una mayor prevalencia de pacientes masculinos (71,2%) en relación a los pacientes femeninos. Finalmente, al realizar el análisis de chi cuadrado, se encontró que estas dos variables tienen una relación estadísticamente significativa (* $p < 0.05$), la cual



aumenta mucho más ($p < 0.001$); por lo cual su asociación de gran importancia. (Ver *Tabla No 2*).

Tabla N°2: Frecuencia de las neoplasias mieloproliferativas según el sexo en SOLCA-Cuenca, 2015-2019.

		Sexo del paciente				X ²	p
		Masculino		Femenino			
		n	%	n	%		
Enfermedad diagnosticada	Policitemia vera	20	74,1	7	25,9	2,824	*0,420
	Trombocitemia esencial	9	64,3	5	35,7		
	Mielofibrosis primaria	0	0,0	1	100,0		
	En sospecha diagnóstica	47	71,2	19	28,8		
Total		76		32			

Fuente: Base de datos SOLCA.

Elaborado por: Los autores

De la misma manera, al asociar la edad del paciente con la patología diagnosticada se observa que las personas mayores a 60 años tienen un mayor riesgo de padecer una neoplasia mieloproliferativa, sin embargo, estos datos no guardan una asociación estadísticamente significativa ($p > 0,05$). (Ver *Tabla No 3*).

Tabla N°3: Frecuencia de las neoplasias mieloproliferativas según el sexo en SOLCA-Cuenca, 2015-2019.

		Edad del paciente					X ²	p
		0-15 años	16-30 años	31-45 años	46-60 años	Más de 60 años		
Enfermedad diagnosticada	Policitemia vera	0	1	2	7	17	14,696	0,125
	Trombocitemia esencial	0	1	1	1	11		
	Mielofibrosis primaria	0	0	1	0	0		
	En sospecha diagnóstica	3	11	7	10	35		



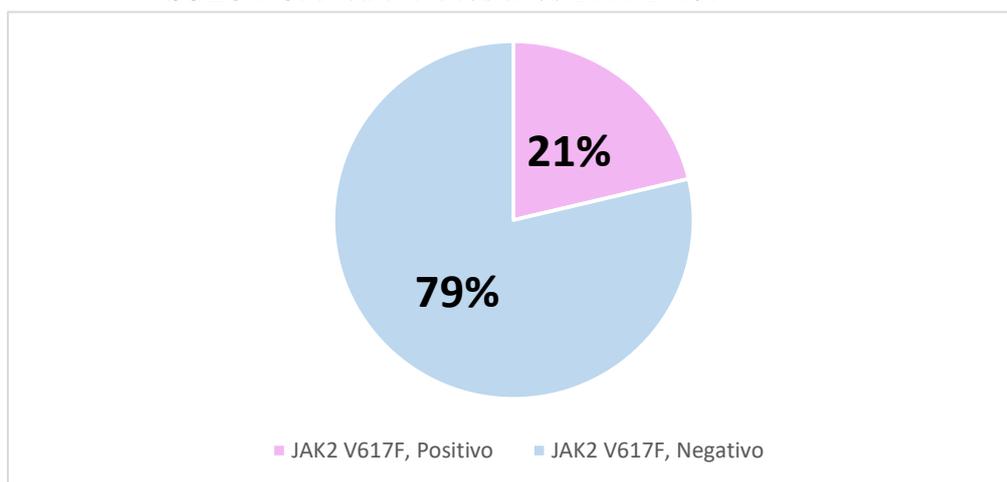
Total	3	13	11	18	63
--------------	---	----	----	----	----

Fuente: Base de datos SOLCA.

Elaborado por: Los autores

En cuanto a los resultados de la prueba para la mutación *JAK2 V617F*, de las 108 historias clínicas revisadas, se halló una frecuencia de la mutación del 21,3% (23/108), y un 78,7% (85/108) de casos negativos. (Ver **Gráfico N°2**).

Gráfico N°2: Distribución de la mutación JAK2 V617F en el Instituto del cáncer SOLCA-Cuenca entre los años 2015-2019.



Fuente: Base de datos SOLCA.

Elaborado por: Los autores

Al relacionar la presencia de la mutación *JAK2 V617F* con las enfermedades diagnósticas, se determinó una mayor frecuencia de esta mutación en pacientes que fueron diagnosticados con trombocitemia esencial (57.1%), seguido por los pacientes con policitemia vera (37%) y no se registraron casos de mielofibrosis primaria; del mismo modo, se reportó una positividad del 11.6% para pacientes con sospecha diagnóstica de una neoplasia mieloproliferativa. Estos valores, luego del análisis estadístico de Chi-cuadrado indican que existe una asociación estadísticamente significativa (**p<0.001) entre los resultados de la prueba para la mutación *JAK2 V617F* y el tipo de neoplasia mieloproliferativa, siendo objeto de estudio de gran importancia. (Ver **Tabla No 4**).

Tabla N°4: Frecuencia de la mutación JAK2 V617F en pacientes con neoplasias mieloproliferativas. SOLCA-Cuenca, 2015 - 2019.

Mutación JAK2 V617F



		Positiva		Negativa		X ²	p
		n	%	n	%		
Enfermedad diagnosticada	Policitemia vera	10	37,0	17	63,0	0,226	*** 0,000
	Trombocitemia esencial	8	57,1	6	42,9		
	Mielofibrosis primaria	0	0,0	1	100,0		
	En sospecha diagnóstica	5	7,6	61	92,4		
Total		23	21,23	58	78,7		

Fuente: Base de datos SOLCA.

Elaborado por: Los autores

Igualmente, al asociar los resultados obtenidos de la PCR-tradicional para la detección de la presencia de la mutación *JAK2 V617F* y el sexo de los pacientes, se observó que existe un predominio en el sexo femenino (31.3%), sin embargo, la significación asintótica de Chi-cuadrado para este análisis fue de $p > 0.05$, lo que implica para nuestro estudio, que el sexo y la mutación no tienen una relación estadísticamente significativa. (Ver **Tabla N°5**).

Tabla N°5: Frecuencia de la mutación JAK2 V617F según el sexo. SOLCA-Cuenca 2015–2019.

		Sexo del paciente				X ²	p
		Masculino		Femenino			
		n	%	n	%		
Mutación del gen JAK2	Positivo	13	17,1	10	31,3	2,688	0,101
	Negativo	63	82,9	22	68,8		
Total		76		32			

Fuente: Base de datos SOLCA.

Elaborado por: Los autores

Al asociar los resultados de la prueba de la mutación *JAK2 V617F* con los grupos de edad del estudio, se determinó que los pacientes mayores a 60 años presentan mayor número de positividad para esta prueba (87,0%). Al realizar la asociación estadística entre estas dos variables, se obtuvo un valor de $p = 0,032$, lo que indica que estas tienen una relación estadísticamente significativa, lo que nos indica que su estudio es importante ($*p < 0,05$). (Ver **Tabla N°6**).



Tabla N°6: Frecuencia de la mutación JAK2 V617F según la edad. SOLCA-Cuenca 2015–2019.

		Mutación del gen JAK2				X ²	p
		Positivo		Negativo			
		n	%	n	%		
Edad del paciente (años)	0-15	0	0,0	3	3,5	10,526	*0,032
	16-30	0	0,0	13	15,3		
	31-45	1	4,3	10	11,8		
	46-60	2	8,7	16	18,8		
	Más de 60	20	87,0	43	50,6		
Total		23	100	85	100		

Fuente: Base de datos SOLCA.

Elaborado por: Los autores



CAPITULO VI

DISCUSIÓN

El área de biología molecular en la actualidad ha tomado gran relevancia para el diagnóstico de diversas patologías, siendo estas técnicas muy sensibles y específicas para la detección de aberraciones o alteraciones en genes de importancia fisiológica. Es por ello, que la utilidad diagnóstica de la mutación *JAK2 V617F* en las neoplasias mieloproliferativas, comenzó a consolidarse a partir del año 2005, cuando cinco grupos de investigadores liderados por Baxter, James, Kralovics, Levine y Zhao, identificaron una mutación puntual en el gen de la tirosin quinasa *JAK2* en pacientes con trastornos mieloproliferativos (36,39–42); posteriormente estos análisis fueron corroborados en modelos murinos, donde se demostró que el trasplante de células madre hematopoyética alteradas con la mutación *JAK2 V617F*, acelera la división celular y provoca eritrocitosis y trombocitosis (34,35).

Desde entonces diversos estudios han observado que la frecuencia con la que se presenta esta mutación en las neoplasias mieloproliferativas es del 95% para la policitemia vera, 50% para la trombocitemia esencial y 75% para la mielofibrosis primaria (3,36,43); cifras que difieren de los resultados obtenidos en nuestro análisis. Esta discrepancia entre resultados pudo ser obtenida por la limitación que presentó la recopilación de datos en cuanto al diagnóstico de los pacientes, ya que un gran grupo de ellos se encontraban en sospecha diagnóstica, los mismos que posteriormente pudieron llegar a ser categorizados dentro de alguna de las neoplasias mieloproliferativas mencionadas en el tema de investigación.

La prevalencia de la mutación *V617F* en nuestro país se registró en un estudio de tipo descriptivo transversal realizado en el año 2018, reportó una frecuencia de esta variante patogénica del 35% en pacientes con policitemia vera, 15% en trombocitemia esencial, y tampoco informó casos positivos para la mielofibrosis primaria (44). Estos valores se asemejan a los obtenidos en nuestro análisis, por lo que también se asume que los resultados obtenidos en dicho estudio se asocian con los resultados obtenidos en nuestra descripción (18,19,45).

Así mismo, en Colombia, Ochoa et al, a través de un metaanálisis, reportó que la prevalencia de la mutación *JAK2 V617F* es del 84,5% para la policitemia vera, 57,2% para la trombocitemia esencial y 55,2% para la mielofibrosis primaria (46). En Cuba,



Calero et al, obtuvo que la frecuencia de la mutación es 74,3% para la policitemia vera, 36,8% para la trombocitemia esencial y 33,3% para la mielofibrosis primaria (47). También en México, Mercado et al, informó una frecuencia de la mutación del 62,5% para la policitemia vera, 35,7% para la trombocitemia esencial y 25,0% para la mielofibrosis primaria (48). Todos estos estudios demuestran cierto grado de variabilidad entre sus reportes, sin embargo están próximos a lo establecido generalmente en la bibliografía (3,36,43), y quizá estas discrepancias puedan deberse al tipo de método empleado para detectar esta mutación, como lo sugieren Ochoa et al (46).

La edad es otro de los factores que interviene en la etiología de las neoplasias mieloproliferativas (17); por ejemplo Abello et al, informaron que la edad media de diagnóstico de estos trastornos hematológicos es de 59,7 años (49). También otro grupo de investigadores suecos hallaron, que de un total 6.281 casos de neoplasias mieloproliferativas en su país, el 74,76% correspondía a personas mayores de 60 años (50). Estos estudios denotan la importancia que tiene la edad en la aparición de las neoplasias mieloproliferativas y se debe al hecho de que la edad es un factor de riesgo que aumenta el desarrollo de alteraciones genéticas conductoras de neoplasias mieloproliferativas (51), sin embargo, estos eventos no necesariamente están ligados, ya que *JAK2 V617F* puede presentarse a cualquier edad, tal como lo demuestran Szuber et al. en una población de pacientes menores a 40 años (52,53).

Con respecto a la asociación del sexo de los pacientes y la presencia de neoplasias mieloproliferativas, múltiples ensayos han evidenciado que las mujeres superan en número a los hombres en cuanto a la prevalencia de estos trastornos, siendo más estas evidentes estas diferencias cuando el corte de edad no supera los 50 años. (54–56,56). Según Fortin et al, esto se debería a que las mujeres tienen una mayor predisposición a desarrollar variantes patogénicas como *JAK2 V617F* en relación a los hombres (21); tal es el caso de estudio realizado por Godfrey et al, donde las mujeres superan a los hombres en una relación 2:1 en la trombocitemia esencial y tienen casi la misma prevalencia para la mutación en la policitemia vera, en los únicos trastornos en los que los hombres tienen una mayor prevalencia es en la mielofibrosis primaria (57). Sin embargo, también se han observado estudios donde la incidencia de las neoplasias mieloproliferativas han sido mayor en hombres (21,58), No obstante, estas discrepancias pueden deberse a los cambios surgidos en las últimas décadas en los criterios de diagnóstico para las neoplasias mieloproliferativas, tal como lo afirman Titmarsh et al., los mismos que luego de una



metaanálisis sistemático, concluyeron que no existía diferencia significativa en la incidencias de neoplasias mieloproliferativas entre estos dos sexos (59). Por último es importante mencionar que aparte de la incidencia, ningún estudio ha descrito aún los mecanismos que relacionarían directamente las neoplasias mieloproliferativas y el sexo (60,61)

Finalmente, la importancia de la identificación de esta variante patogénica, radica principalmente en su utilidad para diferenciar trastornos clonales (*JAK2 V617F* positivo) de proliferaciones reactivas secundarias (29,62); este hecho ha sido evidenciado en varios estudios, en los cuales se han demostrado que las variaciones nucleotídicas en regiones específicas del ADN, pueden conllevar a alteraciones genéticas conductoras de la expansión clonal en las neoplasias mieloproliferativas (63,64). Del mismo modo establecer un diagnóstico molecular para estos trastornos ha permitido una personalización en el tratamientos y pronóstico que tendrán estos pacientes, tal como lo evidenciaron Grinfeld et al (65–67).



CAPITULO VII

1. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en este proyecto de investigación, podemos concluir que:

- Las neoplasias mieloproliferativas más frecuentes en nuestro medio en orden descendente son: la policitemia vera, la trombocitemia esencial y la mielofibrosis primaria.
- El sexo masculino fue el grupo de personas con mayor número de casos para las neoplasias mieloproliferativas.
- De los 108 pacientes que se realizaron la prueba de la mutación *JAK2 V617F* en el instituto, el 21,3% dieron positivo a la misma.
- Se encontró que la edad es una variable directamente relacionada con la predisposición a presentar la mutación *JAK2 V617F*.
- Las personas mayores a 60 años, fueron el grupo con mayor presencia de la mutación *JAK2 V617F*.
- No se halló relación estadísticamente significativa entre el sexo de los pacientes y la frecuencia de la mutación *JAK2 V617F*.
- El lugar de residencia de los pacientes tampoco fue un factor dependiente para la presencia de la mutación.
- Finalmente, la frecuencia de la mutación *JAK2 V617F* en las neoplasias mieloproliferativas fue del 37,0% para la policitemia vera, 57,1% para la trombocitemia esencial y no se hallaron casos positivos para la mielofibrosis primaria.



2. RECOMENDACIONES

- Realizar seguimiento a los pacientes externos para evitar sesgos en el diagnóstico de los mismos.
- Determinar un diagnóstico preciso a pacientes con sospecha de una neoplasia mieloproliferativa con pruebas de complemento para su identificación exacta.
- Analizar nuevas variantes patogénicas como *JAK2* (exón 14), *CALR* y *MPL* en pacientes con neoplasias mieloproliferativas.
- Utilizar nuevas técnicas de detección molecular como la PCR en tiempo real o la PCR digital, ya que cuentan con mayor sensibilidad.



CAPITULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tefferi A, Pardanani A. Myeloproliferative Neoplasms: A Contemporary Review. *JAMA Oncol.* abril de 2015;1(1):97-105.
2. Fernández L, Gorrote H, Díaz C. Biomarcadores en las neoplasias mieloproliferativas clásicas BCR-ABL1 negativas. *Instituto de Hematología e Inmunología.* 2019;35(4).
3. Ferreira Cristina S, Polo B, Lacerda JF. Somatic Mutations in Philadelphia Chromosome-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Semin Hematol.* octubre de 2018;55(4):215-22.
4. Information NC for B, Pike USNL of M 8600 R, MD B, Usa 20894. What does blood do? *InformedHealth.org.* Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG); 2019. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279392/>
5. Garraud O, Tissot J-D. Blood and Blood Components: From Similarities to Differences. *Front Med (Lausanne).* 2018;5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5900421/>
6. *Encyclopedia of Immunology - 2nd Edition.* Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/encyclopedia-of-immunology/9780122267659>
7. Barbalato L, Pillarisetty LS. Histology, Red Blood Cell. En: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.* Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539702/>
8. Kabat GC, Kim MY, Manson JE, Lessin L, Lin J, Wassertheil-Smoller S, et al. White Blood Cell Count and Total and Cause-Specific Mortality in the Women's Health Initiative. *Am J Epidemiol.* 2017;186(1):63-72.
9. Machlus KR, Thon JN, Italiano JE. Interpreting the developmental dance of the megakaryocyte: a review of the cellular and molecular processes mediating platelet formation. *Br J Haematol.* abril de 2014;165(2):227-36.



10. Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis: An Evolving Paradigm for Stem Cell Biology. *Cell*. 22 de febrero de 2008;132(4):631-44.
11. Dzierzak E, Bigas A. Blood Development: Hematopoietic Stem Cell Dependence and Independence. *Cell Stem Cell*. 2018;22(5):639-51.
12. Thrombosis in Philadelphia negative classical myeloproliferative neoplasms: a narrative review on epidemiology, risk assessment, and pathophysiologic mechanisms. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11239-018-1623-4>
13. Janus kinase 2 variants associated with the transformation of myeloproliferative neoplasms into acute myeloid leukemia - Benton - 2019 - Cancer - Wiley Online Library. Disponible en: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cncr.31986>
14. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer J*. 2018;8(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5807384/>
15. Weltgesundheitsorganisation. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edition. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., editores. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017. 585 p. (World Health Organization classification of tumours).
16. Engle EK, Fisher D a. C, Miller CA, McLellan MD, Fulton RS, Moore DM, et al. Clonal evolution revealed by whole genome sequencing in a case of primary myelofibrosis transformed to secondary acute myeloid leukemia. *Leukemia*. abril de 2015;29(4):869-76.
17. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. enero de 2019;94(1):133-43.
18. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2019 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. diciembre de 2018;93(12):1551-60.



19. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* diciembre de 2020;95(12):1599-613.
20. Anderson LA, McMullin MF. Epidemiology of MPN: What Do We Know? *Curr Hematol Malig Rep.* 1 de diciembre de 2014;9(4):340-9.
21. Patterson-Fortin J, Moliterno AR. Molecular Pathogenesis of Myeloproliferative Neoplasms: Influence of Age and Gender. *Curr Hematol Malig Rep.* 1 de octubre de 2017;12(5):424-31.
22. Thompson ER, Nguyen T, Kankanige Y, Yeh P, Ingbritsen M, McBean M, et al. Clonal independence of *JAK2* and *CALR* or *MPL* mutations in comutated myeloproliferative neoplasms demonstrated by single cell DNA sequencing. *Haematologica.* 13 de agosto de 2020;106(1):313-5.
23. Schieber M, Crispino JD, Stein B. Myelofibrosis in 2019: moving beyond *JAK2* inhibition. *Blood Cancer Journal.* 2019;9(9):1-11.
24. Scott LM, Tong W, Levine RL, Scott MA, Beer PA, Stratton MR, et al. *JAK2* Exon 12 Mutations in Polycythemia Vera and Idiopathic Erythrocytosis. *N Engl J Med.* 2007;356(5):459-68.
25. Wilks AF. Two putative protein-tyrosine kinases identified by application of the polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(5):1603-7.
26. McLornan D, Percy M, McMullin MF. *JAK2 V617F*: A Single Mutation in the Myeloproliferative Group of Disorders. *Ulster Med J.* 2006;75(2):112-9.
27. Tefferi A, Gilliland DG. The *JAK2 V617F* tyrosine kinase mutation in myeloproliferative disorders: status report and immediate implications for disease classification and diagnosis. *Mayo Clin Proc.* 2005;80(7):947-58.
28. Boulay J-L, O'Shea JJ, Paul WE. Molecular Phylogeny within Type I Cytokines and Their Cognate Receptors. *Immunity.* 2003;19(2):159-63.
29. Perner F, Perner C, Ernst T, Heidel FH. Roles of *JAK2* in Aging, Inflammation, Hematopoiesis and Malignant Transformation. *Cells.* 2019;8(8):854.



30. Morris R, Kershaw NJ, Babon JJ. The molecular details of cytokine signaling via the *JAK/STAT* pathway. *Protein Science*. 2018;27(12):1984-2009.
31. Azevedo AP, Silva SN, Reichert A, Lima F, Júnior E, Rueff J. Prevalence of the Janus kinase 2 *V617F* mutation in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms in a Portuguese population. *Biomed Rep*. 2017;7(4):370-6.
32. Maddali M, Kulkarni UP, Ravindra N, Jajodia E, Arunachalam AK, Suresh H, et al. *JAK2* exon 12 mutations in cases with *JAK2 V617F*-negative polycythemia vera and primary myelofibrosis. *Ann Hematol*. 2020;99(5):983-9.
33. Saharinen P, Vihinen M, Silvennoinen O. Autoinhibition of *JAK2* tyrosine kinase is dependent on specific regions in its pseudokinase domain. *Mol Biol Cell*. abril de 2003;14(4):1448-59.
34. Lacout C, Pisani DF, Tulliez M, Gachelin FM, Vainchenker W, Villeval J-L. *JAK2V617F* expression in murine hematopoietic cells leads to MPD mimicking human PV with secondary myelofibrosis. *Blood*. 1 de septiembre de 2006;108(5):1652-60.
35. Lundberg P, Takizawa H, Kubovcakova L, Guo G, Hao-Shen H, Dirnhofer S, et al. Myeloproliferative neoplasms can be initiated from a single hematopoietic stem cell expressing *JAK2-V617F*. *Journal of Experimental Medicine*. 2014;211(11):2213-30.
36. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase *JAK2* in human myeloproliferative disorders. *The Lancet*. 2005;365(9464):1054-61.
37. Diefenbach RJ, Lee JH, Kefford RF, Rizos H. Evaluation of commercial kits for purification of circulating free DNA. *Cancer Genetics*. 2018;228-229:21-7.
38. Vigil AMA, Alonso CAD, Santana HG, González YS, Delgado NF, Cabrera OMA, et al. Introducción del estudio molecular de la mutación *V617F* del gen *JAK2* en neoplasias mieloproliferativas clásicas BCR-ABL negativas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2013;29(4). Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/86>



39. James C, Ugo V, Le Couédic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal *JAK2* mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*. 2005;434(7037):1144-8.
40. 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. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa051113>. Massachusetts Medical Society; 2009. Disponible en: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa051113>
41. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJP, 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.
42. Zhao R, Xing S, Li Z, Fu X, Li Q, Krantz SB, et al. Identification of an Acquired *JAK2* Mutation in Polycythemia Vera. *J Biol Chem*. 2005;280(24):22788-92.
43. Barbui T, Tefferi A, Vannucchi AM, Passamonti F, Silver RT, Hoffman R, et al. Philadelphia chromosome-negative classical myeloproliferative neoplasms: revised management recommendations from European LeukemiaNet. *Leukemia*. mayo de 2018;32(5):1057-69.
44. Campoverde A, Oliveros W, Becerra E, Espinoza I, Reyes I, Maldonado B, et al. Detección de la mutación *JAK2* V617F en neoplasias mieloproliferativas en población ecuatoriana por reacción en cadena de la polimerasa alelo específica. *Revistas de la Universidad Nacional de Loja*. 2018;6(2017):1390-7573.
45. Tefferi A, Vannucchi AM. Genetic Risk Assessment in Myeloproliferative Neoplasms. *Mayo Clinic Proceedings*. 2017;92(8):1283-90.
46. Ochoa MM, Toro PAA, Arias JAC, Cárdenas KMG. Metaanálisis de la prevalencia de la mutación *JAK2* en neoplasias mieloproliferativas crónicas *BCR-ABL* negativas: 2007-2017. *RevColHematolOncol*. 2018;5(2):6-6.
47. Calero K, González N, Garcia G, Chang A, Hernández C. Mutación V617F del gen *JAK2* en pacientes con policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis primaria. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2017;36.



48. Labastida-Mercado N, Galindo-Becerra S, Garcés-Eisele J, Colunga-Pedraza P, Guzman-Olvera V, Reyes-Nuñez V, et al. The mutation profile of *JAK2*, *MPL* and *CALR* in Mexican patients with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*. 1 de marzo de 2015;8(1):16-21.
49. Abello V, Quintero G, Espinosa D, Solano M, Quintero M, Lobatón J, et al. Descripción de las características clínicas de las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC). Primer informe del registro colombiano de NMPC. *Acta Médica Colombiana*,. 2017;42(1).
50. Hultcrantz M, Landtblom AR, Andréasson B, Samuelsson J, Dickman PW, Kristinsson SY, et al. Incidence of myeloproliferative neoplasms – trends by subgroup and age in a population-based study in Sweden. *Journal of Internal Medicine*. 2020;287(4):448-54.
51. Ok CY, Trowell KT, Parker KG, Moser K, Weinberg OK, Rogers HJ, et al. Chronic myeloid neoplasms harboring concomitant mutations in myeloproliferative neoplasm driver genes (*JAK2/MPL/CALR*) and *SF3B1*. *Modern Pathology*. enero de 2021;34(1):20-31.
52. Yokus O, Gedik H. *JAK-2* mutation frequency in patients with thrombocytosis. *Caspian J Intern Med*. 2018;9(2):189-93.
53. Szuber N, Vallapureddy RR, Penna D, Lasho TL, Finke C, Hanson CA, et al. Myeloproliferative neoplasms in the young: Mayo Clinic experience with 361 patients age 40 years or younger. *American Journal of Hematology*. 2018;93(12):1474-84.
54. Cartwright RA, Gurney KA, Moorman AV. Sex ratios and the risks of haematological malignancies. *Br J Haematol*. 2002;118(4):1071-7.
55. McNally RJQ, Rowland D, Roman E, Cartwright RA. Age and sex distributions of hematological malignancies in the U.K. *Hematological Oncology*. 1997;15(4):173-89.



56. Giona F, Teofili L, Moleti ML, Martini M, Palumbo G, Amendola A, et al. Thrombocytopenia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biologic features, treatment, and long-term outcome. *Blood*. 8 de marzo de 2012;119(10):2219-27.
57. Godfrey AL, Chen E, Pagano F, Silber Y, Campbell PJ, Green AR. Clonal analyses reveal associations of *JAK2V617F* homozygosity with hematologic features, age and gender in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Haematologica*. mayo de 2013;98(5):718-21.
58. Palandri F, Mora B, Gangat N, Catani L. Is there a gender effect in polycythemia vera *Ann Hematol*. 2021;100(1):11-25.
59. 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.
60. Passamonti F, Elena C, Schnittger S, Skoda RC, Green AR, Girodon F, et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with *JAK2* exon 12 mutations. *Blood*. 2011;117(10):2813-6.
61. Tefferi A, Lavu S, Mudireddy M, Lasho TL, Finke CM, Gangat N, et al. *JAK2* exon 12 mutated polycythemia vera: Mayo-Careggi MPN Alliance study of 33 consecutive cases and comparison with *JAK2V617F* mutated disease. *American Journal of Hematology*. 2018;93(4):E93-6.
62. Sano Soichi, Wang Ying, Yura Yoshimitsu, Sano Miho, Oshima Kosei, Yang Yue, et al. *JAK2V617F*-Mediated Clonal Hematopoiesis Accelerates Pathological Remodeling in Murine Heart Failure. *JACC: Basic to Translational Science*. 1 de octubre de 2019;4(6):684-97.
63. Tapper W, Jones AV, Kralovics R, Harutyunyan AS, Zoi K, Leung W, et al. Genetic variation at *MECOM*, *TERT*, *JAK2* and *HBS1L-MYB* predisposes to myeloproliferative neoplasms. *Nature Communications*. 2015;6(1):6691.



64. Oddsson A, Kristinsson SY, Helgason H, Gudbjartsson DF, Masson G, Sigurdsson A, et al. The germline sequence variant rs2736100_C in TERT associates with myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2014;28(6):1371-4.
65. Grinfeld J, Nangalia J, Baxter EJ, Wedge DC, Angelopoulos N, Cantrill R, et al. Classification and Personalized Prognosis in Myeloproliferative Neoplasms. *New England Journal of Medicine*. 2018;379(15):1416-30.
66. Cortés AA, Diaz RA, Hernández-Campo P, Gorrochategui J, Primo D, Robles A, et al. Ruxolitinib in combination with prednisone and nilotinib exhibit synergistic effects in human cells lines and primary cells from myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. mayo de 2019;104(5):937-46.
67. Tibes R, Mesa RA. Targeting hedgehog signaling in myelofibrosis and other hematologic malignancies. *J Hematol Oncol*. 2014;7:18.



CAPÍTULO IX

ANEXOS

1. ANEXO 1. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Nombre de la variable	Definición conceptual	Dimensión	Indicador	Escala
Edad	Tiempo que ha vivido un organismo vivo.	Años	Historia clínica/Base de datos	Cuantitativa: <ul style="list-style-type: none">• 0-10 años.• 11-20 años.• 21-30 años.• 31-40 años.• 41-50 años.• 51-60 años.• 61-70 años.• Más de 70 años.
Sexo	Condición orgánica masculina o femenina de los organismos vivos.	Fenotipo	Historia clínica/Base de datos	Cualitativa: <ul style="list-style-type: none">• Masculino• Femenino
Residencia	Acción y efecto de residir.	Lugar donde reside	Historia clínica/Base de datos	Cualitativa: <ul style="list-style-type: none">• Cantones
Neoplasia mieloproliferativa	Conjunto de enfermedades en las que la médula ósea produce un exceso de células sanguíneas	Policitemia vera/ Trombocitemia esencial/ Mielofibrosis primaria	Historia clínica/Base de datos	Cualitativa: <ul style="list-style-type: none">• Policitemia vera.• Trombocitemia esencial.• Mielofibrosis primaria.
Año de diagnóstico	Año de la determinación de la naturaleza de una enfermedad.	Años	Historia clínica/Base de datos	Cuantitativa <ul style="list-style-type: none">• Año 2015• Año 2016• Año 2017• Año 2018• Año 2019
Mutación <i>JAK2 V617F</i>	Alteración en un bloque de proteínas que codifica el gen <i>JAK 2</i> .	Presenta/ No presenta	Historia clínica/Base de datos	Cualitativa: <ul style="list-style-type: none">• Presenta.• No presenta.



2. ANEXO 2. FORMULARIO

UNIVERSIDAD DE CUENCA		
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS		
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO		
Tema: Frecuencia de la mutación <i>JAK2 V617F</i> en pacientes con neoplasias mieloproliferativas en SOLCA–Cuenca en el periodo 2015–2019.		
Objetivo: Determinar la frecuencia de la mutación <i>JAK2 V617F</i> en pacientes con Neoplasias Mieloproliferativas en SOLCA–Cuenca en el período 2015 – 2019.		
Formulario para la recolección de datos		
Formulario N°: _____ (código)	N° Historia Clínica: _____	
1) Patología diagnosticada:		
<input type="radio"/> Policitemia vera		
<input type="radio"/> Trombocitemia esencial		
<input type="radio"/> Mielofibrosis primaria		
<input type="radio"/> En sospecha diagnóstica		
2) Año de diagnóstico:		
<input type="radio"/> 2015		
<input type="radio"/> 2016		
<input type="radio"/> 2017		
<input type="radio"/> 2018		
<input type="radio"/> 2019		
3) Edad:		
<input type="radio"/> 0 - 15 años		
<input type="radio"/> 16 – 30 años		
<input type="radio"/> 31 - 45 años		
<input type="radio"/> 45 – 60 años		
<input type="radio"/> Más de 60 años		
4) Sexo:		
<input type="radio"/> Masculino		
<input type="radio"/> Femenino		
5) Residencia		

6) Mutación <i>JAK2 V617F</i>:		
<input type="radio"/> Positivo		
<input type="radio"/> Negativo		



3. ANEXO 3. OFICIO DIRIGIDO AL DR. ALVARADO DIRECTOR DEL INSTITUTO DEL CÁNCER SOLCA

Cuenca, 29 de Septiembre de 2020

Señor Doctor

Raúl Alvarado Corral

DIRECTOR DEL INSTITUTO DEL CÁNCER SOLCA-CUENCA.

Su despacho. -

De nuestra consideración:

Con un cordial saludo y felicitándole de antemano por su labor tan abnegada en sus funciones en el Instituto del Cáncer SOLCA, nos dirigimos a usted con la finalidad de solicitarle de la manera más comedida su autorización para que nosotros Gabriela Isabel Jara Murillo con C.I. 0106965544 y Christian Fernando Otavalo Anguisaca con C.I. 0107346306, estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad de Cuenca, podamos acceder a la base de datos del laboratorio de Biología Molecular del Instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca, con el objetivo de recolectar información necesaria para realizar el proyecto de investigación N° 1303-MT aprobado y titulado **“FRECUENCIA DE LA MUTACIÓN JAK2 V617F EN PACIENTES CON NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVOS EN SOLCA-CUENCA EN EL PERIODO 2015 – 2019”**, dirigido por el Dr. Gabriele Bigoni, previo a la obtención del título de Licenciados en Laboratorio Clínico. Además, mediante el presente documento nos comprometemos que toda la información recolectada de los pacientes se utilizará explícitamente en el estudio investigativo y bajo confidencialidad por lo que, no se revelará bajo ningún concepto la información que permita identificar al paciente o causar daños al mismo.

Es importante recalcar, que la investigación proporcionará datos importantes sobre la casuística en nuestra población.

Por la favorable acogida expresamos nuestros agradecimientos.

Atentamente,

Gabriela Jara M.

Christian Otavalo A.

C.I. 0106965544

C.I. 0107346306

Autora de la investigación

Autor de la investigación

PD. Se adjunta:

- Oficio de aprobación del Protocolo de tesis por parte del H. Consejo Directivo de la Universidad de Cuenca.

- Protocolo de tesis aprobado por el H. Consejo Directivo de la Universidad de Cuenca.



4. ANEXO 4. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nosotros, Gabriela Jara con C.I. 0106965544 y Christian Otavalo con C.I. 0107346306, estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias Médicas, previa a la obtención del título de Licenciados en Laboratorio Clínico, realizaremos la tesis titulada “**FRECUENCIA DE LA MUTACIÓN JAK2 V617F EN PACIENTES CON NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVOS EN SOLCA – CUENCA EN EL PERIODO 2015 – 2019**”, la misma que iniciará con la realización de un formulario para la recolección de datos y su correspondiente análisis. Todos los datos obtenidos serán manejados con absoluta confidencialidad siendo únicamente accesibles para las personas que estén a cargo de la investigación.

Gabriela Jara M.

Christian Otavalo

C.I. 0106965544

C.I. 0107346306