

Biomarcadores en las neoplasias mieloproliferativas clásicas BCR-ABL1 negativas

Biomarkers in Classical Myeloproliferative Neoplasms BCR-ABL1 negative

Lesbia Fernández Martínez^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-8359-3061>

Heidys Garrote Santana¹ <https://orcid.org/0000-0002-8449-1278>

Carmen Alina Díaz Alonso¹ <https://orcid.org/0000-0001-6544-0662>

¹Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: rhematologia@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Los biomarcadores son útiles en la definición del diagnóstico, pronóstico y seguimiento de múltiples enfermedades. La detección o medición de uno o más biomarcadores específicos representan alteraciones en vías genéticas o epigenéticas que controlan la proliferación, diferenciación o muerte celular. Las neoplasias mieloproliferativas constituyen un grupo fenotípicamente diverso de hemopatías malignas de origen clonal, caracterizadas por una sobreproducción simple o multilineal de los elementos eritroides, mieloides y megacariocíticos; así como de una marcada predisposición a la trombosis, sangramiento y transformación leucémica. Dentro de ellas se incluyen: la policitemia vera, la trombocitemia esencial y la mielofibrosis primaria, conocidas como neoplasias mieloproliferativas clásicas *BCR-ABL1* (o cromosoma *Philadelphia*) negativas. Las mutaciones somáticas en genes como *JAK2*, *MPL* y *CARL* se comportan como mutaciones *drivers* iniciadoras, responsables del fenotipo mieloproliferativo. **Métodos:** Se revisaron artículos relacionados publicados en los últimos años, en algunas bases de datos de la Biblioteca Virtual de Salud. En esta revisión se exponen los mecanismos moleculares generales de esas mutaciones y su expresión clínica; se hace referencia a las neoplasias mieloproliferativas triple negativas y sus implicaciones clínicas y se indica el algoritmo diagnóstico propuesto por la Organización Mundial de la Salud que incluye los nuevos

biomarcadores. **Conclusiones:** El estudio molecular proporciona información valiosa para el diagnóstico y seguimiento de las neoplasias mieloproliferativas, pero no logra diferenciar entre cada una de ellas. Por esto, se requiere de la adecuada aplicación del método clínico para llegar a un diagnóstico certero con ayuda de otros exámenes complementarios.

Palabras clave: JAK2, MPL, CARL, neoplasias mieloproliferativas, algoritmo diagnóstico

ABSTRACT

Introduction: Biomarkers are useful in the definition of diagnosis, prognosis and monitoring of multiple diseases. The detection or measurement of one or more specific biomarkers represents alterations in genetic or epigenetic pathways that control proliferation, differentiation or cell death. The myeloproliferative neoplasms constitute a phenotypically diverse group of malignant hemopathies of clonal origin, characterized by a simple or multilineal overproduction of the erythroid, myeloid and megakaryocytic elements; as well as a marked predisposition to thrombosis, bleeding and leukemic transformation. These include: polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis, known as classical negative myeloproliferative neoplasms BCR-ABL1 (or Philadelphia chromosome). Somatic mutations in genes such as JAK2, MPL and CARL behave as initiating driver mutations responsible for the myeloproliferative phenotype. **Methods:** Articles published in the last years were reviewed in some databases of the Virtual Health Library (VHL). In this review we expose the general molecular mechanisms of these mutations and their clinical expression; reference is made to the triple negative myeloproliferative neoplasms and their clinical implications and the diagnostic algorithm proposed by the World Health Organization that includes the new biomarkers is indicated. **Conclusions:** The molecular study provides valuable information for the diagnosis and monitoring of myeloproliferative neoplasms, but fails to differentiate between each of them. Therefore, the appropriate application of the clinical method is required to arrive at an accurate diagnosis with the help of other complementary tests.

Keywords: JAK2, MPL, CARL, myeloproliferative neoplasms, diagnostic algorithm

Recibido: 21/01/2019

Aceptado: 19/06/2019

Introducción

La introducción de tecnologías como la secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés) de ácido desoxirribonucleico (ADN) ha contribuido al descubrimiento de nuevos biomarcadores útiles en la definición del diagnóstico, pronóstico, predicción de la respuesta a terapias particulares y monitoreo de la enfermedad mínima residual. Todo ello depende de la detección o medición de uno o más biomarcadores específicos de diferentes enfermedades que representan alteraciones en vías genéticas o epigenéticas que controlan la proliferación, diferenciación o muerte celular.⁽¹⁾

Dentro de las enfermedades hematológicas las neoplasias mieloproliferativas (NMP) representan un claro ejemplo del empleo de los biomarcadores en la práctica médica y de su importancia en el diagnóstico y tratamiento de los enfermos.

Las NMP constituyen un grupo fenotípicamente diverso de hemopatías malignas de origen clonal caracterizadas por una sobreproducción simple o multilineal de los elementos eritroides, mieloides y megacariocíticos; así como de una marcada predisposición a la trombosis, sangramiento y transformación leucémica. Aquí se incluyen tres NMP con características clínicas distintivas: la policitemia vera (PV), la trombocitemia esencial (TE) y la mielofibrosis primaria (MFP), conocidas como NMP clásicas *BCR-ABL1* (o cromosoma *Philadelphia*) negativas.⁽²⁾

La PV se caracteriza por eritrocitosis frecuentemente combinada con trombocitosis o leucocitosis con supresión endógena de la producción de eritropoyetina y panmielosis en médula ósea. La TE presenta trombocitosis y médula ósea normocelular con proliferación megacariocítica. En la MFP prefibrótica se observan alteraciones en sangre periférica con proliferación granulocítica y megacariocítica en médula ósea, en ausencia de fibrosis reticulínica. En la MFP, además, se encuentra esta proliferación con signos de atipia acompañada por fibrosis de reticulina o colágeno de grado 2/3. También puede encontrarse desplazamiento anormal de *stem cell* con metaplasia mieloide (hematopoyesis extramedular en hígado o bazo).⁽³⁾

Las mutaciones somáticas en genes como *JAK2* (Janus quinasa 2), *MPL* (*Myeloproliferative Leukemia Protein*) y *CARL* (calreticulina) se comportan como mutaciones *drivers* iniciadoras, responsables del fenotipo mieloproliferativo de las NMP. Estas son clasificadas así porque

constituyen alteraciones genómicas que provocan una ventaja selectiva en una célula con capacidad para autorregenerarse, lo que conlleva a la formación de un clon de células mutadas.^(4,5) No obstante, se han encontrado mutaciones epigenéticas a nivel del gen *TET2* (*TET oncogene family member 2*)⁽⁴⁾ y el haplotipo 46/1⁽⁶⁾ que pueden preceder al fenotipo mieloproliferativo sin manifestaciones hematológicas. Existen estudios que han identificado mutaciones subclonales en los genes: *TP53* (*tumor protein p53*), *ASXL1* (*Additional Sex Combs-Like 1*), *SRSF2* (*serine/arginine-rich splicing factor 2*), *EZH2* (*enhancer of zeste homolog 2*), *IDH1* e *IDH2* (*isocitrate dehydrogenase 1 and 2*) y el propio gen *TET2*, que se asocian a la progresión de la enfermedad con alto riesgo de transformación leucémica y muerte prematura.^(5, 7-9) En total, se han identificado más de 20 mutaciones en las NMP.⁽¹⁰⁾

La Organización Mundial de la Salud (OMS), reconociendo el impacto de estas alteraciones moleculares en las NMP las incluyó dentro de los criterios diagnósticos mayores de estas enfermedades en sus dos últimas actualizaciones,^(11,12) lo que confirma la robustez diagnóstica de estos biomarcadores.

Jak2

En el año 2005, cuatro grupos independientes describieron la presencia de la mutación *V617F* del gen *JAK2* en las NMP.⁽¹³⁻¹⁶⁾ La proteína *JAK2* derivada del gen con igual nombre, pertenece a la familia de tirosinas quinasa no receptoras *JAK* formada por 4 miembros, *JAK1-3* y *TYK2*, que median la señalización de aproximadamente 60 citoquinas y hormonas.⁽⁵⁾ Su función biológica está determinada por su interacción con receptores específicos de citoquinas. Los reordenamientos del receptor inducidos por el ligando conducen a la fosforilación *trans* del dominio tirosina quinasa del *JAK2*, que resulta en estimulación de su actividad quinasa y progresión de la señal de transducción a través de las vías *STATs* (transductores de señal y activadores de la de transcripción), *Ras-MAPK* y *PI3K/AKT*, las cuales regulan la proliferación, apoptosis y diferenciación en células mieloides. Esta actividad se encuentra estrictamente regulada en varios niveles.^(5, 17-18)

La mutación *JAK2V617F* consiste en el cambio de una guanina por una timina en el nucleótido 1 849, localizado en el exón 14 del gen *JAK2* en el cromosoma 9. Esta alteración genera el cambio de una valina (V) por fenilalanina (F) en la posición 617 de la cadena aminoacídica.⁽¹⁹⁾ Como

consecuencia, se produce una activación constitutiva de la proteína JAK2 en ausencia de la unión del ligando al receptor hematopoyético, que provoca una activación permanente de la vía de JAK/STATs. Esta mutación es la principal alteración molecular descrita en la NPM clásicas *BCR-ABL1* negativas con una frecuencia del 95 % en la PV y del 55 al 60 % en la TE y MFP.⁽¹⁹⁻²²⁾

Aunque esta mutación no es específica de ninguna de las NMP, su presencia proporciona evidencia de proliferación clonal y excluye cualquier consideración de causa reactiva.⁽²³⁾ Esta puede encontrarse en menos del 5 % de pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA), síndromes mielodisplásicos, leucemia mielomonocítica crónica y otras hemopatías malignas. En la anemia refractaria con sideroblastos anillados y marcada trombocitosis puede hallarse con una frecuencia del 50 %.⁽¹⁰⁾ Aunque poco común, se han reportado casos de pacientes con esta mutación secundaria a la presencia del gen de fusión *BCR-ABL1* en la leucemia mieloide crónica.⁽²⁴⁾

En la MFP esta mutación se asocia con escasa supervivencia y edad avanzada, pero no hay un incremento significativo de riesgo de trombosis. También se relaciona con mayor conteo de leucocitos, nivel de hemoglobina y conteo de plaquetas. En la TE los pacientes presentan aumento de la incidencia de trombosis venosa y edad avanzada al debut, mayores niveles de hemoglobina, así como de leucocitos y menor conteo de plaquetas. En la PV la presencia de la mutación se vincula con altos niveles de hemoglobina y de neutrófilos, pero no hay correlación significativa con eventos trombóticos.⁽²⁵⁾

Diversos estudios han estimado la carga alélica en la mutación V617F del *JAK2* mediante la cuantificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) en tiempo real, lo que constituye un marcador diagnóstico excelente para definir el pronóstico, complicaciones y evolución de las NMP.^(26,27) De acuerdo a esos estudios, los pacientes con TE presentan menor carga alélica que aquellos con PV, los pacientes con MFP presentan un rango intermedio entre estos dos y los aquejados de MF post-PV portan una mayor carga alélica que el resto.⁽²⁷⁾

La baja carga alélica de la mutación *JAK2V617F* en la MFP se ha asociado con peor pronóstico, mientras que una carga alélica mayor del 50 % en la PV se vincula con un incremento del riesgo de transformación fibrótica y prurito.⁽¹⁰⁾ La estimación de la carga alélica permite evaluar la respuesta al tratamiento en estos enfermos.⁽²⁷⁾

En el año 2007, se identificaron mutaciones en el exón 12 del gen *JAK2* en solo 3-5 % de los casos de PV y eritrocitosis idiopática, negativas para *JAK2V617F*.⁽²⁸⁾ Se han verificado clínicamente 27 alteraciones dentro de las que se incluyen sustituciones, deleciones y duplicaciones. Otras mutaciones del exón 12 han sido reportadas, pero se desconoce su significado clínico. La mutación más frecuente involucra la deleción de un marco de 6 nucleótidos del codón 542 al 543 y se encuentra presente en aproximadamente el 40 % de la PV negativas al *JAK2V617F*.⁽¹⁹⁾

Esas mutaciones inducen proliferación (independiente de citoquinas), de la expresión del receptor de eritropoyetina (EpoR) con incremento en los niveles de JAK2 fosforilado y STAT5.⁽²⁵⁾

Los pacientes que portan mutaciones del exón 12 del gen *JAK2* son significativamente más jóvenes, comparados con los portadores de la mutación *JAK2V617F*. Sus niveles de hemoglobina y hematocrito son mayores y la mayoría presenta conteo de leucocitos y plaquetas normales.⁽²⁵⁻²⁹⁾

Estos pacientes también pueden experimentar complicaciones trombóticas y transformación de la enfermedad a mielofibrosis o LMA de modo similar a los portadores de *JAK2V617F*.⁽²⁹⁾

Otras mutaciones en los exones 3, 15, 14 y 16 (diferente de V617F) del gen *JAK2* son excepcionalmente raras en las NMP y se han encontrado en diferentes enfermedades.^(5,19)

Mpl

En el 2006, se describieron mutaciones que afectan al gen que codifica para el receptor de la trombopoyetina, (TPO) *MPL*.⁽³⁰⁾ La unión de la TPO al c-MPL (receptor de TPO) conduce a la activación del JAK2, el cual fosforila al c-MPL e inicia una cascada de eventos de señalización *downstream* que regulan la supervivencia, proliferación y diferenciación celular.^(19, 25, 31) Las mutaciones que derivan en la sustitución del aminoácido triptófano (W) producen un daño en la región autoinhibitoria del receptor y estimulación del receptor independiente del ligando,^(19, 25, 32) lo cual permite la activación de tirosinas quinasa y de factores de transcripción como STAT3 y STAT5, que a su vez provoca la transformación de células hematopoyéticas en clones independientes de citoquinas, lo que resulta en hiperplasia megacariocítica y fibrosis medular.⁽¹⁹⁾

Estas mutaciones se producen en el exón 10 del gen situado en el brazo corto del cromosoma 1(1p34) y afectan principalmente al aminoácido 515 y, con menor frecuencia, al 505. Se han definido varias alteraciones moleculares en esta región: *W515L* (más frecuente), *W515K*, *W515A*,

W515R, *S505N*. También se han descrito en otros exones: *V501A*, *Y252H* y *S204P*.^(19, 25, 33) La *Y252H* se encuentra en el dominio extracelular del MPL en pacientes con TE.⁽¹⁹⁾ En general, las mutaciones en *MPL* son infrecuentes, aproximadamente entre el 3-15 % de los pacientes afectados de TE o MFP.^(19, 21, 25, 33)

Los pacientes en los que se identificaron estas variaciones tienen mayor riesgo de presentar complicaciones trombóticas y ser más dependientes de transfusiones que los pacientes positivos a la mutación *JAK2V617F*. Las alteraciones del *MPL* se relacionan con edad avanzada, alto conteo de plaquetas y elevados niveles de eritropoyetina (EPO); así como baja celularidad en médula ósea y cifras de hemoglobina disminuidas.⁽²⁵⁾

Carl

En el 2013, se publicaron dos artículos que, aunque utilizaron enfoques diferentes para identificar afectaciones en el gen que codifica la proteína calreticulina, proporcionaron una fuerte evidencia genética de que las mutaciones en el gen *CARL* es importante en la patogénesis de la TE y MFP.^(34, 35)

El gen *CARL* está localizado en el cromosoma 19 (19p13.2) y presenta 9 exones.^(10, 25, 36-38) La proteína *CARL* es una proteína multifuncional unida al Ca^{2+} con actividad de chaperona localizada fundamentalmente en el retículo endoplásmico (RE). Las mutaciones detectadas consisten en deleciones e inserciones que afectan al último exón del gen (el exón 9) y generan un cambio de estructura a un único marco de lectura alternativo que resulta en una nueva secuencia aminoacídica del dominio C-terminal. Además, en la proteína mutada está ausente la señal KDEL, lo que conduce a una dislocación parcial del *CARL* en el RE.^(4, 25, 36, 38-40) En su mecanismo de acción el *CARL* activa al *JAK2* en asociación con el c-MPL e induce trombocitosis en modelos en ratones.⁽³⁶⁻⁴⁰⁾

Las mutaciones en *CARL* representan la segunda alteración molecular con mayor prevalencia después de la mutación *JAK2V617F*.^(4, 25) Su frecuencia se estima en 49 % en la TE y el 74 % en la MFP sin *JAK2/MPL* mutado.⁽⁴¹⁾ Aunque se han detectado más de 50 tipos diferentes de mutaciones en el exón 9 del *CARL*, más del 80 % corresponden a las mutaciones tipo 1 (delección de 52 pb) y tipo 2 (inserción de 5 pb).^(4, 25, 41) Las mutaciones *CARL* no tipo 1/2 se clasifican en variantes similares al tipo 1 o 2 (“*type like-1*” o “*type like-2*”) sobre la base de su semejanza



estructural con cada una de ellas.⁽²⁵⁾ Las mutaciones tipo 1 son las más comúnmente encontradas tanto en la MFP como en la TE y se asocian con mayor supervivencia de los pacientes en comparación con las mutaciones tipo 2 y la mutación *JAK2V617F*.^(10, 25, 41)

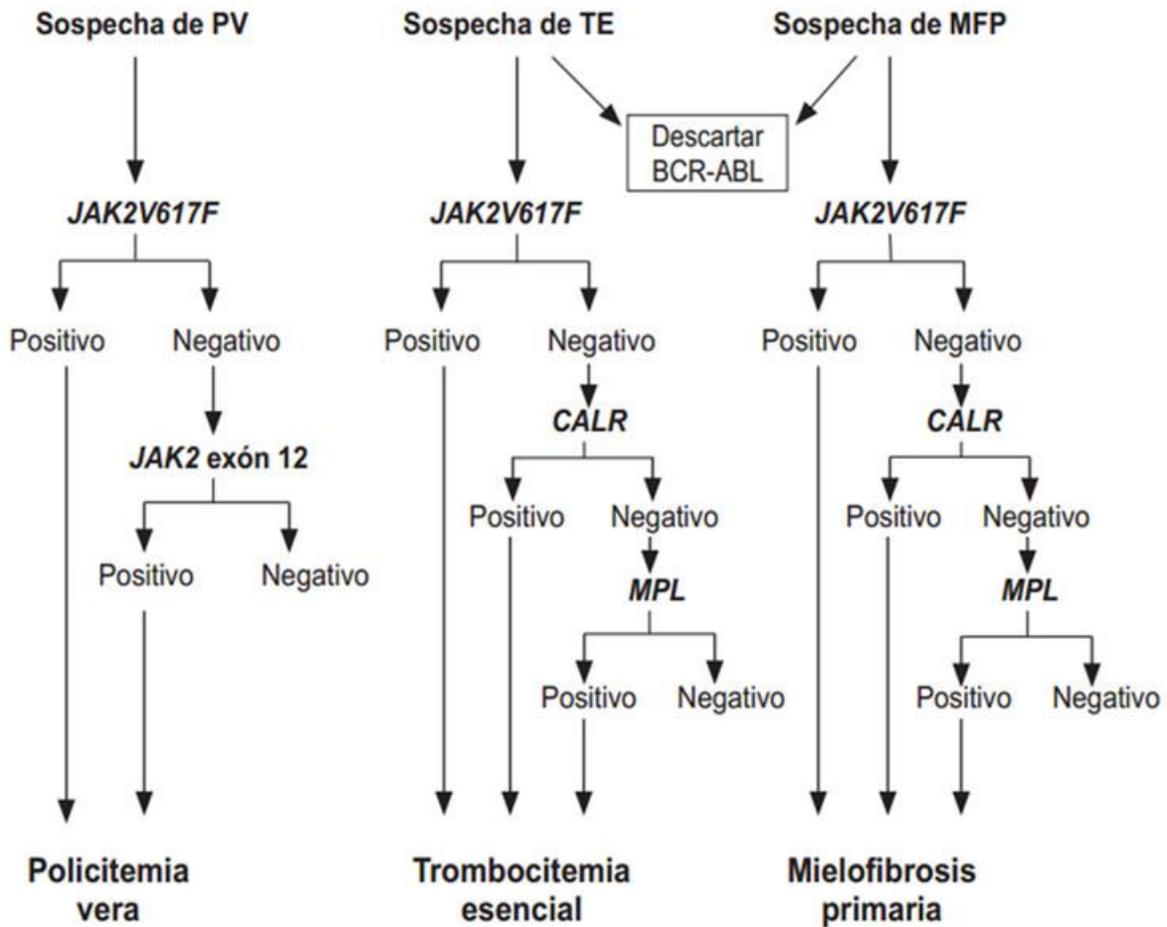
En diversas investigaciones se ha observado que los pacientes con TE positivos a mutaciones del *CARL*, comparados con los positivos al *JAK2V617F*, presentan menores niveles de hemoglobina y de leucocitos; mayor conteo de plaquetas y menor riesgo de trombosis.^(10, 25, 41-42) Sin embargo, otros estudios señalan un riesgo relativamente alto de transformación mielofibrótica (especialmente asociado con la mutación tipo 1).⁽³⁾ En la MFP las mutaciones *CARL* se relacionan con pacientes más jóvenes, mayor conteo de plaquetas y menor incidencia de anemia y leucocitosis con relación a las mutaciones de *JAK2* y *MPL*.^(10, 25, 41) Los pacientes son menos dependientes de transfusiones sanguíneas y tienen mayor supervivencia que los portadores de otras mutaciones.⁽²⁵⁾

NMP triple negativas

Alrededor del 10 % de los pacientes con TE y aproximadamente del 5 al 10 % de aquellos con MFP reúnen los criterios diagnósticos establecidos por la OMS para las NMP, pero no se identifican en ellos ninguna de las tres mutaciones *drivers* aquí analizadas. Este grupo de pacientes se definen como triples negativos.^(3, 10, 43) En algunos de ellos con TE, se han identificado mutaciones atípicas del gen *MPL* y variantes de mutaciones del gen *JAK2*.^(33,43-44) En general, la TE triple negativa se comporta de manera más benigna con baja incidencia de eventos vasculares. En cambio, la MFP triple negativa se muestra como una neoplasia mieloides agresiva con características mielodisplásicas prominentes y alto riesgo de progresión leucémica.^(3, 43)

Algoritmo diagnóstico

El algoritmo diagnóstico de los biomarcadores en las NMP tiene en cuenta dos aspectos fundamentales: la frecuencia de distribución del *JAK*, *CARL* y *MPL* en las NMP *BCR-ABL1* negativas y el hecho de que estas se consideran mutuamente excluyentes entre sí (aunque existen reportes aislados de su coexistencia) (fig. 1).^(20, 45-46) La OMS recomienda, en ausencia de estos tres biomarcadores principales, la búsqueda de mutaciones acompañantes para determinar la naturaleza clonal de la enfermedad (*ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/IDH2*, *SRSF2*, *SF3B1*).⁽¹²⁾



Leyenda: PV: Policitemia vera; TE: trombocitemia esencial; MFP: mielofibrosis primaria; BCR-ABL: cromosoma Filadelfia; JAK2: Janus quinasa 2; JAK2V617F; CALR: calreticulina; MPL: *Myeloproliferative Leukemia Protein*

(Tomado y modificado de Sieza Y, et al. HEMATOLOGÍA. 2018; 22(2): 151-6)²⁰

Fig. 1- Algoritmo diagnóstico de las NMP *BCR-ABL* negativas

Aunque el estudio molecular proporciona información valiosa para el diagnóstico y seguimiento de las NMP y muestra evidencia de clonalidad, no logra diferenciar entre cada una de ellas.^(12, 47) Por esto, se requiere de la adecuada aplicación del método clínico para llegar a un diagnóstico certero con ayuda de otros exámenes complementarios como la biopsia de médula ósea, especialmente en la TE y la MFP, para identificarlas entre sí.⁽¹²⁾

Referencias bibliográficas

1. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. Devita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology. 10 ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2015.
2. Barbui T, Tefferi A, eds. Myeloproliferative Neoplasms: Critical Concepts and Management. Berlín: Springer-Verlag Berlín Heidelberg; 2012.
3. Rumi E, Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017;129(6):680-92.
4. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin - The clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014;123(24):3714-9.
5. Silvennoinen O, Hubbard SR. Molecular insights into regulation of JAK2 in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2015;125(22):3388-92.
6. Stolyar MA, Klimova OA, Gorbenko AS, Brenner EV, Titov SE, Ivanov MK, et al. JAK2 haplotype 46/1 and JAK2 V617F allele burden in MPN: New evidence against the "hypermutable" hypothesis? *Int J Lab Hem*. 2017;40(1):e8-e10. doi: 10.1111/ijlh.12765
7. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, Looser R, Hui Hao-Shen H, Nissen I, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014;123(14):2220-8.
8. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia*. 2010; 24:1128-38.
9. Rumi E, Pietra D, Pascutto C, Guglielmelli P, Martínez Trillos A, Casetti I, et al. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood*. 2014; 124(7):1062-9.
10. Barbui T, Thiele J, Vannucchi AM, Tefferi A. Rationale for revision and proposed changes of the WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis. *Blood Cancer J*. 2015;5:e337.
11. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia*. 2008;22:14-22.
12. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-405.

13. Baxter J, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*. 2005;365:1054-61.
14. James C, Ugo V, Le Couedic JP, 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.
15. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 2005;352: 779-90.
16. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*. 2005;7:387-97.
17. Cahu X, Constantinescu SN. Oncogenic Drivers in Myeloproliferative Neoplasms: From JAK2 to Calreticulin Mutations. [Curr Hematol Malig Rep](#). 2015;10(4):335-43.
18. Hubbard SR. Mechanistic insights into Regulation of JAK2 Tyrosine Kinase. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;8: 361. doi: 10.3389/fendo.2017.00361.
19. Gong JZ, Cook JR, Greiner TC, Hedvat C, Hill CE, Lim MS et al. Laboratory Practice Guidelines for Detecting and Reporting JAK2 and MPL Mutations in Myeloproliferative Neoplasms. *J Mol Diagn*. 2013;15:733e44 doi: 10.1016/j.jmoldx.2013.07.002.
20. Sieza Y, Di Camilo I, Mazziott L, Archuby ML, Riva ME, Orellano L. Distribución de mutaciones en JAK2, MPL y CALR en pacientes con sospecha de neoplasias mieloproliferativas crónicas Phi negativas provenientes de hospitales públicos de la provincia de Buenos Aires. *HEMATOLOGÍA*. 2018;22(2):151-6.
21. Lee E, Lee KJ, Park H, Chung JY, Lee M, Chang MH, et al. Clinical Implications of Quantitative JAK2 V617F Analysis using Droplet Digital PCR in Myeloproliferative Neoplasms. *Ann Lab Med*. 2018;38:147-54.
22. Roongrudee S, Teerapong S, Takol C, Adcharee K, Nittaya L, Tanasan S, et al. Characterization and Prognosis Significance of JAK2 (V617F), MPL, and CALR Mutations in Philadelphia-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(10):4647-53.

23. Didone A, Nardinelli L, Marchiani M, Lancha Ruiz AR, Lima Costa AL, Lima IS, et al. Comparative study of different methodologies to detect the JAK2 V617F mutation in chronic BCR-ABL1 negative myeloproliferative neoplasms. *Pract Lab Med.* 2016;4:30-7.
24. Carranza C, Tinti D, Herrera M, Rosales L, Villegas M, Silva G. Detection of Jak2 V617f Mutation, Secondary to the Presence of Bcr-Ab11 Translocation in a Patient with Chronic Myeloid Leukemia: Report of a Case and Review of the Literature. *Int J Genomic Med.* 2014;2:116. doi: 10.4172/2332-0672.1000116.
25. Saeidi K. Myeloproliferative neoplasms: Current molecular biology and genetics. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;98:375-89.
26. Shirane S, Araki M, Morishita S, Edahiro Y, Sunami Y, Hironaka Y, et al. Consequences of the JAK2V617F allele burden for the prediction of transformation into myelofibrosis from polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Int J Hematol.* 2015;101:148-53.
27. Alshemmari SH, Rajaan R, Ameen R, Al-Drees MA, Almosailekh MR. JAK2 V617F allele burden in patients with myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol.* 2014;93:791-6.
28. 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.
29. Scott LM. The JAK2 exon 12 mutations: A comprehensive review. *Am J Hematol.* 2011;86(8):668-76.
30. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med.* 2006;3(7):e270. doi: 10.1371/journal.pmed.0030270.
31. Sasazawa Y, Sato N, Suzuki T, Dohmae N, Simizu S. C-mannosylation of thrombopoietin receptor (c-Mpl) regulates thrombopoietin-dependent JAK-STAT signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015 Dec;468(1-2):262-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.10.116.
32. Rashidi A, Heusel JW, Oh ST. Concurrent MPL W515L and Y591D mutations in a patient with myelofibrosis. *Blood Cells Mol Dis.* 2016;60:1-2. doi: 10.1016/j.bcnd.2016.05.010.
33. 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(3):325-32.

34. 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(25): 2391-405.
35. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med.* 2013; 369(25):2379-90.
36. Chachoua I, Pecquet C, El-Khoury M, Nivarthi H, Albu R, Marty C, et al. Thrombopoietin receptor activation by myeloproliferative neoplasm associated calreticulin mutants. *Blood.* 2016;127(10):1325-35.
37. Araki M, Yang Y, Masubuchi N, Hironaka Y, Takei H, Morishita S, et al. Activation of the thrombopoietin receptor by mutant calreticulin in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2016;127(10):1307-16.
38. Elf S, Abdelfattah NS, Chen E, Perales-Patón J, Rosen EA, Ko A, et al. Mutant calreticulin requires both its mutant c-terminus and the thrombopoietin receptor for oncogenic transformation. *Cancer Discov.*2016;6(4):1-14.
39. Imai M, Araki M, Komatsu N. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol.* 2017;105(6):743-47.
40. Rosso V, Petiti J, Bracco E, Pedrola R, Carnuccio F, Signorino E, et al. A novel assay to detect calreticulin mutations in myeloproliferative neoplasms. *Oncotarget.* 2017;8(4):399-405.
41. Tefferi A, Lasho TL, Finke C, Belachew AA, Wassie EA, Ketterling RP, et al. Type 1 vs type 2 calreticulin mutations in primary myelofibrosis: differences in phenotype and prognostic impact. *Leukemia.* 2014;28(7):1568-70.
42. Zini R, Guglielmelli P, Pietra D, Rumi E, Rossi C, Rontautoli S, et al. CALR mutational status identifies different disease subtypes of essential thrombocythemia showing distinct expression profiles. *Blood Cancer J.* 2017;7(12):638.
43. Langabeer SE. Chasing down the triple-negative myeloproliferative neoplasms: Implications for molecular diagnostics. *JAKSTAT.* 2016 Nov 14;5(2-4):e1248011. doi: 10.1080/21623996.2016.1248011.

44. 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(3):333-42.
45. Usseglio F, Beaufile N, Calleja A, Raynaud S, Gabert J. Detection of CALR and MPL Mutations in Low Allelic Burden JAK2 V617F Essential Thrombocythemia. *J Mol Diagn*. 2017;19(1):92-8.
46. Ahmed RZ, Rashid M, Ahmed N, Nadeem M, Shamsi TS. Coexisting JAK2V617F and CALR Exon 9 Mutations in Myeloproliferative Neoplasms - Do They Designate a New Subtype? *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016; 17(3):923-6.
47. Tefferi A, Noel P, Hanson CA. Uses and Abuses of JAK2 and MPL Mutation Tests in Myeloproliferative Neoplasms. *J Mol Diagn*. 2011;13(5):461-6.

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflictos de intereses.

Contribución de autoría

Dra. Lesbia Fernández Martínez: Realizó la recopilación de toda la bibliografía utilizada, seleccionó los artículos relevantes para la revisión. Hizo aportaciones importantes a la concepción del artículo, la redacción del borrador, la revisión crítica de su contenido intelectual y la aprobación final de la versión que va a publicarse.

Dra.C. Heidys Garrote Santana: Hizo aportaciones importantes a la concepción del artículo, la revisión crítica de su contenido intelectual y la aprobación final de la versión que va a publicarse.

Lic. Carmen Alina Díaz Alonso: Realizó la recopilación de la bibliografía relacionada con el JAK2V617F y el exón 12 del JAK2 y participó en la revisión crítica de su contenido intelectual y la aprobación final de la versión que va a publicarse.