



UNIVERSIDAD VERACRUZANA

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION VERACRUZ SUR**

HOSPITAL GENERAL REGIONAL No.1
"Lic. Ignacio García Téllez"
ORIZABA VERACRUZ

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO:

**"PREVALENCIA DE MUTACIÓN JANUS QUINASA 2 (JAK 2) EN
PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE SINDROME MIELOPROLIFERATIVO
EN UN HOSPITAL DE SEGUNDO NIVEL"**

PRESENTA:

Dra. Giselle Ledesma Soto
Residente de Primer Año de Medicina Interna

ASESOR METODOLÓGICO:

Dra. Socorro Vázquez Ávila.
Médico no Familiar Neumólogo
Master en Ciencias

Orizaba Ver. Año 2014

Contenido

JUSTIFICACION	4
ANTECEDENTES CIENTÍFICOS.....	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
HIPOTESIS	16
OBJETIVOS	17
VARIABLES	18
OPERATIVIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	19
MATERIAL Y METODOS	22
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	26
RECURSOS.....	27
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	28
ANEXOS.....	29
CRONOGRAMA	31
BIBLIOGRAFÍA.....	32

**PREVALENCIA DE MUTACIÓN JANUS QUINASA 2 (JAK 2) EN
PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE SINDROME MIELOPROLIFERATIVO
EN UN HOSPITAL DE SEGUNDO NIVEL**

JUSTIFICACION

Los síndromes mieloproliferativos son una enfermedad hematológica maligna caracterizada por una proliferación clonal de una o varias series, a nivel de la célula madre multipotencial, con un incremento en la producción de células sanguíneas. Comúnmente se incluyen 4 entidades más representativas como es policitemia vera (PV), trombocitosis esencial, mielofibrosis, así como leucemia mieloide crónica.

Esta mutación se observó en cerca de 90% de los casos con PV. También se encontró en aproximadamente 50% de los casos con MI y TE, mientras que no se ha encontrado en sujetos sanos, por lo cual esta mutación tiene un muy alto valor predictivo en distinguir SMPC de condiciones no clonales.

La detección de esta mutación tendría un fuerte impacto en el diagnóstico, la clasificación y el tratamiento de estas entidades. Por tanto se ha propuesto incorporar la detección de esta mutación como un test diagnóstico de primera línea frente a sospecha de un síndrome mieloproliferativo, dado que la detección del JAK2 V617F tiene un alto valor predictivo positivo del diagnóstico de PV, podría ser una prueba dirigida.

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

En el 2005 un grupo de investigadores reportaron la identificación de una activación recurrente de una mutación de la tirosin quinasa, Val617phe, en el JH2 dominio pseudoquinasa, de Janus kinasa 2, en pacientes con síndrome mieloproliferativo, debida a la sustitución de una guanina por una timina en el nucleótido 1849 del exón 14, lo cual resulta en el reemplazo de una valina por una fenilalanina en la posición 617 de la proteína. La mutación V617F se detectó a partir del ADN genómico previamente obtenido, mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) alelo específica, según el método publicado por Baxter y colaboradores. Esta PCR está diseñada de forma que se utilizan tres cebadores diferentes, denominados JAK2R, JAK2F/IC y JAK2F. El cebador JAK2F es específico para el alelo mutante y el cebador JAK2F/IC se encuentra en todos los individuos independientemente de la presencia o no de la mutación, por lo que constituye un control interno de la reacción. De esta forma, en todos los individuos se amplifica un producto de 364 pares de bases (pb) con los cebadores JAK2F/IC y JAK2R, y solamente en los individuos que presentan la mutación en estudio se obtiene un producto de 203 pb utilizando los cebadores JAK2F y JAK2R. ¹

Las tirosincinasas (TC) son un grupo de enzimas que transfieren adenosintrifosfato, es decir, fosforilan los aminoácidos tirosina presentes en otras proteínas. Se han descrito 2 tipos de TC. Hay receptores celulares con actividad intrínseca TC y otras TC intracelulares. Los receptores TC transmiten las señales extracelulares de los factores de crecimiento vía fosforilación de otras proteínas (como las del grupo STAT). Las proteínas con actividad TC que no son receptores celulares, o TC citoplásmicas, se unen a receptores celulares y son capaces de transmitir señales mediante la fosforilación de otras proteínas del citoplasma. Un ejemplo de estas TC

citoplásmicas sería la TC JAK2, de Janus cinasa 2, que se une al receptor de la eritropoyetina. Todas las TC están implicadas en la regulación de la diferenciación, muerte y crecimiento celulares. Las anomalías de estas TC se han implicado en la génesis de varios síndromes mieloproliferativos (SMP) y síndromes mieloproliferativos/mielodisplásicos, como la TC ABL en la leucemia mieloide crónica (LMC), el c-Kit en la mastocitosis sistémica y el receptor beta del factor de crecimiento plaquetario en la leucemia mielomonocítica crónica. Recientemente la TC JAK2 se ha relacionado con la policitemia vera (PV) y con otros SMP. La proteína JAK2 es una TC que se une a la región citoplásmica del receptor de la eritropoyetina. Cuando la eritropoyetina se une a su receptor, éste forma un homodímero y se activa la TC JAK2, que a su vez provocará la fosforilación de nuevas proteínas intracelulares, como el STAT5. La consecuencia final es que de esta manera la eritropoyetina ejerce su efecto inhibitorio de la apoptosis e induce la proliferación y diferenciación celulares. Otros receptores celulares también unen la TC JAK2. ²

Como se conoce los síndromes mieloproliferativos con desordenes de la célula madre caracterizado por la proliferación de uno o más linajes de células, de acuerdo a la clasificación de la OMS del 2008 los síndromes mieloproliferativos se clasifican en leucemia mieloide crónica, policitemia vera, trombocitosis esencial, mielofibrosis primaria, leucemia neutrofílica crónica, leucemia crónica eosinofílica, mastocitosis. Existen criterios que deben de cumplirse de acuerdo a la OMS para el diagnóstico de cada uno de los síndromes mieloproliferativos, entre los cuales hay criterios menores y mayores, a grandes rasgos la policitemia vera cuenta con dos criterios mayores, y 3 criterios menores, entre los criterios mayores se debe de contar con una hemoglobina mayor de 18.5 g/dl en hombres y mayor a 16.5 g/dl en mujeres, la presencia de la mutación de JAK2 V617F o la mutación en el

exón 12 de JAK2, los menores son proliferación de 3 series celulares las cuales se deben ver en el aspirado de médula ósea, eritropoyetina en suero disminuida, factor estimulador de colonia de eritrocitos, en trombocitosis esencial tenemos como criterios mayores 4 los cuales son un conteo de plaquetas mayor o igual de 450 000, la presencia de megacariocitos inmaduros, que no se cumplan criterios para otro tipo de síndrome mieloproliferativo, demostración de la JAK2 V617F, no evidencia de trombocitosis reactiva, en cuanto a mielofibrosis primaria, debe de ver la proliferación y atipia de megacariocitos, acompañados de cambios de fibrosis, que no se cumplan criterios para otro síndrome mieloproliferativo, la demostración de JAK2 V617F que no hay evidencia de fibrosis en la médula, como criterios menores debe de cumplir que hay leucoeritroblastos, aumento de DHL, anemia, y esplenomegalia palpable. Así pues tenemos que JAK2V617F (Janus kinasa 2; 9p24) es la mutación más frecuente en BCR-ABL1 negativo en síndromes mieloproliferativos, en cuanto a frecuencia tenemos que aproximadamente 96% en PV, 55% en TE, y 65% en MFP. De acuerdo a ciertas características se hace la estratificación de una riesgo adaptado de trombosis para el inicio de terapia en síndromes mieloproliferativos con tres grupos principales los cuales se clasifican en: riesgo bajo cuando un paciente cuenta con una edad menor de 60 años de edad, sin antecedente de trombosis, con riesgo bajo pero con antecedente de trombocitosis en cifras elevadas, y en pacientes con riesgo alto que son los paciente que tienen más de 60 años de edad, y que cuentan con antecedente de trombosis, de acuerdo a ello vamos a dar un tratamiento: en la TE de bajo riesgo se administra solamente dosis bajas de aspirina, en pacientes con riesgo bajo pero con trombocitosis se administra por igual aspirina, y en pacientes con alto riesgo se realiza la administración de aspirina con hidroxurea para la citorreducción, en pacientes con diagnóstico de PV de riesgo bajo se tratan con dosis bajas de aspirina además de

flebotomía, en paciente en riesgo bajo pero con trombocitosis se realiza el mismo tratamiento, en pacientes con alto riesgo se administra aspirina hidroxiurea así como realización de flebotomía, para el manejo de paciente con mielofibrosis primaria de bajo riesgo se mantienen en observación así como andrógenos o talidomida, con prednisona, hidroxiurea, en paciente con trombocitosis pero con bajo riesgo también se mantienen en observación el tratamiento antes mencionado, y en pacientes con alto riesgo se realiza trasplante alogénico de célula madre, existe una escala la cual da un riesgo extra a pacientes con mielofibrosis primaria, dividiendo en bajo riesgo los cuales no cuentan con factores de riesgo asociados, como son la edad mayor de 65 años, hemoglobina menor a 10 g/dl, leucocitos mayor a 25 000, blastos mayor de 1% circulando en sangre, la presencia de síntomas constitucionales, presencia de una cariotipo no favorable, y pacientes que cuenten con un conteo de plaquetas menor de 100 000, así como requerimiento de transfusión, un riesgo intermedio 1 cuando solo cuentan con una factor de riesgo, con riesgo intermedio 2 cuando cuentan con 2-3 factores de riesgo, y de riesgo alto cuando hay 4 o más factores de riesgo relacionados.³

De acuerdo a otra revisión de un estudio con 480 pacientes con diagnóstico de síndrome mieloproliferativo se observó que 81% de paciente diagnosticados con PV presentaban JAK2 V617F de las cuales 31 pacientes eran del género masculino, contra 27 que eran del género femenino, con una media de edad de 57 años, en ET con un total de 59 pacientes con un total de 41% de pacientes con la presencia de V617F positivo, de los cuales 15 fueron masculino y 9 paciente femeninos, con una edad promedio de 65 años, en cuento a mielofibrosis primaria se reportaron 35 pacientes en total con diagnóstico de la misma con una positividad para la mutación 43%, de los cuales 10 paciente fueron masculinos y 5 paciente femeninos con edad

media 65 años, los pacientes con diagnóstico de LMC fueron 99, con 17 % de paciente con positividad, masculino 13 pacientes, 4 paciente femeninos, con una edad media de 72 años.⁴

Se realizó un estudio de cohorte con 72 familias, de las cuales 42 presentaban un solo tipo de síndrome mieloproliferativo, y 30 más con una variedad de subtipos de síndrome mieloproliferativos, en donde se observó mayor prevalencia en casos con PV, ET comparado con casos con LMC, solo 7% de los pacientes con LMC presentaban la mutación, 47% de los pacientes con PV y 40% de los paciente con ET, así pues está marcada diferencia nos indica que a pesar de que hay un alto porcentaje de pacientes con este tipo síndromes mieloproliferativos relacionados con la mutación, esta es bien tolerada, y tiende a tener un curso indolente por lo que en ocasiones se subdiagnóstica, en comparación con LMC que cursa con una evolución más agresiva y la cual puede transformarse en una leucemia aguda. En conclusión este estudio de cohorte no sustenta la existencia de una línea germinativa para la mutación antes mencionada como factor predisponente. Pero provee una redefinición sobre la búsqueda de determinantes genéticos como lo es la mutación JAK2 la cual se encuentra implicada en el síndrome mieloproliferativo.⁵

En un estudio el cual se analizaron muestras de sangre aleatorizadamente en un laboratorio, 37 muestras de un total de 3935 se encontró una mutación JAK2 positiva. Los datos sugieren que la mutación se presenta más comúnmente en pacientes con síndromes mieloproliferativos.⁶

La identificación de un mutación única de JAK2 en pacientes con SMP provee a los clínicos una herramienta útil de diagnóstico, ya que en efecto el JAK2 V617F puede ser detectada en aproximadamente 95% de los pacientes con PV y en más de la mitad de los casos de TE o SMP.⁷

A pesar de que aproximadamente el 95% de los paciente con PV presentan mutación de JAK2 en el exón 14, muchas de la mutación se encuentran en el exón 12. En este estudio multicéntrico se indica que la PV se asocia con la mutación en JAK2 en el exón 12 es caracterizada por eritrocitosis, aunque hay presencia de diferente localización de la mutación la clínica que presenta el paciente es muy similar, y la estadificación del riesgo que presenta el paciente puede ser aplicada en pacientes que presentan la mutación en el exón 14 o exón 12. ⁸

Existe la presencia de otras mutaciones además de la mutación en JAK2 como son: LNK, c-CBL, SOCSs los cuales con reguladores negativos para la señalización de la patogénesis, y que además puede sinergizar con el JAK2 positivo. ⁹

El descubrimiento de la mutación JAK2 V617F fue un gran avance, para diagnóstico, por lo que se abren nuevas líneas para el diagnóstico. ¹⁰

Existen diversas técnicas las cuales son cualitativas y cuantitativas, para la detección de la mutación JAK2 V617F, entre las cuales se pueden mencionar: genotipaje, PCR, PCR AE, el estudio del polimorfismo de fragmentos de restricción de longitud variable, el PCR cuantitativo en tiempo real, el análisis de la curva de fusión del ADN, la cromatografía líquida desnaturizante de alta resolución y la espectrometría de masa, la sensibilidad de los métodos antes mencionados varía entre 0.01 y 5% algunos más específicos que otros o más sensibles. Con la finalidad de introducir el estudio molecular de la mutación JAK2 V617F por amplificación de PCR, se estudiaron 26 pacientes dividiendo la muestra en 3 grupos la primera muestra de 10 pacientes con diagnóstico de PV ya en tratamiento, quien presento positividad para mutación en un 90% de los casos, en el segundo grupo resulto positivo para la mutación en 80% de cinco pacientes

con sospecha de LMC los cuales habían sido negativos para BCR-ABL, y el tercer grupo de 11 pacientes en los cuales se sospechó el diagnóstico de PV, mostrando una positividad para la mutación del 91%. Así como se mencionó con anterioridad es importante la realización de un estudio diagnóstico que nos permita saber el inicio de la enfermedad, sin embargo se reportaron casos en donde aparentemente a pesar de un diagnóstico confirmado de un tipo específico de síndrome mieloproliferativo de acuerdo a los criterios de OMS, en las pruebas diagnósticas para determinar la mutación del gen JAK2 V617F no se encuentre la mutación en el exón 14, lo cual nos orienta a pensar que si se encuentra mutado el gen sin embargo el exón es diferente.¹¹

La incidencia de las mutaciones de TET2, ASXL1 los síndromes mieloproliferativos están en rangos de 0-17%.¹²

Posterior a la clasificación y la presencia o ausencia de la mutación de gen JAK2 V617F, hay un riesgo determinado en PV y SE TE puede predecir el riesgo de complicaciones trombóticas, de acuerdo a ciertos factores determinados como son la edad, en pacientes mayores de 60 años los cuales tengan una historia de eventos de trombosis previos, estos dos son los factores de riesgo principales entre otros que posteriormente se mencionaran. Por el alto riesgo de citorreducción en pacientes con diagnóstico de TE y PV, lo relevante del tratamiento es el pronóstico que puede ofrecer de acuerdo al grupo de riesgo ya sea bajo o alto y el tipo de terapia dirigida.^{13, 3}

La importancia de la mutación JAK2 V617F recae en la terapia dirigida que se puede realizar mediante la inhibición de la activación de la tirosin cinasa.

Por tanto la identificación de la mutación JAK2 V617F ha permitido que nuevas terapias sean dirigidas contra la inhibición de cinasa de JAK2, es por eso que muchos grupos de investigadores ha desarrollado una molécula pequeña que permitido la inhibición de gen, esto podría ser clasificado en JAK2 selectivo que serían la clase I del fármaco o JAK2 no selectivo que serían a otra clase del fármaco, este último fue desarrollado en un inicio para paciente que no contaban con síndrome mieloproliferativo, pero tiene acción sobre síndromes mieloproliferativos también. Para los fármacos de clase I, se inhibe la fosforilación de la tirosina. Los estudios muestran que la dosis de los inhibidores va a depender de la citopenias más comúnmente observadas, esto con la precaución del efecto tóxico que pueda tener cada fármaco.¹⁵

De esta manera se propone que de acuerdo a los criterios de la OMS 2008 sobre la clasificación de síndromes mieloproliferativos se sugiere el seguimiento de un algoritmo para el diagnóstico y tratamiento de estos, englobando la presencia o ausencia de la mutación, por tanto tenemos que la toma de muestra en sangre periférica para mutación de JAK2 V617F debe ser como método de screening así como lo es la medición de la eritropoyetina en suero, de acuerdo a los valores de la eritropoyetina y a la presencia o no de la mutación JAK2 V617F se podría normar una conducta a seguir, para distinguir la presencia de un síndrome mieloproliferativo. Posterior a ello se debe definir si existe la presencia o no de la mutación V617F si esta se encuentra presente se debe sospechar de TE, PV, MP y se deberá realizar la toma de biopsia y de citogenética, para poder aplicar los criterios diagnósticos de la OMS 2008 para diagnóstico de síndrome mieloproliferativo, utilizando la técnica de FISH para la mutación de BCR ABL con presencia ausencia del cromosoma Filadelfia, en caso de la que mutación no se encuentre presente hay una menor probabilidad de que se trate de una PV pero continua la alternativa de que TE y MP con la

posibilidad de LMC por lo que se sigue con el mismo protocolo anteriormente mencionado y ya con el diagnóstico exacto dar terapia dirigida. ¹⁶

El descubrimiento de la mutación JAK2V617F condujo a la integración de biomarcadores genéticos para estrategias diagnósticas y terapéuticas. La década pasada quedó marcada por el desarrollo rápido de terapias con inhibidores de JAK2 capaces de reducir la esplenomegalia, las citopenias y los síntomas constitucionales con mínima mielosupresión y toxicidad secundaria. El ruxolitinib fue el primer inhibidor JAK2 aprobado por la FDA en 2011 para riesgo alto e intermedio de mielofibrosis. ¹⁷

En un análisis de pacientes con trombocitopenia de tres estudios mostró que la mutación JAK2 V617F se divide en dos subtipos, los datos que arrojó este estudio fue que en conclusión la TE puede dividirse en dos distintos grupos con presentación clínica, complicaciones y terapia diferente. ¹⁸

La identificación de esta mutación coadyuva a confirmar el diagnóstico de los desórdenes mieloproliferativos, permite distinguir la policitemia vera (PV) de la eritrocitosis secundaria, así como la trombocitemia esencial (TE) de la trombocitosis reactiva y recientemente asociada a trombosis. En este sentido, esta mutación se ha detectado en 65 a 97% de los pacientes con PV, de 23 a 57% en sujetos con trombocitemia esencial TE y de 30-57% de la mielofibrosis idiopática. La mutación JAK-2 está ausente en individuos sanos, así como en pacientes con eritrocitosis y trombocitosis secundaria, o con leucemia mielógena crónica (LMC). Por otra parte, la mutación G20210A del gen de la protrombina confiere una predisposición de tres veces mayor de padecer trombosis venosa en virtud de elevar los niveles plasmáticos de protrombina. Se ha estimado que la frecuencia de esta mutación es baja. En individuos heterocigotos de la población general originarios de Guadalajara,

Jalisco, México, la frecuencia es de 3%, de 5.3% en Valencia, España, de 2.8% en el Centro y Sureste de Italia.¹⁹

Además de la mutación hay factores que se han relacionada con la patogénesis de ciertos síndromes mieloproliferativos, como lo es el complejo IL-6/IL-6sR es más efectivo que la IL-6 en la protección frente a estímulo apoptóticos, por lo que el aumento del nivel de IL-6sR en trombocitemia esencial favorecería la sobrevivencia de los progenitores hematopoyéticos CD34+ que dan origen a los megacariocitos, contribuyendo al cuadro característico de la enfermedad. Por otra parte, estimularía señales de activación intraplaquetaria con mayor eficiencia en pacientes JAK2V617F.²⁰

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años, el empleo de técnicas citogenéticas y moleculares ha permitido explicar la patogénesis de estos trastornos por la detección de re-arreglos moleculares y mutaciones que promueven constitutivamente la actividad cinasa en la tirosina de las proteínas de las vías de señalización intracelular, confiriéndole una ventaja proliferativa y de supervivencia al clon neoplásico.

De esta manera se pretende conocer si la terapia blanco, está siendo bien dirigida, así como el costo beneficio de la misma. Con el propósito de poder realizar un diagnóstico exacto y de esta manera poder usar el recurso de tratamiento en específico, de manera temprana, con el apoyo de técnicas de diagnóstico. Para conocer este resultado nos hacemos la siguiente pregunta.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la prevalencia de mutación Janus quinasa 2 (JAK 2) en pacientes con diagnóstico de síndrome mieloproliferativo en un hospital de segundo nivel?

HIPOTESIS

Alternativa: Todos los pacientes con diagnóstico de síndrome mieloproliferativo cuentan con una prueba positiva de JAK 2.

Nula: No todos los pacientes con diagnóstico de síndrome mieloproliferativo cuentan con prueba positiva de JAK 2

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Conocer la prevalencia de pacientes con síndrome mieloproliferativo que cuentan con prueba positiva para JAK2.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar el número de pacientes portadores de síndrome mieloproliferativo a quienes se les realiza prueba de inmunohistoquímica para JAK2.

Identificar el porcentaje de positividad para JAK2 en cada uno de los síndromes mieloproliferativos.

Saber si la detección temprana por inmunohistoquímica de JAK2 positivo modifica el pronóstico sobrevida o progresión del paciente.

Saber si el inicio oportuno del tratamiento dirigido en pacientes con positividad para JAK2 modifica el pronóstico del paciente

VARIABLES

Variable independiente

Mutación JAK 2

Variable dependiente

Síndrome Mieloproliferativo

OPERATIVIZACIÓN DE LAS VARIABLES

DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICION	INDICADOR
<p>Género</p> <p>Aspectos atribuidos a hombres y mujeres desde un punto de vista social de los determinados biológicamente.</p>	<p>Será de acuerdo a las características médicas</p>	<p>Cualitativa</p>	<p>Nominal</p>	<p>Femenino</p> <p>Masculino</p>
<p>Edad</p> <p>Cantidad de tiempo que ha pasado desde el nacimiento de la persona hasta el presente.</p>	<p>Será de acuerdo a los años que tenga al momento de la intervención.</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>Discreta</p>	<p>De 45- 50 años de edad</p> <p>De 51-55 años de edad</p> <p>De 56 -60 años de edad.</p> <p>61-65 años de edad</p> <p>66-70 años de edad</p> <p>71-75 años de edad.</p> <p>76-80 años de edad.</p> <p>Mayores de 80 años de edad.</p>
<p>Hemoglobina (riesgo)</p> <p>Proteína de la sangres de color rojo característico que transporta el oxígeno desde los órganos respiratorios hasta los tejido</p>	<p>Se valorará si el paciente tiene hb menor o mayor de 10 como factor pronóstico</p>	<p>Cualitativa</p>	<p>Nominal</p>	<p>Menor de 10g/dl</p> <p>Mayor de 10 g/dl</p>
<p>Hemoglobina diagnóstico</p> <p>Proteína de la sangres de color rojo característico que transporta el oxígeno desde los órganos</p>	<p>Se valorará la Hb para dar un diagnóstico del acuerdo al síndrome mieloproliferativo que presenta el paciente.</p>	<p>Cualitativa</p>	<p>Nominal</p>	<p>Mayor de 18.5 g/dl</p> <p>Hombres</p> <p>Mayor 16.5 g/dl</p> <p>mujeres</p>

respiratorios hasta los tejidos				
Leucocitos Célula blanca o incolora de la sangre y la linfa que puede trasladarse a diversos lugares del cuerpo con funciones defensivas	Se valorará el conteo de leucocitos como factor de pronóstico y de riesgo para paciente.	Cuantitativa Componer	Discreta	Menor de 25000 Mayor de 25000
Plaquetas Célula oval de la sangre de los vertebrados, desprovista de núcleo que interviene en el proceso de la coagulación.	Se valorará la cantidad de plaquetas de para ver si el tratamiento fue bien dirigido, por el riesgo de trombosis que presente el paciente.	Cuantitativa Componer	Discreta	Menor de 100000 o mayor de 100000 Mayor de 450 000
DHL Enzima	Elevación o no como factor diagnóstico	Cualitativa	Dicotómica	Elevado o no elevada
Esplenomegalia Inflamación del bazo	Se valorará si hay presencia de esplenomegalia a la palpación como diagnóstico	cualitativa	Dicotómica	Palpable o no palpable
Megacariocitos Célula de la sangre precursora de las plaquetas	Se valorará como criterio diagnóstico para TE	Cualitativa	Dicotómica	Presencia o ausencia
Crecimiento EEC	Se valorará como criterio menor para diagnóstico de PV	Cualitativa	Dicotómica	Aumentado o disminuido
Eritropoyetina Proteína reguladora de la eritropoyesis	Se valorará como criterio menor para diagnóstico de PV	Cualitativa	Nominal	Alta Baja
Blastos Célula inmadura de la serie mieloide	Se valorará como factor pronóstico	Cualitativa	Nominal	Menor o mayor 1%
Cariotipo Juego completo de los pares de	Se valorará como factor pronóstico.	Cualitativa	Dicotómica	Favorable No favorable

cromosomas de una célula, de forma, tamaño y número característico de cada especie.				
Riesgo trombosis Contingencia o proximidad de un daño. Formación de un trombo en el interior de un vaso sanguíneo	Se valorará como escala de acuerdo a ciertos factores ya determinados en la literatura.	Cualitativa	Ordinal	Bajo, intermedio 1, intermedio 2, alto
Sobrevida	Se valorará de acuerdo a las condiciones que presente el paciente y características de la entidad estudiada, establecidos los rangos ya por literatura estudiada.	Cualitativa	Nominal	15.4 años 6.5 años 2.9 años 1.3 años

MATERIAL Y METODOS

Tipo de estudio:

Observacional Retrolectivo

Población y muestra:

La muestra se tomara de la población de pacientes con diagnóstico de Síndrome mieloproliferativo en el Hospital General Regional NO. 1, Orizaba, Ver.

Tipo de muestreo: probabilístico aleatorio simple.

Fórmula para calcular el tamaño de la muestra

Nivel de confianza: al 95%

Considerando la prevalencia de la enfermedad que es de 45.5%

$$n = 96$$

$$p = 0.45$$

$$q = 1 - p$$

$$d = 0.10$$

$$Z_{\alpha} = 1.96 = 95\%$$

$$\text{Fórmula: } n = Z^{2\alpha} \cdot p \cdot q / d^2$$

$$n = 1.96^2 \times 0.45 (1-0.45) / (0.10)^2$$

$$n = 3.8416 \times 0.45 (0.55) / 0.01$$

$$n = 0.950796 / 0.01 = 95.07 = 96 \text{ expedientes.}$$

Tiempo y lugar

Servicio de Hematología del Hospital General Regional de Orizaba No. 1, en el período de tiempo de Marzo del 2014 a Agosto del 2014.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

Expedientes de pacientes de 45 a 80 años o más de edad

Expedientes de pacientes diagnosticados con síndrome mieloproliferativo entre 2005 y 2013.

Expedientes de pacientes que se encuentren en el servicio de Hematología del HGRO No. 1

Expedientes de pacientes diagnosticados con Síndrome Mieloproliferativo.

Expedientes de pacientes que acudan a seguimiento de consulta externa.

Criterios de no inclusión

Expedientes de pacientes que a pesar de tener diagnóstico de Síndrome Mieloproliferativo no tengan seguimiento en la consulta externa.

Expedientes de pacientes que hayan sido diagnosticados antes del 2005 o después del 2013.

Expedientes de pacientes positivo para mutación de JAK2 pero que no cuenten con diagnóstico de síndrome mieloproliferativo.

Expedientes de pacientes que sean menores de 45 años de edad.

Expedientes de pacientes que no correspondan a servicio de Hematología.

Criterios de eliminación

Expedientes extraviados.

Expedientes incompletos.

Procedimiento

Acudir a archivo para buscar expedientes clínicos de pacientes que cuenten con diagnóstico de síndrome mieloproliferativo, entre años 2005 y 2013 los cuales cuenten con edad entre 45 y 80 años o más, los cuales se encuentren en el servicio de Hematología del Hospital General Regional No. 1, y tienen notas de consulta externa, buscar que pacientes cuentan con reporte de inmunohistoquímica para corroborar que se haya realizado la toma de muestra para mutación de JAK2 V617F, de acuerdo a ello valorar el cual es la prevalencia de paciente diagnosticados con síndrome mieloproliferativo que cuentan con mutación JAK2 V617F, determinar el número de pacientes que presentan la mutación de JAK2 V617F de acuerdo a los diferentes tipos de síndrome mieloproliferativos, y de acuerdo a ello revisar a quienes se les inicio el tratamiento de manera oportuna y la evolución de acuerdo a notas por consulta externa de Hematología, se sacaran los parámetros de medición para ubicar a cada paciente en un pronóstico y estadificar el riesgo que presentan de trombosis de acuerdo a escalas pronosticas y a escalas de riesgo. Vamos a requisitar nuestro instrumento de trabajo, con el número de expediente que estamos revisando, escribiendo el género, la edad del paciente, si la hemoglobina con la que cuenta el paciente es masculino ver si su hb es mayor de 17 g/dl o en caso de ser mujer si cuenta con una hb mayor de 15 g/dl, marcar si la cuenta de leucocitos es mayor o menor a 25 000, conteo de plaquetas si son menores a mayores a 100 000, DHL marcar si esta se encuentra aumentada o no, esplenomegalia en caso de que esta se encuentre palpable o no, megacariocitos presencia o ausencia,

crecimiento EEC aumentado o disminuido, presencia de blastos mayor o menor de 1%, cariotipo marcar si es favorable o no favorable, riesgo de trombosis marcar si es de riesgo bajo, intermedio 1, intermedio 2 o alto, y la sobre vida que presenta el paciente en años, si es a 15.4 años, 6.5 años, 2.9 años, 1.3 años.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico que se realizará será en el programa SPSS versión 20, utilizando distribución de T; para comparar proporciones se utilizara X^2 ; tomando en cuenta el sesgo y la curtosis.

Para la comparación gráfica de variables se usarán gráficas de pastel, barras e histograma.

Se consideró valor significativo de P cuando sea menor de 0.05, con un nivel de confianza al 95%.

RECURSOS

Humanos

Estudiante de primer año de residencia médica de Medicina Interna Giselle Ledesma Soto.

Materiales

Instrumento de recolección de datos.

Corrector

Lapiceros

Lápiz

Hojas blancas

Clips

Computadora portátil TOSHIBA

Financieros

El trabajo de investigación será financiado por el investigador.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Esta investigación toma en cuenta los principios Bioéticos fundamentales, respeto, beneficencia y justicia, apegándose a los lineamientos de la Ley General de Salud, en materia de investigación en sus artículos 13 y 16, así como a la declaración de Helsinki y modificación en Tokio en 1975, que establecen que en toda investigación donde el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer los criterios del respeto a su dignidad, la protección de sus derechos intimidad, confidencialidad, bienestar y a las normas y procedimientos en materia de investigación que rigen las instituciones de salud. Este estudio se considera como investigación sin riesgo, de acuerdo al Art. 39, Capítulo 3 del Reglamento de la Ley General de salud en materia de investigación para la salud; ya que se trabajara con expedientes.

ANEXOS

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL. LIC. IGNACIO GARCÍA TELLEZ.

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN.

“PREVALENCIA DE MUTACIÓN JANUS QUINASA 2 (JAK 2) EN PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE SINDROME MIELOPROLIFERATIVO EN UN HOSPITAL DE SEGUNDO NIVEL”

No. Expediente: _____

1. Género:

A) Femenino B) Masculino

2. Edad:

A) De 45- 50 Años De Edad	B) De 51-55 Años De Edad
C) De 56 -60 Años De Edad.	D) 61-65 Años De Edad
E) 66-70 Años De Edad	F) 71-75 Años De Edad.
G) 76-80 Años De Edad.	H) Mayores De 80 Años Edad.

3. Hemoglobina Riesgo:

A) Mayor De 10 G/Dl B) Menor De 10 G/Dl

4. Hemoglobina Diagnóstica:

A) Mayor De 18.5 G/Dl Hombres B) Mayor 16.5 G/Dl Mujeres

5. Cuenta De Leucocitos :

A) Menor De 25000 B) Mayor De 25000

6. Conteo De Plaquetas:

A) Menor De 100000 O Mayor De 100000

B) Mayor De 450 000

7. Deshidrogenasa Láctica Valor:

A) Aumentado B) No Aumentado

8. Presencia De Esplenomegalia:

A) Palpable A La Exploración
Exploración

B) No Palpable A La

9. Presencia De Megacariocitos:

A) Presencia

B) Ausencia

10. Valor De Eritropoyetina:

A) Alta

B) Baja

11. Porcentaje De Blastos:

A) Mayor De 1%

B) Menor De 1%

12. Tipo De Cariotipo:

A) Favorable

B) No Favorable

13. Riesgo De Trombosis

A) Bajo

B) Intermedio 1

C) Intermedio 2

D) Alto

14. Sobrevida

A) 15.4 Años B) 6.5 Años

C) 2.9 Años

D) 1.3 Años

CRONOGRAMA

Cronograma de Actividades del Proyecto Titulado:

**“PREVALENCIA DE MUTACIÓN JANUS QUINASA 2 (JAK 2) EN
PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE SINDROME MIELOPROLIFERATIVO
EN UN HOSPITAL DE SEGUNDO NIVEL”**

Años

2014 ----- **2014**

M A R	A B R	M A Y	ACTIVIDADES	J U N	J U L	A G O
			Elección del Tema			
			Delimitación del tema			
			Búsqueda y/o Revisión Bibliográfica			
			Elaboración del Protocolo			
			Redacción del Consentimiento Informado y Aspectos Éticos Fundamentales			
			Revisión del Protocolo			
			Selección de la Muestra			
			Recolección de datos			
			Análisis Estadístico			
			Redacción del Trabajo Final			
			Impresión de Tesis			

BIBLIOGRAFÍA

1. Navarro V. M. Marcadores moleculares de los síndromes mieloproliferativos. *Revista de Hematología* 2010; 11(3):152-155.
2. Remacha F. A, Puget G, Nomdedéu FJ, Estivill C, Sardà MP, Canals C. Valoración de la mutación V617F del gen JAK2 en síndromes mieloproliferativos crónicos con cromosoma Filadelfia negativo. *Med Clin (Barc)*. 2006; 127(16):601-4.
3. Tefferi A., Vainchenker W. Myeloproliferative Neoplasms: Molecular Pathophysiology, Essential Clinical Understanding, and Treatment Strategies. *J Clin Oncol* 2011, 29:573-582.
4. Jones AV., Kreil S., Zoi K., et al. Wdespread ocurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood*, 2005, 106: 2162-2168.
5. Bellanné-Chantelot C, Chaumarel I, Labopin M, Bellanger F, Barbu V, De Toma C. et al. Genetic and clinical implications of the Val617phe JAK2 mutation in 72 families with myeloproliferative disorders. *Blood* 2006 108: 346 – 352.
6. Xu X, Zhang Q, Luo J, Xing S, Li Q, Krantz S.B, et al. JAK2 V617F: Prevalance in a large Chinese hospital population. *Blood* 2007 109: 339-342.
7. Pietra D, Li S, Brisci A, Pssamonti F, Rumi E, Theocharides A. et al. Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. *Blood* 2008 111:1686-1689.
8. Passamonti F, Elena C, Schnittger S, Skoda C.R, Green A.R, Girodon F. et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood* 2011 117:2813-2816.

9. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu S.N, Bernard O. A. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2011 118: 1723-1735.
10. Vainchenker W, Constantinescu S. N. A unique Activating Mutation in JAK2 (V617F) is at the origin of polycythemia Vera and allows a new Classification of myeloproliferative diseases. *American Society Hematology*. 2005. 195-200.
11. Amor V. A. M, Díaz A. C. A, Garrote S.H, Suárez G. Y, Fernández D. N, Ávila C. O. M. Introducción del estudio molecular de la mutación JAK2 V617F en neoplasias mieloproliferativas clásicas BCR- ABL negativas. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2013; 29 (4): 398- 406.
12. Tefferi A. Novel mutation and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia* 2012 24, 1128-1138.
13. Tefferi A, Elliott M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leucocytes and JAK2 V617F. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2007; 33, 313-319.
14. Levine R.L, Wadleigh M, Cools J, Ebert B.L, Wernig G, Huntly B. J. P. et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer cell* 2005; 7 387-397.
15. Padanani A. JAK2 inhibitor therapy in myeloproliferative disorders: rationale, preclinical studies and ongoing clinical trials. *Leukemia* 2008 22, 23-30.
16. Tefferi A, Vardiman J.W. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point of care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008; 22, 14-22.

17. Geyer H. L, Tibes R, Mesa R. A. JAK2 Inhibition: Current Roles in Myelofibrosis and Initial Lessons Learned from Mexico. *Rev Hematol Mex* 2013; 14:26-36.
18. Campbel P. J, Scot L. M, Buck G, Wheatley K, East C. L, Marsden J. T. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on *JAK2* V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005; 366: 1945–53.
19. Velarde F. J. S, Rivas L. R, Zazueta M. L, Ochoa R. L. R, Ríos T. J. J, Rendón A. H. Coexistencia de las mutaciones V617F del gen *JAK-2* y G20210A del gen de la protrombina en una paciente con trombocitemia esencial. *Rev. Mex Patol Clin*, 2008; Vol. 55, Núm. 3, pp 139-142.
20. Chazarreta C. D, GoetteN. P, Lev P. R, Salim J.P, Molinas F. C, Marta R. F. Señales de sobrevida inducidas por el complejo IL-6/IL-6sR en el linaje megacariocítico. Influencia de la mutación *JAK2-V617F*. *Hematología*, 2010; vol. 14 nº 1: 11-17.