

BASI SCIENTIFICHE

Le malattie mieloproliferative croniche (CMPD) Philadelphia-negative sono un gruppo di disordini della cellula staminale emopoietica che comprendono la policitemia vera (PV), la trombocitemia essenziale (TE) e la mielofibrosi idiopatica (CIMF).

Nel 2005 è stata identificata in pazienti CMPD Ph negativi la presenza di una mutazione somatica (V617F) del gene Janus Kinase 2 (JAK2) che codifica per una proteina importante per la trasduzione del segnale indotto dai fattori di crescita emopoietici; essa infatti fosforila diverse molecole citoplasmatiche e soprattutto i cosiddetti STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription). La proteina JAK2 appartiene alla famiglia delle Janus kinases, tali proteine sono composte da sette regioni: JH1-JH7. In particolare, JH1 è la regione ad attività chinasi. JH2 è un dominio pseudo-chinasi, necessario per l'attività catalitica di JH1 e coinvolto nella regolazione inibitoria di tale attività.

SIGNIFICATO CLINICO

La mutazione V617F, è dovuta ad una sostituzione nucleotidica G>T al nucleotide 1849 dell'esone 14, che causa la sostituzione dell'aminoacido valina con fenilalanina al codone 617 (GTC>TTC). Tale mutazione coinvolge una porzione del dominio pseudochinasi JH2 di JAK2, cruciale nel controllo inibitorio dell'attività di JH1. Si tratta di una mutazione somatica acquisita, presente solo nelle cellule mieloidi (linea eritroide, linea granulocitaria-macrofagica, linea megacariocitaria) allo stato eterozigote o omozigote. La mutazione viene definita "gain-of-function mutation" in quanto determina un'attivazione costitutiva della via JAK-STAT, che è in grado di conferire vantaggio proliferativo e crescita citochino-indipendente delle cellule emopoietiche.

La mutazione V617F è stata riscontrata con elevata frequenza in pazienti affetti da: policitemia vera (65-97%), più del 20% dei pazienti sono omozigoti per la mutazione, trombocitemia essenziale (23-57%), in genere è presente in forma eterozigote, mielofibrosi (35-95%).

Meno frequentemente V617F è stata riscontrata in altre patologie come la leucemia mielomonocitica cronica, le sindromi mielodisplastiche (MDS), la mastocitosi sistemica (SM), la leucemia neutrofilica cronica, la sindrome ipereosinofila e le malattie mieloproliferative croniche atipiche. La mutazione JAK2-V617F non è mai stata rilevata in soggetti sani. Lo studio della mutazione oltre a spiegare la malattia sta diventando un utile parametro diagnostico e prognostico.

INFORMAZIONI E PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Il kit AMPLI JAK2 Real-Time permette l'identificazione della mutazione V617F a partire da DNA genomico estratto da sangue periferico/ midollo osseo di pazienti con sospetta neoplasia mieloproliferativa (MPN). Permette di identificare, mediante l'uso della Real-time PCR l'allele wild-type (normale) e l'allele mutato.

La Real-Time PCR con l'utilizzo di probe specifici, rispetto ad altri metodi (sequenziamento, RFLP etc), consente di individuare la mutazione anche quando è presente in una piccola percentuale di cellule (sensibilità 1-2% di cellule mutate; specificità 100%).

CARATTERISTICHE TECNICHE

- **Principio del metodo:** A) Estrazione del DNA genomico
- B) Amplificazione e rivelazione con un sistema Real-Time PCR.
- **Applicabilità:** su DNA estratto e purificato da campioni di sangue intero.
- **Numero di test:** 24
- **Stabilità:** fino alla data di scadenza indicata sul prodotto.
- **Specificità Analitica:** Assenza di appaiamenti aspecifici di oligonucleotidi e sonde; Assenza di cross-reattività.
- **Sensibilità Analitica:** **LOD:** $\geq 0,025$ ng di DNA
- **LOB:** 0% NCN.
- **Riproducibilità:** 99,9%.
- **Specificità e Sensibilità Diagnostica** 100%/98%

RDM 2294952/R
CND W01060299



UNI EN ISO 9001
UNI CEI EN ISO 13485

Il kit IVD è marcato CE.
Conforme alla direttiva 98/79.