



MIELOFIBROSE PRIMÁRIA

PAPEL DAS MUTAÇÕES NO PROGNOSTICO

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA, HEMOTERAPIA E TERAPIA CELULAR – ABHH

Pagnano KBB, Nonino A, Nascimento ACKV, Fogliatto LM, Bendit I., Chauffaille MLLF, Tavares RS, Santos FPS, Funke VAM, , Mello MCR, Simoes RS, Kelmann G, Bernardo WM, Clementino NCD

Elaboração: 10 de maio de 2018.

AS MUTAÇÕES SOMÁTICAS NO GENE DA JANUS KINASE 2 É A MAIS FREQUENTE EM NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS BCR-ABL NEGATIVAS, SEGUIDA POR OUTRAS MUTAÇÕES QUE SÃO PACIENTES COM MIELOFIBROSE PRIMÁRIA. O OBJETIVO DESTA DIRETRIZ É FORNECER RECOMENDAÇÕES QUANTO AO PAPEL DAS MUTAÇÕES NO PROGNÓSTICO DA MIELOFIBROSE PRIMÁRIA. FOI REALIZADA A PARTIR DA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA, ATRAVÉS DO PICO, ONDE P ABORDA PACIENTES COM MIELOFIBROSE PRIMÁRIA, I DE MUTAÇÕES, TENDO COMO O DESFECHO DE PROGNÓSTICO. FEITA SEM RESTRIÇÃO DE PERÍODO, NA BASE DE DADOS MEDLINE, RECUPERANDO 1171 TRABALHOS, SENDO QUE, DESTES, 34 FORAM SELECIONADOS PARA RESPONDER À DÚVIDA CLÍNICA. OS DETALHES DA METODOLOGIA E DOS RESULTADOS DESSA DIRETRIZ ESTÃO EXPOSTOS NO ANEXO I.

INTRODUÇÃO

A mutação somática *V617F* no gene da *Janus Kinase 2* (*JAK2*) é a mais frequente em neoplasias mieloproliferativas (NMPs) BCR-ABL negativas, ocorrendo em aproximadamente 50% dos pacientes com diagnóstico de mielofibrose primária ¹⁻⁸(B). Outras mutações como as do gene da calreticulina (*CALR*) e gene receptor da trombopoetina (*MPL*) são descritas em aproximadamente 25% e 7% dos pacientes com mielofibrose primária, respectivamente ^{4,9}(B) ¹⁰(D).

As mutações no gene da *JAK2* seriam responsáveis pela alteração na sinalização da via *JAK/STAT*, a qual traduz sinais de receptores de citocinas e fatores de crescimento como a eritropoietina (a proteína *JAK2*, pertencente à família das *Janus quinases*, é também uma tirosinoquinase, atuando como intermediária entre os receptores da membrana e moléculas de sinalização intracelular). Pacientes com neoplasia mieloproliferativa crônica positivos para a mutação *JAK2 V617F* (substituição de uma guanina por timina no éxon 14 do gene *JAK2*, levando à substituição de uma valina por fenilalanina na posição 617 da proteína codificada) apresentam hematócrito mais elevado, maior nível de hemoglobina, contagem de neutrófilos e leucócitos mais elevada, além de maior risco de esplenomegalia e ocorrência de eventos trombóticos ^{3,6,7,11,12}(B). Diferenças significativas na porcentagem de alelos mutados (quantitativa), e diferenças qualitativas na mutação *JAK2 V617F* explicariam a heterogeneidade observada entre as desordens mieloproliferativas, sugerindo diferentes papéis nas NMPs.

RESULTADOS

Resultado de estudos retrospectivos analisando parâmetros moleculares de pacientes com diagnóstico de mielofibrose primária e correlacionando-os ao prognóstico, verificaram que a simples presença da mutação *JAK2 V617F* não esteve relacionada à sobrevida ou com pontuação (risco intermediário ou maior) verificado no sistema de escore prognóstico internacional (IPSS)¹³⁻¹⁶(B). Esta falta de relevância para com o prognóstico, em relação à presença ou ausência da mutação *V617F* no gene da *JAK2*, também foi evidenciada em dois outros estudos, que não mostraram redução na sobrevida global mesmo com presença elevada de carga de alelo mutado^{15,17}(B). Além do mais, baixa carga da mutação no gene da *JAK2* conferiu fenótipo da doença mais agressivo, com menor sobrevida livre de transformação leucêmica¹⁵(B). Por outro lado, outros estudos demonstraram sobrevida global inferior e maior transformação leucêmica em pacientes com a mutação no gene *JAK2*^{11,17,18}(B).

Outra mutação somática descrita em 5 a 10% dos pacientes com mielofibrose primária é a mutação no gene receptor da trombopoetina (MPL), localizado no cromossomo 1p34¹⁰ (B). O MPL é o receptor da citocina trombopoetina (TPO) e é expresso nos progenitores hematopoiéticos e nas células da linhagem megacariocítica. As duas mutações mais comuns do MPL são a *W515L* (substituição de triptofano por leucina) e *W515K* (substituição de triptofano por lisina) e do mesmo modo que a mutação do gene *JAK2*, resulta em ativação da via JAK/STAT. Em contraposição ao que ocorre com a mutação *JAK2 V617F*, a doença induzida pela mutação MPL *W515L* é caracterizada por evolução rapidamente fatal, marcada trombocitose,

leucocitose e fibrose medular ¹⁹(B). Alguns raros pacientes apresentam simultaneamente mutação no gene MPL e JAK2 ²⁰(B). Mutações no gene MPL têm sido associadas a baixos níveis de hemoglobina ao diagnóstico; elevada dependência de transfusão de glóbulos vermelhos em comparação aos pacientes portadores ou não da mutação no gene *JAK2*²¹(B).

Outras mutações que podem coexistir com as mutações nos genes *JAK2* e *MPL*, contudo com significado clínico pouco claro são *LNK* [*Src homology 2 B3 (SH2B3)*] e *CBL* (*Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene*). Outras mutações como *ASXL1* (*Additional Sex Combs Like 1*), *TET2* (*TET oncogene family member 2*), *EZH2* (*enhancer of zeste homolog 2*), *DNMT3A* (*DNA cytosine methyltransferase 3a*), *IDH1/2* (*isocitrate dehydrogenase 1 and 2*) e *IKZF1* (*IKAROS family zinc finger 1*), interferem na regulação da expressão do gene e levam a modificações epigenéticas de algumas vias, incluindo a *JAK/STAT*. São mais raramente encontradas em pacientes com mielofibrose primária estando, na sua maioria, associadas à progressão da doença²²⁻²⁴(B).

Todas as mutações somáticas da calreticulina (*CALR*) descritas são inserções ou deleções que ocorrem no éxon 9, incluindo o domínio C-terminal, que leva à perda do sítio de ligação ao cálcio iônico e sequência KDEL, que resulta em funções alteradas e proliferação anormal das células mutadas. Estudos *in vitro* demonstraram que a transfecção da proteína mutante conduz a hiperativação da via *JAK/STAT*. O seu papel exato no desenvolvimento das neoplasias mieloproliferativas não está ainda claramente elucidado, mas acredita-se que esta mutação confere vantagem à linhagem megacariocítica, ocorrendo provavelmente no início da patogênese da NMP^{3,4,11,25}(B). As mutações do tipo 1 (deleção de 52 pares de bases) e tipo 2 (inserção de cinco pares de base) perfazem as mutações *CALR* mais frequentes, sendo a do tipo 1 mais prevalente em

pacientes com mielofibrose primária conferindo-lhes melhor prognóstico ²(B). Quando comparado com a mutação JAK2, a ocorrência de mutações CALR em pacientes com mielofibrose primária estão associadas a menor idade ao diagnóstico, menores níveis de hemoglobina e contagem de leucócitos, maior contagem de plaquetas e menor pontuação no sistema de escore prognóstico DIPSS-plus, além de estar associado a maior sobrevida ^{3,4,11,25}(B). Mais recentemente, Tefferi et al observaram que as mutações da CALR tipo1/like além de predizer melhor sobrevida, amenizam o efeito de outras mutações moleculares de alto risco, como ASXL1 e SRSF2²⁶(B).

Não existe mutação isolada responsável pelo início ou desenvolvimento da mielofibrose primária. É reconhecido, no entanto que as mutações somáticas nos genes JAK2, CALR e MPL são as mais frequentemente associadas com a doença estando relacionadas a diferenças no fenótipo^{2-4,13}(B). Mutações no gene da calreticulina são quase que exclusivamente encontradas em indivíduos com diagnóstico de mielofibrose primária ou trombocitemia essencial. Existem diferenças entre os grupos com diferentes mutações, especialmente no que se refere a sobrevida global. Pacientes com gene CALR mutado apresentam melhor prognóstico com sobrevida mais longa; por outro lado, pacientes considerados como "triplo negativos", o pior, com sobrevida mediana de pouco mais de dois anos além de risco maior de transformação leucêmica³(B).

Uma mutação que apresenta impacto prognóstico significativo é mutação *ASXL1*. Grupo de pacientes com diagnóstico de mielofibrose primária e *CALR* não mutado e *ASXL1* mutado, e o grupo de pacientes chamados de “triplo negativos” (negativos para as mutações *MPL*, *CALR* e *JAK2*), são aqueles que apresentam o pior prognóstico^{4,14,27}(**B**). Mutações do *EZH2* e *ASXL1* estão associadas a pior sobrevida global e livre de falha após tratamento com ruxolitinibe ou momelotinibe²⁸(**B**). Em pacientes com mielofibrose em fase fibrótica, foi observada maior frequência de mutações de alto risco (*ASXL1*, *SRSF2*, *IDH1/2*, *EZH2*). O prognóstico também é desfavorável nos casos triplo negativos e com mutações de alto risco²⁹(**B**).

RECOMENDAÇÃO:

A caracterização molecular dos pacientes portadores de mielofibrose primária pode ser parte substancial da estratificação do risco e estabelecimento do prognóstico da doença possibilitando a definição da melhor estratégia terapêutica.

Mutações verificadas no gene da calreticulina (*CALR*), em particular do tipo 1/like, estão associadas a maior sobrevida e menor número de eventos trombóticos quando comparados à mutação V617F do *JAK-2*. Pacientes com mutações de alto risco (*ASXL1*, *EZH2*) e triplo negativos apresentam menor sobrevida.

Entretanto, decisões terapêuticas baseadas no perfil mutacional dos pacientes portadores de Mielofibrose ainda não estão bem definidas ou padronizadas até o momento.

REFERÊNCIAS

1. Guglielmelli P, Biamonte F, Score J, Hidalgo-Curtis C, Cervantes F, Maffioli M, Fanelli T, Ernst T, Winkelman N, Jones AV, Zoi K, Reiter A, Duncombe A, Villani L, Bosi A, Barosi G, Cross NC, Vannucchi AM. EZH2 mutational status predicts poor survival in myelofibrosis. *Blood*. 2011;118(19):5227-34. PubMed PMID: 21921040.
2. Li B, Xu J, Wang J, Gale RP, Xu Z, Cui Y, Yang L, Xing R, Ai X, Qin T, Zhang Y, Zhang P, Xiao Z. Calreticulin mutations in Chinese with primary myelofibrosis. *Haematologica*. 2014;99(11):1697-700. PubMed PMID: 24997152.
3. Rumi E, Pietra D, Pascutto C, Guglielmelli P, Martínez-Trillos A, Casetti I, Colomer D, Pieri L, Pratcorona M, Rotunno G, Sant'Antonio E, Bellini M, Cavalloni C, Mannarelli C, Milanesi C, Boveri E, Ferretti V, Astori C, Rosti V, Cervantes F, Barosi G, Vannucchi AM, Cazzola M; Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood*. 2014;124(7):1062-9. PubMed PMID: 24986690.
4. Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, Ketterling R, Hanson CH, Maffioli M, Caramazza D, Passamonti F, Pardanani A. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons. *Leukemia*. 2014;28(7):1472-7. PubMed PMID: 24402162.
5. Barosi G, Poletto V, Massa M, Campanelli R, Villani L, Bonetti E, Viarengo G, Catarsi P, Klersy C, Rosti V. JAK2 V617F genotype is a strong determinant of blast transformation in primary myelofibrosis. *PLoS One*. 2013;8(3):e59791. PubMed PMID: 23555782.
6. Malak S, Labopin M, Saint-Martin C, Bellanne-Chantelot C, Najman A; French Group of Familial Myeloproliferative Disorders. Long term follow up of 93 families with myeloproliferative neoplasms: life expectancy and implications of JAK2V617F in the occurrence of complications. *Blood Cells Mol Dis*. 2012;49(3-4):170-6. PubMed PMID: 22818858.
7. Singh N, Sazawal S, Upadhyay A, Chhikara S, Mahapatra M, Saxena R. Correlation of JAK2V617F mutational status in primary myelofibrosis with clinico-hematologic characteristics and international prognostic scoring system scoring: a single center experience. *Indian J Pathol Microbiol*. 2015;58(2):187-91. PubMed PMID: 25885131.
8. Pardanani A, Guglielmelli P, Lasho TL, Pancrazzi A, Finke CM, Vannucchi AM, Tefferi A. Primary myelofibrosis with or without mutant MPL: comparison of survival and clinical features involving 603 patients. *Leukemia*. 2011;25(12):1834-9. PubMed PMID: 21691276.
9. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, Them NC, Berg T, Gisslinger B, Pietra D, Chen D, Vladimer GI, Bagienski K, Milanesi C, Casetti IC, Sant'Antonio E, Ferretti V, Elena C, Schischlik F, Cleary C, Six M, Schalling M, Schönegger A, Bock C, Malcovati L, Pascutto C, Superti-Furga G, Cazzola M, Kralovics R. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2379-90. PubMed PMID: 24325356.
10. Tefferi A. Molecular drug targets in myeloproliferative neoplasms: mutant ABL1, JAK2, MPL, KIT, PDGFRA, PDGFRB and FGFR1. *J Cell Mol Med*. 2009;13(2):215-37. Review. PubMed PMID: 19175693.

11. Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, Gangat N, Fjerza R, Belachew AA, Lasho TL, Ketterling RP, Hanson CA, Rambaldi A, Finazzi G, Thiele J, Barbui T, Pardanani A, Vannucchi AM. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood*. 2014;124(16):2507-13; quiz 2615. PubMed PMID: 25037629.
12. Barbui T, Thiele J, Carobbio A, Passamonti F, Rumi E, Randi ML, Bertozzi I, Vannucchi AM, Gisslinger H, Gisslinger B, Finazzi G, Ruggeri M, Rodeghiero F, Rambaldi A, Gangat N, Tefferi A. Disease characteristics and clinical outcome in young adults with essential thrombocythemia versus early/prefibrotic primary myelofibrosis. *Blood*. 2012;120(3):569-71. PubMed PMID: 22700720.
13. Kim BH, Cho YU, Bae MH, Jang S, Seo EJ, Chi HS, Choi Y, Kim DY, Lee JH, Lee JH, Lee KH, Park YM, Lee JK, Park CJ. JAK2 V617F, MPL, and CALR Mutations in Korean Patients with Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis. *J Korean Med Sci*. 2015;30(7):882-8. PubMed PMID: 26130950.
14. Yonal-Hindilerden I, Daglar-Aday A, Akadam-Teker B, Yilmaz C, Nalcaci M, Yavuz AS, Sargin D. Prognostic significance of ASXL1, JAK2V617F mutations and JAK2V617F allele burden in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *J Blood Med*. 2015;6:157-75. PubMed PMID: 26082670.
15. Tefferi A, Lasho TL, Huang J, Finke C, Mesa RA, Li CY, Wu W, Hanson CA, Pardanani A. Low JAK2V617F allele burden in primary myelofibrosis, compared to either a higher allele burden or unmutated status, is associated with inferior overall and leukemia-free survival. *Leukemia*. 2008;22(4):756-61. PubMed PMID: 18216871.
16. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly JT, Morra E, Vannucchi AM, Mesa RA, Demory JL, Barosi G, Rumi E, Tefferi A. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood*. 2009;113(13):2895-901. PubMed PMID: 18988864.
17. Guglielmelli P, Barosi G, Specchia G, Rambaldi A, Lo Coco F, Antonioli E, Pieri L, Pancrazzi A, Ponziani V, Delaini F, Longo G, Ammatuna E, Liso V, Bosi A, Barbui T, Vannucchi AM. Identification of patients with poorer survival in primary myelofibrosis based on the burden of JAK2V617F mutated allele. *Blood*. 2009;114(8):1477-83. PubMed PMID: 19549988.
18. Campbell PJ, Griesshammer M, Döhner K, Döhner H, Kusec R, Hasselbalch HC, Larsen TS, Pallisgaard N, Giraudier S, Le Bousse-Kerdilès MC, Desterke C, Guerton B, Dupriez B, Bordessoule D, Fenaux P, Kiladjian JJ, Viallard JF, Brière J, Harrison CN, Green AR, Reilly JT. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. *Blood*. 2006;107(5):2098-100. PubMed PMID: 16293597.
19. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, Cuker A, Wernig G, Moore S, Galinsky I, DeAngelo DJ, Clark JJ, Lee SJ, Golub TR, Wadleigh M, Gilliland DG, Levine RL. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med*. 2006;3(7):e270. PubMed PMID: 16834459.
20. Lasho TL, Pardanani A, McClure RF, Mesa RA, Levine RL, Gilliland DG, Tefferi A. Concurrent MPL515 and JAK2V617F mutations in myelofibrosis: chronology of clonal emergence and changes in mutant allele burden over time. *Br J Haematol*. 2006;135(5):683-7. PubMed PMID: 17107350.
21. Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bergamaschi G, Rosti V, Villani L, Antonioli E, Bosi A, Barosi G, Vannucchi AM; GIMEMA--Italian Registry of Myelofibrosis; MPD Research Consortium. Anaemia characterises patients with myelofibrosis harbouring Mpl mutation. *Br J Haematol*. 2007;137(3):244-7. PubMed PMID: 17408465.

22. Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, Biamonte F, Pardanani A, Pereira A, Finke C, Score J, Gangat N, Mannarelli C, Ketterling RP, Rotunno G, Knudson RA, Susini MC, Laborde RR, Spolverini A, Pancrazzi A, Pieri L, Manfredini R, Tagliafico E, Zini R, Jones A, Zoi K, Reiter A, Duncombe A, Pietra D, Rumi E, Cervantes F, Barosi G, Cazzola M, Cross NC, Tefferi A. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2013;27(9):1861-9. PubMed PMID: 23619563.
23. Tefferi A, Jimma T, Sulai NH, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, McClure RF, Pardanani A. IDH mutations in primary myelofibrosis predict leukemic transformation and shortened survival: clinical evidence for leukemogenic collaboration with JAK2V617F. *Leukemia*. 2012;26(3):475-80. PubMed PMID: 21912393.
24. Tefferi A, Pardanani A, Lim KH, Abdel-Wahab O, Lasho TL, Patel J, Gangat N, Finke CM, Schwager S, Mullally A, Li CY, Hanson CA, Mesa R, Bernard O, Delhommeau F, Vainchenker W, Gilliland DG, Levine RL. TET2 mutations and their clinical correlates in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Leukemia*. 2009;23(5):905-11. PubMed PMID: 19262601.
25. Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim JA, Lee DS. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. *Am J Clin Pathol*. 2015;143(5):635-44. PubMed PMID: 25873496.
26. Tefferi et al. Driver mutations and prognosis in primary myelofibrosis: Mayo-Careggi MPN alliance study of 1,095 patients. *Am J Hematol*. 2018 Mar;93(3):348-355. doi: 10.1002/ajh.24978. Epub 2017 Dec 18.
27. Andrikovics H, Krahling T, Balassa K, Halm G, Bors A, Koszarska M, Batai A, Dolgos J, Csomor J, Egyed M, Sipos A, Remenyi P, Tordai A, Masszi T. Distinct clinical characteristics of myeloproliferative neoplasms with calreticulin mutations. *Haematologica*. 2014;99(7):1184-90. PubMed PMID: 24895336.
28. Spiegel et al. Impact of genomic alterations on outcomes in myelofibrosis patients undergoing JAK1/2 inhibitor therapy. *Blood Adv*. 2017 Sep 8;1(20):1729-1738. doi: 10.1182/bloodadvances.2017009530. eCollection 2017 Sep 12.
29. Guglielmi et al. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of prefibrotic and overt primary myelofibrosis. *Blood*. 2017 Jun 15;129(24):3227-3236. doi: 10.1182/blood-2017-01-761999. Epub 2017 Mar 28.
30. Park SH, Kim SY, Lee SM, Yi J, Kim IS, Kim HH, Chang CL, Lee EY, Song MK, Shin HJ, Chung JS. Incidence, clinical features, and prognostic impact of CALR exon 9 mutations in essential thrombocythemia and primary myelofibrosis: an experience of a single tertiary hospital in Korea. *Ann Lab Med*. 2015;35(2):233-7. PubMed PMID: 25729726.
31. Yonal-Hindilerden I, Daglar-Aday A, Akadam-Teker B, Yilmaz C, Nalcaci M, Yavuz AS, Sargin D. The Burden of JAK2V617F Mutated Allele in Turkish Patients With Myeloproliferative Neoplasms. *J Clin Med Res*. 2015;7(3):161-70. PubMed PMID: 25584101.
32. Sazawal S, Singh N, Mahapatra M, Saxena R. Calreticulin mutation profile in Indian patients with primary myelofibrosis. *Hematology*. 2015. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25959795.
33. Park SH, Kim SY, Lee SM, Yi J, Kim IS, Kim HH, Chang CL, Lee EY, Song MK, Shin HJ, Chung JS. Incidence, clinical features, and prognostic impact of CALR exon 9 mutations in essential thrombocythemia and primary myelofibrosis: an experience of a single tertiary hospital in Korea. *Ann Lab Med*. 2015;35(2):233-7. PubMed PMID: 25729726.

34. Tam CS, Abruzzo LV, Lin KI, Cortes J, Lynn A, Keating MJ, Thomas DA, Pierce S, Kantarjian H, Verstovsek S. The role of cytogenetic abnormalities as a prognostic marker in primary myelofibrosis: applicability at the time of diagnosis and later during disease course. *Blood*. 2009;113(18):4171-8. PubMed PMID: 19131547.
35. Levels of Evidence and Grades of Recommendations - Oxford Centre for Evidence Based Medicine. Disponível em URL: http://cebm.jr2.ox.ac.uk/docs/old_levels.htm
36. Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17:1-12.
37. Wells G, Shea B, O'Connell D, Robertson J, Peterson J, Welch V, et al. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. Disponível em: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp
38. Goldet G, Howick J. Understanding GRADE: an introduction. *J Evid Based Med* 2013; 6:50-4.

ANEXO I

1. Dúvida Clínica

Qual o papel das mutações no prognóstico da mielofibrose primária?

2. Critérios de elegibilidade

Os principais motivos de exclusão foram: não respondiam ao PICO e desfechos intermediários.

Sem limite de período consultado.

Estudos nas línguas portuguesa, inglesa, espanhola.

Revisões narrativas, relatos de casos, séries de casos e ensaios clínicos controlados randomizados fases I e II foram excluídos da avaliação.

3. Busca de Artigos

3.1. Bases de Dados

A base de informação científica consultada foi Medline (via PubMed) e busca manual.

3.2. Identificação de descritores

P	Mielofibrose Primária
I	Mutações
C	-----
O	Prognóstico

3.3. Estratégia de Pesquisa

Medline - (myelofibrosis OR aleukemic megakaryocytic myelosis OR myeloid metaplasia OR osteomyelofibrosis OR myelosclerosis) AND (mutations OR molecular abnormalities OR JAK2 OR BCR-ABL OR exon 12 OR MPL OR CALR OR calreticulin) AND (survival OR death OR progression OR transfusion OR leukemic transformation OR acute leukemia OR AML OR acute myeloid leukemia OR splenomegaly OR anemia OR fibrosis OR thrombosis).

Busca manual – Referência das referências, revisões e guidelines.

4. Avaliação Crítica

4.1. Relevância – importância clínica

Essas diretrizes foram preparadas por meio de uma pergunta clinicamente relevante a fim de reunir informações em medicina para padronizar a conduta, a fim de ajudar na tomada de decisões.

4.2. Confiabilidade – Validade interna

A seleção dos estudos, a avaliação dos títulos e resumos obtidos com a estratégia de busca nas bases de informação consultadas foi conduzida de forma independente e cegada, obedecendo rigorosamente aos critérios de inclusão e exclusão, separando-se por fim os trabalhos com potencial relevância. Quando o título e o resumo não fossem esclarecedores, buscou-se o artigo na íntegra. Somente os trabalhos cujos textos completos encontravam-se disponíveis foram considerados para avaliação crítica.

4.3. Aplicação dos resultados – Validade externa

O nível de Evidência Científica foi classificado por tipo de estudo segundo Oxford³⁵ (tabela 01).

A: Estudos experimentais ou observacionais de melhor consistência.
B: Estudos experimentais ou observacionais de menor consistência.
C: Relatos de casos / estudos não controlados.
D: Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

Tabela 01: Grau de recomendação e força de evidência

A evidência selecionada foi definida como ensaio clínico controlado randomizado (ECR), era submetida a um Check-list apropriado de avaliação crítica (Tabela 02). A avaliação crítica do ECR permite classificá-lo segundo o escore JADAD³⁶, considerando os ensaios JADAD < três (3) como inconsistentes (grau B), e aqueles com escore $\geq$ três (3), consistentes (grau A).

Quando a evidência selecionada foi definida como estudo comparativo (coortes observacionais ou ensaio clínico não randômico), esta era submetida a um Check-list apropriado de avaliação crítica (Tabela 03), permitindo a classificação do estudo, segundo o escore NEW CASTLE OTAWA SCALE³⁷, considerando os estudos coortes consistentes com escore $\geq$ 6 e inconsistentes < 6.

Dados do estudo Referência, Desenho de estudo, JADAD, força da evidência	Cálculo da amostra Diferenças estimadas, poder, nível de significância, total de pacientes
Seleção dos pacientes Critérios de inclusão e exclusão	Pacientes Recrutados, randomizados, diferenças prognósticas
Randomização Descrição e alocação vendada	Seguimento dos pacientes Tempo, perdas, migração
Protocolo de tratamento Intervenção, controle e cegamento	Análise Intenção de tratamento, analisados intervenção e controle
Desfechos considerados Principal, secundário, instrumento de medida do desfecho de interesse	Resultado Benefício ou dano em dados absolutos, benefício ou dano em média

Tabela 02 - Roteiro de avaliação crítica de ensaios clínicos controlados randomizados

Representatividade dos expostos e seleção dos não expostos (máx. 2 pontos)	Definição da exposição (máx. 1 ponto)	Demonstração de que o desfecho de interesse não estava presente no início do estudo (máx. 1 ponto)	Comparabilidade de na base do desenho ou da análise (máx. 2 pontos)	Avaliação do desfecho (máx. 1 ponto)	Tempo apropriado de seguimento (máx. 2 pontos)	Escore e nível da evidência
---	--	---	--	---	---	-----------------------------

Tabela 03 - Roteiro de avaliação crítica de estudos coortes

5. Método de Extração e Análise dos resultados

Para resultados com evidência disponível serão definidos de maneira específica, sempre que possível, a população, a intervenção, os desfechos, a presença ou ausência de benefício e/ou dano e as controvérsias.

Os resultados serão expostos preferencialmente em dados absolutos, risco absoluto, número necessário para tratar (NNT), ou número para produzir dano (NNH), e eventualmente em média e desvio padrão (tabela 04).

Evidência incluída
Desenho do estudo
População selecionada
Tempo de seguimento
Desfechos considerados
Expressão dos resultados: porcentagem, risco, odds, hazard ratio, média

Tabela 04 - Planilha utilizada para descrição e exposição dos resultados de cada estudo

6. Resultados

Trabalhos recuperados (04/2018)

BASE DE INFORMAÇÃO	NÚMERO DE TRABALHOS
Primária	
PubMed-Medline	1171

Tabela 05 – Número de trabalhos recuperados com as estratégias de busca utilizadas para cada base de informação científica

7. Aplicação da evidencia – Recomendação

As recomendações serão elaboradas pelos autores da revisão, com a característica inicial de síntese da evidência, sendo submetida a validação por todos os autores participantes da elaboração da Diretriz.

A evidência disponível seguirá alguns princípios de exposição:

- Será pelo desfecho;
- Terá como componentes: o número de pacientes, o tipo de comparação, a magnitude e a precisão (desvio padrão e IC95%).

A síntese global será elaborada considerando a evidência descrita e terá a sua força estimada (Oxford³⁵/GRADE³⁸) em 1b e 1c (graus A) ou forte e em 2a, 2b e 2c (graus B) ou moderada ou fraca ou muito fraca.

8. Conflito de interesse

Não há nenhum conflito de interesse relacionado a esta revisão a ser declarado por nenhum dos autores.

9. Declaração final

O Projeto Diretrizes, iniciativa da Associação Médica Brasileira em conjunto com as Sociedades de Especialidades, tem por objetivo conciliar informações da área médica a fim de padronizar condutas que auxiliem o raciocínio e a tomada de decisão do médico. As informações contidas neste projeto devem ser submetidas à avaliação e à crítica do médico, responsável pela conduta a ser seguida, frente à realidade e ao estado clínico de cada paciente.



APOIO AMB E SOCIEDADES DE ESPECIALIDADES