

Sociedad Peruana de Hematología

I Curso Educativo 2015

Neoplasias Mieloproliferativas Crónicas

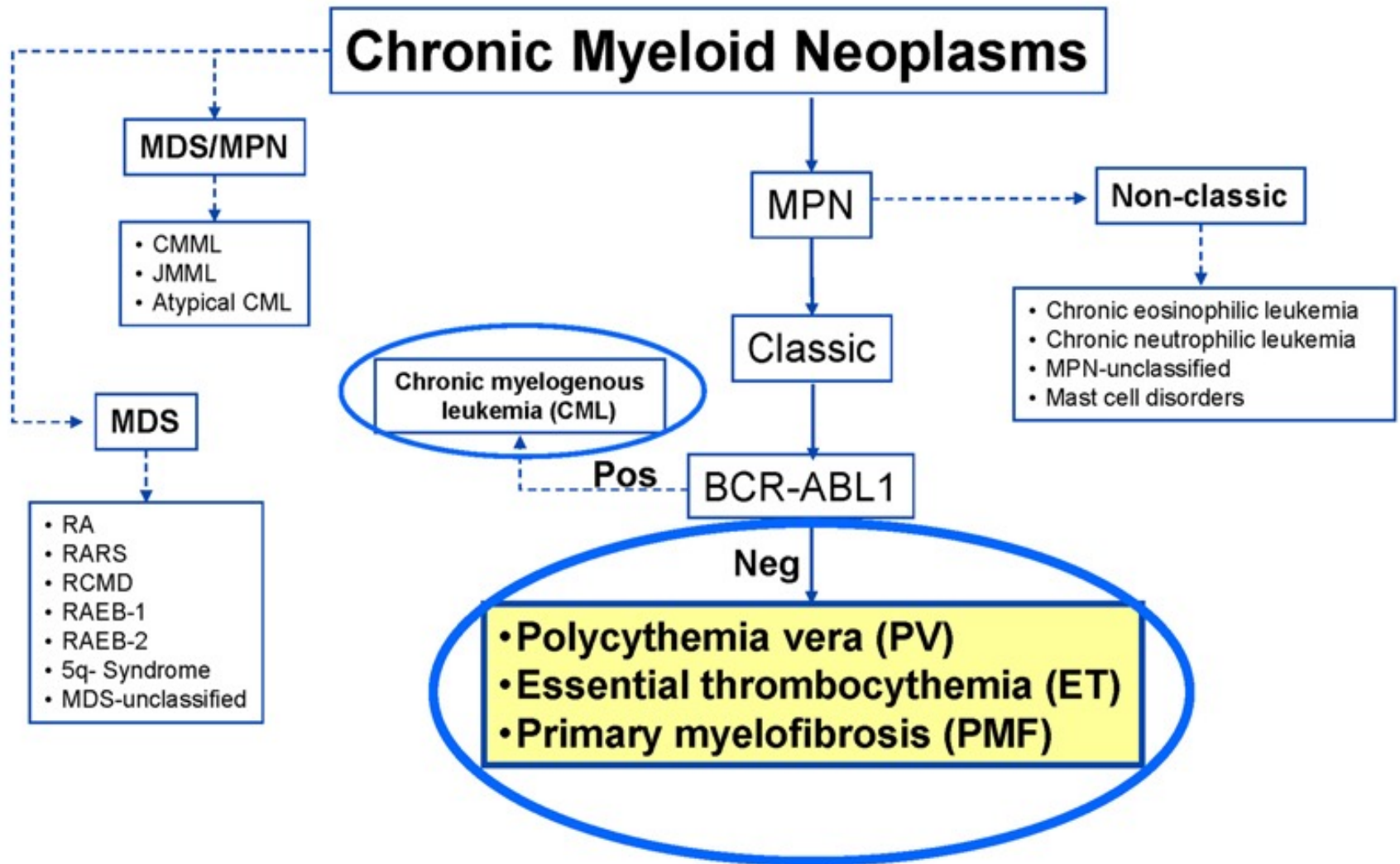
Diagnóstico Diferencial

Importancia del apoyo diagnóstico

AIMÉE TORRES ARGANDOÑA

HEMATÓLOGA HERM

WHO Classification



Myeloproliferative Neoplasms (MPNs)

- Malignancy of hematopoietic stem cells
- Effective hematopoietic proliferation
 - Hypercellular bone marrow with elevated peripheral blood counts and/or organomegaly
- Fibrosis is common
- No (minimal) dysplasia
- Classified on the basis of dominant cell line involved

Diagnostic Approach to the Ph- Classic MPNs

- Clinical findings
 - Laboratory studies
 - CBC and diff, serum erythropoietin, LDH, iron studies, etc.
 - Morphologic assessment of PB and BM
 - Genetic studies
 - Chromosome analysis
 - *JAK2*, *CALR* and *MPL*
 - Other prognostic mutational analysis
-

Morphologic Assessment

- Goals:
 - Establish the diagnosis of a MPN
 - Subclassify the MPNs when possible
 - Determine the degree of fibrosis
 - Assess % blasts / transformation

WHO Criteria for Diagnosis of PV

Major criteria

- Hemoglobin > 18.5 g/dL in men, > 16.5 g/dL in women, or evidence of increased red cell volume
- Presence of *JAK2* (V617F) or other functionally similar mutation (eg, *JAK2* exon 12 mutation)

Minor criteria

- BM biopsy showing hypercellularity for age with trilineage myeloproliferation
- Serum erythropoietin level below the normal reference range
- Endogenous erythroid colony formation in vitro

Requires either both major criteria and 1 minor criterion or the first major criterion and 2 minor criteria.

TABLA 3. Diagnósticos diferenciales de PV

Clasificación de eritrocitosis absoluta

Eritrocitosis primaria

PV

Eritrocitosis secundaria

Congénita

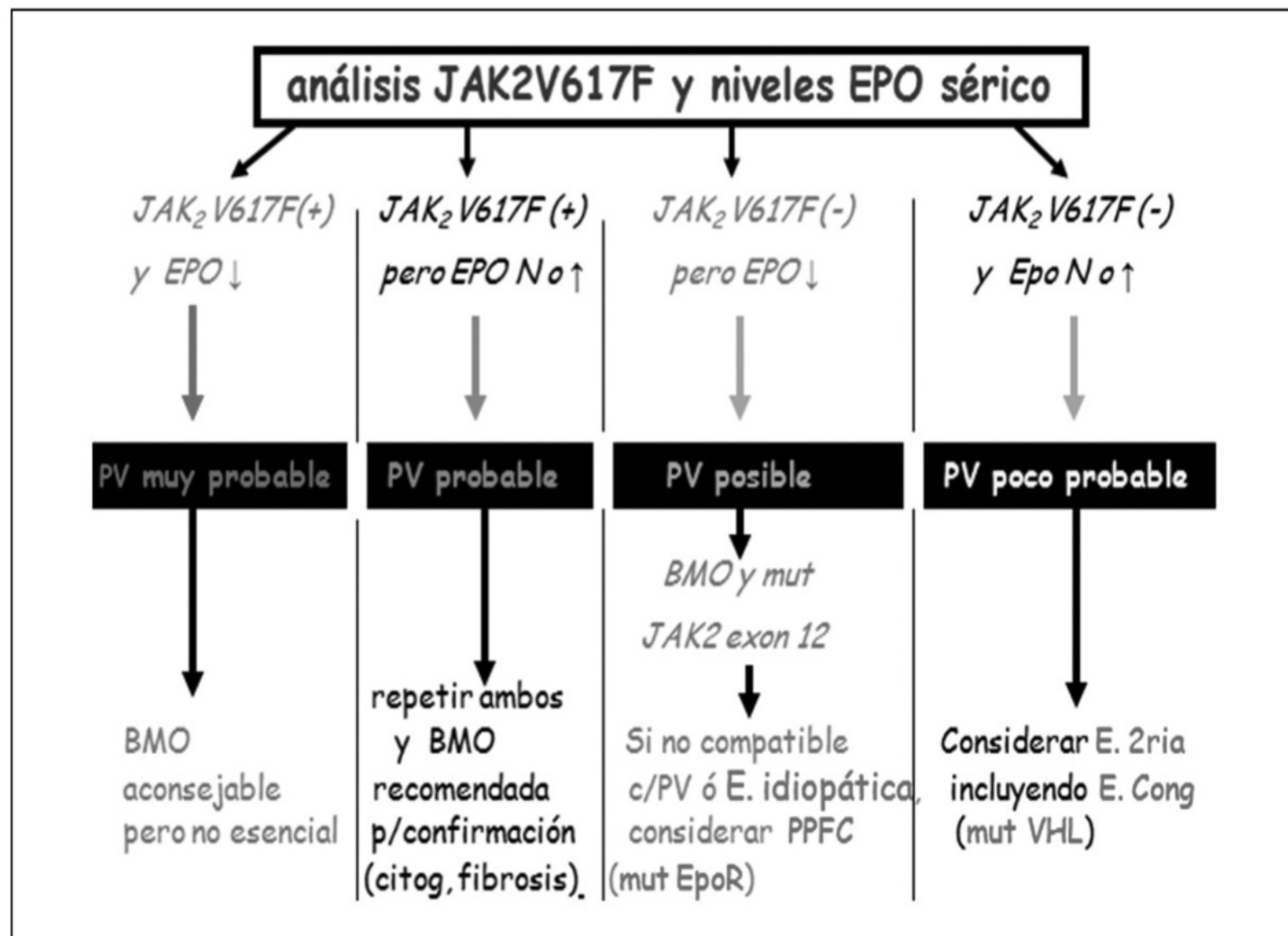
- Hb alta afinidad con O₂
- Deficiencia de mutasa 2,3 bifosfoglicerato
- Mutación VHL

Adquirida

- Mediadas por EPO
 - Con hipoxia
 - Proceso hipoxia central
 - EPOC
 - Shunt cardiopulmonar der-izq.
 - Envenamiento con CO
 - Fumadores
 - Hipoventilación como: apnea del sueño, altitud
 - Hipoxia local renal
 - Estenosis de arteria renal
 - Enfermedad renal en estadíos terminales
 - Hidronefrosis
 - Quistes renales (enf. poliquística del riñón)
- Por producción patológica de EPO
 - Tumores
 - Carcinoma hepatocelular
 - Cáncer renal
 - Hemangioblastoma cerebral
 - Carcinoma/adenoma paratiroide
 - Leiomioma uterino
 - Feocromocitoma
 - Meningioma
 - Por EPO exógeno
 - Asociado a drogas
 - Preparaciones con andrógeno
 - Eritrocitosis post trasplante renal

Eritrocitosis idiopática

2.8 ALGORITMO DIAGNÓSTICO



Diagnostic Criteria for ET: Practical Approach

- WHO criteria
 - Sustained platelet count $\geq 450 \times 10^9/L$
 - Morphologic features of a MPN
 - Exclude PV, PMF, CML, MDS, CMML
 - *JAK2V617F* or other clonal marker; if none, exclusion of reactive thrombocytosis
- Normal to slightly hypercellular bone marrow
- Neutrophils $<12 \times 10^9/L$
- No granulocytic hyperplasia in bone marrow
- No reticulin fibrosis
- No marked megakaryocytic hyperplasia or striking atypia

TABLA 2. Causas de trombocitosis

Primarias	Reactivas
TE	Infecciones agudas y crónicas (TBC-Neumonía)
PV	Injuria tisular (IAM, pancreatitis)
MF manifiesta	Procesos inflamatorios crónicos
Fase prefibrótica de MF	Enfermedad inflamatoria intestinal
LMC	Colagenopatía-Vasculitis
MDS (5q-)	Trombocitosis de rebote (post QT o PTI)
Trombocitosis hereditaria	Hemorragia - Ferropenia y su corrección
	Post- esplenectomía
	Neoplasias (tumores sólidos, linfomas)
	Drogas: vincristina, epinefrina, ATRA
	Citoquinas - Factores de crecimiento
	Insuficiencia renal - Síndrome nefrótico
	Ejercicio extremo
	Supresión de la adicción alcohólica

Diagnóstico histopatológico

- La celularidad es normal o moderadamente hiper celular para la edad del paciente.
- Patrón histoarquitectural general conservado.
 - MK con ubicación centromedular en grupos o dispersos.
 - MK de tamaño grande o gigante y citoplasma abundante.
 - Núcleos con hiperlobulaciones profundas y contornos irregulares.
 - Emperipolesis frecuente, sin ser un hallazgo específico.
 - Serie mieloide y eritroide en número normal o incrementado. La serie eritroide se halla incrementada en los casos de hemorragias previas
- Las fibras reticulínicas presentan patrón normal o están mínimamente incrementadas en la TE (el incremento significativo de fibras reticulínicas o colágenas aleja el diagnóstico de TE) y hasta un 3% pueden tener fibrosis mínima, y una terapéutica previa pueda inducir la fibrosis.
- La presencia de hemosiderina suele observarse en un 40-70% de los casos.
- No se observan blastos ni alteraciones displásicas de la serie granulocítica y la evolución a leucemia aguda es sumamente rara.
- La hematopoyesis extramedular es rara

Diagnostic Criteria for PMF: Practical Approach

- WHO criteria
 - Morphologic features of a MPN
 - Exclude PV, ET, CML, MDS, CMML
 - *JAK2V617F* or other clonal markers; if none, exclusion of secondary causes of myelofibrosis or other changes
 - LEBR; increase in LDH; anemia; splenomegaly
- Present with neutrophilia, thrombocytosis or cytopenias
- Hypercellular bone marrow - with or without fibrosis
- Granulocytic hyperplasia
- Prominent megakaryocyte hyperplasia and marked megakaryocytic atypia

Diagnóstico histopatológico

MFP ESTADIO PREFIBROTICO

- 30% a 40% son diagnosticados en esta fase
- Hiper celularidad
- Proliferación megacariocítica : tamaño variable, aspecto pleomórfico, anomalías de la lobulación nuclear, núcleos en “nube o globo”, relación núcleo-citoplasmática aumentada, hipercromasia, núcleos desnudos, aspecto pleomórfico, bizarro y alteración topográfica con localización paratrabecular y distribución en nidos densos.
- Proliferación neutrofílica
- Frecuente disminución de la eritropoyesis con desviación a izquierda
- Aumento de la angiogénesis
- Fibrosis reticulínica mínima o ausente (grado 0 y 1).
- CD34: <10%.
- Progresión a MF en un 50 a 70 %
- La posibilidad de progresión de estadio pre fibrótico a fibrosis es del 50% a 70%. Si bien la progresión es impredecible, el aumento de defectos de maduración (displasia) de los MK, se asocia a una más rápida progresión a estadios fibroesclerosos.

MFP ESTADIO FIBRÓTICO

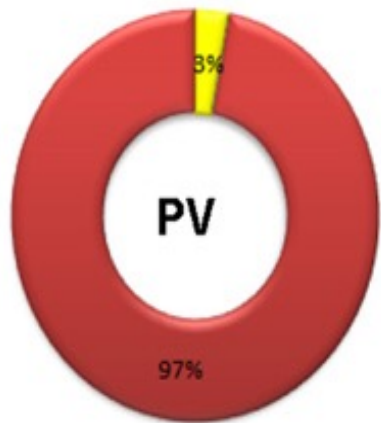
- 60% a 70% son diagnosticados en este estadio
- Gradual disminución de la celularidad.
- La BMO puede ser hiper celular pero más frecuentemente normo o hipocelular, presentando la celularidad en "parches" de tejido hematopoyético separado por áreas de tejido conectivo o adiposo.
- Proliferación megacariocítica predominante, prominente con atipías: Nidos densos y compactos, anomalías de lobulación nuclear en "nube o globo", hipercromasia, aumento de la relación núcleo citoplasmática, núcleos desnudos.
- Islas de hemopoyesis separadas por tejido conectivo o adiposo
- Neoformación ósea. Osteoesclerosis,
- Fibrosis reticulínica (grado 2 y 3) y colágena.
- Dilatación sinusoidal con hemopoyesis intraluminal.
- En casos de diagnóstico previo de MFP, la presencia de 10% a 19% de blastos, o de nidos de células CD34+, indica fase acelerada y la presencia de 20% o más blastos significa transformación a Leucemia Aguda.

MPNs: Distinctive Genetic Abnormalities

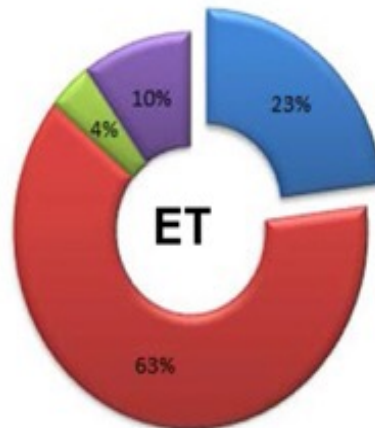
Disease	Cytogenetics	Molecular genetics
CML	t(9;22)(q34;q11.2)	<i>BCR-ABL1</i>
PV	+8, +9, del(20q), del(13q), del(9p)	<i>JAK2 V617F</i> (95-98%) <i>JAK2 exon12</i> (2-5%)
ET	Rare abnormalities	<i>JAK2 V617F</i> (50-60%) <i>CALR</i> (20-30%) <i>MPL exon10</i> (3-5%)
PMF	+8, +9, +1q, del(20q), del(13q), der(6)t(1;6)	<i>JAK2 V617F</i> (50-60%) <i>CALR</i> (20-30%) <i>MPL exon10</i> (5-10%)

Molecular Landscaping of Ph- Classic MPNs

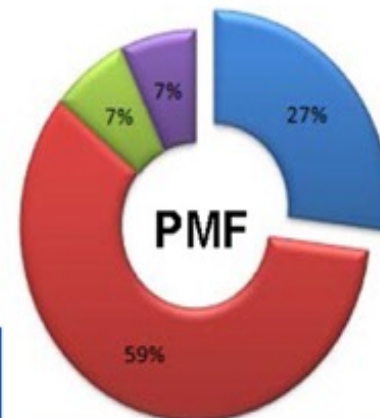
Three Major Driver Mutations (*JAK2*, *CALR* and *MPL*)



■ JAK2 exon 12
■ JAK2V617F



■ CALR+
■ JAK2+
■ MPL+
■ JAK2-CALR-MPL-



■ CALR+
■ JAK2+
■ MPL+
■ JAK2-CALR-MPL-

JAK2 V617F Mutation

(+)

- PV 95%
- PMF ~ 50-60%
- ET ~ 50-60%
- RARS-T ~ 60%
- MDS 0-5%
- AML 0-5%

(-)

- Healthy volunteers
- Secondary polycythemia
- Reactive thrombocytosis
- Reactive leukocytosis
- Solid tumor
- Lymphoid disorders
- CML

JAK2 V617F Mutation Assay

- Positive result:
 - Confirms the presence of a myeloid disorder
 - Strongly favors MPN over MDS diagnosis
 - Cannot distinguish between MPN's
- Negative result
 - In general, diagnostically not helpful
 - Argues against a diagnosis of PV or PPMF
- Assay sensitivity
 - Sanger sequencing: ~ 20%
 - Quantitative AS-PCR: <0.1%

Calreticulin (*CALR*) Mutations

- Multifunctional protein
- Somatic insertions and deletions of *CALR* exon 9
- Resulting in the same alternative reading frame in C-terminus of *CALR*
- Mutually exclusive of *JAK2* and *MPL* mutations
 - ~50 to 80% of *JAK2* and *MPL*-negative PMF and ET
 - 20-30% PMF and ET
- *CALR* mutations found in hematopoietic stem and progenitor cells, converges on JAK/STAT pathway

Klampfl, et al. NEJM 2013

Nangalia, et al. NEJM 2013

CALR Exon 9 Indel Mutations

MDS	8%
RARS-T	12%
CMML	3%
aCML	3%
AML	0%
CML	0%
Lymphoid neoplasm	0%
Solid tumor	0%
Normal controls	0%

Klampfl, et al. NEJM 2013

Nangalia, et al. NEJM 2013

Clinical Features and Prognosis Impact of *CALR* mutation

ET

Lower Hb

Lower WBC

Higher platelets

Lower risk of thrombosis

? OS

PMF

Less likely to have transfusion-dependent anemia or leukocytosis

Higher platelet count

Lower risk of thrombosis

Better OS

Klampfl, et al. NEJM 2013

Nangalia, et al. NEJM 2013

Rumi, et al, Blood 2014

Tefferi, et al, Leukemia 2014

Rotunno, et al, Blood, 2014

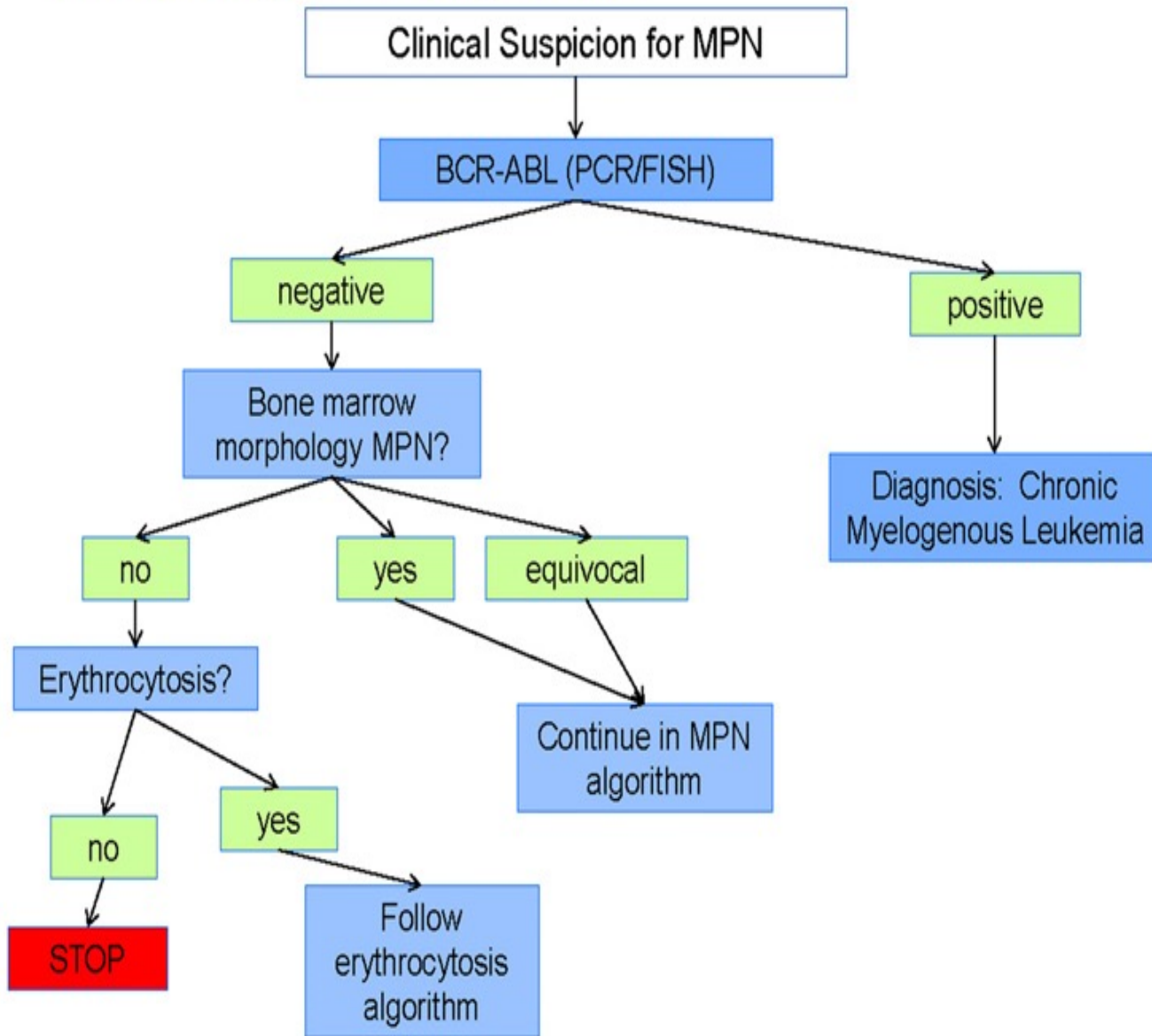
MPL Exon 10 Mutations

- Thrombopoietin receptor
- *MPL* mutations present in 5-10% PMF and 3-5% ET
- Mutations are essentially exclusive of *JAK2* and *CALR*
- Especially useful when there is a clinical suspicion of a MPN but the bone marrow morphology is equivocal
 - Fibrosis without megakaryocyte clusters
 - Thrombocytosis and/or neutrophilia without megakaryocyte clusters
- Sanger sequencing: 20% sensitivity

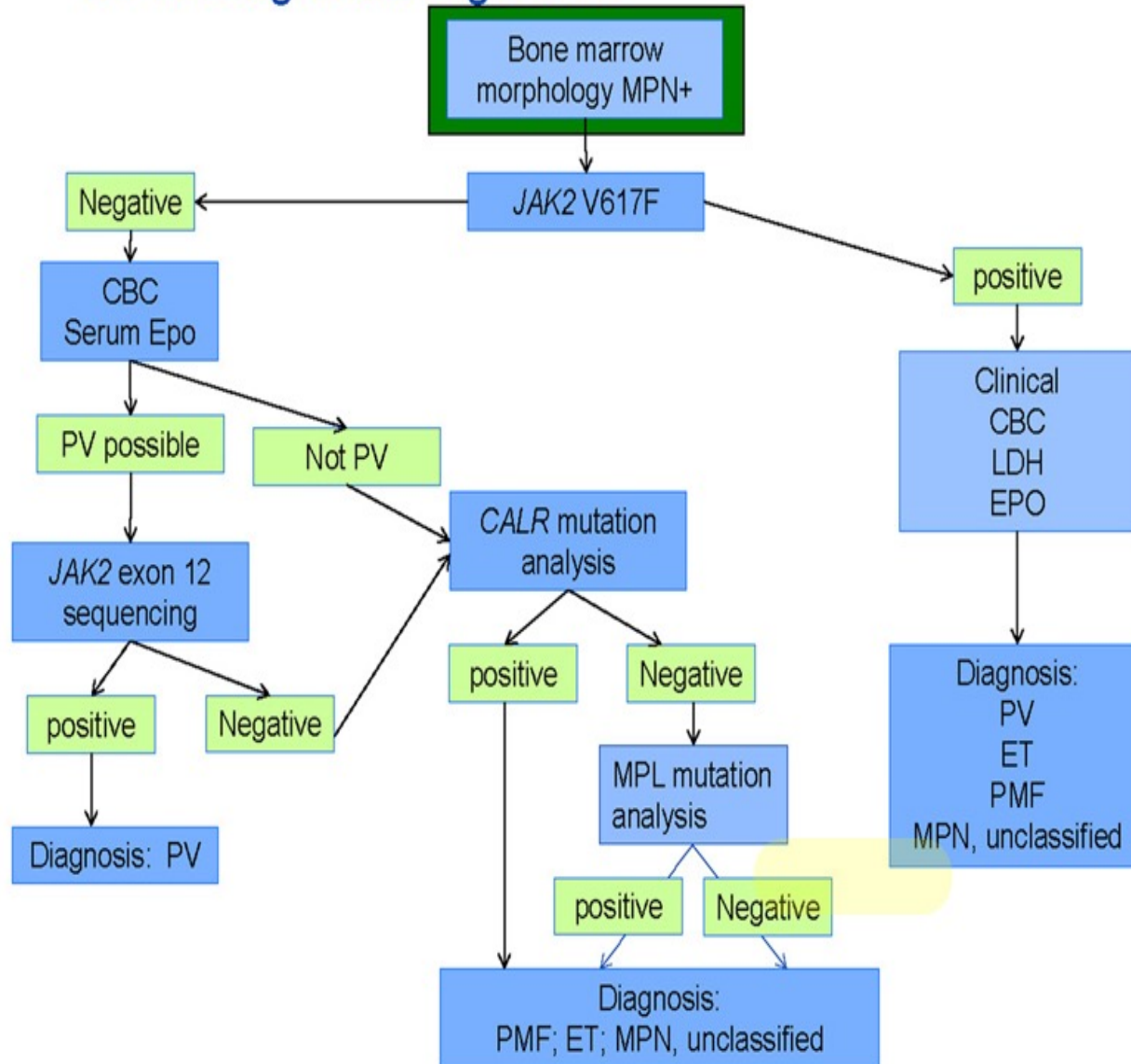
Initial Tests For Patients With Suspected MPNs

- Bone marrow aspirate and biopsy
 - Chromosome analysis
 - *BCR/ABL* Diagnostic PCR to quickly confirm or exclude CML (FISH can also be used)
 - *JAK2* V617F (either PB or BM; not both)*
 - Then follow the algorithm
-

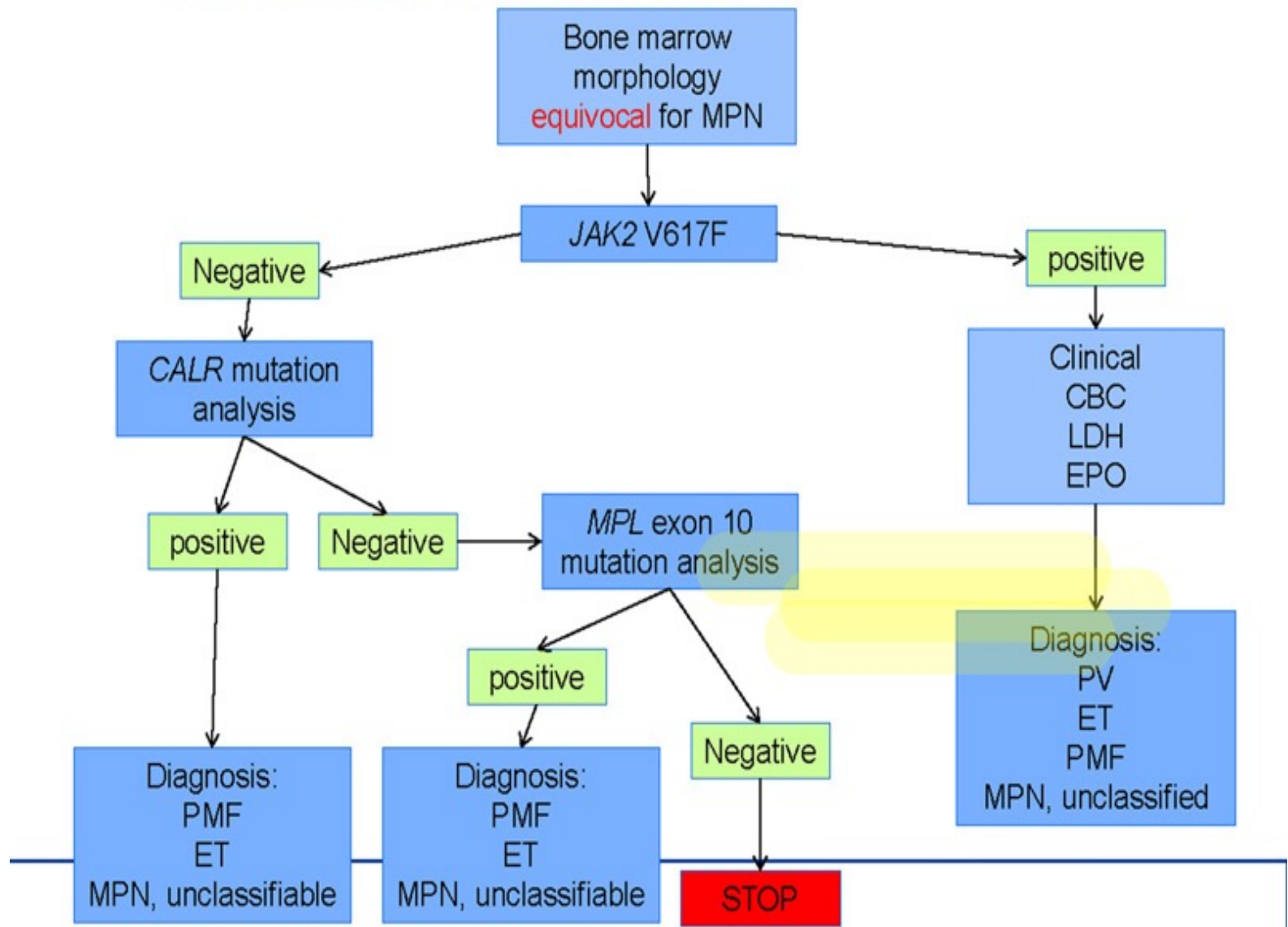
MPN Diagnostic Algorithm



MPN Diagnostic Algorithm



MPN Diagnostic Algorithm



MPN Reflex Testing- Available in January 2015

