

**Sociedad Peruana de Hematología**

I Curso Educativo 2015

# Neoplasias Mieloproliferativas Crónicas

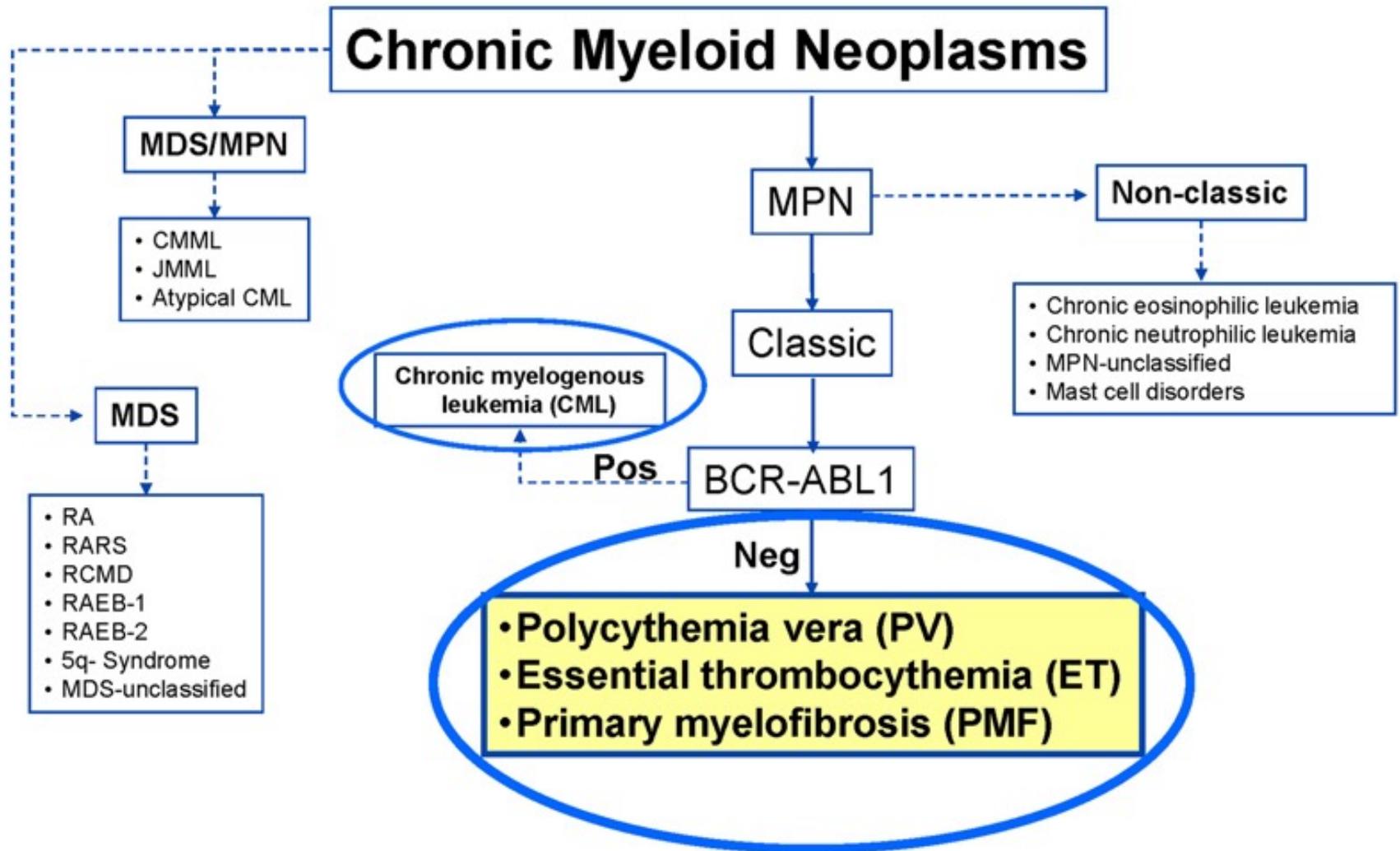
**Diagnóstico Diferencial**

**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

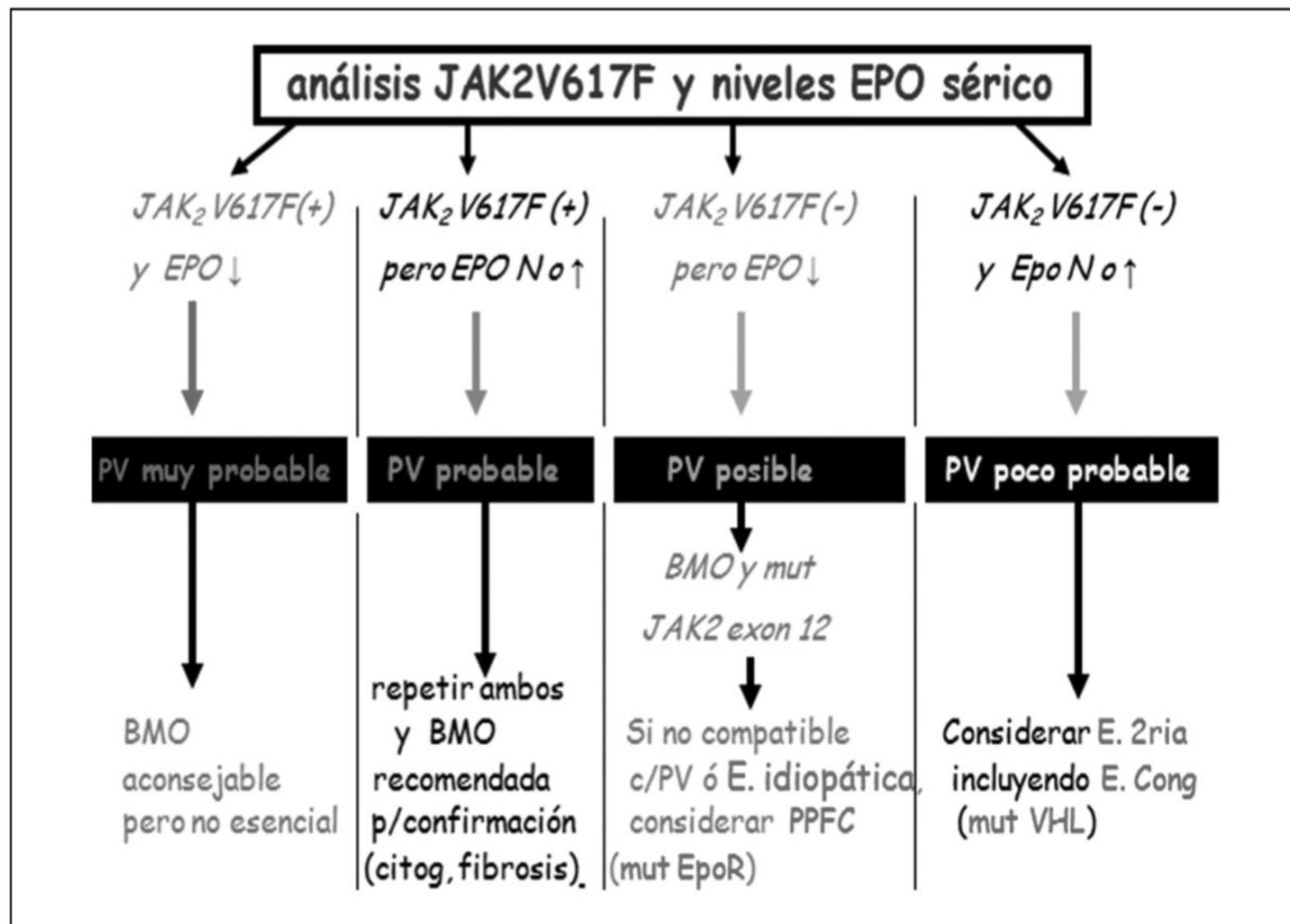
Hb alta afinidad con O<sub>2</sub>  
 Deficiencia de mutasa 2,3 bifosfoglicerato  
 Mutación VHL

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  
 Hemagioblastoma 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*

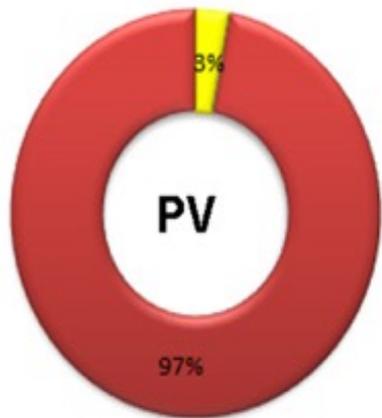
- 60% a 70% son diagnosticados en este estadio
- Gradual disminución de la celularidad.
- La BMO puede ser hipercelular pero más frecuentemente normo o hipocelular, presentando la celularidad en "parches" de tejido hematopoyético separado por áreas de tejido conectivo o adiposo.
- Proliferación megacariocítica 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

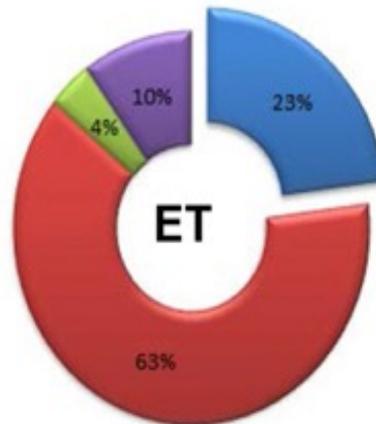
<b>Disease</b>	<b>Cytogenetics</b>	<b>Molecular genetics</b>
CML	t(9;22)(q34;q11.2)	<i>BCR-ABL1</i>
PV	+8, +9, del(20q), del(13q), del(9p)	<i>JAK2 V617F</i> (95-98%) <i>JAK2 exon12</i> (2-5%)
ET	Rare abnormalities	<i>JAK2 V617F</i> (50-60%) <i>CALR</i> (20-30%) <i>MPL exon10</i> (3-5%)
PMF	+8, +9, +1q,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

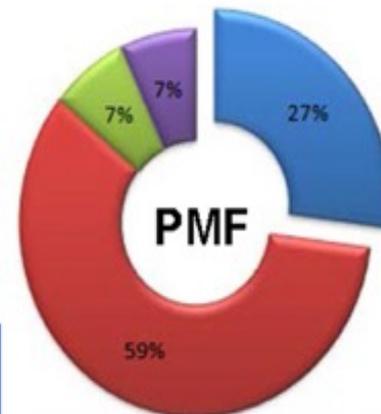
## Three Major Driver Mutations (*JAK2*, *CALR* and *MPL*)



■ 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*

---

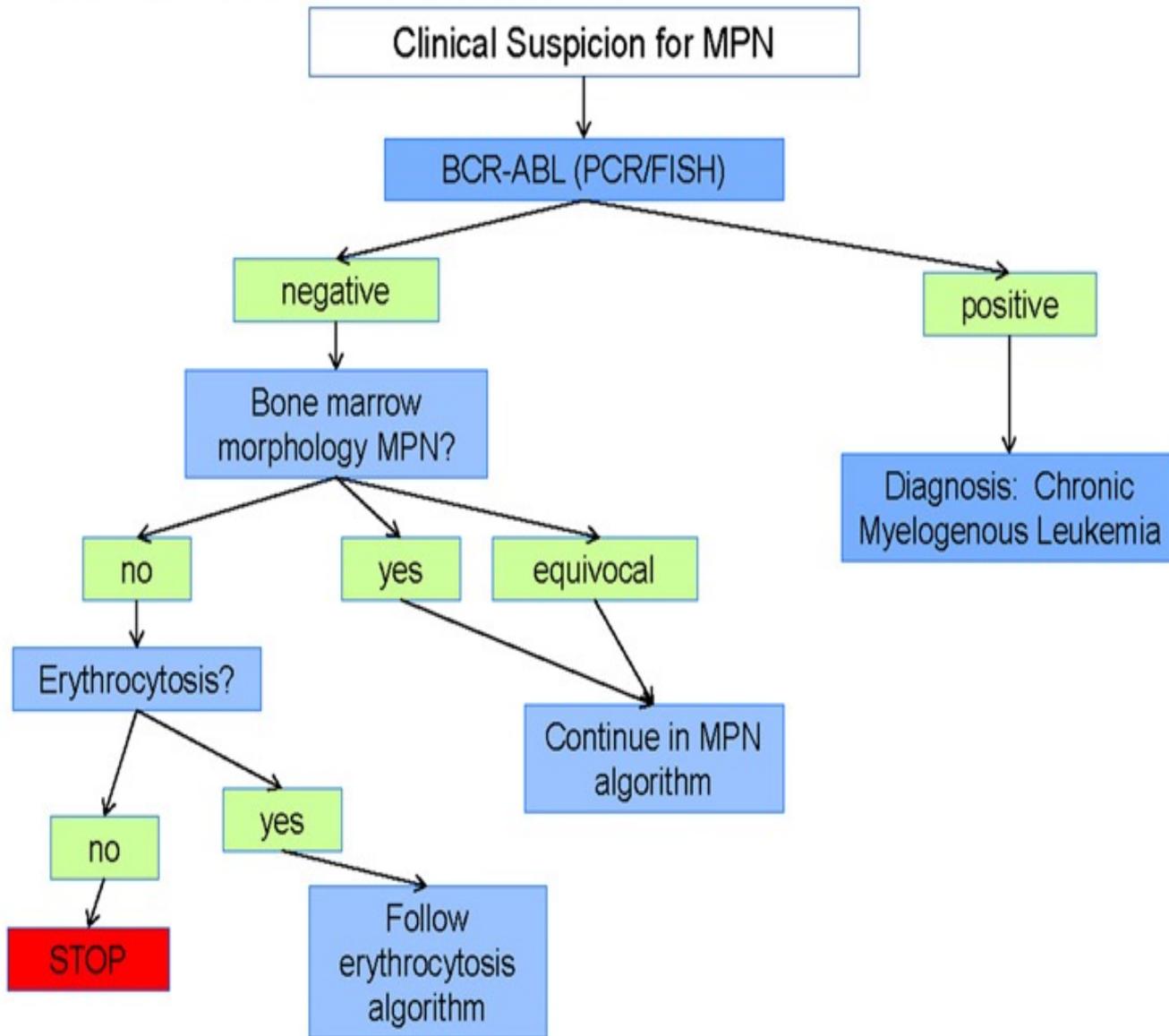
# MPL Exon 10 Mutations

- 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

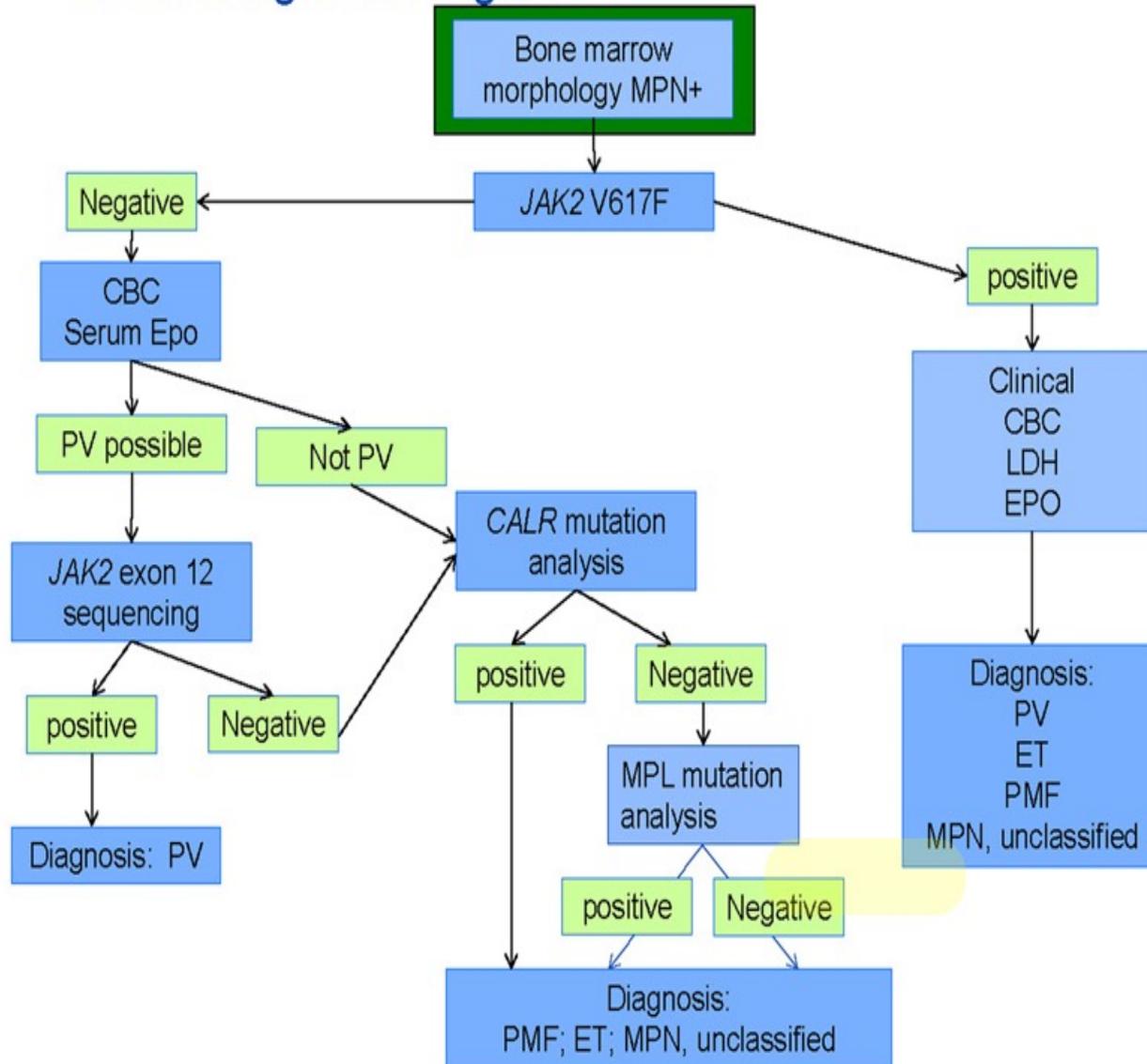
# Initial Tests For Patients With Suspected MPNs

- 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
-

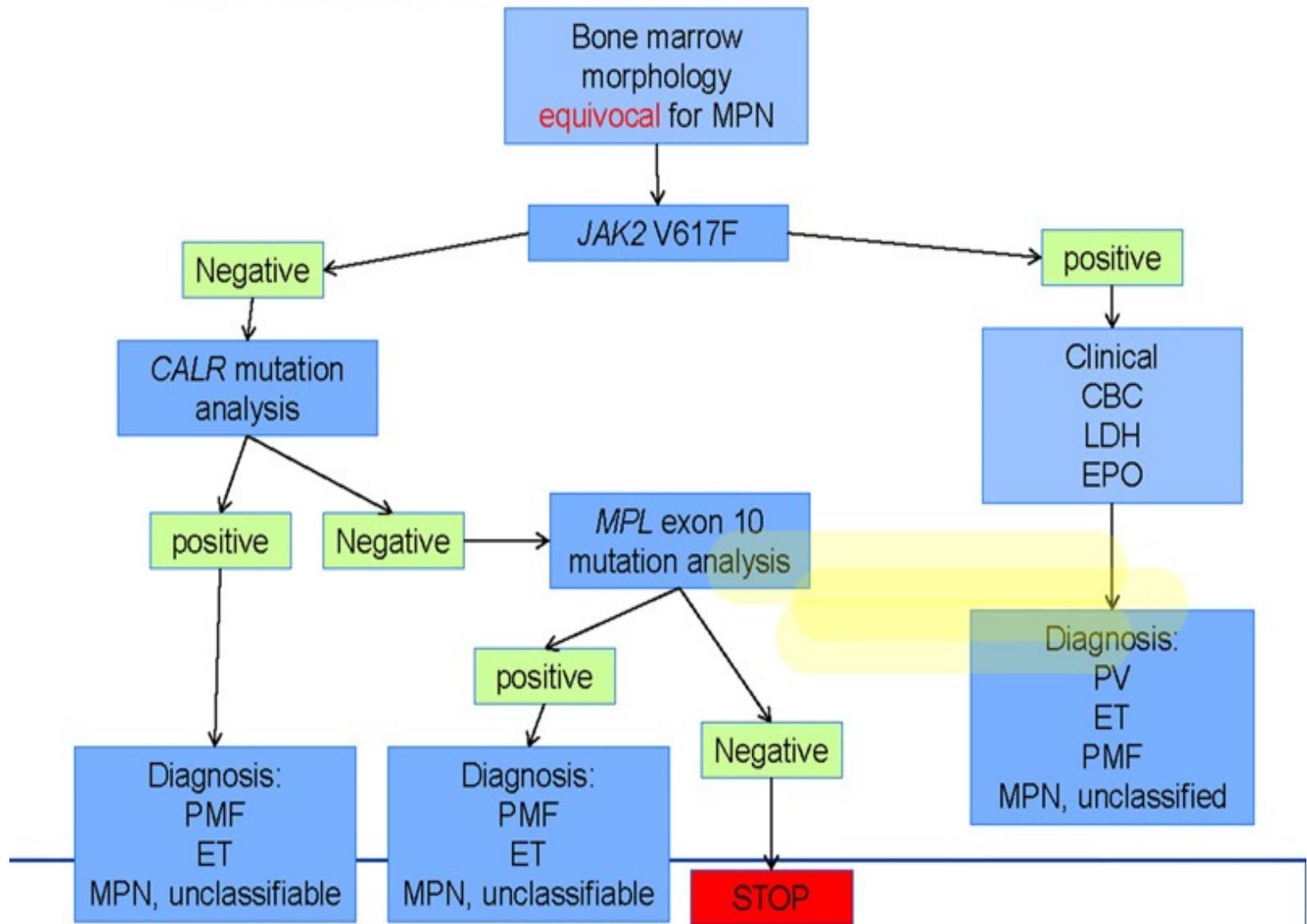
# MPN Diagnostic Algorithm



# MPN Diagnostic Algorithm



# MPN Diagnostic Algorithm



# MPN Reflex Testing- Available in January 2015

