



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE MEDICINA

TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

CORRELACION ENTRE EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO
Y EL DIAGNÓSTICO FINAL EN PACIENTES CON
DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA
EN EL HOSPITAL NACIONAL ARZOBISPO LOAYZA DE
ENERO DEL 2014 A MARZO DEL 2016

Nombre del Autor: Karen Griselda Gallegos Quispe

Nombre del Asesor: Dr. Cesar Augusto Chian Garcia

LIMA – PERÚ

2019

RESUMEN

Las neoplasias mieloproliferativas son un grupo de patologías heterogéneas con alteraciones de origen clonal de las células madre, esto se ve reflejado en estudios en sangre periférica y en medula ósea; en varios estudios clínico-patológicos se han documentado la utilidad del diagnóstico, relevancia y la reproducibilidad de los criterios morfológicos de la médula ósea que caracterizan a estas entidades.

Sin embargo su diagnóstico no está basado únicamente en las características histológicas de la médula ósea si no también se requiere integrar estos hallazgos con los estudios de laboratorio en sangre periférica, el aspirado de médula ósea, estudios moleculares y citogenéticos.

Este estudio tiene por objetivo principal el estudio morfológico de la médula ósea en biopsias de pacientes con diagnóstico posible de neoplasia mieloproliferativa, así como valorar el acercamiento diagnóstico y la diferenciación entre las diferentes neoplasias mieloproliferativas de acuerdo a los criterios establecidos por la OMS.

Se revisaran las láminas y reportes de biopsias de medula ósea entre enero del 2016 y Julio del 2018 de pacientes con el diagnóstico de Neoplasia Mieloproliferativa del Hospital Nacional Arzobispo Loayza. Se considerara además los informes de estudios de aspirado de medula ósea, estudios moleculares y citogenéticos, Estos serán revisados y analizados mediante estudios estadísticos.

Palabras clave: Neoplasias mieloproliferativas, leucemia mieloide crónica, policitemia vera, trombocitemia esencial, mielofibrosis primaria, JAK2, CARL, MLP.

INTRODUCCION

Las neoplasias mieloproliferativas están caracterizadas por alteraciones clonales de células madre. La identificación del cromosoma Ph1 resultado de una translocación entre los cromosomas 9 y 22, y en el caso de las NMP negativas a este cromosoma que presentan de forma variable la mutación de Janus Kinasa (JAK2) como parte de las vías de señalización de factores de crecimiento, son de utilidad para el diagnóstico y clasificación de las NMP y para la selección del tratamiento.

A su vez el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas ha marcado el interés por el diagnóstico preciso y la diferenciación entre ellas. (1, 2)

En la evaluación de las biopsias de medula ósea, el patólogo puede procurar llegar al diagnóstico preciso, pero se debe tener en claro cada una de las características histológicas que identifican a cada una de las entidades incluidas en este grupo.

Algunos estudios revelan que existe una baja sensibilidad del diagnóstico histopatológico entre casos de PV y ET, esto debido a las diferenciaciones atribuibles a la subjetividad de interpretación de los hallazgos morfológicos en la biopsia de medula. El estándar de los principales parámetros, es decir un patrón histológico para la caracterización de la biopsia y la aplicación de los criterios diagnósticos de la OMS dan como resultado un 70 a 90% de tasas de consenso en la práctica. (3, 4)

El exámen de medula ósea en la NMP incluye características histológicas como la celularidad, maduración y distribución de cada uno de los elementos hematopoyéticos, entre ellas la serie eritroide y la serie megacariocítica, además del tamaño, distribución, presencia de atípia y defectos de la maduración; así también la presencia de blastos, ya que podría indicar el inicio de la fase acelerada de la enfermedad en pacientes con diagnóstico previo de MFP con 10 a 19% de blastos; o transformación leucémica en condiciones con blastos mayor del 20%. Otro punto a evaluar son las fibras reticulares, fibras colágenas y la presencia de hemosiderina. (4, 5,7)

Con el paso de los años se han descubierto más de 20 mutaciones somáticas, la más frecuente de ellas es la relacionada con JAK2, estimada en un 97% en Policitemia Vera, 50 a 60% en

Trombocitosis esencial, 55 a 65 % en mielofibrosis primaria siendo en esta última no específico. Y en los casos de leucemia mieloide aguda y otras neoplasias mieloides es menos del 5%. Cabe resaltar que el hallazgo de esta mutación no diferencia por si sola PV de ET o PMF; pero su ausencia aleja el diagnóstico de PV. (3,4)

Otra de las mutaciones halladas involucra al gen CARL localizado en el cromosoma 19p13, 2 presente en un 20 a 25 % en ET y en MFP, pero ausente en PV, otra mutación es MLP (myeloproliferative leukemia virus oncogene) localizada en el cromosoma 1p34 cuya frecuencia es de 3 a 4% en ET y 6 a 7% en PMF, esta tampoco se encuentra en pacientes con PV. Existe un porcentaje de pacientes que no son positivos para estas tres mutaciones y se conoce como Triple Negativo, esta condición es el 10 a 15 % de pacientes con PMF o ET. Estas mutaciones tienen un valor significativo en el diagnóstico y pronóstico. (6, 7,8)

Los resultados obtenidos del estudio, servirán como referencia para conocer el porcentaje de concordancia del estudio histopatológico de las biopsias de médula ósea con los hallazgos del estudio molecular y citogenético. De encontrarse un porcentaje bajo de concordancia entre la histopatología y los estudios citogenéticos y moleculares es necesario revisar los protocolos actuales de diagnóstico. De esta forma mediante el diagnóstico adecuado definir el curso clínico y pronóstico con la intervención oportuna en cuanto al tratamiento según los últimos avances. (7)

POLICITEMIA VERA

Asociada a mutaciones puntuales activadoras de la tirosina cinasa (JAK2), afecta a adultos entre los 50 y 60 años; esta se caracteriza por una médula ósea hiper celular, con incremento de la serie eritroide, granulocítica y megacariocítica (panmielosis) que puede ser vista predominantemente en el espacio subcortical medular. Los precursores eritroides forman largas islas o nidos; los megacariocitos abundantes y maduros, grandes y con hiperlobulación y pueden no tener una atipia significativa. Asociada a un menor aumento de reticulina, la fibrosis fue informada en menos del 20% de los casos. (1, 3, 4) Dentro de los criterios mayores y considerado el más importante es la concentración de hemoglobina, mayor de

16.5g/dl en varones y en mujeres debe ser mayor de 16.5 g/dl. El diagnóstico requiere de tres criterios mayores o dos criterios mayores más el criterio menor.

Tabla 1.01 Criterios Diagnósticos para Policitemia Vera
<p>El diagnóstico de policitemia vera requiere los 3 criterios principales o los 2 primeros criterios principales más el criterio menor.</p> <p>Criterios Mayores</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Concentración de hemoglobina elevado (> 16.5 g/dl en hombres; >16.0 g/dl en mujeres) o hematocrito elevado (> 49% en hombres; >48% en mujeres) o incremento de masa eritrocitaria (> 25% por encima del valor normal) 2. Biopsia de médula ósea que muestra hiper celularidad ajustada por edad con crecimiento trilineaje (panmielosis), que incluye proliferación prominente de eritroides, granulocitos y megacariocitos, con megacariocitos maduros pleomórficos (diferencias de tamaño). 3. Presencia de mutación JAK2V617 o JAK2 exón 12 <p>Criterio Menor</p> <p>Eritropoyetina en suero por debajo del valor de referencia normal</p>
<p>El criterio principal 2 (biopsia de médula ósea) puede no ser necesario en pacientes con eritrocitosis absoluta sostenida (concentraciones de hemoglobina de >18.5 g / dl en hombres o >16.5 g / dl en mujeres y valores de hematocrito de >55.5% en hombres o >49.5% en mujeres) el criterio principal 3 y el criterio menor están presentes. Sin embargo, la mielofibrosis inicial (presente hasta en un 20% de los pacientes) solo puede detectarse mediante biopsia de médula ósea, y este hallazgo puede predecir una progresión más rápida hacia la mielofibrosis manifiesta (mielofibrosis post PV).</p>

Nota, Tomado de “WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues” 2017.

En estudios anteriores se ha visto que la diferenciación histológica entre PV y ET puede plantear un problema que daría una baja sensibilidad al diagnóstico histológico. (7, 8)

Finalmente la expectativa de vida es menor que de la población control según la edad y sexo, siendo de 14 años en promedio, en menores de 75 años este promedio aumenta a 33 años; los factores de riesgo a considerar son la edad avanzada, leucocitosis y trombosis, y cariotipo anormal (12% de los pacientes). Aunque no se conocen bien los factores que determinan el riesgo de trombosis y de hemorragia. El desarrollo de síndrome mielodisplásico y la fase blástica se ha visto en el 2-3% de los pacientes y puede incrementar con cierto tipo de quimioterapicos hasta $\geq 10\%$. (11, 12)

TROMBOCITEMIA ESENCIAL

Es una NMP que afecta principalmente a la línea megacariocítica con un aumento sostenido del recuento de plaquetas en sangre periférica ($\geq 450 \times 10^9$) y un incremento de megacariocitos en medula ósea y cuyas manifestaciones clínicas son trombosis y hemorragia. La edad media en el momento del diagnóstico es de 65 a 70 años. (14)

Las plaquetas presentan anisocitosis, formas variables con disminución de gránulos citoplasmáticos. La serie eritroide usualmente es normocítica normocromica. Los megacariocitos con formas gigantes con hiperlobulación nuclear se disponen en pequeños grupos en el espacio paratrabecular o cerca a los sinusoides o como megacariocitos aislados. Las fibras de reticulina usualmente están en cantidad normal. (4, 6,)

La detección de la mutación de los genes JAK, CALR, MPL, THPO o el TET2 son de utilidad para diferenciar la ET de los casos de trombocitosis reactiva, y el estudio histológico para diferenciarla de otras NMP. La presencia del gen BCR-ABL1 excluye el diagnóstico. (7, 10, 13). Después de algunos años estos pacientes desarrollan fibrosis en médula ósea de grado 2-3 a 0-3 según la escala, o grado 3-4 a 0-4, asociada a hematopoyesis extramedular. El 5% presenta riesgo de transformación leucémica y el tiempo de sobrevida es de 20 años aproximadamente. (8,9)

Tabla 2.02 Criterios Diagnósticos para Trombocitemia Esencial

El diagnóstico de trombocitemia esencial requiere que se cumplen todos los criterios principales o los primeros 3 criterios principales más el criterio menor.

Criterio mayor

1. Plaquetas $\geq 450 \times 10^9/L$
2. Biopsia de médula ósea que muestra proliferación principalmente del linaje megacariocítico, con números aumentados de megacariocitos maduros agrandados núcleos hiperlobulados, sin aumento significativo o desplazamiento a la izquierda en la granulopoyesis o eritropoyesis; muy raramente un aumento menor (grado 1) en las fibras de reticulina.
3. No se cumplen los criterios de la OMS para la leucemia mieloide crónica BCR-ABL1 positiva, policitemia vera, mielofibrosis primaria u otras neoplasias mieloides
4. Mutación JAK2, CALR o MPL.

Criterio Menor

Presencia de un marcador clonal o
ausencia de evidencia de trombocitosis reactiva

Nota, Tomado de “WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues” 2017.

MIELOFIBROSIS PRIMARIA

La característica distintiva es el desarrollo de fibrosis obliterante que va desde un estadio prefibrótico con medula ósea hiper celular hasta una fase fibrótica (grado 3) positiva a la tinción de Masson acompañada de osteoesclerosis. Además de proliferación anormal de megacariocitos y granulocitos en medula ósea. Se incluye leucoeritroblastosis y anisopoiquilocitosis asociada a hipocelularidad en médula ósea. Y organomegalia causada por hematopoyesis extramedular. Tanto las características morfológicas y clínicas son significativas para el diagnóstico. La mutación del gen JAK2 se encuentra entre el 50 a 60% de los casos de MFP. (10,11)

Los estadios avanzados se caracterizan clínicamente por una marcada anemia, leucocitosis, leucopenia y trombocitosis leve, disminución del recuento de plaquetas en sangre periférica. DHL sérica elevada. En varios estudios se ha hecho seguimiento con exámenes de biopsia de medula ósea secuencial observando el avance progresivo de la mielofibrosis. Es importante diferenciar esta entidad de la ET por el impacto diagnóstico, para ello se debe correlacionar los hallazgos morfológicos de la biopsia de medula ósea, los hallazgos clínicos y laboratoriales para una distinción precisa. Criterios diagnósticos para fibrosis. (15, 16)

Tabla 3.03 Criterios Diagnósticos para Mielofibrosis Primaria, estadio pre fibrótico

El diagnóstico de mielofibrosis prefibrótica / primaria temprana requiere que se cumplan los 3 criterios principales y al menos 1 criterio menor.

Criterios Mayores

1. Proliferación megacariocítica y atipia, sin fibrosis de reticulina grado 1, acompañada de una mayor celularidad de la médula ósea ajustada por edad, proliferación granulocítica y (a menudo) disminución de la eritropoyesis.
2. No se cumplen los criterios de la OMS para la leucemia mieloide crónica BCR_ABL1 positiva, policitemia vera, trombocitemia esencial, síndromes mielodisplásicos u otras neoplasias mieloides.
3. JAK2, CALR, o MPL mutación. o presencia de otro marcador clonal o ausencia de fibrosis reticular de médula ósea reactiva.

Criterio Menor

presencia de al menos uno de los siguientes, confirmado en 2 determinaciones consecutivas:

- anemia no atribuida a una enfermedad adyacente.
- Leucocitosis $\geq 11 \times 10^9/L$
- esplenomegalia palpable
- nivel de lactato deshidrogenasa por encima del límite superior del rango de referencia institucional

En la ausencia de las 3 mutaciones clonales del criterio mayor, búsqueda para otras mutaciones asociadas con neoplasia mieloide (e.j. ASXL1, EZH2, TET2, IDH1, IDH2, SRSF2, and SF3B1) pueden ser de ayuda en determinar la naturaleza clonal de la enfermedad.
 Fibrosis de reticulina menor (grado 1) secundaria a infección, trastorno autoinmune u otras afecciones inflamatorias crónicas, leucemia de células pilosas u otra neoplasia linfoide, neoplasia maligna metastásica o mielopatías tóxicas (crónicas)

Nota, Tomado de “WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues” 2017.

Tabla 5.03 Criterios Diagnósticos para Mielofibrosis Primaria, estadio fibrotico
<p>El diagnóstico de mielofibrosis primaria manifiesta requiere que se cumplan los 3 criterios principales y al menos 1 criterio menor</p> <p>Criterios Mayores</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. proliferación megacariocítica y atipia, acompañada de reticulina y / o fibrosis de colágeno grados 2 o 3 2. No se cumplen los criterios de la OMS para trombocitemia esencial, policitemia vera, leucemia mieloide crónica BCR-ABL1 positiva, síndrome mielodisplásico u otras neoplasias mieloides 3. Mutación JAK2, CALR o MPL <ul style="list-style-type: none"> o Presencia de otro marcador clonal o Ausencia de mielofibrosis reactiva <p>Criterio Menor</p> <p>Presencia de al menos uno de los siguientes, confirmado en 2 determinaciones consecutivas:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anemia no atribuida a una enfermedad comórbida - Leocitosis $11 \times 10^9 / L$ - Esplenomegalia palpable - Nivel de lactato deshidrogenasa por encima del límite superior del rango de referencia institucional - Leucoeritoblastosis
<p>Los neoplasmas mieloproliferativos se pueden asociar con monocitosis o pueden desarrollarlo durante el curso de la enfermedad, estos casos pueden simular leucemia mielomonocítica crónica (LMML); en estos raros casos, un historial de MPN excluye CMML, mientras que la presencia de características de MPN en la médula ósea y / o mutaciones asociadas a MPN (en JAK2, CALR o MPL) tienden a apoyar el diagnóstico de MPN con monocitosis en lugar de CMML.</p> <p>En ausencia de cualquiera de las 3 mutaciones clonales principales, la búsqueda de otras mutaciones asociadas con neoplasias mieloides (por ejemplo, mutaciones ASXL1, EZH2, TET2, IDH1, IDH2, SRSF2 y SF3B1) puede ser útil para determinar la naturaleza clonal de la enfermedad</p> <p>Fibrosis de la médula ósea secundaria a infección, trastorno autoinmune u otra afección inflamatoria crónica, leucemia de células pilosas u otra neoplasia linfoide, neoplasia metastásica o mielopatía tóxica (crónica).</p>

Nota, Tomado de “WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues” 2017.

Tabla 5.04 Sistema de gradación de Fibrosis en Médula Ósea (Thiele Jet al.)	
Grado	Definición
MF-0	reticulina lineal dispersa sin intersecciones (cruces), correspondiente a la médula ósea normal
MF-1	Red suelta de reticulina con muchas intersecciones, especialmente en áreas perivasculares
MF-2	Aumento difuso y denso de reticulina con extensas intersecciones, ocasionalmente con haces focales de fibras gruesas mayormente consistentes con colágeno y / o asociadas con osteoesclerosis focal
MF-3	Aumento difuso y denso de reticulina con extensas intersecciones y haces gruesos de fibras gruesas consistentes con colágeno, generalmente asociado con osteoesclerosis
La densidad de fibra debe evaluarse solo en áreas hematopoyéticas, si el patrón es heterogéneo, la calificación final se determina por el grado más alto presente en el $\geq 30\%$ del área de la médula. En los grados MF-2 y MF-3, se recomienda una tinción adicional con tricrómico	

Nota, Tomado de “WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues” 2017.

Tabla 5.05 Sistema de Gradación de Colagenosis	
Grado	Definición
0	Solo colágeno perivascular (normal)
1	Depósitos de colágeno paratrabecular o central sin conexión
2	Depositos de colágeno paratrabecular o central con focos de conexión o aposición paratrabecular generalizada de colágeno.
3	Malla difusa de colágeno en $>30\%$ de espacios medulares.
Si el patrón es heterogéneo, el grado final está determinado por el grado más alto presente en $\geq 30\%$ del área	

Nota, Tomado de “WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues” 2017.

Tabla 5.06 Sistema de gradación de Osteoesclerosis	
Grado	Definición
0	trabéculas óseas regulares (bordes paratrabeculares distintos)
1	brotación focal, ganchos, espinas o aposición paratrabecular de hueso nuevo
2	Formación paratrabecular difusa de hueso nuevo con engrosamiento de las trabéculas, ocasionalmente con interconexiones focales
3	malla de interconexión extensiva de hueso nuevo con borrado general de los espacios medulares

Nota, Tomado de “WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues” 2017.

Según algunas revisiones se toma como referencia “8 características”: edad mayor de 65 años, concentración de hemoglobina menor de 10 g/dl, conteo de leucocitos mayor a 25000/ μ L, blastos circulantes al menos en 1%, presencia de síntomas constitucionales, cariotipo desfavorable (cariotipo complejo), requerimiento de transfusión de paquetes globulares y recuento plaquetario menor de $100 \times 10^3/\mu$ L. Clasificando los casos en: bajo riesgo (ningún factor), intermedio-1 (1 factor de riesgo), intermedio-2 (2-3 factores de riesgo) y alto (4 a más) con una media de sobrevida de 15.4, 6.5, 2.9 y 1.3 años respectivamente. (10, 15)

La mutación del gen CALR está asociada con un mejor tiempo de sobrevida y la mutación ASXL1 con una sobrevida desfavorable. (10)

LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

La leucemia mieloide crónica se distingue de las demás NMP por la presencia del gen BCR-ABL producto de la translocación entre los cromosomas 9 y 22, presente en el 90% de los pacientes, es la más frecuente en adultos, existen tres formas de esta translocación con diferentes manifestaciones clínicas y morfológicas. Presenta dos a tres fases, una fase inicial que es la fase crónica, la fase acelerada y por último la fase blástica. (10, 15)

En la fase crónica se halla leucocitosis en sangre periférica, neutrófilos en varios estadios de maduración, displasia granulocítica ausente, el recuento de blastos es menor al 2%, eosinofilia y basofilia son comunes. Muchos de los casos son diagnosticados por el hallazgo en sangre periférica del cromosoma Ph y/o el gen BCR-ABL1 técnicas citogenéticas y estudios moleculares, el aspirado de medula ósea es esencial para complementar el estudio morfológico y de cariotipo. (15,16)

La medula ósea se presenta hipercelular con marcada proliferación granulocítica y expansión de los mielocitos. Blastos usualmente menos del 5%, proliferación de megacariocitos pequeños con núcleos hiposegmentados que se correlacionan con fibrosis moderada a marcada; eosinofilos y basófilos se encuentran incrementados. (3)

La fase acelerada y la fase blastica son importantes en su reconocimiento para el tratamiento y pronostico, pero las características clínicas y morfológicas y los parámetros que determinan cada una no están bien definidos y difieren entre varios trabajos de investigación. (8, 14, 15)

En la fase acelerada la medula ósea es hiper celular en las muestras de biopsia y presenta cambios displásicos de la serie mieloide, megacariocitos pequeños agrupados que incluyen micromegacariocitos pueden estar presentes y asociados con fibrosis significativa. El incremento de blastos va de un 10-19% siendo mejor evaluado con estudios de inmunohistoquímica con CD34. (16)

La fase blastica incluye criterios como blastos mayor o igual al 20% en sangre o en medula ósea, o como proliferación extramedular. Algunos investigadores y clínicos usan como criterio: mayor de 30% de blastos teniendo un pobre pronóstico: Además es recomendable realizar pruebas citoquímicas y análisis de inmunofenotipo de los blastos. La proliferación extramedular es más común en piel, ganglios linfáticos, hueso y SNC. (16, 17)

La respuesta al tratamiento constituye uno de los más importantes indicadores de pronóstico, sin embargo existen score de riesgo basados en la clínica y características hematológicas para evaluar el factor pronóstico. (10, 15)

En el Hospital Nacional Arzobispo Loayza se reciben anualmente una gran cantidad de biopsias de medula ósea de pacientes con sospecha clínica de NMP en las cuales se hace la evaluación morfológica y se da en base a esto y a los hallazgos clínicos y de laboratorio un primer diagnóstico, posteriormente son remitidas a otro centro de mayor complejidad para su estudio molecular y citogenético, muchas veces sin llegar a realizar la correlación de los resultados de la biopsia con los estudios moleculares.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVOS GENERALES

1. Determinar el grado de concordancia entre el diagnóstico histológico con el diagnóstico final obtenido a partir de los estudios citogenéticos y moleculares en asociación a los hallazgos clínicos y de laboratorio, en los pacientes con diagnóstico

de neoplasia mieloproliferativa atendidos en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar morfológicamente las biopsias de médula ósea de pacientes con probable diagnóstico de neoplasias mieloproliferativas y describir los hallazgos complementarios en el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas.
2. Hallar la variabilidad intraobservador de la lectura histológica de las biopsias de medula ósea.

MATERIAL Y METODOS

TIPO DE ESTUDIO

Estudio descriptivo del tipo observacional retrospectivo debido a que las variables en estudio no serán controladas por el investigador, simplemente se observaran, describirán y analizaran.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio de tipo descriptivo, retrospectivo observacional.

- Según su finalidad, el estudio es descriptivo; ya que se pretende describir las características de las variables, además de evaluar la concordancia entre ellas.
- Según la cronología de los hechos, el estudio es retrospectivo; ya que la planificación de la investigación es posterior a los hechos estudiados.

POBLACIÓN

Se recolecto láminas de biopsia de médula ósea entre Enero 2014 y Julio 2016 de pacientes con el Diagnóstico de neoplasias mieloproliferativas (Trombocitemia Esencial, Policitemia Vera, Mielofibrosis Primaria y Leucemia Mieloide Crónica).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Todas las láminas con protocolo de biopsia de médula ósea completo.
- Todos los casos con diagnóstico final con resultados completos de estudio molecular y citogenética y estudios complementarios de laboratorio.

CRITERIOS EXCLUSIÓN

- Mala calidad ocasionada por los factores propios del proceso de archivo.
- Mala calidad de la lámina por defectos de procesamiento.

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES

VARIABLE	UNIDAD/CATEGORIA	ESCALA
Megacariocitos	Hiperplasia Lobulación Nucleos desnudos Micromegariocitos Hiper Cromía Formas gigantes Relación mayor a 1	Nominal
Hiperplasia	+ ++ +++	nominal
Hiper Cromía	+ ++ +++	nominal
Expansión eritroide	+ ++ +++	nominal
Celularidad	porcentaje	De razón
Blastos	porcentaje	De razón
Clasificación	policitemia vera trombocitemia esencial	

	mielofibrosis primaria leucemia mieloide crónica	
JAK2	presente/ausente	nominal
CARL	presente/ausente	nominal
MPL	presente/ausente	nominal

PROCEDIMIENTO Y TECNICAS

Materiales

- Base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del HNAL
- Archivo de láminas y bloques de parafina del HNAL
- Reportes de los estudios de histología del servicio de Anatomía Patológica diagnosticadas con NMP.

Metodología

Todas las biopsias de medula ósea fueron fijadas en formalina al 10% durante 24 horas, luego pasan a proceso de descalcificación durante dos horas y procesadas en maquina automática (procesador de tejido automatizado) durante 12 horas e incluidas en bloque de parafina, posteriormente se realizaron cortes histológicos de 3 micras de grosor, las cuales fueron coloreadas en forma rutinaria con Hematoxilina y Eosina.

A los casos que tienen diagnóstico de NMP se les realizo coloración de Masson para fibras reticulares.

Instrumentos

Lámina y bloque de parafina

Coloración H/E

Coloración de Masson

Microscopio Óptico

Formato de recolección de datos

Base de datos de anatomía patológica

ASPECTO ÉTICO

Debido a que la información será obtenida de la base de datos del Servicio de Patología del “Hospital Nacional Arzobispo Loayza” y no de los propios pacientes (muchos de ellos han fallecido) no se requiere consentimiento informado. Es importante precisar que se pide autorización al servicio de Anatomía Patológica para la respectiva revisión de láminas e información de los casos dentro del periodo 2014-2016, no presentándose, de esta manera, conflictos de intereses en el aspecto ético.

PLAN DE ANÁLISIS

Para el procesamiento de los datos se utilizará el programa estadístico SPSS versión 23, donde se creará una base de datos con la información que se recogerá mediante la ficha de recolección. En el mismo programa se realizará el análisis estadístico. Finalmente, en el programa Microsoft Excel 2013 se elaborarán tablas simples y de doble entrada, apoyados por gráficos estadísticos circulares o de barras según el tipo de variables.

Análisis Descriptivo

Consistirá en el cálculo de las frecuencias absolutas (n) y relativas (porcentajes) de las variables cualitativas y en el cálculo de las medidas de tendencia central (promedio) y medidas de dispersión (desviación estándar) para las variables cuantitativas.

Análisis Inferencial

Para realizar en análisis de concordancia de las variables categóricas se utilizará el valor estadístico Índice de Kappa. Este índice toma valores entre -1 y +1, mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia, por el contrario, mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia. Se tendrá en cuenta un nivel de significancia del 5%, es decir, un valor $p < 0.05$ se considerará significativo.

De acuerdo a Landis y Koch la escala utilizada para expresar la fuerza de concordancia, se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 2. Fuerza de concordancia

Índice de Kappa	Fuerza de concordancia
< 0.20	Pobre
0.21 – 0.40	Débil
0.41 – 0.60	Moderada
0.61 – 0.80	Buena
0.81 – 1.00	Muy buena

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. C.González GarcíaC.Funes VeraM.Blanquer BlanquerJ.M.Moraleda Jiménez Myeloproliferative Síndromes, Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado Volume 11, Issue 21, November 2012, Pages 1289-1297.
2. Foucar Reichard, Wilson Czuchlewski, Vasef Zhang, Hunt. Diagnóstico en Patología Sangre y Médula Ósea. Serie AMIRSYS.
3. José Leonard Tovar-Bobadilla¹ y Carlos Ortiz-Hidalgo. Utilidad de la biopsia de Médula Ósea (MO) en el Diagnóstico de las Neoplasias Mieloproliferativas (NMP), Gac Med Mex. 2016; 152:407-18.
4. T Barbui, J Thiele, AM Vannucchi and A Tefferi. REVIEW Rationale for revision and proposed changes of the WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis, Citation: Blood Cancer Journal (2015) .
5. Edgar Salguero Pena, Leonardo-Jose Enciso Olivera, and Teofilo Lozano Apache. Caracterización y Síntomas de Pacientes Colombianos con Neoplasias Mieloproliferativas Crónicas. Revista Ciencias de la Salud. Vol.16, No 1, 2018, p 59.
6. Dra C. Ana María Amor-Vigil, Lic. Carmen Alina Díaz-Alonso, Dra. Heydis Garrote-Santana, Lic. Yandi Suárez-González, Dra. Norma FernándezDelgado, Dr. Onel Modesto Ávila-Cabrera. Introducción del estudio molecular de la mutación JAK2V617F en Neoplasias Mieloproliferativas Clásicas BCR-ABL negativas. Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2013; 29 (4):398-406.
7. L. Medina Vega, L Hernandez Nieto, E Salido Ruiz, H. Alvarez-Argüelles Cabrera, J.M. Raya Sanchez. Análisis Integrado clínico, molecular e histopatológico de la médula ósea en las neoplasias mieloproliferativas crónicas Revista Clínica Española (English Edition), Available online 26 April 2019.
8. J. Nangalia, C.E. Massie, E.J. Baxter, F.L. Nice, G. Gundem, D.C. Wedge, E. Avezov, J. Li, K. Kollmann, D.G. Kent, A. Aziz, y col. Somatic CALR Mutations in Myeloproliferative Neoplasms with Nonmutated JAK2. N Engl J Med 2013; 369:2391-405. DOI: 10.1056/NEJMoa1312542.
9. A Tefferi¹, J Thiele², AM Vannucchi³ and T Barbui. REVIEW An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic

criteria for myeloproliferative neoplasms, *Leukemia* (2014), 1–7 & 2014
Macmillan Publishers

10. Dr. Castro Ríos, Miguel, Neoplasia Mieloproliferativas Crónicas Clásicas BCR-ABL Negativas. Sociedad Argentina de Hematología.
11. DraC. Ana María Amor-Vigil, Lic. Carmen Alina Díaz-Alonso, Dra. Heydis Garrote-Santana, Lic. Yandi Suárez-González, Dra. Norma Fernández-Delgado, Dr. Onel Modesto Ávila-Cabrera. Introducción del Estudio Molecular de la Mutación JAK2V617F en Neoplasias Mieloproliferativas Clásicas BCR-ABL Negativas. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2013; 29 (4):398-406.
12. Ayalew Tefferi, MD; Animesh Pardanani, MD, PhD. Review Myeloproliferative Neoplasms A Contemporary Review. *JAMA Oncol*. 2015; 1(1):97-105. doi:10.1001/jamaoncol.2015.89 Published online March 12, 2015.
13. Lambert Busque, MD, Anna Porwit, MD, Radmila Day, MSc,5 Harold J. Olney, MD, Brian Leber, MD, Vincent Ethier, MD, 1 Shireen Sirhan, MD, Linda Foltz, MD, Jaroslav Prchal, MD, Suzanne Kamel-Reid, PhD, Aly Karsan, MD, and Vikas Gupta, MD. Laboratory Investigation of Myeloproliferative Neoplasms (MPNs) Recommendations of the Canadian MPN Group.
14. Grupo Español de Neoplasias Mieloproliferativas Filadelfia Negativas (GEMFIN), Manual de Recomendaciones en Neoplasias Mieloproliferativas
15. Umberto Gianelli1, Anna Bossi, Ivan Cortinovia, Elena Sabattini, Claudio Tripodo, Emanuela Boveri, Alessia Moro, Riccardo Valli, Maurilio Ponzoni, Ada M Florena, Giulio F Orcioni, Stefano Ascani, Emanuela Bonoldi, Alessandra Iurlo, Luigi Gugliotta and Vito Franco. Reproducibility of the WHO histological criteria for the diagnosis of Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Modern Pathology* (2014) 27, 814–822.
16. Elaines. Jaffe, MD. 2011, Hematopathology, 1ra edición, Elsevier Inc. Parte IV, Principles of Classification of Mieloyd Neoplasms, capítulo 46, Myeloproliferative Neoplasms, pag 698- 732.
17. Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Eliane s. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 2017, 4th Edition, International Agency for Research on Cancer (IARC), cap 2 Myeloproliferative Neoplasms, pag 29-57.

PRESUPUESTO Y CRONOGRAMA

1. Recursos Humanos
Autora, tutor.
2. Recursos Materiales
Fichas de recolección de datos
Material de escritorio
Computadora personal con procesador de textos y software estadístico
3. Financieros
Autofinanciado

Cronograma

Actividades	NOVIEMBRE				DICIEMBRE				ENERO			
	2017				2017				2018			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Elección del tema												
2. Revisión bibliográfica												
3. Aprobación del proyecto												
4. Ejecución												
5. Análisis e interpretación												
6. Informe final												

Fecha de inicio: 15 de noviembre 2017
Fecha probable de término: 30 de enero 2018

ANEXO 1

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS
No de Ficha Edad: Sexo: Biopsia de medula ósea: Representatividad de la muestra: - Número de espacios intertrabeculares: - Relación entre la serie eritroide/mieloide: - Celularidad: % - Serie mieloide: - Serie eritroide: - Relación mieloide/eritroide: - Serie megacariocítica: - Elementos celulares extrahematopoyéticos: - Blastos: Coloración de Masson:
Conclusión:
Sugerencias:
Diagnostico citogenetico y molecular: - Mutación genética JAK2, CARL, MLP - BCR-ABL1