



**Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer
Coordenação de Ensino
Curso de Aperfeiçoamento nos Moldes Fellow em Hematopatologia**

TERESA DÉBORA GONÇALVES MEIO DIA

**MANUAL PARA AVALIAÇÃO DE PROLIFERAÇÕES E NEOPLASIAS MIELOIDES
NOS SERVIÇOS DE ANATOMIA PATOLÓGICA**

**Rio de Janeiro
2025**

TERESA DÉBORA GONÇALVES MEIO DIA

**MANUAL PARA AVALIAÇÃO DE PROLIFERAÇÕES E NEOPLASIAS MIELOIDES
NOS SERVIÇOS DE ANATOMIA PATOLÓGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Nacional de
Câncer como requisito parcial para a
conclusão do Curso de Aperfeiçoamento
nos Moldes Fellow em Hematopatologia

Orientadora: Prof^a Dr^a Luciana Wernersbach Pinto

Revisão: Prof^a Dr^a. Shirley Burburan

Rio de Janeiro

2025

CATALOGAÇÃO NA FONTE
INCA/COENS/SEITEC/NSIB
Kátia Simões CRB7/5952

D536m Dia, Teresa Débora Gonçalves Meio.

Manual para avaliação de proliferações e neoplasias mieloides nos serviços de anatomia patológica/ Teresa Débora Gonçalves Meio Dia. – Rio de Janeiro, 2025. 38f. il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Aperfeiçoamento) - Instituto Nacional de Câncer, Programa de Aperfeiçoamento nos Moldes de Fellow em Hematopatologia, Rio de Janeiro, 2025.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Luciana Wernersbach Pinto.

Revisora: Prof^ª Dr^ª Shirley Burburan.

1. neoplasias mieloproliferativas. 2. leucemia mieloide crônica. 3. síndromes mielodisplásicas. 4. leucemia mieloide aguda. 5. medula óssea. I. Pinto, Luciana Wernersbach. (Orient.). II. Burburan, Shirley. (Rev). III. Instituto Nacional de Câncer. V. Título.

CDD 616.15007

TERESA DÉBORA GONÇALVES MEIO DIA

**MANUAL PARA AVALIAÇÃO DE PROLIFERAÇÕES E NEOPLASIAS MIELOIDES
NOS SERVIÇOS DE ANATOMIA PATOLÓGICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Nacional de
Câncer como requisito parcial para a
conclusão do Curso de Aperfeiçoamento
nos Moldes Fellow em Hematopatologia

Aprovado em: 22 de maio de 2025

Banca examinadora:

Tatiana & Alvorada

Nome do Orientador:

Luana Wernerstich

Nome do Avaliador:

Luana Wernerstich

Rio de Janeiro

2025

Desejo expressar a minha profunda gratidão à Dra. Luciana Wernersbach pelos ensinamentos e orientações que contribuíram para o meu desenvolvimento profissional.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, e por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo do curso.

Aos meus filhos que são a força para minha persistência.

A minha orientadora, Dra. Luciana Wernersbach pelos ensinamentos e orientações para realização deste trabalho.

Aos meus colegas de especialidade, Rebeca, Maria Gabriela e outros com quem convivi intensamente durante os últimos anos, pelo companheirismo e pela troca de experiências.

Ao pessoal da DIPAT: secretaria em especial Eurídice, Rose, Diogo, Veronica, Érica (HC1) pessoal da Técnica em especial Barbara, Elaine, Marília, Rossana, pessoal do HC1, 2 e 3 em especial Rafael, Andrea e Francisco; pessoal da imuno-histoquímica: em especial a Tatiana e o pessoal da biologia molecular. Os Staffs: Dr. Fábio Moreira, Dra. Fabiane Carvalho, Dra. Thaís, Dr. Mário, Dra. Verónica, Dra. Cristina, Dr. Guittman e Dr. Francisco. A todos sem exceção, o meu muito obrigada, pois contribuíram para minha formação.

*“Todos contamos com a sorte, mas resultados
concretos se constroem na rotina com
organização e disciplina.”*

Flávia Matos

RESUMO

DIA, Teresa Débora Gonçalves Meio. **Manual para avaliação de proliferações e neoplasias mieloides nos serviços de anatomia patológica**. Trabalho de Conclusão de Curso (Aperfeiçoamento nos moldes Fellow em Hematopatologia.) — Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, 2025.

As neoplasias e proliferações mieloides, como descritas na quinta edição da classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) para os Tumores de tecido hematopoiético e linfoide, são proliferações clonais de células da linhagem mielóide e representam um amplo grupo de tipos e subtipos de doenças. O número de entidades englobadas vem se expandindo progressivamente, em virtude, principalmente, da ampliação do conhecimento genômico, com a identificação de novas alterações genéticas definidoras de doença. A quinta edição da classificação da OMS apresenta uma estrutura hierárquica e é baseada, como nas versões anteriores, numa abordagem multidisciplinar, que agrega a clínica, a patologia e a genética. As neoplasias mielodisplásicas (SMD) são as neoplasias mieloides mais desafiadoras para diagnosticar e classificar. Problemas de diagnóstico podem surgir quando os achados clínicos e laboratoriais sugerem SMD, mas os achados morfológicos são inconclusivos; quando há displasia secundária causada por deficiências nutricionais, medicamentos, toxinas, ou ainda, quando há hipocelularidade da medula ou mielofibrose. As neoplasias mieloproliferativas (NMP) compreendem: policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE), mielofibrose primária (MFP), leucemia mielóide crônica (LMC), leucemia neutrofílica crônica (LNC), leucemia eosinofílica crônica (LEC), leucemia mielomonocítica crônica juvenil (LMJ) e neoplasia mieloproliferativa não classificável. São distúrbios clonais que surgem em uma célula-tronco hematopoiética pluripotente (HSC), causados por mutações somáticas recorrentes. Apesar dos avanços na área da patologia molecular, a morfologia da medula óssea continua sendo a pedra angular do diagnóstico para identificar os vários subtipos de neoplasias mieloides. Por se tratar de um extenso grupo de doenças, muitas vezes com incidência rara, no presente manual propomos apenas diretrizes gerais para o estudo da biópsia de medula óssea nas proliferações e neoplasias mieloides. Optamos por nos estender um pouco sobre neoplasias mieloproliferativas e neoplasias mielodisplásicas, por serem as mais frequentes na rotina do laboratório de anatomia patológica. Para estes grupos será apresentada uma breve revisão da literatura, além das orientações para a avaliação e diagnóstico.

Palavras-chave: neoplasias mieloproliferativas; leucemia mielóide crônica; neoplasias mielodisplásicas; leucemia mielóide aguda; medula óssea;

ABSTRACT

DIA, Teresa Débora Gonçalves Meio. **Manual for the evaluation of proliferations and myeloid neoplasms in anatomy pathological services**. Final Paper (Fellowship in Hematopathology.) — Brazilian National Cancer Institute (INCA), Rio de Janeiro, 2025.

Myeloid neoplasms and proliferations, as described in the fifth edition of the World Health Organization (WHO) classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissue, are clonal proliferations of myeloid cells and represent a broad group of disease types and subtypes. The number of entities included has been progressively expanding, mainly due to the expansion of genomic knowledge, with the identification of new disease-defining genetic alterations. The fifth edition of the WHO classification presents a hierarchical structure and is based, as in previous versions, on a multidisciplinary approach that brings together clinical, pathological and genetic aspects. Myelodysplastic neoplasms (MDS) are the most challenging myeloid neoplasms to diagnose and classify. Diagnostic problems may arise when clinical and laboratory findings suggest MDS, but morphological findings are inconclusive; when there is secondary dysplasia caused by nutritional deficiencies, medications, toxins, or even when there is hypocellularity of the bone marrow or myelofibrosis. Myeloproliferative neoplasms (MPN) include: polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), primary myelofibrosis (PMF), chronic myeloid leukemia (CML), chronic neutrophilic leukemia (CNL), chronic eosinophilic leukemia (CEL), juvenile chronic myelomonocytic leukemia (JMML) and unclassifiable myeloproliferative neoplasm. These are clonal disorders that arise in a pluripotent hematopoietic stem cell (HSC), caused by recurrent somatic mutations. Despite advances in the area of molecular pathology, bone marrow morphology remains the cornerstone of diagnosis to identify the various subtypes of myeloid neoplasms. Because this is a large group of diseases, often with rare incidence, in this manual we propose only general guidelines for the study of bone marrow biopsy in myeloid proliferations and neoplasms. We chose to expand a little on myeloproliferative neoplasms and myelodysplastic neoplasms, as they are the most frequent in the routine of the pathology laboratory. For these groups, a brief review of the literature will be presented, in addition to guidelines for evaluation and diagnosis.

Keywords: myeloproliferative neoplasms; chronic myeloid leukemia; myelodysplastic neoplasms; acute myeloid leukemia; bone marrow.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Avaliação da celularidade	21
Figura 2 – Avaliação das linhagens hematopoiéticas.....	22
Figura 3 – Precursor eritroide.....	23
Figura 4 – Precursor granulocítico.....	24
Figura 5 – Megacariócitos.....	25
Figura 6 – Leucemia mieloide crônica.....	27
Figura 7 – Policitemia vera.....	28
Figura 8 – Trombocitemia essencial.....	29
Figura 9 – Mielofibrose primária.....	30
Figura 10 – Neoplasia mielodisplásica.....	31
Figura 11 – Leucemia mieloide aguda.....	32
Figura 12 – Neoplasia mieloide pós-terapia citotóxica.....	33
Figura 13 – Neoplasia mieloide/linfoide com rearranjo FGFR1.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Precursores eritroides.....	22
Tabela 2 – Precursor granulocítico.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS

ACAs - Aberrações cromossômicas adicionais
ALIPs - Abnormal localization of immature precursors
BCL-XL - Proteína antiapoptótica
BP - Fase blástica
CALR - Calreticulina
CCUS - Citopenia clonal de significado indeterminado
CHIP - Hematopoiese clonal de potencial indeterminado
CP - Fase crônica
EDTA - Acido etilenodiamino tetra-acético
EPO - Eritropoietina
EPOR – Receptor de eritropoietina
GATA1 - O fator de ligação
HSC - Células-tronco hematopoiéticas
ICC- Classificação de Consenso Internacional
JAK - Janus kinase 2/ tirosina quinase não receptora (nTRK)
LMA - Leucemia mieloide aguda
LMC - Leucemia mieloide crônica
MMP9 - Metaloproteinases de matriz
MO – Medula óssea
NGS - Sequenciamento de nova geração
NOS – Sem outras especificações
OMS - Organização Mundial de Saúde
SMD/NMP- Neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas
STAT – Gene transdutor de sinal e ativador de transcrição
TGF- β - Fator de crescimento transformador beta
VAF- Frequência de alelos variantes

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1	Neoplasias Mieloproliferativas	4
2.1.1	<i>Leucemia Mieloide Crônica</i>	5
2.1.2	<i>Mielofibrose Primária</i>	6
2.1.3	<i>Policitemia Vera.....</i>	8
2.1.4	<i>Trombocitemia Essencial</i>	10
2.2	Neoplasias Mielodisplásicas	12
2.3	Neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativa	14
2.4	Leucemia Mieloide Aguda.....	14
2.4.1	<i>Neoplasias Mieloides Secundárias.....</i>	15
2.5	Neoplasias Mieloides/Linfoides.....	16
2.5.1	<i>Neoplasia mieloide/linfoide com rearranjo de FGFR1</i>	16
3	MATERIAIS E MÉTODOS	17
4	RESULTADOS.....	18
4.1	Orientações Iniciais.....	18
4.1.2	<i>Indicações de BMO na Avaliação de Proliferações e Neoplasias Mieloides</i>	18
5	HISTOPATOLÓGICO DA BIÓPSIA DE MEDULA ÓSSEA	20
5.1	Avaliação de Dados Clínicos e Exames Complementares.....	20
5.2	Avaliação Inicial da Biópsia da Médula Óssea.....	20
5.3	Contagem dos Espaços Trabeculares	20
5.4	Avaliação da Celularidade	21
5.5	Avaliação das Linhagens Hematopoiéticas.....	21
6	Apresentação dos casos e procedimentos da rotina.....	26
6.1	Checklist Utilizado na Avaliação	26
6.2	Ilustração dos Casos.....	27
7	CONCLUSÃO.....	35
	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

As neoplasias e proliferações mieloides (NMs) compõem um grupo heterogêneo de distúrbios de células tronco hematopoiéticas, caracterizadas pela expansão clonal de uma ou mais linhagens de células mieloides, que inclui a leucemia mieloide aguda (LMA), neoplasias mielodisplásicas (SMD), neoplasias mieloproliferativas (NMP), neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas e mais recentemente a hematopoiese clonal (SMD/NMP) (WHO, 2020).

O termo mieloide inclui todas as células pertencentes às linhagens granulocítica (neutrófilo, eosinófilo, basófilo), monócito/macrófago, eritroide, megacariocítica e mastocítica. As neoplasias destas células se desenvolvem por meio de uma aquisição sequencial de mutações condutoras, geralmente começando com mutações genéticas e ou epigenéticas, seguidas por mutações em genes de sinalização. Essas alterações, resultam na transformação de células tronco hematopoiéticas em células malignas. Estudos de sequenciamento de exoma completo de grandes coortes de indivíduos saudáveis revelaram que um subconjunto de indivíduos, particularmente indivíduos mais velhos, carregam mutações somáticas de 'driver' em suas células sanguíneas em fração alélica variante baixa, coletivamente chamadas de hematopoiese clonal de potencial indeterminado ou simplesmente hematopoiese clonal, que conferem um risco elevado de desenvolvimento de malignidades hematológicas, com um viés relativo em direção à mieloide (Jaffe *et al.*, 2017; Koichi Takahashi *et al.*, 2023).

O diagnóstico das neoplasias mieloides requer uma integração da clínica e patologia, para uma avaliação completa e cuidadosa dos dados clínicos, morfológicos, imunofenotípicos e genéticos, usados para estabelecer a linhagem das células neoplásicas e avaliar sua maturação. A morfologia é essencial no diagnóstico de todas as neoplasias mieloides, mesmo aquelas em que há um defeito genético associado ou perfil imunofenotípico característico. Os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) se aplicam a amostras iniciais de sangue periférico e medula óssea obtidas antes de qualquer terapia definitiva, incluindo terapia com fator de crescimento, para a suspeita de neoplasia hematológica. Características morfológicas, fitoquímicas e imunofenotípicas são usadas para estabelecer a linhagem das células neoplásicas e avaliar sua maturação.

A porcentagem de blastos continua sendo uma ferramenta prática para subcategorizar neoplasias mieloides e avaliar sua progressão. Uma neoplasia mieloide com 20% ou mais blastos no sangue ou medula óssea é considerada leucemia mieloide aguda, quando ocorre de novo. A evolução para leucemia mieloide aguda pode ocorrer no contexto de uma síndrome mielodisplásica ou neoplasias mieloproliferativa previamente diagnosticada. Além disso, uma contagem de blastos gradualmente crescente em qualquer nível geralmente está associada à progressão da doença. As porcentagens de blastos devem ser derivadas, quando possível de contagens diferenciais de leucócitos de 200 células do esfregaço de sangue periférico e contagem de 500 células de todas as células nucleadas da medula óssea em esfregaços de aspirado de medula óssea celular corados com giemsa ou outra coloração semelhante. Embora uma biópsia de medula óssea não seja necessária para o diagnóstico em todos os pacientes com neoplasia mieloide, uma biópsia adequada fornece a avaliação mais precisa da celularidade da medula, topografia, alterações estromais e padrões de maturação das várias linhagens, e pode ser inestimável na detecção de doença residual após a terapia. Além disso a biópsia fornece material para detecção imuno-histoquímica de antígenos que podem ser úteis no diagnóstico e no prognóstico, particularmente se os esfregaços de aspirado de medula forem pouco celulares (Jaffe *et al.*, 2017).

A hematopoiese clonal (HC) é um potencial precursor de malignidades mieloides. É uma condição relacionada à idade, definida pela detecção de variantes somáticas (mutações somáticas ou mosaicismo cromossômico adquirido) em células-tronco hematopoiéticas e progenitoras com potencial para se expandir ao longo do tempo sob pressão seletiva, e engloba citopenia clonal de significado indeterminado detectada na presença de uma ou mais citopenias persistentes que, de outra forma, não seriam explicadas por condições hematológicas ou não hematológicas. Confere um risco importante de progressão para neoplasias malignas hematológicas. (WHO, 2020; Loghavi *et al.*, 2024).

As principais categorias de neoplasias mieloproliferativas (NMPs) compreendem: policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE), mielofibrose primária (MFP), leucemia mieloide crônica (LMC), leucemia neutrofílica crônica (LNC), leucemia eosinofílica crônica (LEC), leucemia mielomonocítica crônica juvenil (LMJ) e neoplasia mieloproliferativa não classificável atualizadas para melhorar a especificidade diagnóstica com uma abordagem morfológica mais detalhada e melhor

validada e a recomendação de técnicas moleculares mais sensíveis para capturar, em particular, doenças em estágio inicial. A esse respeito, ensaios de sequenciamento de alvo único de alta sensibilidade (RT-qPCR, ddPCR) ou de próxima geração de alvos múltiplos com uma sensibilidade mínima de frequência variante do alelo (VAF) 1% são agora importantes para uma identificação diagnóstica adequada de casos de NMP com baixas frequências alélicas na apresentação inicial (Marques *et al.*, 2021)

O presente trabalho tem como objetivo otimizar e facilitar o aprendizado, através da elaboração de um manual prático de avaliação de uma biópsia de medula óssea no contexto de proliferações e neoplasia mieloides.

Serão abordadas neste manual as seguintes neoplasias:

✓ **Neoplasias mieloproliferativas**

- Leucemia mieloide crônica
- Policitemia vera
- Trombocitemia essencial
- Mielofibrose primária

✓ **Neoplasias mielodisplásicas**

✓ **Neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas**

✓ **Leucemia mieloide aguda**

- Neoplasias mieloides secundárias

✓ **Neoplasias mieloides/linfoides**

- Neoplasia mieloide/linfoide com rearranjo de FGFR1

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

Neoplasias mieloproliferativas (NPM) são distúrbios hematopoiéticos clonais caracterizados pela proliferação de células de uma ou mais linhagens mieloides, eritroide, granulocítica ou megacariocítica. Esta categoria é distinta das neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas em virtude da ausência de mielodisplasia na apresentação. A progressão de todas é caracterizada por fibrose medular ou transformação leucêmica. A quinta edição da classificação da OMS inclui três grandes mudanças; a primeira inclui a omissão da “fase acelerada” na leucemia mieloide crônica (LMC) e a consolidação da doença em fases crônica e blástica, com ênfase nas características de risco na fase crônica. A segunda mudança inclui critérios diagnósticos atualizados para leucemia eosinofílica crônica (LEC) e a omissão de “NOS” de seu nome. A terceira grande mudança é a categorização da leucemia mielomonocítica juvenil (LMJ) como uma NMP. A classificação mantém a ênfase na distinção entre policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (ET) e mielofibrose primária (PMF) usando critérios diagnósticos estabelecidos em edições anteriores, com apenas pequenos refinamentos. Assim como nas edições anteriores, NMP não especificado de outra forma (NMP-NOS) é uma designação que deve ser reservada para casos com características clínicas, laboratoriais, morfológicas e moleculares de NMP, mas sem critérios diagnósticos de qualquer tipo específico de NMP ou com características que se sobrepõem entre diferentes tipos de NMP (Jaffe *et al.*, 2017; WHO, 2020).

Inicialmente, a proliferação na medula óssea é associada à maturação das células neoplásicas que leva ao aumento do número de granulócitos maduros, hemácias e plaquetas no sangue periférico. Esplenomegalia e hepatomegalia são comuns, causadas pelo sequestro de excesso de células sanguíneas, hematopoiese extramedular ou ambos nesses órgãos. As neoplasias mieloproliferativas podem progredir para falência da medula óssea devido à mielofibrose, hematopoiese ineficaz, transformação para uma fase blástica ou qualquer combinação destes eventos (Jaffe *et al.*, 2017).

Em 2005, a mutação JAK2 V617F foi demonstrada em 95% dos pacientes com PV e em pouco mais da metade daqueles com ET e mielofibrose.

A morfologia do sangue e da medula óssea são essenciais para o diagnóstico de NMPs, determinando a classificação da OMS e estabelecendo uma linha de base para monitorar a resposta ao tratamento e identificando alterações que podem indicar a progressão da doença que é caracterizada por fibrose medular ou transformação leucêmica. (Ng *et al.*, 2023).

A incidência é inferior a 6 em 100.000 pessoas por ano. No entanto, a taxa de prevalência de NMP é muito maior do que a taxa de incidência, pois certos subtipos de NMP podem ter um curso indolente com expectativa de vida variável. É principalmente uma doença de adultos de meia-idade ou idade avançada, embora possa ocorrer em pessoas mais jovens e crianças. PV e ET tem comportamento mais indolente, com a possibilidade de progressão da doença para fibrose agressiva e/ou leucemia aguda. Isso requer uma abordagem combinada de fenótipo-genótipo. Os resultados do hemograma, morfologia do sangue e da medula, mutações como JAK2, CALR e MPL, marcadores bioquímicos e características clínicas estão incluídos nos critérios diagnósticos. As mutações adquiridas em genes que codificam a tirosina quinase JAK2, o receptor de trombopoietina (TPO) MPL e a calreticulina (CALR), surgem na célula-tronco hematopoiética e resultam na ativação da via de sinalização do receptor de citocina/JAK2. A mutação JAK2 p.V617F é detectável em > 95% dos pacientes com PV e 50–60% dos pacientes com ET ou mielofibrose primária (PMF). Mutações em CALR foram identificadas em 2013 e encontradas em 25–35% dos pacientes com ET e PMF, mas não em pacientes com PV (WHO, 2020; Bellanné-Chantelot *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2023).

2.1.1 Leucemia Mieloide Crônica

Leucemia mieloide crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa definida pelo gene de fusão BCR:ABL1, gerada no cromossomo Filadélfia (Ph), der (22) t(9;22) (q34;q11.2) e caracterizada por granulocitose neutrofílica. Em todo o mundo, a LMC tem uma incidência anual de 1–2 casos por 100.000 habitantes, com uma ligeira predominância masculina. A incidência anual aumenta com a idade, de < 0,1 casos por 100.000 crianças para ≥ 2,5 casos por 100.000 idosos (WHO, 2020; Ochiy *et al.*, 2021). Na fase crônica a medula óssea é hipercelular, com proliferação granulocítica acentuada em todos os estágios de diferenciação. Os pacientes apresentam leucocitose e/ou trombocitose acentuadamente deslocada para a esquerda, sem uma

proporção significativa de blastos, mas podem subsequentemente progredir para fase blástica, caracterizada por uma proliferação acentuada de blastos imaturos. Alterações displásicas devem estar ausentes. Os precursores eritroides são tipicamente diminuídos. Os megacariócitos são aumentados em número em mais da metade dos casos, tipicamente com morfologia alterada que inclui núcleos de tamanho pequeno e hipossegmentados (chamados de megacariócitos anões). Eosinófilos e basófilos são geralmente aumentados em número, e células pseudo-gaucher são comuns. A fibrose reticulínica da medula óssea pode ser vista em até 30% dos casos no diagnóstico, frequentemente em proporção ao número de megacariócitos. A fase blástica da LMC é definida quando os blastos representam >20% das células no sangue periférico ou na medula óssea ou quando há evidência de uma proliferação blástica extramedular. Na maioria dos casos, a fase blástica mieloide. Em uma minoria de casos, a fase blástica é de natureza linfoblástica e consiste em blastos que expressam um imunofenótipo precursor B. A detecção de linfoblastos genuínos no sangue periférico ou na medula óssea (mesmo que < 10%) é geralmente considerada consistente com o diagnóstico de fase blástica (Chen *x et al.*, 2013; WHO, 2020).

A transformação para fase blástica é geralmente associada à evolução clonal, com 70–80% dos casos demonstrando aberrações cromossômicas adicionais (ACAs) além do cromossomo Ph. Os genes relatados como alterados nos estágios transformados incluem TP53, RB1, MYC, CDKN2A, NRAS, KRAS, RUNX1, TET2, CBL, ASXL1, IDH1 e IDH2. Tais ACAs incluem rearranjos 3q26.2, monossomia 7, trissomia 8, isocromossomo 17q, trissomia 19, trissomia 21, um cromossomo Ph adicional e cariótipos complexos (Apperley, 2015; WHO, 2020).

2.1.2 Mielofibrose Primária

Mielofibrose primária (MFP) é uma neoplasia mieloproliferativa, caracterizada pela proliferação anormal das linhagens megacariocítica e granulocítica associada à fibrose medular progressiva, osteosclerose e hematopoiese extramedular (WHO, 2020).

Proliferação aberrante de células-tronco hematopoiéticas e liberação de citocinas pró-inflamatórias, atipia megacariocítica e fibrose da medula óssea são as principais características da mielofibrose primária, a mais agressiva entre as

neoplasias mieloproliferativas (NMPs) Filadélfia negativas. Tem o pior prognóstico entre NMPs, enquanto PV e ET são subtipos relativamente indolentes. A complicação mais preocupante de MFP e MF pós-PV/MF pós-ET é a transformação leucêmica, que ocorre em 20–25% dos casos (Shahin *et al.*, 2021).

Há um aumento na quantidade e densidade da rede linear e descontínua de delicadas fibras de reticulina que fornece a estrutura na qual a hematopoiese ocorre. A fibrose de reticulina e a fibrose de colágeno são respostas secundárias não específicas a várias lesões e doenças que envolvem a medula óssea e são mediadas por citocinas fibrinogênicas liberadas de células estromais da medula como fator de crescimento derivado de plaquetas e o fator de crescimento transformador, assim como células hematopoiéticas, incluindo megacariócitos, células T e células das linhagens de monócitos e macrófagos (Jaffe *et al.*, 2017). A Classificação da OMS de neoplasias mieloproliferativas reconhece duas fases de mielofibrose primária (MFP): fase pré-fibrótica/inicial (pré-MFP), caracterizada por trombocitose e/ou leucocitose no sangue periférico, medula óssea hipercelular com predominância mieloide mostrando proliferação granulocítica e megacariocítica atípica, fibrose reticulínica mínima a ausente (grau 0 ou 1). Os precursores eritroides não mostram nenhuma característica displásica. Os megacariócitos são aumentados em número e dispostos em aglomerados soltos. Eles estão frequentemente presentes em localizações perisinusoidais e paratrabeculares. Os megacariócitos mostram variação acentuada em tamanho e lobulação nuclear; formas maiores são mais características. Os núcleos megacariocíticos são frequentemente hipercromáticos e proeminentes, e mostram cromatina semelhante a uma nuvem (Jaffe *et al.*, 2017; Guglielmelli *et al.*, 2017; WHO, 2020).

A fase fibrótica evidente (MFP evidente), é caracterizada por celularidade variável da medula óssea com fibrose reticulínica ou de colágeno, frequentemente osteosclerose, hepatoesplenomegalia proeminente devido a hematopoiese extramedular e leuco-eritroblastose no sangue periférico (Guglielmelli *et al.*, 2017). O esfregaço de sangue periférico mostra anisopoiquilocitose de hemácias, dacrócitos (formas de lágrima) e leucoeritroblastose. A principal característica morfológica é a proliferação megacariocítica atípica, mostrando defeitos na maturação, levando a proporções N:C anormais, aglomeração densa de cromatina, hipercromasia nuclear, lobos nucleares proeminentes (semelhantes a nuvens) e núcleos nus. A eritropoiese é relativamente diminuída, em comparação com a granulopoiese. Não há displasia

significativa em precursores eritroides ou granulocíticos no momento do diagnóstico inicial. A medula óssea eventualmente é substituída por reticulina e/ou fibras de colágeno, tecido conjuntivo e tecido adiposo intercalados com focos dispersos de hematopoiese residual. Características adicionais incluem vasculatura proeminente com aumento do número de vasos e seios dilatados mostrando hematopoiese intrasinusoidal. O grau de osteosclerose pode variar, variando de formação óssea nova aposicional focal em forma de broto a amplas pontes interconectadas substituindo extensivamente a medula (WHO, 2020).

Uma característica patogênica central da mielofibrose primária é a ativação da via de sinalização JAK/STAT como resultado de mutações em JAK2, MPL ou CALR. Mutações “driver” e outras alterações que iniciam a mielofibrose primária resultam em aumento da geração de megacariócitos por células progenitoras hematopoiéticas, juntamente com apoptose prejudicada resultante da superexpressão de proteínas antiapoptóticas, como BCL-XL. Esses eventos primários resultam na secreção de TGF- β e MMP9, que induzem fibrose estromal. O aumento da produção de TGF- β resulta da hiperativação do eixo trombopoietina/MPL/JAK2 pela regulação negativa da expressão de GATA1 em megacariócitos. O TGF- β 1 é um sinal dominante que emana dos megacariócitos para manter a quiescência das células-tronco hematopoiéticas (WHO, 2020).

2.1.3 Policitemia Vera

A policitemia vera (PV) é uma neoplasia mieloproliferativa (NMP) caracterizada por eritrocitose, frequentemente acompanhada de leucocitose e/ou trombocitose, e tipicamente associada à ativação de mutações JAK2 (WHO, 2020).

PV é a neoplasia mielofibrótica mais comum, a única em que há um aumento na produção de glóbulos vermelhos e morbidade e mortalidade substanciais por trombose venosa e arterial. Descrita pela primeira vez em 1892, com uma incidência de 2,5–10/100.000 pessoas, dependendo da idade, a aquisição da mutação JAK2 V617F não depende da idade, mas aumenta exponencialmente após os 60 anos. Assim, a PV pode ser adquirida em qualquer idade, mas é rara na faixa etária pediátrica e abaixo dos 60 anos é mais comum em mulheres; depois disso, a proporção sexual é igual (Spivak, 2018).

A policitemia vera é uma policitemia primária adquirida, caracterizada pelo aumento da produção de hemácias, independente dos mecanismos que normalmente regulam a eritropoiese. Quase todos os pacientes com PV têm uma mutação adquirida de ganho de função somática do gene Janus2 kinase JAK2 V617F, ou menos comumente, uma mutação funcional semelhante do exon 12 JAK2. Mutações somáticas adquiridas em JAK2, na banda cromossômica 9p24.1, desempenham um papel na patogênese da PV. A mutação mais comum, JAK2 V617F, resulta em uma proteína JAK-2 citoplasmática constitutivamente ativa independente de ligante, que ativa as vias de sinalização STAT, MAPK e PI3K para promover a transformação e proliferação de progenitores hematopoiéticos. A valina 617 está localizada no domínio JH2 de JAK-2, que atua para suprimir sua atividade quinase. Outras mutações no exon 12 de JAK2, geralmente inserções ou deleções no quadro que afetam o domínio pseudoquinase, foram relatadas em quase todos os casos sem JAK2 V617F; esses pacientes têm uma eritrocitose mais isolada. Essas mutações codificam uma quinase JAK2 constitutivamente ativada que se liga e ativa receptores de citocina não TK, como EPOR. A mutação JAK2 se origina em uma célula tronco hematopoiética; assim, como a cinase JAK2 se liga não apenas ao EPOR, mas também a outros receptores não TK, incluindo G-CSFR e MPL, os granulócitos e megacariócitos também carregam a mutação e proliferam autonomamente, resultando em panmielose no sangue e na medula (Jaffe *et al.*, 2017; WHO, 2020).

Pacientes com mutação positiva, comparados a aqueles sem a mutação tendem a ter uma trombocitose mais pronunciada e isolada, com eritropoiese e granulopoiese menos ativas. Indivíduos V617F-negativos, no entanto, têm características de um distúrbio mieloproliferativo, incluindo anormalidades citogenéticas, medula óssea hipercelular com morfologia anormal de megacariócitos, superexpressão de PRV1, crescimento de colônias eritroides independentes de eritropoietina e risco de transformação mielofibrótica ou leucêmica (Campbell *et al.*, 2005).

Pacientes com mielofibrose primária podem evoluir para policitemia vera e pacientes com trombocitemia essencial para policitemia vera. Transformações como essas geralmente ocorrem dentro de 12 anos do diagnóstico, mas podem levar muito mais tempo. Embora a transformação de mielofibrose primária para policitemia vera seja incomum, a transformação de trombocitemia essencial para policitemia vera, particularmente em mulheres, ocorre em aproximadamente 20–30% dos pacientes

com trombocitemia essencial JAK2 V617F positivo. Essas mudanças fenotípicas de novo precisam ser distinguidas de um tipo diferente de transformação da doença, em que o desenvolvimento de insuficiência da medula óssea com mielofibrose ocorre durante o curso de policitemia vera ou trombocitemia essencial. Podem ser vistos com qualquer mutação 'driver' e reflete a insuficiência intrínseca da célula tronco hematopoiética (HSC), geralmente com a aquisição de mutações adicionais (Spivak, 2018).

Os critérios da OMS para o diagnóstico de policitemia vera incluem dois critérios principais e três critérios menores.

✓ **Os critérios maiores incluem:**

(a) Hemoglobina >16,5 g/dL em homens, 16,0 g/dL mulheres ou hematócrito elevado (> 49% em homens, > 48% em mulheres);

(b) Presença de JAK2V617F ou outra mutação funcionalmente semelhante, como a mutação do exon 12 de JAK2.

✓ **Os critérios menores incluem:**

(a) Biópsia de medula óssea mostrando hipercelularidade para a idade com crescimento de trilhaagem (panmielose) com proliferação eritroide, granulocítica e megacariocítica proeminente;

(b) Nível de eritropoietina sérica (EPO) abaixo da faixa de referência para normal;

(c) Formação de colônias eritroides endógenas in vitro.

O diagnóstico requer a presença de ambos os critérios principais e um critério menor ou a presença do primeiro critério maior junto com dois critérios menores (Silver *et al* 2013).

2.1.4 Trombocitemia Essencial

Trombocitemia essencial (TE) é uma neoplasia mieloproliferativa (NMP) caracterizada por trombocitose sustentada e aumento do número de megacariócitos grandes e maduros em uma medula óssea normocelular (WHO, 2020).

A apresentação pode ser bastante variável clinicamente, podem ser assintomáticos, porém cerca de 50–60% dos pacientes com TE apresentam sintomas como fadiga, eritromelalgia, dores de cabeça, dificuldades de concentração e sintomas microvasculares. Os eventos vasculares associados à TE incluem trombose

venosa (trombose venosa profunda, trombose venosa sagital, embolia pulmonar) e trombose arterial (infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, entre outros). Eventos de sangramento também podem complicar a TE, às vezes associados à Síndrome de Von Willebrand adquirida, e podem se manifestar como sangramento de superfícies mucosas ou sangramento gastrointestinal. Mutações somáticas adquiridas em JAK2, na banda cromossômica 9p24.1, desempenham um papel na patogênese da TE. A mutação mais comum, JAK2 p.V617F, resulta em um JAK-2 citoplasmático constitutivamente ativo independente de ligante, que ativa as vias de sinalização STAT, MAPK e PI3K para promover a transformação e proliferação de progenitores hematopoiéticos. A distinção entre hiperplasias megacariocíticas reativas e outras neoplasias mieloproliferativas e neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas é essencial. A histologia da biópsia da medula óssea nestas outras condições, pode mostrar números aumentados de megacariócitos, mas estes são de tamanho normal ou até menores que o normal e não teriam a atipia característica da trombocitemia essencial (WHO, 2020).

O diagnóstico diferencial do aumento da contagem de plaquetas inclui trombocitose reativa, trombocitemia essencial, leucemia mieloide crônica, policitemia vera, mielofibrose primária, anemia refratária com sideroblastos em anel, trombocitose acentuada e outras neoplasias mieloides crônicas. O diagnóstico preciso é importante em termos de prognóstico e tratamento. A presença de um marcador clonal por exemplo, mutação JAK2 ou MPL, que está presente na maioria dos pacientes com TE, PV ou MFP, exclui de forma confiável a possibilidade de trombocitose reativa (Barbui *et al.*, 2011).

De acordo com os critérios revisados da OMS, a histologia raramente é usada sozinha para fazer um diagnóstico.

✓ **Critérios maiores:**

(a) Contagem de plaquetas $\geq 450 \times 10^9 /L$

(b) Biópsia da medula óssea mostrando proliferação principalmente da linhagem megacariocítica, com aumento do número de megacariócitos maduros e aumentados com núcleos hiperlobulados; sem aumento significativo ou desvio à esquerda na granulopoiese ou eritropoiese; muito raramente um leve aumento (grau 1) nas fibras de reticulina.

Não preenche os critérios da OMS para: Leucemia mieloide crônica BCR-ABL1, positiva para policitemia vera, para mielofibrose primária, SMD ou outras neoplasias mieloides.

(c) Mutação JAK2, CALR ou MPL

✓ **Critérios menores:**

(a) Presença de um marcador clonal ou

(b) Exclusão de trombocitose reativa

O diagnóstico de trombocitemia essencial requer que todos os critérios maiores ou os três primeiros critérios maiores mais um critério menor seja atendido (WHO, 2020).

2.2 NEOPLASIAS MIELODISPLÁSICAS

A classificação da OMS reconhece a neoplasia mielodisplásica como uma categoria de neoplasias clonais de células-tronco hematopoiéticas, definidas por citopenias e displasia morfológica, e clinicamente caracterizadas por hematopoiese progressivamente ineficaz e um risco aumentado de leucemia mieloide aguda (LMA) (WHO, 2020). A incidência anual ajustada por idade nos Estados Unidos é de aproximadamente 4,0/100.000 pessoas, que tende a aumentar substancialmente com a idade. Além da idade, outros fatores de risco incluem gênero masculino, obesidade, tabagismo e tratamento prévio de radioterapia ou quimioterapia, mas a maioria dos casos permanece de natureza idiopática (Zeidan *et al.*, 2019).

Pacientes com neoplasia mielodisplásica têm uma idade média de 77 anos no diagnóstico e <10% têm menos de 50 anos de idade, a incidência é muito baixa em pessoas com idade inferior a 40 anos (0,1 casos por 100.000 pessoas-ano), mas aumenta progressivamente entre as idades de 60 e 90 anos (de 2,2 a 56,8 casos por 100.000 pessoas-ano). Uma idade mais jovem no início da doença é mais comum entre populações de pacientes asiáticos (WHO, 2020).

A probabilidade geral de sobrevida em 5 anos permanece relativamente baixa em aproximadamente 31% sem uma melhora temporal clara nos resultados, apesar da aprovação de três terapias específicas para neoplasia mielodisplásica desde 2004 e do uso crescente de transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas (Zeidan *et al.*, 2019).

Displasia em uma ou mais linhagens mieloides é a marca morfológica da neoplasia mielodisplásica. O limite para displasia é definido em 10% para todas as linhagens e em todos os tipos de SMD, bem como para neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas. A displasia pode ser acompanhada por um aumento de blastos mieloides no sangue periférico e/ou medula óssea, mas a porcentagem de blastos é sempre $< 20\%$ das células nucleadas e do sangue periférico. As linhagens mieloides afetadas por citopenias não são necessariamente aquelas que manifestam displasia. Os blastos são tipicamente mieloblastos e em uma minoria de casos exibem diferenciação monocítica ou megacarioblástica. A Classificação da OMS recomenda que pelo menos 10% das células em uma linhagem demonstrem características displásicas para serem consideradas significativas (Jaffe *et al.*, 2017; WHO, 2020).

A diseritropoiese se manifesta principalmente como alterações nucleares, incluindo brotamento, ponte internuclear, cariorrexe e multinuclearidade. Alterações megaloblásticas são comuns, mas por si só são insuficientes para estabelecer a diseritropoiese. As características citoplasmáticas incluem a formação de sideroblastos em anel, vacuolização e positividade aberrante do PAS, difusa ou granular. A disgranulopoiese é caracterizada principalmente por hipossegmentação nuclear (anomalia pseudo–Pelger–Huët) ou hipersegmentação, hipogranularidade citoplasmática, grânulos pseudo–Chédiak–Higashi e tamanho pequeno. A displasia megacariócita é caracterizada por micromegacariócitos, núcleos não lobulados em megacariócitos de todos os tamanhos e múltiplos núcleos amplamente separados. A displasia megacariocítica é prontamente aparente em cortes de medula óssea, e tanto biópsia (ou coágulo) quanto espécimes aspirados devem ser avaliados (WHO, 2020).

Anormalidades genéticas específicas, como deleção do braço longo do cromossomo 5 (del(5q), inativação do TP53 e mutação SF3B1, estão cada vez mais associadas ao fenótipo e ao resultado da doença, conforme refletido na quinta edição da Classificação de Tumores Hematolinfoides da OMS e nos sistemas de classificação da Classificação de Consenso Internacional 2022 (ICC 2022) (Karel *et al.*, 2024).

2.3 NEOPLASIAS MIELODISPLÁSICAS/MIELOPROLIFERATIVA

Neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (SMD/NMPs) é uma categoria de neoplasias mieloides definida por características patológicas e moleculares sobrepostas de neoplasias mielodisplásicas (SMDs) e neoplasias mieloproliferativas (NMPs), frequentemente se manifestando clinicamente com várias combinações de citopenias e citoses. Este grupo compreende: Leucemia mielomonocítica crônica; Neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa com neutrofilia; Neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa com mutação SF3B1 e trombocitose; Neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa SOE (WHO, 2020).

2.4 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Leucemia mieloide aguda (LMA) é um grupo heterogêneo de doenças que representam proliferações clonais de células imaturas, não linfoides, derivadas da medula óssea, que frequentemente envolvem a medula óssea e o sangue periférico, podendo se apresentar em tecidos extramedulares (Jaffe *et al.*, 2017).

É definida como uma neoplasia com $\geq 20\%$ de blastos expressando um imunofenótipo mieloide e abrigando anormalidades citogenéticas e moleculares específicas associadas à SMD, surgindo de novo ou após uma história conhecida de SMD ou SMD/NMP (WHO, 2020).

A maioria dos casos de LMA apresenta aumento de mieloblastos na medula óssea, que também podem estar presentes no sangue periférico. Uma variedade de alterações em células blásticas são sugestivas de tipos específicos de LMA, por exemplo, os blastos têm cromatina nuclear imatura, caracterizada pela ausência de aglomeração de cromatina e pela presença de nucléolos. Os núcleos dos mieloblastos podem ser redondos ou ter invaginações nucleares e número variáveis de grânulos citoplasmáticos. A presença de tais grânulos coalescidos que formam corpos citoplasmáticos em forma de bastonetes, conhecidos como bastonetes de auer são considerados específicos para a linhagem mieloide. Os monoblastos podem variar de células com núcleos arredondados e citoplasma moderadamente basofílico, com ou sem vacúolos, a células mais intermediárias, os pro-monócitos com cromatina nuclear imatura, semelhante à dos monócitos maduros. Estudos de imunofenotipagem são atualmente realizados em todos os casos de leucemia aguda para distinguir a

linhagem mieloide da linfoblástica e frequentemente úteis na subclassificação dos vários tipos de LMA. Assim como métodos de citometria de fluxo multiparâmetros com dispersão lateral de CD45, são preferidos devido ao grande número de antígenos que podem ser estudados rapidamente (Jaffe *et al.*, 2017).

2.4.1 Neoplasias Mieloides Secundárias

Neoplasias mieloides que surgem secundariamente à exposição à terapia citotóxica. São definidas como leucemia mieloide aguda (LMA), neoplasias mielodisplásicas (SMD) e neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (SMD/NMP) que surgem em pacientes expostos previamente à terapia citotóxica, danificando o DNA, relacionada particularmente à expansão de clones preexistentes secundária a pressões de seleção de agentes de terapia citotóxica em um ambiente medular alterado (WHO, 2020).

Representam aproximadamente 10% dos casos de LMA e 20% de SMD, e estão entre as complicações tardias mais mortais da quimioterapia (JAFFE *et al.*, 2017). Assim, o diagnóstico de neoplasia mieloide pós citotóxicos implica o cumprimento dos critérios para uma neoplasia mieloide, além de um histórico documentado de tratamento quimioterápico ou radioterapia de campo amplo para uma neoplasia não relacionada. Pacientes com neoplasia mieloide pós terapia citotóxica apresentam morfologia sanguínea e da medula óssea que se sobrepõe à de pacientes com LMA de novo, SMD e SMD/NMP. O sangue periférico comumente apresenta anisopoiquilocitose e macrocitose de hemácias, com formas nucleadas circulantes e neutrófilos displásicos, ocasionalmente com monocitose. A displasia multilinhagem é uma característica consistente, e a porcentagem de blastos na medula óssea continua sendo importante para distinguir a neoplasia mielodisplásica pós terapia citotóxica da leucemia mieloide aguda pós terapia citotóxica (WHO, 2020).

A medula óssea pode ser hipercelular, normocelular ou hipocelular e pode apresentar fibrose associada. A diseritropoiese das três linhagens é comum e frequentemente marcante, a eritropoiese pode apresentar maturação megaloblástica com contornos nucleares anormais ou multinucleação, sireoblastos em anel são comuns. Os megacariócitos frequentemente apresentam formas pequenas e anormais com hipolobação ou lobos nucleares amplamente separados. Contagem de blastos é variável, aproximadamente metade dos pacientes com SMD relacionado a

terapia apresentam 5% de blastos quando diagnosticados inicialmente. Independentemente da contagem de células blásticas, os casos não devem ser classificados como um subtipo específico de SMD, devendo simplesmente ser diagnosticado como SMD relacionada à terapia. Os blastos são tipicamente CD34 positivos, com expressão de CD13 e CD33 (Jaffe *et al.*, 2017).

2.5 NEOPLASIAS MIELOIDES/LINFOIDES

Esta categoria de doenças inclui neoplasias mieloides e linfoides causadas por rearranjos envolvendo genes que codificam tirosina quinases específicas, levando a produtos de fusão nos quais o domínio quinase é constitutivamente ativado, resultando em desregulação da sinalização celular que promove a proliferação e a sobrevivência (WHO, 2020).

2.5.1 Neoplasia mieloide/linfoide com rearranjo de *FGFR1*

Trata-se de um grupo heterogêneo de neoplasias com rearranjo do *FGFR1*, originárias de uma célula-tronco hematopoiética pluripotente, que podem se manifestar como neoplasias mieloides crônicas ou doença em fase blástica de origem em células B, células T, mieloides ou fenótipo misto, tipicamente com eosinofilia associada. Os casos se apresentam como leucemias linfoblásticas agudas (B e T), mieloides ou de fenótipo misto. A medula óssea pode ser normocelular ou hipercelular com eosinofilia, com ou sem neutrofilia, ou monocitose ou com aumento de blastos de linhagem mieloide ou de células T ou B, ou de fenótipo misto; presença de um gene de fusão *FGFR1* por t(8;13); (p11.2;q12.1) ou um parceiro de translocação alternativo. A imunofenotipagem por citometria de fluxo pode ser mais útil do que a imunohistoquímica na identificação de pequenas populações subclonais (WHO, 2020).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Elaboramos um manual com orientações e condutas sobre avaliação inicial da biópsia de medula óssea com suspeita de neoplasias mieloides, destinado para o aperfeiçoamento do aprendizado dos residentes de anatomia patológica do INCA baseando-se nas referências bibliográficas, associadas as imagens ilustrativas das patologias.

O Acervo do serviço de patologia do INCA foi usado para ilustração do material, com fotografias dos cortes histológicos corados pela hematoxilina e eosina e das lâminas de imuno-histoquímica arquivadas.

Foi incluída no manual uma breve revisão sobre cada patologia no que concerne aos principais aspectos histopatológicos e imunofenótipos das neoplasias ilustradas.

As imagens das lâminas dos casos usados para ilustrar as doenças serão adquiridas utilizando a câmera ICC50W (Leica Microsystems®) e o programa LAS EZ (Leica Microsystems®), versão 3.4.0).

4 RESULTADOS

4.1 ORIENTAÇÕES INICIAIS

4.1.2 Indicações de BMO na Avaliação de Proliferações e Neoplasias Mieloides

Em geral, um exame de medula óssea é necessário quando há anormalidades hematológicas que não podem ser explicadas por dados clínicos e laboratoriais. Um esfregaço de sangue periférico deve sempre ser cuidadosamente avaliado antes de decidir se uma biópsia de medula óssea é necessária. Uma vez indicado, o exame completo da medula óssea inclui tanto o aspirado da medula óssea quanto a biópsia.

O aspirado de medula óssea fornece informações mais precisas em relação às características citológicas e ao processo de maturação das linhagens hematopoéticas, determinações qualitativas/quantitativas dos blastos e avaliação semiquantitativa dos depósitos de ferro. São requeridas pelo menos duas colorações; Romanowsky e azul da Prússia onde devem ser avaliadas a qualidade da amostra, celularidade global da mesma, contagem diferencial de células nucleadas, relação mielóide/eritróide e avaliação quantitativa e qualitativa das três linhagens hematopoéticas: granulocítica, eritróide e megacariocítica.

A biópsia por agulha da medula óssea oferece uma análise mais precisa da celularidade relação tecido adiposo/tecido hematopoético, organização topográfica dos diferentes elementos celulares, alterações do estroma; fibrose reticulínica e colagênica, alterações morfológicas/topográficas dos elementos maduros, lesões focais, metástases e infiltrações.

Inúmeros marcadores que definem as linhagens celulares mieloides e suas diferentes etapas de maturação podem ser hoje identificados por imuno-histoquímica ou citometria de fluxo, que é considerada o método de eleição para a imunocaracterização das leucemias. A imuno-histoquímica é usada para casos em que, por alguma razão, não é possível a obtenção de células viáveis para essa finalidade, como nas LMAs com fibrose.

As principais indicações clínicas para a realização de biópsias de medula óssea incluem:

- ✓ Esclarecer citopenias ou citoses;
- ✓ Diagnóstico de neoplasias hematopoiética e linfoides;
- ✓ Avaliação de blastos inexplicáveis ou outras células anormais no sangue sugestivo de patologia da medula óssea;
- ✓ Avaliação de mastocitoses, amiloidose e distúrbios de armazenamento metabólico;
- ✓ Avaliação da gamopatia monoclonal;
- ✓ Avaliação da febre de origem desconhecida;
- ✓ Avaliação de esplenomegalia inexplicada ou outra organomegalia;
- ✓ Estadiamento de linfomas;
- ✓ Detecção de doença metastática;
- ✓ Monitoramento pré e pós indução da quimioterapia para avaliar resposta a terapia, efeitos antineoplásicos e/ou toxicidade hematológica.
- ✓ Acompanhamento pós transplante de células-tronco hematopoiéticas.

5 PROCESSAMENTO HISTOPATOLÓGICO DA BIÓPSIA DE MEDULA ÓSSEA

O exame completo inclui tanto o aspirado como a biópsia. Amostras para culturas micobacterianas, fúngicas ou virais devem ser coletadas se houver suspeita de causa infecciosa.

As biópsias de medula óssea obtidas por punção, após fixadas em formol a 10% tamponado, sofrem processo de descalcificação. Utiliza-se solução descalcificadora à base de EDTA, que permite maior rapidez, além de preservar o tecido adjacente. Quando retiradas da solução, são lavadas por cinco minutos em água corrente e, então, são submetidas a processamento histológico.

5.1 AVALIAÇÃO DE DADOS CLÍNICOS E EXAMES COMPLEMENTARES

Antes de iniciar a avaliação da medula óssea, deve-se coletar informações relevantes e disponíveis no prontuário eletrônico do paciente. Estes incluem dados do hemograma, mielograma, imunofenotipagem por citometria de fluxo, citogenética, sorologias, exames de imagem e outros exames relevantes para hipótese diagnóstica clínica.

5.2 AVALIAÇÃO INICIAL DA BIÓPSIA DA MÉDULA ÓSSEA

A avaliação inicial da biópsia da medula óssea consiste na contagem dos espaços intertrabeculares, avaliação da celularidade e da presença de possíveis alterações das três linhagens hematopoiéticas presentes.

5.3 CONTAGEM DOS ESPAÇOS TRABECULARES

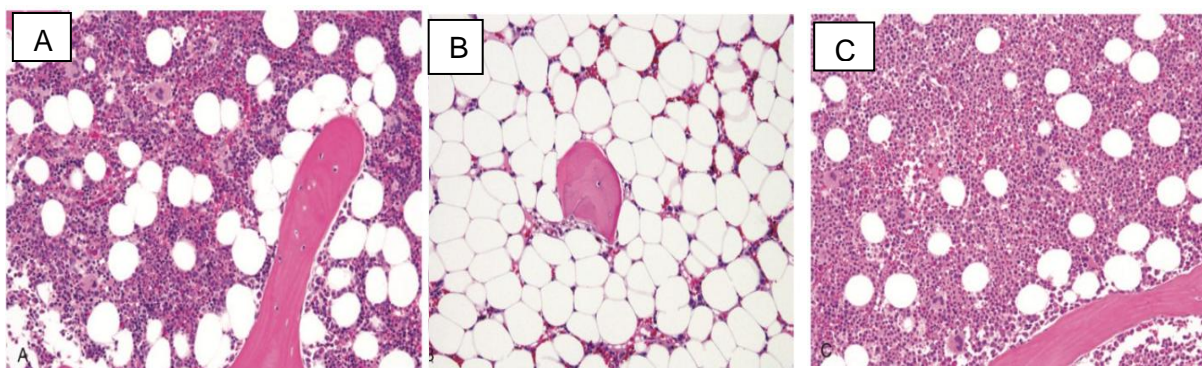
Os espaços intertrabeculares devem ser avaliados como o espaço compreendido entre dois fragmentos de osso trabecular que, são ocupados por estroma e células hematopoiéticas, permeadas por tecido adiposo, células estromais, matriz extracelular com histiócitos e vasos sanguíneos.

Uma biópsia satisfatória deve ter pelo menos 1,6 cm a 2 cm. É importante estar atento à primeira camada de tecido adiposo subcortical, caso tenha na amostra, pois esta apresenta uma celularidade reduzida (Beham-Schmid; Schmitt-Graeff, 2020).

5.4 AVALIAÇÃO DA CELULARIDADE

Embora o aspirado e a biópsia da medula óssea representem apenas uma amostra minúscula do órgão hematopoiético, os espécimes obtidos de locais padrão são geralmente representativos da atividade geral da medula óssea. Ao nascimento e na infância, a celularidade é maior e com maior predomínio de linfócitos, enquanto que a celularidade reduz com o aumento da idade, com menor quantidade de linfócitos. A avaliação da celularidade deve ser feita pela relação de células hematopoiéticas em relação ao tecido adiposo. Uma fórmula comumente utilizada para se estimar a celularidade normal de uma medula óssea é a subtração de 100 pela idade do paciente. Vale ressaltar, que essa formula se aplica de maneira mais eficaz em adultos, e não nos extremos de idade (Foucar, 2001).

Figura 1 – Avaliação da celularidade



Biópsia de medula óssea de celularidade normal; (B) comparada com biópsia hipocelular; (C) e hiper celular.

Fonte: Jaffe *et al.*, 2017.

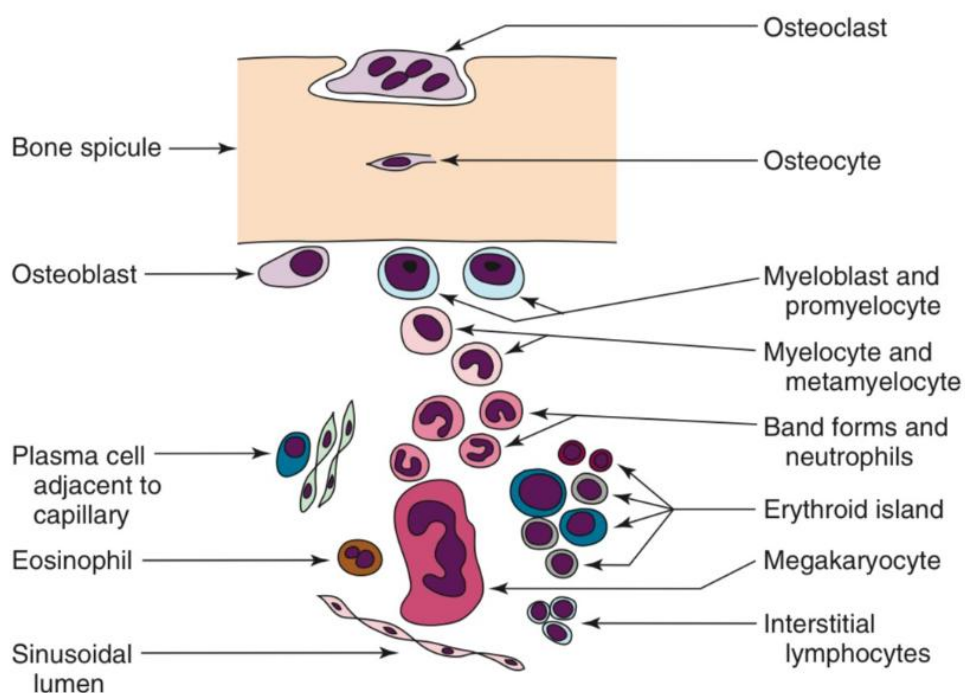
5.5 AVALIAÇÃO DAS LINHAGENS HEMATOPOIÉTICAS

As diferentes linhagens que compõem a medula óssea incluem a linhagem eritrocítica, granulocítica e megacariocítica.

O estroma é composto de células estromais e uma matriz de proteínas como a laminina, trombospondina e fibronectina. Elementos estromais reconhecíveis incluem vasos sanguíneos, nervos, tecido adiposo, células mesenquimais como as células reticulares, macrófagos, fibroblastos e uma delicada rede de fibras. A reticulina é depositada preferencialmente ao redor das arteríolas e adjacente às trabéculas ósseas. Osteoclastos, osteoblastos, mieloblastos e promielócitos são adjacentes à trabécula óssea. Mais profundamente no espaço intertrabecular estão presentes

células em maturação da linhagem neutrófila, ilhas eritroides com um macrófago e linfócitos intersticiais. Eosinófilos e seus precursores são espalhados aleatoriamente. Células plasmáticas e megacariócitos apresentam localização adjacente a um sinusoides (Figura 2).

Figura 2 – Representação da topografia da medula óssea normal



Fonte: Jaffe *et al.*, 2017.

Os precursores eritroides são facilmente visualizados em biópsia de medula óssea, onde localizam-se no espaço intertrabecular formando ilhas eritroides, afastadas da superfície óssea. Um halo artificial em torno dos núcleos eritroides pode auxiliar na sua identificação. Eritroblastos tardios normais apresentam um pequeno número de grânulos finos de hemossiderina dispersos. Eritroblastos intermediários ocasionais também podem conter grânulos sideróticos. (Tabela 1; Figura 3).

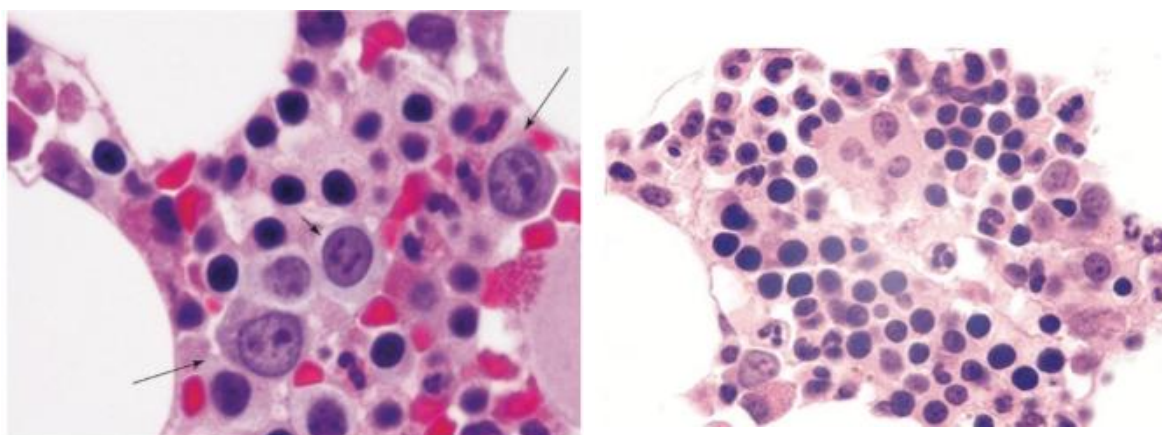
Tabela 1 – Precursores eritroides

Proeritroblasto	Célula grande redonda com núcleo redondo ou ligeiramente oval e um ou mais núcleos visíveis, que geralmente são lineares ou irregulares e podem se apoiar na membrana nuclear
-----------------	---

Eritroblasto basofílico	Um pouco menor que um proeritroblasto, mas com características semelhantes
Eritroblasto intermediário	Célula de tamanho intermediário com menos basofilia citoplasmática do que o eritroblasto inicial, podem exibir halo perinuclear artefactual.
Eritroblasto tardio	Célula pequena com cromatina condensada, citoplasma rosa (eosinofílico) na coloração com hematoxilina-eosina e halo perinuclear proeminente. Núcleo mais redondo e regular que o linfócito.

Fonte: Adaptado de (Jaffe *et al.*, 2017).

Figura 3 – Precursor eritroide



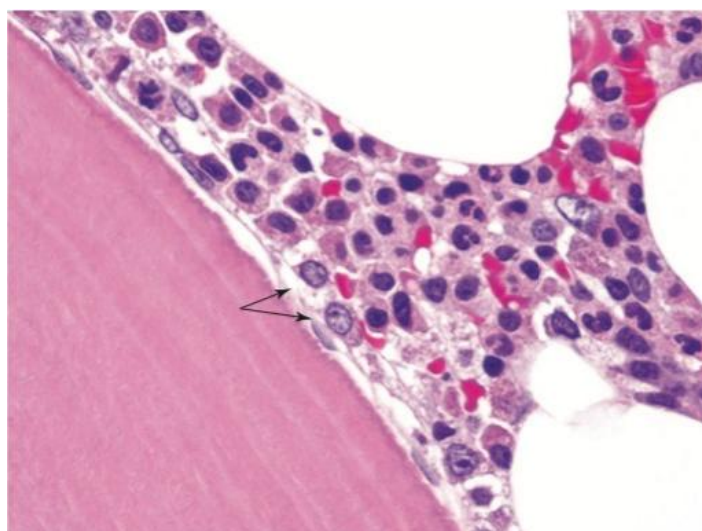
(A) Dois proeritroblastos (setas longas) e um eritroblasto (seta curta); (B) Ilha eritroide composta principalmente por eritroblastos intermediários e tardios.

Os primeiros precursores de granulócitos reconhecíveis são mieloblastos e promielócitos que se encontram localizados contra o periósteo e em faixa ao redor das arteríolas (Figura 4). Mielócitos, metamielócitos e neutrófilos são encontrados progressivamente mais distantes do endósteo, as características citológicas estão descritas na tabela 2. Outras células mieloides como monócitos, macrófagos, mastócitos e osteoclastos são reconhecidos na medula óssea de indivíduos saudáveis em números baixo, mas variáveis. Monócitos e macrófagos são uma população menor e podem ser vistos como células isoladas. Macrófagos podem conter restos celulares ou hemossiderina (Jaffe *et al.*, 2017).

Tabela 2 – Precursor granulocítico

Célula	Biópsia de medula óssea
Mieloblasto	Célula grande com alta proporção núcleo citoplasma, localizada próximo a trabécula óssea ou arteríola, o núcleo é mais redondo do que um proeritroblasto e não toca a membrana nuclear.
Promielócito	Célula maior que um mieloblasto, com núcleo semelhante, mas citoplasma granular mais abundante, localizado próximo a trabécula óssea ou de uma arteríola.
Mielócito	Célula menor que um promielócito, localizada mais distante da superfície óssea, citoplasma é granular e o núcleo oval não possui nucléolo aparente.
Metamielócito	Célula de tamanho médio semelhante a um mielócito e situada de forma semelhante, mas com núcleo recortado ou em forma de U.
Bastões e Neutrófilo	Célula de tamanho médio localizadas a alguma distância de uma trabécula óssea ou de uma arteríola, com citoplasma granular e cromatina grosseiramente aglomerada em núcleos em forma de faixa ou lobulados.

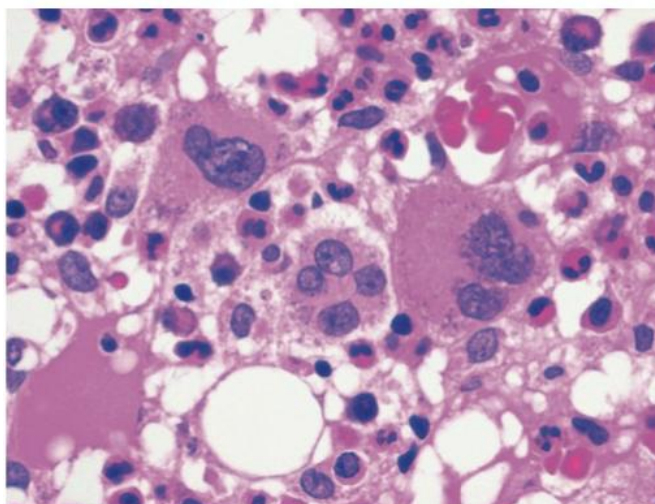
Fonte: Adaptado de Jaffe *et al.*, 2017.

Figura 4 – Precursor granulocítico

Granulócitos imaturos ao longo de uma trabécula óssea
 Fonte: Jaffe *et al.*, 2017.

Os megacariócitos são células grandes polipoides e apresentam três estágios de maturação reconhecíveis na medula óssea normal. Os megacariócitos imaturos medem 30 µm ou mais de diâmetro e apresentam alta relação núcleo citoplasma basofílico e lobulado. Os megacariócitos maduros são células grandes, com até 160 µm de diâmetro, geralmente com núcleo lobulado e citoplasma granular rosa ou lilás. O megacariócito tardio é semelhante em tamanho a um megacariócito imaturo, pois praticamente todo o citoplasma foi eliminado como plaquetas, restando apenas um núcleo bastante picnótico com uma fina borda citoplasmática (Figura 5).

Figura 5 – Megacariócitos



Três megacariócitos de paciente hematologicamente normal. A variação no tamanho e a lobulação nuclear são devidas ao corte transversal.

Fonte: Jaffe *et al.*, 2017.

6 APRESENTAÇÃO DOS CASOS E PROCEDIMENTOS DA ROTINA

Na avaliação das biópsias suspeitas de neoplasias mieloides, estão indicados:

- ✓ Caracterizar as linhagens presentes. Se necessário, por imuno-histoquímica usando os anticorpos CD71, CD61, CD163, mieloperoxidase.
- ✓ - Pesquisar presença de excessos de blastos, linfoides ou mieloides, utilizando marcadores disponíveis: CD34, CD117 e Tdt.
- ✓ Pesquisar presença de fibrose reticulínica e/ou colágeno.
- ✓ Coletar as informações do sangue periférico, molecular e/ou citogenética. O laudo deve ser descritivo na ausência dessas informações.

6.1 CHECKLIST UTILIZADO NA AVALIAÇÃO

- ✓ Número de fragmentos
- ✓ Tamanho
- ✓ Descalcificação: EDTA (tempo)
- ✓ Número de blocos
- ✓ Colorações realizadas (histoquímica)
- ✓ Imuno-histoquímica
- ✓ Representatividade da amostra: adequada, artefatos de aspiração, etc.
- ✓ Celularidade global
- ✓ Linhagens celulares
- ✓ Série eritroide
- ✓ Série granulocítica
- ✓ Série megacariocítica
- ✓ Linfócitos
- ✓ Plasmócitos
- ✓ Histiócitos

Semiquantificação de fibras reticulínicas e colágeno (OMS, 5ed):

MF-0 - Fibras reticulínicas esparsas, sem interseção e colágeno perivascular, correspondendo à medula normal.

MF-1 – Trama reticulínica frouxa com muitas interseções, especialmente perivascular. Colágeno focal paratrabecular ou central, sem trama.

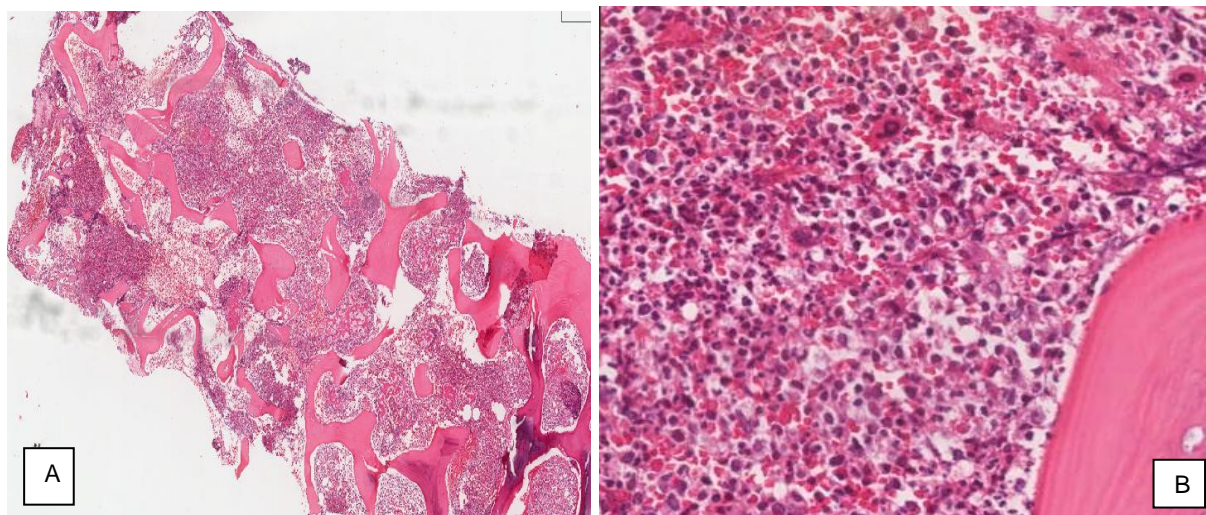
MF-2 – Aumento difuso e denso de fibras reticulínicas com muitas interseções, ocasionalmente com bandas de colágeno e/ou osteosclerose focal.

MF-3 - Aumento difuso e denso de fibras reticulínicas com muitas interseções e bandas de colágeno, frequentemente associado com osteosclerose.

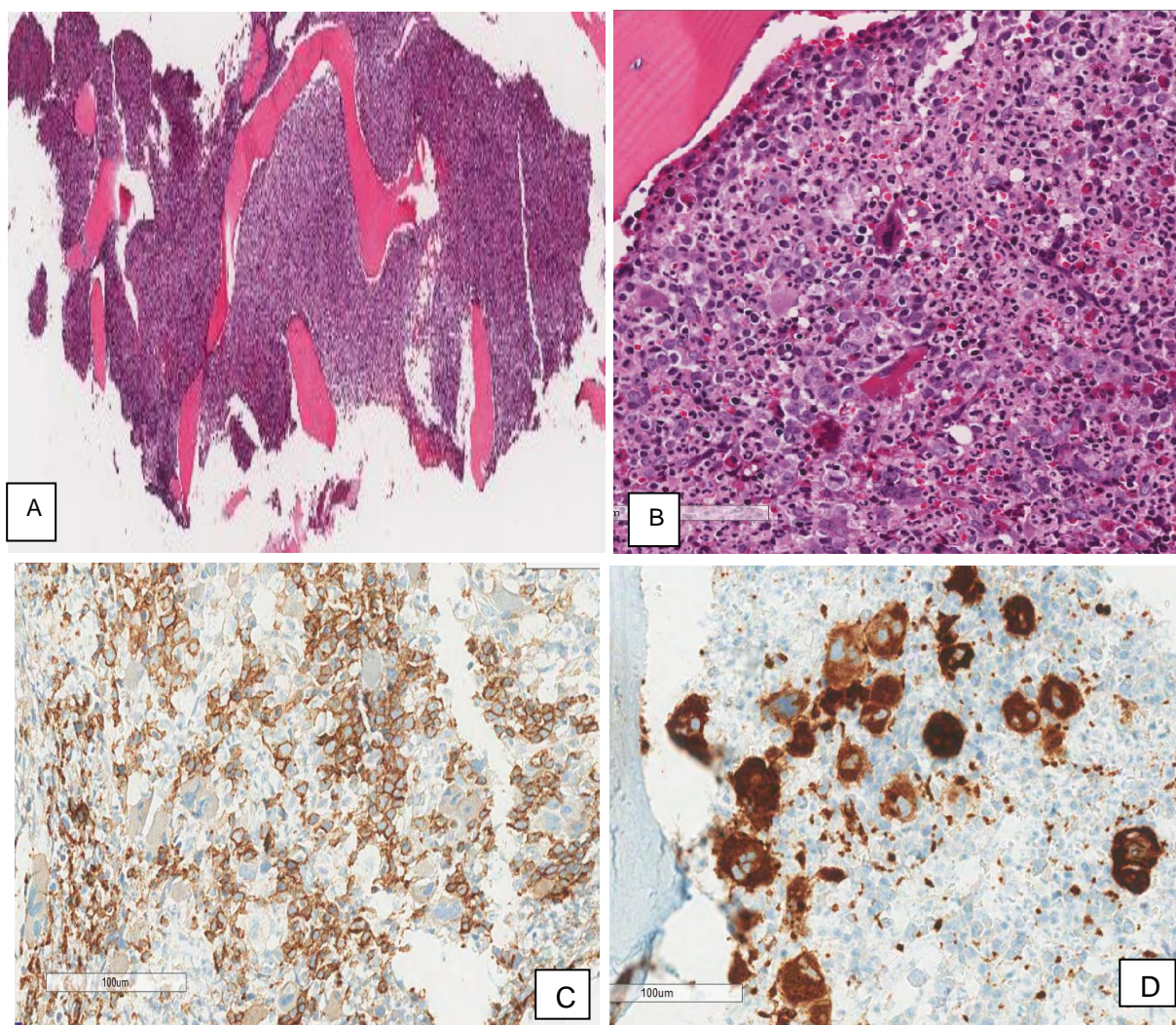
- ✓ Siderose
- ✓ Lesões específicas
 - Granulomas
 - Necrose
 - Amiloidose
 - Degeneração serosa
- ✓ Elementos extrínsecos
- ✓ Microrganismos
- ✓ Conclusão

6.2 ILUSTRAÇÃO DOS CASOS

Figura 6 – Leucemia mieloide crônica

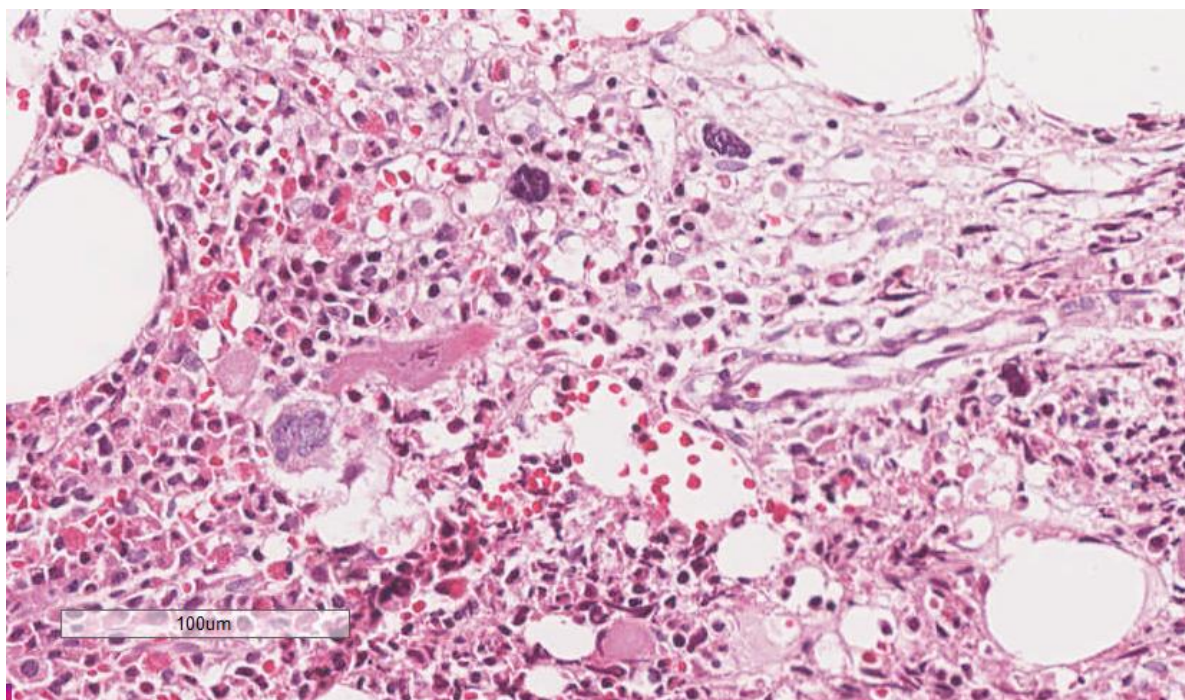


Medula óssea hipercelular (HE, A - 40X). Acentuada hiperplasia da série granulocítica, megacariócitos pequenos e hipossegmentados. Eosinófilos e basófilos aumentados. Ausência de excesso de blastos (HE B - 400X).

Figura 7 – Policitemia vera

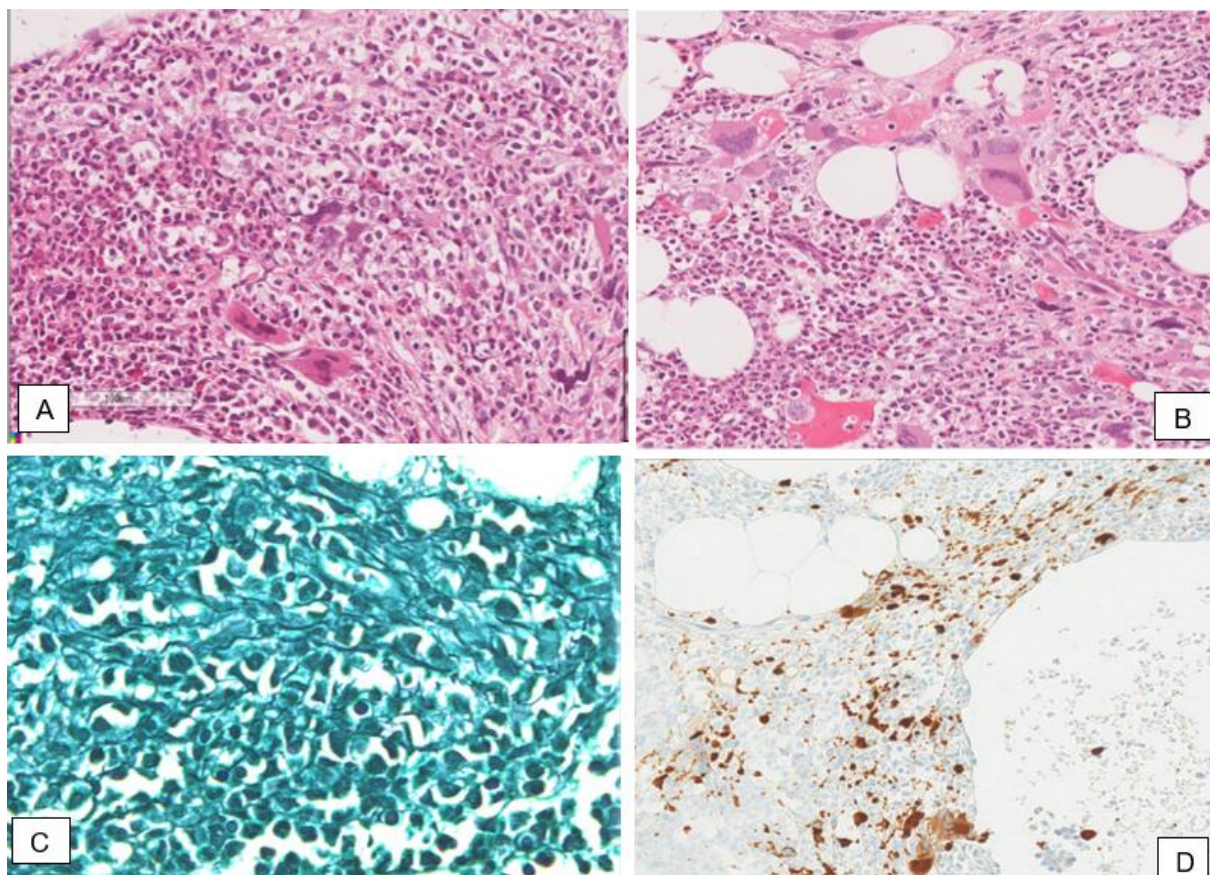
Medula óssea hipercelular (HE, A - 40X). Serie eritroide e granulocítica hiperplásicas com retardo de maturação, megacariócitos dismórficos. Ausência de excessos de blastos e mielofibrose (HE, B - 400X). cortes histológicos mostram imuno-histoquímica evidenciando eritroblastos (CD71, C - 100X); megacariócitos em número aumentado, formando aglomerados frouxos situados próximo a superfície endosteal das trabéculas ósseas, observa-se variação no tamanho e morfologia atípica como núcleos hipercromáticos alguns hipersegmentados (CD61, D - 400X).

Figura 8 –Trombocitemia essencial



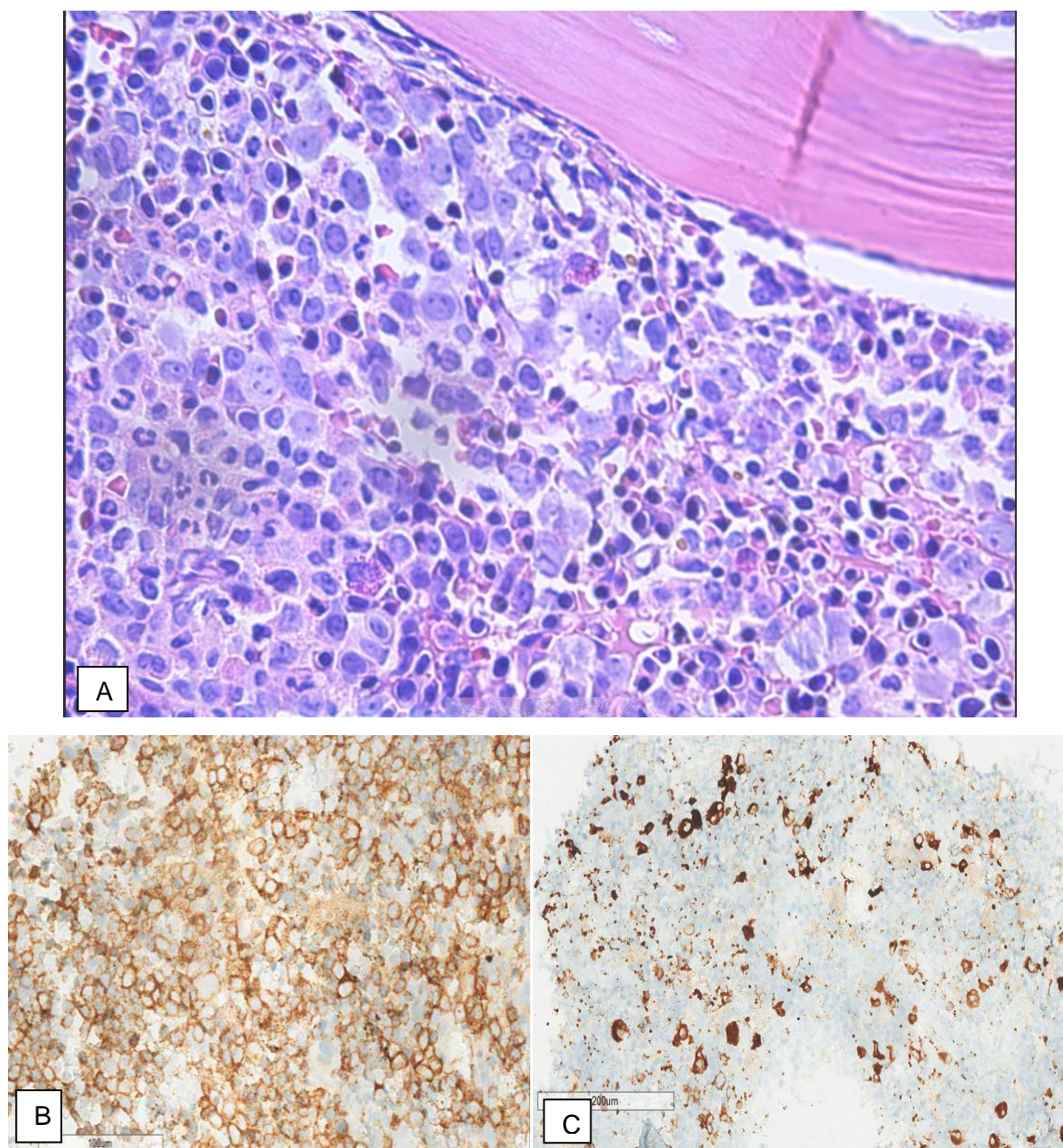
Série granulocítica aumentada com predomínio de formas maduras, megacariócitos grandes com núcleos hiperlobados. Mielofibrose leve (HE, A – 400X).

Figura 9 – Mielofibrose primária



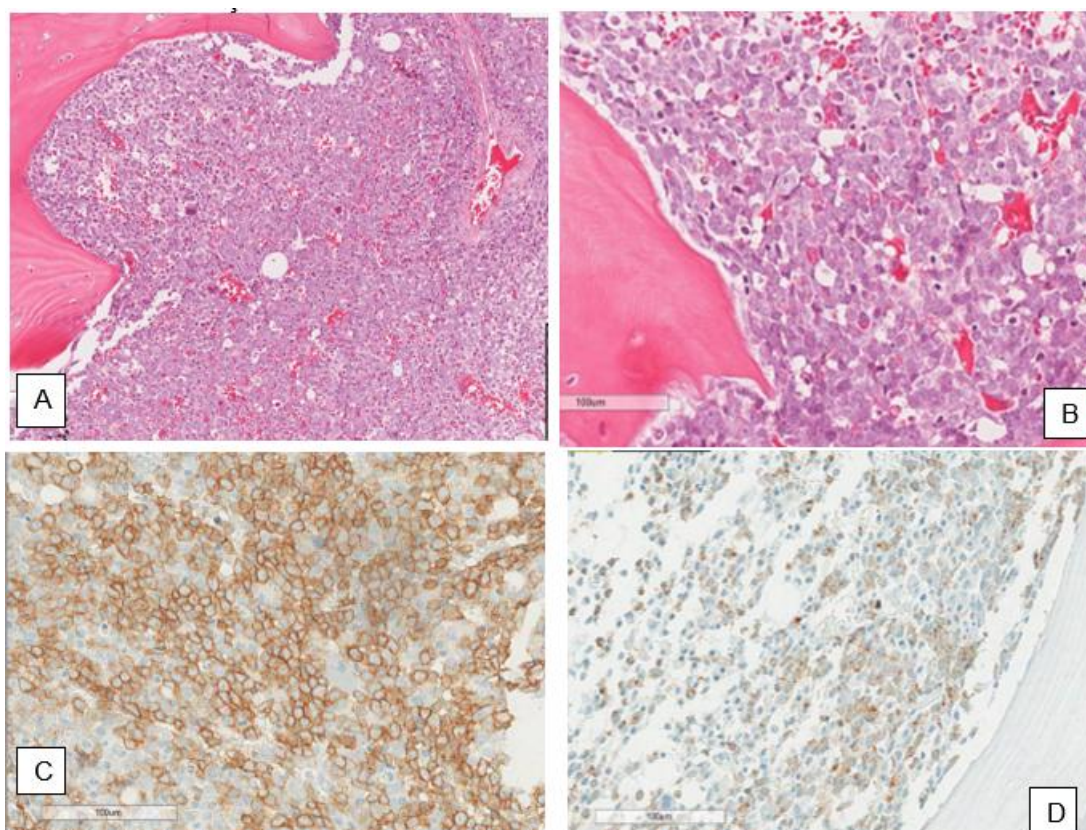
Hiperplasia da série granulocítica, megacariócitos dismórficos com formas bizarras (HE, A e B – 400X); coloração pela reticulina evidenciando trama aumentada, frouxa (reticulina, C - 200X); imuno-histoquímica evidenciando os megacariócitos atípicos (CD61, D - 100X).

Figura 10 – Neoplasia mielodisplásica



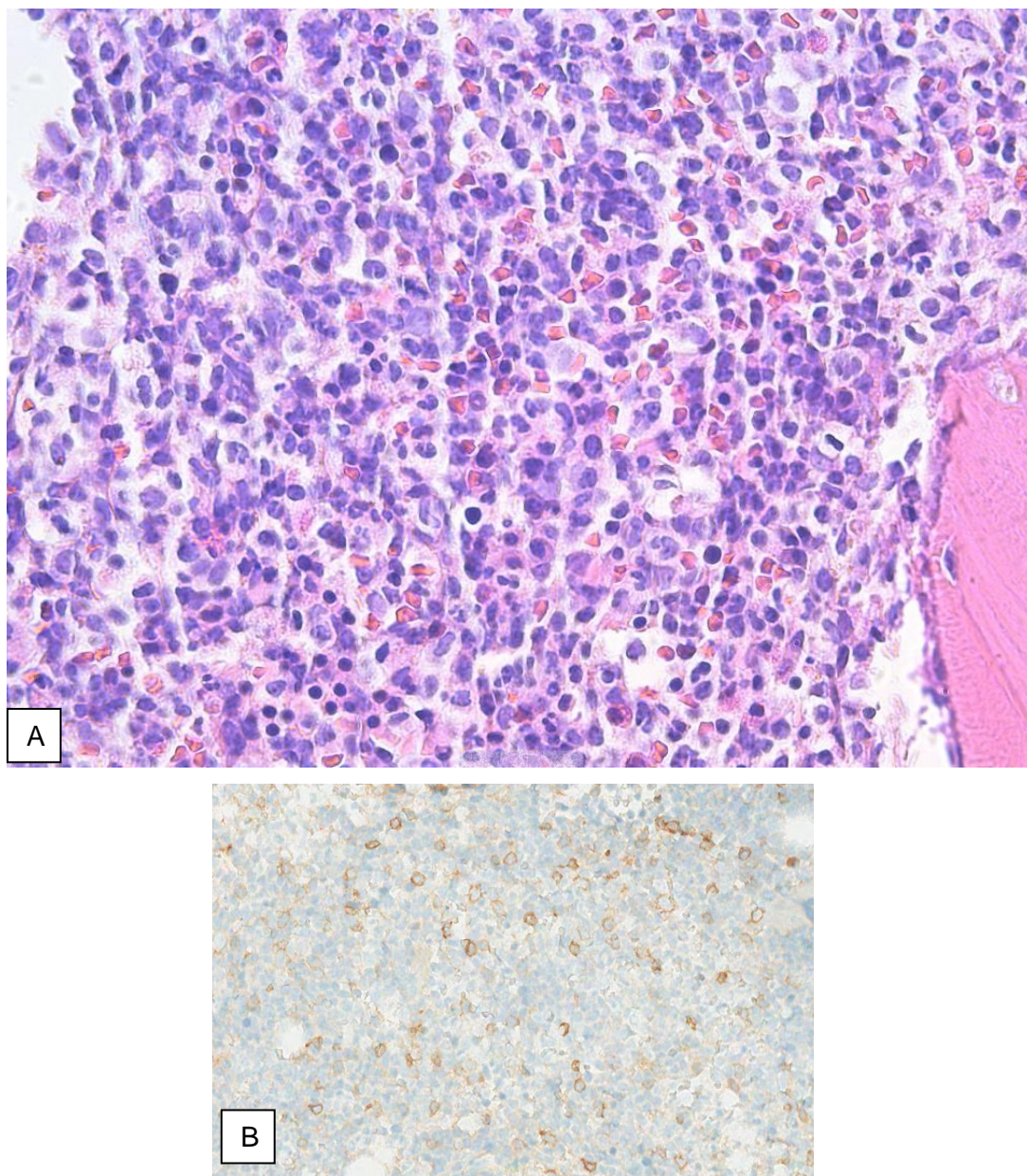
Série eritroide hiperplásica com alteração megaloblástica (HE, A – 400X); imuno-histoquímica evidenciando a série eritroide (CD71, B - 400X); evidenciando os micromegacariócitos (CD61, C – 100X).

Figura 11 – Leucemia mieloide aguda



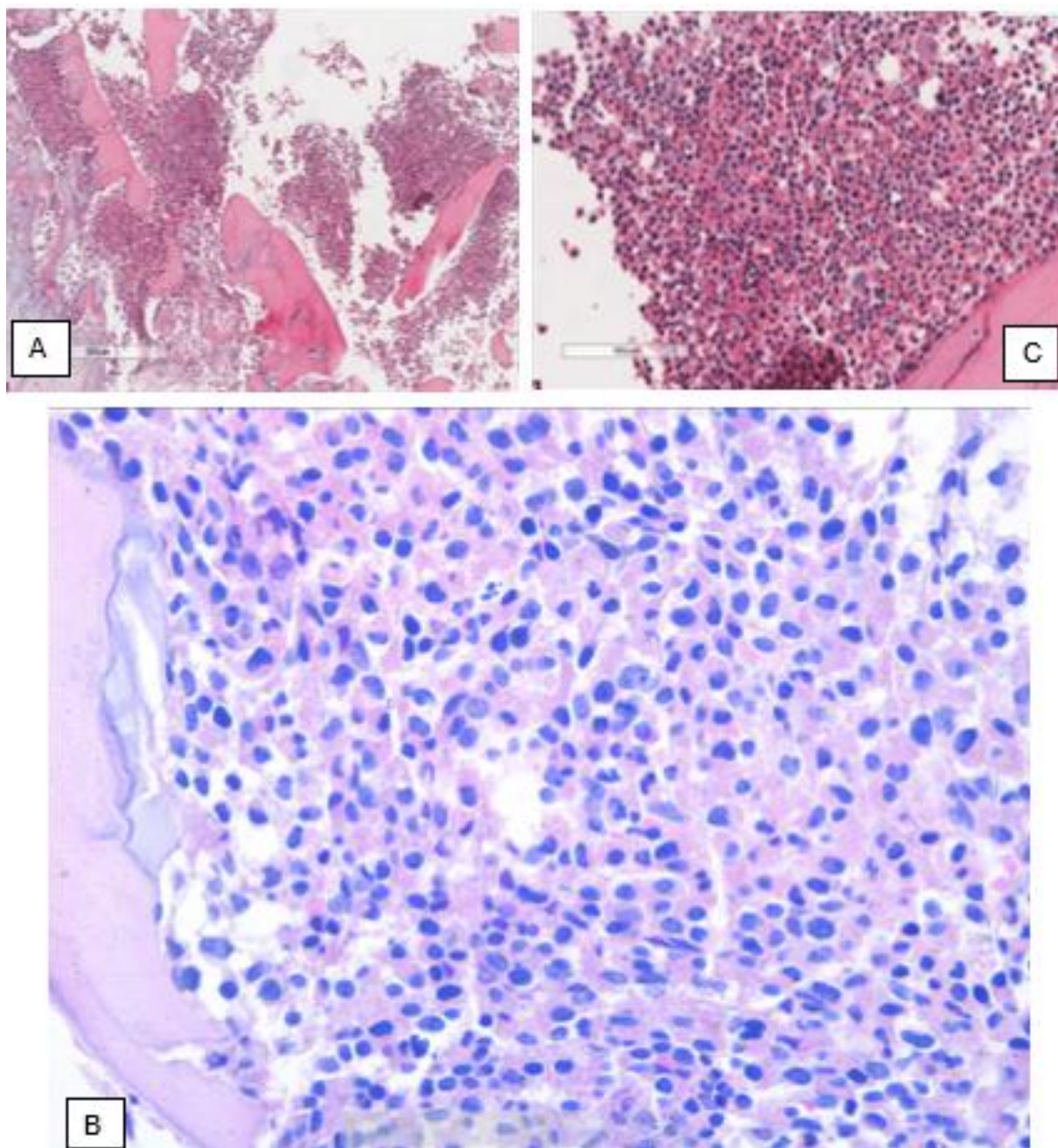
Infiltração difusa da medula óssea por blastos mieloides (HE, A – 100X; B – 400X); cortes histológicos mostrando imuno- histoquímica com positividade forte e difusa para CD117 (C - 400X); CD34 com expansão em parte dos blastos (D - 100X).

Figura 12 – Neoplasia mieloide pós-terapia citotóxica



Medula óssea hipercelular, infiltrada por elementos mieloides imaturos. Serie eritroide reduzida (HE, A - 400X); imuno - histoquímica mostrando positividade para CD117 em 10-20% de blastos (B - 100X).

Figura 13 – Neoplasia mieloide/linfoide com rearranjo FGFR1



Medula óssea hipercelular (HE, A - 40X); acentuada hiperplasia da série granulocítica com retardo na maturação (HE, B - 400X); representada principalmente por eosinófilos (HE, C - 100X).

7 CONCLUSÃO

Foi elaborado um mini manual com orientações para avaliação de proliferações e neoplasias mieloides, apresentação de um checklist com considerações pontuais sobre processamento, condutas a adotar na avaliação inicial da medula óssea, seguido de ilustração dos casos mais frequentes, avaliados na rotina do serviço de hematopatologia do INCA. O presente manual poderá servir como fonte de consulta rápida para avaliação inicial de medulas ósseas, com suspeita de neoplasias mieloides, podendo contribuir no desenvolvimento do raciocínio histopatológico, facilitando assim, o aprendizado dos residentes.

REFERÊNCIAS

- APPERLEY, J. F. Chronic myeloid leukaemia. **The Lancet**, London, UK, v. 385, n.9976, 2015, p.1447-1459, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62120](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62120)(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673613621200>)
- ARBER, D. A.; ORAZI, A. Update on the pathologic diagnosis of chronic myelomonocytic leukemia. **Mod Pathol**, Chicago, USA, v.32, n.6, p.732-740, 2019. doi: 10.1038/s41379-019-0215-y. Epub 2019 Feb 5. PMID: 30723295.
- BARBUI, T. *et al.* Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. **J Clin Oncol**, Bergamo, Italy, v. 29, n.23, p.3179-3184, 2011 doi: 10.1200/JCO.2010.34.5298. Epub 2011 Jul 11. PMID: 21747083.
- BEHAM-SCHMID, C.; SCHMITT-GRAEFF, A. **Bone marrow biopsy pathology: A practical guide**. Essentials of diagnostic pathology series. Springer Berlin, 1st edition, 533 p., 2020.
- BELLANNÉ-CHANTELOT, C. *et al.* Germline genetic factors in the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. **Blood Rev**, Paris, France, v. 42, 2020, 100710. doi: 10.1016/j.blre.2020.100710. Epub 2020 May 29. PMID: 32532454.
- CAMPBELL, P. J. *et al.*; United Kingdom Myeloproliferative Disorders Study Group; Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party; Australasian Leukaemia and Lymphoma Group. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. **Lancet**, Oxford, UK, v. 366, n. 9501, p. 1945-1953, 2005. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67785-9. PMID: 16325696.
- CHEN, X. *et al.* Chronic myelogenous leukemia presenting in blast phase with nodal, bilineal myeloid sarcoma and T-lymphoblastic lymphoma in a child. **Pediatr Dev Pathol**, Seattle, WA, USA, v. 16, n. 2, 2013, p.91-96. doi: 10.2350/12-07-1230-CR.1. Epub 2012 Nov 21. PMID: 23171293.
- FOUCAR, K. **Bone Marrow Pathology**. American Society Clinical Pathology, 2nd edition, 704p., 2001.
- GUGLIELMELLI, P. *et al.* AGIMM Group. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of prefibrotic and overt primary myelofibrosis. **Blood**, Firenze, Italy, v. 129, n. 24, 15, 2017, p. 3227-3236. doi: 10.1182/blood-2017-01-761999. Epub 2017 Mar 28. PMID: 28351937.
- JAFFE E.S, ARBER D.A, CAMPO E, HARRIS N.L, MARTINEZ L.Q, **Hematopathology**. 2ª edição, Elsevier, Philadelphia PA, 2017.
- KAREL, D. *et al.* Myelodysplastic Neoplasms (MDS): The Current and Future Treatment Landscape. **Curr Oncol**, Washington, USA, v.31, n. 4, p.1971-1993, 2024. doi: 10.3390/curroncol31040148. PMID: 38668051; PMCID: PMC11049094.

LOGHAVI S, KANAGAL-SHAMANNA R, KHOURY JD, MEDEIROS LJ, NARESH KN, NEJATI R, PATNAIK MM; WHO 5th Edition Classification Project. Fifth Edition of the World Health Classification of Tumors of the Hematopoietic and Lymphoid Tissue: Myeloid Neoplasms. **Mod Pathol**, Houston, Texas, v. 37, n. 2, 2024, 100397. doi: 10.1016/j.modpat.2023.100397. Epub 2023 Dec 1. PMID: 38043791.

MARQUES, F.K. *et al.* Investigação de mutações em neoplasias mieloides utilizando um painel multigene de sequenciamento de nova geração. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, v. 43, n. s1, p. S158-S159, 2021. ISSN 2531-1379.

MCNERNEY, M. E.; GODLEY, L. A.; LE BEAU, M. M. Therapy-related myeloid neoplasms: when genetics and environment collide. **Nat Rev Cancer**, Chicago, USA, v.17, n. 9, p.513-527, 2017. doi: 10.1038/nrc.2017.60. PMID: 28835720; PMCID: PMC5946699.

NG, Z. Y *et al.* Morphology of myeloproliferative neoplasms. **Int J Lab Hematol**, Perth Western Australia, Australia v. 45, n. S2, p. 59-70, 2023, doi: 10.1111/ijlh.14086. Epub 2023 May 21. PMID: 37211431.

OCHI, Y. *et al.* Clonal evolution and clinical implications of genetic abnormalities in blastic transformation of chronic myeloid leukaemia. **Nat Commun**, Kyoto, Japan, v.12, n.1, p.2833, 2021. doi: 10.1038/s41467-021-23097-w. PMID: 33990592; PMCID: PMC8121838.

PATNAIK, M. M, LASHO, T. Myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasm overlap syndromes: a focused review. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, Rochester, MN, v.2020, n.1, p. 460–464, 2020. doi: 10.1182/hematology.2020000163. PMID: 33275673; PMCID: PMC7727594.

SHAHIN, O. A. *et al.* Accelerated Phase of Myeloproliferative Neoplasms. **Acta Haematol**, [s.l.], v.144, n.5, p.484-499, 2021. doi: 10.1159/000512929. Epub 2021 Apr 21. PMID: 33882481; PMCID: PMC8458218.

SILVER, R. T. *et al.* Evaluation of WHO criteria for diagnosis of polycythemia vera: a prospective analysis. **Blood**, New York, NY, v. 122, n. 11,12 p. 1881-1886, 2013. doi: 10.1182/blood-2013-06-508416. Epub 2013 Jul 30. PMID: 23900239.

SPIVAK, J. L. Advances in polycythemia vera and lessons for acute leukemia. **Best Pract Res Clin Haematol**, Baltimore, USA, v. 34, n. 4, 2021. doi: 10.1016/j.beha.2021.101330. Epub 2021 Oct 23. PMID: 34865702.

SPIVAK, J. L. Polycythemia Vera. **Curr Treat Options Oncol**, Baltimore, USA, v.19, n. 12, 2018. doi: 10.1007/s11864-018-0529-x. PMID: 29516275.

TAKAHASHI, K.; TANAKA, T. *et al.* Clonal evolution and hierarchy in myeloid malignancies, **Trends in Cancer**, Houston, TX, USA, v. 9, n. 9, p. 707-715, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2023.05.004>.

VARDIMAN JW, THIELE J, ARBER DA, BRUNNING RD, BOROWITZ MJ, PORWIT A, HARRIS NL, LE BEAU MM, HELLSTRÖM-LINDBERG E, TEFFERI A, BLOOMFIELD CD. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO)

classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. **Blood**, Cologne, Germany, v. 114, n. 5, 30, 2009, p. 937-9512009, doi: 10.1182/blood-2009-03-209262. Epub 2009 Apr 8. PMID: 19357394.

VERSTOVSEK, S. *et al.* Changes in the incidence and overall survival of patients with myeloproliferative neoplasms between 2002 and 2016 in the United States. **Leuk Lymphoma**, Houston, USA, v. 63, n. 3, p.694-702, 2022. doi: 10.1080/10428194.2021.1992756. Epub 2021 Oct 25. PMID: 34689695.

WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2024. (**WHO classification of tumours series**, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>.

ZEIDAN AM, SHALLIS RM, WANG R, DAVIDOFF A, MA X. Epidemiology of myelodysplastic syndromes: Why characterizing the beast is a prerequisite to taming it. **Blood Rev**, New Haven, USA, v.34, p.1-15, 2019. doi: 10.1016/j.blre.2018.09.001. Epub 2018 Sep 21. PMID: 30314642.