

Observaciones relacionadas con los métodos diagnósticos ideales en el paciente con leucemia mieloide aguda

Cruz-Santana LC, Garza-Ledezma MA, Méndez-Ramírez N, Cárdenas-Araujo D, Gómez-Almaguer D

Resumen

La leucemia mieloide aguda es un trastorno clonal heterogéneo de las células madre hematopoyéticas; en la actualidad es la leucemia aguda más común en adultos. La mediana de edad en población de raza blanca de Estados Unidos es de 67 años en el momento del diagnóstico; sin embargo, la mediana de edad en México se ha reportado entre 32 y 44 años. El diagnóstico se sospecha con los síntomas de los pacientes o con los resultados de la biometría hemática. No obstante, se necesita realizar una serie de estudios para confirmar el diagnóstico de esta enfermedad. En las últimas décadas, el inmunofenotipo por citometría de flujo, los marcadores citogenéticos y los moleculares adquirieron importancia y se convirtieron en herramientas de diagnóstico y seguimiento, así como de gran valor pronóstico en la leucemia mieloide aguda.

PALABRAS CLAVE: leucemia mieloide aguda, inmunofenotipo por citometría de flujo, aspirado de médula ósea, hibridación fluorescente *in situ*.

Rev Hematol Mex. 2016 July;17(3):187-194.

Optimal diagnostic methods in patients with acute myelogenous leukemia.

Cruz-Santana LC, Garza-Ledezma MA, Méndez-Ramírez N, Cárdenas-Araujo D, Gómez-Almaguer D

Abstract

Acute myeloid leukemia is a heterogeneous clonal disorder originated from the hematopoietic progenitor cells and is currently considered the most common acute leukemia in adults. Median age at diagnosis among white population from the USA is 67 years. However, the median age in Mexico has been reported to be between 32-44 years. Diagnosis can be suspected by the clinical manifestations of the patients or by the results of a complete blood account. Nevertheless, a series of studies is required to confirm the diagnosis of acute myeloid leukemia. In the last decades, immunophenotyping by flow cytometry, and cytogenetics and molecular markers have acquired great importance and have become tools for diagnosis and follow-up, as well as for prognostic evaluation for acute myeloid leukemia.

KEYWORDS: acute myeloid leukemia; immunophenotype by flow cytometry; bone marrow aspiration; *in situ* fluorescent hybridization

Servicio de Hematología, Hospital Universitario Dr. José E González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.

Recibido: diciembre 2015

Aceptado: marzo 2016

Correspondencia

Dr. David Gómez Almaguer
dgomezalmaguer@gmail.com

Este artículo debe citarse como

Cruz-Santana LC, Garza-Ledezma MA, Méndez-Ramírez N, Cárdenas-Araujo D, Gómez-Almaguer D. Observaciones relacionadas con los métodos diagnósticos ideales en el paciente con leucemia mieloide aguda. Rev Hematol Mex. 2016 julio;17(3):187-194.

ANTECEDENTES

La leucemia mieloide aguda es un trastorno clonal heterogéneo de las células madre hematopoyéticas y es una de las neoplasias más agresivas en adultos. Se caracteriza por proliferación de una gran cantidad de células anormales (blastos) en la médula ósea, que no son capaces de diferenciarse en granulocitos o monocitos funcionales.¹ Los defectos citogenéticos, genéticos o ambos son factores pronóstico de importancia primordial. Entre los factores de riesgo de leucemia mieloide aguda se incluyen exposición a radiación, benceno y quimioterapia.²

Epidemiología

La incidencia de la leucemia mieloide aguda en adultos en Estados Unidos y en Reino Unido varía de 4-5 casos por cada 100,000 habitantes al año.^{3,4} Datos similares se reportaron en un estudio italiano en 2006.⁵ La Sociedad Americana de Cáncer estima que habrá 19,950 casos nuevos en 2016. En México la información con la que contamos no es óptima.

En la actualidad, por lo menos en Estados Unidos y otros países industrializados de occidente, se considera que la leucemia mieloide aguda es la leucemia aguda más común en adultos; tiene predominio ligeramente mayor en hombres que en mujeres^{3,4} y reporta un pico en ancianos;⁶ en contraste con los niños, en los que sólo aparece en 10% de menores de 10 años. La mediana de edad en población de raza blanca de Estados Unidos, reportada en la base de datos de *Surveillance, Epidemiology and End Results*, es de 67 años al diagnóstico;³ mientras que en un estudio de Suecia, la mediana de edad fue de 72 años.⁷ En México, la información es escasa; sin embargo, la leucemia linfoblástica es al menos igual de frecuente que la leucemia mieloide aguda.

En un estudio realizado en el Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González, de la Universidad Autónoma de Nuevo León y recientemente enviado a publicación, con 500 pacientes con leucemia mieloide aguda, originarios de varios puntos del país, la mediana de edad fue de 43 años. Otro estudio retrospectivo, realizado en el centro del país, mostró una mediana de 44 años.⁸ En otro estudio del norte del país, en el que se incluyeron 132 pacientes, se obtuvo una mediana de 32 años;⁶ en éste se incluyeron pacientes pediátricos, lo que explica la mediana de edad.

Diagnóstico

Las manifestaciones clínicas de los pacientes (fatiga, debilidad, fiebre, gingivorragia, petequias, equimosis, pérdida de peso), las alteraciones en los valores de la biometría hemática (neutropenia, anemia o trombocitopenia) o ambas son suficientes para sospechar leucemia mieloide aguda y esto justifica realizar aspirado de médula ósea; sin embargo, el diagnóstico debe confirmarse con otros estudios.

En la actualidad existen diferentes métodos diagnósticos. En las últimas décadas, el inmunofenotipo por citometría de flujo adquirió importancia, así como los marcadores citogenéticos y moleculares, que también son útiles para establecer el pronóstico.⁸

Morfología

Los criterios morfológicos son la herramienta inicial para realizar el diagnóstico de leucemia mieloide aguda. El aspirado de médula ósea se ha convertido en el estudio de rutina en la valoración de esta enfermedad debido a que con la muestra obtenida puede realizarse la evaluación morfológica, citoquímica, inmunofenotipo y perfil citogenético-molecular. Algunos expertos consideran a la toma de biopsia de hueso-médu-

la ósea opcional, más que una necesidad.⁹ Este procedimiento puede ser útil cuando el aspirado de médula ósea con aguja es infructuosa o seca.

Los frotis de sangre periférica o de médula ósea se analizan bajo el microscopio para el estudio morfológico y se requiere la visualización de 20% o más de blastos para establecer el diagnóstico de leucemia mieloide aguda cuando ocurre *de novo* o cuando evoluciona de un síndrome o neoplasia mielodisplásica previamente diagnosticado, usando los criterios de la Organización Mundial de la Salud,¹⁰ cambio importante, porque antes, con los criterios franco-americano-británicos se requería al menos 30% de blastos. Cuando se detectan anomalías genéticas, como t(8;21), inv(16), t(16;16) o t(15;17), el diagnóstico se realiza sin importar el recuento de blastos.¹¹ Siempre que sea posible, el porcentaje de blastos debe derivar de la cuenta de 200 células nucleadas cuando el frotis sea de sangre periférica y de 500 células nucleadas cuando sea de médula ósea. De acuerdo con el Grupo Cooperativo Franco-American-Británico, la leucemia mieloide aguda se clasifica en subtipos, que van del M0 al M7, según el tipo celular del que derivaron las células neoplásicas y el grado de madurez que tengan al observarse bajo el microscopio (Cuadro 1).

Citometría de flujo

Una vez confirmada la existencia de blastos en los frotis de sangre periférica o de médula ósea, se procede a realizar la citometría de flujo, idealmente con ocho colores para asignar el linaje del que proceden estas células.¹²

La citometría de flujo constituye el método diagnóstico de elección en el immunofenotipaje de leucemias, entre ellas la leucemia mieloide aguda, porque realiza un análisis multiparamétrico de las células de manera rápida, sencilla y específica, lo que permite identificar en una

Cuadro 1. Clasificación de la leucemia mieloide aguda según el Grupo Cooperativo Franco-American-Británico

Subtipo	Nombre
M0	Leucemia mieloide aguda indiferenciada
M1	Leucemia mieloide aguda con maduración mínima
M2	Leucemia mieloide aguda con maduración
M3	Leucemia promielocítica aguda
M4	Leucemia mielomonocítica aguda
M4eos	Leucemia mielomonocítica aguda con eosinofilia
M5	Leucemia monocítica aguda
M6	Leucemia eritroide aguda
M7	Leucemia megacarioblástica aguda

Los subtipos M0-M5 inician en formas inmaduras de glóbulos blancos. El M6 deriva de formas inmaduras de glóbulos rojos, mientras que M7 se inicia de células inmaduras que producen plaquetas.

muestra diferentes subpoblaciones celulares, incluso cuando están escasamente representadas.¹³ Según el linaje (fenotipo) de las células, se realizan más pruebas para establecer el diagnóstico definitivo.

En la actualidad está disponible una gran variedad de anticuerpos monoclonales para usar en la citometría de flujo.¹² Los marcadores en la leucemia mieloide aguda (Euroflow) son: CD4, CD7, CD11b, CD13, CD14, CD15, CD16, CD33, CD34, CD36, CD45, CD41, CD61, CD56, CD64, CD71, CD105, CD117, IREM2 (CD300c), HLA-DR y mieloperoxidasa citoplasmática;¹⁴ además de un panel de cribado ALLOT inicial (CD3c, CD3s, CD7, CD19, CD34, CD45, MPOc, CD79acy).

Marcadores como eCD45, CD38 y HLA-DR se utilizan ampliamente por su expresión en diferentes subtipos celulares. Sólo algunos marcadores aparecen en uno o dos linajes celulares, como es el caso del CD7, que está en los linfo-

citos T, CD19 encontrado normalmente en los linfocitos B y CD56 de células NK.¹²

No existe consenso del punto de corte para considerar leucemia aguda positiva para un marcador; sin embargo, se usa el criterio de 20% o más de células que expresen el marcador para considerarlo positivo; mientras que en ciertos marcadores, como CD3, MPO, TdT, CD34 y CD117 citoplasmáticos, se requiere sólo 10%.⁹

El inmunofenotipo específico de las células anormales, establecido al momento del diagnóstico, será útil en el seguimiento después del tratamiento y la detección de enfermedad mínima residual. Los resultados de la citometría de flujo, en conjunto con los obtenidos por análisis morfológico, favorecen un diagnóstico y clasificación más precisa de la leucemia mieloide aguda. Cuando las células neoplásicas no expresan CD34, HLA-DR ni CD15 y además se observa un patrón de dispersión alto, aumenta la posibilidad de leucemia promielocítica aguda; sin embargo, para el diagnóstico definitivo, esto debe correlacionarse, de preferencia, con los resultados citogenéticos y moleculares.¹²

Citogenética

La médula ósea es el espécimen preferido para detectar anomalías citogenéticas. Idealmente, las muestras deben tomarse antes del tratamiento. La mayor parte de los laboratorios solicitan 1-3 mL de médula, de preferencia del primer aspirado del procedimiento, para almacenarla en un tubo con heparina. La muestra puede mantenerse a temperatura ambiente por 24 a 48 horas; incluso puede guardarse por 3 a 4 días a temperatura de 4°C.¹⁵ Un mínimo de 20 metafases se consideran mandatorias para establecer el diagnóstico de cariotipo normal y se recomienda para definir un cariotipo anormal. Los estudios citogenéticos son un análisis obligatorio en la evaluación diagnóstica, porque las anormalidades cromosómicas se

detectan incluso en aproximadamente 55% de los adultos con leucemia mieloide aguda.⁹ En análisis multivariados en los que se incluyeron edad, cantidad de leucocitos y tipo de leucemia (*de novo* o secundaria), se observó que el cariotipo al diagnóstico es el factor pronóstico independiente más importante en la leucemia mieloide aguda.^{16,17}

La información obtenida mediante citogenética convencional, que se reporta dos a tres semanas después de la toma de la muestra es de gran valor clínico y se ha utilizado para categorizar a grupos de pacientes, de acuerdo con el riesgo que las mutaciones cromosomales les confieren, lo que causa repercusión en el esquema de tratamiento. Por este motivo, la rápida y confiable identificación de alguna mutación cromosómica es de vital importancia en el tratamiento clínico que se le dará al paciente. Basados en los resultados de sus estudios clínicos, el *Southwest Oncology Group* (SWOG),¹⁴ el *Medical Research Council* (MRC)¹⁶ y el *Cancer and Leukemia Group B* (CALGB)¹⁸ elaboraron clasificaciones de riesgo citogenético, mismas que aunque distintas, coinciden en ciertos aspectos. Cada una de ellas reconoce tres grandes grupos de pacientes: los de riesgo favorable, riesgo intermedio y riesgo desfavorable.

La asignación precisa de los pacientes en los diferentes grupos de riesgo con respecto a los resultados citogenéticos varía de acuerdo con el grupo de estudio clínico que lo asigna; sin embargo, la leucemia mieloide aguda con múltiples mutaciones citogenéticas (tres o más), referida como cariotipo complejo, universalmente se considera desfavorable.¹⁹ Un cariotipo normal en pacientes con leucemia mieloide aguda tiene frecuencia de 40-50%²⁰ y suele representar al grupo de riesgo leve e intermedio regularmente. Se ha sugerido que los pacientes jóvenes con leucemia mieloide aguda tienen mayor probabilidad de tener anormalidades favorables, como

inv(16) y t(8;21).²¹ Los adultos mayores tienen peor pronóstico en todos los grupos de riesgo y sólo un porcentaje pequeño pertenece al grupo de bajo riesgo, aunque en esto se excluye a la leucemia promielocítica.²²

Hibridación fluorescente *in situ* (FISH)

Este procedimiento es similar a la citogenética convencional. Usa tintes fluorescentes especiales que sólo se adhieren a genes específicos o partes de cromosomas particulares y las muestras pueden ser de sangre periférica o médula ósea, sin necesidad de cultivar las células, lo que permite obtener resultados con mayor rapidez. Es muy útil en el diagnóstico al identificar anomalías cromosómicas sutiles que no pudieron detectarse por citogenética convencional o cuando el frotis en metafase no es adecuado en términos morfológicos para el estudio, por ejemplo, algunos casos de t(15;17) o reordenamientos comunes como inv(16) o MLL, lo que puede cambiar la clasificación, las opciones del tratamiento o ambas.²³

En un estudio realizado en Israel, en 2011,²⁴ se reportó que detectar una alteración en TP53 por hibridación fluorescente *in situ* en pacientes con cariotipo complejo representaba un pronóstico muy malo.

En general, la hibridación fluorescente *in situ* se correlaciona bien con las anomalías detectadas por citogenética convencional. Existe alguna evidencia que algunos rearreglos comunes, como inv(16) o MLL, pueden pasar inadvertidos en la citogenética convencional, pero se detectan en la hibridación fluorescente *in situ*.²³ El Eastern Collaborative Oncology Group comparó estudios por citogenética convencional con hibridación fluorescente *in situ* en 237 muestras de pacientes con leucemia mieloide aguda y demostró que un panel para detectar monosomía del 5 o pérdida del 5q, monosomía del 7 o pérdida del 7q,

trisomía 8, t(8;21), t(9;22), MLL, t(15;17), inv(16)-t(16;16) tenía concordancia de 87 a 100%.²⁵

Esto deja en evidencia que la hibridación fluorescente *in situ* también puede tener valor predictivo al momento del diagnóstico. Este estudio es sumamente útil para definir entidades específicas e incluso en la determinación de riesgo citogenético.

Estudio molecular

Los grupos de riesgo clasificados mediante citogenética no pueden predecir la respuesta al tratamiento por sí solos; es aquí donde entran los marcadores moleculares.²⁶ Entre ellos se encuentran las mutaciones genéticas y la expresión desregulada de genes. La gran importancia del estudio molecular se debe a que, además de evaluar la respuesta al tratamiento, ha permitido crear nuevas estrategias terapéuticas. Por tanto, como recomendación, debe realizarse un estudio molecular en cada paciente recién diagnosticado con leucemia mieloide aguda.²⁷

La utilización de la reacción en cadena de la polimerasa relacionada con transcriptasa inversa tiene la ventaja de requerir poco tiempo para obtener los resultados y no necesita que las células se dividan. Los genes de fusión formados en t(8;21) e inv(16) pueden detectarse por este estudio o por hibridación fluorescente *in situ*, lo que indicará la existencia de estas alteraciones genéticas en pacientes en los que la citogenética convencional es técnicamente inadecuada.²⁸

En la última década se han detectado mutaciones en diversos genes en leucemia mieloide aguda con citogenética normal: en el gen de la nucleofosmina 1 (NPM1), gen de la tirosina cinasa 3 similar a fms (FLT3), gen de la proteína CEBPA (por sus siglas en inglés: CCAAT/enhancer binding protein alpha), gen de la histona-lisina

N-metiltransferasa HRX (MLL) y el oncogén neuroblastoma RAS viral (NRAS),²⁹ lo que puede cambiar el pronóstico de la enfermedad. De éstos, el más común en leucemia mieloide aguda es la mutación en FLT3.

Las mutaciones FLT3 pueden ocurrir en dos módulos funcionales: el dominio yuxtamembrana y en la tirosina cinasa, el primero es más común por duplicación interna en tandem (FLT3-ITD).³⁰ El FLT3/ITD se ha visto implicado con frecuencia mayor de 35% en pacientes mayores de 55 años diagnosticados con leucemia mieloide aguda; disminuye a 20% en pacientes jóvenes y a 5-10% en pacientes pediátricos.³¹

Respecto a Latinoamérica, en un estudio reciente, en el que se incluyeron 138 pacientes con leucemia mieloide aguda de México y Colombia, la mutación FLT3/ITD se reportó en 20% de la población.³² Lucena-Araujo y su grupo, en Brasil, observaron prevalencia de FLT3/ITD de 24% en 169 pacientes.³³ Varios estudios demostraron que la existencia de FLT3-ITD es un factor pronóstico desfavorable en la leucemia mieloide aguda,³⁴ mientras que la existencia de FLT3-TKD se asocia con mayor supervivencia.³⁵

La clasificación de *The European LeukemiaNet* divide a los pacientes en cuatro grupos de riesgo e integra los resultados citogenéticos y moleculares (Cuadro 2).

Diagnóstico en un país con recursos limitados

En México es necesario tener creatividad para ofrecer al paciente el máximo de recursos, decidir la conducta terapéutica y establecer el pronóstico. El mínimo podría ser: morfología, citoquímica con peroxidasa y esterasas, además de citogenética. En nuestra institución siempre tratamos de ofrecer morfología, citometría de flujo, citogenética y, en casos selectos, hibridación fluorescente *in situ* o reacción en cadena de

la polimerasa para el gen PML-RAR (cuando se sospecha M3). Cuando la economía lo permite, determinar FTL3 es importante. En México se han efectuado guías diagnósticas¹¹ y en la leucemia mieloide aguda, la manera de realizar el diagnóstico en el Instituto Mexicano del Seguro Social se basa en: examen de frotis de sangre periférica y de médula ósea para estudio morfológico, inmunofenotipo de multiparámetros (3-4 colores) por citometría de flujo con los marcadores mencionados, citoquímica con tinción de mieloperoxidasa, Sudán negro, estereasa combinada y tinción de ácido peryódico de Schiff cuando no se dispone de inmunofenotipo.

La citogenética convencional es obligada en la evaluación, debido a que se detectan alteraciones en 55% de los adultos con leucemia mieloide aguda. Otros exámenes de laboratorio y gabinete que complementan el diagnóstico son: biometría hemática completa, química sanguínea, pruebas de función hepática, electrólitos séricos, ácido úrico, tiempos de coagulación, fibrinógeno, dímero D, serología de citomegalovirus, herpes, radiografía de tórax, electrocardiograma, fracción de eyección cardiaca con antecedente de cardiopatía y punción lumbar en pacientes sintomáticos.

CONCLUSIONES

México es un país con epidemiología diferente a lo reportado en la bibliografía internacional. La mediana de edad es menor y la variante que predomina es la M3. No conocemos con certeza la frecuencia de las alteraciones citogenéticas o moleculares debido, en muchas ocasiones, a la falta de recursos.

Aunque la morfología ha sido el método de evaluación del diagnóstico y de la respuesta al tratamiento, actualmente la citogenética y el riesgo molecular son importantes, por no decir indispensables, para decidir el futuro del pacien-

Cuadro 2. Clasificación de la *European LeukemiaNet*, que correlaciona resultados citogenéticos y moleculares con resultados clínicos

Grupos de riesgo según su estudio citogenético y molecular			
Favorable	Intermedio I	Intermedio II	Adverso
t(8;21) inv(16) o t(16;16)	Pacientes con cariotipo normal y mutación de FLT3-ITD	Cariotipo normal +8 t(9;11)	Cariotipo complejo (3 o más mutaciones), monosomías o ambos -5 o del(5q) -7q 11q23 no t(9;11) Inv(3) o t(3;3) t(6;9)
Cariotipo normal con mutación de NPM1 en ausencia de FLT3- ITD			
Cariotipo normal con mutación de CEBPA			

te, al elegir el mejor tratamiento, pronóstico y vigilancia.²⁶ Por lo mencionado, se recomienda realizar estos estudios siempre que sea posible.

REFERENCIAS

- Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. 1997;3:730-737.
- Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet* 2006;368:1894-1907.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Disponible en: <http://seer.cancer.gov/stafacts/html/amyl.html>
- Cancer Research UK. Disponible en: <http://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/leukaemia-aml#heading-Zero> [Accessed June 2016].
- Deschler B, Lübbert M. Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer* 2006;107:2099-2107.
- Jaime-Pérez JC, Brito-Ramirez AS, Pinzon-Uresti MA, et al. Characteristics and clinical evolution of patients with acute myeloblastic leukemia in northeast Mexico: an eight-year experience at a university hospital. *Acta Haematol* 2014;132:144-151.
- Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, et al. Age and acute myeloid leukemia: a real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood* 2014;113:4179-4187.
- Buitrón-Santiago N, Arteaga-Ortiz L, Rosas-López A, et al. Experiencia del INCMNSZ en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda. Cohorte 2003-2008. *Rev Investig Clin* 2010;62:100-108.
- Döhner H, Estey E, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010;115:453-474.
- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: Rationale and important changes. *Blood* 2009;114:937-951.
- Aguilar LB, De León RE, Pérez U, Montaño EH y col. Guía de Práctica Clínica de Diagnóstico y Tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, 2010.
- Peters JM, Ansari MQ. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:44-54.
- Juárez-Velázquez R, Pérez-Vera P. Citometría de flujo en la evaluación de enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica aguda. *Acta Pediatr Mex* 2012;33:198-206.
- Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood* 2009;96:4075-4083.
- Morrisette JJ, Bagg A. Acute myeloid leukemia: conventional cytogenetics, FISH, and moleculocentric methodologies. *Clin Lab Med* 2011;31:659-686.
- Grimwade D, Walker H, Oliver F, et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1, 612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The medical research council adult and children's leukaemia working parties. *Blood* 1998;92:2322-2333.
- Grimwade D, Walker H, Harrison G, et al. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood* 2001;98:1312-1320.
- Byrd JC, Mro K, Dodge RK, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia : results

- from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood* 2002;100:4325-4336.
- 19. Breems DA, Van Putten WLJ, De Greef GE, et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: A better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol* 2008;26:4791-4797.
 - 20. Mrózek K, Döhner H, Bloomfield CD. Influence of new molecular prognostic markers in patients with karyotypically normal acute myeloid leukemia: recent advances. *Curr Opin Hematol* 2007;14:106-114.
 - 21. Lazarevic V, Hörstedt AS, Johansson B, et al. Incidence and prognostic significance of karyotypic subgroups in older patients with acute myeloid leukemia: the Swedish population-based experience. *Blood Cancer J*. 2014;4:88. doi: 10.1038/bcj.2014.10.
 - 22. Wahlin A, Markevärn B, Golovleva I, Nilsson M. Prognostic significance of risk group stratification in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Br J Haematol* 2001;115:25-33.
 - 23. Fröhling S, Kayser S, Mayer C, et al. AML Study Group Ulm. Diagnostic value of fluorescence *in situ* hybridization for the detection of genomic aberrations in older patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2005;90:194-199.
 - 24. Tavor S, Rothman R, Golan T, et al. Predictive value of TP53 fluorescence *in situ* hybridization in cytogenetic subgroups of acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2011;52:642-647.
 - 25. Vance GH, Kim H, Hicks GA, et al. Utility of interphase FISH to stratify patients into cytogenetic risk categories at diagnosis of AML in an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) clinical trial (E1900). *Leuk Res* 2007;31:605-609.
 - 26. Khaled S, Al-Malki M, Marcucci G. Acute myeloid leukemia: biologic, prognostic and therapeutic insights. *Oncology* 2016;30:318-329.
 - 27. Döhner K, Döhner H. Molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2008;93:976-982.
 - 28. Mrózek K, Prior TW, Edwards C, et al. Comparison of cytogenetic and molecular genetic detection of t(8;21) and inv(16) in a prospective series of adults with de novo acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 2001;19:2482-2492.
 - 29. Mrózek K, Marcucci G, Paschka P, Whitman SP, Bloomfield CD. Clinical relevance of mutations and geneexpression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? *Blood* 2007;109:431-448.
 - 30. Cuervo-Sierra J, Jaime-Pérez JC, Gómez-Almaguer D. Mutaciones del módulo FLT3 en leucemia aguda mieloblástica. *Rev Hematol Mex* 2012;13:177-184.
 - 31. Meshinchi S, Alonso TA, Stirewalt DL, et al. Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML. *Blood* 2006;108:3654-3661.
 - 32. Cuervo-Sierra J, Jaime-Pérez JC, Martínez-Hernández RA, et al. Prevalence and clinical significance of FLT3 mutation status in acute myeloid leukemia patients in two Latin American countries: a multicenter study. *Arch Med Res* 2016.
 - 33. Lucena-Araujo AR, Souza DL, Morato de Oliveira F, et al. Results of FLT3 mutation screening and correlations with immunophenotyping in 169 Brazilian patients with acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2010;89:225-228.
 - 34. Schnittger S, Schoch C, Dugas M, et al. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. *Blood* 2002;100:59-66.
 - 35. Mead AJ, Linch DC, Hills RK, et al. FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2007;110:1262-1270.