

https://doi.org/10.24245/rev_hematol.v22i3.6962

Gen *FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3)*: de la biogénesis a la práctica médica

FMS-like tyrosine kinase 3 (*FLT3*) gene: From the biogenesis to the medical practice.

Heidys Garrote-Santana

Resumen

El gen *FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3)* codifica para un receptor indispensable en el desarrollo, proliferación y supervivencia de las células hematopoyéticas. Este artículo describe las características biológicas del gen, el funcionamiento normal y patológico de la proteína y las principales mutaciones de interés en la práctica médica. El *FLT3* se localiza en el cromosoma 13 y está constituido por 24 exones. La síntesis de la proteína y la activación posterior dependen de diferentes procesos celulares y del *FLT3* ligando. Entre las alteraciones más importantes del gen destacan por su frecuencia e implicación en el pronóstico de las enfermedades, la duplicación interna en tándem en la región codificante del dominio yuxtamembrana (*FLT3-ITD*) y las mutaciones puntuales en el dominio tirosina cinasa (*FLT3-TKD*). Estas mutaciones son de especial interés para la toma de decisiones terapéuticas en la leucemia mieloide aguda. La alteración *FLT3-ITD* está descrita hasta en un 25% de los pacientes con leucemia mieloide aguda y constituye un predictor independiente de mal pronóstico y mayor riesgo de recaída. El cociente alélico (AR) *FLT3-ITD*, que refleja la carga leucémica, tiene un papel significativo, donde el $AR < 0.5$ o ≥ 0.5 define categorías de pronóstico. En lo referente a los esquemas terapéuticos, los ensayos clínicos con inhibidores de la proteína *FLT3*, dirigidos a las mutaciones *FLT3-ITD* y a las *FLT3-TKD*, han abierto una puerta a la medicina de precisión en la leucemia mieloide aguda; sin embargo, aún quedan obstáculos por superar, como la toxicidad, especificidad y la resistencia en el paciente.

PALABRAS CLAVE: gen *FMS-like tyrosine kinase 3*; leucemia mieloide aguda.

Abstract

The *FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3)* gene encodes an essential receptor in the development, proliferation and survival of hematopoietic cells. This article describes the biological characteristics of the gene, the normal and pathological functioning of the protein, and the main mutations of interest in medical practice. *FLT3* is located on chromosome 13 and is made up of 24 exons. Protein synthesis and subsequent activation depend on different cellular processes and the *FLT3* ligand. Among the most important alterations of the gene, the internal tandem duplication in the coding region of the juxtamembrane domain (*FLT3-ITD*) and point mutations in the tyrosine kinase domain (*FLT3-TKD*). These mutations are of special interest for making therapeutic decisions in acute myeloid leukemia (AML). The *FLT3-ITD* alteration is described in up to 25% of patients with acute myeloid leukemia and is an independent predictor of poor prognosis and increased risk of relapse. The allelic ratio (AR) *FLT3-ITD*, which reflects the leukemic burden, has a significant role, where the $AR < 0.5$ or ≥ 0.5 defines prognostic categories. Regarding therapeutic regimens, clinical trials with inhibitors of the *FLT3* protein, targeting both *FLT3-ITD* and *FLT3-TKD* mutations, have opened a door to precision medicine in acute myeloid leukemia, however, there are still obstacles to overcome such as toxicity, specificity and resistance in the patient.

KEYWORDS: *FMS-like tyrosine kinase 3*; Acute myeloid leukemia.

Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.

Recibido: 11 de octubre 2021

Aceptado: 25 de octubre 2021

Correspondencia

Heidys Garrote Santana
hgarrotesantana@gmail.com

Este artículo debe citarse como:
Garrote-Santana H. Gen *FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3)*: de la biogénesis a la práctica médica. Hematol Méx 2021; 22 (3): 162-174.

ANTECEDENTES

Los receptores de tirosina cinasa constituyen un grupo importante de mediadores de la señalización extracelular. El genoma de los mamíferos codifica para 56 receptores de tirosina cinasa que, según su estructura, pueden subdividirse en 20 familias diferentes.¹⁻⁴

CARACTERÍSTICAS DEL GEN *FLT3*

El gen *FMS-like tyrosine kinase 3* (tirosina cinasa similar a FMS [*FLT3*]) humano fue clonado a partir de un grupo de células pre-B en 1993⁵ de un reservorio de células madre hematopoyéticas CD34⁺⁶ y se mapeó en el cromosoma 13q12.⁷ Este gen consta de 24 exones (aproximadamente 3848 pb). El ADN genómico que abarca todo el gen tiene más de 97 kb de longitud. Un codón de iniciación de la traducción está en la segunda mitad del primer exón. El péptido señal está codificado por los dos primeros exones. Los dominios extracelulares similares a una inmunoglobulina (S-Ig) están codificados por los exones 3-12. El exón 13 codifica el dominio transmembrana. Las regiones intracelulares, incluido el dominio yuxtmembrana y el dominio cinasa, están codificadas principalmente por los exones 14-23 y en parte por el exón 24.¹ **Figura 1A**

CARACTERÍSTICAS DE LA PROTEÍNA *FLT3*

El *FLT3* humano codifica para una proteína de igual nombre. La proteína FLT3 comparte la estructura con las otras proteínas receptoras de tirosina cinasa de tipo III, caracterizadas por un dominio de cinasa interrumpido por un llamado "inserto de cinasa" en la región intracelular y cinco dominios S-Ig en la parte extracelular. El dominio extracelular ocupa más de la mitad de la proteína donde se encuentra la región transmembrana entre los aminoácidos (aa) 542 y 564. La parte extracelular comienza con un péptido señal de 26 aa de longitud. El resto del dominio

extracelular consta de cinco líneas principales S-Ig de tamaño similar.¹

El dominio de cinasa está entre los 610 y 944 aa y también incluye el inserto de quinasa de 50 aa. La región entre el dominio transmembrana y el dominio cinasa se conoce como dominio yuxtmembrana. Por último, el dominio intracelular termina con la cola COOH-terminal que tiene 50 aa de largo.¹ **Figura 1B**

EXPRESIÓN DEL GEN *FLT3*

El *FLT3* humano se expresa predominantemente en poblaciones de células madre y progenitoras hematopoyéticas (tanto de linaje mieloide como

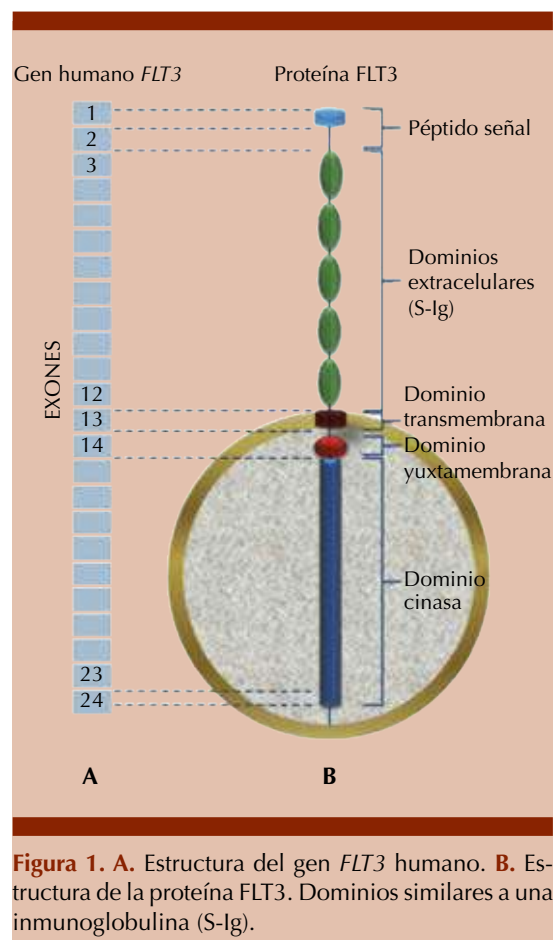


Figura 1. A. Estructura del gen *FLT3* humano. **B.** Estructura de la proteína FLT3. Dominios similares a una inmunoglobulina (S-Ig).

linfoide) La expresión del *FLT3* está ausente en líneas celulares maduras mieloides, eritroides, en los mastocitos, en los macrófagos y los megacariocitos murinos.⁸⁻¹⁶ El análisis del ARN secuenciado identificó ARN mensajero (ARNm) de *FLT3* en varios órganos: el apéndice, la médula ósea, los ganglios linfáticos y el bazo.¹⁷

En las células progenitoras hematopoyéticas quiescentes hay una expresión débil del *FLT3* en una pequeña fracción de ellas, con una reducción marcada en la medida que avanza la diferenciación de éstas.¹⁸ En la médula ósea y las células de la sangre de cordón umbilical, la mayor parte de las células CD34+ expresan *FLT3*.^{19,20} La expresión alcanza sus niveles más altos en células pre-B y progenitores de unidades formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos. Después de una mayor diferenciación de esas células, la expresión de *FLT3* desaparece, excepto en una subpoblación de monocitos.¹⁹

REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DEL GEN *FLT3*

Los dominios reguladores, que están altamente conservados entre humanos y ratones, se identifican cerca del sitio de inicio de la transcripción.^{21,22} El factor de transcripción MEIS1 fue el primer regulador transcripcional del *FLT3* que se describió en un modelo murino de leucemia mieloide aguda.²³ MEIS1 se coexpresa con HOXA9 en la leucemia y probablemente sea necesario para el alojamiento y la supervivencia de las células madre leucémicas en el nicho hematopoyético.²³

Estudios posteriores identificaron a PBX como un regulador transcripcional de *FLT3*^{21,22} y recientemente se descubrió que la interacción PBX3/MEIS1 es crucial para la transcripción del *FLT3*.²⁴ Además, se identificó que HOXA9 interactúa con MEIS1, lo que supone una necesaria

formación del complejo MEIS1/PBX /HOXA9 para la activación completa de la transcripción de *FLT3*.²⁵

El factor de transcripción CCAAT/proteína de unión potenciadora alfa (*CEBPA*) participa en el desarrollo de neutrófilos y granulocitos, pero puede actuar como supresor de tumores en el sistema hematopoyético y puede estar mutado en la leucemia mieloide aguda.^{26,27} Si bien el agotamiento de la expresión de *CEBPA* conduce a la disminución de la expresión de *FLT3*, paradójicamente la sobreexpresión de *CEBPA* lleva una inhibición transcripcional masiva del gen,²² lo que sugiere que la regulación transcripcional se mantiene estrictamente por los umbrales de actividad de *CEBPA*.¹

Otro factor que regula la transcripción del *FLT3* es el oncogén *MYB*, que está implicado en varias neoplasias malignas hematológicas, como la leucemia mieloide aguda, la leucemia mieloide crónica) y la leucemia linfoblástica T (LLA-T); tiene un papel importante en el mantenimiento de las células madre hematopoyéticas. El agotamiento o la sobreexpresión de *MYB* provocan cambios en las concentraciones del ARN mensajero (ARNm) del *FLT3*.²²

Además de la regulación por activación transcripcional, la expresión del *FLT3* también está influenciada por la represión transcripcional. La pérdida de la expresión de la caja 5 pareada (PAX5) potencia la expresión del *FLT3*.²⁸

Los sitios de unión del factor de transcripción en el promotor *FLT3* se han mapeado con precisión para varios factores de transcripción identificándose tres regiones que rodean el sitio de inicio de la transcripción a 15.3 kb (A), 0.37 kb (B) y 6.2 kb (C).²²

La ocupación por diferentes factores de transcripción se ha estudiado principalmente en células

de ratón, donde MEIS1, HOX9A, y PBX1 se unen a la región A, mientras que CEBPA y MYB se asocian con las regiones A y C;^{21,22} no obstante, MYC, el regulador fundamental de la transcripción y PBX2 no se asocian con el promotor *FLT3*.²¹ Si bien la mayor parte de los activadores transcripcionales se identificaron en ratones, es probable que el *FLT3* humano también esté regulado de manera similar.¹

REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA PROTEÍNA FLT3

La proteína FLT3 sufre varias modificaciones postraduccionales. El péptido de 993 aa de longitud tiene un tamaño de proteína central de 110 kDa; sin embargo, debido a la glicosilación masiva ligada al dominio extracelular, la proteína FLT3 se muestra como dos bandas de mayor peso molecular: la de 132/143 kDa que representa a la proteína parcialmente glicosilada y otra banda de 155/158 kDa que constituye la forma madura completamente glicosilada.^{29,30}

La glicosilación se produce en dos pasos. Posterior a la traducción, FLT3 ingresa al retículo endoplasmático donde tiene lugar una glicosilación parcial para formar el receptor inmaduro. En el segundo paso, se procesa a nivel del complejo de Golgi, donde la glicosilación final produce al receptor maduro que luego se traslada a la superficie de la célula. FLT3 tiene al menos nueve sitios de glicosilación.^{31,32}

Otras modificaciones postraduccionales incluyen la fosforilación en residuos de serina, treonina y tirosina, así como la ubiquitinación. Más de 10 residuos de tirosina se fosforilan tras la activación del receptor inducida por el ligando. Estos sitios de fosforilación están ubicados en el dominio intracelular y actúan como sitios de acoplamiento para la interacción con las proteínas de señalización, que propagan aún más la señal del receptor en la célula.^{33,34}

Las variantes de empalme de *FLT3* no se han estudiado con profundidad. Las investigaciones en ratones sugieren que existe una variante que carece del quinto dominio S-Ig³⁵ y se expresa en los tejidos de manera similar a la FLT3 de longitud completa; sin embargo, no se han realizado estudios para comparar las diversas variantes en células que expresan concentraciones fisiológicas de FLT3.¹ Hay pocos datos al respecto y debido a que la mayor parte de estas investigaciones se han realizado en células que no pertenecen a la línea celular hematopoyética no hay resultados concluyentes.

ACTIVACIÓN DE LA PROTEÍNA FLT3

Después de la traducción, la proteína FLT3 se transporta a la membrana celular. El receptor monomérico permanece inactivo hasta que el dominio extracelular interactúa con el ligando.¹

El ligando FLT3 (FLT3-L) es miembro de una pequeña familia de factores de crecimiento hematopoyético, que también incluye el factor estimulante de colonias 1 y el factor de células madre.³⁶ Esta familia de factores de crecimiento se caracteriza por expresarse como precursores unidos a la membrana que pueden escindirse proteolíticamente para liberar el ligando soluble. Los ligandos solubles y los unidos a la membrana son desde el punto de vista biológico igualmente activos para estimular a la proteína receptora (FLT3-R).¹

El estado inactivo se mantiene mediante la interacción entre el dominio yuxtamembrana y el dominio cinasa que bloquea el sitio de unión de ATP.³⁷ Por esta razón, las mutaciones que conducen a la delección o interferencia con el dominio yuxtamembrana dan como resultado la activación constitutiva del receptor.³⁸

La unión del ligando y la dimerización del receptor lleva a la liberación de esta interacción y

activación del dominio cinasa. Este mecanismo de activación es bastante distinto de los mecanismos de muchos otros receptores de tirosina cinasa. Las mutaciones que afectan el bucle de activación no conducen a defectos en la actividad de la cinasa, sino que afecta la señalización posterior.³⁹

Se ha estimado que la afinidad de unión del *FLT3-L* al *FLT3-R* está entre 200 y 500 pM usando células humanas de leucemia mieloide aguda.⁴⁰ El modo por el cual se produce la interacción es diferente de todos los demás receptores de tirosina cinasa, incluido KIT, que carece de interacciones con el receptor homotípico.³²

La unión del ligando inicia la dimerización del *FLT3* aunque el dominio extracelular no está implicado en el proceso.^{36,40} Los dominios transmembrana y yuxtamembrana son regiones que pueden facilitar las interacciones entre receptores.

La unión del ligando inicia la activación rápida de *FLT3*, posteriormente ocurren cambios estructurales significativos en el dominio intracelular. El dominio autoinhibidor yuxtamembrana se libera del dominio cinasa, haciéndolo accesible al ATP. Estos cambios inician la autofosforilación en varios residuos de tirosina. La fosforilación de tirosina del receptor se considera la activación característica.¹

El *FLT3-R* tiene la capacidad de activar múltiples moléculas que participan en procesos de control de apoptosis, proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas en la médula ósea. Se ha demostrado que el dominio citoplasmático del *FLT3-R* se asocia físicamente con las proteínas fosfolipasa C gamma 1, fosfoinositol-3-cinasa (PI3K), proteína ligada al factor de crecimiento 2 (Grb2), Shc y la familia de tirosina cinasas Src, propiciando la fosforilación de las mismas. Además, otras proteínas como VAV, CBL, Fyn y Ras también son componentes de la vía de

transducción de señal de *FLT3*.⁴¹ Se ha observado que dichas interacciones pueden modular la activación de las vías de señalización MAPK, RAS-RAF-MEK-ERK, y PI3K/Akt/mTOR.⁴²

DEGRADACIÓN DE LA PROTEÍNA FLT3

Además de la regulación mediante la fosforilación o la desfosforilación, la actividad del *FLT3-R* está estrechamente controlada por la ubiquitinación.¹ La ubiquitinación es un proceso de varios pasos mediante el cual una proteína llamada ubiquitina marca de manera postraducciona a las proteínas para la degradación.

Inicialmente se desarrolla un proceso de activación dependiente del ATP mediante una ubiquitina E1 que activa la enzima y luego se transfiere a la enzima conjugadora E2. Posteriormente la ubiquitina ligasa E3 se une a E2 y a las proteínas del sustrato al mismo tiempo y transfiere los restos de ubiquitina al residuo de lisina de la proteína del sustrato.⁴³

De las más de 600 ligasas de ubiquitina E3 codificadas por el genoma humano, se sabe que la familia de proteínas CBL constituye un mediador importante de la ubiquitinación de los receptores de tirosina cinasa (RTK).¹ La asociación de restos de ubiquitina individuales está relacionada con la internalización de los RTK y su posterior degradación en los lisosomas.⁴⁴

Después de la síntesis en el retículo endoplasmático, los RTK se transportan al aparato de Golgi y luego se envían a la membrana plasmática, donde se someten a una internalización constitutiva (endocitosis).¹

Los mecanismos de internalización del *FLT3* aún no se han estudiado, al igual que otras RTK, la proteína FLT3 se ubiquitina tras la unión del ligando y se regula rápidamente a la baja, desde la superficie celular.⁴⁵

Los datos actuales sugieren que la degradación del *FLT3* activado está mediada predominantemente por el proteosoma, aunque la degradación lisosomal es más común para otros RTK.¹

FUNCIONAMIENTO NORMAL Y PATOLÓGICO DE LA PROTEÍNA FLT3 Y SU LIGANDO

La expresión del FLT3-L humano se identificó en varios tejidos, incluidos los leucocitos de sangre periférica, bazo, timo, ovario, intestino delgado, próstata, riñón, músculo esquelético, hígado, pulmón, corazón, testículos y páncreas.^{36,46,47} Una cantidad considerable de proteína se ha encontrado principalmente en células del estroma de la médula ósea y los linfocitos T.⁴⁸ Las células endoteliales producen altas concentraciones de FLT3-L soluble, así como de FLT3-L unido a la membrana.¹

La concentración de *FLT3-L* soluble en plasma, en condiciones fisiológicas normales, varía entre 14 y 31 pg/mL, pero durante condiciones patológicas (leucemia mieloide aguda, anemia aplásica, mieloma múltiple, quimioterapia o radioterapia) puede variar más.⁴⁹⁻⁵²

La acción del FLT3-L probablemente sea paracrina en condiciones fisiológicas normales, mientras que bajo el estrés patológico pueden alcanzarse concentraciones requeridas para ejercer su acción de forma endocrina.^{1,36}

El *FLT3-R* tiene un perfil de expresión muy restringido en el entorno de la médula ósea. Las señales generadas por la activación inducida por *FLT3-L* influyen principalmente en la hematopoyesis temprana. La expresión del *FLT3-R* es necesaria para el desarrollo y la proliferación de progenitores de las células madre hematopoyéticas y las células B.^{1,10} Aunque la expresión de *FLT3-R* se pierde en la mayor parte de las células maduras, es evidente que tanto *FLT3-L* como la

proteína FLT3 intervienen en la homeostasia y el desarrollo de las células dendríticas.⁵³

El *FLT3-R* y su ligando participan en la activación de las células asesinas naturales mediadas por células dendríticas. Es probable que el *FLT3-R* desempeñe funciones importantes en la interfaz de la inmunidad innata y adquirida. Los precursores de células dendríticas plasmocitoides son células productoras de interferón tipo I y tienen un papel relevante en la inmunidad innata antiviral y en la inmunidad adaptativa.^{53,54}

MUTACIONES DEL GEN FLT3

Las mutaciones del gen *FLT3* ascienden a más de mil. La mayor parte son mutaciones de inserción en el marco de la parte que codifica para la región yuxtamembrana, conocidas como duplicaciones internas en tándem (ITD). Aunque se han identificado mutaciones ITD en regiones más amplias del dominio intracelular, desde el dominio yuxtamembrana hasta el dominio cinasa, la mayor parte ocurren en el tramo rico en tirosina desde el codón 589 al 599.^{9,12,55,56}

Las mutaciones ITD son las más comunes en la leucemia mieloide aguda y representan alrededor del 25%, mientras que las mutaciones puntuales se observan menos (7%). Las ITD se describieron por primera vez en 1996.⁵⁷

Las ITD generalmente se caracterizan por la duplicación en el marco de una parte de la región yuxtamembrana, pero no se limitan a esta región. Casi un tercio de las mutaciones ITD están al comienzo del dominio de tirosina cinasa. El tamaño de la duplicación varía de 3 a 1236 pb. Se ha debatido ampliamente si el tamaño del inserto influye en la supervivencia general de los pacientes.^{8,9,58,59}

Entre las mutaciones puntuales en el dominio tirosina cinasa (FLT3-TKD), D835X es la más

comúnmente encontrada en la leucemia mieloide aguda. D835X se encuentra en el bucle de activación del *FLT3*. Pueden identificarse varias sustituciones diferentes, como: D835Y, D835V, D835H, D835E y D835N, que dan como resultado la activación constitutiva del *FLT3* y pueden inducir la transformación celular.⁶⁰

Otras mutaciones oncogénicas del *FLT3* que ocurren con menos frecuencia en la leucemia mieloide aguda llevan a la activación constitutiva del *FLT3* y pueden apoyar la supervivencia celular independiente de citocinas.^{1,61}

Las FLT3-ITD y las FLT3-TKD expresadas en modelos de ratón conducen a la aparición de diferentes tipos de enfermedades.⁶² En modelos de trasplante de médula ósea murina, FLT3-ITD impulsa la enfermedad mieloproliferativa, mientras que FLT3-TKD induce enfermedad linfóide con una latencia significativamente más larga.⁶²

Si bien las mutaciones ITD ocurren predominantemente en el dominio yuxtamembrana (exón 14), también ocurren con menos frecuencia en la primera parte del dominio TKD (exón 15).¹ Algunos investigadores consideran que la ubicación de la ITD puede influir en la biología de la enfermedad al cambiar el patrón de expresión génica global y, por tanto, alterar la sensibilidad a los inhibidores de *FLT3*.⁶³ De manera similar, las mutaciones puntuales también ocurren en el dominio yuxtamembrana, pero con menos frecuencia que en el dominio tirosina cinasa.^{63,64}

Además del papel que tiene la FLT3-ITD en la leucemia mieloide aguda, esta alteración se identifica en la leucemia promielocítica.^{13,65} Aunque las mutaciones del *FLT3* son raras en la leucemia linfoblástica un grupo de pacientes pueden manifestarlas.^{14,66}

Además de la ITD y las mutaciones puntuales, se han identificado varios genes de fusión que

implican al *FLT3* en diferentes enfermedades hematológicas. Se describe la fusión entre el *FLT3* y el factor de transcripción *ETV6* en la enfermedad mieloproliferativa.⁶⁷ La proteína resultante tiene actividad tirosina cinasa constitutiva y capacidad proliferativa cuando se expresa en las células Ba/F3 dependientes de IL-3, lo que sugiere que ETV-FLT3 es una proteína de fusión oncogénica.⁶⁷

Los ratones transgénicos que expresan ETV-FLT3 desarrollan enfermedad mieloproliferativa. La fusión ETV-FLT3 también puede estar presente en la leucemia mielomonocítica crónica.⁶⁸ Otras fusiones de *FLT3* incluyen a GOLGB1-FLT3, descrito en la neoplasia atípica mixta linfóide/mieloide,⁶⁹ la fusión ZMYM2-FLT3 en las neoplasias mieloides con eosinofilia⁷⁰ y la fusión MYO18A-FLT3 en la leucemia mieloide crónica atípica.⁶⁸

Las mutaciones con pérdida de función en el complejo represivo Polycomb 2 (PRC2), como SUZ12, EED y EZH2, son frecuentes en la leucemia linfoblástica-T. EL PRC2 cataliza la trimetilación de la histona H3 en la lisina 27 (H3K27me3) que es fundamental para mantener la hematopoyesis normal. La mutación con pérdida de función en PRC2 da como resultado una regulación positiva de la expresión del *FLT3*, dependiente de POL II, así como la activación de *FLT3* y su vía descendente en la leucemia linfoblástica-T.⁷¹

La activación constitutiva de vías de señalización dependientes de FLT3-ITD es decisiva para la progresión de la leucemia mieloide aguda y varios estudios han demostrado los factores y vías de señalización implicadas, incluidos los ARN no codificantes (ncARN).⁷²

Estudios recientes han informado que las formaciones aberrantes de ARN circulares (circARN) son mecanismos biológicos relevantes para la tumorigénesis y posibles dianas terapéuticas.

El circARN, derivado del gen del punto de control del ciclo celular (*MYBL2*), se expresa más en pacientes con leucemia mieloide aguda positivos a FLT3-ITD que en los pacientes sin la mutación.⁷³

El circMYBL2 bloqueado inhibe específicamente la proliferación y promueve la diferenciación de las células FLT3-ITD de leucemia mieloide aguda *in vitro* e *in vivo*. El circMYBL2 influye significativamente en las concentraciones de proteína de la cinasa FLT3 mutante, que contribuye a la activación de las vías de señalización dependientes de FLT3-ITD. Mecánicamente, circMYBL2 mejora la eficiencia de traducción de la cinasa FLT3 al aumentar la unión de la proteína PTBP1 al ARN mensajero de FLT3.⁷³ Otro estudio reveló que algunos circRNA pueden regular negativamente la traducción de su gen parental.⁷⁴

EL FLT3 EN OTRAS ENFERMEDADES HUMANAS

Debido a que las células dendríticas son importantes para la respuesta inmunitaria y se sabe que son hiperactivas en enfermedades autoinmunitarias, como la artritis reumatoide, se ha sugerido la inhibición de *FLT3* como estrategia para el tratamiento de tales enfermedades.¹

El *FLT3-L* se expresa fuertemente en el sitio de la inflamación en la artritis reumatoide humana, donde actúa como proinflamatorio y también aumenta el potencial destructivo del tejido. Las células hematopoyéticas presentes en el sitio de la lesión nerviosa expresan *FLT3-L* y la activación de *FLT3-R* por inyección de *FLT3-L* en el nervio ciático es suficiente para producir hipersensibilidad al dolor, lo que sugiere que la inhibición del *FLT3* puede aliviar el dolor causado por la lesión nerviosa.⁷⁵

FLT3-ITD EN LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

La alteración FLT3-ITD está descrita hasta en un 25% de los pacientes con leucemia mieloide aguda y constituye un predictor independiente de mal pronóstico y mayor riesgo de recaída.^{12,76} El cociente alélico (AR por sus siglas en inglés) FLT3-ITD, que refleja la carga leucémica, tiene un papel significativo, donde el $AR < 0.5$ o ≥ 0.5 , define categorías pronósticas.^{12,77}

El FLT3-ITD es un marcador inestable durante la evolución de la leucemia mieloide aguda; los pacientes positivos en el momento del diagnóstico pueden volverse negativos o pueden adquirir la mutación en la recaída en el 25% y el 10% de los casos, respectivamente.² Estos datos indican que el estudio de este biomarcador debe realizarse al inicio y en el momento de la recurrencia de la enfermedad para poder proporcionar un mejor manejo terapéutico.^{76,78}

Los subclones menores de FLT3-ITD están presentes en el momento del diagnóstico inicial de la leucemia mieloide aguda, con un inmunofenotipo CD34/CD123/CD25/CD99+.⁷⁹ Estos subclones FLT3-ITD de células precursoras leucémicas (CPL) pueden expandirse cuando la enfermedad reaparece; su identificación y caracterización representan un desafío importante. Las mutaciones de *FLT3* ocurren en las células primitivas de leucemia mieloide aguda, las que constituyen impulsores tempranos de la leucemogénesis principalmente en pacientes con un cariotipo normal, mientras que posteriormente pueden ocurrir mutaciones cooperantes adicionales, que contribuyen a la progresión de la enfermedad.⁸⁰

La aparición de la FLT3-ITD puede ser un evento temprano que ocurre a nivel de células madre

en la leucemia mieloide aguda. El análisis de los datos de CPL podría identificar como FLT3-ITD a algunos pacientes que estaban por debajo de los límites del umbral de positividad para FLT3 en células mononucleares.²

De acuerdo con ELN 2017, el AR del FLT3-ITD identifica diferentes subgrupos de pronóstico en la leucemia mieloide aguda y la carga alta de FLT3-ITD (AR > 0.5) predice un resultado desfavorable en la leucemia mieloide aguda con el gen *NPM1* mutado.^{12,81} La evolución clonal es un fenómeno común en la leucemia mieloide aguda positiva al FLT3-ITD y la pérdida del alelo salvaje se asocia con un fenotipo agresivo.⁸² El papel del FLT3-ITD como un biomarcador de enfermedad mínima residual es ampliamente debatido, debido a la inestabilidad en la recaída y los problemas técnicos relacionados con la especificidad de la secuencia de ITD en los pacientes.

Las CPL pueden representar el reservorio leucémico que conduce a la recaída de la enfermedad. Algunos datos destacan la relevancia de caracterizar los perfiles mutacionales e inmunofenotípicos de las CPL para evaluar la prescripción de fármacos dirigidos. En este contexto, los inhibidores de la tirosina quinasa son una estrategia terapéutica exitosa en la leucemia mieloide aguda y en los últimos años la FDA y la EMA han aprobado varios agentes dirigidos a *FLT3*.^{2,83}

La primera molécula nueva aprobada en casi dos décadas fue la midostaurina, un inhibidor multikinasa activo contra las mutaciones FLT3-ITD y TKD. Aunque la midostaurina demostró alta eficacia cuando se combinó con quimioterapia convencional en la leucemia mieloide aguda, la tasa de recaída es alta: alrededor del 50% en una mediana de dos años de seguimiento.⁹

El tratamiento con inhibidores de la tirosina quinasa puede afectar la evolución clonal de la

leucemia mieloide aguda positiva a la FLT3-ITD, modificando los clones específicos.⁸⁴ Estos datos subrayan la importancia de estudios repetidos del biomarcador para distinguir a los pacientes en quienes los inhibidores de tirosina quinasa pueden inducir una remisión duradera, de aquellos en los que la recaída puede originarse a partir de subclones.²

Uno de los mecanismos del fracaso del tratamiento puede ser la persistencia de CPL positivas a FLT3-ITD, como fuente potencial de recaída. Estas células se caracterizan por la sobreexpresión de CD99. Para superar la resistencia a la midostaurina y tratar de apuntar a las células madre leucémicas que inician la enfermedad, se ha utilizado un anticuerpo específico de CD99 en muestras de pacientes, recolectadas en el momento de la recaída después de la midostaurina. Este tratamiento fue citotóxico en CPL CD34/CD99+ /FLT3-ITD+, resistente a midostaurina, mientras que no hubo efecto en las células CD34+/sanas.²

La pérdida del FLT3-ITD en el momento de la recurrencia de la enfermedad está descrita en el 25% de los pacientes y esta cifra puede aumentar después del tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa. El anticuerpo CD99 puede representar una opción de tratamiento atractiva en estos casos.²

La identificación de CPL positivas a FLT3-ITD en la leucemia mieloide aguda, que impulsan la resistencia a la terapia o la progresión de la enfermedad, puede ayudar al diseño de nuevas terapias para mejorar o erradicar la enfermedad.²

CONCLUSIONES

El estudio continuado de los procesos biológicos y moleculares que involucran al *FLT3* puede ayudar al entendimiento de este biomarcador en el proceso de leucemogénesis, mejorar los

protocolos de diagnóstico, predecir la evolución de los pacientes y justificar el uso de la medicina de precisión futura con la administración de terapias moleculares específicas.

REFERENCIAS

1. Kazi JU, Rönstrand L. FMS-like Tyrosine kinase 3/FLT3: From basic science to clinical implications. *Physiol Rev* 2019; 99 (3): 1433-1466. doi: 10.1152/physrev.00029.2018.
2. Travaglini S, Angelini DF, Alfonso V, Guerrero G, Lavorgna S, Divona M, et al. Characterization of FLT3-ITDmut acute myeloid leukemia: molecular profiling of leukemic precursor cells. *Blood Cancer J* 2020; 10 (8): 85. doi: 10.1038/s41408-020-00352-9.
3. Kreitman M, Noronha A, Yarden Y. Irreversible modifications of receptor tyrosine kinases. *FEBS Lett* 2018; 592 (13): 2199-2212. doi: 10.1002/1873-3468.13095.
4. Kabir NN, Kazi JU. Comparative analysis of human and bovine protein kinases reveals unique relationship and functional diversity. *Genet Mol Biol* 2011; 34 (4): 587-591. doi: 10.1590/S1415-47572011005000035.
5. Rosnet O, Schiff C, Pébusque MJ, Marchetto S, Tonnelle C, Toiron Y, et al. Human FLT3/FLK2 gene: cDNA cloning and expression in hematopoietic cells. *Blood* 1993; 82 (4): 1110-1119.
6. Small D, Levenstein M, Kim E, Carow C, Amin S, Rockwell P, et al. STK-1, the human homolog of Flk-2/Flt-3, is selectively expressed in CD34+ human bone marrow cells and is involved in the proliferation of early progenitor/stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91 (2): 459-463. doi: 10.1073/pnas.91.2.459.
7. Rosnet O, Mattei MG, Marchetto S, Birnbaum D. Isolation and chromosomal localization of a novel FMS-like tyrosine kinase gene. *Genomics* 1991; 9 (2): 380-385. doi: 10.1016/0888-7543(91)90270-o.
8. Sánchez D, Gargallo P, Romano V, Montero V, Cabrerizo R. Determinación de la mutación FLT3-ITD por dos métodos en pacientes con leucemia mieloide aguda: comparación e implementación de un nuevo método. *Hematología* 2018; 22 (2): 134-143.
9. Daver N, Schlenk RF, Russell NH, Levis MJ. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence. *Leukemia* 2019; 33 (2): 299-312. doi: 10.1038/s41375-018-0357-9.
10. Adolfsson J, Mansson R, Buza-Vidas N, Hultquist A, Liuba K, Jensen CT, et al. Identification of FLT3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential: a revised road map for adult blood lineage commitment. *Cell* 2005; 121: 295-306.
11. Larráyo MJ, Mañú A, Ariceta B, Vázquez I, Aguilera-Díaz A, Fernández-Mercado M, et al. Diagnóstico molecular de alteraciones en el gen FLT3: impacto clínico, retos y propuestas. *Genética Médica y Genómica* 2019; 3 (3): 31-39.
12. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN Recommendations from an International Expert Panel. *Blood* 2017; 129 (4): 1-55. doi: 10.1182/blood-2016-08-733196.
13. Picharski GL, Andrade DP, Fabro ALMR, Lenzi L, Tonin FS, Ribeiro RC, et al. The Impact of Flt3 gene mutations in acute promyelocytic leukemia: a meta-analysis. *Cancers (Basel)* 2019; 11 (9): 1311. doi: 10.3390/cancers11091311.
14. Zhang Y, Zhang Y, Wang F, Wang M, Liu H, Chen X, et al. The mutational spectrum of FLT3 gene in acute lymphoblastic leukemia is different from acute myeloid leukemia. *Cancer Gene Ther* 2020; 27 (1): 81-88. doi: 10.1038/s41417-019-0120-z.
15. Cheng J, Qu L, Wang J, Cheng L, Wang Y. High expression of FLT3 is a risk factor in leukemia. *Mol Med Rep* 2018; (2): 2885-2892. doi: 10.3892/mmr.2017.8232.
16. Fan Y, Cao Y, Bai X, Zhuang W. The clinical significance of FLT3 ITD mutation on the prognosis of adult acute promyelocytic leukemia. *Hematology* 2018; 23 (7): 379-384. doi: 10.1080/10245332.2017.1415717.
17. Fagerberg L, Hallström BM, Oksvold P, Kampf C, Djureinovic D, Odeberg J, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol Cell Proteomics* 2014; 13 (2): 397-406. doi: 10.1074/mcp.M113.035600.
18. Testa U, Fossati C, Samoggia P, Masciulli R, Mariani G, Hassan HJ, et al. Expression of growth factor receptors in unilineage differentiation culture of purified hematopoietic progenitors. *Blood* 1996; 88 (9): 3391-3406.
19. McKenna HJ, de Vries P, Brasel K, Lyman SD, Williams DE. Effect of flt3 ligand on the ex vivo expansion of human CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1995; 86 (9): 3413-3420.
20. Rappold I, Ziegler BL, Köhler I, Marchetto S, Rosnet O, Birnbaum D, et al. Functional and phenotypic characterization of cord blood and bone marrow subsets expressing FLT3 (CD135) receptor tyrosine kinase. *Blood* 1997; 90 (1): 111-125.
21. Volpe G, Clarke M, Garcia P, Walton DS, Vegiopoulos A, Del Pozzo W, et al. Regulation of the Flt3 gene in haematopoietic stem and early progenitor cells. *PLoS One* 2015; 10 (9): e0138257. doi: 10.1371/journal.pone.0138257.
22. Volpe G, Walton DS, Del Pozzo W, Garcia P, Dassé E, O'Neill LP, et al. C/EBPα and MYB regulate FLT3 expression in AML. *Leukemia* 2013; 27 (7): 1487-1496. doi: 10.1038/leu.2013.23.
23. Jiang M, Xu S, Bai M, Zhang A. The emerging role of MEIS1 in cell proliferation and differentiation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2021; 320 (3): C264-C269. doi: 10.1152/ajpcell.00422.2020.

24. Liu X, Zhang F, Zhang Y, Li X, Chen C, Zhou M, et al. PPM1K regulates hematopoiesis and leukemogenesis through CDC20-mediated ubiquitination of MEIS1 and p21. *Cell Rep* 2018; 23 (5): 1461-1475. doi: 10.1016/j.celrep.2018.03.140.
25. Yao M, Gu Y, Yang Z, Zhong K, Chen Z. MEIS1 and its potential as a cancer therapeutic target (Review). *Int J Mol Med* 2021; 48 (3): 181. doi: 10.3892/ijmm.2021.5014.
26. Hasemann MS, Damgaard I, Schuster MB, Theilgaard-Mönch K, Sørensen AB, Mrcic A, et al. Mutation of C/EBPalpha predisposes to the development of myeloid leukemia in a retroviral insertional mutagenesis screen. *Blood* 2008; 111 (8): 4309-4321. doi: 10.1182/blood-2007-06-097790.
27. Reddy PN, Sargin B, Choudhary C, Stein S, Grez M, Müller-Tidow C, et al. Study Alliance Leukemia (SAL). SOCS1 cooperates with FLT3-ITD in the development of myeloproliferative disease by promoting the escape from external cytokine control. *Blood* 2012; 120 (8): 1691-1702. doi: 10.1182/blood-2010-08-301416.
28. Holmes ML, Carotta S, Corcoran LM, Nutt SL. Repression of Flt3 by Pax5 is crucial for B-cell lineage commitment. *Genes Dev* 2006; 20 (8): 933-938. doi: 10.1101/gad.1396206.
29. Lyman SD, James L, Zappone J, Sleath PR, Beckmann MP, Bird T. Characterization of the protein encoded by the flt3 (flk2) receptor-like tyrosine kinase gene. *Oncogene* 1993; 8 (4): 815-822.
30. Maroc N, Rottapel R, Rosnet O, Marchetto S, Lavezzi C, Mannoni P, et al. Biochemical characterization and analysis of the transforming potential of the FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinase. *Oncogene* 1993; 8 (4): 909-918.
31. Lennartsson J, Rönnstrand L. Stem cell factor receptor/c-Kit: from basic science to clinical implications. *Physiol Rev* 2012; 92 (4): 1619-1649. doi: 10.1152/physrev.00046.2011.
32. Verstraete K, Vandriessche G, Januar M, Elegheert J, Shkumatov AV, Desfosses A, et al. Structural insights into the extracellular assembly of the hematopoietic Flt3 signaling complex. *Blood* 2011; 118 (1): 60-68. doi: 10.1182/blood-2011-01-329532.
33. Khalid A, Aslam S, Ahmed M, Hasnain S, Aslam A. Risk assessment of FLT3 and PAX5 variants in B-acute lymphoblastic leukemia: a case-control study in a Pakistani cohort. *Peer J* 2019; 7: e7195. doi: 10.7717/peerj.7195.
34. Marhäll A, Heide F, Fischer T, Rönnstrand L. Internal tandem duplication mutations in the tyrosine kinase domain of FLT3 display a higher oncogenic potential than the activation loop D835Y mutation. *Ann Hematol* 2018; 97 (5): 773-780. doi: 10.1007/s00277-018-3245-5.
35. Lavagna C, Marchetto S, Birnbaum D, Rosnet O. Identification and characterization of a functional murine FLT3 isoform produced by exon skipping. *J Biol Chem* 1995; 270 (7): 3165-3171. doi: 10.1074/jbc.270.7.3165.
36. Tzapogas P, Mooney CJ, Brown G, Rolink A. The cytokine Flt3-ligand in normal and malignant hematopoiesis. *Int J Mol Sci* 2017; 18 (6): 1115. doi: 10.3390/ijms18061115.
37. Griffith J, Black J, Faerman C, Swenson L, Wynn M, Lu F, et al. The structural basis for autoinhibition of FLT3 by the juxtamembrane domain. *Mol Cell* 2004; 13 (2): 169-178. doi: 10.1016/s1097-2765(03)00505-7.
38. Kiyoi H, Ohno R, Ueda R, Saito H, Naoe T. Mechanism of constitutive activation of FLT3 with internal tandem duplication in the juxtamembrane domain. *Oncogene* 2002; 21 (16): 2555-2563. doi: 10.1038/sj.onc.1205332.
39. Kazi JU, Chougule RA, Li T, Su X, Moharram SA, Rupar K, et al. Tyrosine 842 in the activation loop is required for full transformation by the oncogenic mutant FLT3-ITD. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74 (14): 2679-2688. doi: 10.1007/s00018-017-2494-0.
40. Turner AM, Lin NL, Issarachai S, Lyman SD, Broudy VC. FLT3 receptor expression on the surface of normal and malignant human hematopoietic cells. *Blood* 1996; 88 (9): 3383-3390.
41. Muñoz D, Prada-Arismendi J, Castillo E. El papel de FLT3 como biomarcador en leucemia mieloide aguda. *Arch Med* 2018; 4 (1): 1-9. doi: 10.3823/1381.
42. Darici S, Alkhaldi H, Horne G, Jørgensen HG, Marmiroli S, Huang X. Targeting PI3K/Akt/mTOR in AML: Rationale and clinical evidence. *J Clin Med* 2020; 9 (9): 2934. doi: 10.3390/jcm9092934.
43. Popovic D, Vucic D, Dikic I. Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment. *Nat Med* 2014; 20 (11): 1242-1253. doi: 10.1038/nm.3739.
44. Haglund K, Sigismund S, Polo S, Szymkiewicz I, Di Fiore PP, Dikic I. Multiple monoubiquitination of RTKs is sufficient for their endocytosis and degradation. *Nat Cell Biol* 2003; 5 (5): 461-466. doi: 10.1038/ncb983.
45. Jastrzębski K, Zdzalik-Bielecka D, Mamińska A, Kalaidzidis Y, Hellberg C, Miaczynska M. Multiple routes of endocytic internalization of PDGFRβ contribute to PDGF-induced STAT3 signaling. *J Cell Sci* 2017; 130 (3): 577-589. doi: 10.1242/jcs.191213.
46. Milne P, Wilhelm-Benartzi C, Grunwald MR, Bigley V, Dillon R, Freeman SD, et al. Serum Flt3 ligand is a biomarker of progenitor cell mass and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood Adv* 2019; 3 (20): 3052-3061. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000197.
47. Lyman SD, James L, Johnson L, Brasel K, de Vries P, Escobar SS, et al. Cloning of the human homologue of the murine flt3 ligand: a growth factor for early hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1994; 83 (10): 2795-2801.
48. Hannum C, Culpepper J, Campbell D, McClanahan T, Zurawski S, Bazan JF, et al. Ligand for FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinase regulates growth of haematopoietic stem cells and is encoded by variant RNAs. *Nature* 1994; 368 (6472): 643-648. doi: 10.1038/368643a0.
49. Wodnar-Filipowicz A, Lyman SD, Gratwohl A, Tichelli A, Speck B, Nissen C. Flt3 ligand level reflects hematopoietic progenitor cell function in aplastic anemia and chemotherapy-induced bone marrow aplasia. *Blood* 1996; 88 (12): 4493-4499.

50. Kokonozaki M, Kanellou P, Pappa CA, Vyzoukaki R, Sarantoulaki S, Stavroulaki E, et al. Serum levels of soluble FLT3 ligand in patients with active multiple myeloma constitute marker of bone marrow plasma cell proliferative activity. *Crit Rev Oncog* 2017; 22 (3-4): 255-262. doi: 10.1615/CritRevOncog.2018021355.
51. Steiner N, Hajek R, Sevcikova S, Borjan B, Jöhrer K, Göbel G, et al. High levels of FLT3-ligand in bone marrow and peripheral blood of patients with advanced multiple myeloma. *PLoS One* 2017; 12 (7): e0181487. doi: 10.1371/journal.pone.0181487.
52. Rinaldi I, Louisa M, Mulya Sari R, Arwanih E. FLT3-ITD Mutation and FLT3 Ligand plasma level were not associated with one-year survival of indonesian acute myeloid leukemia patients. *Onco Targets Ther* 2021; 14: 1479-1486. doi: 10.2147/OTT.S282842.
53. Durai V, Bagadia P, Briseño CG, Theisen DJ, Iwata A, Davidson JT, et al. Altered compensatory cytokine signaling underlies the discrepancy between *Flt3*^{-/-} and *Flt3l*^{-/-} mice. *J Exp Med* 2018; 215 (5): 1417-1435. doi: 10.1084/jem.20171784.
54. Manz MG. Plasmacytoid dendritic cells: origin matters. *Nat Immunol* 2018; 19 (7): 652-654. doi: 10.1038/s41590-018-0143-x.
55. De Arruda VYN, Matsuzaki LN, Chauffaille ML. FMS-related tyrosine kinase 3 internal tandem duplication (FLT3-ITD): a villain among others. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2017; 39 (3): 283-284. doi: 10.1016/j.bjhh.2017.03.001.
56. Cao T, Jiang N, Liao H, Shuai X, Su J, Zheng Q. The FLT3-ITD mutation and the expression of its downstream signaling intermediates STAT5 and Pim-1 are positively correlated with CXCR4 expression in patients with acute myeloid leukemia. *Scientific Reports* 2019; 9:12209. doi: org/10.1038/s41598-019-48687-z.
57. Nakao M, Iwai T, Kaneko H, Horiike S, Kashima K, Sonoda Y, et al. Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996; 10 (12): 1911-1918.
58. González E, Grille S, Vales V, Boada M, Zanella LM, Leal D, et al. Estudio del ratio de FLT3-ITD como factor pronóstico en leucemias agudas mieloides. *Rev Méd Urug* 2016; 32 (3): 20-26.
59. Liu SB, Dong HJ, Bao XB, Qiu QC, Li HZ, Shen HJ, et al. Impact of *FLT3*-ITD length on prognosis of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2019; 104 (1): e9-e12. doi: 10.3324/haematol.2018.191809.
60. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kadera Y, Miyawaki S, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood* 2001; 97 (8): 2434-2439. doi: 10.1182/blood.v97.8.2434.
61. Hyrenius-Wittsten A, Pilheden M, Stureson H, Hansson J, Walsh MP, Song G, et al. De novo activating mutations drive clonal evolution and enhance clonal fitness in KMT2A-rearranged leukemia. *Nat Commun* 2018; 9 (1): 1770. doi: 10.1038/s41467-018-04180-1.
62. Grundler R, Miething C, Thiede C, Peschel C, Duyster J. FLT3-ITD and tyrosine kinase domain mutants induce 2 distinct phenotypes in a murine bone marrow transplantation model. *Blood* 2005; 105 (12): 4792-4799. doi: 10.1182/blood-2004-11-4430.
63. Arreba-Tutusa P, Mack TS, Bullinger L, Schnöder TM, Polanetzki A, Weinert S, et al. Impact of FLT3-ITD location on sensitivity to TKI-therapy in vitro and in vivo. *Leukemia* 2016; 30 (5): 1220-1225. doi: 10.1038/leu.2015.292.
64. Reindl C, Bagrintseva K, Vempati S, Schnittger S, Ellwart JW, Wenig K, et al. Point mutations in the juxtamembrane domain of FLT3 define a new class of activating mutations in AML. *Blood* 2006; 107 (9): 3700-3707. doi: 10.1182/blood-2005-06-2596.
65. Esnault C, Rahmé R, Rice KL, Berthier C, Gaillard C, Quentin S, et al. FLT3-ITD impedes retinoic acid, but not arsenic, responses in murine acute promyelocytic leukemias. *Blood* 2019; 133 (13): 1495-1506. doi: 10.1182/blood-2018-07-866095.
66. Okabe A, Guirales F, Zhao D, Tirado CA. FLT3 Gene involvement in B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL). *J Assoc Genet Technol* 2021; 47 (1): 6-14.
67. Vu HA, Xinh PT, Masuda M, Motoji T, Toyoda A, Sakaki Y, et al. FLT3 is fused to ETV6 in a myeloproliferative disorder with hypereosinophilia and a t(12;13)(p13;q12) translocation. *Leukemia* 2006; 20 (8): 1414-1421. doi: 10.1038/sj.leu.2404266.
68. Zhang H, Paliga A, Hobbs E, Moore S, Olson S, Long N, et al. Two myeloid leukemia cases with rare *FLT3* fusions. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 2018; 4 (6): a003079. doi: 10.1101/mcs.a003079.
69. Troadec E, Dobbstein S, Bertrand P, Faumont N, Trimoreau F, Touati M, et al. A novel t(3;13)(q13;q12) translocation fusing FLT3 with GOLGB1: toward myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and rearrangement of FLT3? *Leukemia* 2017; 31 (2): 514-517. doi: 10.1038/leu.2016.304.
70. Jawhar M, Naumann N, Knut M, Score J, Ghazzawi M, Schneider B, et al. Cytogenetically cryptic ZMYM2-FLT3 and DIAPH1-PDGFRB gene fusions in myeloid neoplasms with eosinophilia. *Leukemia* 2017; 31 (10): 2271-2273. doi: 10.1038/leu.2017.240.
71. Zheng XX, Zhang J, Zhang Y, Zhang M, Liu C, Liu X, Yin J, et al. FLT3 pathway is a potential therapeutic target for PRC2-mutated T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2018; 132 (23): 2520-2524. doi: 10.1182/blood-2018-04-845628.
72. Kleaveland B, Shi CY, Stefano J, Bartel DP. A Network of Noncoding regulatory RNAs acts in the mammalian brain. *Cell* 2018; 174 (2): 350-362.e17. doi: 10.1016/j.cell.2018.05.022.
73. Sun YM, Wang WT, Zeng ZC, Chen TQ, Han C, Pan Q, et al. circMYBL2, a circRNA from MYBL2, regulates FLT3 translation by recruiting PTBP1 to promote FLT3-ITD AML progression. *Blood* 2019; 134 (18): 1533-1546. doi: 10.1182/blood.2019000802.

74. Wu N, Yuan Z, Du KY, Fang L, Lyu J, Zhang C, et al. Translation of yes-associated protein (YAP) was antagonized by its circular RNA via suppressing the assembly of the translation initiation machinery. *Cell Death Differ* 2019; 26 (12): 2758-2773. doi: 10.1038/s41418-019-0337-2.
75. Rivat C, Sar C, Mechaly I, Leyris JP, Dioulouf L, Sonrier C, et al. Inhibition of neuronal FLT3 receptor tyrosine kinase alleviates peripheral neuropathic pain in mice. *Nat Commun* 2018; 9 (1): 1042. doi: 10.1038/s41467-018-03496-2.
76. Rücker FG, Du L, Luck TJ, Benner A, Krzykalla J, Gathmann I, et al. Molecular landscape and prognostic impact of FLT3-ITD insertion site in acute myeloid leukemia: RATIFY study results. *Leukemia* 2021. doi: 10.1038/s41375-021-01323-0. Epub ahead of print.
77. Liu SB, Qiu QC, Bao XB, Ma X, Li HZ, Liu YJ, et al. Pattern and prognostic value of FLT3-ITD mutations in Chinese de novo adult acute myeloid leukemia. *Cancer Sci* 2018;109(12):3981-3992. doi: 10.1111/cas.13835.
78. Blätte TJ, Schmalbrock LK, Skambraks S, Lux S, Cocciardi S, Dolnik A, et al. GetITD for FLT3-ITD-based MRD monitoring in AML. *Leukemia* 2019;33(10):2535-2539. doi: 10.1038/s41375-019-0483-z.
79. Angelini DF, Ottone T, Guerrera G, Lavorgna S, Cittadini M, Buccisano F, et al. A leukemia-associated CD34/CD123/CD25/CD99+ immunophenotype identifies FLT3-mutated clones in acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2015; 21 (17): 3977-3985. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3186.
80. Welch JS, Ley TJ, Link DC, Miller CA, Larson DE, Koboldt DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell* 2012; 150 (2): 264-278. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.023.
81. Döhner K, Thiede C, Jahn N, Panina E, Gambietz A, Larson RA, et al. Impact of NPM1/FLT3-ITD genotypes defined by the 2017 European LeukemiaNet in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2020; 135 (5): 371-380. doi: 10.1182/blood.2019002697.
82. Cocciardi S, Dolnik A, Kapp-Schwoerer S, Rücker FG, Lux S, Blätte TJ, et al. Clonal evolution patterns in acute myeloid leukemia with NPM1 mutation. *Nat Commun* 2019; 10 (1): 2031. doi: 10.1038/s41467-019-09745-2.
83. Zhao J, Song Y, Liu D. Gilteritinib: a novel FLT3 inhibitor for acute myeloid leukemia. *Biomark Res* 2019; 7: 19. doi: 10.1186/s40364-019-0170-2. Erratum in: *Biomark Res*. 2019; 7: 21.
84. McMahon CM, Ferng T, Canaani J, Wang ES, Morrisette JJD, Eastburn DJ, et al. Clonal selection with RAS pathway activation mediates secondary clinical resistance to selective FLT3 inhibition in acute myeloid leukemia. *Cancer Discov* 2019; 9 (8): 1050-1063. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-1453.