



PAMPLONA

MUJER DE 70 AÑOS CON BICITOPENIA Y MONOCITOSIS

Francisco Manuel Martín Domínguez, Concepción Prats Martín, Javier Rojas Martínez, Teresa Caballero Velázquez, Marta Reinoso Segura, María Teresa Vargas de los Monteros, Estrella Carrillo Cruz, Margarita Jiménez Jambrina, Eusebio Martín, Eduardo Rodríguez Arbolí, Ricardo Bernal, José Antonio Pérez Simón, Rosario M.^a Morales Camacho

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

+ MOTIVO DE CONSULTA

Se trata de una paciente remitida desde otro hospital por bicitopenia y sospecha de hemopatía aguda.

+ HISTORIA CLÍNICA

Se trata de una mujer de 70 años sin antecedentes familiares de patología hematológica. Presentaba antecedentes de hipertensión arterial y dislipemia, y fue intervenida de safenectomía por síndrome varicoso. Su tratamiento habitual incluye: carvedilol (6,25 mg/día), ácido acetilsalicílico (100 mg/día) y rosuvastatina (10 mg/día).

Acudió a urgencias por presentar debilidad y sensación vertiginosa con tendencia a la caída hacia la derecha de un mes de evolución, a lo que se añadía febrícula en las 48 horas previas.

+ EXPLORACIÓN FÍSICA

Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 1. La auscultación cardiopulmonar resultó normal. Mostraba varices en ambos miembros inferiores. No presentaba megalias ni adenopatías.

+ PRUEBAS ANALÍTICAS Y DE IMAGEN

En el hemograma, la cifra de leucocitos era de $8 \times 10^9/L$, con neutrófilos de $1,38 \times 10^9/L$, monocitos de $1,68 \times 10^9/L$, linfocitos de $2,94 \times 10^9/L$, eosinófilos de $0 \times 10^9/L$ y basófilos de $0,02 \times 10^9/L$. La hemoglobina era de 94 g/L, el

volumen corpuscular medio (VCM) de 101,8 fL, las plaquetas de $122 \times 10^9/L$ y los reticulocitos del 1,4% ($39,9 \times 10^9/L$).

En el estudio de coagulación no se hallaron alteraciones. En la bioquímica, destacaba una lactato deshidrogenasa (LDH) de 408 UI/L (120-300), GGT de 71 UI/L (10-50), potasio de 2,9 mEq/L (3,5-5), la velocidad de sedimentación globular (VSG) era de 119 mm/h (1-20) y el factor reumatoide de 248 UI/mL (< 14). La PCR, la función renal y el resto de la bioquímica se encontraban dentro de la normalidad.

Las serologías víricas estudiadas no mostraron datos de ninguna infección activa.

En la tomografía axial computarizada (TAC) de cráneo no se encontraron hallazgos relevantes.

+ ESTUDIO CITOLÓGICO

En la extensión de **sangre periférica** (leucocitos de $8 \times 10^9/L$) se observaron: blastos 3%, promielocitos/mielocitos 2%, segmentados 15%, linfocitos 59%, monocitos 21% y eritroblastos < 1/100 leucocitos. Los hematíes mostraban discreta anisopoiquilocitosis. Llamaba la atención la hipogranularidad de los neutrófilos y la frecuencia de formas pseudo-Pelger, algunas con condensación anómala de la cromatina de tipo *clumping* (**Figura 1**). Muy aisladamente, se encontraron formas promielocitarias agranulares, con arcoplasma bien definido, algunas con presencia de una gran inclusión con apariencia de micronúcleo (**Figura 2**). Asimismo, se apreció una franca monocitosis con rasgos promonocitoides y, muy aisladamente, presencia de inclusiones citoplasmáticas únicas en los monocitos,



PAMPIONA

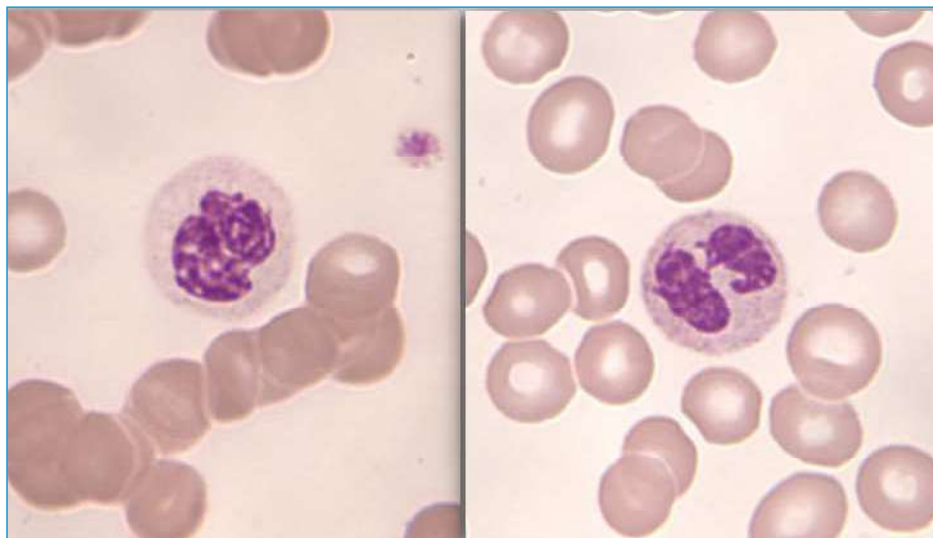


Figura 1. Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). Granulocitos maduros displásicos, de tipo pseudo-Pelger. Además, en el de la izquierda se aprecia cierto grado de condensación anómala de la cromatina.



Figura 2. Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). Promielocito agranular. En medio del arcoplasma se distingue un micronúcleo de 3-4 μm de diámetro.

con apariencia también de restos cromatinicos (**Figura 3**). Se observaron algunos megatrombocitos. Las células blásticas eran de talla grande (18-21 micras), con una relación núcleo-citoplasma elevada, núcleo con la cromatina laxa o finamente punteada, con nucléolos prominentes. El citoplasma mostraba una basofilia marcada con frecuente granulación azurófila y a veces rosada, sin arcoplasma y sin presencia de bastones de Auer (**Figura 4**).

El **aspirado medular** era notablemente hiper celular, con una serie eritroide del 6,5%, serie granulocítica del 56,5%, linfocitos del 3,5%, monocitos del 6,75%, eosinófilos del 0,75% y blastos del 25,75%; la serie megacariocítica estaba bien representada. Se observó diseritropoyesis en un 80% de los eritroblastos, de leve a moderada (rasgos macrocíticos, alteración de la hemoglobinización, punteado basófilo, formas binucleadas, constricciones nucleares). La granulopo-



PAMPIONA

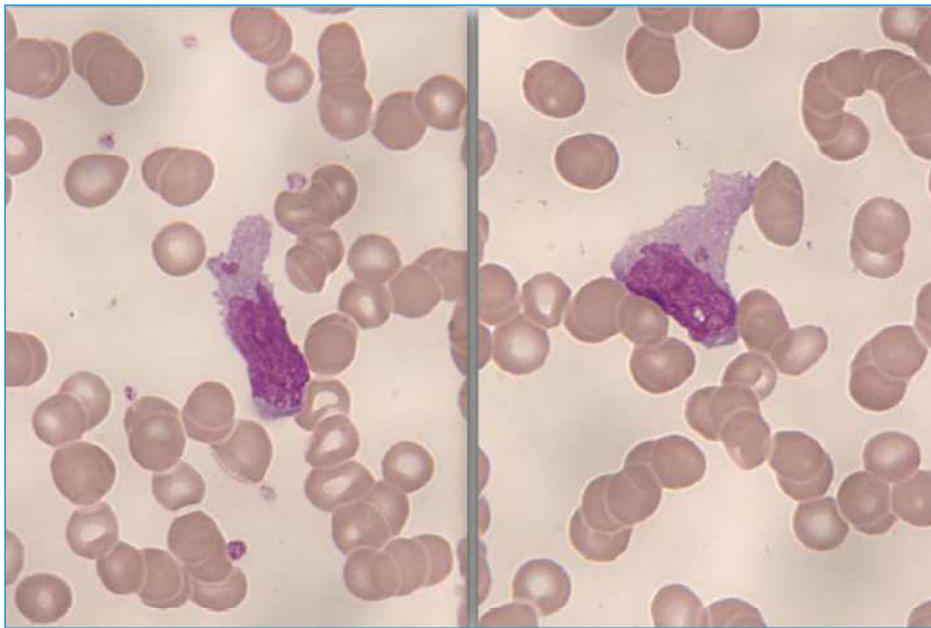


Figura 3. Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). Elementos monocitarios que proyectan un pseudópodo y que contienen gránulos únicos semejantes a restos de cromatina.

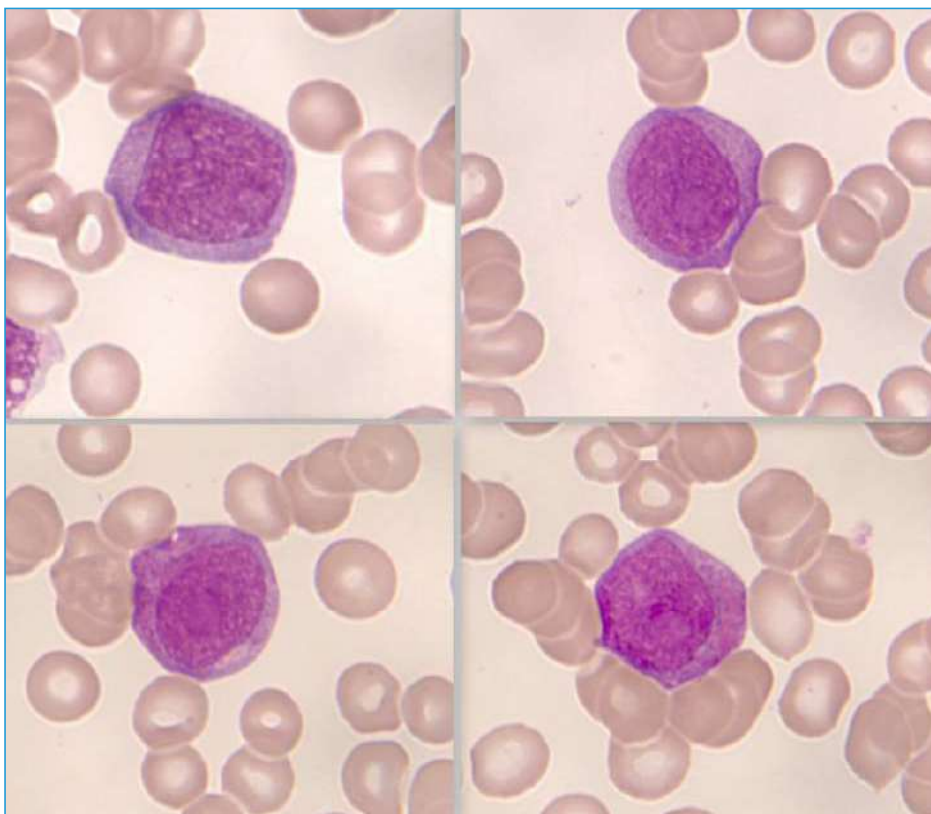


Figura 4. Sangre periférica (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). Elementos blásticos con cierto grado de madurez, aunque carentes de arcoplasma; en algunos se observa una granulación azurófila. En la imagen inferior derecha, inclusiones sonrosadas de contornos irregularmente definidos.

yesis mostraba un predominio de precursores inmaduros, con un bloqueo madurativo en el que solo un 2% completaba su maduración hasta segmentados (promielocitos/mielocitos: 51%; metamielocitos/cayados: 3,5%; y segmentados:

2%). La disgranulopoyesis era severa, del 100%, destacando hipo/agranularidad, gigantismo, citoplasma asalmonado con refuerzo de basofilia periférica, vacuolas (**Figura 5**) y, aisladamente, alguna fagocitosis de restos eritrocitarios. En la



PAMPLONA

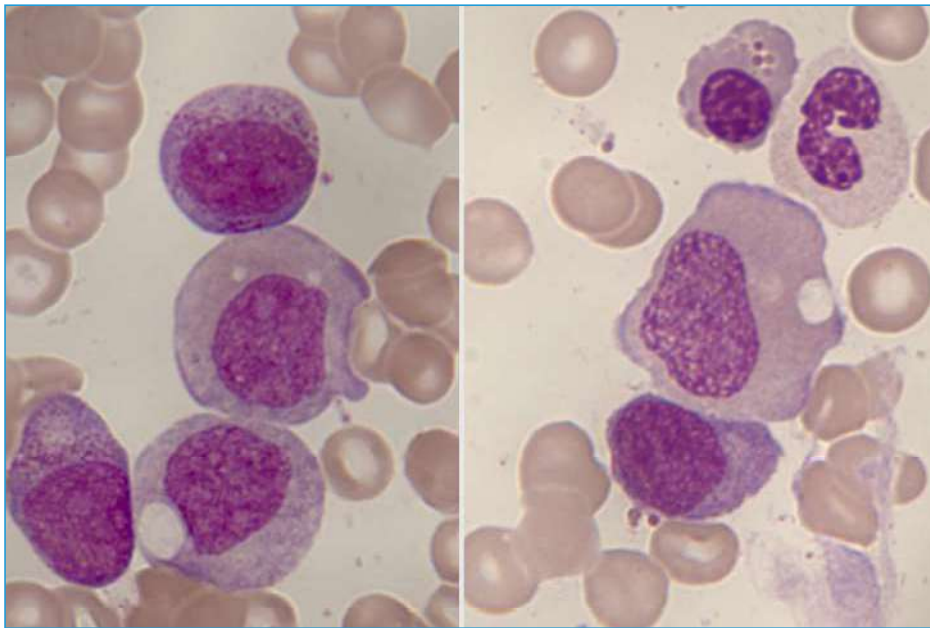


Figura 5. Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). Granulocitos inmaduros con severa displasia: gigantismo, agranularidad, vacuolas, citoplasma asalmonado con refuerzo de basofilia periférica.

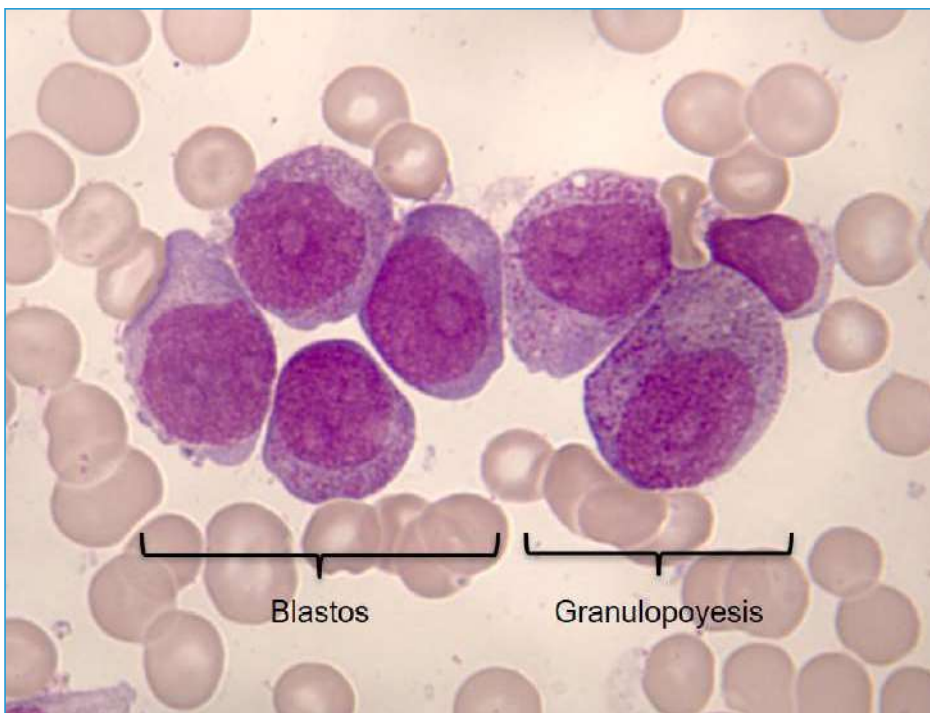


Figura 6. Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). Grupo de blastos con un nucléolo prominente. Los 4 de la izquierda variablemente indiferenciados y los 2 de la derecha, más maduros, se distinguen de promielocitos por la ausencia de arcoplasma.

línea monocítica se identificaron en torno a un 7% de elementos promonocitoides atípicos. La serie megacariocítica mostraba dismorfias leves ($< 50\%$). Los blastos eran de tamaño grande, similares a los descritos en sangre periférica, con relación núcleo/citoplasma media-alta, cromatina laxa a finamente punteada, nucléolos prominentes (1-3), citoplasma de basofilia moderada

con frecuente granulación azurófila y, en ocasiones, granulación rosada con tendencia a confluir (**Figura 6**). En algunos blastos se observaron inclusiones rosadas semejantes a gránulos de tipo pseudo-Chédiak-Higashi. No se encontraron bastones de Auer.

Se observaron **restos cromatínicos o micronúcleos** en cuantía inferior al 1% en la línea gra-



PAMPLONA

mulomonocitaria (**Figuras 7 y 8**) y en los blastos (**Figuras 9 y 10**), con un tamaño variable aproximadamente entre 1 y 2,5 micras. Eran únicos y presentaban un mayor tamaño en los blastos y en la granulopoyesis que en las formas promo-

nocitarias. No se observaron micronúcleos en la serie eritroide.

Citoquímicamente, la población blástica mostraba actividad del 100% para mieloperoxidasa con patrón granular +/+++ , con hallazgo

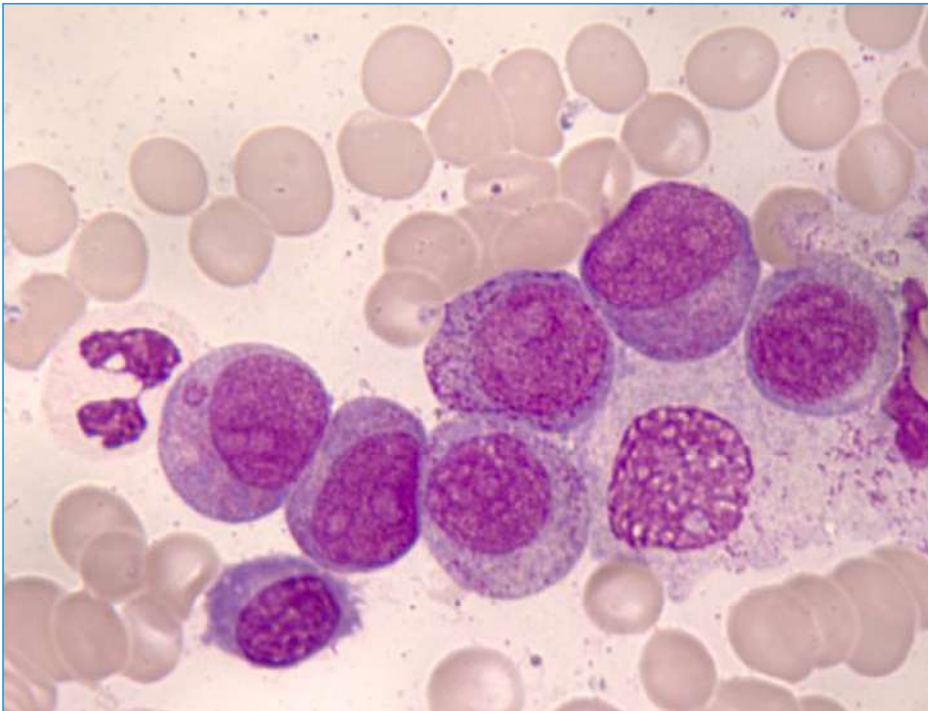


Figura 7. Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). A la izquierda, junto a un granulocito agranular, se observa un micronúcleo en un promielocito displásico (parece que conserva un pequeño arcoplasma).

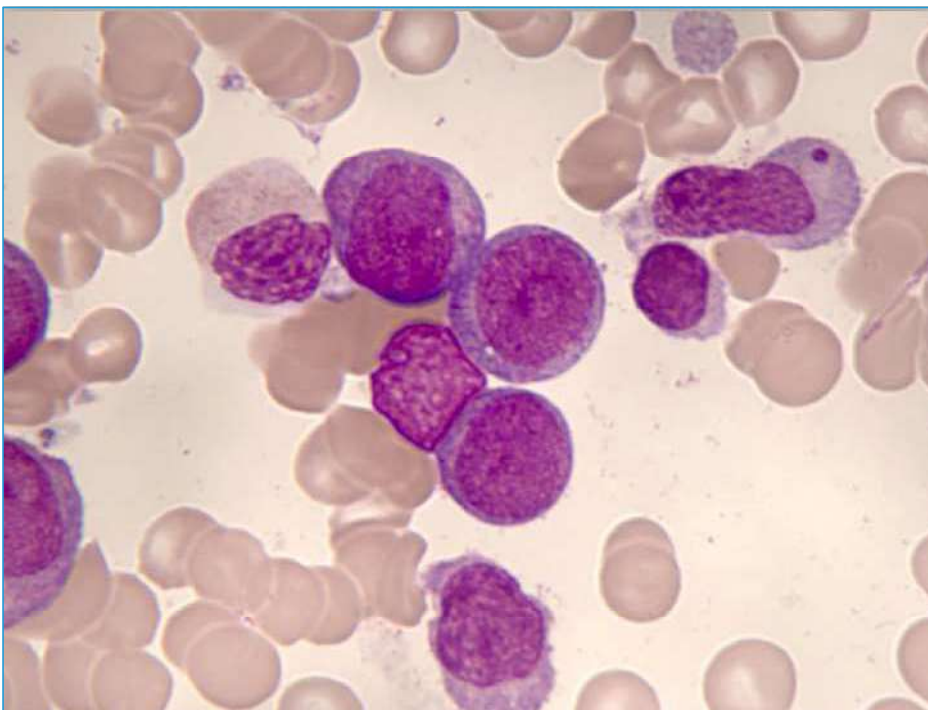


Figura 8. Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). Arriba a la derecha una forma promonocitoide, que sugiere un desplazamiento pseudopódico, con un micronúcleo.



PAMPIONA

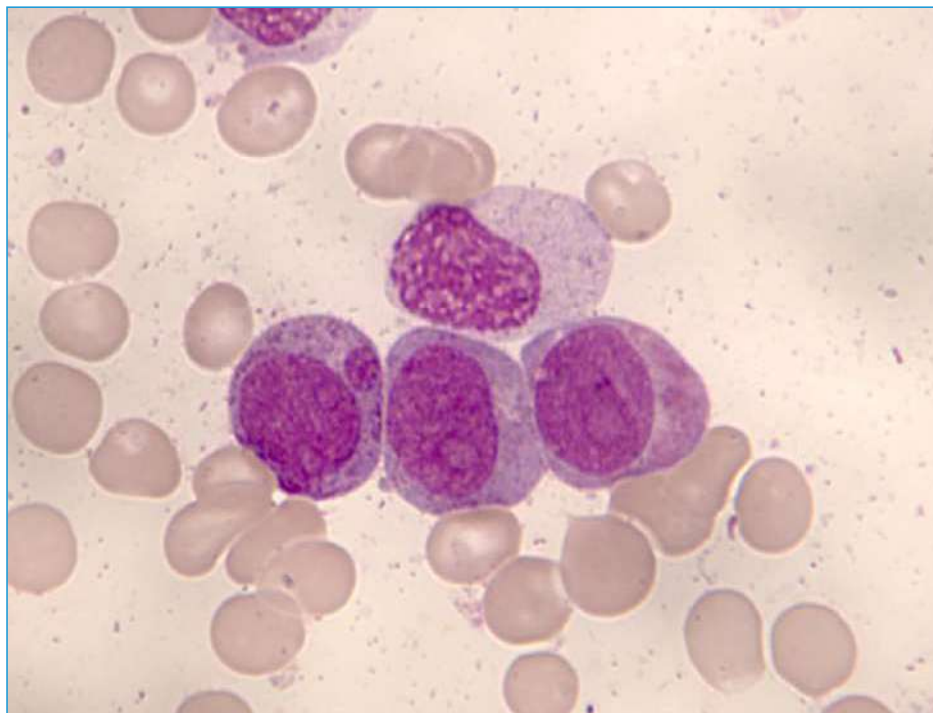


Figura 9. Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). En el blasto situado a la izquierda se observa un claro micronúcleo y en el de la derecha al menos 2 grandes inclusiones sonrosadas de contornos algo difusos.

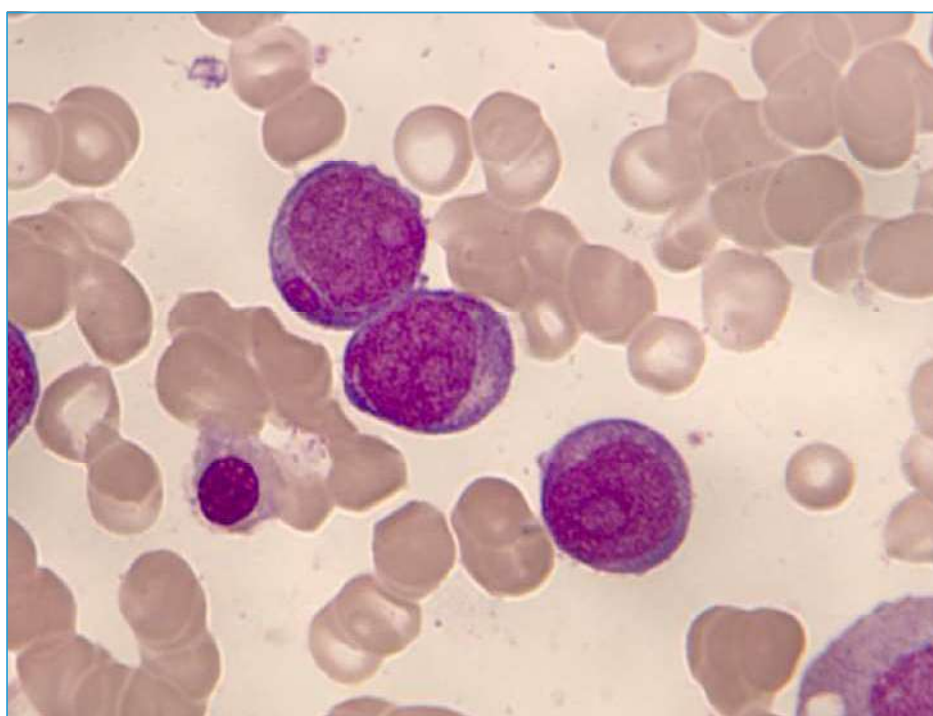


Figura 10. Aspirado de médula ósea (AMO) (tinción de May-Grünwald-Giemsa $\times 1.000$). Los 2 blastos superiores presentan en sus citoplasmas inclusiones densas análogas a restos de cromatina.

ocasional de gránulos gruesos concordantes con inclusiones de tipo pseudo-Chédiak-Higashi (**Figura 11**). Se observó un 11% de actividad alfa-naftil-acetatoesterasa en el total celular.

+ ESTUDIO CITOMÉTRICO

En el estudio de citometría de flujo del aspirado medular destacaba un 32,8% de población inmadura (CD34⁺ CD117⁺ CD45⁺d) con intensa expre-



PAMPLONA

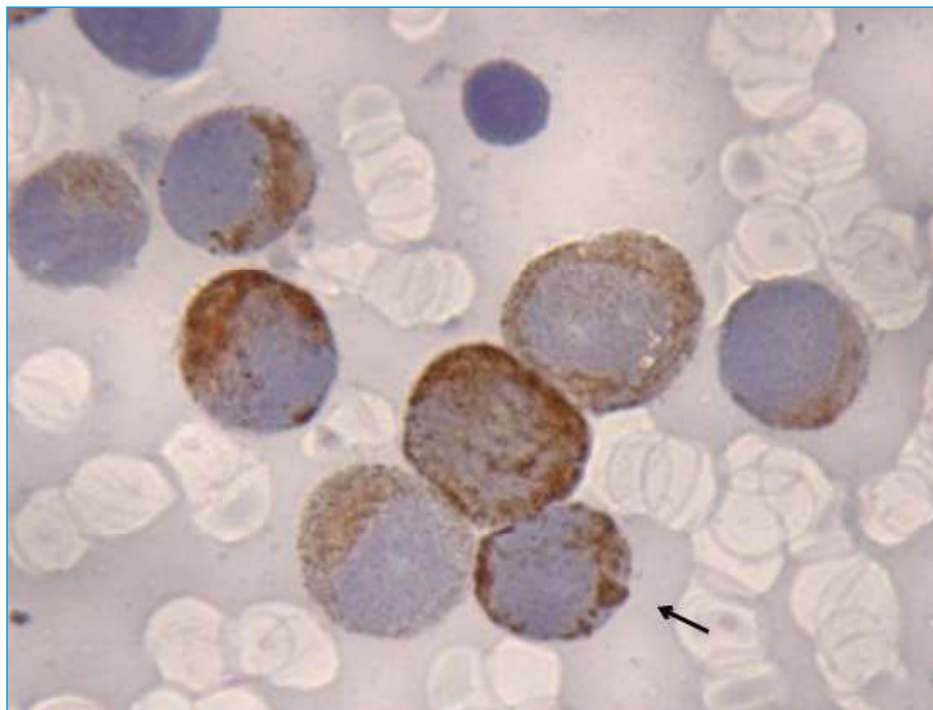


Figura 11. Aspirado de médula ósea (AMO) (mieloperoxidasa $\times 1.000$). Positividad en gránulos finos a gruesos. La flecha señala un gránulo muy grueso análogo a una inclusión de tipo pseudo-Chédiak-Higashi.

sión de mieloperoxidasa en citoplasma, bloqueada en un estadio de maduración entre mieloblasto y promielocito con cambios fenotípicos patológicos asociados a displasia (HLADR+het/- CD15+het CD13-/ +d CD33+d/- CD71+d CD64-/ +d CD38+d CD123-/ +d CD4-/ +d). Además, destacaba un 0,15% de células madre progenitoras (CD34+ CD38-) de fenotipo aberrante, aunque la gran mayoría de la población correspondía a promielocitos, que no presentaban características fenotípicas típicas de la t(15;17). El fenotipo aberrante y el hiato leucémico determinó que se consideraran como blastos de una leucemia aguda y no una población propia de un síndrome mielodisplásico (SMD) (**Figura 12**). El resto de las poblaciones en médula ósea correspondía a un 21,8% de granulocitos (de mielocito a segmentado), un 19,4% de monocitos con bloqueo madurativo en monoblasto y un 7,5% de serie eritroide. Todas estas poblaciones presentaban anomalías fenotípicas asociadas a displasia.

+ CITOGENÉTICA Y GENÉTICA MOLECULAR

El estudio citogenético de la médula ósea mostró un cariotipo complejo, con fórmula

cromosómica: 46,XX,add(7)(q22),add(12)(p13),-17,+mar,20~60dmin[14] (**Figura 13**), que incluía monosomía del cromosoma 17, así como anomalías estructurales y cromosomas “dobles minutos” (dmin) entre 20 y 60. Los dmin fueron observados en el estudio citogenético (bandas G) y con técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) con una sonda *dual color break apart* para el gen *MYC* (8q24) (**Figura 14**).

Mediante FISH se confirmó una delección de *TP53* (17p13). Se descartó la presencia de delección de 5q, monosomía 7/delección de 7q31, trisomía 8, así como de los reordenamientos *PML/RARA*, *KMT2A (MLL)*, *MYC* y *RUNX1/RUNX1T1*. Las mutaciones de *NPM1*, *FLT3* e *IDH1/IDH2* fueron negativas mediante RT-PCR.

Se realizó un estudio de secuenciación masiva (NGS) para un panel amplio de genes implicados en neoplasia mieloide (plataforma Ion S5[®], panel Oncomine Myeloid Research Assay). Este panel cubría un total de 40 genes: las *hot-spots* de los genes *ABL*, *BRAF*, *CBL*, *CSF3R*, *DNMT3A*, *FLT3*, *GATA2*, *HRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *MPL*, *MYD88*, *NPM1*, *NRAS*, *PTPN11*, *SETBP1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *WT1* y las regiones codificantes de los genes completos *ASXL1*, *BCOR*, *CALR*, *CEBPA*, *ETEV6*, *EZH2*, *IKZF1*, *NFI*,



PAMPLONA

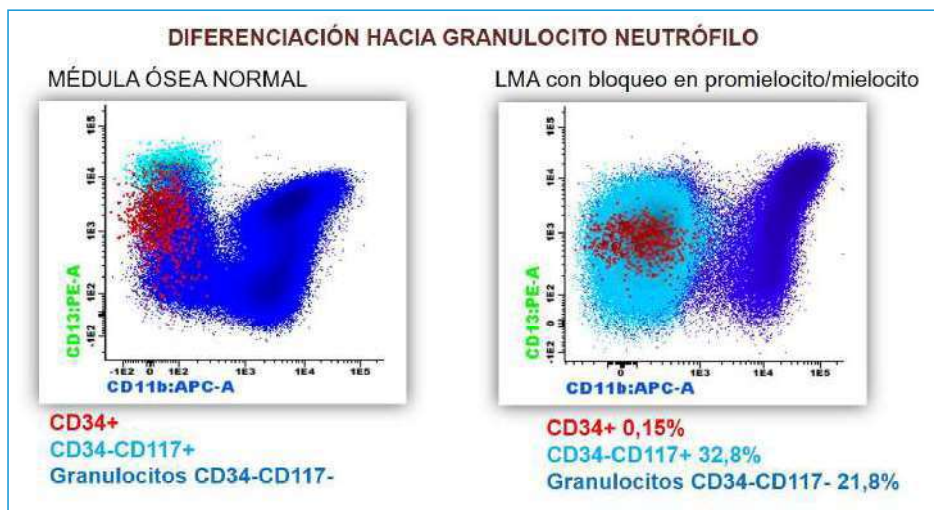


Figura 12. Citometría de flujo (médula ósea). Diferenciación hacia neutrófilo segmentado según la expresión de CD13/CD11b en la médula ósea normal (diagrama izquierdo) y en el paciente a estudio (diagrama derecho). En rojo células precursoras CD34, en azul claro blastos CD34- CD117+, en azul oscuro granulocitos.

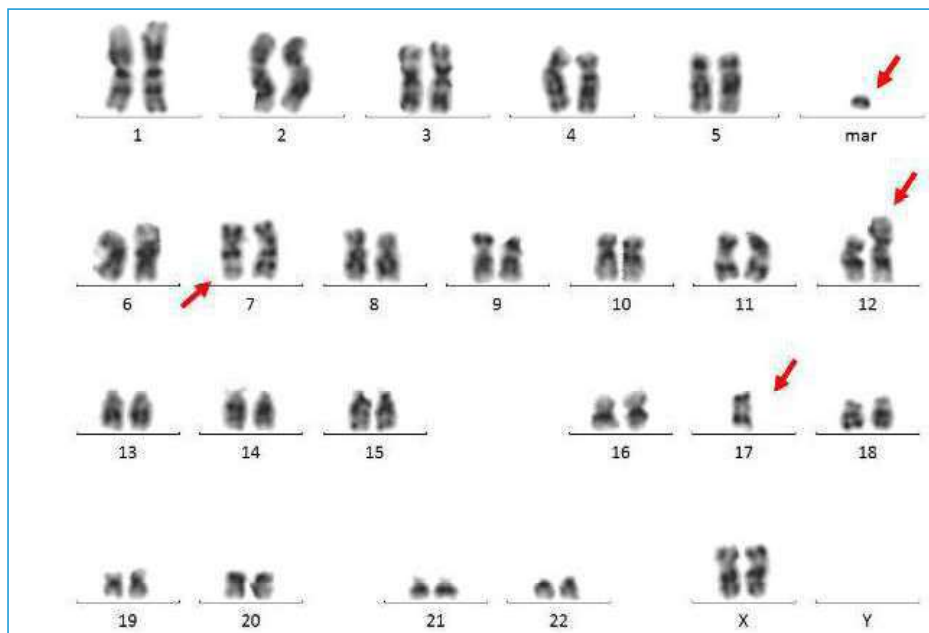


Figura 13. Cariotipo complejo (médula ósea): 46,XX,add(7)(q22),add(12)(p13),-17,+mar,20-60dmin[14].

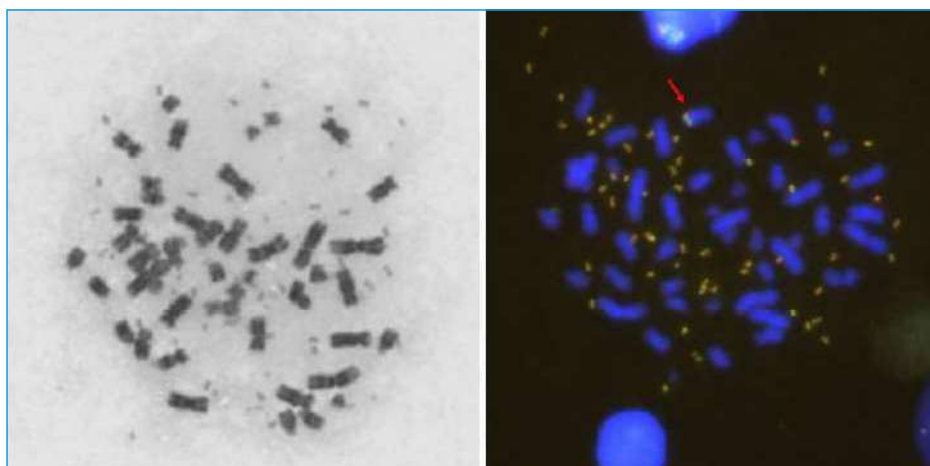


Figura 14. Se observan 20-60 cromosomas “doble minutos” (dmin) en el estudio citogenético de médula ósea con bandas G (imagen izquierda) y con hibridación *in situ* fluorescente con sonda *dual color break apart* para MYC (8q24) (imagen derecha, señales amarillas múltiples sueltas). Se observa un cromosoma 8 con MYC (flecha), estando el del otro cromosoma 8 deletado.



PAMPLONA

PHF6, PRPF8, RB1, RUNX1, SH2B3, STAG2, TET2, TP53 y *ZRSR2*. Se detectaron las siguientes mutaciones: *TP53*, exón 5, c.445delT, p.Ser149fs. VAF 69,8% y *DNMT3A*, c.2645G>C, p.Arg882Pro. VAF 42,3%.

+ DIAGNÓSTICO

Leucemia mieloide aguda con cambios relacionados con mielodisplasia (LMA CRM), según criterios morfológicos y genéticos (cariotipo complejo y amplificación extracromosómica en *dmin* del gen *MYC*).

+ TRATAMIENTO Y EVOLUCIÓN

La paciente se incluyó en el ensayo clínico *PEVOLAM* (NCT 04090736) con 5-azacitidina. Recibió 7 ciclos con enfermedad resistente tras la evaluación, por lo que se intensificó posteriormente con el esquema FLUGA (fludarabina y Ara-C), con progresión de la enfermedad, siendo *exitus* a los 6 meses del diagnóstico por una hemorragia intracraneal.

+ DISCUSIÓN

La LMA CRM es una entidad de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que requiere para su diagnóstico $\geq 20\%$ de blastos en sangre periférica o médula ósea asociado a la presencia de displasia igual o superior al 50% en al menos 2 líneas de la hematopoyesis y/o antecedente de SMD o SMD/neoplasia mieloproliferativa (SMD/NMP), y/o anomalía citogenética relacionada con SMD. La morfología como único criterio requiere descartar *NMP1* mutada o mutación bialélica de *CEBPA*, hallazgos no incluidos en esta entidad. Igualmente, no cabe el diagnóstico de LMA CRM cuando existen antecedentes de tratamiento con radioterapia o quimioterapia (para una enfermedad diferente), o se detectan determinadas anomalías citogenéticas recurrentes definidas por la OMS⁽¹⁾. El caso presentado se diagnosticó de LMA CRM por criterios citomorfológicos (diseritropoyesis en el 80% y disgra-

nulopoyesis en el 100%) y anomalía citogenética relacionada con SMD, ya que presentaba un cariotipo complejo con más de 3 alteraciones citogenéticas.

Por otra parte, se describen anomalías citomorfológicas en las líneas hematopoyéticas que pueden anunciar la presencia de una alteración citogenética subyacente (correlaciones citomorfológicas-citogenéticas), que permitirían una rápida orientación diagnóstica con valor pronóstico. Entre las más conocidas están la asociación de patología megacariocítica (micromegacariocitos, megacariocitos hipolobulados, monolobulados) y delección 5q, monosomía 7 o inv(3); formas pseudo-Pelger y vacuolas citoplasmáticas en granulopoyesis y delección de *TP53*; eosinofilia y gruesa granulación preeosinófila en LMA M4 o M5 e inv(16); intensa displasia granulocítica y bastones de Auer típicos en LMA con t(8;21); o la morfología característica de leucemia promielocítica aguda con t(15;17)⁽²⁾.

Presentamos el caso de una LAM CRM con una alteración citomorfológica poco frecuente, como son micronúcleos en blastos y línea granulomonocítica que se asocia con la presencia de amplificación extracromosómica del gen *MYC* en forma de *dmin*.

Los micronúcleos se producen por irregularidades en el proceso de la división celular, generándose estructuras derivadas del núcleo, más pequeñas y que pueden contener oncogenes amplificados, fragmentos cromosómicos acéntricos o cromosomas enteros dañados⁽³⁾.

Una amplificación génica consiste en el aumento en el número de copias de un fragmento de ADN particular y, por tanto, de los genes que contiene. Puede demostrarse en una ubicación intracromosómica, que son las regiones teñidas homogéneamente (*hsr*), o extracromosómica en forma de *dmin*. Los *dmin* son pequeños fragmentos cromosómicos circulares, en parejas, a los que les falta un centrómero activo y los telómeros, y suelen contener oncogenes. Existen 2 hipótesis acerca de la formación de los *dmin*, que no son mutuamente excluyentes: el **modelo del episoma**, donde se produciría una delección intersticial críptica del gen *MYC* de uno de los cromosomas 8 que ser-



PAMPLONA

viría de copia para la posterior amplificación, circunstancia que se ha reportado en el 67% de los casos y en el caso presentado⁽⁴⁾; y el **modelo de micronúcleos**, en el que se produciría un retraso de un cromosoma durante la mitosis que no se incorpora al núcleo principal. Dado que en el micronúcleo no funcionan correctamente los mecanismos de reparación del ADN, se favorece la formación de dmin y cromotripsis⁽⁵⁾. Los dmin se observan frecuentemente en tumores sólidos, pero son raros en neoplasias hematológicas, constituyendo < 1% de aquellas que presentan una citogenética alterada. La mayoría de los casos descritos en este contexto corresponde a amplificación de *MYC*, seguida de *KMT2A* (*MLL*).

La LMA con amplificación de *MYC* en dmin presenta una serie de características citomorfológicas, citoquímicas, genéticas y de pronóstico, según se deduce de descripciones de casos aislados^(6,7) y de series de pequeño tamaño (hasta 33 pacientes)⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Ocurre con más frecuencia en LMA *de novo*, aunque también se describe en neoplasia mieloi-de relacionada con la terapéutica, normalmente acompañada de mielodisplasia. Las categorías FAB en las que se describen, de mayor a menor frecuencia, son M2, M1, M4 y M6, siendo excepcional en M5^(6,9). En la categoría de la OMS, en cambio, la mayoría corresponden a LMA CRM. El caso presentado es una LMA CRM que, según la FAB, se acercaría a una M4. Además, se describen las siguientes características citomorfológicas:

1. Blastos de tamaño mediano a grande, cromatina laxa, 1 o 2 nucléolos grandes, citoplasma basófilo abundante con gránulos azurófilos, presencia de micronúcleos (únicos o múltiples), inclusiones citoplasmáticas rosadas, gránulos pseudo-Chédiak-Higashi y bastones de Auer.
2. La presencia de micronúcleos se ha observado prácticamente en la totalidad de los casos con amplificación extracromosómica del gen *MYC* en forma de dmin. En cambio, los restos cromatínicos descritos en eritroblastos en SMD/LMA no parecen relacionarse con la amplificación de *MYC* y se observan con más frecuencia

después de tratamiento quimioterápico y asociados a determinadas alteraciones citogenéticas como -7/7q o cariotipo complejo^(11,12).

3. Mielodisplasia frecuente: disgranulopoyesis (pseudo-Pelger-Huët, hipo/agranularidad, condensación anómala de la cromatina, vacuolas...).

4. Citoquímicamente, los blastos tienen elevado contenido de mieloperoxidasa.

Estas características citológicas y citoquímicas se observaron en el caso expuesto.

Desde el punto de vista citogenético, se asocia con frecuencia a cariotipo complejo. El número de dmin es variable y se describe mejor pronóstico cuando el cariotipo es normal y presenta numerosos dmin que cuando el cariotipo es complejo y existen menos dmin. Se asocia comúnmente a delección de *TP53*. En el estudio molecular se describe una asociación alta con mutación de *TP53*⁽⁸⁾.

La paciente presentaba cariotipo complejo con delección y mutación de *TP53*, correspondiendo en la clasificación de la European Leukemia Net de 2017 a la categoría de alto riesgo⁽¹³⁾.

La LMA con amplificación del gen *MYC* en dmin tiene mal pronóstico, se comporta como una enfermedad agresiva y quimiorresistente, con una supervivencia pobre.

+ CONCLUSIONES

- La observación de micronúcleos en blastos mieloides y en las células displásicas de una LMA o de un SMD debe orientar al estudio de una amplificación génica, *MYC* o *KMT2A* (*MLL*).
- Citoquímicamente, los blastos de una LMA con amplificación de *MYC* en dmin suelen tener un elevado contenido de mieloperoxidasa.
- En el estudio genético, el cariotipo es frecuentemente complejo, a menudo asociado a mutación de *TP53*.
- Estas leucemias son de muy mal pronóstico, resistentes a quimioterapia y de corta supervivencia.



PAMPLONA

+ BIBLIOGRAFÍA

1. Arber OA, Brunning RD, Orazi A, Bain BJ, Porwit A, Le Beau MM, Greenberg PL. Acute myeloid leukaemia with myelodysplasia-related changes. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J (eds.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017. pp. 150-3.
2. Bain BJ, Béné MC. Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO Categories of Acute Myeloid Leukaemia. *Acta Haematol.* 2019;141(4):232-44.
3. Terradas M, Martín M, Tusell L, Genescà A. Genetic activities in micronuclei: is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell? *Mutat Res.* 2010 Jul-Sep;705(1):60-7.
4. Christacos NC, Sherman L, Roy A, DeAngelo DJ, Dal Cin P. Is the cryptic interstitial deletion of 8q24 surrounding MYC a common mechanism in the formation of double minute chromosome? *Cancer Genet Cytogenet.* 2005 Aug;161(1):90-2.
5. Knouse KA, Amon A. Cell biology: the micronucleus gets its big break. *Nature.* 2015 Jun 11;522(7555):162-3.
6. Bouvier S, Martin M. Atypical monoblasts with micronuclei. *Blood.* 2017 Oct 26;130(17):1958.
7. Yamamoto K, Okamura A, Sanada Y, Yakushijin K, Matsuoka H, Minami H. Micronuclei-associated MYC amplification in the form of double minute chromosomes in acute myeloid leukemia. *Am J Hematol.* 2013 Aug;88(8):717-8.
8. Huh YO, Tang G, Talwalkar SS, Khoury JD, Ohanian M, Bueso-Ramos CE, Abruzzo LV. Double minute chromosomes in acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndromes, and chronic myelomonocytic leukemia are associated with micronuclei, MYC or MLL amplification, and complex karyotype. *Cancer Genet.* 2016 Jul-Aug;209(7-8):313-20.
9. Thomas L, Stamberg J, Gojo I, Ning Y, Rapoport AP. Double minute chromosomes in monoblastic (M5) and myeloblastic (M2) acute myeloid leukemia: two case reports and a review of literature. *Am J Hematol.* 2004 Sep;77(1):55-61.
10. Villa O, Salido M, Pérez-Vila ME, Ferrer A, Arenillas L, Pedro C, et al. Blast cells with nuclear extrusions in the form of micronuclei are associated with MYC amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2008 Aug;185(1):32-6.
11. Teerenhovi L, Lintula R, Ruutu T, Knuutila S. Correlation between bone marrow karyotype and the occurrence of erythroblast micronuclei and nuclear budding in patients with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol.* 1987 Sep;39(3):237-40.
12. Yashige H, Horiike S, Taniwaki M, Misawa S, Abe T. Micronuclei and nuclear abnormalities observed in erythroblasts in myelodysplastic syndromes and in de novo acute leukemia after treatment. *Acta Haematol.* 1999 Mar;101(1):32-40.
13. 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 Jan 26 129(4):424-47.