

Detección del gen de fusión CFBF-MYH11/INV (16) en paciente con leucemia aguda mielomonocítica

Detection of the CFBF-MYH11 / INV (16) fusion gene in a patient with acute myelomonocytic leukemia

Manuel Alfredo Campoverde Cisneros^{1, 3, 4}, Héctor Chiang Wong² y Mauro Javier Arcentales Cayamcela³

¹ Universidad Católica de Cuenca, Ecuador

² Servicio de Hematología del Hospital José Carrasco Arteaga, Cuenca, Ecuador

³ Laboratorio de Diagnóstico Molecular de Alta Especialidad BIONCOGÉN, Cuenca, Ecuador

⁴ Sociedad de Hematología Núcleo del Austro (SEHNA), Ecuador

*manuel.campoverde@ucacue.edu.ec

DOI: https://doi.org/10.26871/killkana_salud.v4i2.643

Resumen

Contexto: La leucemia aguda mielomonocítica es un subtipo de leucemia mieloide aguda por la presencia de la inversión del cromosoma 16 que provoca la formación de un gen de fusión denominado CFBF-MYH11. **Objetivo:** Detectar la presencia de este gen de fusión es crítico en el diagnóstico de esta patología. Con este caso se busca consolidar la implementación de una prueba molecular altamente sensible y específica para la detección del gen CFBF-MYH11. **Materiales y Métodos:** A partir de sangre periférica se extrajo el ARN del paciente diagnosticado con leucemia mieloide aguda. Se realizó RT-PCR anidada para la detección de CFBF-MYH11 adaptado al protocolo preestablecido. **Resultados:** Se acopló y estandarizó el método para detectar mediante RT-PCR el gen de fusión CFBF-MYH11. Mediante esta técnica se logró identificar la inversión del cromosoma 16 en el caso de estudio. **Conclusiones:** El resultado coincide con otras investigaciones previas. La detección de esta y otras aberraciones cromosómicas mediante pruebas moleculares permite tomar decisiones terapéuticas cruciales para mejorar el pronóstico y la calidad de vida del paciente.

Palabras clave: Leucemia Mieloide Aguda, adultos, CFBF-MYH11, inversión cromosoma 16.

Abstract

Context: Acute myelomonocytic leukemia is an acute myeloid leukemia subtype due to the inversion of chromosome 16 that causes the formation of a fusion gene called CFBF-MYH11. **Objective:** Detecting the existence of this fusion gene is critical in the diagnosis of this pathology. This case seeks to consolidate the implementation of a highly sensitive and specific molecular test for the detection of the CFBF-MYH11 gene. **Methodology:** RNA of the patient diagnosed with acute myeloid leukemia, was taken from peripheral blood. A nested RT-PCR, adapted to the pre-established protocol, was performed to detect CFBF-MYH11. **Results:** The method for detecting the fusion gene CFBF-MYH11 was adjusted and standardized by using RT-PCR. This technique allowed to identify chromosome 16 inversion in the case study. **Conclusions:** The result is in line with other previous research studies. Detecting this and other chromosomal aberrations, by molecular testing, allows to make crucial therapeutic decisions for the patient's prognosis and quality of life improvement.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia, Adults, CFBF-MYH11, Chromosome 16 inversion.

1 Introducción

En la génesis de la leucemia mieloide aguda (LMA) existen causas genéticas que involucran las células precursoras mieloides originando alteraciones en la función, diferenciación, multiplicación y posterior acumulación en la médula ósea (MO) y sangre periférica.¹ Los casos de LMA en el mundo presentan la incidencia de 3.7 por 100.000 habitantes y su incremento está relacionado con la edad avanzada de la población, otro índice es la tasa de

mortalidad del 1.2 % con predominio del sexo masculino, esta patología en relación a todos los tipos de leucemia agudas ostenta la frecuencia en adultos del 80 % y en la edad pediátrica del 15-20 %.^{2,3} En el Ecuador se reportó según el Registro Nacional de Tumores de SOLCA Núcleo de Quito la LMA independiente del tipo de la línea celular, ocupa en la escala el sexto lugar en hombres y el séptimo en mujeres; un estudio descriptivo realizado en Hospital Solca Núcleo Quito durante 4 años proporcionó información

sobre la edad media de los pacientes es de 33 años siendo representativo el sexo masculino.^{4,5}

La característica de un pronóstico favorable de recuperación y la frecuencia aproximada de la inversión (inv.) del cromosoma 16 (p13.1q22) es del 4 % de todos los casos en la LMA (Tabla 1), esta alteración estructural en el cromosoma 6 genera un gen de fusión entre CFBF (subunidad beta del factor de unión al núcleo) en posición 16q22 por la secuencia 5' y MYH11 (cadena pesada de miosina de musculo liso 11) en posición 16p13.1 con la secuencia 3' (Figura 1), lo que origina una proteína quimérica que inicia la leucemogénesis al inhibir la diferenciación celular.⁶⁻⁹

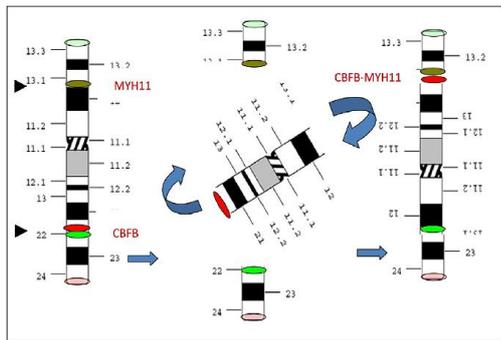


Fig. 1: Representación esquemática del gen de fusión CFBF-MYH11, inv. (16) (p13q22)

Fuente: Poddighe PJ, et al. A novel cryptic CFBF-MYH11 gene fusion present at birth leading to acute myeloid leukemia and allowing molecular monitoring for minimal residual disease. Hum Pathol Case Rep.

La detección de la inv. (16) es común en pacientes con el subtipo M4 de LMA (LMAM4) según la clasificación Franco-Estadounidense (FAB) (Tabla.2) y la Organización Mundial de la Salud establece ocho categorías (OMS) (Tabla.3). Los parámetros citomorfológicos reportan poblaciones de blastos mieloides, monoblastos y células monocitoides atípicas.¹⁰⁻¹²

Clasificación LMA-FAB

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

Fuente: Cruz-Santana et al. Observaciones relacionadas con los métodos diagnósticos ideales en el paciente con leucemia mieloide aguda. Rev. Hemotol. 2016; 17(3):187-194

Tabla 1: Clasificación pronóstica según citogenética y estado mutacional

Risk category*	Genetic abnormality
Favorable	t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CFBF-MYH11 Mutated NPM1 without FLT3-ITD or with FLT3-ITD ^{low} † Biallelic mutated CEBPA
Intermediate	Mutated NPM1 and FLT3-ITD ^{high} † Wild-type NPM1 without FLT3-ITD or with FLT3-ITD ^{low} † (without adverse-risk genetic lesions) t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A† Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 t(v;11q23.3); KMT2A rearranged t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM(EVI1) -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) Complex karyotype, § monosomal karyotypell Wild-type NPM1 and FLT3-ITD ^{high} † Mutated RUNX1¶ Mutated ASXL1¶ Mutated TP53#

Fuente: Döhner H et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood 2017; 129(4): 424-47.

Clasificación LMA-OMS

LMA con ciertas anomalías genéticas
LMA con una translocación entre los cromosomas 8 y 21
LMA con una translocación o inversión en el cromosoma 16
APL (M3) con PML-RARA
LMA con una translocación entre los cromosomas 9 y 11
LMA con una translocación entre los cromosomas 6 y 9
LMA con una translocación o inversión en el cromosoma 3
LMA (megacarioblástica) con una translocación entre los cromosomas 1 y 22
Entidad provisional: LMA con BCR-ABL1
LMA con NPM1 mutado
LMA con mutaciones bialélicas de CEBPα
Entidad provisional: LMA con RUNX1 mutado
LMA con cambios relacionados con mielodisplasia
LMA relacionada con administración previa de quimioterapia o radiación
LMA no especificada de otra manera
LMA con maduración mínima (M1)
LMA sin maduración (M2)
LMA con maduración (M2)
Leucemia mielomonocítica aguda (M4)
Leucemia monocítica/monoblástica aguda (M5)
Leucemia eritroide pura (M6)
Leucemia megacarioblástica aguda (M7)
Leucemia basófila aguda
Panmielosis aguda con fribrosis
Sarcoma mieloide
Proliferaciones mieloides relacionadas con el síndrome de Down
Mielopoiesis anormal transitoria
Leucemia mieloide asociada con síndrome de Down

Fundamentados en las últimas recomendaciones del grupo de expertos de European Leukemia Net (ELN 2017) y las aprobaciones recientes de drogas-target por los organismos reguladores, el panel genético-molecular básico sugerido debería englobar al¹³⁻¹⁶ FLT3-ITD por su implicación pronóstica (aunque existen algunas divergencias casi todos los estudios difundidos hasta la fecha coinciden en otorgar un papel pronóstico adverso) y terapéutica,^{17,18} el NPM1 desde el punto de vista de la evolución de los pacientes, la mayoría de trabajos conceden un papel favorable,¹⁹ CEBPA (bialélico) se pretende relacionarse con mejor pronóstico, también está ligada dentro del subgrupo de casos vinculados a predisposición de línea germinal (familiar), TP53-ASXL1 asociados a mal pronóstico y RUNX1 relacionado a mal pronóstico también si coexiste con anomalías genéticas favorables se consideraría como de buen pronóstico.¹³

Para el diagnóstico inicial y definitivo de la LMAM4 se requiere información de la anamnesis, análisis-exámenes de sangre y médula ósea con reportes citomorfológicos, inmunofenotipificación, citogenética, pruebas moleculares. Actualmente la secuenciación de próxima generación (NGS) aporta con información proveniente de mutaciones puntuales.^{20,21} Una de las pruebas moleculares que con frecuencia se ejecuta en el diagnóstico, pronóstico y monitorización es la Reacción en Cadena de Polimerasa Transcriptasa Inversa (RT-PCR) anidada, es una técnica semi cuantitativa que utiliza el ADN (sangre periférica o MO) complementario a partir de ARN para la identificación de genes, haciendo posible establecer el fenotipo de la leucemia.^{22,23}

2 Caso Clínico

Mujer de 57 años con disnea y equimosis en extremidades inferiores, antecedentes de miastenia graves e hipertensión arterial, se realiza análisis y exámenes primarios de sangre periférica (Tabla 4).

Tabla 4: Análisis y exámenes primarios de sangre periférica

Hemograma.		Química sanguínea.		Hemostasia.	
Leucocitos.	27.340 cel/mm ³	Sodio.	137 meq/L	TTPa.	33.9Seg.
Neutrófilos.	1.720 cel/mm ³	Creatinina.	1.11 mg/dl	INR.	1.39
Monocitos.	16.060 cel/mm ³	Albumina.	4 g/dl	Serología.	
Hemoglobina.	4.9 mg/dl	Proteínas Totales.	5.4 g/dl	Hepatitis B.	
Plaquetas.	4.000 cel/mm ³	Bilirubina Total.	0.61 mg/dl	Hepatitis C. Negativo.	
ALT	6U/L	Bilirubina directa.	0.17 mg/dl	VIH	
LDH	572 U/L	AST.	15 U/L	PCR.	19 mg/dl

Fuente: Los autores

cel/mm³: células por milímetro cúbico, mg/dl: miligramos por decilitro, meq/L: mili equivalente por litro, g/dl: gramos por decilitro, U/L: unidades por litro, seg: segundos

Citomorfológica de Aspirado de Médula Ósea (AMO): hiper celularidad, grasa disminuida. Megacariocitos disminuidos en número con morfología normal. Se observa una infiltración por promonocitos (10%) y blastos (26%) de mediano y gran tamaño, núcleo de contorno regular, con frecuencia con forma arriñonada (monocitoide). La serie

eritroide se encuentra bien representada (24%) en todos sus estadios de maduración. La serie mielóide con presencia de todos los precursores mieloides. (30%). Linfocitos (3%), células plasmáticas (1%). (Figura 2 y 3).

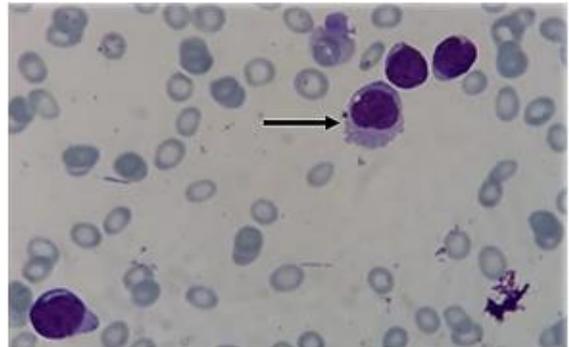


Fig. 2: Blastos de mediano y gran tamaño, núcleo de contorno regular, con frecuencia con forma arriñonada (monocitoide)

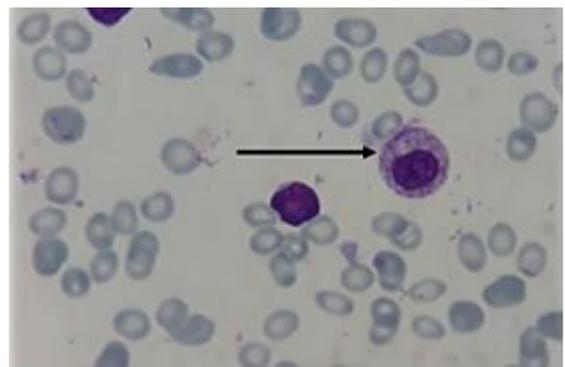


Fig. 3: Presencia de precursores mieloides y neutrófilos mayores del 20%

Citometría de Flujo en Médula Ósea: se evaluaron 200.000 eventos con el 90% de células viables. La curva de maduración de la serie granulocito-neutrófilos se encuentra alterada, sólo se observan formas maduras. Se detectan dos poblaciones patológicas por inmunofenotipo, la población 1 corresponden fenotípicamente a células de la serie monocitoide y la población 2 constituye blastos con fenotipo de estirpe mielóide (Tabla 5); se detectó una población de blastos mieloides en presencia del 48.34% de promonocitos y monocitos, compatible con Leucemia Mielomonocítica Aguda (LMA M4)

Tabla 5: Diagnóstico por inmunofenotipo

POBLACION 1 (35,97%)		POBLACION 2 (48,34%)	
CD13+D	CYTCD3-	CD13+	CYTCD3-
CD15D+	CD3- ; CD7-	CD14+; CD15+	CD3-; CD7-
CD33+D	CD10-;	CD33+	CD10-
CD34+	CD11B-	CD11B+	CD34-
CD38+	CD14-; CD16-	CD35+; CD36+	CD16-
CD45+	CD19-; CD35-	CD38+D; CD45+	CD19-
CD117+	CD36-; CD64-	CD64+	CD117-
CYTMPPO+	CYTCD79A-	CYTMPPO+	CYTCD79A-
HLADR+	NTDT-	HLADR+	NTDT-

Fuente: Los autores

Citogenética Convencional MO.

- CARIOTIPO: 46 XX, se analiza 20 metafases mediante bandas GTG, que son citogenéticamente normales.

Biología molecular en Sangre periférica por RT-PCR.

- Análisis negativo para: FLT3/ITD, PLM/Rara, AML-1ETO, BCR/ABL.
- Análisis positivo para: CBF-MYH11/Inversión del cromosoma 16 (inv. (16) (p13.1q22) B).

PCR para detección del gen fusión CBF/MYH11.

La extracción del ARN se obtuvo por la Técnica Trizol (fenol-cloroformo y guanidina tiocianato) descrita por Chomczynski y en la obtención del ADN complementario se empleó el kit Script Reverse Transcriptasa.²⁴

El proceso de amplificación por RT-PCR anidad se emplearon los pares de cebadores CBFB y MYH11 (Tabla 6).

Tabla 6: Diagnóstico por inmunofenotipo

Primer code	Sequence 5'- 3'
CBFB-A	GCA GGC AAG GTA TAT TTG AAG G
MYH11-B1	TGA AGC AAC TCC TGG GTG TC
MYH11-B2	TCC TCT TCT CCT CAT TCT GCT C
CBFB-C	GGG CTG TCT GGA GTT TGA TG
MYH11-D1	TCC CTG TGA CGC TCT CAA CT
MYH11-D2	CTT GAG CGC CTG CAT GTT

Fuente: Dongen J van et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia* . 1999; 13(12): 1901-28.

Los productos amplificados son analizados cualitativamente por electroforesis en gel de agarosa al 2 % utilizando bromuro de etidio como colorante de revelado.

En la primera PCR se amplificó el producto con los cebadores A-B2, la mutación se identificó a de 418 pb como observamos en la Figura 4.

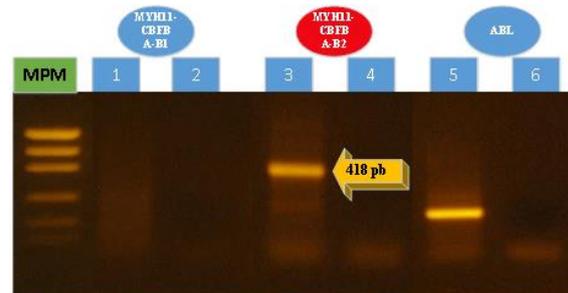


Fig. 4: Primera amplificación del gen de fusión MYH11/CBFB (1= A-B1; 3=A-B2), 5 ABL, 2-4-6 controles negativos. MPM: marcador de peso molecular de 100pb, pb: pares de bases

En la segunda PCR se amplificó el producto con los cebadores C-D2, la mutación se identificó a de 271 pb como observamos en la Figura 5.

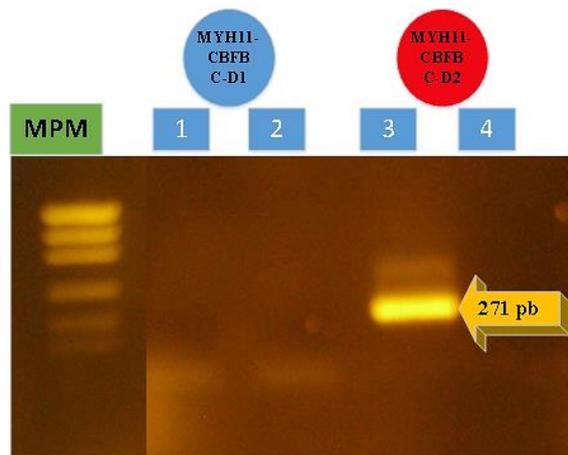


Fig. 5: Segunda amplificación de MYH11/CBFB (1= C-D1; 3=C-D2), 2-4 controles negativos. MPM: marcador de peso molecular de 100pb, pb: pares de bases

Tratamiento de primera línea.

La LMA con inv. (16) (p.13.1q22) según la clasificación de la OMS 2016 se categorizada como de pronóstico favorable. Se inició el tratamiento bajo protocolo LMA-MD ANDERSON con esquema específico para el ciclo de inducción, ciclo de consolidación y CTF en AMO (Tabla 7).

Tabla 7: Tratamiento de inducción y post-remisión en el paciente

ESQUEMA	CICLO DE INDUCCION:		CICLO DE CONSOLIDACION	
	IDARRUBICINA/ CTARABINA (3+7)		1ra intensificación	2da intensificación
			CTARABINA/ ETOPOSIDO	CTARABINA/ IDARRUBICINA
AMO CTF	Granulocitos/ Neutrófilos	68.7%	Granulocitos/ Neutrófilos	82.2%
	mieloblastos	1.82%	mieloblastos	2.1%
	Promielocitos y mielocitos	(14.56%)	Promielocitos y mielocitos	21.9%
	metamielocitos	35.7%	metamielocitos	47.5%
	Bandas y neutrófilos	47.8%	Bandas y neutrófilos	27.6%
	Monocitos/células dendríticas	12.7%	Monocitos/células dendríticas	5.30%
	Linfocitos totales +NK	14.7%	Linfocitos totales +NK	14.7%
5.000.000 de eventos/vialidad	88 %	2.000.000 de eventos/vialidad	80 %	
Compromiso madurativo hacia línea mieloide	1.61%	Eosinófilos/ total celular	0.05%	
Serie granulocito/neutrófilos se encuentra alterada en los estadios IV		Serie granulocito/neutrófilos se encuentra alterada en los estadios II, III y IV		
Serie monocítica / normal		Serie monocítica / normal		
Linfocitos B: no hay variación		Linfocitos B: no hay variación		
Serie roja se encuentra disminuida		Subpoblación linfóide T es policlonal/citotóxico normal		
MO por CMF no se detecta proliferación clonal o actividad por LMA.		MO por CMF es negativo para infiltración por células mieloides o monocitoides		

3 Discusión

En este trabajo se detectó por RT-PCR anidad el gen de fusión CBFβ/MYH11 en paciente con diagnóstico de LMA M4 con inv.¹⁶(p13.1q22) según la última clasificación de la WHO 2016.^{13,25} Como agregado presentaba Miastenia Gravis (conocido previamente), por lo que durante toda su evolución se mantuvo con su medicación de base (piridostigmina, micofenolato de mofetil) y se limitó el uso de ciertos fármacos por su riesgo a exacerbar una crisis miasténica.

La integración de los marcadores citogenéticos y moleculares ha innovado la estratificación pronóstico (favorable, intermedio, alto riesgo) de la Leucemia Mieloide Aguda (LMA) simplificando el desarrollo del concepto de terapia adaptada al riesgo.^{13,26}

Tanto la t(8;21) y la inv.(16) son alteraciones citogenéticas que se asocian a pronóstico favorable, ambas tienen en común que resultan en dos transcritos (AML1/ETO y CBFβ/MYH11 respectivamente) que engloban los genes encargados de la codificación de los dos heterodímeros del “core binding factor” (CBF), CBFα y CBFβ. Estos tienen un riesgo de recidiva menor al observado en los grupos de riesgo intermedio y alto; y parece que se benefician especialmente del tratamiento con altas dosis de citarabina durante la consolidación;^{26,27} el caso de nuestra paciente, por todo lo previamente expuesto fue categorizada como de pronóstico favorable, pero sin la posibilidad de realizar un panel molecular ampliado (accesibilidad, costo, disponibilidad, secuenciación masiva, etc.) que nos permita hacerlo con mayor certeza.

Existen estudios en donde al detectar marcadores moleculares como FLT3 (FLT3-ITD), NPM1, o CEBPα ha permitido mejorar la estratificación pronóstico de los pacientes con cariotipo normal y se hace necesaria en la actualidad para el manejo clínico de este subgrupo de enfermos en cuanto al riesgo estimado de recidiva y la supervivencia libre de enfermedad.^{13,17,18}

Debido a que los nuevos agentes ofrecen limitados mejoramientos en cuanto a supervivencia global, el trasplante alogénico persiste siendo el gold standard para aquellos que pueden tolerar el procedimiento y en quienes no adquieran la remisión postquimioterapia¹⁵

4 Conclusiones

El uso de la técnica de RT-PCR anidada en el diagnóstico de la Leucemia Aguda Mielomonocítica mediante detección del punto de rotura del gen de fusión CBFβ/MYH11 permite tomar decisiones terapéuticas cruciales para mejorar el pronóstico y la calidad de vida del paciente.

5 Recomendaciones

De forma aplicable a nuestro medio, es muy importante seguir enfatizando la trascendencia de la biología molecular dentro del campo de LMA; por lo que es esencial seguir ampliando los paneles moleculares que nos integre mejor las resoluciones con el paciente.

6 Fuente de Financiamiento

Este estudio es autofinanciado.

7 Conflicto de Intereses

No existen conflictos personales, profesionales, financiero de otro tipo.

8 Consentimiento Informado

Los autores cuentan con el consentimiento informado de los pacientes para la investigación, la publicación del caso y sus imágenes.

Referencias Bibliográficas

1. Anci Alvarez C, Hoffmann M, Gisbert P, Al E. Evaluación de pacientes con leucemia mieloide aguda. Experiencia institucional. Hematología. 2019;23(1):8–12.
2. Quintero Sierra Y, Hernández Padrón C, Romero González A, Fernández YC, Macia Pérez I, Llerena Moreno D, et al. Incorporación de las altas dosis de antraciclina en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda del adulto. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2019;35(1).
3. Pacheco L. Leucemia mieloide aguda – Revista de Hematología;
4. Gonzalez GM. Análisis de supervivencia global de pacientes diagnosticados con leucemia mielode aguda en relación a factores de riesgo citogenético del Hospital Solca Quito durante el período mayo 2010 hasta mayo 2014; 2015.
5. Garrote Santana H, Amor Vigil AM, Díaz Alonso CA, Fernández Martínez L, Ruiz Moleón V, Machín García S, et al. Caracterización del gen de fusión

- RUNX1-RUNX1T1 en pacientes cubanos con leuce-19. *Rev cuba hematol inmunol hemoter*. 2018 sep;34(3):1–16. Available from: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/910/799>.
6. Opatz S, Vosberg S, Ksienzyk B, Tschuri S, Graf A, Krebs S, et al. Clonal Evolution of Relapsed CBF/MYH11 Rearranged Acute Myeloid Leukemia (AML). *Blood*. 2018 nov;132(Supplement 1):2772–2772.
 7. Saida S, Zhen T, Kwon EM, Lopez G, Liu PP. Distinct Roles of GATA2 in Development and Evolution of CBF/MYH11 AML. *Blood*. 2018 nov;132(Supplement 1):770–770.
 8. Kayser S, Levis MJ. Clinical implications of molecular markers in acute myeloid leukemia; 2019.
 9. Hyde RK, Zhao L, Alemu L, Liu PP. Runx1 is required for hematopoietic defects and leukemogenesis in Cbfb-MYH11 knock-in mice. *Leukemia*. 2015 aug;29(8):1771–1778.
 10. Wang ML, Bailey NG. Acute myeloid leukemia genetics risk stratification and implications for therapy. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2015 sep;139(10):1215–1223.
 11. Amor Vigil AM, Hernández Miranda LL, Díaz Alonso CA, Fernández Martínez L, Ruiz Moleón V, Garrote Santana H. La biología molecular en la precisión diagnóstica de las leucemias TT. *Rev cuba hematol inmunol hemoter*. 2018;34(3):1–7. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892018000300007.
 12. Lira V P. Leucemia aguda mieloide: diagnóstico y tratamiento. *ARS MEDICA Revista de Ciencias Médicas*. 2017 may;18(4):95.
 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; 2017.
 14. Pollyea DA. New drugs for acute myeloid leukemia inspired by genomics and when to use them. *Hematology (United States)*. 2018;2018(1):45–50.
 15. DeStefano CB, Hourigan CS. Personalizing initial therapy in acute myeloid leukemia: incorporating novel agents into clinical practice. *Therapeutic Advances in Hematology*. 2018 may;9(5):109–121.
 16. Bewersdorf JP, Shallis R, Stahl M, Zeidan AM. Epigenetic therapy combinations in acute myeloid leukemia: what are the options? *Therapeutic Advances in Hematology*. 2019;10:204062071881669.
 17. Leick MB, Levis MJ. The Future of Targeting FLT3 Activation in AML; 2017.
 18. Garcia JS, Stone RM. The Development of FLT3 Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia; 2017.
 19. Sayar H, Bashardoust P, Cripe L, Chakraborty S, Bai S. Long-term outcome of NPM1 mutated acute myeloid leukemia: A single-institution experience; 2017.
 20. Arber DA, Borowitz MJ, Cessna M, Ezzell J, Foucar K, Hasserjian RP, et al. Initial Diagnostic Workup of Acute Leukemia: Guideline From the College of American Pathologists and the American Society of Hematology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2017 feb;141(10):1342–1393.
 21. Aypar U, Smoley SA, Pitel BA, Pearce KE, Zenka RM, Vasmatzis G, et al. Mate pair sequencing improves detection of genomic abnormalities in acute myeloid leukemia. *European Journal of Haematology*. 2019;102(1):87–96.
 22. Garrote Santana H, Lavaut-Sánchez K, Amor Vigil AM, Díaz Alonso C, Fernández Martínez L, Ruiz Moleón V, et al. Cinco décadas de la biología molecular y la citogenética aplicadas a la hematología Cubana; 2017.
 23. Sasaki K, Kantarjian HM, Luthra R, Patel KP, Garcia-Manero G, Verstovsek S, et al. Qualitative and Quantitative Correlation of PML-Rara Fusion Transcript from Peripheral Blood and Bone Marrow Samples By Quantitative Real-Time PCR in Patients with Acute Promyelocytic Leukemia. *Blood*. 2015;126(23):3756–3756.
 24. Cayamcela A, Javier M. Reacción en cadena de polimerasa transcriptasa inversa para diagnóstico de leucemia mieloide crónica Cuenca 2013-2017. 2018. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/31323>.
 25. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia; 2016.
 26. Prada-Arismendy J, Arroyave JC, Röthlisberger S. Molecular biomarkers in acute myeloid leukemia; 2017.
 27. Sinha C, Cunningham LC, Liu PP. Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: New Prognostic Categories and Therapeutic Opportunities; 2015.

Recibido: 3 de septiembre de 2019

Aceptado: 10 de mayo de 2020

