



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TESINA

**Mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2 como
marcadores moleculares epigenéticos en leucemia mieloide
aguda.**

**PARA OBTENER EL GRADO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA

JOAQUÍN GARCÍA SOLORIO

ASESOR

DOCTOR EN CIENCIAS CARLOS CORTÉS PENAGOS

MORELIA, MICHOACÁN ENERO 2020

RESUMEN

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una neoplasia que surge de las células madre y progenitores hematopoyéticos. Durante el curso de la transformación maligna, estas células experimentan una evolución genética y epigenética continua y una diversificación clonal. Como consecuencia, la LMA se compone de poblaciones heterogéneas de células malignas. Las subclonas de las células leucémicas suelen contener conjuntos distintos de anomalías citogenéticas y mutaciones somáticas, lo que resulta en una considerable complejidad genética. En la clasificación de la leucemia mieloide aguda realizada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se describen las anomalías genéticas y su asociación con características clínico patológicas distintivas, así como la significancia pronóstica de cada una de ellas. En las últimas revisiones se han incluido LMA con mutaciones genéticas que afectan a NPM1, CEBPA y RUNX1, sin embargo existen variedad de estudios que aseveran la significancia que otras mutaciones tienen en el desarrollo de la enfermedad, por ejemplo genes que codifican para proteínas con diferentes funciones que van desde señalización (por ejemplo FLT3, C-KIT y NRAS), modificadores de la cromatina (MLL, ASXL), genes supresores de tumores (TP53, WT1) hasta los genes que codifican para proteínas con funciones de reguladores epigenéticos. Todos estos tipos de aberraciones cromosómicas y mutaciones pueden ser coexistentes entre unas y otras en los casos de LMA y así dar una diferente perspectiva de la evolución que los pacientes presentarán. Actualmente se asocian mutaciones en genes que codifican para proteínas con funciones en la metilación del DNA, (DNMT3A, TET2 e IDH1/2), las cuales no se han asociado a las alteraciones cromosómicas características del desarrollo de LMA y su valor pronóstico aún no está clarificado.

Palabras clave: Leucemia, epigenética, mutaciones, pronóstico, clasificación.

ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) is a neoplasm that arises from stem cells and hematopoietic progenitors. During the course of the malignant transformation, these cells undergo continuous genetic and epigenetic evolution and clonal diversification. As a consequence, AML is made up of heterogeneous populations of malignant cells. The subclones of the leukemic cells usually contain different sets of cytogenetic abnormalities and somatic mutations, resulting in considerable genetic heterogeneity. The classification of acute myeloid leukemia by the World Health Organization (WHO) describes genetic abnormalities and their association with distinctive pathological clinical features, as well as the prognostic significance of each of them. In recent reviews, AML with genetic mutations affecting NPM1, CEBPA and RUNX1 have been included, however there are a variety of studies that ensure the significance that other mutations have in the development of the disease, for example genes that code for proteins with different functions ranging from signaling (for example FLT3, C-KIT and NRAS), chromatin modifiers (MLL, ASXL), tumor suppressor genes (TP53, WT1) to genes encoding proteins with epigenetic regulator functions. All these types of chromosomal aberrations and mutations can be coexisting between them in the cases of AML and thus give a different perspective of the evolution that patients will present. Currently, mutations are associated in genes that code for proteins with functions in DNA methylation, (DNMT3A, TET2 and IDH1 / 2), which have not been associated with the chromosomal alterations characteristic of the development of AML and their prognostic value is not yet clarified

Keywords: leukemia, epigenetics, mutations, prognosis, classification.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
GLOSARIO	6
ABREVIATURAS	8
1 INTRODUCCIÓN.....	10
1.1 Antecedentes.....	10
1.2 Definición del problema.....	10
1.3 Justificación.....	11
1.4 Objetivo general	11
1.5 Objetivo específico.....	11
1.6 Hipótesis.....	11
2 MARCO TEÓRICO	12
2.1 Leucemia mieloide aguda: Incidencia y frecuencia	12
2.2 Características de la leucemia mieloide aguda.....	13
2.3 Clasificación de la leucemia mieloide aguda por la Organización Mundial de la Salud.....	14
2.3.1 Leucemia mieloide aguda con recurrentes anormalidades genéticas.....	14
2.4 Origen de la leucemia mieloide aguda.....	16
2.5 Teoría del doble hit en leucemia mieloide aguda	17
2.6 Epigenética en leucemia mieloide aguda.....	19
2.7 Metilación del DNA y metiltransferasas.	20
2.7.1 Metiltransferasas DNMT1, DNMT2 y DNMT3L.....	21
2.7.2 Metiltransferasas DNMT3A y DNMT3B.....	21
2.8 Desmetilación del DNA.....	23
2.8.1 Proteínas TET oxigenasas del DNA.....	24
2.8.2 Enzimas isocitrato deshidrogenasa (IDH1 e IDH2).....	25
2.9 Metilación del DNA en cáncer	27
2.10 Metilación del dna en leucemia mieloide aguda.....	27
2.10.1 Mutaciones en el gen DNMT3A en leucemia mieloide aguda.....	28

2.10.2 Mutaciones en el gen TET2 en leucemia mieloide aguda	30
2.10.3 Mutaciones en los genes IDH1 e IDH2 en leucemia mieloide aguda	31
2.11 Pronóstico	33
2.11.1Pronóstico de las mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2	35
3 RESULTADOS	37
4 DISCUSIÓN.....	42
5 CONCLUSIONES.....	44
6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hematopoyesis normal y generación de blastos mieloides leucémicos.....	17
Figura 2. Teoría del doble hit	19
Figura 3. Estructura del gen y de la proteína DNMT3A	22
Figura 4. Estructura del gen y la proteína TET2.	25
Figura 5. Estructura del gen y la proteína IDH1 e IDH2.....	26
Figura 6. Localización de las mutaciones más frecuentes en DNMT3A	29
Figura 7. Localización de las mutaciones más frecuentes en TET2.....	31
Figura 8. Localización de las mutaciones más frecuentes en IDH1	32
Figura 9. Localización de las mutaciones más frecuentes en IDH2.....	33
Figura 10. Diagrama de cuerdas de los casos reportados de leucemia mieloide aguda con mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 coexistentes en las entidades con recurrentes anormalidades genéticas de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud.....	39
Figura 11. Pronóstico de las mutaciones en DNMT3, TET2 e IDH1/2 en leucemia mieloide aguda	40

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la leucemia mieloide aguda y neoplasias mieloide de la Organización Mundial de la Salud	15
Tabla 2. Mutaciones descritas como impulsoras del desarrollo de leucemia mieloide aguda	18
Tabla 3. Clasificación del riesgo por anomalías genéticas de la European Leukemia NET en casos de leucemia mieloide aguda	35
Tabla 4. Coexistencia de mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1 e IDH2 en entidades con recurrentes anomalías genéticas de la Organización Mundial de la Salud.....	38
Tabla 5. Reportes del pronóstico de pacientes con leucemia mieloide aguda con mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2.....	41

GLOSARIO

Alteraciones somáticas. Alteración genética adquirida por una célula que puede transmitirse a la progenie de la célula mutada en el curso de la división celular

Apoptosis. Muerte celular programada que ocurre en organismos multicelulares

Blastos. Célula sanguínea primitiva, indiferenciada, que a menudo se encuentra en la sangre de las personas con leucemia.

Células madre. Célula indiferenciada de un organismo multicelular que es capaz de dar lugar indefinidamente a más células del mismo tipo, y de las cuales surgen ciertos otros tipos de células por diferenciación.

Cromatina. Masa de material genético compuesto de DNA y proteínas que se condensan para formar cromosomas durante la división celular eucariota

Epigenética. Estudio de cambios de fenotipo heredables que no implican alteraciones en la secuencia de DNA.

Genoma. Es el material genético de un organismo. Se compone de DNA. El genoma incluye tanto los genes como el DNA no codificante, así como el DNA mitocondrial y el DNA del cloroplasto.

Hematopoyesis. La hematopoyesis se refiere a los procesos de compromiso y diferenciación que conducen a la formación de todas las células sanguíneas.

Hipermetilación: La hipermetilación es una aberración del control epigenético que es importante para la inactivación genética en las células cancerosas.

Hipometilación. Se refiere a la pérdida del grupo metilo en el nucleótido de 5-metilcitosina y está asociado a activación de genes.

Inversión. Reordenamiento cromosómico en el que un segmento de un cromosoma se invierte de extremo a extremo.

Islas CpG. Las islas CpG se definen como tramos de DNA de 500–1500 pb de largo con una relación CG: GC de más de 0.6, y normalmente se encuentran en los promotores y contienen el extremo 5' de la transcripción.

Leucemia mieloide aguda. Es un trastorno heterogéneo caracterizado por la expansión clonal de los progenitores mieloides (blastos) en la médula ósea y la sangre periférica.

Metilación. Denota la adición de un grupo metilo en un sustrato, o la sustitución de un átomo (o grupo) por un grupo metilo (CH₃).

Metiltransferasa. Las metiltransferasas son un gran grupo de enzimas que metilan todos sus sustratos, pero se pueden dividir en varias subclases en función de sus características estructurales.

Mutación. Una mutación genética es una alteración permanente en la secuencia de DNA que forma un gen, de modo que la secuencia difiere de lo que se encuentra en la mayoría de las personas. Las mutaciones varían en tamaño; pueden afectar en cualquier lugar, desde un solo bloque de construcción de DNA (par de bases) hasta un gran segmento de un cromosoma que incluye múltiples genes.

Mutaciones frameshift. Mutación que consiste en la inserción o delección de un número de bases, que no es múltiplo de tres, con lo que se cambia el marco de la lectura original y la secuencia de los aminoácidos.

Mutaciones missense. Es un tipo de mutación puntual no sinónima en la cual se produce un cambio en un único nucleótido, provocando la aparición de un codón que codifica para un aminoácido diferente

Mutaciones nonsense. Tipo de mutación puntual en una secuencia de DNA que provoca la aparición de un codón de terminación prematuro, llamado también codón sin sentido.

Mutaciones splice-site. Mutaciones en el sitio de empalme, mutación que altera o suprime la secuencia específica que indica el sitio en el que tiene lugar el splicing de un intrón.

Neoplasias mieloproliferativas. Son cánceres de sangre que ocurren cuando el cuerpo produce demasiados glóbulos blancos o rojos, o plaquetas. Esta sobreproducción de células sanguíneas en la médula ósea puede crear problemas para el flujo sanguíneo y provocar varios síntomas.

Pronóstico. El resultado probable o el curso de una enfermedad; la posibilidad de recuperación o recurrencia.

Reguladores epigenéticos. Proteínas que participan en la creación, detección e interpretación de señales epigenéticas, como la metilación o las modificaciones postraduccionales de histonas.

Síndromes mielodisplásicos. Son condiciones médicas que pueden ocurrir cuando las células formadoras de sangre en la médula ósea se vuelven anormales. Esto conduce a un bajo número de uno o más tipos de células sanguíneas. Se consideran un tipo de cáncer.

Translocación. La translocación cromosómica es un fenómeno que produce una reorganización inusual de los cromosomas. Esto incluye translocación balanceada y no balanceada.

Wild-type (Silvestre). Se refiere al fenotipo de la forma típica de una especie tal como ocurre en la naturaleza.

ABREVIATURAS

5caC. 5 Carboxilcitosina.

5fC. 5 Formilcitosina.

5hmC. 5 Hidroximetilcitosina.

5mC: 5 metilcitosina.

AMLs. Leucemia mieloide secundaria.

ATP. Trifosfato de adenosina.

CD. Cluster of differentiation.

CpG. Dinucleotido de citosina seguido de guanina.

CR. Complete Remission.

DFS. Disease free survival.

DNA. Ácido desoxirribonucleico.

DNMT3A. DNA metiltransferasa 3 alfa.

DNMT3A^{MUT}. DNA metiltransferasa 3 alfa mutado.

DNMT3A^{noR882}. DNA metiltransferasa 3 alfa con mutación en distinta a R882.

DNMT3A^{R882}. DNA metiltransferasa 3 alfa con mutación en R882.

DNMT3A^{WT}. DNA metiltransferasa 3 alfa silvestre.

ELN. European Leukemia Net.

HMA.s. Agentes hipometilantes.

HSC. Células madre hematopoyéticas.

IDH1. Enzima Isocitrato deshidrogenasa 1.

IDH1^{R132}. Enzima Isocitrato deshidrogenasa 1 con mutación en R132.

IDH2. Enzima Isocitrato deshidrogenasa 2.

IDH2^{R140}. Enzima Isocitrato deshidrogenasa 2 con mutación en R140.

IDH2^{R170}. Enzima Isocitrato deshidrogenasa 2 con mutación en R170.

LMA NOS. Leucemia mieloide aguda no especificada de otra manera.

LMA. Leucemia mieloide aguda.

LMA-CBF. Leucemia mieloide aguda con t(8;16) o Inv16.

LMA-CN. Leucemia mieloide aguda citogeneticamente normal.

LMA-MRC. Leucemia mieloide con cambios relacionados con mielodisplasia.

LMA-RT. Leucemia mieloide aguda relacionada con la terapia.

LSC. Células madre leucémicas.

MDS. Síndrome mielodisplásico.

MPN. Neoplasias mieloproliferativas.

MPP. Progenitor multipotente

NADP. Dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato.

OMS. Organización mundial de la salud.

OS. Supervivencia promedio.

Pre-LSC. Células madre Preleucémicas.

SAM. S-Adenosyl-L-Metionina.

TET2. Ten eleven translocation.

WES. Whole exome sequencing.

WGS. Whole genome sequencing.

α -KG. Alfa cetoglutarato.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

La leucemia mieloide aguda (LMA) descrita por Janet Rowley en 1973 como una enfermedad genética (Rowley, *et al.*, 1973), es una neoplasia caracterizada por ser tan variable clínicamente, genotípicamente y fenotípicamente que produce disrupciones en la hematopoyesis normal (Lagunas-Rangel, *et al.*, 2017). La primera relación de la epigenética con la LMA se da en la década de los 90 cuando se comenzó a investigar la hipermetilación del DNA y el consecuente silenciamiento de genes (Melki, *et al.*, 1999). Con base en las investigaciones posteriores y el conocimiento del genoma completo se han identificado mutaciones somáticas en genes que codifican para proteínas implicadas en diferentes vías de regulación celular, una de ellas es la regulación epigenética que incluyen la metilación del DNA y modificaciones químicas de la cromatina (Plass, *et al.*, 2008) (Li, *et al.*, 2017). Una de los procesos celulares donde las modificaciones epigenéticas juegan un papel muy importante es en la hematopoyesis por lo que alteraciones en los reguladores son detonantes del desarrollo de leucemias y de otros trastornos hematológicos como síndromes mielodisplásicos y las neoplasias mieloproliferativas (Björkholm, *et al.*, 2011). Las mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2 que forman parte de la maquinaria regulatoria epigenética han revelado detalles del complejo desarrollo de las leucemias mieloide agudas, así como su contribución en la transformación maligna (Ley, *et al.*, 2010) (Abdel-Wahab, *et al.*, 2009) (Mardis, *et al.*, 2009) (Paschka, *et al.*, 2010).

1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La leucemia mieloide aguda comprende un conjunto de padecimientos genéticamente heterogéneos caracterizados por la presencia de alteraciones cromosómicas y/o genéticas. Algunos de estos cambios genéticos han sido asociados a entidades patológicas bien definidas clínicamente y se han utilizado para describir el curso de la enfermedad y respuesta a los tratamientos establecidos. Actualmente se han descrito, para este tipo de leucemia, nuevas mutaciones en genes que codifican para proteínas implicadas en la metilación del DNA (DNMT3A, TET2 e IDH1/2) cuyo valor diagnóstico y pronóstico aún no está claro.

1.3 JUSTIFICACIÓN

La leucemia mieloide aguda (LMA) es el tipo más común de leucemia aguda en adultos con una tasa de mortalidad del 75% a los 5 años, caracterizada por ser una enfermedad heterogénea genéticamente con recurrentes anormalidades cromosómicas y mutaciones que proveen información clinicopatológica y que son importantes marcadores de diagnóstico y pronóstico por ejemplo las mutaciones en NPM1, CEBPA y FLT3. En la última década las investigaciones han identificado otras mutaciones somáticas, incluyendo aquellas dentro de los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2, las cuales han sido asociadas con el curso de la enfermedad, respuesta al tratamiento y el pronóstico de los pacientes. La realización de esta revisión tiene la finalidad de orientar a la comunidad médica, así como mejorar el entendimiento y las implicaciones que estas mutaciones tienen en el desarrollo de esta neoplasia.

1.4 OBJETIVO GENERAL

Describir la prevalencia de mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2 en los subtipos moleculares de la leucemia mieloide aguda establecidos por la Organización Mundial de la Salud.

1.5 OBJETIVO ESPECIFICO

Establecer el valor pronóstico de las mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2 en los casos de leucemia mieloide aguda.

1.6 HIPÓTESIS

Las mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2 son marcadores moleculares de mal pronóstico asociadas con casos de leucemia mieloide aguda con cariotipo normal.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: INCIDENCIA Y FRECUENCIA

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una forma de neoplasia maligna que se caracteriza por infiltración de la médula ósea, sangre y otros tejidos por la proliferación, clonalidad, diferenciación anormal y ocasionalmente una diferenciación pobre de células del sistema hematopoyético. A pesar de que fue incurable hace 50 años, los casos de LMA ahora son curables en 35 a 40% en los pacientes adultos menores de 60 años de edad y en un 5 a 15% de pacientes mayores de 60 años de edad (Döhner, *et al.*, 2010). La LMA es uno de los tipos de leucemia más comunes en adultos. Aun así, los casos de LMA son raros, representando solo un 1% de todos los cánceres en Estados Unidos de América. La LMA es una enfermedad generalmente de personas de edad avanzada y es raro que se presente antes de los 45 años, se ha establecido que el promedio de edad en las personas que han sido diagnosticadas con LMA es de 68 años, sin embargo, existen casos reportados de LMA en niños por lo cual existe la posibilidad de padecer LMA en edad temprana. La LMA es ligeramente más común en hombres que en mujeres. Según los nuevos datos de la sociedad americana del cáncer estimaron que para 2019 los casos nuevos de leucemia en Estados Unidos de América fueron alrededor de 61,780 y 22,840 de ellos mortales según la American Cancer Society. En México no se cuenta con información confiable respecto de esta enfermedad, la incidencia, la prevalencia y la mortalidad son datos que no se pueden considerar exactos, aunque se han realizado diferentes esfuerzos locales o regionales para obtener información epidemiológica (Gutiérrez-Aguirre, *et al.*, 2014). El perfil epidemiológico de los tumores malignos en México, publicado en 2011, registra 2495 casos de leucemia mieloide de 2004 a 2006, para el año 2008 hubo 4,338 egresos hospitalarios, de los que 2896 fueron específicamente por LMA. De acuerdo con la información de egresos hospitalarios del sector salud publicada en las bases de datos de 2011 a 2015, hubo 16,291 egresos por LMA, de los que 52% fueron hombres y 48% mujeres, mientras que 68.9% fueron adultos y 31.1% correspondieron a menores de 17 años de edad. El 10.5% de los egresos se debió a defunción y 84.5% a curación o mejoría según la Secretaría de Salud en México. A pesar de que los avances en los tratamientos de LMA han dejado un significativo mejoramiento en los resultados de pacientes jóvenes, el pronóstico de los pacientes de edad avanzada los cuales se reportan como mayoría de los nuevos casos, permanece débil (Shah, *et al.*, 2013). Incluso con los tratamientos de hoy en día, el 70% de los pacientes de 65 años de edad morirán dentro del 1 año del diagnóstico (Meyers, *et al.*, 2013).

2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

La leucemia mieloide aguda (LMA) es un desorden clonal de las células madre hematopoyéticas (Hematopoietic Stem Cells (HSC) en inglés) caracterizado por la inhibición de la diferenciación y la subsecuente acumulación de células en varios estadios de incompleta maduración (blastos) y la reducción de la producción de las células sanas de los elementos hematopoyéticos, estas citopenias causan manifestaciones clínicas como los síntomas de anemia (fatiga), neutropenia (infecciones) y la trombocitopenia (hemorragia), los cuales están generalmente presentes en el momento del diagnóstico y son dominantes durante el tratamiento (Ferrara Schiffe 2013). Durante la progresión leucémica, los blastos de LMA ocupan y probablemente alteran el nicho donde las células madre hematopoyéticas residen (Morrison, *et al.*, 2014). Si la cantidad de blastos en la médula ósea es de 20%, como mínimo, se considera diagnóstico de LMA (Arber, *et al.*, 2016.) Morfológicamente hablando, los blastos de LMA varían en el tamaño ligeramente más grandes que los linfocitos, presentan bastones de Auer y el núcleo es grande, generalmente contienen varios nucléolos. Los blastos de LMA expresan antígenos que también son expresados en las células mieloides sanas inmaduras, incluyendo marcadores de diferenciación CD13, CD33 y CD34 (Campos, *et al.*, 1989). En raras ocasiones, los blastos pueden exhibir características morfológicas e inmunofenotípicas de células mieloides y linfoides, lo que dificulta su clasificación como de origen mieloide o linfoide. Estos casos se clasifican como leucemia fenotípica mixta y por lo general son de peor pronóstico (Wolach, *et al.*, 2015). Las categorías de clasificación de la LMA pueden ser basadas en 3 factores, por ejemplo, si existe historial de tratamiento, antecedentes de neoplasias hematológicas (LMA secundaria, por ejemplo, síndrome mielodisplásico o neoplasias mieloproliferativas) o si se desarrolla cuando no existe ningún antecedente previo de LMA (LMA de novo). Los factores de riesgo pueden ser síndromes familiares como síndrome de Down, desórdenes genéticos, ambiental o por exposición a radiación con fines terapéuticos y no terapéuticos, así como por agentes quimioterapéuticos antineoplásicos como los agentes alquilantes (Deschler, *et al.*, 2006). Uno de ellos son los inhibidores de la topoisomera II que están estrechamente relacionados con la LMA con translocación 11q.23 (Pendleton, *et al.*, 2014). Sin embargo, las alteraciones genéticas son las principales causas, algunas de ellas son las anormalidades cromosómicas por ejemplo las translocaciones t(8;21), t(15;17) y la inversión del cromosoma 16, todas ellas asociadas a un buen pronóstico (Döhner, *et al.*, 2015), sin embargo alrededor de 40% - 50% de todos los casos de LMA son citogenéticamente normal (LMA-CN) (Gaidzik, *et al.*, 2008) y las mutaciones son identificadas en más del 97% de los casos (Patel, *et al.*, 2012). Las anormalidades moleculares encontradas en LMA-CN se encuentran en genes específicos que afectan genes con diferentes funciones que van desde proteínas con funciones de señalización, regulación de la transcripción y epigenéticas.

2.3 CLASIFICACIÓN DE LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA POR LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

En el 2001, como parte de un esfuerzo de integrar los avances realizados en el diagnóstico y manejo de leucemia mieloide aguda (LMA), la organización mundial de la salud (OMS) introdujo un nuevo sistema de clasificación seguido por una versión revisada en el 2008. Los conceptos que subyacen a esta clasificación se derivaron de numerosos estudios clínicos y científicos publicados y de la experiencia de más de 100 patólogos, clínicos y científicos de todo el mundo que colaboraron para desarrollar esta clasificación por consenso (Harris, *et al.*, 1997) Después en 2016 se publica una nueva versión de la clasificación de la LMA que se distinguía por incorporar información genética junto con la morfología, inmunofenotipo y presentación clínica para definir seis entidades principales de la enfermedad: LMA con anomalías genéticas recurrentes, LMA con características relacionadas con la mielodisplasia, LMA relacionada con la terapia, LMA no especificado de otra manera, sarcoma mieloide y proliferación mieloide relacionada con el síndrome de Down (Arber, *et al.*, 2016).

2.3.1 Leucemia mieloide aguda con recurrentes anormalidades genéticas.

Entre los casos de LMA con anomalías genéticas recurrentes, 11 son los subtipos que se delinean de acuerdo con distintas translocaciones cromosómicas. Además, las entidades como NPM1 mutado y LMA con CEBPA mutado fueron introducidas como parte de la revisión de 2008 (Vardiman, *et al.*, 2009), posteriormente se introdujo LMA con BCR-ABL1 positivo y LMA con RUNX1 mutado en la revisión del 2016 (Arber, *et al.*, 2016).

Tabla 1. Clasificación de la Organización Mundial de la Salud de neoplasias mieloides y leucemia aguda.

Leucemia mieloide aguda (LMA) con recurrentes anomalías genéticas
○ LMA con t(8:21) (q22;q22); RUNX1-RUNX1T1
○ LMA con inv(16)(p13.1;q22) o t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11
○ LMA con PML-RARA
○ LMA con t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A
○ LMA con t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214
○ LMA con inv(3)(q21.3;q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM
○ LMA (Megacarioblastica) con t(1;22) (p13.3;q13.3); RBM15-MKL1
○ LMA con BCR-ABL1 (Entidad provisional)
○ LMA con mutación en NPM1
○ LMA con mutaciones bialélicas de CEBPA
○ LMA con mutación en RUNX1 (Entidad provisional)
Leucemia mieloide aguda con cambios relacionados con mielodisplasia
○ Neoplasia mieloide relacionada con la terapia
Leucemia mieloide aguda Not Otherwise Specified (NOS)
○ LMA con mínima diferenciación
○ LMA sin maduración
○ LMA con maduración
○ Leucemia mielomonocítica aguda
○ Leucemia monoblastica/monocítica
○ Leucemia eritroide pura
○ Leucemia megacarioblastica aguda
○ Leucemia basófila aguda
○ Panmielosis aguda con mielofibrosis
Sarcoma mieloide
Proliferaciones mieloides relacionadas con Síndrome de Down
○ Mielopoyesis anormal transitoria (TAM)
○ Leucemia mieloide asociada con síndrome Down

Tomado de Arber, *et al.*, 2016.

2.4 ORIGEN DE LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Los trabajos pioneros realizados por Janet Rowley establecieron que la leucemia mieloide aguda (LMA) es una enfermedad genética, a través del descubrimiento de anomalías cromosómicas somáticas como las translocaciones t(8;21) y t(15;17) en las células leucémicas de algunos pacientes (Rowley, *et al.*, 1973). El cambio de una célula normal a una célula maligna requiere de la adquisición de múltiples mutaciones somáticas que colectivamente forman parte del fenotipo maligno (Grove, *et al.*, 2014). Los genomas del cáncer son genéticamente heterogéneos y esto es más probable que refleje heterogeneidad a nivel de las células madre leucémicas (Leukemic stem cell (LSC)). Las HSC normales, al igual que otras células madre, están indiferenciadas a lo largo de su vida. Adicionalmente, las células madre hematopoyéticas (HSC) pueden sufrir auto-renovación (expansión clonal) o diferenciación (extinción clónica) división simétrica (Pina & Enver 2007). En promedio, se cree que las HSC humanas se dividen una vez cada 40 semanas (Catlin, *et al.*, 2011). La patogénesis molecular de LMA no ha sido completamente definida. Las recurrentes variaciones en las estructuras cromosómicas (ej., t(15;17), t(8;21), inv(16), t(9;21), t(9;11), del5, del7, etc.) están establecidas como diagnósticas y marcadores pronósticos, sugiriendo que la adquisición de anomalías genéticas juegan un papel esencial en la transformación leucémica (Betz & Hess, 2010) sin embargo alrededor del 50% de los casos de LMA aguda tienen un cariotipo normal (CN) y muchas de esas anomalías estructurales ausentes (Bullinger, *et al.*, 2010, Suela, *et al.*, 2007, Walter, *et al.*, 2009). Los análisis de secuenciación dirigida han identificado mutaciones severas que provén información diagnóstica y pronóstica, incluidas mutaciones en FLT3, NPM1, CEBPA y TET2 (Bacher, *et al.*, 2010, Stirewalt & Radich 2003). El advenimiento de la secuenciación masiva permitió el descubrimiento de mutaciones recurrentes en DNMT3A (Ley, *et al.*, 2010) e IDH1 (Mardis, *et al.*, 2009). A pesar de esos esfuerzos más del 25% de pacientes con LMA no tienen mutaciones en un gen conocido asociado a leucemia (Shen, *et al.*, 2011).

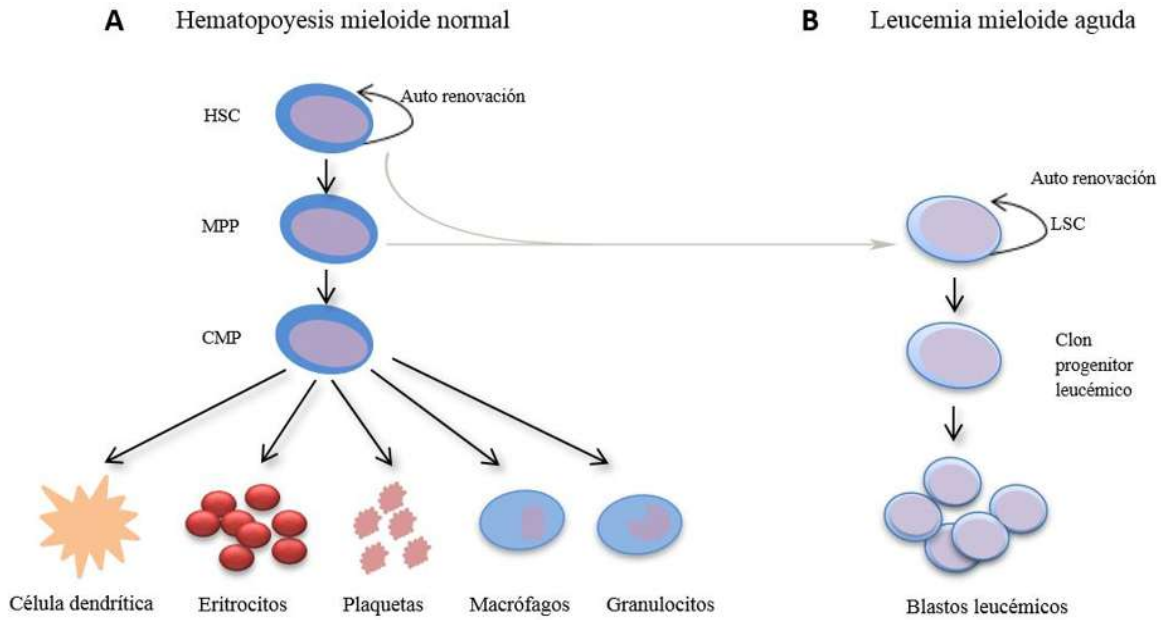


Figura 1. Hematopoyesis normal y generación de blastos mieloide leucémicos. (A) Las HSC de auto renovación residen en la parte superior de la jerarquía, dando lugar a progenitores multipotentes que a su vez dan lugar a progenitores comprometidos con el linaje que eventualmente producen células sanguíneas diferenciadas terminalmente. (B) La LMA está organizada como una jerarquía iniciada por células madre de leucemia autorrenovadoras que dan lugar a progenitores leucémicos, que a su vez dan lugar a estadios de leucemia. HSC: Hematopoietic stem cells, MPP: Multi-Potent Progenitor, CMP: Common myeloid progenitor, LSC: Leukemic stem cells. (Tomado y adaptado de Thomas & Majeti 2017).

2.5 TEORÍA DEL DOBLE HIT EN LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

En el año 2002 Gilliland and Griffin propusieron que para el desarrollo de un fenotipo leucémico se requiere de la adquisición de varias mutaciones basándose en “La teoría del doble hit” en la cual describen dos clases de mutaciones. Las mutaciones de clase I (ejemplo FLT3, KRAS, NRAS, PTPN11, NF1, y KIT) confiere a las células ventaja de supervivencia o proliferación y las mutaciones de clase II (ejemplo CEBPA, NPM1, RARA, RUNX1, PML/RAR α y MLL) involucrados con la interferencia de la diferenciación hematopoyética y la subsecuente apoptosis. Se piensa que las lesiones de clase II son las iniciadoras mientras que las mutaciones de clase I son eventos posteriores (Grove, *et al.*, 2014). El hecho de que algunos pacientes con leucemia mieloide aguda tengan más de una sola mutación en sus células leucémicas también indica que en muchos casos podría haber más que un “hit” genético requerido para el desarrollo de la leucemia (Welch, *et al.*, 2012) Aunado a esto, Higuchi *et al* demostraron en modelos de ratones con leucemia que una sola mutación en

genes no progresa hacia una evolución leucémica y que se requieren de mutaciones de otras clases. Gracias a los avances en técnicas como hibridación *in situ* fluorescente, bandas cromosómicas, hibridación genómica comparativa de matrices, secuenciación de Sanger, perfiles de polimorfismo de nucleótido único, secuenciación de genoma completo (WGS), secuenciación del exoma completo (WES) y secuenciación de RNA de células leucémicas se han encontrado mutaciones que no corresponden a ninguna de las 2 clases de mutaciones y que no han sido clasificadas porque las consecuencias de esas mutaciones no han sido identificadas; sin embargo, se piensa que tienen un importante papel en el desarrollo de la enfermedad, ejemplo de ello son las mutaciones en genes que codifican para reguladores epigenéticos como por ejemplo DNMT3A, TET2 e IDH1/2.

Tabla 2: Mutaciones descritas como impulsoras del desarrollo leucemia mieloide aguda

Clase 1 Señalización	Clase 2 Transcripción	Clase 3 Epigenéticas
FLT3	CEBPA	DNMT3A
JAK2	ETV6	IDH1/2
MPL	NPM1	TET2
NF1	RARA	ASXL1
CBL	RUNX1	EZH2

Adaptado de: Murati, *et al.*, 2012.

Se ha demostrado que las alteraciones de DNMT3A conducen a la reprogramación epigenética en la leucemia. En la etapa inicial de la leucemogénesis, se observan lesiones del DNA acumuladas, estímulos emergentes y estrés metabólico en las células madre hematopoyéticas de los pacientes. Estas condiciones conducen a alteraciones genéticas y vinculan la reprogramación epigenética al desarrollo de leucemia. Actualmente, se considera que las lesiones genéticas en DNMT3A son alteraciones epigenéticas críticas en la aparición de leucemia. En muestras de pacientes y modelos de ratones, la mutación o deleción de DNMT3A provoca la reversión aparente de las HSC normales en células madre preleucémicas (Pre-LSC). Con frecuencia, los Pre-LSC son inactivos y estables en las primeras fases de la leucemia. La acumulación de otros cambios transformadores, como una serie de mutaciones (ej. RAS, NPM1, C-KIT) o alteraciones oncogénicas (FLT3-ITD) hacen que las Pre-LSC experimenten una transformación maligna en LSC, que finalmente ingrese a la etapa de expansión clonal (Zhang, *et al.*, 2017).

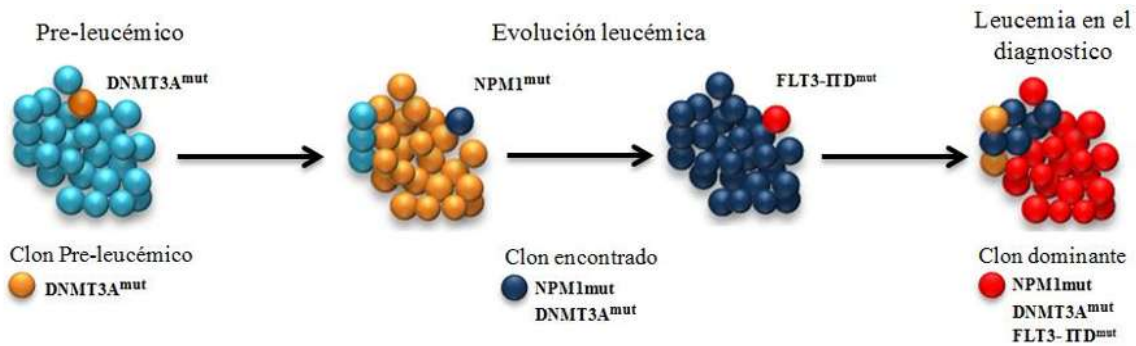


Figura 2. Teoría del doble hit asociada al desarrollo de la leucemia. Los hallazgos establecen el orden secuencial de adquisición de mutaciones para los pacientes: DNMT3A^{mut} ocurre antes de NPM1 y FLT3-ITD. Además, proporcionan pruebas contundentes de la presencia, en el momento del diagnóstico, de HSC preleucémicos que son ancestrales del clon dominante de LMA. Según los datos, las HSC preleucémicas prevalecen entre los pacientes con DNMT3A^{mut}, que representan el 25% de los casos de LMA en adultos; Además, el injerto multilínea indica que las HSC preleucémicas también pueden existir en una proporción de pacientes con LMA con mutación IDH2. Tomado de Shlush, *et al.*, 2014.

2.6 EPIGENÉTICA EN LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

La regulación epigenética se refiere a la modulación de transcripción y expresión genética en la cual no se altera el código genético (Oki & Issa, 2010) esto con la característica de ser heredable. Esta es la clásica definición de epigenética adoptada por Conrad Waddington en los 1950s. Estas modulaciones principalmente se llevan a cabo por modificaciones químicas a nivel del DNA y en las proteínas histonas, ejemplo es la metilación, hidroxilación, formilación y carboxilación en el carbono 5 de las citosinas del DNA y la metilación y acetilación de histonas. Posteriormente se encontró que estas modulaciones están asociadas a una variedad de procesos biológicos como por ejemplo la impronta genómica (Bajrami & Spiroski 2016) inactivación del cromosoma X (Panning, *et al.*, 2008) embriogénesis (Eckardt *et al.*, 2006) diferenciación de tejidos (Boland, *et al.*, 2014) y en la carcinogénesis (Jones *et al.*, 2003), sin embargo, la iniciación y progresión del cáncer son predominantemente conducidos por alteraciones genéticas. El panorama epigenético presente en células normales sufre extensas disertaciones en el cáncer (Jones *et al.*, 2007). Esas mutaciones epigenéticas junto con las mutaciones generalizadas, juegan un importante papel en la iniciación y progresión del cáncer (Jones, *et al.*, 2002). El epigenoma en el cáncer es caracterizado por cambios globales en la metilación del DNA y la modificación de los patrones en las histonas, así como también la alteración de la expresión de los perfiles de las enzimas modificadoras de la cromatina. Esos cambios epigenéticos resultan en desregulaciones globales de la expresión de genes promoviendo el desarrollo y la progresión de los estados de la enfermedad (Egger, *et al.*, 2004).

2.7 METILACIÓN DEL DNA Y METILTRANSFERASAS.

En 1975, Holliday e independientemente Pugh & Riggs, propusieron una teoría influyente en la cual sugerían que la metilación del DNA representaba una modificación epigenética heredable para la memoria celular (Holliday, *et al.*, 1975). La metilación del DNA está asociada en vertebrados a represión transcripcional (Klose, *et al.*, 2006) y es epigenéticamente heredable durante la división celular para propagar un estado represivo en la cromatina (Bird, *et al.*, 2002). El proceso de la metilación del DNA involucra la adición de un grupo metilo (CH₃) en el carbono 5 de las citosinas cediendo a la 5- metilcitosina que se encuentran en regiones donde existen los dinucleótidos CpG (Citosina seguida de una Guanina en dirección 5'- 3'). Existen cortas regiones del DNA contiguas de aproximadamente 1-2 kb ricas en CpG a las cuales se les conoce como islas CpG, estas a menudo son asociadas a áreas promotoras y juegan un importante papel en la regulación génica. La mayoría de los dinucleótidos CpG se encuentran metilados sin embargo la mayoría de las islas CpG se encuentran desmetilados (Deaton, *et al.*, 2011) (Jones, *et al.*, 2012). Existen regiones que no son CpG y se encuentran metiladas como CpA, CpT y CpC sin embargo las funciones y los mecanismos de este tipo de metilación aún no son elucidados y permanecen controversiales (Patil, *et al.*, 2014). La hipermetilación de islas CpG está asociada con el silenciamiento de genes supresores de tumores (Baylin, *et al.*, 2011). Mientras que la hipometilación puede dejar la activación de genes, ya que se ha visto que existen islas CpG que normalmente están metiladas (Strichman-Almashanu, *et al.*, 2002). Esas islas CpG metiladas se vuelven hipometiladas en el cáncer y los genes cercanos se activan (Feinberg, *et al.*, 2004). Ahora es cada vez es más claro que las aberraciones de los patrones de metilación fuera de las islas CpG podrían ser tan importantes en el desarrollo leucémico y que la hipometilación podría ser tan relevante como la hipermetilación. La metilación del DNA es mediada por la familia de metiltransferasas (DNMTs), de las cuales el genoma humano codifica para 5: DNMT1 (de mantenimiento), DNMT2, DNMT3A DNMT3B (de novo), and DNMT3L (Cheng, *et al.*, 2008, Hamidi, *et al.*, 2015). Las DNMTs son responsables de la formación del enlace covalente del grupo metilo de un donador universal de metilos, S-adenosil-L-metionina (SAM) con el carbono número 5 de las citosinas del DNA (Wu, *et al.*, 1987). Todos las metiltransferasas del DNA (DNMTs) son altamente conservadas y tienen secuencias de aminoácidos similares. El dominio N- terminal contiene un dominio regulador, el cual le permite a las DNMTs anclarse al núcleo y reconocer los ácidos nucleicos o las nucleoproteínas, el extremo C- terminal posee el dominio catalítico, el cual es el responsable de la actividad enzimática (Chen, *et al.*, 2004).

2.7.1 Metiltransferasas DNMT1, DNMT2 y DNMT3L.

DNMT1 es requerida para el mantenimiento de toda la metilación del genoma. Durante la replicación, DNMT1 restaura los patrones de metilación específicos en la cadena hija en concordancia con la del DNA parental (Dhe-Paganon, *et al.*, 2011). DNMT2 o TRDMT1 no es un miembro concordatario de la familia ya que no posee actividad DNMT catalítica. En efecto después se demostró que DNMT2 es una metiltransferasa de tRNA (Goll, *et al.*, 2006) que metila un pequeño set de tRNAs en una única y específica posición (Citosina 38) cerca del anticodón BOX2 (Goll, *et al.*, 2006) (Schaefer *et al.*, 2010). DNMT3L (Like DNMT3) otro miembro de la familia DNMT3, muestra homología de secuencia con las enzimas DNMT3A / 3B, pero carece de la región N-terminal, incluido el dominio catalítico esencial. Por lo tanto, DNMT3L no tiene actividad de DNA metiltransferasa. Sin embargo, se ha demostrado que DNMT3L interactúa con DNMT3A y DNMT3B formando tetrámeros activos (Aapola, *et al.*, 2000).

2.7.2 Metiltransferasas DNMT3A y DNMT3B.

DNMT3A es una proteína de 130 KDa codificada en humanos por 23 exones en el cromosoma 2p23. DNMT3B es una proteína de 101 KDa codificada por 24 exones (incluyendo dos alternativos) en el cromosoma 20q11.21 (Yanagisawa, *et al.*, 2002.). Ambas proteínas contienen un dominio N-terminal variable seguido de un dominio PWWP, dominio de unión de zinc-fingers rico en cisteína relacionado con homeodomain (PHD) y denominado dominio ADD además de los motivos I, IV, VI, IX y X en el dominio catalítico: el motivo I permite la unión del donante del grupo metilo AdoMet (S-adenosil metionina). Los motivos I y X son para la unión del cofactor y los motivos VIII y IX son para la unión del DNA. Se produce la catálisis de la metilación del DNA en los motivos IV, VI y VIII (Yang, *et al.*, 2015). Estudios de expresión en humanos y ratones muestran que DNMT3A y DNMT3B son altamente expresados en la etapa de la blastocitosis y durante el desarrollo de las células germinales, mientras que DNMT1 ha mostrado características de DNA metiltransferasa de mantenimiento, DNMT3A y DNMT3B aparentan estar adaptados al establecimiento de los patrones de metilación *de novo*. Investigaciones posteriores sugieren un modelo por el cual el curso de la metilación del DNA *de novo* por DNMT3A y DNMT3B funcionan para compensar la metilación ineficiente (Jones, *et al.*, 2009) (Riggs, *et al.*, 2004).

Cromosoma 2

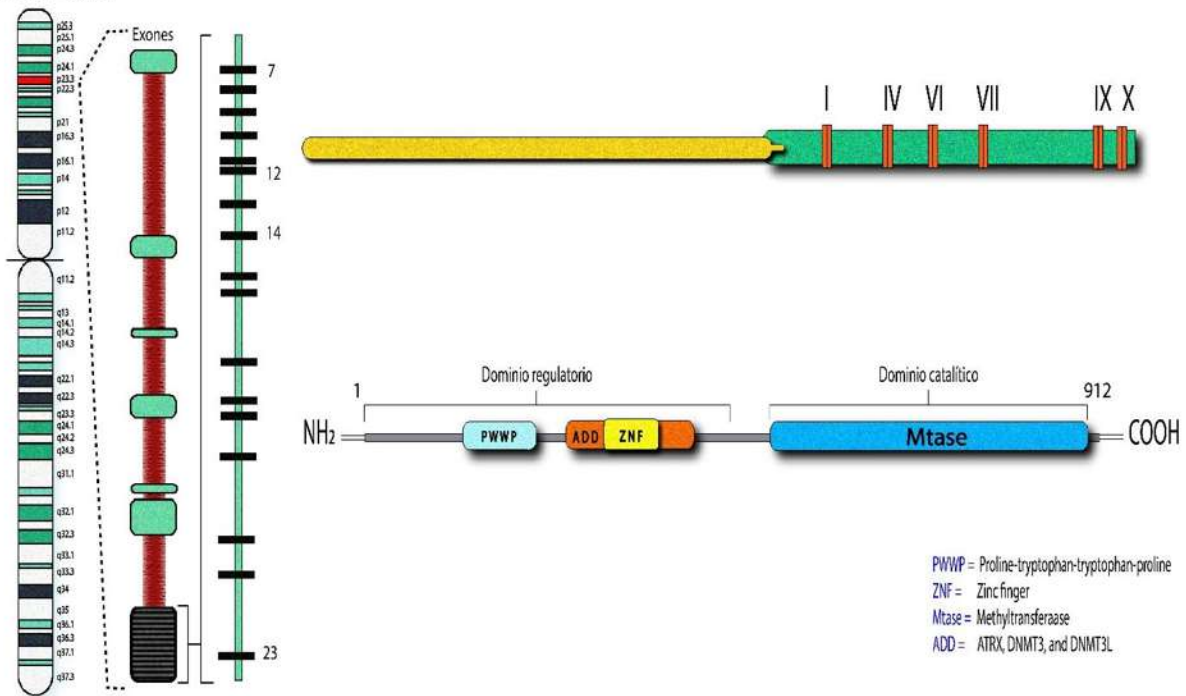


Figura 3. Estructura del gen y de la proteína DNMT3A. Se muestra el locus de la proteína DNMT3A en el cromosoma 2p23.3, los 23 exones, los motifs I IV VI VII IX X en la región catalítica, así como los dominios de la proteína de 912 aminoácidos PWWP, ADD, ZNF y Mtase. (Adaptado de Yang, *et al.*, 2015).

2.8 DESMETILACIÓN DEL DNA

La desmetilación del DNA no tiene un papel tan claro, en parte porque muchas vías pueden contribuir y actuar de manera constante (Ooi SKT, *et al.*, 2008). Debido a la capacidad de recuperación de los enlaces carbono-carbono, la metilación se consideró originalmente como una modificación irreversible, que solo podía alterarse mediante dilución o síntesis de novo de DNA (Ohno, *et al.*, 2013). El desarrollo de investigaciones sobre la metilación del DNA demostró que puede ser reversible en células de mamíferos. Posteriormente se identificaron enzimas que son capaces de mediar la desmetilación del DNA en las células de mamíferos. Estos hallazgos plantean la posibilidad de que la regulación por la metilación del DNA es a veces bastante dinámica, proporcionando información sobre por qué es posible la reprogramación del destino celular. Varias revisiones han descrito el contexto biológico en el que puede tener lugar la desmetilación activa del DNA ya que establecer y editar patrones de metilación genómica parece ser particularmente relevante en varias etapas de la embriogénesis de mamíferos. La desmetilación de DNA activa específica de un locus está bien documentada en células post-mitóticas en el cerebro adulto y también durante los cambios en el destino celular (Nidhi, *et al.*, 2012, Guo, *et al.*, 2011, Ma, *et al.*, 2009, Pastor, *et al.*, 2013). Algunos de los mecanismos de desmetilación del DNA que se han descrito son: 1.- pasivamente por la dilución o inactivación de las DNMTs que no reemplazan las citosinas metiladas. 2.- Por la familia de 3 enzimas 5 metil citosina (5mC) hidrolasas TET (por sus siglas en inglés Ten Eleven Translocation (t(10;11) (q22;q23) de ahí su nombre, el cual es encontrado en raros casos de leucemias mieloides y linfoides) que generan 5 hidroximetil citosina (5hmC) y posteriores intermediarios oxidados. 3.- Por la familia de desaminasas AID/APOBEC las cuales inician un proceso de desmetilación por la desaminación de 5mC o 5hmC generados por la familia TET. 4.- Por la familia de glucosilasas BER que inician la reparación del DNA y culmina en el reemplazo de citosinas metiladas con citosinas no metiladas (Bhutani, *et al.*, 2012). Sin embargo, la vía más estudiada es la mediada por las enzimas TET. Las enzimas TET (TET1, TET2 y TET3) son alfa-cetoglutarato (α -KG) (en inglés 2-oxoglutarate (2-OG)) así como hierro dependientes con la capacidad de catalizar la oxidación cíclica de 5mC a 5hmC que sucesivamente se oxida a 5 formilcitosina y 5 carboxilcitosina que se descarboxila por una descarboxilasa desconocida a 5mC (Pastor, *et al.*, 2013).

2.8.1 Proteínas TET oxigenesas del DNA.

Las proteínas de Ten Eleven Translocation (TET) son dioxigenasas dependientes de Fe (II) que oxidan las 5 metilcitosinas del DNA usando oxígeno molecular y alfa-cetoglutarato (α -KG) como cosustratos, generando citosinas oxidadas, succinato y dióxido de carbono (CO_2) como coproductos. La diferencia entre las proteínas TET se basa en su estructura, pero también sus distintos patrones de expresión: TET2 es mayoritariamente más expresada en el sistema hematopoyético que TET3 y TET1. Cada proteína TET también tiene funciones específicas: por ejemplo, TET1 oxida 5mC a 5hmC, TET2 y TET3 estimulan la remoción de 5hmC (Putiri, *et al.*, 2014). La relevancia fisiológica de las proteínas TET en el desarrollo ha sido investigada utilizando la eliminación genética en modelos de ratones. Los fenotipos del silenciamiento de las proteínas TET son informativos y consistentes con un defecto de desmetilación. La proteína TET2 tiene una masa molecular de 223 KDa codificada por 11 exones en el cromosoma humano 4q24 de 2002 aminoácidos. De acuerdo con Langemeijer *et al* TET2 contiene 2 dominios conservados 1 y 2 (CD o BOX) que se encuentran en los aminoácidos de las posiciones 1104-1478 y 1845-2002 correspondientemente (figura 4). Cada proteína tiene un dominio central catalítico con un double-stranded β -helix (DSBH) que contiene el dominio crucial unión a metal (metal-binding) encontrado en la familia de oxigenesas dependientes de Fe (II)/ α -KG y un dominio rico en cisteína (cysteine-rich). (Loenarz & Schofield, 2011). El dominio DSBH une Fe(II), α -KG y 5mC para la oxidación, mientras que el dominio en rico en cisteína envuelve alrededor del núcleo DSBH para estabilizar el conjunto de interacción TET-DNA (Wu, *et al.*, 2017) TET usa el oxígeno molecular como sustrato para catalizar la carboxilación oxidativa del α -KG, de este modo se genera en la enzima Fe(IV)-oxo, intermediario que convierte 5mC en 5hmC (Kohli & Zhang, 2013).

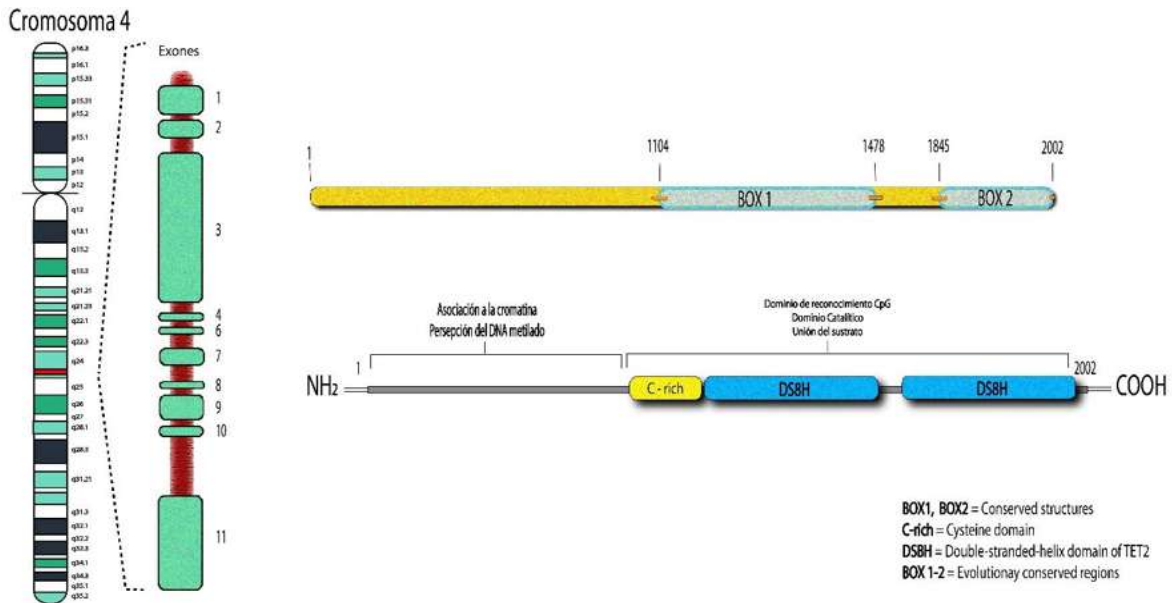


Figura 4. Estructura del gen y la proteína TET2. Se muestra el locus de la proteína TET2 en el cromosoma 4q24, los 11 exones, los dos dominios conservados (BOX 1-2), así como los dominios de la proteína de 2002 aminoácidos C-rich y DSBH.

2.8.2 Enzimas isocitrato deshidrogenasa (IDH1 e IDH2)

Las enzimas isocitrato deshidrogenasas (IDH) son enzimas que catalizan la descarboxilación oxidativa del isocitrato, produciendo α -cetoglutarato (α KG) y CO_2 , usan nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP^+) como cofactor y funcionan como homodímeros. Las dos enzimas tienen una localización celular diferente: IDH1 está situado en el citosol y los peroxisomas, mientras que IDH2 está en las mitocondrias (Geisbrecht, *et al.*, 1999). La descarboxilación oxidativa que convierte a α KG en isocitrato ocurre predominantemente en condiciones hipóxicas que producen citrato y acetil-CoA a partir de glutamina y glutamato. Esta actividad es crítica para preservar la biosíntesis de lípidos y colesterol en las células hipóxicas (Wise, *et al.*, 2011, Metallo, *et al.*, 2012, Mullen, *et al.*, 2012) (Scott, *et al.*, 2011) (Fendt, *et al.*, 2013). Más allá de su papel en el metabolismo intermedio y la producción de energía, las enzimas IDH también participan en la regulación del estado redox de los cofactores $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ esenciales para la transferencia de electrones en una gran cantidad de funciones celulares (Ying, *et al.*, 2008, Pollak, *et al.*, 2007). El α KG permite la actividad de dioxigenasas dependientes de α KG, como la familia de proteínas TET, de 5-metilcitosina hidroxilasas, el dominio Jumonji que contiene histona-lisina desmetilasas (Jmj-KDMs) entre otros (Markolovic, *et al.*, 2015). La proteína IDH1 tiene una masa molecular de 46 kDa codificada por 10 exones de los cuales los primeros dos no son traducidos y que

se encuentra en el cromosoma humano 2q34 de 414 aminoácidos que se localiza principalmente en los peroxisomas y en el citosol, mientras que IDH2 tiene una masa molecular de 50 KDa codificada por 11 exones en el cromosoma humano 15q26.1 de 452 aminoácidos y se localiza en la mitocondria. Un tercer complejo enzimático, IDH3 es codificado por tres distintos genes no se han descrito mutaciones ni se han asociado a cáncer (Geisbrecht, *et al.*, 1999).

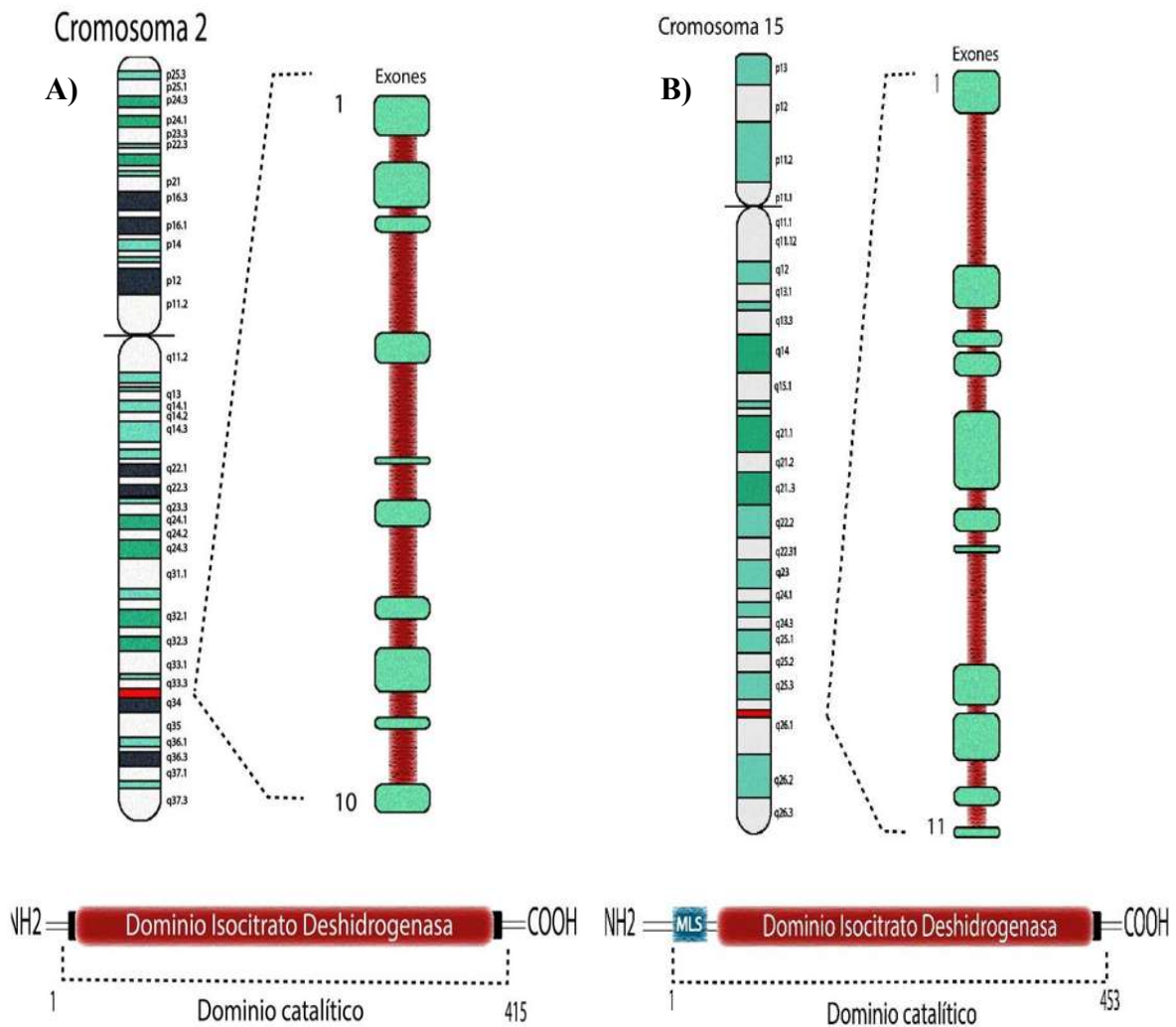


Figura 5 A) Estructura del gen y la proteína IDH1. Se muestra el locus en la posición 2q34, los 10 exones siendo los primeros 2 pseudoexones. En la parte inferior se muestra la proteína de 415 aminoácidos. **B) Estructura del gen y la proteína IDH2.** Se muestra locus en la posición 15q26.1, los 11 exones y en la parte inferior la proteína de 453 aminoácidos con el dominio MLS (Mitochondrial Localization Signal).

2.9 METILACIÓN DEL DNA EN CÁNCER

Las primeras indicaciones de la relación de la epigenética con el cáncer fueron derivadas de estudios en la expresión génica y la metilación del DNA (Feinberg, *et al.*, 2004). Las células tumorales típicamente exhiben aberraciones en los patrones de metilación del DNA durante la transformación maligna (Herman, *et al.*, 2003). Se han descrito tres rutas en las cuales la metilación de islas CpG pueden contribuir al fenotipo oncogénico. La primera es por una hipometilación general en el genoma del cáncer. La segunda es una hipermetilación focal en promotores de genes supresores de tumores (tumor supresor genes TSG) y la tercera es por directa mutagénesis en 5mC consecuencia de la desaminación por radiación UV o exposición a otros carcinógenos (Jones, *et al.*, 1999) (Jones, *et al.*, 2002) (Jones, *et al.*, 2007). La pérdida de la metilación del DNA (hipometilación) puede ser acompañada con la activación de la transcripción, permitiendo la transcripción repetible de los elementos transposables y de oncogenes (Ehrlich, *et al.*, 2013). En cambio, la hipermetilación en el cáncer en las islas CpG en las regiones de los genes relacionados con el cáncer. Estos cambios pueden ser asociados con silenciamiento transcripcional que pueden promover los mecanismos de inactivación de genes supresores de tumores (Jones, *et al.*, 2007) (Baylin, *et al.*, 2011). Sin embargo, este fenómeno es generalmente atribuido a diferentes mecanismos que alteran los genes de las DNMTs y resultan en una desregulación genómica de metilación como factor causante primario (Dawson, *et al.*, 2012). Numerosos ejemplos de lesiones en los genes DNMTs han sido estudiados para identificar cambios en la metilación y evaluar el desarrollo del cáncer. Esas lesiones pueden ser clasificadas en tres categorías: sobreexpresión, mutación y deleción (Zhang, *et al.*, 2017). La secuenciación completa del genoma en una amplia gama de carcinomas ha provisto un catálogo de recurrentes mutaciones somáticas en numerosos reguladores epigenéticos (Forbes, *et al.*, 2011). Por ejemplo, las mutaciones de DNMT1 en tumores del colon y las mutaciones en DNMT3A en malignidades hematológicas (Ley, *et al.*, 2013).

2.10 METILACIÓN DEL DNA EN LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA.

Se ha observado que en los casos de leucemia mieloide aguda (LMA) se involucran cambios en la expresión de genes que surgen por aberraciones en los patrones de metilación del DNA (Robertson, *et al.*, 2005) (Figuroa, *et al.*, 2010). Sin embargo, los perfiles de la metilación del DNA en pacientes con LMA ha revelado que la metilación es heterogénea y puede ocurrir tanto hipermetilación como hipometilación (Figuroa, *et al.*, 2010). Estas aberraciones de la metilación del DNA se han observado en la mayoría de casos de LMA, incluso en las LMA citogenéticamente anormal (Akalin, *et al.*, 2012), en efecto en la LMA es notable las recurrentes mutaciones en genes de modificadores epigenéticos incluidos las metiltransferasas de novo DNMT3A que se han observado con un 22% de todos los pacientes

con LMA (Hou & Tien, 2016, Rau, *et al.*, 2016) y demás reguladores involucrados en la metilación y desmetilación del DNA como TET2 e IDH1/2. Aunque esto podría sugerir un significativo papel de las mutaciones en DNMT3A para el desarrollo leucémico, ya que la presencia de una sola mutación en la proteína no evoluciona a una leucemia o alteran los niveles de metilación, mientras que un completo silenciamiento de DNMT3A en células murinas se ha visto que producen propiedades similares a una diferenciación inhibida (Challen, *et al.*, 2011).

2.10.1 Mutaciones en el gen DNMT3A en leucemia mieloide aguda.

Las mutaciones en DNMT3A fueron descritas en 2010 cuando una serie de mutaciones de tipo Missense (Mutaciones de sentido erróneo), Frameshift (Mutaciones con desplazamiento del marco de lectura), Nonsense (Mutaciones sin sentido) y Splice-site (Mutaciones en el sitio de empalme) que afectaban DNMT3A fueron identificadas en pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA). La secuenciación de exoma en muestras de LMA primaria ha identificado mutaciones somáticas en DNMT3A en más de un 30% de los casos de LMA-CN (Ley, *et al.*, 2010). Independientemente del número de pacientes, la mayoría de mutaciones en DNMT3A han sido encontradas en el dominio Mtase (Dominio metil transferasa), con una vasta cantidad de mutaciones de tipo Missense en el codón R882 (65% de todas las mutaciones en DNMT3A), más frecuentemente la mutación R882H en un residuo de arginina (Arg882) por una histidina (Ley *et al.*, 2010, Roller, *et al.*, 2013). Mecanicamente, la homo-tetramerización de DNMT3A es requerida para ejercer sus propiedades catalíticas (Holz-Schietinger, *et al.*, 2011) en base a esto Russler-Germain *et al* y demás autores reportaron que la mutación DNMT3^{R882} muestra un efecto dominante-negativo previniendo la formación de homo-tetrámeros activos por la interacción con DNMT3^{WT} y la subsecuente formación de heterodímeros, para lo cual se encontró una disminución al 29% (tipo nativo) de la actividad catalítica (Russler-Germain, *et al.*, 2014). Esto explicaría la dramática reducción de la actividad metiltransferasa de DNMT3A, la cual se observa como una extendida hipometilación del DNA en CpG específicos de pacientes con mutación DNMT3^{R882}. En contraste la hipermetilación focal, la cual también se observa en muestras de DNMT3A mutante, no pueden ser explicadas por este modelo (Ley *et al.*, 2010, Russler-Germain, *et al.*, 2014). Por su parte Emperle, *et al* reportaron un resultado que no concuerda con Russler-Germain *et al*, ya que la actividad catalítica no disminuye al formar tetrámeros de DNMT3^{R882} con DNMT3^{WT} sin embargo hay una gran cantidad de reportes de que la mutación DNMT3^{R882} resulta en cambios en la metilación del DNA proponiendo que el comportamiento negativo de las mutaciones en DNMT3A podría ser explicado por otros mecanismos no relacionados con la directa inhibición de las subunidades Wild-Type en heterocomplejos (Emperle, *et al.*, 2018). A través de la investigación de células sanguíneas en pacientes con el síndrome de Tatton-Brown-Rahman que portan la mutación DNMT3^{R882}

de manera constitutiva, se demostró que la mayoría de cambios fueron eventos de hipometilación. Este estudio sugiere que la hipermetilación observada en LMA con DNMT3^{R882} es un evento secundario (Spencer, *et al.*, 2017), incluso la observación de algunas de lesiones como TET2 y DNMT3A en sangre de individuos hematológicamente normales apoyan la teoría de que estas mutaciones son iniciadoras (Jacobs, *et al.*, 2012, Laurie, *et al.*, 2012).

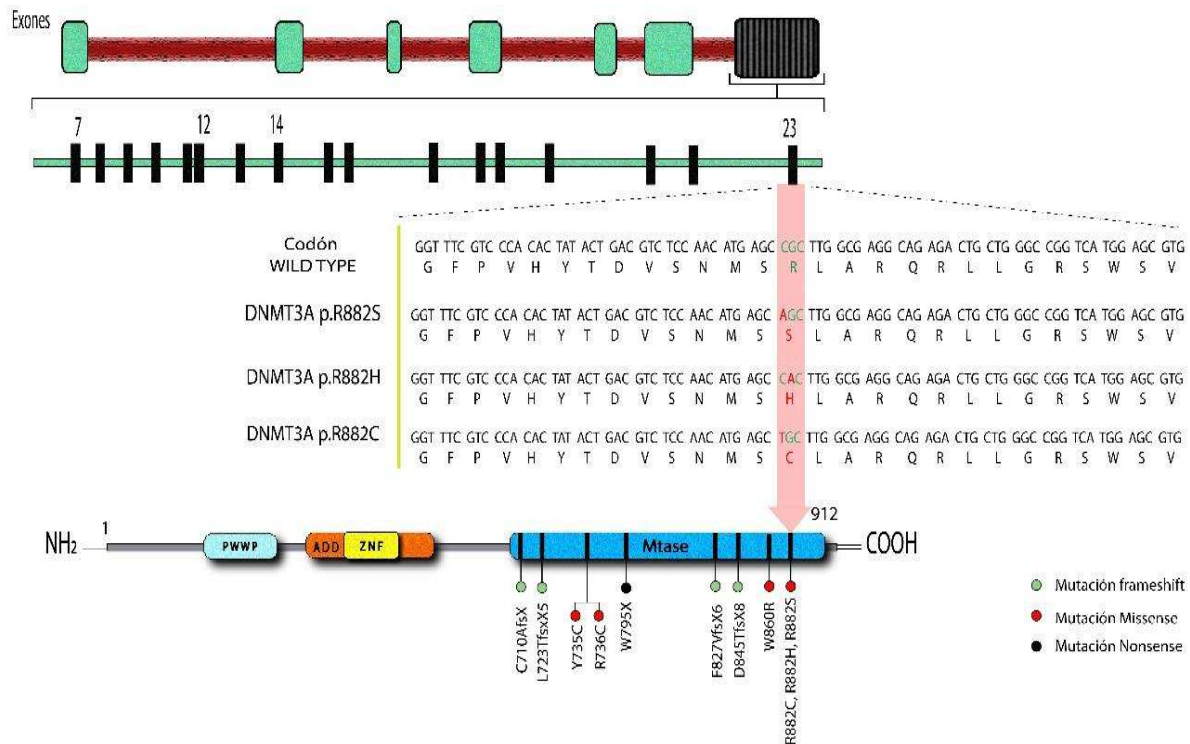


Figura 6. Localización de las mutaciones más frecuentes en DNMT3A. Se muestran los 23 exones del gen y las mutaciones mas frecuentes asociadas a leucemia mieloide aguda dentro del exón 23, el cambio de aminoácido en el codon CGC que codifica para arginina de la posición 882 (R882) por serina, histidina y cisteína.

2.10.2 Mutaciones en el gen TET2 en leucemia mieloide aguda

La familia de proteínas TET fue primeramente identificada en pacientes con t(10;11) (q22;q23) fusión de TET1 y MLL (de ahí su nombre Ten eleven translocation) (Ono, *et al.*, 2002). Posteriormente en 2009 se reportaron mutaciones somáticas en múltiples malignidades hematológicas, inclusive en leucemia mieloide aguda (Abdel-Wahab, *et al.*, 2009). Las mutaciones somáticas en TET2 ocurren en aproximadamente el 15% de los pacientes con varios tipos de cáncer mieloide (Delhommeau, *et al.*, 2009) y en los casos de LMA primaria y secundaria se encuentra frecuentemente mutado (12%–32% respectivamente) (Rasmussen, *et al.*, 2016, Shih, *et al.*, 2012, Xie, *et al.*, 2014). Interesantemente las mutaciones en TET2 han sido asociadas con hipermetilación en LMA y mutuamente exclusivas con mutaciones en IDH1/2 (Figuerola, *et al.*, 2010) y en asociación a los niveles de 5hmC que son significativamente reducidos en pacientes que tienen disrupciones homocigotas o heterocigotas comparadas con los pacientes con TET2^{WT} (Ko, *et al.*, 2010). Existen ahora investigaciones que evidencian el papel de las alteraciones en TET2 como una de las primeras aberraciones genéticas en el comienzo de las malignidades hematológicas ya que las mutaciones en TET2 pueden ser encontradas en las HSC premalignas en los pacientes con MDS y el hecho de encontrar mutaciones en TET2 en pacientes de edad avanzada que son hematológicamente sanos (Itzykson, *et al.*, 2011) (Xie, *et al.*, 2014). Estudios posteriores en diversos grupos de pacientes identificaron no solo aberraciones cromosómicas sino también mutaciones puntuales altamente heterogéneas que incluían inserciones, deleciones, mutaciones tipo missense, nonsense y frameshift que a menudo resultaban en disrupciones o decrecimiento de la actividad catalítica de la enzima TET2 (Weissmann, *et al.*, 2012). Esas mutaciones abarcan toda la secuencia de codificación TET2, la presencia de deleciones y esas mutaciones de desplazamiento de marco en TET2 proporcionó datos genéticos que sugieren que TET2 funciona como un supresor tumoral en tumores malignos mieloides (Weissmann, *et al.*, 2012). La proteína TET2 ha sido ampliamente reconocida como un supresor tumoral, la eliminación de TET2 es suficiente para causar malignidades mieloides y linfoides en ratones (Li, *et al.*, 2011). Las mutaciones están distribuidas sobre todos los exones, mayoritariamente implicadas en los exones largos 3 y 11 y en la mayoría de los casos esas mutaciones resultan en tipo Frameshift y Missense (Tefferi, *et al.*, 2009). En la figura 9 se muestran algunas de las mutaciones más frecuentes descritas en casos de LMA.

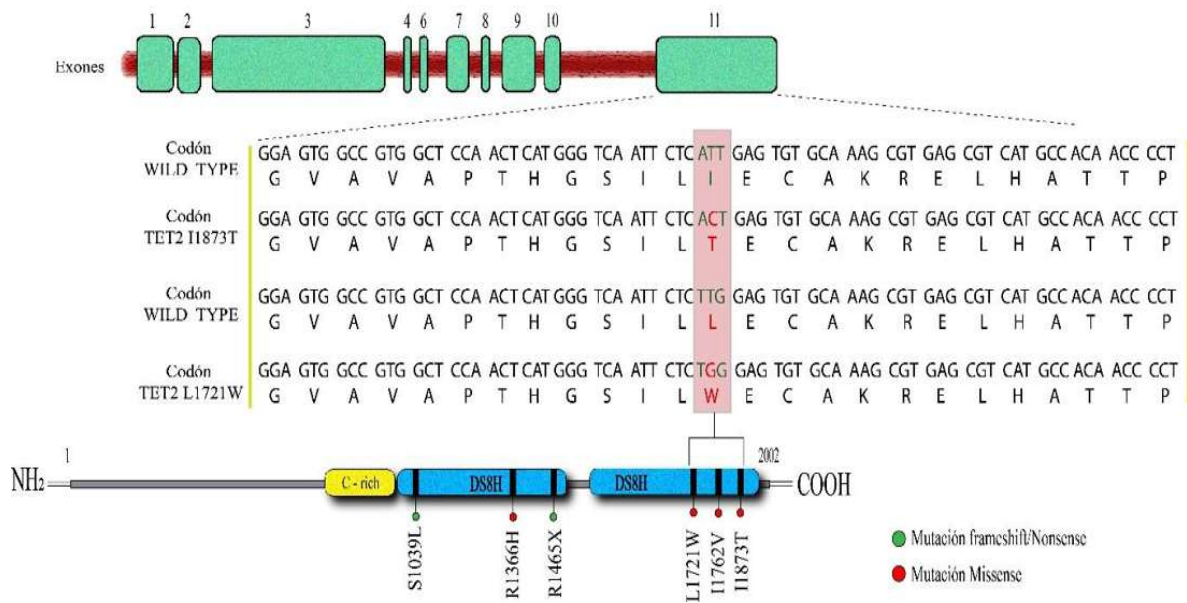


Figura 7. Mutaciones en el gen TET2 en leucemia mieloide aguda. Se muestran los 11 exones del gen y las mutaciones más frecuentes asociados a leucemia mieloide aguda dentro del exón 11, el cambio de aminoácido en el codón 11873 ATT (isoleucina por treonina) y en el 1721 TTG (leucina por triptófano).

2.10.3 Mutaciones en los genes IDH1 e IDH2 en leucemia mieloide aguda

En 2009, la secuenciación completa del genoma en un paciente con leucemia mieloide aguda identificó la mutación IDH1^{R132} (Mardis, *et al.*, 2009). Análisis subsecuentes en una cantidad de pacientes con LMA confirmaron la presencia de mutaciones en IDH1 y también se identificaron mutaciones en IDH2 en aproximadamente 20% de pacientes en LMA-CN (Mardis, *et al.*, 2009). Las mutaciones en IDH1 están presentes hasta en 7-14% de los pacientes con LMA (Platt, *et al.*, 2015). Los pacientes con mutaciones IDH1/2 son candidatos para terapias dirigidas como los inhibidores de IDH1^{mut} (ivosidenib) o de IDH2^{mut} (enasidenib), han mostrado resultados prometedores en pacientes con LMA o síndrome mielodisplásico (Madeiros, *et al.* 2017). Se ha demostrado que estas moléculas inducen la diferenciación de células leucémicas primarias *in vitro* (Chaturvedi, *et al.*, 2013) (Wang, *et al.*, 2013) e *in vivo* (Amantangelo, *et al.*, 2017) para promover respuestas clínicas. La LMA y una variedad de neoplasias muestran recurrentes mutaciones de tipo missense en IDH1 e IDH2, lo que provoca que IDH1^{mut} e IDH2^{mut} sinteticen 2-hidroxiglutarato (2-HG) en vez de α KG (Losman, *et al.*, 2013). El Oncometabolito 2-HG es un inhibidor competitivo del α KG lo cual produce una inhibición de las proteínas dioxigenasas, incluida la familia TET. En LMA las mutaciones en TET2 e IDH1/2 se sugiere son mutuamente excluyentes, por lo que las dos mutaciones podrían actuar en la misma vía (Figuroa, *et al.*, 2010) (Xu, *et al.*, 2011). Normalmente ambas proteínas, IDH1 citosólica e IDH2 mitocondrial existen como

homodimeros dentro de su respectivo compartimento celular y las proteínas mutadas retienen la habilidad de unirse con respectiva compañera wild-type. Todos los reportes de las mutaciones de IDH han sido de tipo heterocigoto, con las células cancerígenas conservando una copia Wild-type. Anteriormente no se había reportado algún caso en que el mismo paciente tuviera las dos mutaciones, sin embargo, Paschka *et al* y Abbas *et al* reportaron casos de LMA con mutaciones en ambos genes. En LMA las mutaciones en IDH1/2 resultan en el cambio de aminoácido, ocurriendo primeramente en el residuo R132 en IDH1 y en R140 o en R172 en IDH2 (Chou, *et al.*, 2011). Algunos autores apoyan la noción de que las mutaciones R140 o en R172 en IDH2 pueden ser mutuamente excluyentes y han reforzado la idea de que la mutación del codón 140 IDH2 y el codón 172, tienen consecuencias fisiopatológicas distintas (Marcucci, *et al.*, 2010) (Patel, *et al.*, 2017). El bloqueo del α -KG y la presencia del inhibidor competitivo 2-HG en células que expresan IDH1^{mut} e IDH2^{mut} atenúa la actividad de TET2. Se ha demostrado que la pérdida de la función de TET2 e IDH1^{mut} e IDH2^{mut} están asociadas con defectos epigenéticos similares y la expresión de las proteínas IDH1^{mut} e IDH2^{mut} produce una actividad ineficiente de la función catalítica de TET2 en las células. Adicionalmente la expresión de las proteínas IDH1^{mut} e IDH2^{mut} o TET2^{mut} perjudica la diferenciación mieloide e incrementa la expresión de marcadores de las células madre progenitoras, sugiriendo que el papel de esas mutaciones en la LMA es bloqueador. El codón R132 en IDH1 y el residuo R172 en IDH2 son homólogos. (Figuroa, *et al.*, 2010).

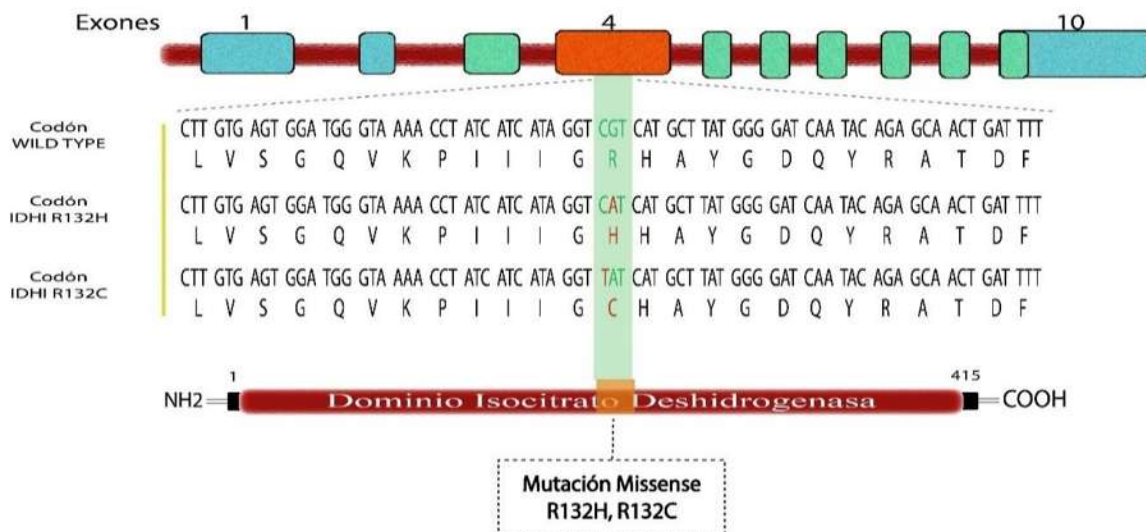


Figura 8. Localización de las mutaciones más frecuentes en IDH1. Se muestran los 10 exones del gen y las mutaciones más frecuentes asociadas a leucemia mieloide aguda dentro del exón 4, el cambio de aminoácido (Dentro de la banda verde) en el codón 132 CGT (cambio de arginina por histidina o cisteína).

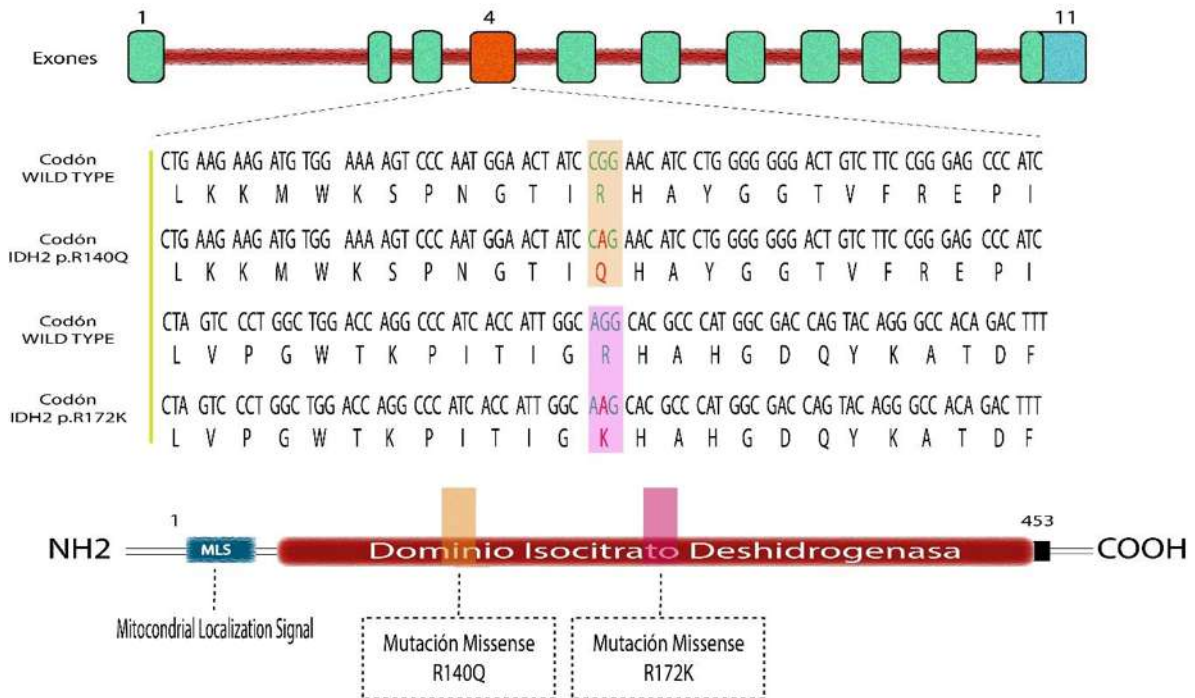


Figura 9. Localización de las mutaciones más frecuentes en IDH2. Se muestran los 11 exones del gen y las mutaciones más frecuentes asociadas a leucemia mieloide aguda dentro del exón 4, el cambio de aminoácido en los codones CGG donde cambia el aminoácido arginina por glutamina y AGG donde cambia el aminoácido arginina por lisina marcados por los colores naranja y rosa respectivamente.

2.11 PRONÓSTICO

A pesar de que un 70% de los pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) consiguen morfológicamente una completa remisión (blastos en medula ósea <5%, ausencia de blastos con bastones de Auer, ausencia de enfermedad extramedular, conteo absoluto de neutrófilos >1.0x10⁹/L (1000/uL), conteo plaquetario >100x10⁹/L (100,000/uL), independencia de transfusión de células rojas, Dohner, *et al.*, 2009) con una intensiva inducción de quimioterapia (siglas en inglés IIC), aproximadamente 50% de esos pacientes experimentaran una reincidencia (Walter, *et al.*, 2015). Para establecer y aconsejar a los pacientes acerca del pronóstico de LMA, se debe tener en cuenta una gama creciente y bastante desconcertante de variables clínicas y biológicas por ejemplo la edad y el estado del paciente, la carga tumoral, LMA secundaria entre otros. En el caso de los resultados de laboratorio como el análisis citogenético y los marcadores moleculares, el conteo total de leucocitos y el conteo total de células sanguíneas que tienen relevancia en el pronóstico incluso los niveles séricos de ácido úrico y de lactato deshidrogenasa podrían tener en pacientes con LMA (Yamauchi, *et al.*, 2013, Ferrara, *et al.*, 1996, Smith, *et al.*, 2011). El cariotipo de los blastos leucémicos determinado por el análisis de bandeado cromosómico es

aceptado como el más importante parámetro de pronóstico de la LMA. El subconjunto de entidades citogenéticas favorables incluye los casos con PML-RARA, los pacientes con t(8;21) y pacientes con inv(16) (las cuales son llamadas leucemias CBF por sus siglas en inglés Core Binding Factor) que están asociadas con un pronóstico favorable. Del otro lado las alteraciones con cariotipos complejos 5/5q, 7/7q, 17/abn17p, inv (3) (q21q26) / t (3; 3) (q21; q26) también son asociados con un pronóstico desfavorable y los pacientes con LMA-CN que muestran una alta heterogeneidad genética, son clasificados como riesgo intermedio (Grimwade, *et al.*, 2010). Durante la pasada década, se demostró que LMA-CN incluía una gran cantidad de anomalías moleculares con diferentes comportamientos de riesgo (Dohner, *et al.*, 2005). El impacto pronóstico de muchos marcadores depende del contexto y el efecto de una anomalía dada por la presencia o ausencia de otro (Papaemmanuil, *et al.*, 2016), además, el uso de modernas tecnologías tales como WGS o WES en una variedad de genes como IDH1, IDH2, DNMT3A, TET2 fueron descritos en pacientes con LMA (Grossmann, *et al.*, 2011) (Ley, *et al.*, 2010). Adicionalmente a esto se ha desarrollado modelos de clasificación pronóstica combinando los hallazgos citogenético y los biomarcadores moleculares genéticos (Dohner, *et al.*, 2010) (Grimwade, *et al.*, 2009), por ejemplo las mutaciones en NPM1 que son de pronóstico favorable en la ausencia de mutaciones en FLT3-ITD (Verhaak, *et al.*, 2005), las mutaciones en TP53 que son asociadas con los cariotipos complejos, cariotipos monosomales y específicas aneuploidias cromosómicas (ej, 25/5q2, 27/7q2), que predicen un muy desfavorable resultado (Haferlach, *et al.*, 2008) (Bowen, *et al.*, 2009), sin embargo ambos tipos de LMA-CBF están asociadas con mutaciones en genes que codifican para proteínas señalizadores (NRAS, KIT, NF1, FLT3, KRAS), en LMA con t(8;21), la presencia de mutaciones en KIT, especialmente en niveles altos de KIT mutado, aparenta estar asociada con un pronóstico desfavorable (Paschka, *et al.*, 2013). En ELN “genetic risk stratification” (Tabla 4), la intención original de las categorías genéticas era estandarizar el informe de anomalías genéticas particularmente para correlaciones con características clínicas y resultados. La distinción entre el las categorías intermedia I e intermedia II se basaron en genética características, más que en la estratificación pronóstica. Aunque un estudio posterior demostró una supervivencia promedio (por sus siglas en inglés overall survival (OS) el cual es definido para todos los pacientes de un ensayo; medido desde la fecha de entrada en un estudio hasta la fecha de fallecimiento por cualquier causa; los pacientes que no se sabe que murieron en el último seguimiento son censurados en la fecha en que se sabía que estaban vivos por última vez (Dohner, *et al.*, 2017)) más largo en el grupo intermedio I que el grupo intermedio II, los 2 grupos estaban pronosticados indistinguible en pacientes de edad avanzada, que constituyen la mayoría de casos de LMA. Ante estos hallazgos, el panel decidió simplificar el sistema ELN mediante el uso de una clasificación de 3 grupos (favorable, intermedio, adverso) (Dohner, *et al.*, 2017).

Tabla 3. Clasificación del riesgo por anomalías genéticas de la European Leukemia Net 2017 en casos de leucemia mieloide aguda

Categoría de Riesgo	Anormalidad genética
Favorable	Favorable t(8;21) (q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1 inv (16) (p13.1q22) o t(16;16) (p13.1;q22); CBFβ-MYH11 NPM1 mutado sin FLT3-ITD o con FLT3-ITD ^{low} CEBPA Bialelico mutado
Intermedio	NPM1 mutado y FLT3-ITD ^{high} Wild-type NPM1 sin FLT3-ITD o con FLT3-ITD ^{low} (sin lesiones genéticas de riesgo desfavorable) t(9;11) (p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A Anormalidades citogenéticas no clasificadas como favorables o desfavorables
Desfavorable	t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 t(v;11q23.3); KMT2A reordenamiento t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2,MECOM(EV11) -5 o del(5q); -7; -17/abn(17p) Cariotipo complejo ^a , cariotipo monosomal ^b Wild-type NPM1 y FLT3-ITD ^{high} RUNX1 mutado* ASXL1 mutado* TP53 mutado

Low: Baja relación alélica (<0.5), High: Alta relación alélica (>0.5)

*: Estos marcadores no deben usarse como marcador de pronóstico adverso si coocurren con subtipos de LMA de riesgo favorable.

A: 3 o más anomalías cromosómicas no relacionadas en ausencia de 1 de las translocaciones o inversiones recurrentes designadas por la OMS, es decir, t(8;21), inv(16) o t(16;16), t(9;11), t(v;11)(v;q23.3), t(6;9), inv(3) o t(3;3); LMA con BCR-ABL1.

B: Definido por la presencia de 1 monosomía única (excluida la pérdida de X o Y) en asociación con al menos 1 monosomía adicional o anomalía estructural.

Tomado de Dohner, *et al.*, 2017

2.11.1 Pronóstico de las mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2

La información de estudios clínicos realizados sugiere que las mutaciones de DNMT3A^{R882} están estrechamente relacionados con un desfavorable OS en pacientes con leucemia mieloide aguda. Otros estudios sugieren que la importancia de DNMT3A^{No-R882} en el pronóstico es similar a los pacientes con DNMT3A^{R882} (Ley, *et al.*, 2011) (Thol, *et al.*, 2011). Durante la última década se ha asociado la mutación DNMT3A^{R882} como un predictor independiente de pronóstico desfavorable y de resistencia a la inducción de quimioterapia convencional (Yuan, *et al.*, 2019), en concordancia con otros estudios que concluyen que las mutaciones en DNMT3A tienen un significativamente peor OS sin importar la edad, anomalías citogenéticas o FLT3-ITD mutado (Ley, *et al.*, 2010) (Yan, *et al.*, 2011). Como ejemplo la combinación de las mutaciones en NPM1, FLT-ITD y DNMT3A fue

recientemente reportado que confiere un riesgo mucho mayor en la reincidencia que los casos de LMA con NPM1 y FLT3-ITD sin la mutación en DNMT3A (Papaemmanuil, *et al.*, 2016). El efecto de las mutaciones en TET2 en el pronóstico de la LMA sigue siendo controversial (Cimmino, *et al.*, 2011). Un gran conjunto de estudios mostraron que las mutaciones en TET2 no afectan en OS en la LMA (Nibourel, *et al.*, 2010) sin embargo existen reportes de que las mutaciones en TET2 están asociadas con un pobre OS en pacientes con LMA con riesgo intermedio, sin importar la presencia de mutaciones en FLT3 (Liu, *et al.*, 2014) en contraste se ha visto que los pacientes con MDS y mutaciones en TET2 confiere un mejor OS (Wang, *et al.*, 2013). Además, las mutaciones en TET2 podrían predecir una respuesta favorable a los agentes hipometilantes (siglas en ingles HMAs) en pacientes de riesgo alto (Couronne, *et al.*, 2010). Recientemente Cher *et al* reportaron casos de LMA-CBF con mutaciones en TET2, mostrando por primera vez que las mutaciones en TET2 son un factor de pronóstico adverso en LMA-CBF. El valor pronóstico de las mutaciones IDH1/2 sigue siendo una cuestión de debate. La relevancia pronostica y clínica que tienen las mutaciones en IDH1/2 en la LMA, ha tenido resultados inconclusos (Metzeler, *et al.*, 2016) (Papaemmanuil, *et al.*, 2016) (Xu, *et al.*, 2017) (Dinardo, *et al.*, 2015). Probablemente debido a la cantidad de factores y diferencias en las poblaciones de pacientes, metodología de estudio, agrupamiento de las mutaciones para el análisis del pronóstico la influencia de anormalidades genéticas adicionales. En un reciente meta análisis de reportes de pacientes con mutaciones en IDH1, 12747 pacientes fueron asociados a un peor OS. Sin embargo, los pacientes con mutaciones en IDH2 fueron asociados con un favorable OS (Xu, *et al.*, 2017). El efecto del pronóstico de las mutaciones IDH1^{R132} y IDH2^{R140} parece estar influenciado por el contexto genético, pacientes con NPM1 – IDH1^{R132} – DNMT3A, así como los pacientes con NPM1 – IDH2^{R140} tienen en promedio resultados favorable, pero aquellos con la mutación IDH1^{R140} tienen un pronóstico significativamente peor (Papaemmanuil, *et al.*, 2016).) Las mutaciones de IDH1/2 acompañadas con FLT3^{mut} no tienen un significativo impacto en el OS de los pacientes (Boddu, *et al.*, 2017). Todos los reportes del pronóstico en casos de leucemia mieloide aguda con mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 se anexaron en la tabla 5.

1.6 RESULTADOS

Con la finalidad de determinar el número de reportes en la bibliografía de casos de pacientes con leucemia mieloide en los cuales se encontrara concurrencia de mutaciones en los genes asociados a la metilación del DNA, DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2, y que tuvieran concomitancia con alguna de las alteraciones que se describen como leucemia mieloide aguda con recurrentes anomalías genéticas en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sin importar variables como el tipo de leucemia mieloide aguda, lugar del análisis, edad, sexo etcétera, se agruparon cada una de las coexistencias con el número de casos encontrados en la tabla 4 y en la figura 10, los reportes donde no se menciona el número de pacientes que coexistieron se reportaron como no definido (ND). En total se encontraron 39 reportes dentro de los cuales en total existía la presencia de 1453 casos de mutaciones donde se encontró coexistencia con mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 y las entidades de la OMS, siendo 1223 casos coexistentes con NPM1^{mut}, 40 con CEBPA^{mut} y 57 para RUNX1^{mut}. Para los casos con alteraciones cromosómicas como t(8;21) se encontraron 64 casos de coexistencia (11 con DNMT3A, 34 con TET2, 8 con IDH1 y 11 con IDH2). Nueve con inv16 (1 con DNMT3A, 5 con TET2, 3 con IDH1 y no determinado con IDH2) y 26 con t(15;17) (7 con DNMT3A, 1 con TET2, 12 con IDH1 y 6 con IDH2). En las demás entidades el número de coexistencias fueron muy inferiores, por ejemplo en DEK-NUP214 solo se encontró coexistencia con TET2, en el reordenamiento GATA2, MECOM se encontraron dos casos coexistentes con DNMT3A^{mut} y en BCR- ABL1 un caso de coexistencias con DNMT3A^{mut} y otro con IDH1^{mut}. No se encontraron reportes en MLLT3-KMT2A y RBM15-MKL1. La evaluación pronóstica de los casos de pacientes con LMA y mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1 e IDH2 también se recopiló en la tabla 5 y se graficó en la figura 11. Conforme a la información recabada se reportó sin efecto, favorable, desfavorable. Para las mutaciones en DNMT3A, 25 reportes desfavorable, 1 favorable y 2 sin efecto. Para las mutaciones en TET2, 13 reportes desfavorable, 0 favorable y 8 sin efecto. IDH1 16 reportes desfavorables, 1 favorable y 13 sin efecto y para IDH2 10 reportes desfavorable, 2 favorable y 8 sin efecto.

Tabla 4. Casos reportados de leucemia mieloide aguda con mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 coexistentes en las entidades con recurrentes anormalidades genéticas de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud.

LMA	RUNX1- RUNX1T1 t(8;21)	CBFB- MYH11 Inv(16)	PML- RARA t(15;17)	KMT2A- MLLT3 t(9;11)	DEK- NUP214 t(6;9)	GATA2, MECOM Inv(3)	RBM15- MKL1 t(1;22)	BCR- ABL1 t(9;22)	NPM1	CEBPA	RUNX1
DNMT3A	9 ^a 1 ^c 1 ⁿ ND ^p	1 ⁿ ND ^{o/p/w}	2 ^{al} 1 ^c 2 ^{aj} 1 ^{ah} 1 ^{ai}	-	-	1 ^r 1 ^{al} ND ^x	-	1 ^h	357 ^u /107 ^z 112 ^v /73 ^{ak} 56 ^p /57 ^t 37 ^{aa} /24 ^{ab} 11 ^s /10 ^y /4 ^l ND ^{i/w/x/ae}	7 ^z 4 ^v 3 ^{ak} 3 ^l 1 ^y ND ^{ae}	12 ^{af} ND ^{b/w/x}
TET2	19 ^a 6 ⁿ /5 ^g 1 ^d /1 ^f 1 ⁱ /1 ^j ND ^{w/am}	2 ^f 2 ⁿ 1 ^j ND ^o	1 ^f	-	ND ^x	-	-	-	59 ^t 33 ^v 20 ^{ac} 2 ^s /3 ^y ND ^{i/u/w/x/ae}	8 ^{ac} 2 ^y ND ^{b/u/ae}	11 ^{ai} 8 ^{ac} 11 ^{af} ND ^{b/w/x}
IDH1	4 ^e /2 ^l 1 ^g /1 ^k ND ^b	2 ^g 1 ^e ND ^o	4 ^l 5 ^q 3 ^e	-	-	-	-	1 ^h	35 ^m /30 ^{ad} /24 ^s 21 ^l /1 ^v ND ^{i/u/w/x/aa}	2 ^{ad} 1 ^m ND ^{b/u/a}	4 ^l 3 ^{af} ND ^{b/w/ag/x}
IDH2	5 ^k 2 ^g 2 ^m 1 ^q /1 ^d	ND ^o	6 ^q	-	-	-	-	-	40 ^m / 32 ^v 26 ^s / 20 ^{ad} 18 ^t /4 ^y /7 ^{aa} ND ^{i/w/x/aa}	4 ^m 3 ^{ad} 2 ^y ND ^{b/u/ae}	8 ^{af} ND ^{b/w/ag/x}

(-) No reportado

ND. No definido

a: Jahn, *et al.*, 2017, **b:** Kihara, *et al.*, 2014, **c:** Yan, *et al.*, 2011, **d:** Höllein, *et al.*, 2019, **e:** Zhang, *et al.*, 2011; **f:** Glass, *et al.*, 2017, **g:** Duployez, *et al.*, 2016, **h:** Hou, *et al.*, 2012, **i:** Ley, *et al.*, 2013, **j:** Nibourel, *et al.*, 2010 **k:** Krauth, *et al.*, 2014, **l:** Guan, *et al.*, 2013, **m:** Abbas, *et al.*, 2010, **n:** Cher, *et al.*, 2016, **o:** Fasan, *et al.*, 2015 **p:** Thol, *et al.*, 2011, **q:** Chotirat, *et al.*, 2012, **r:** Hodge, *et al.*, 2018, **s:** Ferret, *et al.*, 2018 **t:** Patel, *et al.*, 2017, **u:** Rose, *et al.*, 2017, **v:** Ivey, *et al.*, 2016, **w:** Metzeler, *et al.*, 2016 **x:** Papaemmanuil, *et al.*, 2016, **y:** Wang, *et al.*, 2016, **z:** Marcucci, *et al.*, 2011, **aa:** Ley, *et al.*, 2010, **ab:** Renneville, *et al.*, 2012, **ac:** Chou, *et al.*, 2011, **ad:** Paschka, *et al.*, 2010, **ae:** Patel, *et al.*, 2012, **af:** Mandler, *et al.*, 2012, **ag:** Gaidzik, *et al.*, 2011, **ah:** Pezzi, *et al.*, 2012, **ai:** Fasan, *et al.*, 2017, **aj:** Weijing, *et al.*, 2017, **ak:** Ribeiro, *et al.*, 2012, **al:** Fried, *et al.*, 2011, **am:** Hou *et al.*, 2014.

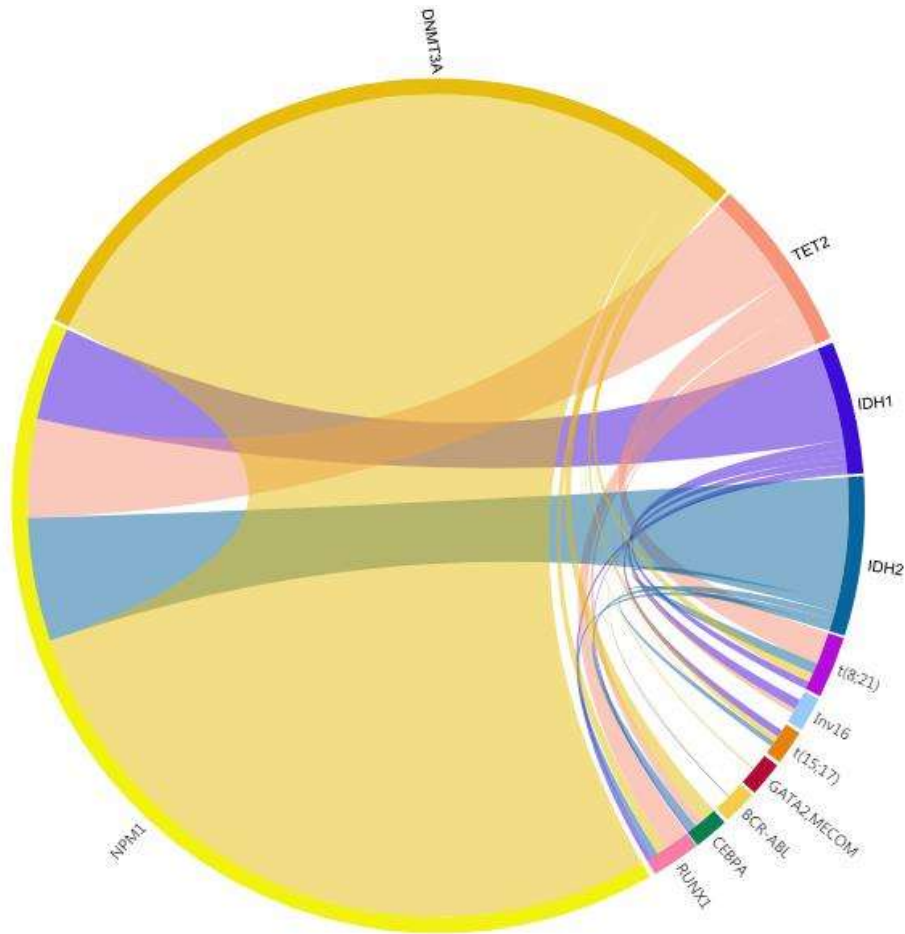


Figura 10. Diagrama de cuerdas de los casos reportados de leucemia mieloide aguda con mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 coexistentes en las entidades con recurrentes anomalías genéticas de la clasificación de la OMS. El diagrama de cuerdas representa la asociación de casos de leucemia mieloide aguda donde existía coexistencia de mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2 (marcados en negritas) con las entidades de la clasificación de la OMS. *Elaborado con JavaScript en amCharts3, jsfiddle.*

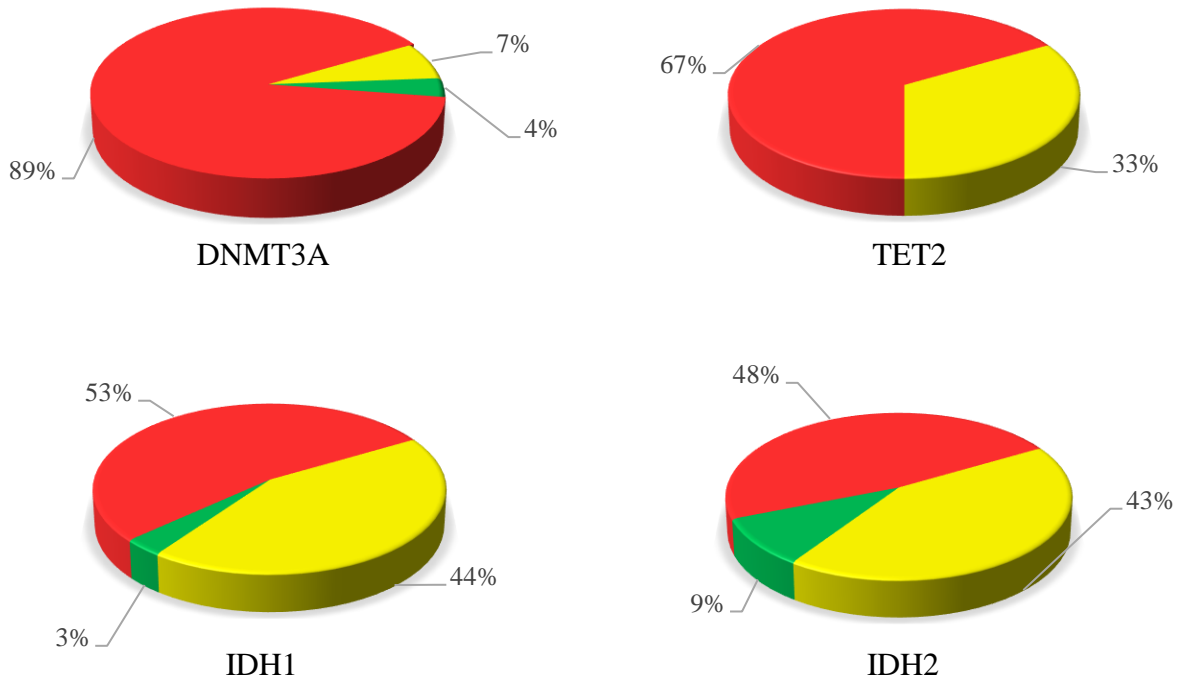


Figura 11. Pronóstico de casos leucemia mieloide aguda con mutaciones en DNMT3, TET2 e IDH1/2. Cada grafica se elaboró a partir del número de casos de reportes del pronóstico en la bibliografía para cada entidad (tabla 5). El porcentaje de reportes con diagnostico desfavorable se representa en color rojo, favorable de color verde y sin efecto de color amarillo.

Tabla 5. Reportes del pronóstico de pacientes con leucemia mieloide aguda con mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2

Mutación	Pronostico	Referencia
DNMT3A	Sin efecto	Gaidzik, <i>et al.</i> , 2013 (no-desfavorable en ELN); Marcucci, <i>et al.</i> , 2011 (R882 jóvenes)
	Favorable	Gaidzik, <i>et al.</i> , 2013 (no-R882 en OS)
	Desfavorable	Dunlap, <i>et al.</i> , 2019; Ying, <i>et al.</i> , 2019; Yuan, <i>et al.</i> , 2019; Ahn, <i>et al.</i> , 2016 (+FLT3-ITD); Xiao-Qing, <i>et al.</i> , 2016; Kao, <i>et al.</i> , 2015; Parkin, <i>et al.</i> , 2015; Hou, <i>et al.</i> , 2014; Kihara, <i>et al.</i> , 2014; Shivarov, <i>et al.</i> , 2013; Gaidzik, <i>et al.</i> , 2013 (solo R882 en RFS); Ostronoff, <i>et al.</i> , 2013; Ribeiro, <i>et al.</i> , 2012; Renneville, <i>et al.</i> , 2012; Markova, <i>et al.</i> , 2012; Hou, <i>et al.</i> , 2012; Patel, <i>et al.</i> , 2012; Thol, <i>et al.</i> , 2011; Marcucci, <i>et al.</i> , 2011 (No-R882 jóvenes y R882 edad avanzada); Shen, <i>et al.</i> , 2011; Xiao-Jing, <i>et al.</i> , 2011; Yan, <i>et al.</i> , 2011; Ley, <i>et al.</i> , 2010; Timothy, <i>et al.</i> , 2010; Zhang, <i>et al.</i> , 2018.
TET2	Sin efecto	Gaidzik, <i>et al.</i> , 2010; Nibourel, <i>et al.</i> , 2010; Gaidzik, <i>et al.</i> , 2012; Damm, <i>et al.</i> , 2014; Hou, <i>et al.</i> , 2014; Kao, <i>et al.</i> , 2015 (EFS y OS) Shen, <i>et al.</i> , 2011; Nomdedeu, <i>et al.</i> , 2012
	Favorable	No reportado
	Desfavorable	Abdel-Wahab, <i>et al.</i> , 2009; Chou, <i>et al.</i> , 2011; Metzeler, <i>et al.</i> , 2011; Kosmider, <i>et al.</i> , 2011 (solo en LMA-RT); Chou, <i>et al.</i> , 2011; Patel, <i>et al.</i> , 2012; Weissmann, <i>et al.</i> , 2012 (EFS); Tian, <i>et al.</i> , 2014; Ohgami, <i>et al.</i> , 2015; Ahn, <i>et al.</i> , 2015; Parkin, <i>et al.</i> , 2015 Cher, <i>et al.</i> , 2016 (LFS); Lin, <i>et al.</i> , 2017
IDH1	Sin efecto	Abbas, <i>et al.</i> , 2012 (OS); Chotirat, <i>et al.</i> , 2012; Chou, <i>et al.</i> , 2010; Dinardo, <i>et al.</i> , 2015; Ravandi, <i>et al.</i> , 2012; Wagner, <i>et al.</i> , 2010 (R132); Willander, <i>et al.</i> , 2014 (OS); Andersson, <i>et al.</i> , 2011; Dinardo, <i>et al.</i> , 2014; Guan, <i>et al.</i> , 2013; Hou, <i>et al.</i> , 2014; Mardis, <i>et al.</i> , 2009; Shen, <i>et al.</i> , 2011
	Favorable	Patel, <i>et al.</i> , 2011 (NPM1 ^{mut} sin FLT3-ITD)
	Desfavorable	Aref, <i>et al.</i> , 2015; Boissel, <i>et al.</i> , 2011 (OS); Feng, <i>et al.</i> , 2012 (OS); Marcucci, <i>et al.</i> , 2010 (CR); Paschka, <i>et al.</i> , 2010 (OS) (NPM1 ^{mut} sin FLT3-ITD); Schnittger, <i>et al.</i> , 2010 (OS); Wagner, <i>et al.</i> , 2010 (SNP rs11554137); Yamaguchi, <i>et al.</i> , 2014; Koszarska, <i>et al.</i> , 2012 (R132H); Ma, <i>et al.</i> , 2015 (OS); Molenaar, <i>et al.</i> , 2015; Nomdedeu, <i>et al.</i> , 2012 (LMA-CN); Parkin, <i>et al.</i> , 2015; Wang, <i>et al.</i> , 2015; Zhang, <i>et al.</i> , 2011; Xu, <i>et al.</i> , 2012 (NRAS ^{mut} , DNMT3A ^{mut} y FLT3-ITD)
IDH2	Sin efecto	Abbas, <i>et al.</i> , 2012; Chotirat, <i>et al.</i> , 2012; Chou, <i>et al.</i> , 2010; Dinardo, <i>et al.</i> , 2015; Thol, <i>et al.</i> , 2010; Dinardo, <i>et al.</i> , 2014; Koszarska, <i>et al.</i> , 2012; Shen, <i>et al.</i> , 2011
	Favorable	Patel, <i>et al.</i> , 2011 (NPM1 ^{mut} sin FLT3-ITD); Green, <i>et al.</i> , 2011 (R132)
	Desfavorable	Aref, <i>et al.</i> , 2015; Boissel, <i>et al.</i> , 2011 (OS); Green, <i>et al.</i> , 2011(OS)(R172); Marcucci, <i>et al.</i> , 2010 (CR); Paschka, <i>et al.</i> , 2010 (OS) (NPM1 ^{mut} sin FLT3-ITD); Willander, <i>et al.</i> , 2014 (OS) (R140); Yamaguchi, <i>et al.</i> , 2014; Molenaar, <i>et al.</i> , 2015; Nomdedeu, <i>et al.</i> , 2012; Wang, <i>et al.</i> , 2015

2.6 DISCUSIÓN

Recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Clasificación Europea de la leucemia mieloide aguda (ELN) han incorporado nuevas entidades citogenéticas y moleculares como componentes esenciales de la estratificación del riesgo y toma de decisiones terapéuticas en el manejo clínico de pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) (Dohner, *et al.*, 2017). Hasta ahora es bien conocido que las mutaciones en los reguladores epigenéticos son eventos genéticos comunes en LMA y que contribuyen a su patogénesis tal es el caso de las mutaciones en los genes DNMT3A donde un gran porcentaje de ellas son en la posición R882 dentro de la región catalítica, TET2 con mutaciones heterogéneas, IDH1 predominantemente en la posición R132 e IDH2 dentro de la posición R140 y R173 las cuales se encuentran un gran porcentaje en los casos LMA con cariotipo normal, coexistentes con otros marcadores como NPM1 o FLT3 (Abdel-Wahab, *et al.*, 2011) (Ley, *et al.*, 2013). Sin embargo, hasta hace unos años se había descrito que estas mutaciones en estos 4 reguladores epigenéticos eran mutuamente excluyentes con aberraciones cromosómicas (Ley, *et al.*, 2010) (Ley, *et al.*, 2013). Recientemente la secuenciación masiva de todo el genoma de LMA permitió encontrar casos donde existe coexistencia relevante, habiendo más información para los reordenamientos cromosómicos más comunes como t(8;21), inv16 y t(15;17) y escasamente para los demás reordenamientos cromosómicos descritos en la clasificación de la OMS. A pesar de que la significancia clínica de estas coexistencias muy pocas veces se describe, por ejemplo, en las mutaciones IDH2. Los autores que si lo reportan describen que DNMT3A, TET2 e IDH1 propician un pronóstico muy adverso, ejemplo de ello Yan *et al.* describieron la coexistencia de DNMT3A en 2 pacientes, uno con Inv16 y otro con t(15;17), los cuales desarrollaron leucemia de sistema nervioso central incluso con tratamiento intensivo. Cher *et al.* por su parte describieron por primera vez que las mutaciones en TET2 eran de pronóstico desfavorable en pacientes con LMA-CBF, Weijing *et al.* reportaron 2 pacientes con PML-RARA y DNMT3A con pronóstico muy desfavorable, por su parte Zhang *et al.* encontraron que los pacientes con IDH1^{mut} coexistente con t(8;21) tenían un peor DFS, por lo cual sería importante evaluar más detalladamente la implicancia de estas mutaciones en la patogenia de los casos de LMA con cariotipo anormal. En el caso de las anomalías genéticas que son importantes en LMA *de novo* como lo es NPM1 o CEBPA y RUNX1, la cantidad de casos concurrentes con las mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 es mucho mayor, siendo característicamente la coexistencia con NPM1 la cual ha sido estudiada como un punto importante en la patogénesis molecular (Shlush, *et al.*, 2014). La clasificación más ampliamente aceptada en los esquemas de pronóstico para LMA incluyen lesiones citogenéticas junto con NPM1, FLT3-ITD y CEBPA, sin embargo existen numerosos estudios que evalúan la implicación que las mutaciones dentro de los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2 tienen en los casos de LMA, siendo evidente que la mutación en DNMT3A^{R882} es un predictor independiente de pronóstico adverso (Yuan, *et al.*, 2019) así como las mutaciones en TET2 que son mayoritariamente asociadas también a pronóstico

desfavorable y los varios subtipos de mutaciones en los genes IDH que pueden contribuir a diferentes pronósticos (Xu, *et al.*, 2017) deberían considerarse para su incorporación en pautas de pronóstico porque son comunes y ejercen una fuerte influencia en los resultados clínicos de los pacientes. Sin embargo a pesar de la gran cantidad de estudios que han evaluado la relevancia pronostica de las mutaciones en DNMT3A, TET e IDH1/2, respuesta a tratamientos así como su influencia cuando coexisten con otras entidades (Ley, *et al.*, 2010,) (Papaemmanuil, *et al.*, 2016,) (Ivey, *et al.*, 2016) (Yuan, *et al.*, 2019) estas anomalías moleculares adicionales no se han integrado en ninguna de las dos clasificaciones, sin embargo es claro que podrían ayudar a mejorar la clasificación de los casos de LMA en subgrupos de riesgo más precisos con el beneficio de un resultado general mejor para los pacientes (Patel, *et al.*, 2012).

3.6 CONCLUSIONES

La nula o baja concurrencia de las mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 en los casos de leucemia mieloide aguda con translocaciones/inversiones balanceadas de la clasificación de la OMS evidencia que estas mutaciones no contribuyen a la leucemogénesis en estos casos.

La cantidad tan alta de casos coexistentes entre de las mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 con NPM1 infiere la importancia patogénica y el potencial de convertirse en factores pronósticos o dianas terapéuticas y mejorar las expectativas de vida los pacientes.

Las mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 tienen en su mayoría una implicación pronóstica de carácter adverso en los casos de leucemia mieloide aguda con cariotipo normal.

En los casos aislados de leucemia mieloide aguda con cariotipo anormal coexistentes con mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1 también se observa una correlación pronóstica desfavorable, para IDH2^{mut} no se encontró reporte.

DNMT3A^{mut} es un predictor independiente de pronóstico desfavorable en casos de leucemia mieloide aguda.

4.6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Aapola U, Kawasaki K, Scott HS, Ollila J, Vihinen M, Heino M, Shintani A, Kawasaki K, Minoshima S, Krohn K, Antonarakis SE, Shimizu N, Kudoh J, Peterson P. (2000); Isolation and initial characterization of a novel zinc finger gene, DNMT3L, on 21q22.3, related to the cytosine-5-methyltransferase 3 gene family. *Genomics* 65(3):293-8.

Abbas S, Lugthart S, Kavelaars FG, Schelen A, Koenders JE, Zeilemaker A, van Putten WJ, Rijneveld AW, Löwenberg B, Valk PJ. (2010); Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Blood* 116(12):2122-6.

Abdel-Wahab O, Mullally A, Hedvat C, Garcia-Manero G, Patel J, Wadleigh M, Malinge S, Yao J, Kilpivaara O, Bhat R, Huberman K, Thomas S, Dolgalev I, Heguy A, Paietta E, Le Beau MM, Beran M, Tallman MS, Ebert BL, Kantarjian HM, Stone RM, Gilliland DG, Crispino JD, Levine RL. (2009); Genetic characterization of TET1, TET2, and TET3 alterations in myeloid malignancies. *Blood* 114(1):144-7.

Ahn JS, Kim HJ, Kim YK, Jung SH, Yang DH, Lee JJ, Lee IK, Kim NY, Minden MD, Jung CW, Jang JH, Kim HJ, Moon JH, Sohn SK, Won JH, Kim SH, Kim N, Yoshida K, Ogawa S, Kim DD. (2015); Adverse prognostic effect of homozygous TET2 mutation on the relapse risk of acute myeloid leukemia in patients of normal karyotype. *Haematologica* 100(9):e351-3.

Ahn JS, Kim HJ, Kim YK, Lee SS, Jung SH, Yang DH, Lee JJ, Kim NY, Choi SH, Jung CW, Jang JH, Kim HJ, Moon JH, Sohn SK, Won JH, Kim SH, Kim DD. (2016); DNMT3A R882 Mutation with FLT3-ITD Positivity Is an Extremely Poor Prognostic Factor in Patients with Normal-Karyotype Acute Myeloid Leukemia after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 22(1):61-70.

Akalin, A., Garrett-Bakelman, F., Kormaksson, M., Busuttil, J., Zhang, L., Khrebtukova, I., Milne, T., Huang, Y., Biswas, D., Hess, J., Allis, C., Roeder, R., Valk, P., Löwenberg, B., Delwel, R., Fernandez, H., Paietta, E., Tallman, M., Schroth, G., Mason, C., Melnick, A. and Figueroa, M. (2012). Base-Pair Resolution DNA Methylation Sequencing Reveals Profoundly Divergent Epigenetic Landscapes in Acute Myeloid Leukemia.

Amatangelo MD, Quek L, Shih A, Stein EM, Roshal M, David MD, Marteyn B, Farnoud NR, de Botton S, Bernard OA, Wu B, Yen KE, Tallman MS, Papaemmanuil E, Penard-Lacronique V, Thakurta A, Vyas P, Levine RL. (2017); Enasidenib induces acute myeloid leukemia cell differentiation to promote clinical response. *Blood* 130(6):732-41.

American Cancer Society. Key statistics about acute myeloid leukemia (2019, Marzo 16) Tomado de: <https://www.cancer.org/cancer/acute-myeloid-leukemia/about/key-statistics.html>

Andersson AK, Miller DW, Lynch JA, Lemoff AS, Cai Z, Pounds SB, Radtke I, Yan B, Schuetz JD, Rubnitz JE, Ribeiro RC, Raimondi SC, Zhang J, Mullighan CG, Shurtleff SA, Schulman BA, Downing JR. (2011); IDH1 and IDH2 mutations in pediatric acute leukemia. *Leukemia* 25(10):1570-1577.

Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. (2016); The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 127(20):2391-405.

Arber DA, Stein AS, Carter NH, Ikle D, Forman SJ, Slovak ML. (2003); Prognostic impact of acute myeloid leukemia classification. Importance of detection of recurring cytogenetic abnormalities and multilineage dysplasia on survival. *American journal of clinical pathology* 119(5):672-80.

Aref S, Kamel Areida el S, Abdel Aal MF, Adam OM, El-Ghonemy MS, El-Baiomy MA, Zeid TA. (2015); Prevalence and Clinical Effect of IDH1 and IDH2 Mutations Among Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia Patients. *Clinical lymphoma, myeloma & leukemia* 15(9):550-555.

Bacher, U., Schnittger, S., and Haferlach, T. (2010). Molecular genetics in acute myeloid leukemia. *Curr. Opin. Oncol.* 22, 646–655; Stirewalt, D.L., and Radich, J.P. (2003). The role of FLT3 in haematopoietic malignancies. *Nat. Rev. Cancer* 3, 650–665

Bajrami E and Spiroski M (2016) Genomic imprinting; *Maced. J. Med. Sci.* 154(1): 181-4.

Baylin SB, Jones PA. (2011); A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications. *Nature reviews. Cancer* 11(10):726-34.

Betz, B.L., and Hess, J.L. (2010). Acute myeloid leukemia diagnosis in the 21st century. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 134, 1427–1433.

Bhutani N, Burns DM, Blau HM. (2011); DNA demethylation dynamics. *Cell* 146(6):866-72.

Bird A. (2002); DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & development* 16(1):6-21.

Björkholm M, Derolf AR, Hultcrantz M, Kristinsson SY, Ekstrand C, Goldin LR, Andreasson B, Birgegård G, Linder O, Malm C, Markevörn B, Nilsson L, Samuelsson J, Granath F, Landgren O. (2011); Treatment-related risk factors for transformation to acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in myeloproliferative neoplasms. *Journal*

of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology 29(17):2410-5.

Boddu P, Takahashi K, Pemmaraju N, Daver N, Benton CB, Pierce S, Konopleva M, Ravandi F, Cortes J, Kantarjian H, DiNardo CD. (2017); Influence of IDH on FLT3-ITD status in newly diagnosed AML. *Leukemia* 31(11):2526-9.

Boissel N, Nibourel O, Renneville A, Gardin C, Reman O, Contentin N, Bordessoule D, Pautas C, de Revel T, Quesnel B, Huchette P, Philippe N, Geffroy S, Terre C, Thomas X, Castaigne S, Dombret H, Preudhomme C. (2010); Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms 1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association group. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 28(23):3717-23.

Boland MJ, Nazor KL, Loring JF. (2014); Epigenetic regulation of pluripotency and differentiation. *Circulation research* 115(2):311-24.

Bowen D, Groves MJ, Burnett AK, Patel Y, Allen C, Green C, Gale RE, Hills R, Linch DC. (2009); TP53 gene mutation is frequent in patients with acute myeloid leukemia and complex karyotype, and is associated with very poor prognosis. *Leukemia* 23(1):203-6.

Bullinger L, Krönke J, Schön C, Radtke I, Urlbauer K, Botzenhardt U, Gaidzik V, Carió A, Senger C, Schlenk RF, Downing JR, Holzmann K, Döhner K, Döhner H. (2010); Identification of acquired copy number alterations and uniparental disomies in cytogenetically normal acute myeloid leukemia using high-resolution single-nucleotide polymorphism analysis. *Leukemia* 24(2):438-49.

Burnett A, Wetzler M, Löwenberg B. (2011); Therapeutic advances in acute myeloid leukemia. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 29(5):487-94.

Campos L, Guyotat D, Archimbaud E, Devaux Y, Treille D, Larese A, Maupas J, Gentilhomme O, Ehram A, Fiere D. (1989); Surface marker expression in adult acute myeloid leukaemia: correlations with initial characteristics, morphology and response to therapy. *British journal of haematology* 72(2):161-6.

Catlin SN, Busque L, Gale RE, Guttorp P, Abkowitz JL. (2011); The replication rate of human hematopoietic stem cells in vivo. *Blood* 117(17):4460-6.

Challen GA, Sun D, Jeong M, Luo M, Jelinek J, Berg JS, Bock C, Vasanthakumar A, Gu H, Xi Y, Liang S, Lu Y, Darlington GJ, Meissner A, Issa JP, Godley LA, Li W, Goodell MA. (2011); Dnmt3a is essential for hematopoietic stem cell differentiation. *Nature genetics* 44(1):23-31.

Chaturvedi A, Araujo Cruz MM, Jyotsana N, Sharma A, Yun H, Görlich K, Wichmann M, Schwarzer A, Preller M, Thol F, Meyer J, Haemmerle R, Struys EA, Jansen EE, Modlich U, Li Z, Sly LM, Geffers R, Lindner R, Manstein DJ, Lehmann U, Krauter J, Ganser A, Heuser M. (2013); Mutant IDH1 promotes leukemogenesis in vivo and can be specifically targeted in human AML. *Blood* 122(16):2877-87.

Chen T, Li E. (2004); Structure and function of eukaryotic DNA methyltransferases. *Current topics in developmental biology*. 60:55-89.

Cheng X, Blumenthal RM. (2008). Mammalian DNA methyltransferases: a structural Perspective. *Structure*. 16(3):341-50;

Cher CY, Leung GM, Au CH, Chan TL, Ma ES, Sim JP, Gill H, Lie AK, Liang R, Wong KF, Siu LL, Tsui CS, So CC, Wong HW, Yip SF, Lee HK, Liu HS, Lau JS, Luk TH, Lau CK, Lin SY, Kwong YL, Leung AY. (2016); Next-generation sequencing with a myeloid gene panel in core-binding factor AML showed KIT activation loop and TET2 mutations predictive of outcome. *Blood cancer journal* 6(7):e442.

Chotirat S, Thongnoppakhun W, Promsuwicha O, Boonthimat C, Auewarakul CU. (2012); Molecular alterations of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 (IDH1 and IDH2) metabolic genes and additional genetic mutations in newly diagnosed acute myeloid leukemia patients. *Journal of hematology & oncology* 5:5.

Chou WC, Chou SC, Liu CY, Chen CY, Hou HA, Kuo YY, Lee MC, Ko BS, Tang JL, Yao M, Tsay W, Wu SJ, Huang SY, Hsu SC, Chen YC, Chang YC, Kuo YY, Kuo KT, Lee FY, Liu MC, Liu CW, Tseng MH, Huang CF, Tien HF. (2011); TET2 mutation is an unfavorable prognostic factor in acute myeloid leukemia patients with intermediate-risk cytogenetics. *Blood* 118(14):3803-10.

Chou WC, Lei WC, Ko BS, Hou HA, Chen CY, Tang JL, Yao M, Tsay W, Wu SJ, Huang SY, Hsu SC, Chen YC, Chang YC, Kuo KT, Lee FY, Liu MC, Liu CW, Tseng MH, Huang CF, Tien HF. (2011); The prognostic impact and stability of Isocitrate dehydrogenase 2 mutation in adult patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 25(2):246-53.

Churpek JE, Larson RA. (2013); The evolving challenge of therapy-related myeloid neoplasms. *Best practice & research. Clinical haematology* 26(4):309-17.

Cimmino L, Abdel-Wahab O, Levine RL, Aifantis I. (2011); TET family proteins and their role in stem cell differentiation and transformation. *Cell stem cell* 9(3):193-204.

Couronné L, Lippert E, Andrieux J, Kosmider O, Radford-Weiss I, Penther D, Dastugue N, Mugneret F, Lafage M, Gachard N, Nadal N, Bernard OA, Nguyen-Khac F. (2010); Analyses of TET2 mutations in post-myeloproliferative neoplasm acute myeloid leukemias. *Leukemia* 24(1):201-3.

Damm F, Markus B, Thol F, Morgan M, Göhring G, Schlegelberger B, Krauter J, Heuser M, Bernard OA, Ganser A. (2014); TET2 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: clinical implications and evolutionary patterns. *Genes, chromosomes & cancer* 53(10):824-832.

Dawson MA, Kouzarides T. (2012); Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell*;150:12–27.

Deaton AM, Webb S, Kerr AR, Illingworth RS, Guy J, Andrews R, Bird A. (2011); Cell type-specific DNA methylation at intragenic CpG islands in the immune system. *Genome research* 21(7):1074-86.

Delhommeau, F, Dupont, S, Della Valle, V, James, C, Trannoy, S, Massé, A, & Bernard, OA. (2009); Mutation in TET2 in myeloid cancers. *The New England journal of medicine* 360(22):2289-301.

Deschler B, Lübbert M. (2006); Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer* 107(9):2099-107.

Dhe-Paganon S, Syeda F, Park L (2011). DNA methyl transferase 1: regulatory mechanisms and implications in health and disease. *Int J Biochem Mol Biol* 2: 58–66.

DiNardo CD, Patel KP, Garcia-Manero G, Luthra R, Pierce S, Borthakur G, Jabbour E, Kadia T, Pemmaraju N, Konopleva M, Faderl S, Cortes J, Kantarjian HM, Ravandi F. (2014); Lack of association of IDH1, IDH2 and DNMT3A mutations with outcome in older patients with acute myeloid leukemia treated with hypomethylating agents. *Leukemia & lymphoma* 55(8):1925-1929.

Dinardo CD, Ravandi F, Agresta S I (2015); Characteristics, clinical outcome, and prognostic significance of IDH mutations in AML. *Am. J. Hematol.* 90(8), 732–736

Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Dombret H, Ebert BL, Fenaux P, Larson RA, Levine RL, Lo-Coco F, Naoe T, Niederwieser D, Ossenkoppele GJ, Sanz M, Sierra J, Tallman MS, Tien HF, Wei AH, Löwenberg B, Bloomfield CD. (2017); Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 129(4):424-47.

Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, Dombret H, Fenaux P, Grimwade D, Larson RA, Lo-Coco F, Naoe T, Niederwieser D, Ossenkoppele GJ, Sanz MA, Sierra J, Tallman MS, Löwenberg B, Bloomfield CD. (2010); Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 115(3):453-74.

Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. (2015); Acute Myeloid Leukemia. *The New England journal of medicine* 373(12):1136-52.

Döhner K, Schlenk RF, Habdank M, Scholl C, Rücker FG, Corbacioglu A, Bullinger L, Fröhling S, Döhner H. (2005); Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations. *Blood* 106(12):3740-6.

Dunlap JB, Leonard J, Rosenberg M, Cook R, Press R, Fan G, Raess PW, Druker BJ, Traer E. (2019); The combination of NPM1, DNMT3A, and IDH1/2 mutations leads to inferior overall survival in AML. *American journal of hematology* 94(8):913-20.

Duployez N, Marceau-Renaut A, Boissel N, Petit A, Bucci M, Geffroy S, Lapillonne H, Renneville A, Ragu C, Figeac M, Celli-Lebras K, Lacombe C, Micol JB, Abdel-Wahab O, Cornillet P, Ifrah N, Dombret H, Leverger G, Jourdan E, Preudhomme C. (2016); Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood* 127(20):2451-9.

Eckardt, N. (2006). Genetic and Epigenetic Regulation of Embryogenesis. *The Plant Cell*, 18(4), pp.781-784.

Egger, G. et al. (2004) Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, 429, 457–463.

Ehrlich M, Lacey M. (2013). DNA hypomethylation and hemimethylation in cancer. *Adv Exp Med Biol* 754: 31–56.

Emperle M, Dukatz M, Kunert S, Holzer K, Rajavelu A, Jurkowska RZ, Jeltsch A. (2018); The DNMT3A R882H mutation does not cause dominant negative effects in purified mixed DNMT3A/R882H complexes. *Scientific reports* 8(1):13242.

Fasan A, Haferlach C, Perglerová K, Kern W, Haferlach T. (2017); Molecular landscape of acute promyelocytic leukemia at diagnosis and relapse. *Haematologica* 102(6):e222-e224.

Fasan, A., Haferlach, C., Perglerová, K., Schindela, S., Schnittger, S., Kern, W. and Haferlach, T. (2015). Landscape of Secondary Genetic Lesions in Acute Myeloid Leukemia with Inv(16)/CBFB-MYH11. *Blood*, 126(23), 801–802

Feinberg, A. P. & Tycko, B. (2004). The history of cancer epigenetics. *Nature Rev. Cancer* 4, 143–153.

Fendt SM, Bell EL, Keibler MA, Olenchock BA, Mayers JR, Wasylenko TM, Vokes NI, Guarente L, Vander Heiden MG, Stephanopoulos G. (2013); Reductive glutamine metabolism is a function of the α -ketoglutarate to citrate ratio in cells. *Nature communications* 4:2236.

Feng JH, Guo XP, Chen YY, Wang ZJ, Cheng YP, Tang YM. (2012); Prognostic significance of IDH1 mutations in acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *American journal of blood research* 2(4):254-264.

Fernandez-Mercado M, Yip BH, Pellagatti A, Davies C, Larrayoz MJ, Kondo T, Pérez C, Killick S, McDonald EJ, Odero MD, Agirre X, Prósper F, Calasanz MJ, Wainscoat JS, Boulwood J. (2012); Mutation patterns of 16 genes in primary and secondary acute myeloid leukemia (AML) with normal cytogenetics. *PloS one* 7(8):e42334.

Ferrara F, Mirto S. (1996); Serum LDH value as a predictor of clinical outcome in acute myelogenous leukaemia of the elderly. *Br J Haematol.* 92:627–631.

Ferrara F, Schiffer CA. (2013); Acute myeloid leukaemia in adults. *Lancet (London, England)* 381(9865):484-95.

Ferret Y, Boissel N, Helevaut N, Madic J, Nibourel O, Marceau-Renaut A, Bucci M, Geffroy S, Celli-Lebras K, Castaigne S, Thomas X, Terré C, Dombret H, Preudhomme C, Renneville A. (2018); Clinical relevance of. *Haematologica* 103(5):822-9.

Figuroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A, Li Y, Bhagwat N, Vasanthakumar A, Fernandez HF, Tallman MS, Sun Z, Wolniak K, Peeters JK, Liu W, Choe SE, Fantin VR, Paietta E, Löwenberg B, Licht JD, Godley LA, Delwel R, Valk PJ, Thompson CB, Levine RL, Melnick A. (2010); Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer cell* 18(6):553-67.

Figuroa, M.E., Lugthart, S., Li, Y., Erpelinck-Verschueren, C., Deng, X., Christos, P.J., Schifano, E., Booth, J., van Putten, W., Skrabanek, L. and Campagne, F. (2010). DNA methylation signatures identify biologically distinct subtypes in acute myeloid leukemia. *Cancer cell* 17, 13-27.

Forbes, S.A., Bindal, N., Bamford, S., Cole, C., Kok, C.Y., Beare, D., Jia, M., Shepherd, R., Leung, K., Menzies, A., et al. (2011). COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic Acids Res.* 39 (Database issue), D945–D950.

Fried I, Bodner C, Pichler MM, Lind K, Beham-Schmid C, Quehenberger F, Sperr WR, Linkesch W, Sill H, Wölfler A. (2012); Frequency, onset and clinical impact of somatic DNMT3A mutations in therapy-related and secondary acute myeloid leukemia. *Haematologica*;97(2):246-250.

Gaidzik V, Döhner K. (2008); Prognostic implications of gene mutations in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *Seminars in oncology* 35(4):346-55.

Gaidzik VI, Bullinger L, Schlenk RF, Zimmermann AS, Röck J, Paschka P, Corbacioglu A, Krauter J, Schlegelberger B, Ganser A, Späth D, Kündgen A, Schmidt-Wolf IG, Götze K, Nachbaur D, Pfreundschuh M, Horst HA, Döhner H, Döhner K. (2011); RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia: results from a comprehensive genetic and clinical analysis from the AML study group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 29(10):1364-72.

Gaidzik VI, Paschka P, Späth D, Habdank M, Köhne CH, Germing U, von Lilienfeld-Toal M, Held G, Horst HA, Haase D, Bentz M, Götze K, Döhner H, Schlenk RF, Bullinger L, Döhner K. (2012); TET2 mutations in acute myeloid leukemia (AML): results from a comprehensive genetic and clinical analysis of the AML study group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 30(12):1350-1357.

Gaidzik, V., Schlenk, R., Paschka, P., Stolzle, A., Spath, D., Kuendgen, A., von Lilienfeld-Toal, M., Brugger, W., Derigs, H., Kremers, S., Greil, R., Raghavachar, A., Ringhoffer, M., Salih, H., Wattad, M., Kirchen, H., Runde, V., Heil, G., Petzer, A., Girschikofsky, M., Heuser, M., Kayser, S., Goehring, G., Teleanu, M., Schlegelberger, B., Ganser, A., Krauter, J., Bullinger, L., Dohner, H. and Dohner, K. (2013). Clinical impact of DNMT3A mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the AML Study Group (AMLSSG). *Blood*, 121(23), 4769–4777.

Geisbrecht, B.V.; Gould, S.J. (1999); The human PICD gene encodes a cytoplasmic and peroxisomal NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, 274, 30527–30533

Glass JL, Hassane D, Wouters BJ, Kunimoto H, Avellino R, Garrett-Bakelman FE, Guryanova OA, Bowman R, Redlich S, Intlekofer AM, Meydan C, Qin T, Fall M, Alonso A, Guzman ML, Valk PJM, Thompson CB, Levine R, Elemento O, Delwel R, Melnick A, Figueroa ME. (2017); Epigenetic Identity in AML Depends on Disruption of Nonpromoter Regulatory Elements and Is Affected by Antagonistic Effects of Mutations in Epigenetic Modifiers. *Cancer discovery* 7(8):868-83.

Goll MG, Kirpekar F, Maggert KA, Yoder JA, Hsieh CL, Zhang X, Golic KG, Jacobsen SE, Bestor TH. (2006); Methylation of tRNA^{Asp} by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2. *Science (New York, N.Y.)* 311(5759):395-8.

Green CL, Evans CM, Zhao L, Hills RK, Burnett AK, Linch DC, Gale RE. (2011); The prognostic significance of IDH2 mutations in AML depends on the location of the mutation. *Blood* 118(2):409-12.

Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, Wheatley K, Harrison CJ, Burnett AK.(2010); Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal

abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood* 116(3):354-65.

Grimwade D, Hills RK. (2009); Independent prognostic factors for AML outcome. *Hematology*. American Society of Hematology. Education Program < Missing volume number >:385-95.

Grimwade D, Walker H, Harrison G, Oliver F, Chatters S, Harrison CJ, Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH. (2001); The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood* 98(5):1312-20.

Grimwade D, Walker H, Oliver F, (1998); The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*;92(7):2322-2333.

Grossmann V, Tiacci E, Holmes AB, Kohlmann A, Martelli MP, Kern W, Spanhol-Rosseto A, Klein HU, Dugas M, Schindela S, Trifonov V, Schnittger S, Haferlach C, Bassan R, Wells VA, Spinelli O, Chan J, Rossi R, Baldoni S, De Carolis L, Goetze K, Serve H, Peceny R, Kreuzer KA, Oruzio D, Specchia G, Di Raimondo F, Fabbiano F, Sborgia M, Liso A, Farinelli L, Rambaldi A, Pasqualucci L, Rabadan R, Haferlach T, Falini B. (2011); Whole-exome sequencing identifies somatic mutations of BCOR in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Blood* 118(23):6153-63.

Grove CS, Vassiliou GS. (2014); Acute myeloid leukaemia: a paradigm for the clonal evolution of cancer. *Disease models & mechanisms* 7(8):941-51.

Guan L, Gao L, Wang L, Li M, Yin Y, Yu L, Gao C. (2013); The Frequency and clinical significance of IDH1 mutations in Chinese acute myeloid leukemia patients. *PloS one* 8(12):e83334.

Guan L, Gao L, Wang L, Li M, Yin Y, Yu L, Gao C. (2013); The Frequency and clinical

Guo JU, Su Y, Zhong C, Ming GL, Song H. (2011); Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell* 145(3):423-34.

Gutiérrez-Aguirre CH, González-Leal XJ, Herrera-Pérez F del C, Zacarías-Reyes BC, Herrera-Rojas MÁ, Gómez-Almaguer D (2014); Trasplante autólogo de células hematopoyéticas en leucemia mieloide aguda. *Rev Hematol*;15(3):87-94.

Haferlach C, Dicker F, Herholz H, Schnittger S, Kern W, Haferlach T. (2008); Mutations of the TP53 gene in acute myeloid leukemia are strongly associated with a complex aberrant karyotype. *Leukemia*;22(8):1539-1541.

Hamidi T, Singh AK, Chen T. (2015). Genetic alterations of DNA methylation machinery in human diseases. *Epigenomics*.;7:247–65.

Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, Lister TA, Bloomfield CD. (1999); World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting- Airlie House, Virginia, November 1997. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 17(12):3835-49.

Herman JG, Baylin SB (2003); Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med.*;349:2042–54.

Higuchi M, O'Brien D, Kumaravelu P, Lenny N, Yeoh EJ, Downing JR. (2002); Expression of a conditional AML1-ETO oncogene bypasses embryonic lethality and establishes a murine model of human t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer cell* 1(1):63-74.

Hodge JC, Bosler D, Rubinstein L, Sadri N, Shetty S. (2019); Molecular and pathologic characterization of AML with double Inv(3)(q21q26.2). *Cancer genetics* 230:28-36.

Höllein, A. (2019); Molecular characterization of AML with RUNX1-RUNX1T1 at diagnosis and relapse reveals net loss of co-mutations. *Hemasphere*, 3(1), 178.

Holliday, R., and Pugh, J. E. (1975). DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science* 187, 226–232.

Holz-Schietinger C, Matje DM, Harrison MF, Reich NO. (2011); Oligomerization of DNMT3A controls the mechanism of de novo DNA methylation. *The Journal of biological chemistry* 286(48):41479-88.

Hou HA, Kuo YY, Liu CY, Chou WC, Lee MC, Chen CY, Lin LI, Tseng MH, Huang CF, Chiang YC, Lee FY, Liu MC, Liu CW, Tang JL, Yao M, Huang SY, Ko BS, Hsu SC, Wu SJ, Tsay W, Chen YC, Tien HF. (2012); DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and clinical implications. *Blood* 119(2):559-68.

Hou HA, Lin CC, Chou WC, Liu CY, Chen CY, Tang JL, Lai YJ, Tseng MH, Huang CF, Chiang YC, Lee FY, Kuo YY, Lee MC, Liu MC, Liu CW, Lin LI, Yao M, Huang SY, Ko BS, Hsu SC, Wu SJ, Tsay W, Chen YC, Tien HF. (2014); Integration of cytogenetic and molecular alterations in risk stratification of 318 patients with de novo non-M3 acute myeloid leukemia. *Leukemia* 28(1):50-8.

Hou, H. A., & Tien, H. F. (2016). Mutations in epigenetic modifiers in acute myeloid leukemia and their clinical utility. *Expert review of hematology* 9, 447-469.

Itzykson R, Kosmider O, Cluzeau T, Mansat-De Mas V, Dreyfus F, Beyne-Rauzy O, Quesnel B, Vey N, Gelsi-Boyer V, Raynaud S, Preudhomme C, Adès L, Fenaux P, Fontenay M.

(2011); Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia* 25(7):1147-52.

Ivey A, Hills RK, Simpson MA, Jovanovic JV, Gilkes A, Grech A, Patel Y, Bhudia N, Farah H, Mason J, Wall K, Akiki S, Griffiths M, Solomon E, McCaughan F, Linch DC, Gale RE, Vyas P, Freeman SD, Russell N, Burnett AK, Grimwade D. (2016); Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *The New England journal of medicine* 374(5):422-33.

Jacobs, K. B., Yeager, M., Zhou, W., Wacholder, S., Wang, Z., Rodriguez-Santiago, B., Hutchinson, A., Deng, X., Liu, C., Horner, M.-J. et al. (2012). Detectable clonal mosaicism and its relationship to aging and cancer. *Nat. Genet.* 44, 651-658.

Jahn, N. (2017). Genetic Heterogeneity of t(8;21) (q22;q22.1) Acute Myeloid Leukemia Revealed By High-Throughput Targeted Sequencing. *Blood*, 130, 2688-2689.

Jones PA (2012); Functions of DNA methylation islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet* 13:484–492.

Jones PA, Baylin SB. (2002); The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature reviews. Genetics* 3(6):415-28.

Jones PA, Baylin SB. (2007). The epigenomics of cancer. *Cell* 128: 683–692

Jones PA, Laird PW. (1999); Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 21 : 163–167.

Jones PA, Liang G. (2004); Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. *Nat Rev Genet* 2009; 10:805–11;

Jones PA, Liang G. (2009); Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. *Nat Rev Genet*; 10:805–11.

Jones R, Adel-Alvarez LA, Alvarez OR, Broaddus R, Das S. Arachidonic acid and colorectal carcinogenesis. *Molecular and cellular biochemistry* (2003);253(1-2):141-9.

Kagiyada S, Kurimoto K, Hirota T, Yamaji M, Saitou M. (2013); Replication-coupled passive DNA demethylation for the erasure of genome imprints in mice. *The EMBO journal* 32(3):340-53.

Kao HW, Liang DC, Kuo MC, Wu JH, Dunn P, Wang PN, Lin TL, Shih YS, Liang ST, Lin TH, Lai CY, Lin CH, Shih LY. (2015); High frequency of additional gene mutations in acute myeloid leukemia with MLL partial tandem duplication: DNMT3A mutation is associated with poor prognosis. *Oncotarget* 6(32):33217-25.

Kao HW, Liang DC, Kuo MC, Wu JH, Dunn P, Wang PN, Lin TL, Shih YS, Liang ST, Lin TH, Lai CY, Lin CH, Shih LY. (2015); High frequency of additional gene mutations in acute myeloid leukemia with MLL partial tandem duplication: DNMT3A mutation is associated with poor prognosis. *Oncotarget* 6(32):33217-33225.

Kihara R, Nagata Y, Kiyoi H, Kato T, Yamamoto E, Suzuki K, Chen F, Asou N, Ohtake S, Miyawaki S, Miyazaki Y, Sakura T, Ozawa Y, Usui N, Kanamori H, Kiguchi T, Imai K, Uike N, Kimura F, Kitamura K, Nakaseko C, Onizuka M, Takeshita A, Ishida F, Suzushima H, Kato Y, Miwa H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Naoe T. (2014); Comprehensive analysis of genetic alterations and their prognostic impacts in adult acute myeloid leukemia patients. *Leukemia* 28(8):1586-95.

Klose R.J., Bird A.P. (2006); Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem. Sci.*; 31:89–97.

Ko M, Huang Y, Jankowska AM, Pape UJ, Tahiliani M, Bandukwala HS, An J, Lamperti ED, Koh KP, Ganetzky R, Liu XS, Aravind L, Agarwal S, Maciejewski JP, Rao A. (2010); Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature* 468(7325):839-43.

Kohli, R.M., and Zhang, Y. (2013). TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature* 502, 472–479.

Kosmider O, Delabesse E, de Mas VM, Cornillet-Lefebvre P, Blanchet O, Delmer A, Recher C, Raynaud S, Bouscary D, Viguié F, Lacombe C, Bernard OA, Ifrah N, Dreyfus F, Fontenay M. (2011); TET2 mutations in secondary acute myeloid leukemias: a French retrospective study. *Haematologica* 96(7):1059-1063.

Koszarska M, Bors A, Feczko A, Meggyesi N, Batai A, Csomor J, Adam E, Kozma A, Orban TI, Lovas N, Sipos A, Karaszi E, Dolgos J, Fekete S, Reichardt J, Lehoczky E, Masszi T, Tordai A, Andrikovics H. (2013); Type and location of isocitrate dehydrogenase mutations influence clinical characteristics and disease outcome of acute myeloid leukemia. *Leukemia & lymphoma* 54(5):1028-1035.

Krauth MT, Eder C, Alpermann T, Bacher U, Nadarajah N, Kern W, Haferlach C, Haferlach T, Schnittger S. (2014); High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1: frequency and impact on clinical outcome. *Leukemia* 28(7):1449-58.

Kuykendall, A.; Duployez, N.; Boissel, N.; Lancet, J.E.; Welch, J.S (2018); Acute myeloid leukemia: The good, the bad, and the ugly. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book*, 23, 556–573.

Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V, Gómez-Guijosa MÁ, Cortes-Penagos C. (2017); Acute Myeloid Leukemia-Genetic Alterations and Their Clinical Prognosis. *International journal of hematology-oncology and stem cell research* 11(4):328-39.

Laurie, CC, Laurie, CA, Rice, K, Doheny, KF, Zelnick, LR, McHugh, CP, ... & Weir, BS. (2012); Detectable clonal mosaicism from birth to old age and its relationship to cancer. *Nature genetics* 44(6):642-50.

Ley TJ, Ding L, Walter MJ, McLellan MD, Lamprecht T, Larson DE, Kandoth C, Payton JE, Baty J, Welch J, Harris CC, Lichti CF, Townsend RR, Fulton RS, Dooling DJ, Koboldt DC, Schmidt H, Zhang Q, Osborne JR, Lin L, O'Laughlin M, McMichael JF, Delehaunty KD, McGrath SD, Fulton LA, Magrini VJ, Vickery TL, Hundal J, Cook LL, Conyers JJ, Swift GW, Reed JP, Alldredge PA, Wylie T, Walker J, Kalicki J, Watson MA, Heath S, Shannon WD, Varghese N, Nagarajan R, Westervelt P, Tomasson MH, Link DC, Graubert TA, DiPersio JF, Mardis ER, Wilson RK. (2010); DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine* 363(25):2424-33.

Ley TJ, Miller C, Ding L, Raphael BJ, Mungall AJ, Robertson A, Hoadley K, Triche TJ, Laird PW, Baty JD, Fulton LL, Fulton R, Heath SE, Kalicki-Veizer J, Kandoth C, Klco JM, Koboldt DC, Kanchi KL, Kulkarni S, Lamprecht TL, Larson DE, Lin L, Lu C, McLellan MD, McMichael JF, Payton J, Schmidt H, Spencer DH, Tomasson MH, Wallis JW, Wartman LD, Watson MA, Welch J, Wendl MC, Ally A, Balasundaram M, Birol I, Butterfield Y, Chiu R, Chu A, Chuah E, Chun HJ, Corbett R, Dhalla N, Guin R, He A, Hirst C, Hirst M, Holt RA, Jones S, Karsan A, Lee D, Li HI, Marra MA, Mayo M, Moore RA, Mungall K, Parker J, Pleasance E, Plettner P, Schein J, Stoll D, Swanson L, Tam A, Thiessen N, Varhol R, Wye N, Zhao Y, Gabriel S, Getz G, Sougnez C, Zou L, Leiserson MD, Vandin F, Wu HT, Applebaum F, Baylin SB, Akbani R, Broom BM, Chen K, Motter TC, Nguyen K, Weinstein JN, Zhang N, Ferguson ML, Adams C, Black A, Bowen J, Gastier-Foster J, Grossman T, Lichtenberg T, Wise L, Davidsen T, Demchok JA, Shaw KR, Sheth M, Sofia HJ, Yang L, Downing JR, Eley G, Alonso S, Ayala B, Baboud J, Backus M, Barletta SP, Berton DL, Chu AL, Girshik S, Jensen MA, Kahn A, Kothiyal P, Nicholls MC, Pihl TD, Pot DA, Raman R, Sanbhadti RN, Snyder EE, Srinivasan D, Walton J, Wan Y, Wang Z, Issa JP, Le Beau M, Carroll M, Kantarjian H, Kornblau S, Bootwalla MS, Lai PH, Shen H, Van Den Berg DJ, Weisenberger DJ, Link DC, Walter MJ, Ozenberger BA, Mardis ER, Westervelt P, Graubert TA, DiPersio JF, Wilson RK. (2013); Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine* 368(22):2059-74.

Li S, Mason CE, Melnick A. (2016); Genetic and epigenetic heterogeneity in acute myeloid leukemia. *Current opinion in genetics & development* 36:100-6.

Li W, Cui L, Gao C, Liu S, Zhao X, Zhang R, Zheng H, Wu M, Li Z. (2017); DNMT3A mutations in Chinese childhood acute myeloid leukemia. *Medicine* 96(31):e7620.

Li Y, Lv X, Ge X, Yuan D, Ding M, Zhen C, Zhao W, Liu X, Wang X, Xu H, Li Y, Wang X. (2019); Mutational spectrum and associations with clinical features in patients with acute myeloid leukaemia based on next-generation sequencing. *Molecular medicine reports* 19(5):4147-58.

Li Z, Cai X, Cai CL, Wang J, Zhang W, Petersen BE, Yang FC, Xu M. (2011); Deletion of Tet2 in mice leads to dysregulated hematopoietic stem cells and subsequent development of myeloid malignancies. *Blood* 118(17):4509-18.

Lin PH, Li HY, Fan SC, Yuan TH, Chen M, Hsu YH, Yang YH, Li LY, Yeh SP, Bai LY, Liao YM, Lin CY, Hsieh CY, Lin CC, Lin CH, Lien MY, Chen TT, Ni YH, Chiu CF. (2017); A targeted next-generation sequencing in the molecular risk stratification of adult acute myeloid leukemia: implications for clinical practice. *Cancer medicine* 6(2):349-360.

Liu WJ, Tan XH, Luo XP, Guo BP, Wei ZJ, Ke Q, He S, Cen H. (2014); Prognostic significance of Tet methylcytosine dioxygenase 2 (TET2) gene mutations in adult patients with acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leukemia & lymphoma* 55(12):2691-8.

Loenarz, C. & Schofield, C. J. (2011); Physiological and biochemical aspects of hydroxylations and demethylations catalyzed by human 2-oxoglutarate oxygenases. *Trends Biochem. Sci.* 36, 7–18.

Losman JA, Kaelin Jr WG. (2013); What a difference a hydroxyl makes: mutant IDH, (R)-2-hydroxyglutarate, and cancer. *Genes Dev*; 27:836–52.

Ma DK, Jang M-H, Guo JU, Kitabatake Y, (2009); Neuronalactivity-induced Gadd45b promotes epigenetic DNA demethylation and adult neurogenesis. *Science*323: 1074–7-

Ma QL, Wang JH, Wang YG, Hu C, Mu QT, Yu MX, Wang L, Wang DM, Yang M, Yin XF, Chen FF, Lu SS, Chen J, Zhu ZJ, Chen SJ, Jin J. (2015); High IDH1 expression is associated with a poor prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *International journal of cancer* 137(5):1058-1065.

Marcucci G, Metzeler KH, Schwind S, Becker H, Maharry K, Mrózek K, Radmacher MD, Kohlschmidt J, Nicolet D, Whitman SP, Wu YZ, Powell BL, Carter TH, Kolitz JE, Wetzler M, Carroll AJ, Baer MR, Moore JO, Caligiuri MA, Larson RA, Bloomfield CD. (2012); Age-related prognostic impact of different types of DNMT3A mutations in adults with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 30(7):742-50.

Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, Koboldt DC, Fulton RS, Delehaunty KD, McGrath SD, Fulton LA, Locke DP, Magrini VJ, Abbott RM, Vickery TL, Reed JS, Robinson JS, Wylie T, Smith SM, Carmichael L, Eldred JM, Harris CC, Walker J, Peck JB, Du F, Dukes AF, Sanderson GE, Brummett AM, Clark E, McMichael JF, Meyer

RJ, Schindler JK, Pohl CS, Wallis JW, Shi X, Lin L, Schmidt H, Tang Y, Haipek C, Wiechert ME, Ivy JV, Kalicki J, Elliott G, Ries RE, Payton JE, Westervelt P, Tomasson MH, Watson MA, Baty J, Heath S, Shannon WD, Nagarajan R, Link DC, Walter MJ, Graubert TA, DiPersio JF, Wilson RK, Ley TJ. (2009); Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *The New England journal of medicine* 361(11):1058-66.

Markolovic, S.; Wilkins, S.E.; Schofield, C.J (2015); Protein Hydroxylation Catalyzed by 2-Oxoglutarate-dependent Oxygenases. *J. Biol. Chem.*, 290, 20712–20722.

Marková J, Michková P, Burčková K, Březinová J, Michalová K, Dohnalová A, Maaloufová JS, Soukup P, Vitek A, Cetkovský P, Schwarz J. (2012); Prognostic impact of DNMT3A mutations in patients with intermediate cytogenetic risk profile acute myeloid leukemia. *European journal of haematology* 88(2):128-35.

McKenney AS, Levine RL. (2013); Isocitrate dehydrogenase mutations in leukemia. *The Journal of clinical investigation* 123(9):3672-7.

Medeiros BC, Fathi AT, Di Nardo CD, Pollyea DA, Chan SM, Swords R. (2017); Isocitrate dehydrogenase mutations in myeloid malignancies. *Leukemia*. 31(2):272–281.

Melki JR, Vincent PC, Clark SJ. (1999); Concurrent DNA hypermethylation of multiple genes in acute myeloid leukemia. *Cancer research* 59(15):3730-40.

Mendler JH, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Becker H, Metzeler KH, Schwind S, Whitman SP, Khalife J, Kohlschmidt J, Nicolet D, Powell BL, Carter TH, Wetzler M, Moore JO, Kolitz JE, Baer MR, Carroll AJ, Larson RA, Caligiuri MA, Marcucci G, Bloomfield CD. (2012); RUNX1 mutations are associated with poor outcome in younger and older patients with cytogenetically normal acute myeloid leukemia and with distinct gene and MicroRNA expression signatures. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 30(25):3109-18.

Metallo CM, Gameiro PA, Bell EL, Mattaini KR, Yang J, Hiller K, Jewell CM, Johnson ZR, Irvine DJ, Guarente L, Kelleher JK, Vander Heiden MG, Iliopoulos O, Stephanopoulos G. (2011); Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia. *Nature* 481(7381):380-4.

Metzeler KH, Herold T, Rothenberg-Thurley M, Amler S, Sauerland MC, Görlich D, Schneider S, Konstandin NP, Dufour A, Bräundl K, Ksienzyk B, Zellmeier E, Hartmann L, Greif PA, Fiegl M, Subklewe M, Bohlander SK, Krug U, Faldum A, Berdel WE, Wörmann B, Büchner T, Hiddemann W, Braess J, Spiekermann K. (2016); Spectrum and prognostic relevance of driver gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 128(5):686-98.

Metzeler KH, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, Becker H, Curfman J, Holland KB, Schwind S, Whitman SP, Wu YZ, Blum W, Powell BL, Carter TH, Wetzler M,

Moore JO, Kolitz JE, Baer MR, Carroll AJ, Larson RA, Caligiuri MA, Marcucci G, Bloomfield CD. (2011); TET2 mutations improve the new European LeukemiaNet risk classification of acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 29(10):1373-81.

Meyers J, Yu Y, Kaye JA, Davis KL. (2013); Medicare fee-for-service enrollees with primary acute myeloid leukemia: an analysis of treatment patterns, survival, and healthcare resource utilization and costs. *Applied health economics and health policy* 11(3):275-86.

Molenaar RJ, Thota S, Nagata Y, Patel B, Clemente M, Przychodzen B, Hirsh C, Viny AD, Hosano N, Bleeker FE, Meggendorfer M, Alpermann T, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, van Noorden CJ, Radivoyevitch T, Carraway HE, Makishima H, Miyano S, Sekeres MA, Ogawa S, Haferlach T, Maciejewski JP. (2015); Clinical and biological implications of ancestral and non-ancestral IDH1 and IDH2 mutations in myeloid neoplasms. *Leukemia* 29(11):2134-2142.

Morrison SJ, Scadden DT. (2014); The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*; 505: 327–334.

Mullen, A.R.; Wheaton, W.W.; Jin, E.S.; Chen, P.-H.; Sullivan, L.B.; Cheng, T.; Yang, Y.; Linehan, W.M.; Chandel, N.S.; DeBerardinis, R.J. (2012) Reductive carboxylation supports growth in tumour cells with defective mitochondria. *Nature*, 481, 385–388.

Murati A, Brecqueville M, Devillier R, Mozziconacci MJ, Gelsi-Boyer V, Birnbaum D. (2012); Myeloid malignancies: mutations, models and management. *BMC cancer* 12:304.

Nibourel O, Kosmider O, Cheok M, Boissel N, Renneville A, Philippe N. (2010); Incidence and prognostic value of TET2 alterations in de novo acute myeloid leukemia achieving complete remission. *Blood* 116:1132–5.

Nibourel O, Kosmider O, Cheok M, Boissel N, Renneville A, Philippe N, Dombret H, Dreyfus F, Quesnel B, Geffroy S, Quentin S, Roche-Lestienne C, Cayuela JM, Roumier C, Fenaux P, Vainchenker W, Bernard OA, Soulier J, Fontenay M, Preudhomme C. (2010); Incidence and prognostic value of TET2 alterations in de novo acute myeloid leukemia achieving complete remission. *Blood* 116(7):1132-5.

Nomdedéu J, Hoyos M, Carricondo M, Esteve J, Bussaglia E, Estivill C, Ribera JM, Duarte R, Salamero O, Gallardo D, Pedro C, Aventin A, Brunet S, Sierra J. (2012); Adverse impact of IDH1 and IDH2 mutations in primary AML: experience of the Spanish CETLAM group. *Leukemia research* 36(8):990-997.

Ohgami RS, Ma L, Merker JD, Gotlib JR, Schrijver I, Zehnder JL, Arber DA. (2015); Next-generation sequencing of acute myeloid leukemia identifies the significance of TP53,

U2AF1, ASXL1, and TET2 mutations. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 28(5):706-714.

Ohno R, Nakayama M, Naruse C, Okashita N, Takano O, Tachibana M, Asano M, Saitou M, Seki Y. (2013); A replication-dependent passive mechanism modulates DNA demethylation in mouse primordial germ cells. *Development (Cambridge, England)* 140(14):2892-903.

Oki Y, Issa JP. (2010); Epigenetic mechanisms in AML - a target for therapy. *Cancer treatment and research* 145:19-40.

Ono R, Taki T, Taketani T, Taniwaki M, Kobayashi H, Hayashi Y. (2002); LCX, leukemia-associated protein with a CXXC domain, is fused to MLL in acute myeloid leukemia with trilineage dysplasia having t(10;11)(q22;q23). *Cancer research* 62(14):4075-80.

Ooi SKT, Bestor TH. (2008). The colorful history of active DNA demethylation. *Cell* 133: 1145–8.

Ostronoff F, Othus M, Ho PA, Kutny M, Geraghty DE, Petersdorf SH, Godwin JE, Willman CL, Radich JP, Appelbaum FR, Stirewalt DL, Meshinchi S. (2013); Mutations in the DNMT3A exon 23 independently predict poor outcome in older patients with acute myeloid leukemia: a SWOG report. *Leukemia* 27(1):238-41.

Panning, B. (2008); X-chromosome inactivation: the molecular basis of silencing. *J. Biol.* 7, 1–4.

Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, Potter NE, Heuser M, Thol F, Bolli N, Gundem G, Van Loo P, Martincorena I, Ganly P, Mudie L, McLaren S, O'Meara S, Raine K, Jones DR, Teague JW, Butler AP, Greaves MF, Ganser A, Döhner K, Schlenk RF, Döhner H, Campbell PJ. (2016); Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *The New England journal of medicine* 374(23):2209-21.

Park SH, Chi HS, Cho YU, Jang S, Park CJ. (2013). Evaluation of prognostic factors in patients with therapy-related acute myeloid leukemia. *Blood Res.*; 48:185–192.

Parkin B, Ouillette P, Yildiz M, Saiya-Cork K, Shedden K, Malek SN. (2015); Integrated genomic profiling, therapy response, and survival in adult acute myelogenous leukemia. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 21(9):2045-2056.

Paschka P, Döhner K. (2013); Core-binding factor acute myeloid leukemia: can we improve on HiDAC consolidation. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program* 2013:209-19.

Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, Habdank M, Krönke J, Bullinger L, Späth D, Kayser S, Zucknick M, Götze K, Horst HA, Germing U, Döhner H, Döhner K. (2010); IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 28(22):3636-43.

Pastor WA, Aravind L, Rao A. (2013). TETonic shift: biological roles of TET proteins in DNA demethylation and transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol* 14: 341–56.

Patel JL, Schumacher JA, Frizzell K, Sorrells S, Shen W, Clayton A, Jattani R, Kelley TW. (2017); Coexisting and cooperating mutations in NPM1-mutated acute myeloid leukemia. *Leukemia research* 56:7-12.

Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, Van Vlierberghe P, Dolgalev I, Thomas S, Aminova O, Huberman K, Cheng J, Viale A, Socci ND, Heguy A, Cherry A, Vance G, Higgins RR, Ketterling RP, Gallagher RE, Litzow M, van den Brink MR, Lazarus HM, Rowe JM, Luger S, Ferrando A, Paietta E, Tallman MS, Melnick A, Abdel-Wahab O, Levine RL. (2012); Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine* 366(12):1079-89.

Patil V, Ward RL, Hesson LB. (2014); The evidence for functional non-CpG methylation in mammalian cells. *Epigenetics* 9(6):823-8.

Pendleton M, Lindsey RH, Felix CA, Grimwade D, Osheroff N. (2014); Topoisomerase II and leukemia. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1310:98-110.

Pezzi A, Moraes L, Valim V, Amorin B, Melchiades G, Oliveira F, da Silva MA, Matte U, Pombo-de-Oliveira MS, Bittencourt R, Daudt L, Silla L. (2012); DNMT3A Mutations in Patients with Acute Myeloid Leukemia in South Brazil. *Advances in hematology* 2012:697691.

Pina, C. and Enver, T. (2007). Differential contributions of haematopoietic stem cells to foetal and adult haematopoiesis: insights from functional analysis of transcriptional regulators. *Oncogene* 26, 6750-6765.

Plass C, Oakes C, Blum W, Marcucci G. (2008); Epigenetics in acute myeloid leukemia. *Seminars in oncology* 35(4):378-87.

Platt MY, Fathi AT, Borger DR, Brunner AM, Hasserjian RP, Balaj L, Lum A, Yip S, Dias-Santagata D, Zheng Z, Le LP, Graubert TA, Iafrate AJ, Nardi V. (2015); Detection of Dual IDH1 and IDH2 Mutations by Targeted Next-Generation Sequencing in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *The Journal of molecular diagnostics : JMD* 17(6):661-8.

Pollak, N, Dölle, C.; Ziegler, M. (2007); The power to reduce: Pyridine nucleotides—Small molecules with a multitude of functions. *Biochem. J.*, 402, 205–218.

Putiri EL, Tiedemann RL, Thompson JJ, Liu C, Ho T, Choi JH, Robertson KD. (2014); Distinct and overlapping control of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine by the TET proteins in human cancer cells. *Genome biology* 15(6):R81.

Rasmussen, K. D. & Helin, K. (2016); Role of TET enzymes in DNA methylation, development, and cancer. *Genes Dev.* 30, 733–750.

Rau, R.E., Rodriguez, B., Luo, M., Jeong, M., Rosen, A., Rogers, J.H., Campbell, C.T., Daigle, S.R., Deng, L., Song, Y. and Sweet, S. (2016). DOT1L as a therapeutic target for the treatment of DNMT3A-mutant acute myeloid leukemia. *Blood* 128, 971-981.

Ravandi F, Patel K, Luthra R, Faderl S, Konopleva M, Kadia T, Brandt M, Pierce S, Kornblau S, Andreeff M, Wang X, Garcia-Manero G, Cortes J, Kantarjian H. (2012); Prognostic significance of alterations in IDH enzyme isoforms in patients with AML treated with high-dose cytarabine and idarubicin. *Cancer* 118(10):2665-2673.

Renneville A, Abdelali RB, Chevret S, Nibourel O, Cheok M, Pautas C, Duléry R, Boyer T, Cayuela JM, Hayette S, Raffoux E, Farhat H, Boissel N, Terre C, Dombret H, Castaigne S, Preudhomme C. (2014); Clinical impact of gene mutations and lesions detected by SNP-array karyotyping in acute myeloid leukemia patients in the context of gemtuzumab ozogamicin treatment: results of the ALFA-0701 trial. *Oncotarget* 5(4):916-932.

Renneville A, Boissel N, Nibourel O, Berthon C, Helevaut N, Gardin C, Cayuela JM, Hayette S, Reman O, Contentin N, Bordessoule D, Pautas C, Botton Sd, Revel Td, Terre C, Fenaux P, Thomas X, Castaigne S, Dombret H, Preudhomme C. (2012); Prognostic significance of DNA methyltransferase 3A mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association. *Leukemia* 26(6):1247-54.

Ribeiro AF, Pratcorona M, Erpelinck-Verschueren C, Rockova V, Sanders M, Abbas S, Figueroa ME, Zeilemaker A, Melnick A, Löwenberg B, Valk PJ, Delwel R. (2012); Mutant DNMT3A: a marker of poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 119(24):5824-31.

Riggs AD, Xiong Z. (2004); Methylation and epigenetic fidelity. *Proc Natl Acad Sci USA*; 101:4–5.

Robertson, K. D. (2005); DNA methylation and human disease. *Nature Reviews Genetics* 6, 597;

Roller A, Grossmann V, Bacher U, Poetzinger F, Weissmann S, Nadarajah N, Boeck L, Kern W, Haferlach C, Schnittger S, Haferlach T, Kohlmann A (2013); Landmark analysis of DNMT3A mutations in hematological malignancies. *Leukemia*; 27(7):1573-8.

Rose D, Haferlach T, Schnittger S, Takahashi N, Yamashita T. (2017); Subtype-specific patterns of molecular mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia*; 31: 11–17.

Rowley JD, Olney HJ. (2002); International workshop on the relationship of prior therapy to balanced chromosome aberrations in therapy-related myelodysplastic syndromes and acute leukemia: overview report. *Genes, chromosomes & cancer* 33(4):331-45.

Rowley JD. (1973); Identificaton of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. *Annales de genetique* 16(2):109-12.

Russler-Germain DA, Spencer DH, Young MA, Lamprecht TL, Miller CA, Fulton R, Meyer MR, Erdmann-Gilmore P, Townsend RR, Wilson RK, Ley TJ. (2014); The R882H DNMT3A mutation associated with AML dominantly inhibits wild-type DNMT3A by blocking its ability to form active tetramers. *Cancer cell* 25(4):442-54.

Schaefer M, Pollex T, Hanna K, Tuorto F, Meusburger M, Helm M, Lyko F. (2010); RNA methylation by Dnmt2 protects transfer RNAs against stress-induced cleavage. *Genes & development* 24(15):1590-5.

Schnittger S, Haferlach C, Ulke M, Alpermann T, Kern W, Haferlach T. (2010); IDH1 mutations are detected in 6.6% of 1414 AML patients and are associated with intermediate risk karyotype and unfavorable prognosis in adults younger than 60 years and unmutated NPM1 status. *Blood* 116(25):5486-5496.

Scott, D.A.; Richardson, A.D.; Filipp, F.V.; Knutzen, C.A.; Chiang, G.G.; Ronai, Z.A.; Osterman, A.L.; Smith, J.W. (2011); Comparative metabolic flux profiling of melanoma cell lines: Beyond the Warburg effect. *J. Biol. Chem.*, 286, 42626–42634.

Secretaría de Salud DG de I en S. Bases de Datos Estándar Egresos Hospitalarios. Mexico

Shah A, Andersson TM, Racht B, Bjorkholm M, Lambert PC. (2013); Survival and cure of acute myeloid leukaemia in England, 1971-2006: a population-based study. *Br J Haematol*; 162: 509 –516.

Shen Y, Zhu YM, Fan X, Shi JY, Wang QR, Yan XJ, Gu ZH, Wang YY, Chen B, Jiang CL, Yan H, Chen FF, Chen HM, Chen Z, Jin J, Chen SJ. (2011); Gene mutation patterns and their prognostic impact in a cohort of 1185 patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 118(20):5593-603.

Shih AH, Abdel-Wahab O, Patel JP, Levine RL. (2012); The role of mutations in epigenetic regulators in myeloid malignancies. *Nat Rev Cancer*.;12(9):599–612. 2.

Shivarov V, Gueorguieva R, Stoimenov A, Tiu R. (2013); DNMT3A mutation is a poor prognosis biomarker in AML: results of a meta-analysis of 4500 AML patients. *Leukemia research* 37(11):1445-50.

Shlush LI, Zandi S, Mitchell A, Chen WC, Brandwein JM, Gupta V, Kennedy JA, Schimmer AD, Schuh AC, Yee KW, McLeod JL, Doedens M, Medeiros JJ, Marke R, Kim HJ, Lee K, McPherson JD, Hudson TJ, Brown AM, Yousif F, Trinh QM, Stein LD, Minden MD, Wang JC, Dick JE, Hudson TJ, Jamieson C, Frazer KA, McPherson JD, Chun HJ, Danska JS, Dick JE, Kipps TJ, Messer K, Minden MD, Muthuswamy LB, Smith EN, Wang JC, Holt C, Muthuswamy LB, Yousif FY, Brown AM, McPherson JD, Beck TA, Bao L, Claudio JO, Helm MG, Kotzer A, Moniakis J, Prussak CE, Sadarangani A, Chiu P, Eppert K, Guidos CJ, Hogge DE, Kowalski PE, Marra MA, Notta F, Schimmer AD, Shlush L, Jiang B, Mullen L, Pasternack D, Timms L, Sam M. (2014); Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia. *Nature* 506(7488):328-33.

Smith ML, Hills RK, Grimwade D. (2011); Independent prognostic variables in acute myeloid leukaemia. *Blood Rev*; 25(1):39-5.

Spencer DH, Russler-Germain DA, Ketkar S, Helton NM, Lamprecht TL, Fulton RS, Fronick CC, O'Laughlin M, Heath SE, Shinawi M, Westervelt P, Payton JE, Wartman LD, Welch JS, Wilson RK, Walter MJ, Link DC, DiPersio JF, Ley TJ. (2017); CpG Island Hypermethylation Mediated by DNMT3A Is a Consequence of AML Progression. *Cell* 168(5):801-816.e13.

Stirewalt, D.L., and Radich, J.P. (2003). The role of FLT3 in haematopoietic malignancies. *Nat. Rev. Cancer* 3, 650–665

Strichman-Almashanu LZ, Lee RS, Onyango PO, Perlman E, Flam F, Frieman MB, Feinberg AP. (2002); A genome-wide screen for normally methylated human CpG islands that can identify novel imprinted genes. *Genome research* 12(4):543-54.

Suela, J., Alvarez, S., and Cigudosa, J.C. (2007). DNA profiling by arrayCGH in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Cytogenet. Genome Res.* 118, 304–309.

Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, fourth edition. Lyon, France: IARC; 2017 [cited 2019 May 22] Available from: <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?codlan=1&codcol=70&codcch=24002>

Tallman MS, Kim HT, Paietta E, et al. (2004). Acute monocytic leukemia (French-American-British classification M5) does not have a worse prognosis than other subtypes of acute myeloid leukemia: a report from the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol*, 22:1276-86.

Tefferi A, Lim KH, Abdel-Wahab O, Lasho TL, Patel J, Patnaik MM, Hanson CA, Pardanani A, Gilliland DG, Levine RL (2009) Detection of mutant TET2 in myeloid malignancies other than myeloproliferative neoplasms: CMML, MDS, MDS/MPN and AML. *Leukemia* 23:1343–1345.

Thol F, Damm F, Lüdeking A, Winschel C, Wagner K, Morgan M, Yun H, Göhring G, Schlegelberger B, Hoelzer D, Lübbert M, Kanz L, Fiedler W, Kirchner H, Heil G, Krauter J, Ganser A, Heuser M. (2011); Incidence and prognostic influence of DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 29(21):2889-96.

Thol F, Damm F, Wagner K, Göhring G, Schlegelberger B, Hoelzer D, Lübbert M, Heit W, Kanz L, Schlimok G, Raghavachar A, Fiedler W, Kirchner H, Heil G, Heuser M, Krauter J, Ganser A. (2010); Prognostic impact of IDH2 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood* 116(4):614-616.

Thomas D. and Majeti R (2017); Biology and relevance of human acute myeloid leukemia stem cells. *Blood*, 129:1577-1585.

Valk PJ, Verhaak RG, Beijen MA, Erpelinck CA, Barjesteh van Waalwijk van Doorn-Khosrovani S, Boer JM, Beverloo HB, Moorhouse MJ, van der Spek PJ, Löwenberg B, Delwel R. (2004); Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine* 350(16):1617-28.

Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, Harris NL, Le Beau MM, Hellström-Lindberg E, Tefferi A, Bloomfield CD. (2009); The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 114(5):937-51.

Verhaak RG, Goudswaard CS, van Putten W, Bijl MA, Sanders MA, Hagens W, Uitterlinden AG, Erpelinck CA, Delwel R, Löwenberg B, Valk PJ. (2005); Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance. *Blood* 106(12):3747-54.

Wagner K, Damm F, Göhring G, Görlich K, Heuser M, Schäfer I, Ottmann O, Lübbert M, Heit W, Kanz L, Schlimok G, Raghavachar AA, Fiedler W, Kirchner HH, Brugger W, Zucknick M, Schlegelberger B, Heil G, Ganser A, Krauter J. (2010); Impact of IDH1 R132 mutations and an IDH1 single nucleotide polymorphism in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: SNP rs11554137 is an adverse prognostic factor. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 28(14):2356-2364.

Waitkus MS, Diplas BH, Yan H. (2018); Biological role and therapeutic potential of IDH mutations in cancer. *Cancer Cell*;34:186–95.

Walker A, Marcucci G. (2012); Molecular prognostic factors in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Expert review of hematology* 5(5):547-58.

Walter RB, Othus M, Burnett AK, Löwenberg B, Kantarjian HM, Ossenkoppele GJ, Hills RK, van Montfort KG, Ravandi F, Evans A, Pierce SR, Appelbaum FR, Estey EH. (2013); Significance of FAB subclassification of "acute myeloid leukemia, NOS" in the 2008 WHO classification: analysis of 5848 newly diagnosed patients. *Blood* 121(13):2424-31.

Walter RB, Othus M, Burnett AK, Löwenberg B, Kantarjian HM, Ossenkoppele GJ, Hills RK, Ravandi F, Pabst T, Evans A, Pierce SR, Vekemans MC, Appelbaum FR, Estey EH. (2015); Resistance prediction in AML: analysis of 4601 patients from MRC/NCRI, HOVON/SAKK, SWOG and MD Anderson Cancer Center. *Leukemia* 29(2):312-20.

Walter, M.J., Payton, J.E., Ries, R.E., Shannon, W.D., Deshmukh, H., Zhao, Y., Baty, J., Heath, S., Westervelt, P., Watson, M.A., et al. (2009). Acquired copy number alterations in adult acute myeloid leukemia genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 12950–12955.

Wang B, Liu Y, Hou G, Wang L, Lv N, Xu Y, Xu Y, Wang X, Xuan Z, Jing Y, Li H, Jin X, Deng A, Wang L, Gao X, Dou L, Liang J, Chen C, Li Y, Yu L. (2016); Mutational spectrum and risk stratification of intermediate-risk acute myeloid leukemia patients based on next-generation sequencing. *Oncotarget* 7(22):32065-78.

Wang F, Travins J, DeLaBarre B, Penard-Lacronique V, Schalm S, Hansen E, Straley K, Kernysky A, Liu W, Gliser C, Yang H, Gross S, Artin E, Saada V, Mylonas E, Quivoron C, Popovici-Muller J, Saunders JO, Salituro FG, Yan S, Murray S, Wei W, Gao Y, Dang L, Dorsch M, Agresta S, Schenkein DP, Biller SA, Su SM, de Botton S, Yen KE. (2013); Targeted inhibition of mutant IDH2 in leukemia cells induces cellular differentiation. *Science (New York, N.Y.)* 340(6132):622-6.

Wang J, Ai X, Gale RP, Xu Z, Qin T, Fang L, Zhang H, Pan L, Hu N, Zhang Y, Xiao Z. (2013); TET2, ASXL1 and EZH2 mutations in Chinese with myelodysplastic syndromes. *Leukemia research* 37(3):305-11.

Wang JH, Guo Q, Ma ZX, Ma QL, Yu MX, Yin XF, Lu SS, Xie HQ, Jiang YH, Shen D, Ma LY, Shi H, Yu WJ, Lou YJ, Li Y, Yang M, Xu GX, Mao LP, Li JH, Wang HP, Wang DM, Wei JY, Tong HY, Huang J, Jin J. (2015); Impact of Chemotherapy Delay on Overall Survival for AML with IDH1/2 Mutations: A Study in Adult Chinese Patients. *PloS one* 10(10):e0140622.

Wang Y, Xiao M, Chen X, Chen L, Xu Y, Lv L, Wang P, Yang H, Ma S, Lin H, Jiao B, Ren R, Ye D, Guan KL, Xiong Y. (2015); WT1 recruits TET2 to regulate its target gene expression and suppress leukemia cell proliferation. *Molecular cell* 57(4):662-73.

Ward PS, Patel J, Wise DR, Abdel-Wahab O, Bennett BD, Collier HA, Cross JR, Fantin VR, Hedvat CV, Perl AE, Rabinowitz JD, Carroll M, Su SM, Sharp KA, Levine RL, Thompson CB. (2010); The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a

neomorphic enzyme activity converting alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate. *Cancer cell* 17(3):225-34.

Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, Kowarsch A, Nadarajah N, Eder C, Dicker F, Fasan A, Haferlach C, Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Kohlmann A. (2012); Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 26(5):934-942.

Welch J. S, Ley T. J, Link D C. (2012) “The origin and evolution of mutations in acute myeloid Leukemia,” *Cell*, vol. 150, no. 2, pp. 264–278.

Willander K, Falk IJ, Chaireti R, Paul E, Hermansson M, Gréen H, Lotfi K, Söderkvist P. (2014); Mutations in the isocitrate dehydrogenase 2 gene and IDH1 SNP 105C > T have a prognostic value in acute myeloid leukemia. *Biomarker research* 2:18.

Wise DR, Ward PS, Shay JE, Cross JR, Gruber JJ, Sachdeva UM, Platt JM, DeMatteo RG, Simon MC, Thompson CB. (2011); Hypoxia promotes isocitrate dehydrogenase-dependent carboxylation of α -ketoglutarate to citrate to support cell growth and viability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(49):19611-6.

Wolach, O, Stone, R.M. (2015); How I treat mixed-phenotype acute leukemia. *Blood*, 125, 2477–2485.

Wu X, Zhang Y. (2017); TET-mediated active DNA demethylation: mechanism, function and beyond. *Nature reviews. Genetics* 18(9):517-34.

Wu, J. C. & Santi, D. V. (1987); Kinetic and catalytic mechanism of HhaI methyltransferase. *J. Biol. Chem.* 262, 4778–4786.

Xie M, Lu C, Wang J, McLellan MD, Johnson KJ, Wendl MC, McMichael JF, Schmidt HK, Yellapantula V, Miller CA, Ozenberger BA, Welch JS, Link DC, Walter MJ, Mardis ER, Dpersio JF, Chen F, Wilson RK, Ley TJ, Ding L. (2014); Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nature medicine* 20(12):1472-8.

Xu Q, Li Y, Lv N, Jing Y, Xu Y, Li Y, Li W, Yao Z, Chen X, Huang S, Wang L, Li Y, Yu L. (2017); Correlation Between Isocitrate Dehydrogenase Gene Aberrations and Prognosis of Patients with Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 23(15):4511-22.

Xu W, Yang H, Liu Y, Yang Y, Wang P, Kim SH, Ito S, Yang C, Wang P, Xiao MT, Liu LX, Jiang WQ, Liu J, Zhang JY, Wang B, Frye S, Zhang Y, Xu YH, Lei QY, Guan KL, Zhao SM, Xiong Y. (2011); Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer cell* 19(1):17-30.

Yamaguchi S, Iwanaga E, Tokunaga K, Nanri T, Shimomura T, Suzushima H, Mitsuya H, Asou N. (2014); IDH1 and IDH2 mutations confer an adverse effect in patients with acute myeloid leukemia lacking the NPM1 mutation. *European journal of haematology* 92(6):471-477.

Yamauchi T, Negoro E, Lee S, Takai M, Matsuda Y, Takagi K, Kishi S, Tai K, Hosono N, Tasaki T, Ikegaya S, Inai K, Yoshida A, Urasaki Y, Iwasaki H, Ueda T. (2013); A high serum uric acid level is associated with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Anticancer research* 33(9):3947-51.

Yan XJ, Xu J, Gu ZH, Pan CM, Lu G, Shen Y, Shi JY, Zhu YM, Tang L, Zhang XW, Liang WX, Mi JQ, Song HD, Li KQ, Chen Z, Chen SJ. (2011); Exome sequencing identifies somatic mutations of DNA methyltransferase gene DNMT3A in acute monocytic leukemia. *Nature genetics* 43(4):309-15.

Yanagisawa Y, Ito E, Yuasa Y, Maruyama K. (2002); The human DNA methyltransferases DNMT3A and DNMT3B have two types of promoters with different CpG contents. *Biochimica et biophysica acta* 1577(3):457-65.

Yang L, R. Rau, and M. A. Goodell (2015); “DNMT3A in haematological malignancies,” *Nature Reviews Cancer*, vol. 15, no. 3, pp. 152–165,

Ying, W. (2008); NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in Cellular Functions and Cell Death: Regulation and Biological Consequences. *Antioxid. Redox Signal.*, 10, 179–206

Yuan XQ, Chen P, Du YX, Zhu KW, Zhang DY, Yan H, Liu H, Liu YL, Cao S, Zhou G, Zeng H, Chen SP, Zhao XL, Yang J, Zeng WJ, Chen XP. (2019); Influence of DNMT3A R882 mutations on AML prognosis determined by the allele ratio in Chinese patients. *Journal of translational medicine* 17(1):220.

Yuan XQ, Peng L, Zeng WJ, Jiang BY, Li GC, Chen XP. (2016); DNMT3A R882 Mutations Predict a Poor Prognosis in AML: A Meta-Analysis From 4474 Patients. *Medicine* 95(18):e3519.

Zhang W, Xu J. (2017); DNA methyltransferases and their roles in tumorigenesis. *Biomarker research* 5:1.

Zhang X, Shi J, Zhang J, Yang X, Zhang G, Yang S, Wang J, Ke X, Fu L. (2018); Clinical and biological implications of. *Cancer management and research* 10:2457-2466.

Zhang Y, Wei H, Wang M, Huai L, Mi Y, Zhang Y, Lin D, Liu B, Li W, Zhou C, Rao Q, Wang J. (2011); Some novel features of IDH1-mutated acute myeloid leukemia revealed in Chinese patients. *Leukemia research* 35(10):1301-1306.