

https://doi.org/10.24245/rev_hematol.v23i1.7659

Valor pronóstico de las mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH e IDH2 en la leucemia mieloide aguda

Prognostic value of mutations in DNMT3A, TET2, IDH and IDH2 in acute myeloid leukemia.

Joaquín García-Solorio,¹ Carlos Cortés-Penagos^{2,3}

Resumen

OBJETIVO: Describir el valor pronóstico de las mutaciones en los genes DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 reportado en la bibliografía científica y su coexistencia con los marcadores que definen las entidades de leucemia mieloide aguda de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud.

METODOLOGÍA: Revisión sistemática de los reportes científicos de revistas con factor de impacto mayor a 2 en el periodo de 2009 a 2021.

RESULTADOS: El análisis de 1175 casos de leucemia mieloide aguda con reporte de mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 mostró una asociación del 94.2% con el marcador molecular NPM1. La coexistencia de estas mutaciones con translocaciones balanceadas fue baja; sin embargo, se encontraron algunos reportes de asociación con las alteraciones cromosómicas t(8;21), inv16 y t(15;17). Los reportes de pronóstico de estos marcadores epigenéticos fueron diversos para TET2, IDH1 e IDH2, mientras que para DNMT3A fue consistentemente adverso.

CONCLUSIONES: Las mutaciones en DNMT3A son frecuentes en casos de leucemia mieloide aguda NPM1 positivas. De acuerdo con los reportes analizados, esta asociación conlleva un cambio en el pronóstico de la enfermedad, transitando de una condición favorable a un mal pronóstico.

PALABRAS CLAVE: Epigenética; leucemia mieloide aguda; neoplasias; mutaciones; metilación; pronóstico.

Abstract

OBJECTIVE: To describe the prognostic value of mutations in the DNMT3A, TET2, IDH1 and IDH2 reported in the scientific literature and their coexistence with the markers that define acute myeloid leukemia entities according to the World Health Organization.

METHODOLOGY: Systematic review of scientific reports from journals with an impact factor greater than 2 in the period 2009 to 2021.

RESULTS: The analysis of 1175 cases of acute myeloid leukemia with reported mutations in DNMT3A, TET2, IDH1 and IDH2 showed an association of 94.2% with the molecular marker NPM1. The coexistence of these mutations with balanced translocations was rare; however, some reports of coexistence with the chromosomal alterations t(8;21), inv16 and t(15;17) were found. Prognostic reports for these epigenetic markers were diverse for TET2, IDH1, and IDH2, while for DNMT3A was consistently adverse.

CONCLUSIONS: Changes in DNMT3A are common in NPM1-positive acute myeloid leukemia. According to the reports analyzed, this association implies a change in the prognosis of the disease, moving from a favorable condition to a poor prognosis.

KEYWORDS: Epigenetics; Acute myeloid leukemia; Neoplasms, Mutations; Methylation; Prognosis.

¹ División de Estudios de Posgrado. Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas Dr. Ignacio Chávez.

² Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México.

³ Laboratorios Mendel. Mendel SA de CV, Morelia, Michoacán, México.

Recibido: abril 2022

Aceptado: junio 2022

Correspondencia

Carlos Cortés Penagos
d.investigacion@mendel.mx

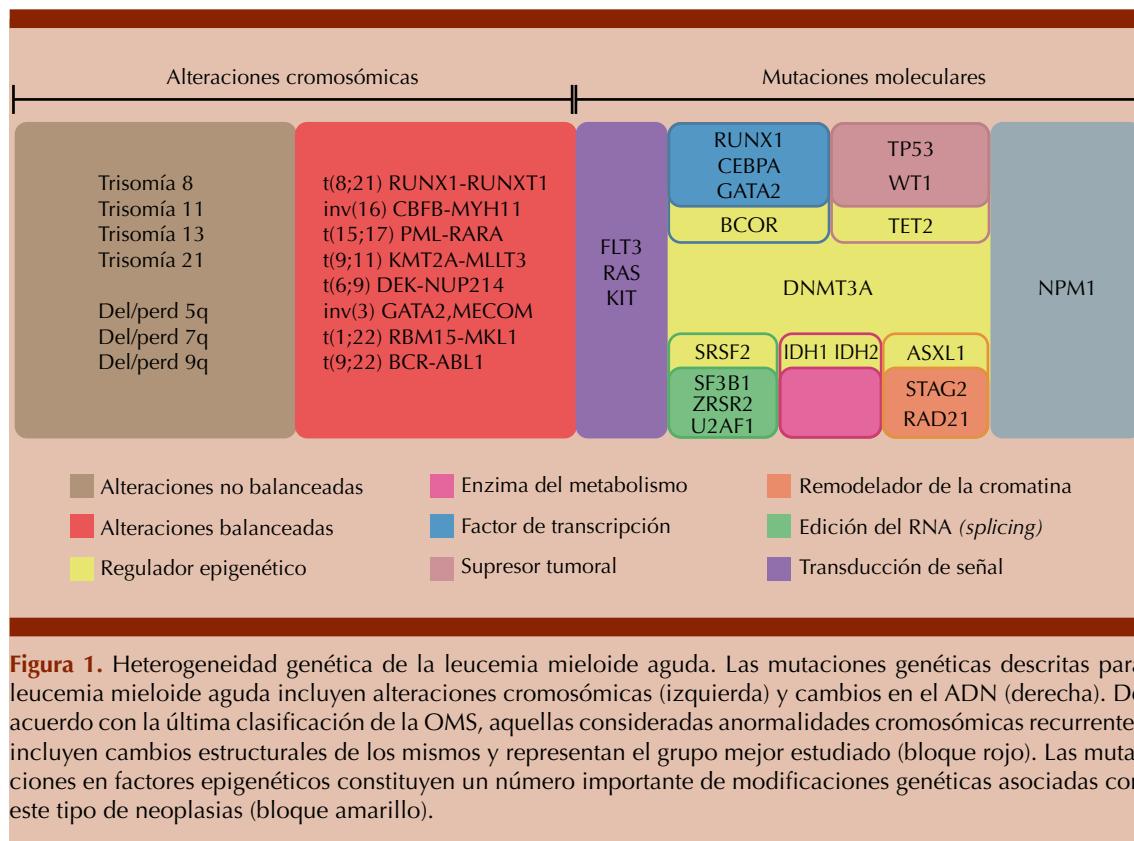
Este artículo debe citarse como:

García-Solorio J, Cortés-Penagos C. Valor pronóstico de las mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH e IDH2 en la leucemia mieloide aguda. Hematol Mex 2022; 23 (1): 48-57.

PANORAMA GENÉTICO DE LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

La leucemia mieloide aguda es un trastorno clonal hematopoyético caracterizado por la acumulación de células genéticamente aberrantes cuya maduración se detiene en alguno de los estadios de su diferenciación. De acuerdo con la última revisión de la Organización Mundial de la Salud (OMS), esta neoplasia se subclasifica en 6 categorías, de las cuales la que corresponde a la existencia de anormalidades genéticas recurrentes comprende alrededor del 50 al 60% de los casos.¹ En esta categoría se incluyen ocho afecciones caracterizadas por anormalidades citogenéticas balanceadas y sus correspondientes genes de fusión, así como tres mutaciones genéticas.² Entre las anormalidades cromosómicas que se describen en esta clasificación y que se identifican con mayor frecuencia destacan: t(15;17) PML-RARA, t(8;21) RUNX1-RUNX1T1 y la inv16 CBFβ-MYH1, que se asocian con pronóstico favorable cuando no existen mutaciones en genes como FLT3, KIT o RAS en alguna de las clonas. Además de estas alteraciones citogenéticas, existen otras entidades, como la t(9;11) o la inv3 que son menos frecuentes. Aunque prevalentes, las anormalidades cromosómicas están ausentes en el 45 al 50% de los casos de leucemia mieloide aguda, por lo que la patogénesis molecular de este subgrupo sigue siendo objeto de investigaciones.³ Hoy día está bien descrito que, por ejemplo, las mutaciones en genes que codifican para proteínas implicadas en la señalización, FLT3, KIT y RAS, así como las mutaciones en factores de transcripción CEBPA y GATA2 pueden asociarse con casos de leucemia mieloide aguda con cariotipo normal. El análisis de secuenciación masiva aplicado al estudio genómico de las clonas de leucemia mieloide aguda ha identificado nuevas mutaciones que potencialmente pueden asociarse con el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Con esta estrategia genómica se describieron las mutaciones en RUNX1, CEBPA y NPM1, afecciones

clínico-patológicas que aparecen en la última clasificación de la OMS.^{4,5} Existe el registro de al menos 40 nuevos genes mutados para leucemia mieloide aguda, que se clasifican de acuerdo con una categoría funcional (**Figura 1**). Algunos de estos genes, como SRSF2, SF3B1 o U2AF, asociados con el fenómeno de *splicing* del ARN, también son frecuentes en síndromes mielodisplásicos. Otros genes comúnmente mutados son los que codifican para proteínas con actividad de supresor tumoral como TP53, que se relacionan con el tratamiento y aparecen en combinación con cariotipos complejos (por ejemplo, delección del cromosoma 5q, monosomía 7 y las trisomías del cromosoma 8, 11 y 13).⁶ Los factores epigenéticos que modulan la expresión genética también están frecuentemente alterados en la leucemia mieloide aguda, sobre todo los genes que participan en la metilación del ADN (DNMT3A, TET2 e IDH1/2), que se describieron por primera vez hace una década como eventos frecuentes en la leucemia mieloide aguda con cariotipo normal. Hoy día se sabe que las mutaciones somáticas en DNMT3A, TET2 y ASXL1 son eventos primarios de las células preleucémicas que aparecen años antes del diagnóstico, incluso en pacientes sanos, proceso biológico que se conoce como hematopoyesis clonal de potencial indeterminado (CHIP).^{7,8} Este estado celular se asocia con edad avanzada y participa en la evolución hacia otras neoplasias hematológicas como síndromes mielodisplásicos o neoplasias mieloproliferativas, así como en enfermedades no malignas (aterosclerosis y otros eventos cardiovasculares).^{9,10,11} Estas anormalidades genéticas empiezan a tener importantes implicaciones diagnósticas, de pronóstico y de respuesta a ciertos tratamientos; sin embargo, en la mayoría de los casos de leucemia mieloide aguda, estas mutaciones coexisten con otras ya descritas o con anormalidades citogenéticas. Inicialmente, los análisis genómicos se centraban en leucemia mieloide aguda con cariotipo normal, ahora se incluyen en todos los subtipos con la finalidad de evaluar los cambios genéticos, epige-



néticos o ambos.⁹ La coexistencia de mutaciones en este tipo de neoplasias agudas ha demostrado ser relevante en la aparición de la enfermedad y la respuesta al tratamiento, aunque su significado biológico no está del todo claro, como en los casos de las mutaciones en los genes FLT3, DNMT3A y NPM1. Este trabajo tiene como objetivo desarrollar una revisión bibliográfica sistemática del efecto de las mutaciones en reguladores de la metilación del ADN en el valor pronóstico de la leucemia mieloide aguda, además de analizar su asociación con otras mutaciones genéticas de importancia clínica.

METODOLOGÍA

Búsqueda sistemática de artículos originales registrados en bases de datos nacionales e internacionales, como PubMed, ScienceDirect y

Scielo, publicados de 2009 a 2021. Los criterios de inclusión fueron: a) estudios prospectivos y retrospectivos donde se analizara la coexistencia y el pronóstico de las mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 en casos de leucemia mieloide aguda; b) publicaciones en revistas con factor de impacto superior a 2.0 (por ejemplo: *Blood Journal*, *Nature Leukemia*, *NEJM* y *The Journal of Clinical Oncology*). Se excluyeron las publicaciones en preimpresión, metanálisis, libros o análisis *in vitro*. Con base en estos criterios se seleccionaron 118 artículos de 460 analizados, 72 artículos de los cuales incluían información acerca del valor pronóstico de los marcadores de interés. Para el análisis final no se tomaron en cuenta variables como subtipo de leucemia aguda, etnia, edad o sexo de la población. Para el análisis de la coexistencia de los marcadores de interés (DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2) con

los incluidos en la clasificación por la OMS, se contabilizó el número de casos referidos en cada artículo y la asociación entre ellos se analizó utilizando el programa JavaScript. Sobre el valor pronóstico de estos marcadores, el análisis se llevó a cabo tomando en cuenta la supervivencia global de la población de estudio por artículo, clasificándolos en tres categorías: favorable, desfavorable y sin efecto.

RESULTADOS

Coexistencia de las mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2

Los reguladores epigenéticos juegan un papel importante en el fenotipo celular, ya que participan en la regulación de la expresión genética a través de la organización de la cromatina. Las modificaciones en algunos residuos de histonas y la metilación del ADN comprenden en su mayor parte los mecanismos por los cuales se lleva a cabo esta regulación. En la última década, se han identificado mutaciones recurrentes en proteínas implicadas en la metilación reversible del ADN en los casos de leucemia mieloide aguda y en otras neoplasias hematológicas (síndromes mielodisplásicos, neoplasias mieloproliferativas).¹² En 2015 se describió la prevalencia de las mutaciones en el gen DNMT3A (ADN metiltransferasa 3A), principalmente en los casos de leucemia mieloide aguda sin aberraciones cromosómicas. Este gen codifica para una enzima metil transferasa *de novo* del ADN, que incorpora un grupo metilo de la S-adenosil metionina a una citosina en la secuencia nucleotídica, generando el nucleótido modificado 5-metil citosina. Las citosinas mayormente metiladas corresponden a regiones conocidas como islas CpG localizadas en secuencias promotoras del genoma.⁵ Esta modificación reversible está vinculada con el silenciamiento transcripcional. Los estudios de secuenciación han revelado diferentes tipos de mutaciones, mayoritariamente de tipo *missense*

(cambio de un solo nucleótido), en el dominio Mtase (Metil transferasa). Así, el cambio en el codón R882 representa el 65% de todas las mutaciones en DNMT3A descritas (Figura 2).¹³ Las técnicas de secuenciación masiva mejoraron el entendimiento de la leucemia a nivel genómico, logrando identificar otras mutaciones concurrentes en los casos de leucemia mieloide aguda, en particular en los genes TET2 e IDH1 e IDH2 que participan en la desmetilación del ADN. La proteína TET2 (*Ten Eleven Translocation 2*) es una de las tres isoenzimas que catalizan las reacciones de oxidación del grupo metilo en las citosinas del ADN al producir 5-hidroximetilcitosina (5-hmC), 5-formilcitosina (5-fC) y 5-carboxicitosina (5-caC) de forma consecutiva con la finalidad de desmetilar el ADN. Las mutaciones que afectan a TET2 son altamente heterogéneas e incluyen inserciones, delecciones, así como cambios de tipo *missense* y *nonsense* (generación de un codón de paro).¹⁴ Estas mutaciones están distribuidas sobre todos los exones, particularmente en los exones largos 1 y 3. Por otra parte, para los reguladores clave de la metilación del ADN, IDH1 e IDH2 (isocitrato deshidrogenasa) se han reportado mutaciones de tipo *missense*, lo que genera versiones mutantes (IDH1^{mut}/IDH2^{mut}) que producen 2-hidroxiglutarato, un oncometabolito que inhibe a TET2 y a otras enzimas reguladoras del epigenoma. Las mutaciones *missense* más frecuentes se refieren a un cambio de aminoácido en el residuo R132 de IDH1 y en los residuos R140 o R172 en IDH2 (Figura 2).^{15,16} Por ahora, las mutaciones en los genes DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2, asociadas con casos de leucemia mieloide aguda con cariotipo normal, no se han incorporado como entidades independientes en algún sistema de clasificación internacional.

Sobre la base de las consideraciones anteriores y con el fin de determinar la asociación de mutaciones en los genes DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 con las anormalidades genéticas recurrentes descritas en la clasificación de la OMS,

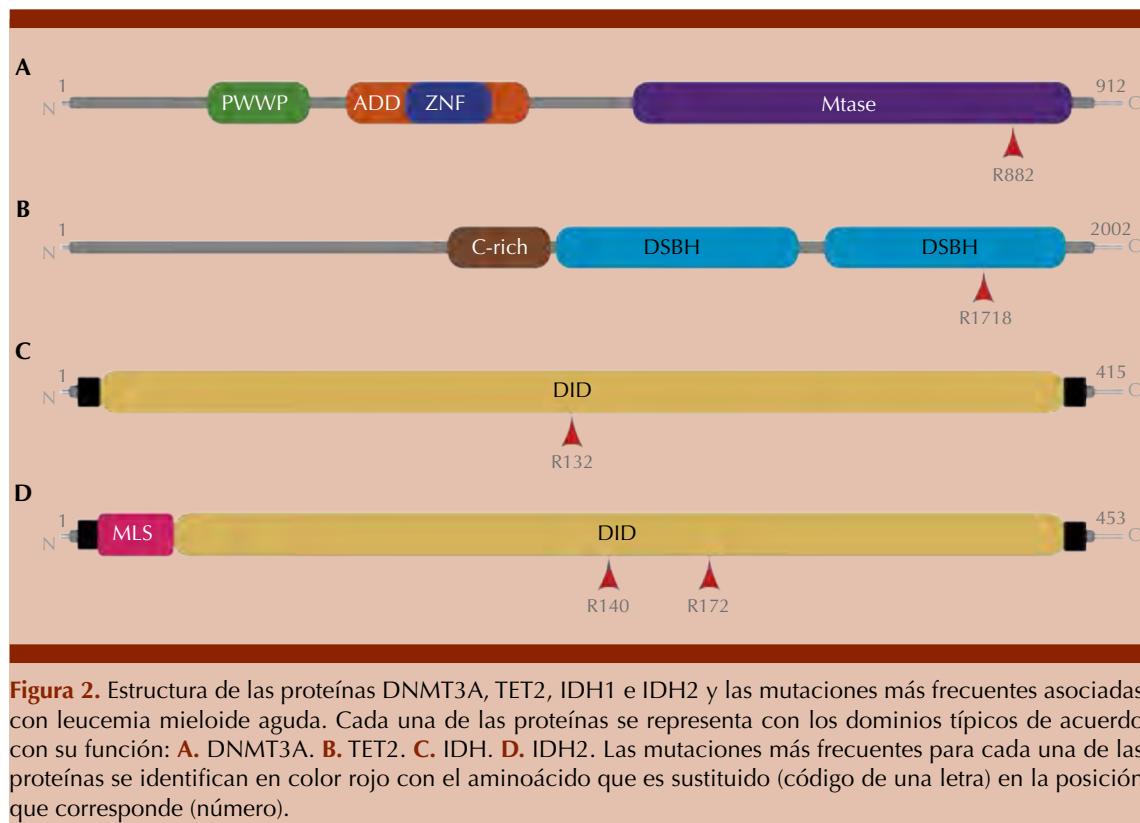


Figura 2. Estructura de las proteínas DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 y las mutaciones más frecuentes asociadas con leucemia mieloide aguda. Cada una de las proteínas se representa con los dominios típicos de acuerdo con su función: **A.** DNMT3A. **B.** TET2. **C.** IDH. **D.** IDH2. Las mutaciones más frecuentes para cada una de las proteínas se identifican en color rojo con el aminoácido que es sustituido (código de una letra) en la posición que corresponde (número).

se analizaron los reportes de casos de leucemia mieloide aguda donde se describía la coexistencia y los datos se contabilizaron y analizaron por caso (**Figura 3**). Para los 1175 casos identificados, las mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 se asociaron con el marcador NPM1 en un 94.2%, esta combinación de mutaciones se ha estudiado como un punto importante en la patogénesis molecular.^{17,18} De las alteraciones cromosómicas recurrentes, las traslocaciones t(8;21) y t(15;17), así como la inv(16), se asociaron con al menos un caso con DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2, destacando por su frecuencia la asociación con t(8;21).

Las mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 en el pronóstico de los casos con leucemia mieloide aguda

Las modificaciones epigenéticas se relacionan con los primeros eventos en la transformación leucémica, incluso antes de observar cambios tisulares patológicos, por ello, las mutaciones en reguladores de la metilación del ADN se han utilizado como biomarcadores de pronóstico.⁵ Por ejemplo, en la hematopoyesis clonal de potencial indeterminado (CHIP), las mutaciones en DNMT3A y TET2 son frecuentes y colocan a las células madre hematopoyéticas en la senda

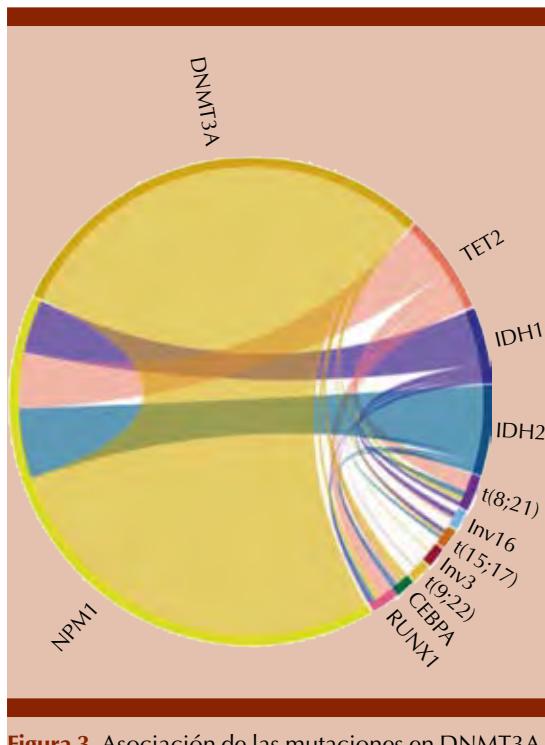


Figura 3. Asociación de las mutaciones en DNMT3A, TET2 e IDH1/2 con las anormalidades genéticas recurrentes. Diagrama de cuerdas que representa la asociación de cada caso de leucemia mieloide aguda con mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1 e IDH2 y su coexistencia con las entidades definidas en la clasificación de la OMS (2016).

Elaborada con JavaScript en amCharts3.

de la malignidad adquiriendo mutaciones cooperadoras.⁸ Existen múltiples estudios clínicos que han asociado la existencia del alelo mutante del gen DNMT3A (DNMT3A^{mut}) con una tasa de supervivencia desfavorable en pacientes con leucemia mieloide aguda.^{13,19,20,21} De esta forma, la presencia de DNMT3A^{mut} es similar a lo que sucede con las mutaciones en FLT3 en cuanto al valor pronóstico. Las mutaciones en este gen se asocian con un pronóstico adverso y su coexistencia con DNMT3A^{mut} potencializa este efecto negativo.²² Por otra parte, la presencia de mutaciones en TET2 en pacientes con leucemia mieloide aguda algunos autores con-

cluyen que es comparable al de un marcador de pronóstico adverso en la supervivencia y respuesta al tratamiento;²³ sin embargo, existen otros reportes donde prácticamente carece de valor en el pronóstico.²⁴ Con respecto al valor de las mutaciones IDH1/2, sigue siendo un tema de debate.^{4,15,16} El efecto del pronóstico de las mutaciones IDH1^{R132} y IDH2^{R140} parece estar influenciado por el contexto de otras mutaciones cooperadoras, por ejemplo, NPM1, FLT3-ITD. Los pacientes con la combinación NPM1 e IDH2^{R140} tienen en promedio resultados favorables, pero aquéllos con la mutación IDH1^{R132} tienen un pronóstico significativamente menor.⁴ Lo característico de las mutaciones en IDH1/2 es que los pacientes portadores son aptos a recibir terapias dirigidas con los fármacos ivosidenib y enasidenib, que son inhibidores de la actividad de isocitrato deshidrogenasa en la forma mutante de IDH1 e IDH2, respectivamente.²⁵

Con la finalidad de determinar si las mutaciones en los reguladores de la metilación del ADN anteriormente descritos influyen en el pronóstico de los pacientes con leucemia mieloide aguda, se realizó un análisis sistemático de datos publicados como se describió en los métodos. El papel pronóstico de las mutaciones en DNMT3A, TET2, IDH1 e IDH2 se identificó en 31, 24, 30 y 21 reportes, respectivamente. Estos resultados se clasificaron en tres categorías: sin efecto, favorable y desfavorable de acuerdo con la supervivencia global reportada. El porcentaje de cada categoría por tipo de mutación se muestra en la **Figura 4**. El análisis particular de cada marcador permite establecer que los casos de leucemia mieloide aguda con mutaciones en DNMT3A se asocian en un 90% con pronóstico desfavorable. En el caso de las mutaciones en TET2, llama la atención que, a pesar de que la mayor parte de los reportes lo señalan con pronóstico desfavorable (65%), existe un porcentaje considerable (35%) que no lo coloca ni como de buen pronóstico ni desfavorable. Con respecto a las mutaciones IDH1/

IDH2, observamos que el porcentaje de reportes que lo asocia con pronóstico desfavorable y sin efecto es similar. Resulta interesante destacar que para las mutaciones en IDH1/2 existen reportes de pronóstico favorable a diferencia de lo reportado para el marcador TET2. **Figura 4**

Ahora se comprende que para la leucemia mieloide aguda, a pesar de que existan casos con las mismas aberraciones citogenéticas, las mutaciones secundarias son patogenéticamente importantes. Cher y colaboradores²⁶ describieron por primera vez que las mutaciones en TET2 eran de pronóstico desfavorable en pacientes con t(8;21) e inv16. Asimismo, la existencia de mutaciones en IDH1 tiene un efecto negativo asociado con el marcador t(8;21), que otorga una buena respuesta al tratamiento convencional (Zhang²⁷). En el caso de la leucemia promielocítica con t(15;17), se ha reportado que la coexistencia con DNMT3A^{mut} se asocia con mal pronóstico (Li y colaboradores²⁸). De los resultados presentados puede inferirse la importancia que las mutaciones secundarias en los genes implicados en la metilación del ADN tienen en la patogenia de la leucemia mieloide aguda. Como se comentó anteriormente, las mutaciones epigenéticas inicialmente no se asociaban con alteraciones cromosómicas balanceadas, en cambio, ahora se sabe que la presencia de estas mutaciones permite dividir a los pacientes en subgrupos citogenéticos específicos, ya que la mutación en DNMT3A^{R882} es un predictor independiente de pronóstico adverso.²⁹⁻³² Así, puede anticiparse que, en las siguientes revisiones sobre la clasificación de neoplasias hematológicas, las mutaciones en DNMT3A se incluirán como marcador de pronóstico en los casos de leucemia mieloide aguda con cariotipo normal.

CONCLUSIONES

En este trabajo se analizó, a través de una revisión bibliográfica sistemática, la asociación

de las mutaciones en los genes relacionados con la metilación del ADNA, DNMT3A, TET2 e IDH1/2 y su influencia en la supervivencia global, además, se analizó si estas mutaciones coexisten con las principales entidades descritas en la clasificación de la OMS (con anomalidades genéticas recurrentes). El valor pronóstico de las mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2 ha sido un tema de interés en investigación en la última década; sin embargo, los reportes no han sido del todo concluyentes. Nuestro análisis pone en evidencia a DNMT3A^{mut} como un marcador de mal pronóstico, al margen del tipo y edad de la población. Por otra parte, el papel de las mutaciones en IDH y TET2 en el pronóstico de la enfermedad no es concluyente, esto puede explicarse por las variaciones entre los reportes analizados en cuanto a diferencias en las poblaciones de pacientes, metodología de estudio, agrupamiento de las mutaciones para el análisis, características biológicas de los pacientes, incluidas la edad, la influencia de alteraciones citogenéticas adicionales, protocolos de tratamientos, etc. La coexistencia de las mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1 e IDH2 con entidades moleculares que definen a la leucemia mieloide aguda se ha descrito desde hace más de una década; sin embargo, hasta hace poco tiempo se pensaba que son mutuamente excluyentes con alteraciones cromosómicas balanceadas. El análisis presentado en este artículo muestra la coexistencia de los cuatro marcadores con las mutaciones en NPM1 (entidad molecular más frecuente en casos de leucemia mieloide aguda con cariotipo normal). Con respecto a su asociación con alteraciones citogenéticas, solo se identificaron reportes aislados con las traslocaciones t(8;21) y t(15;17), no así con otras entidades.

La aplicación de las metodologías genómicas en el estudio de la biología de las neoplasias hematológicas ha permitido ampliar el panorama genético que subyace en el origen y destino

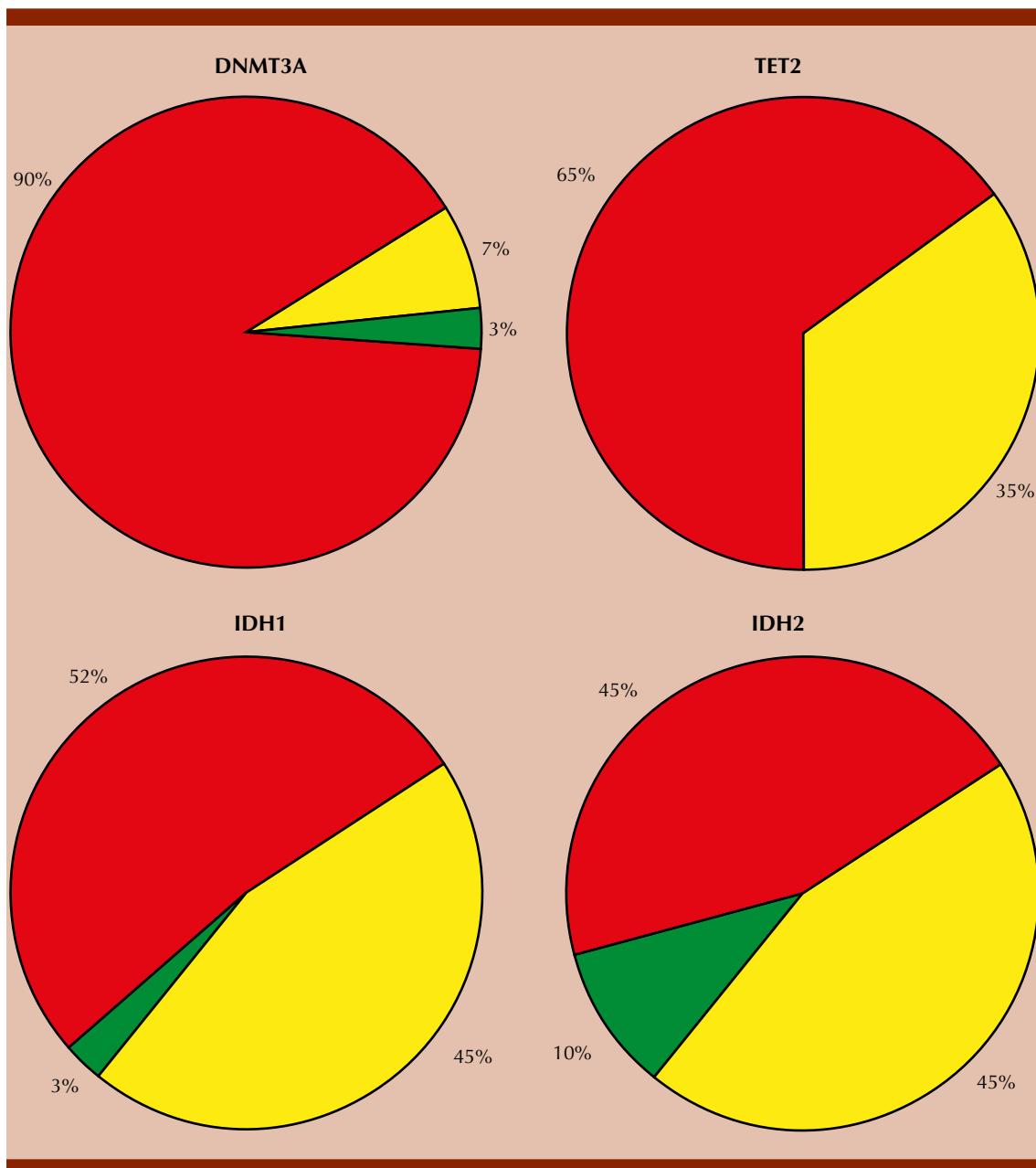


Figura 4. Valor pronóstico de las mutaciones en DNMT3, TET2 e IDH1/2 en la leucemia mieloide aguda. El significado en el pronóstico de la enfermedad de cada una de las mutaciones se clasificó de acuerdo con los reportes en: diagnóstico adverso (rojo); favorable (verde) y sin efecto (amarillo).

de las mismas. Las mutaciones en factores epigenéticos, aunque conocidas con anterioridad, no se habían vinculado directamente

con la aparición y pronóstico de las leucemias agudas. Recientemente, las mutaciones en los genes DNMT3A, TET2 e IDH1/2, implicados en

la metilación del ADN, se describieron como parte de la colección de alteraciones genéticas para los casos de leucemia mieloide aguda. En este trabajo describimos la asociación de estos marcadores reportada en la bibliografía con el fin de contribuir a esclarecer el valor pronóstico de las mismas. Por los datos analizados podemos concluir que, de los cuatro marcadores epigenéticos estudiados, DNMT3A predomina en su asociación con NPM1 y otras anormalidades cromosómicas consideradas afecciones leucémicas por la OMS, por lo que en un futuro su identificación sumará al pronóstico de los pacientes que las tienen.

REFERENCIAS

1. Ferrara F, Schiffer CA. Acute myeloid leukaemia in adults. *Lancet* (London, England) 2013; 381 (9865): 484-95.
2. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127 (20): 2391-405.
3. Bullinger L, Krönke J, Schön C, Radtke I, Urlbauer K, Botzenhardt U, et al. Identification of acquired copy number alterations and uniparental disomies in cytogenetically normal acute myeloid leukemia using high-resolution single-nucleotide polymorphism analysis. *Leukemia* 2010; 24 (2): 438-49.
4. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, Potter NE, Heuser M, Thol F, Bolli N, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2016; 374: 2209-2221.
5. Ley TJ, Miller C, Ding L, Raphael BJ, Mungall AJ, Robertson A, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2013; 368 (22): 2059-74.
6. Hou HA, Tien HF. Genomic landscape in acute myeloid leukemia and its implications in risk classification and targeted therapies. *J Biomed Sci* 2020; 27 (1): 81.
7. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, Lindberg J, Rose SA, Bakhoun SF, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med* 2014; 371 (26): 2477-87.
8. Steensma DP. Clinical implications of clonal hematopoiesis. *Mayo Clin Proc* 2018; 93 (8): 1122-30.
9. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med* 2014; 371 (26): 2488-98.
10. Hirsch P, Zhang Y, Tang R, Joulin V, Boutroux H, Pronier E, et al. Genetic hierarchy and temporal variegation in the clonal history of acute myeloid leukaemia. *Nat. Commun* 2016; 7: 12475.
11. Ohgami RS, Ma L, Merker JD, Gotlib JR, Schrijver I, Zehnder JL, et al. Next-generation sequencing of acute myeloid leukemia identifies the significance of TP53, U2AF1, ASXL1, and TET2 mutations. *Mod Pathol* 2015; 28: 706-14.
12. Venney D, Mohd-Sarip A, Mills KI. The impact of epigenetic modifications in myeloid malignancies. *Int J Mol Sci* 2021; 22 (9): 5013.
13. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, McLellan MD, Lamprecht T, Larson DE, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010; 363 (25): 2424-33.
14. Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, Kowarsch A, Nadarajah N, Eder C, et al. Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2012; 26 (5): 934-42.
15. Boissel N, Nibourel O, Renneville A, Gardin C, Reman O, Contentin N, et al. Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms 1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association group. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3717-23.
16. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2348-55.
17. Bezerra MF, Lima AS, Piqué-Borràs MR, Silveira DR, Coelho-Silva JL, Pereira-Martins DA, et al. Co-occurrence of DNMT3A, NPM1, FLT3 mutations identifies a subset of acute myeloid leukemia with adverse prognosis. *Blood* 2020; 135 (11): 870-5.
18. Dunlap JB, Leonard J, Rosenberg M, Cook R, Press R, Fan G, et al. The combination of NPM1, DNMT3A, and IDH1/2 mutations leads to inferior overall survival in AML. *Am J Hematol* 2019; 94 (8): 913-20.
19. Bezerra MF, Lima AS, Piqué-Borràs MR, Silveira DR, Coelho-Silva JL, Pereira-Martins DA, et al. Co-occurrence of DNMT3A, NPM1, FLT3 mutations identifies a subset of acute myeloid leukemia with adverse prognosis. *Blood* 2020; 135 (11): 870-5.
20. Ribeiro AF, Pratcorona M, Erpelinck-Verschueren C, Rockova V, Sanders M, Abbas S, et al. Mutant DNMT3A: a marker of poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2012; 119 (24): 5824-31.
21. Shivarov V, Gueorguieva R, Stoimenov A, Tiu R. DNMT3A mutation is a poor prognosis biomarker in AML: results of a meta-analysis of 4500 AML patients. *Leuk Res* 2013; 37: 1445-50.
22. Ahn JS, Kim HJ, Kim YK, Lee SS, Jung SH, Yang DH, et al. 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. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22 (1): 61-70.

23. Wang R, Gao X, Yu L. The prognostic impact of tet oncogene family member 2 mutations in patients with acute myeloid leukemia: a systematic-review and meta-analysis. *BMC Cancer* 2019; 19 (1): 389.
24. Gaidzik VI, Paschka P, Späth D, Habdank M, Köhne CH, Germing U, et al. TET2 mutations in acute myeloid leukemia (AML): results from a comprehensive genetic and clinical analysis of the AML study group. *J Clin Oncol* 2012; 30 (12): 1350-7.
25. Issa GC, DiNardo CD. Acute myeloid leukemia with IDH1 and IDH2 mutations: 2021 treatment algorithm. *Blood Cancer J* 2021; 11 (6): 107.
26. Cher CY, Leung GM, Au CH, Chan TL, Ma ES, Sim JP, et al. 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 J* 2016; 6 (7): e442.
27. Zhang Y, Wei H, Wang M, Huai L, Mi Y, Zhang Y, et al. Some novel features of IDH1-mutated acute myeloid leukemia revealed in Chinese patients. *Leuk Res* 2011; 35 (10): 1301-6.
28. Li W, Cui L, Gao C, Liu S, Zhao X, Zhang R, et al. DNMT3A mutations in Chinese childhood acute myeloid leukemia. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96 (31): e7620.
29. Yuan XQ, Chen P, Du YX, Zhu KW, Zhang DY, Yan H, et al. Influence of DNMT3A R882 mutations on AML prognosis determined by the allele ratio in Chinese patients. *J Transl Med* 2019; 17: 220.
30. Eisfeld A, Mrózek K, Kohlschmidt J, Nicolet D, Orwick S, Walker CJ, et al, & Bloomfield CD. The mutational oncoprint of recurrent cytogenetic abnormalities in adult patients with de novo acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2017; 31 (10): 2211-8.
31. Ribeiro AF, Pratcorona M, Erpelinck-Verschueren C, Roczkova V, Sanders M, Abbas S, et al. Mutant DNMT3A: a marker of poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2012; 119(24):5824-31.
32. Shivarov V, Gueorguieva R, Stoimenov A, Tiu R. DNMT3A mutation is a poor prognosis biomarker in AML: results of a meta-analysis of 4500 AML patients. *Leuk Res* 2013; 37: 1445-50.