

## **FILIAL CIENCIAS MÉDICAS BARACOA**

### **BIOLOGÍA MOLECULAR DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA**

Lic. Alexei Santana Galano<sup>1</sup>, Lic. Yanni Durán Pérez<sup>2</sup>, Dra. Dania M. Matos Cantillo<sup>3</sup>, Dra. Laura Y. Pita Laborí.<sup>3</sup>

*1 Licenciado en Bioquímica. Instructor.*

*2 Licenciada en Biología). Instructor.*

*3 EGI. Profesor Instructor Morfofisiología Humana.*

---

### **RESUMEN**

La leucemia linfoblástica aguda es una enfermedad que sin tratamiento es rápidamente mortal. La mayor parte de los clones tumorales son de tipo B, expresando variantes antigénicas en la superficie. Las causas moleculares, aunque no esclarecidas del todo, involucran múltiples vías, genes supresores tumorales y oncogenes. Se han hecho grandes aportes en la terapéutica aunque el riesgo de padecer alguna otra tumoración posremisión, aumenta significativamente.

**Palabras claves:** leucemia, leucemia linfoblástica aguda, cáncer, oncopediatria.

---

### **INTRODUCCIÓN**

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una enfermedad primariamente de niños y adultos jóvenes, con una incidencia máxima hacia los cuatro años de edad, siendo casi dos veces más frecuente en personas de raza blanca, y ligeramente más frecuente en varones. En países desarrollados, es el cáncer más común en infantes. Sin tratamiento adecuado, tiene un pronóstico malo en poco tiempo, no obstante se han obtenido avances notables en la terapéutica, con mejores resultados en niños. Aunque las bases moleculares de la enfermedad no han sido elucidadas del todo, en el presente trabajo se muestran los avances más significativos en cuanto a la etiología molecular de la LLA.

## DESARROLLO

### SUBTIPOS INMUNOLÓGICOS

Se ha demostrado el origen monoclonal de la LLA, basándose los subtipos inmunológicos en el origen de linfoblastos leucémicos y en su estadio de diferenciación. Aunque los blastos leucémicos solo expresan Ig en la superficie en menos del 2 % de los pacientes, la inmensa mayoría de las LLA (80 %) han demostrado ser originadas en células B (LLA-B). La Tabla 1 muestra los principales subtipos inmunológicos, así como el pronóstico correspondiente. Las células leucémicas no pierden gran parte de sus antígenos pero estimulan una pobre respuesta T1. Algunos pacientes presentan anticuerpos contra dichos epítopes, observándose en ellos mejor respuesta a los tratamientos. Entre el 5-30 % de los pacientes infantiles LLA son positivos a antígenos mieloides como CD13 y CD33, en la actualidad la presencia de dichos antígenos no siempre es sinónimo de mal pronóstico.

Subtipo	Frecuencia	Pronóstico	Fenotipo
Aproximada (%)			
Pre-B temprana			
CALLA (CD10) negativa		DR+, slg-, C $\mu$ -, CD19+, CD10-	5-10
Muy Bueno			
CALLA positiva		DR+, slg-, C $\mu$ -, CD19+, CD10+	55-60
Pre-B		DR+, slg-, C $\mu$ +, CD19+, CD10+	20
Intermedio			
B madura		DR+, slg+, C $\mu$ -, CD19+, CD10+/-	1-2
Malo			
T inmadura		DR-, slg-, CD19-, CD10-, T+	15
Intermedio			

*Tabla 1. Principales subtipos inmunológicos de LLA y su pronóstico*  
DR= antígenos HLA-DR (clase II); slg= inmunoglobulina de superficie; C $\mu$ = cadenas  $\mu$  citoplasmáticas; T= antígenos asociados a células T (Ej: CD2, CD5 y CD7); CALLA= antígeno común de la LLA (sinónimo de CD10)

### ALTERACIONES CARIOTÍPICAS

Aproximadamente el 90 % de los pacientes con LLA presentan alteraciones numéricas o estructurales en los cromosomas. Las hiperdiploidías (>50 cromosomas) son frecuentes en la infancia (los pacientes muestran características clínicas favorables), mientras que la pseudoploidía es más abundante en el adulto y su pronóstico es malo. Las translocaciones por lo general se asocian a un peor pronóstico. A

diferencia de otras LLA, la LLA de células T (LLA-T) rara vez presenta aberraciones cromosómicas visibles.

La importancia de las translocaciones es evidente si se analiza el ejemplo de  $t(9,22)(q34;q11)$  observada en el 30 % de pacientes adultos y el 5 % de niños (cromosoma de Filadelfia). El punto de ruptura en el cromosoma 22 está dentro de la región del gen *bcr* (*break cluster region*) de 5.8 Kb, mientras que el cromosoma 9 se transloca por la región del protooncogén *c-abl* (Figura 1).

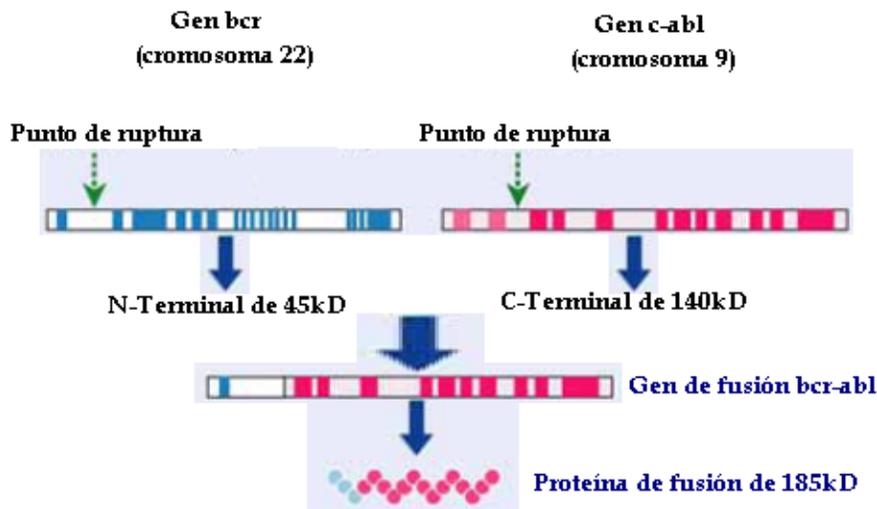


Figura 1 La translocación entre el cromosoma 22 y el cromosoma 9 genera el cromosoma de Filadelfia que sintetiza el producto de fusión *bcr-abl*, responsable de algunas LLA.

El producto proteico de *c-abl* posee actividad tirosinaquinasa, necesaria para la transformación celular. La translocación involucra el primer intrón de *bcr*; el gen *c-abl* se expresa por *splicing* alternativo de uno de los dos primeros exones, en la translocación de interés (existen otras para la leucemia mieloide) siempre ocurre en el intrón que precede al primer exón común. Aunque el punto de ruptura y translocación puede variar sutilmente de paciente a paciente, la translocación crea un gen híbrido con un producto proteico leucemiogénico. La proteína *c-Abl* en condiciones normales posee 145kD, al translocarse pierde 5kD del N-terminal que son sustituidos por 45kD del N-terminal de *Bcr*. El extremo N-terminal de *c-Abl* es crucial para su regulación, la proteína quimérica *Bcr-Abl* no puede, por tanto, ser regulada, y expresa una actividad tirosinaquinasa constitutiva que ejerce su efecto a través de la ruta *Ras*, actuando sobre los componentes *Grb2* y *Shc*. La activación inadecuada de *Ras* es oncogénica. Por otra parte, la  $t(12;21)(p12;q22)$  es la anomalía más común observada en las LLA infantiles, apareciendo hasta en el 25 % de los casos.

El producto de fusión es la proteína quimérica TEL/AML1 (tanto TEL como AML1 son factores de transcripción indispensables en la hematopoyesis), hacia el N-terminal posee un fragmento de TEL, el resto de la proteína está constituida por la mayor parte de AML1. La competencia de TEL/AML1 por los promotores de AML1, favorece una expresión aberrante de genes como el receptor de Interleuquina-3, el receptor del factor estimulante de formación de colonias de macrófagos, y el TCR, lo que estimula una división celular regulada incorrectamente. Aproximadamente la mitad de las LLA-T presenta aberraciones cromosómicas que afectan factores de transcripción, como los "homeobox" TLX-1 y TLX-2, componentes de los complejos de unión al ADN tipo hélice-lazo-hélice (entre ellos SCL/TAL1, LYL1), así como subunidades que modulan la actividad de los complejos recién mencionados: LMO1 o LMO2. La LLA donde aparece el gen de fusión PICALM-MLLT10 (le confiere a la célula determinadas características de mieloide), es de muy mal pronóstico.

Otras translocaciones importantes observadas en la LLA son t(8;14)(q24;q32); t(1;19)(q23;p13) y t(4;11)(q21;q23). Esta última, así como la aparición del cromosoma de Filadelfia, se asocian con una resistencia multifarmacológica y un desenlace fatal.

### **SE REQUIEREN MÚLTIPLES "GOLPES" GENÉTICOS EN LA FORMACIÓN DE LAS LLA**

Se ha demostrado que las LLA transitan por diversos estadios leucémicos, y que la conversión de un único protooncogen en oncogen no produce células tumorales, sino que se requieren varios genes alterados para producir una célula propiamente tumoral; por ejemplo, en individuos sanos y sin antecedentes de desórdenes hematológicos, se han encontrado mutaciones relacionadas con leucemias y/o linfomas como t(12;21) *ETV6/RUNX1*, t(9;22) *BCR/ABL*, t(14;18) *IGH/BCL2*, t(2;5) *NPM-ALK*, y duplicaciones de *MLL*, esto demuestra que, al igual que la mayor parte de los tumores, se requieren múltiples cambios genéticos para desarrollar la enfermedad.

En el momento de diagnóstico de la LLA en niños, se pueden observar rearrreglos anormales de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (IgH) en el 95 % de los casos, y rearrreglos en el gen del TCR V $\delta$ 2-D $\delta$ 3; un 25-31% de los pacientes experimentan rearrreglos adicionales en período tan corto como cuatro meses, con diagnóstico desfavorable. Varios autores han demostrado que los niños enfermos de LLA sufrieron mutaciones en su genoma en etapas intrauterinas, pero que esto no era suficiente para el desarrollo de la leucemia, sino que cambios adicionales eran requeridos, observándose la enfermedad con un pico de aparición a los cuatro años.

Múltiples agentes teratogénicos han sido objeto de estudio, como radiaciones, virus o sustancias químicas, con particular fuerza la infección intrauterina por parte de los poliomavirus humanos JC y BK. Entre los cambios en etapa intrauterina aparecen MLL-AF4 [t(12;21)], t(12;21), comienzan el rearrreglo de los genes IgH y las aberraciones cromosómicas numéricas; mientras que mutaciones como E2A-PBX1 [t(1;19)] ocurren primordialmente en etapas extrauterinas.

El período de latencia para casos en los cuales se demostró mutaciones intrauterinas puede llegar hasta 12 años, demostrando la necesidad de mutaciones adicionales para desarrollar la enfermedad.

El CYP2B6 es una enzima cyt P450, muy variable y polimórfica, encargada del metabolismo de químicos leucemogénicos. El polimorfismo de simple nucleótido (516G>T) en el cuarto exón de CYP2B6, afecta la actividad enzimática. En las LLA, los genotipos de CYP2B6 donde se presentase una repetición mucho mayor de T, se asocian a una actividad CYP2B6 menor frente a agentes químicos, apareciendo hasta en el 70.6 % de las LLA.

### **EXPRESIÓN DEFECTUOSA DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN FAVORECEN APARICIÓN DE CÉLULAS NEOPLÁSICAS**

El factor de transcripción NF-kappaB está involucrado en respuestas celulares como las antiapoptóticas, inflamatorias, e inmunitarias. Ejerce sus efectos a través de las proteínas Rel-A (p65), NF- $\kappa$ B<sub>1</sub> (p50; p105), NF- $\kappa$ B<sub>2</sub> (p52; p100), c-Rel y Rel-B. NF-kappaB activa la ciclina D<sub>1</sub>, favoreciendo la síntesis de ADN. Este factor de transcripción puede resultar afectado por agentes ambientales, entre los que se encuentran el Virus Humano de la Leucemia tipo 1 (HTLV-1).

El genoma viral codifica la proteína Tax. Tax induce una expresión constitutiva de NF-kappaB, obteniéndose una transcripción defectuosa de múltiples genes. En condiciones normales, la expresión de NF-kappaB está regulada por la represión ejercida por el Inhibidor NF-kappaB I-kappaBalfa. Sin embargo, el linfocito T puede resultar estimulado (via TCR y CD28), activando al complejo I-kappaBkinasa (IKK), el cual fosforila al Inhibidor NF-kappaB I-kappaBalfa (dicho inhibidor, una vez fosforilado, es destruido). Por tanto, IKK activa a NF-kappaB. La proteína Tax se une a la subunidad IKKalfa (por motivos de zipper de leucina), promoviéndose el ensamblaje de IKKalfa e IKKbeta: se forma el núcleo catalítico de IKK activado de forma constitutiva. Se estima que desde la infección por HTLV-1 hasta la aparición de la LLA-T puede existir un período de 20 años, debido a que Tax favorece eventos de transformación celular ligados, como mitogénesis (activa proteínas de

G1), errores en el ADN y la inactivación de los "puntos de control" (*checkpoints*).

Notch1 tiene un papel importante en la infiltración celular y la coexpresión de CD4+CD8+ en células T leucémicas (Bhanushali). El oncogen Notch-1 y su correspondiente producto proteico ejercen su efecto via activación de NF-kappaB. Notch1 es un receptor transmembrana compuesto por subunidades extracelular, transmembrana e intracelular. La unión del ligando induce un corte proteolítico en el dominio intracelular, liberándose el fragmento Notch1-IC, el cual va al núcleo y convierte a Cbf1 en un activador transcripcional. Aproximadamente la mitad de los casos de ALL-T presentan mutaciones en Notch-1.

Uno de dichos cambios es la pérdida de la secuencia crítica PTES, requerida para el corte proteolítico, pero en algunos casos tratados con inhibidores de proteasa, se ha perdido PTES. Un blanco de Notch es el factor de represión Hes-1 (probablemente via Cbf1), el cual reprime la síntesis del regulador negativo de IKK denominado Deubiquitinasa A20 y CYLD, activándose IKK, con efectos similares a los explicados para la proteína viral Tax. Además, Notch1 activa Notch3, y éste último es capaz de fosforilar los homodímeros IKKalfa. Esta observación podría explicar que en células LLA-T de adultos, donde no se detectaron proteínas Tax, IKK aparecía activada.

### **FALLAS EN LA APOPTOSIS FAVORECEN LLA**

El gen LYL1 (*Lymphoblastic leukemia 1 gene*) es un protooncogen involucrado en la patofisiología de la LLA-T. En condiciones normales, esta pequeña proteína (hélice-lazo-hélice) no aparece en células T. El efecto oncogénico de LYL1 está determinado por el hecho de ser un factor que promueve la transcripción de varios mensajeros antiapoptóticos. LYL1 puede convertirse en oncogén por translocación (t7;19)(q35;p13) o pérdida de la secuencia PEST, presente hacia el N-terminal de LYL-1, e indispensable para la degradación proteosómica de este factor de transcripción.

La expresión de LMO2 cesa en estadios tempranos de las células T en el timo. Sin embargo, el 9 % de las LLA-T presenta mutaciones en LMO2. LMO2 permite el ensamblaje del complejo de transcripción constituido por heterodímeros de proteína E y Scl o LYL1, así como Gata1 y Lbd1.

Este complejo se une por motivos hélice-lazo-hélice a la secuencia bipartita de "caja" E y sitio Gata1, actuando como represor o activador de la transcripción. A su vez, Scl activa las propiedades leucemiogénicas de LMO2. Alelos mutantes de LMO2 unidos a Scl, reprimen la función de

la proteína E, siendo ésta necesaria para la diferenciación de la estirpe T en el timo (una depleción de proteína E se relaciona con disminución en la expresión de genes como el de la unidad  $\alpha$  del prerreceptor de células T, el cual es requerido para la progresión de los timocitos hacia la fase doble positiva CD4+CD8+). Pero la falta de diferenciación de los timocitos *per se* no es suficiente para producir células tumorales. LMO2 induce además la división celular, permitiendo la perpetuación del clon afectado (en estadio CD4-CD8-CD44-CD25+), ya que incrementa hasta diez veces la expresión de proteínas características de las *stem cells* como Hhex (Hhex tiene un homeodominio central casi idéntico al del producto oncogénico TLX1, estimulando la autorrenovación celular).

### **BASES MOLECULARES DE RESISTENCIA FARMACOLÓGICA DE LLA**

La LLA en niños y adultos presenta características propias de cada grupo (especialmente la LLA-B) en cuanto a pronóstico. Las células de los adultos parecen carecer de la batería enzimática óptima (una baja expresión de la enzima folipolilglutamato sintetasa) para agregar grupos glutamil al metotrexato (las células de los niños catalizan mejor dicha reacción), diferencia que puede traducirse en susceptibilidades diferentes al tratamiento con metotrexato.

Uno de los más importantes mecanismos de resistencia multifarmacológica es la sobreexpresión del gen de resistencia a multidroga 1 (MDR-1). Este gen codifica la glicoproteína P-gp (170kD), la cual es un transportador de tipo ABC, involucrado en la translocación unidireccional de sustratos a través de la membrana. P-gp bombea, entre otras moléculas, drogas terapéuticas como alcaloides de la *Vinca*, antraclinas y epipodofilotoxinas.

Existen dos formas de P-gp, una de ellas menos sensible al colesterol, pero la otra posee un dominio de unión de ATP regulado en su función por la concentración membranosa de colesterol, existiendo una relación directamente proporcional entre la cantidad de colesterol en la membrana, la actividad ATPasa de P-gp y la resistencia multifarmacológica. Aunque ya se ha explicado que el gen TEL/AML1 es leucemiogénico, éste se correlaciona con un mejor pronóstico de las LLA infantiles (en adultos enfermos TEL/AML1 es raro), así como la t(8,21) (cuyo producto proteico es AML1/ETO). Tanto TEL/AML1 como AML1/ETO se unen al promotor de MDR-1, inhibiendo su transcripción.

Drogas como Imatinib y Nilotinib (inhibidoras de la acción tirosinaquinasa de Bcr-Abl, ya que se unen al sitio de unión al ATP manteniendo la proteína en su conformación cerrada e inactiva) pueden no surtir efectos sobre las células leucémicas, éstas pueden acumular mutaciones en el gen Bcr-Abl, de forma tal que el sitio de acción de las

drogas cambia. Existen líneas celulares de LLA que sin sufrir mutaciones en Bcr-Abl, presentan una marcada resistencia al tratamiento con Imatinib y Nilotinib, debiéndose a una sobreexpresión de la enzima Lyn tirosinaquinasa, la cual fosforila Bcr-Abl y Bcr2, potenciándose tanto su acción que los efectos de las drogas son despreciables. Existen casos en que la sobreactivación causada por NF-kappaB silencia los efectos apoptóticos de drogas como la bortezomib. Algunas LLA presentan la proteína de Resistencia al Tratamiento en Pulmón (LRP: *lung resistance protein*); estudios realizados por El-Sharnouby *et al.* muestran que el 42.6 % de los pacientes mostraron dicha proteína. La resistencia a glucocorticoides como la desametasona (potentes activadores de la apoptosis celular, y uno de los primeros tratamientos) es vencida por algunas células leucémicas; estas células muestran una sobreexpresión de Bcl-2 (agente antiapoptótico) que supera los efectos de los glucocorticoides.

### **CURACIÓN...¿COMPLETA?**

Las terapias anticancerígenas contemporáneas contra la LLA han permitido resultados muy alentadores en niños. Entre el 78 y 85 % de los pacientes infantiles logra remisión completa, con alto índice de supervivencia a los 5 años de terminada la terapia. Sin embargo, paralelo al desarrollo de drogas más efectivas, éstas, en muchos casos, han incrementado su efecto genotóxico, con la aparición de otras neoplasias. Nobuko y otros, demostraron que la incidencia de neoplasias secundarias (NS) se incrementa con el tiempo: el 4.17 % de los pacientes dado de alta presentó NS a los 15 años; el 10.85 % de los pacientes resultó afectado a los 30 años. Esto representa un riesgo 13.5 veces mayor de desarrollar alguna neoplasia, con respecto a la población general.

Las NS más importantes según incidencia decreciente (a los 30 años) son: carcinomas, tumores del SNC, mielomas malignos, sarcomas, linfomas y leucemias secundarias. Los agentes quimioterapéuticos alquilantes del ADN y los inhibidores de la Topoisomera II utilizados en el tratamiento de la LLA (epipodofilotoxinas y antraciclinas, respectivamente) son reconocidos como drogas de riesgo en la aparición de NS, debido a que su mecanismo de acción involucra directamente al ADN (predisponen rupturas en el material genético, favoreciendo reestructuraciones cromosómicas). Las monosomías cromosómicas en 5 y/o 7, así como deleciones, son causadas típicamente por agentes alquilantes; mientras que las translocaciones balanceadas entre 11q23 y 21q22 se asocian a inhibidores de Topoisomera II. Otros efectos genéticos relacionados -con menor frecuencia- con el tratamiento anti LLA son t(3;21), t(9;22) *BCR-ABL1*, t(3;21), t(14;21), t(15;21), y t(17;21).

## **CONSIDERACIONES FINALES**

Las LLA son un conjunto de patologías caracterizadas por un rápido aumento en el número de linfocitos, con aparición fundamentalmente en edades tempranas. Tienen origen monoclonal, y la mayor parte derivan de células B. Las características inmunológicas son múltiples, así como las genéticas, requiriéndose varios oncogenes activados. El estudio de la heterogeneidad genética de las LLA es de gran importancia para la elección del tratamiento óptimo. Avances en la terapéutica han permitido, a pesar de casos de resistencia farmacológica, curaciones hasta en el 80 % de los casos, aunque la aparición de neoplasias secundarias asociadas a la terapéutica aparece notablemente incrementada.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Aifantis I, Raetz E, Buonamici S. Molecular pathogenesis of T-cell leukaemia and lymphoma. *Nat Rev Immunol* 2008; 8:380-390.
2. Asakura K, Uchida H, Miyachi H, Kobayashi H, Miyakawa Y, Nimer SD, Takahashi H, Ikeda Y, Kizaki M. TEL/AML1 overcomes drug resistance through transcriptional repression of multidrug resistance-1 gene expression. *Mol Cancer Res.* 2004; 2(6):339-347.
3. Barakat S, Gayet L, Dayan G, Labialle S, Lazar A, Oleinikov V, Coleman AW, Baggetto LG. Multidrug-resistant cancer cells contain two populations of P-glycoprotein with differently stimulated P-gp ATPase activities: evidence from atomic force microscopy and biochemical analysis. *Biochem J.* 2005; 388(Pt 2):563-71.
4. Barredo JC, Synold TW, Laver J, Relling MV, Pui CH, Priest DG, Evans WE. Differences in constitutive and post-methotrexate folylglutamate synthetase activity in B-lineage and T-lineage leukaemia. *Blood* 1994. 84: 564-569.
5. Bhanushali AA, Babu S, Thangapandi VR, Pillai R, Chheda P, Das BR. Mutations in the HD and PEST domain of Notch-1 receptor in T-cell acute lymphoblastic leukemia: report of novel mutations from Indian population. *Oncol Res.* 2010;19(2):99-104.
6. Bonapace L, Bornhauser BC, Schmitz M, Cario G, Ziegler U, Niggli FK, Schaefer BW, Schrappe M, Stanulla M, Bourquin JP. Induction of autophagy-dependent necroptosis is required for childhood acute lymphoblastic leukemia cells to overcome glucocorticoid resistance. *J Clin Invest.* 2010; 120(4):1310-1323.

7. Brassesco MS, Xavier DJ, Camparoto ML, Montaldi AP, de Godoy PR, Scrideli CA, Tone LG, Sakamoto-Hojo ET. Cytogenetic instability in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011. pii: 230481. (publicado en internet).
8. Curtis DJ, McCormack MP, The Molecular Basis of Lmo2-Induced T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia *Clin Cancer Res.* 2010 Sep 22. (publicado en internet).
9. David Joyce, Chris Albanese, Jay Steer, Maofu Fu, Boumediene Bouzahzah, Richard G Pestell. NF- $\kappa$ B and cell-cycle regulation: the cyclin connection. *Cytokine & Growth Factor Reviews,* 2001; 12(1): 73-90.
10. El-Sharnouby JA, Abou El-Enein AM, El Ghannam DM, El-Shanshory MR, Hagag AA, Yahia S, Elashry R. Expression of lung resistance protein and multidrug resistance-related protein (MRP1) in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *J Oncol Pharm Pract.* 2010; 16(3):179-188.
11. Espinosa L, Cathelin S, D'Altri T, Trimarchi T, Statnikov A, Guiu J, Rodilla V, Inglés-Esteve J, Nomdedeu J, Bellosillo B, Besses C, Abdel-Wahab O, Kucine N, Sun SC, Song G, Mullighan CC, Levine RL, Rajewsky K, Aifantis I, Bigas A. The Notch/Hes1 Pathway Sustains NF- $\kappa$ B Activation through CYLD Repression in T Cell Leukemia. *Cancer Cell.* 2010; 18(3): 268-281.
12. Gayet L, Dayan G, Barakat S, Labialle S, Michaud M, Cogne S, Mazane A, Coleman AW, Rigal D, Baggetto LG. Control of P-glycoprotein activity by membrane cholesterol amounts and their relation to multidrug resistance in human CEM leukemia cells. *Biochemistry* 2005; 44(11):4499-4509.
13. Gutierrez, A, Look T, NOTCH and PI3K-AKT Pathways Intertwined *Cancer Cell,* 2007; 12(5): 411-413.
14. Hijiya N, Hudson MM, Lensing S, Zacher M, Onciu M, Behm FG, Razzouk BL, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Sandlund JT, et al. Cumulative incidence of secondary neoplasms as first events event after childhood acute lymphoblastic leukaemia. *JAMA.* 2007; 297(11): 1207-1215.
15. Hironaka N, Mochida K, Mori N, Maeda M, Yamamoto N, Yamaoka S. Tax-independent constitutive I $\kappa$ B kinase activation in adult T-cell leukemia cells. *Neoplasia,* 2004; 6(3):266-278.

16. Hongxiu Li, Xin Lin. Positive and negative signaling components involved in TNF $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B activation. *Cytokine*, 2008; 41(1):1-8.
17. Howard MR, Thomas L, Reid MM. Variable Detection of myeloid antigens in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *J Clin Path* 1994; 47: 1006-1009.
18. Kumar V, Abbas A.K, Fausto N, Mitchell R.N. Robbins Patología Humana. Elsevier España 2008; 179-231, 435-493.
19. La S, Chen Z, Yang J, Chen L, Gong S, Zhou H, Guo L, Wang J. Overexpression of the PSMB5 gene contributes to bortezomib resistance in T-lymphoblastic lymphoma/leukemia cells derived from Jurkat line. *Exp Hematol*. 2008; 36(10):1278-1284.
20. Lewin B, The Philadelphia translocation generates a new oncogene. Genes VIII SECTION 6.30.13 © 2004. Virtual Text / [www.ergito.com](http://www.ergito.com)
21. Linden T, Furlan I, Schwarz S, Stoehr R, Niemeyer CM, Rossig C. Sequential acquisition of IgH and TCR rearrangements during the preleukemic phase of acute lymphoblastic leukemia in an adolescent patient. *Pediatr Blood Cancer*. 2010 Sep 21 (publicado en internet).
22. Longo D.L., Year Book of Oncology 1995. Mosby, 1995. pag. 298.
23. Lukov GL, Goodell MA. LYL1 Degradation by the Proteasome Is Directed by a N-Terminal PEST Rich Site in a Phosphorylation-Independent Manner. *PLoS One*. 2010 Sep 10;5(9). pii: e12692 (publicado en internet).
24. Mahon FX, Hayette S, Lagarde V, Belloc F, Turcq B, Nicolini F, Belanger C, Manley PW, Leroy C, Etienne G, Roche S, Pasquet JM. Evidence that Resistance to Nilotinib May Be Due to BCR-ABL, Pgp, or Src Kinase Overexpression. *Cancer Res*. 2008; 68: 9809.
25. Manabe A, Coustan-Smith E, Kumagai M, Behm FG, Raimondi SC, Pui CH, Campana D. Interleukin-4 Induces Programed Cell Death (Apoptosis) in cases of High-Risk Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood* 1994; 83: 1731-1737.
26. Mullen CA, Campbell A, Tkachenko O, Jansson J, Hsu YC. Evidence of B cell immune responses to acute lymphoblastic leukemia in murine allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients treated with donor lymphocyte infusion and/or vaccination. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010 Sep 7 (en prensa).

27. Ozdilli K, Oguz FS, Anak S, Kekik C, Carin M, Gedikoglu G. The frequency of HLA class I and II alleles in Turkish childhood acute leukaemia patients. *J Int Med Res.* 2010 Sep-Oct;38(5):1835-44.
28. Savage NM, Kota V, Manaloor EJ, Kulharya AS, Pierini V, Mecucci C, Ustun C. Acute leukemia with PICALM-MLLT10 fusion gene: diagnostic and treatment struggle. *Cancer Genet Cytogenet.* 2010; 202(2):129-132.
29. Sherborne AL, Houlston RS. What are genome-wide association studies telling us about B-cell tumor development? *Oncotarget.* 2010 Sep;1(5):367-72.
30. Simone JV, Bosl GJ, Glatstein E, Longo DL, Ozols RF, Steele G. Year Book of oncology 1995. Mosby-Year Book, 1995 Edition, 297-362.
31. Stein JH, Hutton JJ, Kohler PO, O'Rourke RA, Reynolds HY, Samuels MA, Sande MA, Trier JS, Zvaifler NJ. *Internal Medicine.* Mosby-Year Book, Inc. 1994, 69-952.
32. Steward CG, Goulden NJ, Katz F, Baines D, Martin PG, Langlands K, Potter MN, Chessels JM, Oakhill A. A polymerase chain reaction study of the stability of Ig heavy-chain and T-cell receptor  $\delta$  gene rearrangements between presentation and relapse of childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1994; 83: 1355-1362.
33. Sun SC, Harhaj EW, Xiao G, Good L. Activation of I-kappaB kinase by the HTLV type 1 Tax protein: mechanistic insights into the adaptor function of IKKgamma. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2000; 16(16):1591-1596.
34. Sun SC, Yamaoka S. Activation of NF-kappaB by HTLV-I and implications for cell transformation. *Oncogene.* 2005; 24(39):5952-5964.
35. Taub JW, Ge Y. The Prenatal Origin of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Leuk & Lymph.* 2004; 45 (1): 19-25.
36. Vilimas T, Mascarenhas J, Palomero T, Mandal M, Buonamici S, Meng F, Thompson B, Spaulding C, Macaroun S, Alegre ML, Kee BL, Ferrando A, Miele L, Aifantis I. Targeting the NF-kappaB signaling pathway in Notch1-induced T-cell leukemia. *Nat Med.* 2007; 13(1):70-77.

37.Yuan ZH, Liu Q, Zhang Y, Liu HX, Zhao J, Zhu P. CYP2B6 gene single nucleotide polymorphisms and leukemia susceptibility. Ann Hematol. 2010 Sep 28. (publicado en internet).