

La hemato-oncología molecular y las nuevas estrategias terapéuticas específicas en leucemia

Manuel Martínez-Mancilla,^{a,b} Gildardo Zafra-de la Rosa,^b Eduardo Reynoso-Gómez,^b
Horacio Astudillo-de la Vega,^c María de Jesús Nambo-Lucio,^c Luis Benítez-Briebesca,^c
Armando Martínez-Avalos,^d Roberto Rivera-Luna,^d Patricio Gariglio^{a*}

^aDepartamento de Genética y Biología Molecular, CINVESTAV-IPN, México D. F.

^bPabellón de Oncología Sala 19, Hospital Español, México D. F.

^cHospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México D. F.

^dDepartamento de Oncología, Instituto Nacional de Pediatría, SSA, México D. F., México

Recibido en su versión modificada: 13 de agosto de 2005

Aceptado: 25 de octubre de 2005

RESUMEN

En una elevada proporción de casos de leucemias de nuevo diagnóstico se detectan genes de fusión, los cuales frecuentemente presentan secuencias codificadoras de factores de transcripción. Se ha demostrado que algunas proteínas de fusión como Pml-Rar α inhiben la diferenciación celular, al reclutar complejos correpresores nucleares que mantienen una actividad de histona desacetilasa (HDAC en inglés) sobre promotores de genes específicos importantes en diferenciación de una determinada estirpe celular. Esta represión transcripcional dependiente de HDAC representa una vía común en el desarrollo de leucemia y por lo tanto puede ser un blanco importante de nuevos compuestos terapéuticos.

Por otro lado, la oncoproteína Bcr-Abl muestra una alta actividad de tirosina-cinasa, la cual desregula vías de transducción de señales involucradas normalmente en proliferación y apoptosis. Esta actividad aberrante puede ser afectada por inhibidores de transducción de señales (STIs, del inglés), los cuales bloquean la ruta oncogénica y representan un gran avance terapéutico.

En esta revisión analizamos con cierto detalle lo que se conoce en la actualidad sobre la represión transcripcional reversible controlada por HDAC y sobre la transducción de señales aumentada por Bcr-Abl. Adicionalmente indicamos que la aplicación de fármacos de bajo peso molecular para el control de las leucemias humanas, basada en el conocimiento de los mecanismos moleculares de la enfermedad, lleva a una remisión clínica, con bajo riesgo de efectos tóxicos secundarios, lo cual está aumentando la mejoría de una alta proporción de los enfermos.

Palabras clave:

HDAC, factores de transcripción quiméricos, terapia molecular

SUMMARY

Leukemia-associated fusion genes are detected in a significant proportion of newly diagnosed cases, where genes encoding transcription factors are usually found at one of the breakpoints. Activated fusion proteins such as Pml-Rar α , have been shown to inhibit cellular differentiation by recruitment of nuclear corepressor complexes, which maintain local histone deacetylase (HDAC) in a variety of hematologic lineage-specific gene promoters. This HDAC-dependent transcriptional repression appears as a common pathway in the development of leukemia and could constitute an important target for new therapeutic agents.

Alternatively, the Bcr-Abl oncoprotein shows high tyrosine kinase activity and deregulates signal transduction pathways normally involved in both apoptosis and proliferation. This aberrant activity is affected by signal transduction inhibitors (STIs), which block or prevent the oncogenic pathway.

In this review, we shed some light on our understanding of both the reversible transcriptional repression controlled by HDAC and the deregulated Bcr-Abl signal transduction pathway. In addition, the administration of low molecular weight drugs for human leukemia treatment based on this knowledge brings about a significant long-term clinical remission and an acceptable risk of toxic effects that should increase the cure rate.

Key words:

HDAC, chimeric transcription factors, molecular therapy

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Patricio Gariglio, Departamento de Genética y Biología Molecular, CINVESTAV-IPN. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2508, Col. San Pedro Zacatenco, México D. F. C. P. 07360. Tel. 5061 3337, Fax. 5061 3931. Correo electrónico: vidal@cinvestav.mx

Introducción

En los últimos tres años se han logrado importantes avances en la comprensión de los mecanismos moleculares relacionados con una hematopoyesis normal y con el desarrollo de neoplasias hematológicas.¹ Las alteraciones moleculares en genes que controlan los programas de diferenciación celular, como son los protooncogenes y genes supresores de tumor, derivan en la pérdida del control de la homeostasis en el tejido hematopoyético y promueven la aparición de una leucemia.² En la actualidad aproximadamente 50 diferentes alteraciones cromosómicas han sido descritas en leucemia aguda.³ El mecanismo de daño más frecuente es la translocación cromosómica balanceada; dicha alteración citogenética a nivel molecular ocurre básicamente a través de dos mecanismos. Uno de ellos involucra la fusión de marcos de lectura de dos distintos genes, en donde el extremo 5' pertenece a un gen y el extremo 3' a otro gen; el rearrreglo molecular origina un gen de fusión cuyo producto es una proteína quimérica con actividad oncogénica que interfiere con la diferenciación terminal. En el segundo mecanismo, todo el marco de lectura de un gen queda bajo el control de un promotor externo que induce la expresión aberrante del protooncogen.³ Estas translocaciones cromosómicas incluyen como blancos moleculares, en la mayoría de los casos, a genes cuyos productos son factores de transcripción que controlan mecanismos de diferenciación terminal en precursores celulares del tejido hematopoyético. Dichos factores de transcripción quiméricos, generados por una translocación balanceada interfieren en el desarrollo de una hematopoyesis normal; además, ellos son un elemento clave para el diseño de esquemas de tratamiento alternativo.⁴

No obstante, los genes de fusión son necesarios pero no suficientes, para el desarrollo de una leucemia.⁴ Existen alteraciones moleculares adicionales, tales como las mutaciones puntuales, que dañan los mecanismos de proliferación, apoptosis y diferenciación celular en precursores hematológicos.⁵ Otras alteraciones adicionales, que no afectan la información contenida en la secuencia nucleotídica del DNA, se relacionan con eventos epigenéticos, que en general conducen a una hipermetilación del DNA o acetilación aberrante de histonas, afectando la disponibilidad transcripcional de protooncogenes y genes supresores.⁶

Por otra parte, mutaciones en receptores con actividad de tirosina-cinasa, que participan en las vías de transducción de señales que controlan la proliferación y supervivencia celular, son elementos clave en la progresión de una leucemia.⁷ Recientemente, se ha determinado que el receptor FLT3, es

un candidato muy atractivo para nuevas estrategias de tratamiento, debido a que se encuentra activado en una proporción significativa en casos de leucemia aguda,⁸ y está asociado con un mal pronóstico para los pacientes portadores de una mutación en FLT3.⁹

Afortunadamente, los factores de transcripción quiméricos asociados a leucemia, proporcionan un blanco molecular para el desarrollo de nuevas estrategias específicas de tratamiento.¹⁰ Este es el caso de Gleevec (STI571), un inhibidor específico de la actividad tirosina-cinasa de la proteína oncogénica Bcr-Abl, que ha tenido buenos resultados clínicos en la obtención de una remisión prolongada en pacientes con leucemia positivos al cromosoma Philadelphia (Ph), en combinación con quimioterapia.¹¹ Por otro lado, un compuesto químico que ha probado su eficiencia en tratamiento de una leucemia específica, es el ácido retinoico (ATRA, all-trans-retinoic acid) que administrado con quimioterapia, ha permitido la remisión hematológica a largo plazo.^{12,13}

En la presente revisión, exponemos dos ejemplos de gran relevancia para el tratamiento de pacientes con leucemia: la leucemia promielocítica aguda (APL en inglés) y la leucemia mieloide crónica (CML en inglés). Las alteraciones moleculares descritas en estas leucemias han llevado al desarrollo exitoso de terapias dirigidas contra blancos específicos (Cuadro I), lo que ha permitido un manejo clínico más efectivo de los distintos grupos de pacientes.

Remodelación terapéutica de la cromatina

La regulación transcripcional de la expresión génica se encuentra en el centro de casi todos los procesos homeostáticos fundamentales del tejido hematológico, incluyendo el control de la diferenciación celular terminal.¹⁴ Los mediadores primarios a este nivel de regulación de la expresión génica son los factores de transcripción, los cuales son proteínas nucleares que reconocen secuencias específicas en regiones promotoras del ADN y regulan la transcripción de genes blanco, frecuentemente mediante modificaciones estructurales de las histonas (Figura 1). Así, no es sorprendente que la desregulación de la función de los factores de transcripción es con frecuencia un evento molecular inicial en el desarrollo de leucemias. Los genes que codifican para factores de transcripción, son activados y actúan como oncogenes dominantes que se originan a partir de alteraciones cromosómicas específicas para una enfermedad. Respecto a esto, es importante señalar que las translocaciones constituyen el daño citogenético más común encontrado en leucemia.^{3,4}

Cuadro I. Implicaciones terapéuticas de proteínas oncogénicas en leucemia

Proteína oncogénica	Inhibidor	Mecanismo	Enfermedad
Pml-Rar α	ATRA	Disocia la unión con N-CoR	Leucemia promielocítica aguda
Bcr-Abl	STI571 (Gleevec, Imatibina)	Bloquea los sitios de unión a ATP	Leucemia positivo al cromosoma Philadelphia
Ras-activado	SCH66336	Inhibe la actividad enzimática de la farnesil-transferasa	Leucemia aguda y crónica
FTL3 - activado	CEP-701	Inhibe la actividad tirosina-cinasa	Leucemia aguda

La APL pertenece al subtipo morfológico M3 de la leucemia mieloblástica aguda (AML en inglés), y se asocia con translocaciones cromosómicas que involucran al receptor alfa para el ácido retinoico ($\text{rar}\alpha$) sobre el cromosoma 17.^{15,16} La proteína $\text{Rar}\alpha$ es un factor de transcripción dependiente de ligando (RA o ATRA) que generalmente bloquea la expresión de genes en ausencia de dichos ligandos.¹⁷ En la APL humana hay un bloqueo en la diferenciación normal de los granulocitos, el cual origina una acumulación letal de promielocitos inmaduros.¹⁸⁻²⁰

En la gran mayoría de los casos de APL el gen $\text{rar}\alpha$ se fusiona con el gen pml .²¹ Las proteínas de fusión inhiben en forma dominante la actividad transcripcional de $\text{Rar}\alpha$. En ausencia de ligando $\text{Rar}\alpha$ se une a correpresores tales como N-CoR/Smrt y la adición de RA o de ATRA resulta en la liberación de los correpresores (desacetilasas de histonas o HDAC, del inglés) y asociación con coactivadores transcripcionales (acetil-transferasas de histonas o HAT, del inglés).²² La proteína de fusión Pml-Rar α presenta gran afinidad por N-CoR y se necesitan altas concentraciones de RA para disociar a los correpresores de Pml-Rar α , comparado con $\text{Rar}\alpha$.²³⁻²⁵ En una pequeña fracción de casos de APL el gen $\text{rar}\alpha$ se fusiona con el gen plzf .²¹ Las leucemias asociadas a Plzf-Rar α son insensibles a RA o ATRA, e interesadamente, la unión de Plzf-Rar α a los correpresores, es también insensible a concentraciones muy altas de dichos retinoides.²⁶⁻³¹

En general, los pacientes con APL presentan alta recuperación clínica en respuesta a terapia de diferenciación con ATRA, lo cual induce diferenciación terminal de los blastos sin efectos citotóxicos colaterales. Al combinar la quimioterapia con ATRA se obtienen los mejores resultados con una mejoría de aproximadamente 70% de los pacientes.³² De esta forma, el tratamiento de la APL con retinoides constituye la primera demostración dramática de que la terapia de diferenciación es muy eficiente en una enfermedad maligna avanzada.

Sin embargo, se han identificado mutaciones puntuales en el dominio de unión al ligando del gen de fusión $\text{pml-rar}\alpha$ en subclonas de APL resistentes al RA, así como en pacientes con recaída, lo cual implica que se deben seguir buscando estrategias terapéuticas en la pequeña fracción de pacientes con APL resistentes al RA o al ATRA.³³ La combinación de quimioterapia y de terapia de diferenciación lleva a niveles mayores de apoptosis, disminución de la resistencia a los compuestos citotóxicos que presentan las células cancerosas e inducción de genes blanco específicos, todo lo cual debería mejorar los procedimientos actuales de tratamiento.³⁴ Las mutaciones en la proteína de fusión Pml-Rar α de los pacientes indican gran variación a nivel de la unión al ligando, a los correguladores y de la activación transcripcional, lo que sugiere que es importante conocer los mecanismos moleculares responsables de la recaída de un paciente con el fin de diseñar mejores métodos terapéuticos.³⁵

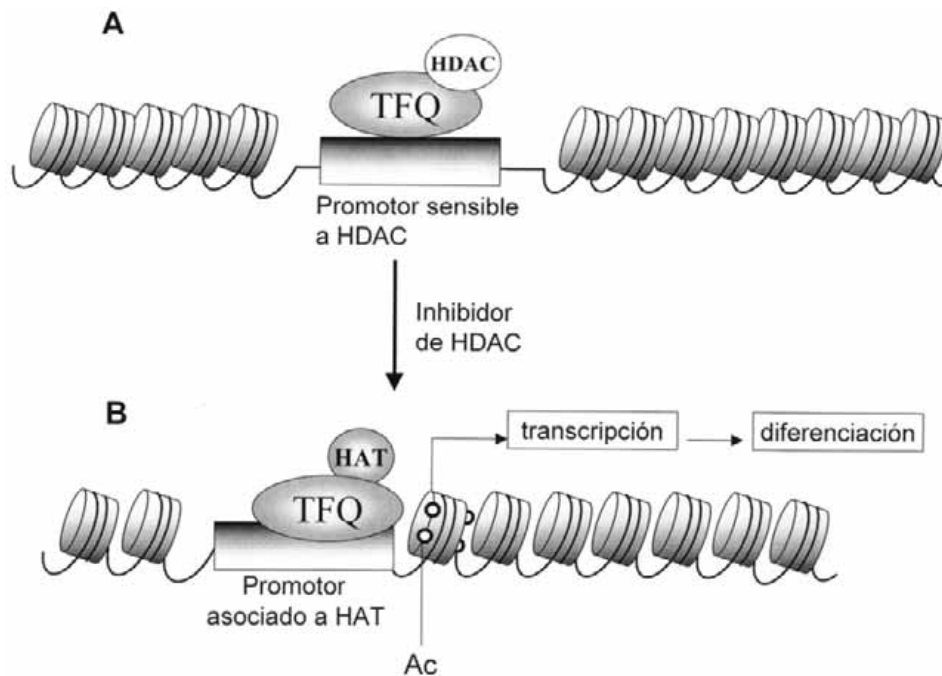


Figura 1. Factores oncogénicos en leucemia. Las translocaciones cromosómicas son frecuentes en leucemia e involucran a genes cuyos productos son factores de transcripción (TF) que son clave en el mecanismo de diferenciación terminal en células hemáticas. (A) Los TF quiméricos (TFQ) generados por estos rearrreglos moleculares, retienen los dominios de unión al ADN y los dominios de interacción a complejos con actividad desacetilasa de histonas (HDAC). La remoción de grupos acetilo (Ac) por HDAC, induce un cambio en la estructura de la cromatina que bloquea el inicio de la transcripción. (B) La actividad represora de los TFQ es reversible a través de inhibidores de HDAC ó bien por ATRA. En presencia de estos compuestos TFQ reemplaza HDAC por un complejo coactivador con actividad acetiltransferasa (HAT). La acetilación de las histonas por HAT permite un relajamiento de la cromatina y la expresión de los genes que participan en la diferenciación terminal.

Es interesante que, tanto en los modelos de APL *in vitro* como en animales *in vivo*, se demuestre la eficacia de una combinación de RA con inhibidores de HDAC, tales como los butiratos, para inducir una efectiva diferenciación y una mejor respuesta terapéutica.³⁶ La resistencia al ATRA en células derivadas de APL podría revertirse mediante un cotratamiento con el inhibidor de HDAC, fenil butirato de sodio. Aún mejor, el privaloximetil butirato (AN-9) es 10 veces más potente que otros butiratos *in vitro* y constituye un excelente candidato para revertir la resistencia a la quimioterapia que limita el tratamiento de algunos pacientes.³⁶ Otra ventaja del AN-9 es su habilidad para sinergizar con doxorubicina o con daunorubicina, usadas comúnmente en el tratamiento de la leucemia. El butirato que se libera por hidrólisis del AN-9, inhibe las HDACs, lo cual lleva a la hiperacetilación de histonas y la relajación de la cromatina (Figura 1), con lo que aumenta la accesibilidad del ADN para la formación de los aductos doxorubicina-ADN. La acción sinérgica del AN-9 con la doxorubicina permitiría disminuir las dosis de estos compuestos en el tratamiento, mejorando fuertemente el índice terapéutico.³⁶

La acetilación aberrante de histonas también resulta de rearrreglos cromosómicos asociados a otros grupos de AML (la APL representa sólo el 5-10% de las AMLs). Por ejemplo, en la t(8;21) del subtipo morfológico M2 de la AML, una

asociación estable entre la proteína de fusión Aml1/Eto y el complejo nuclear HDAC es crucial para reprimir la transcripción de los genes blanco de Aml1 y de esta forma bloquear la diferenciación de precursores hematopoyéticos.³⁷ El tratamiento basado en la inhibición de HDACs restablece la vía de señalización del ácido retinoico y la diferenciación de los blastos en pacientes con AML, positivos para el rearrreglo aml1/eto.³⁴ De acuerdo con esto, se demostró que Aml1/Eto, la proteína de fusión más comúnmente asociada con AML, es un represor dependiente de HDAC, de la vía de señalización de RA.³⁸ Esto es particularmente importante ya que esta proteína de fusión no responde al RA, pero en base a lo que hemos mencionado, el AN-9 podría perfectamente reactivar dicha vía de señalización. Estos hallazgos relacionan alteraciones de la vía del RA a la leucemia mieloide y señalan el potencial de una terapia basada en transcripción/diferenciación en AML. En conclusión, la asociación aberrante a los complejos de HDAC es crucial para la actividad de las proteínas de fusión relacionadas a la AML, tales como Pml/Rar α , Plzf/Rar α y Aml1/Eto, sugiriendo que modificaciones en la estructura de la cromatina en los promotores de genes específicos de la estirpe mieloide representan un mecanismo central en la génesis de estas leucemias.³⁹

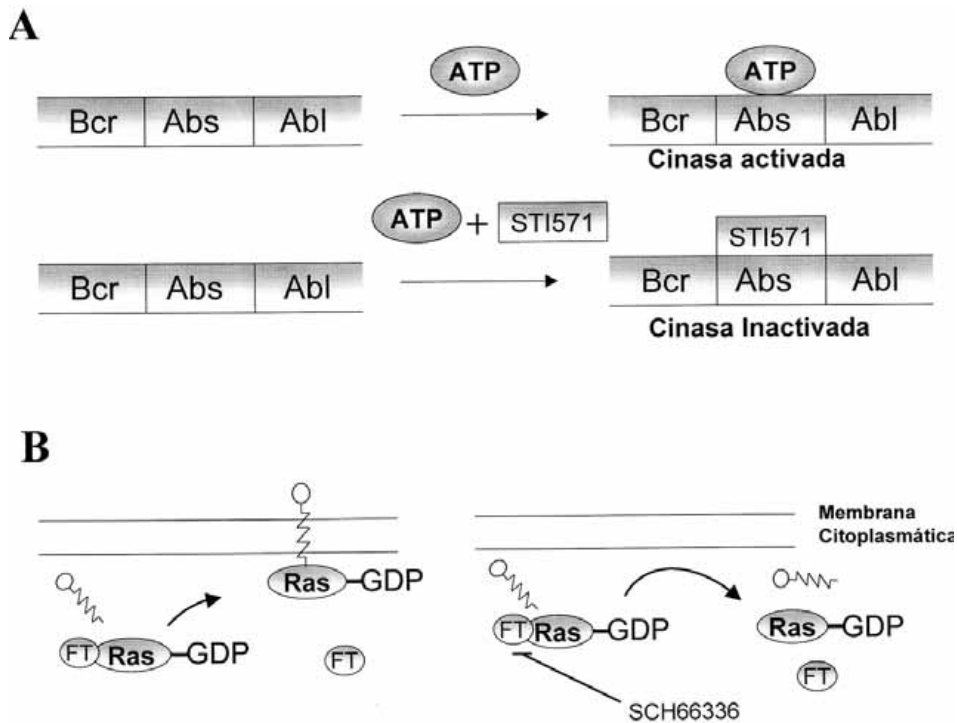


Figura 2. Inhibidores de cinasas activadas en leucemia. Entre los inhibidores más comunes de la transducción de señales (STI), encontramos a los análogos de adenosín trifosfato (ATP), los cuales tienen una alta afinidad por los sitios de unión a ATP (Abs) presentes en diferentes cinasas que participan en la transducción de señales. (A). La introducción de STI571 como inhibidor específico de la actividad cinasa de la proteína Bcr-Abl, representa la nueva estrategia para el manejo de los pacientes con leucemia crónica. (B). Modificación estructural en la proteína Ras mediante la actividad enzimática de la farnesil-transferasa (FT), es crucial para la localización de Ras; se ha demostrado que la proteína Ras es funcional sólo unida a la membrana citoplasmática. La actividad FT se ha logrado inhibir con el compuesto SCH66336, lo cual bloquea la vía de señalización dependiente de Ras al evitar la fijación del grupo farnesil. El uso futuro de STI571 combinado con otros agentes antileucémicos como SCH66336, constituye la mejor esperanza para una prolongación de la sobrevivencia de los pacientes con leucemia.

Vías de señalización desreguladas y sus implicaciones terapéuticas

Hace más de 30 años se estableció que la translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22 se asocia con una neoplasia humana caracterizada por un síndrome mieloide-proliferativo.⁴⁰ En el ámbito molecular, la región 5' del gen *bcr* del cromosoma 22 se fusiona con la región 3' del gen *abl* ubicado en el cromosoma 9; el gen híbrido genera una proteína de fusión Bcr-Abl con alta actividad tirosina-cinasa, que es un evento molecular crítico en el desarrollo de algunas leucemias crónicas y agudas.⁴¹

Clínicamente, la CML es una enfermedad maligna de células madre hematopoyéticas que se desarrolla en tres fases diferentes: crónica o estable, acelerada y crisis blástica. La fase crónica se caracteriza por un elevado número de granulocitos diferenciados. Aproximadamente en 3-5 años la enfermedad se transforma, a través de una fase acelerada, en una fase blástica fatal.^{42,43} La elevada actividad de la oncoproteína Bcr-Abl es responsable de la CML.⁴⁴ La progresión de la enfermedad es causada por la acumulación de anomalías moleculares adicionales, que no permiten la diferenciación de la clona leucémica.⁴⁵ Entre las posibilidades de tratamiento para la CML tenemos el trasplante de células madre, la hidroxiurea o el interferón α (IFN α), siendo el trasplante de células madre la única terapia curativa para la CML. Sin embargo, dado que la edad promedio de los pacientes con CML es de más de 50 años y que es difícil encontrar donadores en todos los casos, esta opción de tratamiento está bastante limitada. Así, menos de 20% de los pacientes con CML se recuperan con las mencionadas opciones de tratamiento.⁴⁶

Se ha demostrado que el inhibidor de cinasas STI571, al combinarse con los sitios de unión de la cinasa quimérica al ATP, inhibe en forma específica la proliferación de líneas celulares que presentan la tirosina-cinasa Bcr-Abl (Figura 2A), permitiendo el crecimiento de progenitores hematopoyéticos normales en pacientes con CML,^{47,48} lo que explica su efecto antileucémico.⁴⁹ Luego se probó dicho compuesto en un estudio fase I, con pacientes en fase crónica de la CML que no respondieron a la terapia con IFN α ⁵⁰ y se observó que 53 pacientes de 54 (98%) alcanzaron una respuesta hematológica completa. El éxito de la fase I llevó rápidamente a estudios fase II en los cuales participaron 27 Centros Hematológicos de 6 países durante 6-9 meses.⁵¹⁻⁵³ El resultado confirmó las observaciones anteriores y sirvió de base para que este medicamento fuera aprobado por la FDA (Food and Drug Administration). De esta manera, el STI571 constituye el primer ejemplo exitoso de un STI diseñado en forma molecular (Figura 2A), el cual representa un beneficio real para el paciente leucémico.⁴⁹

La administración oral de 400 mg de STI571 diariamente, es el protocolo actual para el manejo de los casos de reciente diagnóstico de CML. 74% de estos pacientes obtienen una remisión clínica sin evidencia citogenética de la t(9;22); sin embargo, menos de 5% de los casos son negativos para el transcrito de fusión *bcr-abl* detectado por RT-PCR en el análisis de enfermedad residual. Si bien la recaída clínica en los pacientes es poco frecuente durante el primer año de tratamiento con STI571, la presencia del transcrito *bcr-abl* en

la mayoría de los pacientes es evidencia de que la enfermedad continúa y cabe la posibilidad de una recaída.⁴⁴

Es posible que se pueda obtener una eficacia mayor para el STI571 si este inhibidor de cinasas se aplica combinado con quimioterapia o con otras terapias basadas en blancos moleculares. Por ejemplo, en el año 2002 se demostró que el inhibidor de la enzima farnesil transferasa (FT) SCH66336 (Figura 2B) bloquea la proliferación de líneas celulares positivas para Bcr-Abl resistentes al STI571 derivadas de pacientes CML que ya no respondían al STI.⁵⁴ Como sabemos, la enzima FT cataliza la unión de la proteína Ras a la membrana plasmática activando a la proteína Ras (Figura 2B) y es posible que esto contribuya al éxito de la terapia. Aún más, el SCH66336 aumenta la apoptosis inducida por el STI571 en células sensibles y, en pacientes con resistencia al STI571 que presentaban mutación o amplificación de *bcr-abl*, cooperó con el STI para inducir apoptosis. Estos resultados sugieren el uso combinado de STI571 y SCH66336 en pruebas clínicas en pacientes con CML y sugieren también que la terapia de combinación puede ser efectiva en pacientes que presentan resistencia al STI571.⁵⁴ De gran importancia clínica, fue encontrar que ZOL (bisfosfonato zolendronato) es un potente compuesto antileucémico que aumenta en forma sinérgica la actividad del STI571.⁵⁵ y que el inhibidor proteosómico bortezomib interactúa en forma sinérgica con inhibidores de HDAC para inducir apoptosis en células leucémicas humanas Bcr-Abl positivas resistentes al STI571.⁵⁶

Conclusiones

El mayor conocimiento de vías claves de regulación de la homeostasis del tejido hematopoyético, ha permitido identificar blancos moleculares para el desarrollo de compuestos químicos inductores de la diferenciación terminal o de inhibidores de oncoproteínas (Figura 1 y 2, respectivamente). En los últimos años se han hecho avances importantes relacionados con terapias específicas en leucemia. El diseño de compuestos dirigidos contra defectos genéticos de fácil identificación en el inicio de la enfermedad, tiene profundas implicaciones en el tratamiento de pacientes con leucemia, los cuales son refractarios a la quimioterapia convencional. De gran importancia ha sido encontrar terapias basadas en la inhibición específica de sitios catalíticos de proteínas quiméricas o el bloqueo de la actividad desacetilasa de histonas (HDAC), la cual inhibe la expresión de genes que participan en la diferenciación terminal de precursores hematológicos. Ambos mecanismos son altamente efectivos y en combinación con la quimioterapia han permitido prolongar la remisión de la leucemia en los pacientes.

Agradecimientos

Deseamos agradecer al CONACYT (proyecto No 38463-M) su apoyo durante la preparación del manuscrito. Además, agradecemos la asistencia técnica de Alberto Marroquín, Rodolfo Ocádiz, Elizabeth Alvarez, Enrique García y Gabriela Mora.

Referencias

1. **Grat F.** Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood* 2002;99:3089-3101.
2. **Hoffman B, Leiberherrmann D.** Hematopoiesis. *Oncogene* 2002;21:3260-3261.
3. **Look A.** Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science* 1997;278:1059-1064.
4. **Rabbits T, Stocks M.** Chromosomal translocations products engender new intracellular therapeutic technologies. *Nat Med* 2003;9:383-386.
5. **Leroy H, Roumier C, Huyghe P, Biggio V, Fenaux P, Preudhomme C.** CEBPA point mutations in hematological malignancies. *Leukemia* 2005;19:329-334.
6. **Lund A, Van Lohuizen M.** Epigenetics and cancer. *Genes Dev* 2004;18:2315-2335.
7. **Krause D, Van Etten R.** Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *N Engl J Med* 2005;353:172-187.
8. **Carroll W.** On target for advances in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2005;105:438-439.
9. **Callens C, Chevret S, Cayuela J, Cassinat B, Raffoux E, de Botton S, et al.** Prognostic implication of FLT3 and Ras gene mutations in patients with acute promyelocytic leukemia (APL): a retrospective study from the European APL Group. *Leukemia* 2005;19:1153-1160.
10. **Melnick A.** Predicting the effect of transcription therapy in hematologic malignancies. *Leukemia* 2005;19:1109-1117.
11. **Towatari M, Yanada M, Usui N, Takeuchi J, Sugiura I, Takeuchi M, et al.** Combination of intensive chemotherapy and imatinib can rapidly induce high-quality complete remission for a majority of patients with newly diagnosed BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2004;104:3507-3512.
12. **Okuno M, Kojima S, Matsushima-Nishiwaki R, Tsurumi H, Muto Y, Friedman SL, et al.** Retinoids in cancer chemoprevention. *Curr Cancer Drug Targets* 2004;4:285-298.
13. **Testi A, Biondi A, Coco F, Moleti M, Giona F, Vignetti M, et al.** GIMEMA-AIEOPAIDA protocol for the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL) in children. *Blood* 2005;106:447-453.
14. **Speck N, Stacy T, Wang Q, et al.** Core-binding factor: a central player in hematopoiesis and leukemia. *Cancer Res* 1999;59:1789-1793.
15. **Rowley J, Golomb H, Dougherty C.** 15/17 translocation a consistent chromosomal change in acute promyelocytic. *Lancet* 1977;1:549-550.
16. **de The H, Chomienne C, Lanotte M, Degos L, Dejean A.** The t(15;17) translocations of acute promyelocytic leukaemia fuses the retinoic acid receptor alpha gene to a novel transcribed locus. *Nature* 1990;347:558-561.
17. **Collins S.** The role of retinoids and retinoic acid receptors in normal hematopoiesis. *Leukemia* 2002;16:1896-1905.
18. **Kakizuka A, Miller W, Umesono K, et al.** Chromosomal translocation t(15;17) in human acute promyelocytic leukemia fuses RAR alpha with a novel putative transcription factor. *Cell* 1991;66:663-674.
19. **Kastner P, Perez A, Lutz Y, et al.** Structure, localization and transcriptional properties of two classes of retinoic acid receptor alpha fusion proteins in acute promyelocytic leukemia (APL): structural similarities with a new family of oncoproteins. *Embo J* 1992;11:629-642.
20. **Pandolfi P, Alcalay M, Longo L, et al.** Molecular genetics of the t(15;17) of acute promyelocytic leukemia (APL). *Leukemia* 1992; 6 (Suppl 3): 120S-122S.
21. **Zelent A, Guidez F, Melnick A, Waxman S, Licht J.** Translocations of the RARalpha gene in acute promyelocytic leukemia. *Oncogene* 2001;20:7186-7203.
22. **Melnick A, Licht J.** Deconstructing a disease: RARalpha, its fusion partners, and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1999;93:3167-3215.
23. **Huang M, Ye Y, Chen S, et al.** Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1988;72:567-572.
24. **Lin R, Nagy L, Inoue S, et al.** Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia. *Nature* 1998;391:811-814.
25. **Grignani F, De Matteis S, Nervi C, et al.** Fusion proteins of the retinoic acid receptor- α recruit histone deacetylase in promyelocytic leukaemia. *Nature* 1998;391:815-818.
26. **Guidez F, Huang W, Tong J, et al.** Poor response to all-trans retinoic acid therapy in a t(11;17) PLZF/RARalpha patient. *Leukemia* 1994;8:312-317.
27. **Chen Z, Guidez F, Rousselot P, et al.** PLZF-RARalpha fusion proteins generated from the variant t(11;17)(q23;q21) translocation in acute promyelocytic leukemia inhibit ligand-dependent transactivation of wild-type retinoic acid receptors. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994;91:1178-1182.
28. **Licht J, Shaknovitch R, English M, et al.** Reduced and altered DNA-binding and transcriptional properties of the PLZF-retinoic acid receptor- α chimera generated in t(11;17)-associated acute promyelocytic leukemia. *Oncogene* 1996;12:323-336.
29. **Licht J, Chomienne C, Goy A, et al.** Clinical and molecular characterization of a rare syndrome of acute promyelocytic leukemia associated with translocation (11;17). *Blood* 1995;85:1083-1094.
30. **He L-Z, Guidez F, Tribioli C, et al.** Distinct interactions of PML-RAR α and PLZF-RAR α with co-repressors determine differential responses to RA in APL. *Nature Genet* 1998;18:126-135.
31. **Guidez F, Ivins S, Zhu J, Soderstrom M, Waxman S, Zelent A.** Reduced retinoic acid-sensitivities of nuclear receptor co-repressor binding to PML- and PLZF-RARalpha underlie molecular pathogenesis and treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1998;91:2634-2642.
32. **Tallman M, Andersen J, Schiffer C, et al.** All-trans-retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med* 1997;337:1021-1028.
33. **Imaizumi M, Suzuki H, Yoshinari M, et al.** Mutations in the E-domain of RAR α portion of the PML/RAR α chimeric gen may confer clinical resistance to all-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1998;92:374-382.
34. **Miller W, Waxman S.** Differentiation induction as treatment for hematologic malignancies. *Oncogene* 2002;21:3496-3506.
35. **Cote S, Rosenauer A, Bianchini A, et al.** Response to histone deacetylase inhibition of novel PML/RAR α mutants detected in retinoic acid-resistant APL cells. *Blood* 2002;100:2586-2596.
36. **Batova A, Shao L, Diccianni M, et al.** The histone deacetylase inhibitor AN-9 has selective toxicity to acute leukemia and drug-resistant primary leukemia and cancer cell lines. *Blood* 2002;100:3319-3324.
37. **Lutterbach B, Westendorf J, Linggi B, et al.** ETO a target of t(8;21) in acute leukemia, interacts with the N-CoR and mSin3 corepressors. *Mol Cell Biol* 1998;18:7176-7184.
38. **Ferrera F, Fazi F, Bianchini A, et al.** Histone deacetylase-targeted treatment restores retinoic acid signalling and differentiation in acute myeloid leukemia. *Cancer Res* 2001;61:2-7.
39. **Redner R, Wang J, Liu J.** Chromatin remodeling and leukemia: new therapeutic paradigms. *Blood* 2001;94:417-428.
40. **Rowley J.** A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and giemsa staining. *Nature* 1973;243:290-293.
41. **Deininger M, Goldman J, Melo J.** The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000;96:3343-3356.
42. **Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, Kantarjian H.** Chronic myelogenous leukemia: biology and therapy. *Ann Intern Med* 1999;131:207-219.
43. **Sawyers C.** Chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;340:1330-1340.
44. **Druker B.** Can we cure CML. *Blood* 2004;103:2865-2866.
45. **Sht A, Jahagirdar B, Verfaille C.** Chronic myelogenous leukemia: mechanisms underlying disease progression. *Leukemia* 2002;16:1402-1411.
46. **Goldman J, Druker B.** Chronic myeloid leukemia: current treatment options. *Blood* 2001;98:2039-2042.
47. **Druker B, Tamura S, Buchdunger E, et al.** Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nature Med* 1996;2:561-566.
48. **le Coutre P, Mologni L, Cleris L, et al.** *In vivo* eradication of human BCR/ABL-positive leukemia cells with an ABL kinase inhibitor. *J Nat Cancer Inst* 1999;91:163-168.
49. **Ross D, Hughert T.** Cancer treatment with kinase inhibitors: what have we learn from imatinib. *Brith J Cancer* 2004;90:12-19.
50. **Druker B, Talpaz M, Resta D, et al.** Efficacy and safety of a specific inhibitor of the Bcr-Abl tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2001;344:1031-1037.
51. **Ottmann O, Druker B, Sawyers C, et al.** A phase 2 study of imatinib in patients with relapsed or refractory Philadelphia chromosome-positive acute lymphoid leukemias. *Blood* 2002; 100:1965-1971.
52. **Sawyers C, Hochhaus A, Feldman E, et al.** Imatinib induces hematologic and cytogenetic response in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study. *Blood* 2002;99:3530-3539.
53. **Talpaz M, Silver R, Druker B, et al.** Imatinib induces durable hematologic and cytogenetic response in patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia: results of a phase 2 study. *Blood* 2002;99:1928-1937.
54. **Hoover R, Mahon F, Melo J, Daley G.** Overcoming STI571 resistance with the farnesyl transferase inhibitor SCH66336. *Blood* 2002;100:1068-1071.
55. **Kuroda J, Kimura S, Segawa H, et al.** The third-generation bisphosphonate zoledronate synergistically augments the anti-Ph+ leukemia activity of imatinib mesylate. *Blood* 2003;102:2229-2235.
56. **Yu C, Rahmani M, Conrad D, Subler M, Dent P, Grant S.** The proteasome inhibitor bortezomib interacts synergistically with histone deacetylase inhibitors to induce apoptosis in Bcr-Abl + cells sensitive and resistant to STI571. *Blood* 2003;102:3765-3774.