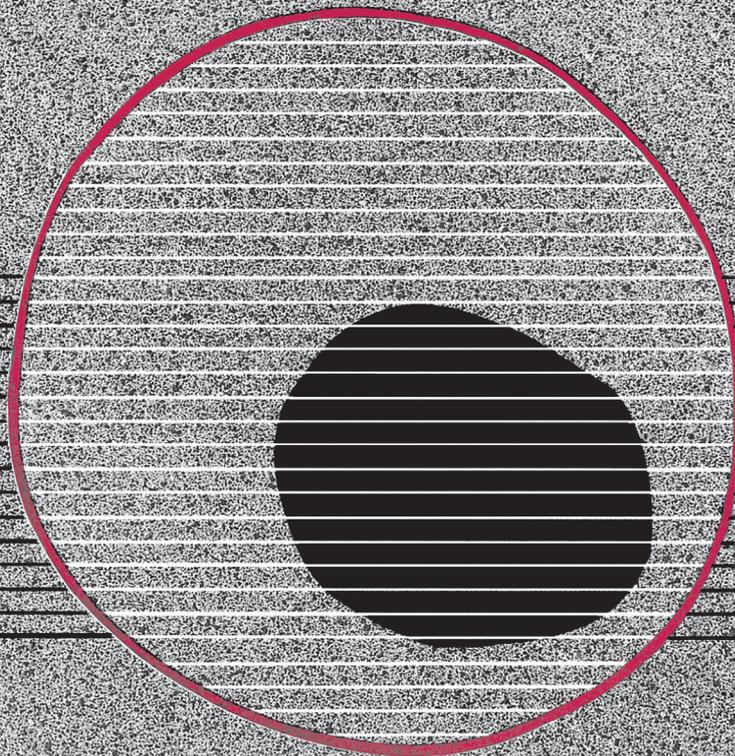


revisiones en

CANCER

LINFOMAS NO HODGKIN I

VOL. 16, NÚM. 5, 2002



revisiones en

CANCER

SUMARIO

VOL. 16

NÚM. 5

Aplicaciones de las nuevas técnicas de la biología molecular al estudio de los linfomas A. Gutiérrez, J. Rodríguez	195
Linfomas no Hodgkin: factores pronósticos J. M. Arrieta, A. García Castaño, J. Calzas, E. Lastra, B. Nieto, C. García-Girón	212
Linfomas no Hodgkin de bajo grado. Nuevas orientaciones biológicas y controversias terapéuticas J. García-Conde, M. Tormo	220
Tratamiento de los linfomas agresivos del adulto J. Gómez Codina	231

Aplicaciones de las nuevas técnicas de la biología molecular al estudio de los linfomas

A. GUTIÉRREZ, J. RODRÍGUEZ

Servicio de Hematología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca

INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad de origen genético. Aunque pueden existir distintos grados de predisposición hereditaria, las alteraciones genéticas que dan lugar a la transformación neoplásica suelen adquirirse a lo largo de la vida tras la exposición a determinados agentes carcinógenos externos. En cualquier caso el mecanismo patogénico final suele ser la lesión de uno o más genes implicados en el control del crecimiento y desarrollo celular, en particular a través de los procesos de proliferación y apoptosis.

Los síndromes linfoproliferativos (SLP) suelen asociarse de forma bastante constante a determinadas alteraciones cromosómicas características que definen o se asocian recurrentemente a cada entidad. Esto diferencia este tipo de neoplasias de otras, como muchos tumores sólidos esporádicos o secundarios a síndromes de predisposición hereditaria, en los que las lesiones genéticas que los originan pueden ser muy variables (1-3). Esta relativa homogeneidad genética y patogénica de los SLP tiene unas implicaciones clínicas importantes. Por un lado acentúa el valor diagnóstico de los estudios citogenéticos y de biología molecular, dado que la detección de determinadas alteraciones genéticas confirma el diagnóstico histopatológico de muchas de las entidades. Por otro lado abre la puerta a múltiples estudios de monitorización cualitativa o cuantitativa de la enfermedad mínima residual (EMR), así como a la búsqueda de implicaciones pronósticas, que alcanzarán su máximo desarrollo a través del estudio de los patrones de expresión génica con las técnicas de microarrays.

El presente trabajo pretende revisar el estado actual de los estudios citogenéticos y de biología molecular en el campo de los SLP, haciendo especial hincapié en sus aplicaciones clínicas: su valor en el diagnóstico, el pronóstico y la monitorización de enfermedad mínima residual.

MECANISMOS DE LESIÓN GENÉTICA EN LOS SLP

Los mecanismos principales de alteración genética en los SLP son la activación de proto-oncogenes, la inactivación de genes supresores tumorales y las alteraciones genéticas derivadas de los procesos de hipermutación somática que ocurren en el centro germinal de los folículos linfoides.

La activación de proto-oncogenes se produce generalmente a través de traslocaciones que yuxtaponen un gen importante relacionado con el control del desarrollo celular con secuencias promotoras heterólogas que dis-regulan su expresión. Como ejemplos de ello tenemos la t(14;18) en el linfoma folicular o la t(11;14) en el linfoma del manto. El resultado suele ser la sobreexpresión de la proteína codificada por el proto-oncogén, o bien la generación de una nueva proteína, resultado de la fusión de las regiones codificantes de ambos genes. La inactivación de genes supresores tumorales se produce a través de deleciones o mutaciones que afectan a ambos alelos. Entre estos últimos tenemos los genes p53 y p16 así como el gen mutado de la ataxia telangiectasia (ATM).

Recientemente han cobrado importancia otros mecanismos de linfomagénesis, como los mediados por un funcionamiento aberrante de los procesos fisiológicos de hipermutación somática de los genes que codifican la región variable de las inmunoglobulinas y cuyo objetivo es generar la diversidad de especificidad de las inmunoglobulinas. De esta forma, se pueden producir alteraciones genéticas secundarias al favorecer por un lado la generación de traslocaciones y por otro al actuar sobre múltiples genes diferentes a los de las inmunoglobulinas, algunos de ellos proto-oncogenes. Este mecanismo parece ser de especial importancia en linfomas de origen centrogerminal como el LDCGB o el linfoma de Burkitt.

En la tabla I se resumen las principales alteraciones genéticas asociadas a los SLP y que se desarrollarán a continuación. Las técnicas de estudio citogenético y de biología molecular han contado con grandes avances en los últimos años. En las tablas II y III se muestran las principales técnicas citogenéticas y de biología molecular, profundizando en sus fundamentos así como sus características y aplicaciones principales.

TABLA I

PRINCIPALES ALTERACIONES GENÉTICAS RECURRENTE EN LOS SLP

Tipo de SLP	Alteración genética	Proto-oncogén
L. linfoplasmocitoide	t(9;14)(p13;q32)	<i>PAX-5</i>
L. folicular	t(14;18)(q32;q21)	<i>bcl-2</i>
L. del manto	t(11;14)(q13;q32)	<i>bcl-1</i>
L. difuso de célula grande B	Múltiples con 3q27	<i>bcl-6</i>
L. Burkitt	t(8;14)(q24;q32)	<i>c-myc</i>
L. anaplásico T ALK+	t(2;5)(p23;q35)	<i>NPM/ALK</i>
L. T hepatoesplénico	iso (7q) y +8	*
L. T angioinmunoblástico	+3 y +5	*
L. T periférico	+3, del(6q), +7q y -13	*

* No totalmente conocidos

LESIONES GENÉTICAS ASOCIADAS A LOS SLP

*LINFOMA LINFOCÍTICO DE CÉLULA PEQUEÑA / LEUCEMIA LINFOIDE CRÓNICA (LLCP/LLC-B)**Alteraciones genéticas asociadas al LLCP/LLC-B*

Como en otros SLP de carácter indolente, el advenimiento de las nuevas técnicas de estudio citogenético, como la hibridación *in situ* fluorescente (FISH), ha permitido ampliar de forma considerable el número de casos en los que es posible detectar alteraciones genéticas. Frente al cariotipado convencional, la técnica de FISH permite el estudio citogenético tanto en metafase como en interfase (Tabla II), lo que en el caso de la LLC-B se ha traducido en la detección de alteraciones genéticas en más de un 80% de los casos. A diferencia de otros SLP, en el caso del LLCP/LLC-B no se ha encontrado una asociación específica y recurrente con ninguno de los oncogenes conocidos. Sin embargo sí se han descrito varias alteraciones genéticas de valor fundamentalmente pronóstico.

Dentro de las alteraciones genéticas con mal pronóstico destacan la trisomía 12 y las deleciones 6q, 11q y 17p. En los casos con la trisomía 12 y la deleción 6q no se conocen los posibles oncogenes implicados y constituyen el 16 y el 7% de las alteraciones genéticas reportadas (4,5). La deleción 6q se asocia a casos de LLCP/LLC-B con características prolinfocitoides (6). Por el contrario la deleción 11q afecta al *locus* del gen mutado de la ataxia-telangiectasia (ATM), implicado en el control del ciclo celular y en la reparación del ADN,

TABLA II

TÉCNICAS DE ESTUDIO CITOGENÉTICO EN LOS SLP

Técnica	Fundamento	Características y aplicaciones
Citogenética convencional	Estudio del cariotipo y las alteraciones cromosómicas en la metafase celular	Precisa de tejido o células en fresco Frente a FISH: Mejor muestras con elevado índice mitótico: se realiza en metafase Lenta, laboriosa y limitada a 20-30 células aunque barata
FISH	Hibridación con una sonda de ADN marcada con fluorescencia cuya diana es la secuencia problema que estamos buscando	Precisa de tejido o células en fresco Frente a citogenética convencional: Se puede realizar en metafase o interfase Rápida, mayor sensibilidad (500-1.000 células) aunque más cara
Cariotipo espectral multicolor (SKY)	Se marca el ADN de cada uno de los 24 cromosomas con un color diferente	Permite detectar traslocaciones no identificadas con citogenética convencional
HGC	Compara el genoma tumoral con el normal: 1. ADN extraído de ambos orígenes se marca con diferentes fluorescencias 2. Se hibridan ambos ADN marcados con cromosomas normales en metafase 3. Se pueden valorar pérdidas o ganancias cromosómicas	Frente a citogenética convencional o FISH: Permite analizar también tejidos congelados o parafinados Sólo detecta amplificación o deleción genómica, no traslocaciones balanceadas

TABLA III
TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR APLICABLES AL ESTUDIO DE LOS SLP

Técnica	Fundamento	Características y aplicaciones
<i>Southern blot</i>	Detección de secuencias específicas de ADN: 1. Fraccionamiento del ADN problema por electroforesis 2. Transferencia a una membrana de nitrocelulosa 3. Hibridación con sonda de ADNc marcada específica 4. Autorradiografía para detectar la hibridación	Frente a PCR: Técnica más larga y compleja Menor sensibilidad (1%) Mejor para genes grandes o con puntos de ruptura variables o muy "promiscuos"
PCR	Amplificación de secuencias de ADN a través de una ADN polimerasa que realizará múltiples copias de secuencias definidas por unos oligonucleótidos o cebadores: 1. Unión de ADN problema, polimerasa y cebadores 2. Múltiples ciclos de temperatura donde se realizan las copias de la secuencia elegida 3. Visualización de las copias o amplificadas en geles	Frente a <i>Southern blot</i> : Técnica rápida y sencilla Alta sensibilidad (hasta 1/10 ⁶): Excelente para estudio de EMR Más falsos positivos o verdaderos positivos clínicamente no útiles
RT-PCR	Igual que la PCR pero a partir de ARN: 1. Se retrotranscribe el ARN mensajero a ADNc a través de retrotranscriptasa reversa 2. Se procede con la técnica de PCR sobre el ADNc retrotranscrito	Permite estudiar la transcripción de secuencias determinadas en el ARN mensajero de las células
PCR "nested"	Igual que la PCR pero realizando una doble amplificación: 1. La primera amplificación realiza múltiples copias de una secuencia determinada 2. La segunda amplificación utiliza cebadores que permiten copiar una secuencia comprendida dentro del producto de la primera amplificación	Frente a PCR convencional: Aumenta la sensibilidad y especificidad
PCR cuantitativa	Permite cuantificar de forma real la cantidad de copias de un determinado gen que existe en el ADN o ARN plantilla inicial: 1. Utiliza una sonda interna que libera fluorescencia cada vez que se realiza una copia de la secuencia buscada	Frente a PCR convencional: Permite cuantificar la cantidad de secuencia diana: excelente para estudio de EMR
Microarrays	Permite estudiar los patrones de expresión de miles de genes al mismo tiempo: 1. Se unen a una membrana sólida secuencias complementarias de ADN u oligonucleótidos conocidos cuya expresión se desee estudiar 2. Se marcan con dos diferentes fluorescencias los ADNc derivados de todos los ARN mensajeros pertenecientes a células tumorales y células normales 3. Se hibridan las muestras en el microarray y a través de técnicas de bioinformática se analiza la información	Frente a técnicas citogenéticas o de biología molecular convencionales: Permite detectar los patrones de expresión génica de decenas de miles de genes al mismo tiempo Permite comparar las diferencias de expresión génica entre células normales y tumorales Permite definir patrones de expresión por patologías y definir nuevos subgrupos de enfermedad patogénicos y pronósticos

y su ausencia se asocia a un subgrupo de LLCp/LLC-B más agresivos y con supervivencias significativamente inferiores (7-9). La delección 11q se ha descrito en un 18% de los casos al diagnóstico (5), pero también como evento secundario añadido durante la evolución clonal hacia una forma más agresiva de enfermedad (10). La delección 17p, que afecta al gen supresor tumoral p53, se ha observado en un 7% de los casos y se asocia a resistencia al tratamiento con alquilantes y análogos de las purinas así como a una menor supervivencia (5,11,12). Al mismo tiempo, las alteraciones genéticas que afectan a p53 se han relacionado con una mayor

probabilidad de progresión hacia síndrome de Richter (13).

Dentro de los hallazgos citogenéticos de buen pronóstico, destaca la delección 13q que es la alteración genética más frecuente en LLCp/LLC-B, observable en un 55-60% de los casos. Se cree que la región 13q14, afecta en este tipo de delección, debe incluir un gen supresor tumoral no conocido hasta la actualidad (5,14-16). Por otro lado, la ausencia de alteraciones citogenéticas también ha demostrado ser un factor de buen pronóstico (4).

Un estudio reciente de Dohner y cols., sobre 325 casos de LLC-B, estableció los siguientes cinco grupos de peor

a mejor pronóstico en relación con sus hallazgos citogenéticos: pacientes con la delección 17p; pacientes con la delección 11q pero no la delección 17p; pacientes con trisomía 12 pero no las delecciones 17p o 11q; pacientes con cariotipo normal y pacientes con la delección 13q exclusivamente. La supervivencias globales (SG) y libre de enfermedad (SLE) fueron respectivamente para los cuatro grupos: 32 y 9 meses; 79 y 13 meses; 114 y 33 meses; 111 y 49 meses; así como 133 y 92 meses (5).

Estado mutacional de los genes de la región variable de las inmunoglobulinas (IgV)

Uno de los avances más importantes de los últimos años en LLCP/LLC-B es la caracterización del valor pronóstico del estado mutacional de los genes IgV. La generación de la diversidad de especificidades de los linfocitos B tiene como uno de los pilares más importantes el proceso de hipermutación somática que ocurre en el centro germinal sobre los genes IgV previamente reordenados en la fase pregerminal. De esta forma los linfocitos B en general y los SLP en particular pueden ser clasificados, en función de su situación de desarrollo con respecto a este paso por el centrogerminal, en pregerminales y postgerminales. Análisis recientes han demostrado que en torno a un 50% de los casos de LLC-B tienen un origen postgerminal y por lo tanto exhiben hipermutación somática de los genes IgV (17). Estos casos cuentan con un pronóstico significativamente superior al de los pacientes con LLC-B de origen pregerminal y con un estatus no mutado de genes IgV (18). De forma interesante, cuando se correlacionaron las alteraciones genéticas de pacientes con LLCP/LLC-B y su estatus mutacional de genes IgV, se pudo observar que la incidencia global de alteraciones genéticas es similar en los casos de origen pregerminal o postgerminal. Sin embargo, la prevalencia de la delección 13q de buen pronóstico como única alteración genética, fue significativamente mayor en el grupo mutado y las delecciones 11q y 17p de mal pronóstico se encontraron casi exclusivamente en el grupo no mutado. Además, aquellos casos no mutados con las delecciones 11q o 17p mostraron un pronóstico significativamente inferior al de los casos no mutados sin dichas alteraciones genéticas, lo cual subraya el papel pronóstico complementario de ambos estudios (19).

LINFOMA LINFOPLASMOCITOIDE / ENFERMEDAD DE WALDENSTROM (LL/EW)

El LL/EW se asocia de forma específica a la t(9;14)(p13;q32) que yuxtapone el locus IgH del cromosoma 14q32 con el gen *pax-5*, localizado en el cromosoma 9p13 (20,21). Dicha traslocación se ha descrito en aproximadamente un 50% de los casos de LL/EW y conlleva la disregulación transcripcional del gen *pax-5*, que es un factor de transcripción específico de los linfocitos B que interviene en el control de los procesos de proliferación y diferenciación (22).

Recientemente el LL/EW se ha relacionado también con otras alteraciones genéticas inespecíficas tales como las delecciones de los cromosomas 8 ó 6q, determinándose que la existencia de estas alteraciones de forma aislada o en forma de cariotipos complejos se asocia a formas más agresivas de enfermedad (23).

LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO

Traslocación (11;14) y sobreexpresión del gen bcl-1

El linfoma del manto se asocia de forma específica a la traslocación (11;14)(q13;q32) que yuxtapone el gen *bcl-1* (también conocido como *CCND1* o *PRADI*) localizado en el cromosoma 11 con el promotor del gen IgH del cromosoma 14 (24-26). Dicha traslocación genera la disregulación transcripcional del gen *bcl-1* que provoca una sobreexpresión de la ciclina D1, proteína que interviene en la regulación de las fases iniciales del ciclo celular reduciendo la duración de la fase G1 e introduciendo a la célula en la fase S (27-29). La detección de esta traslocación o de la sobreexpresión de ciclina D1 es de gran importancia porque confirma el diagnóstico de linfoma del manto, además de poder ser utilizada en la monitorización de la enfermedad mínima residual.

Alteraciones genéticas no específicas en el linfoma del manto

En el linfoma del manto se han descrito otras alteraciones genéticas no específicas. La más frecuente es la delección 13q14 cuya incidencia se sitúa entre el 50 y el 70% y que, a diferencia de lo que ocurre en la LLC-B, en el linfoma del manto parece asociarse con un peor pronóstico (30). También las inactivaciones de los genes supresores tumorales *p53* (31-34) y *p16* (35,36) se relacionan con formas de presentación de la enfermedad más agresivas y de peor pronóstico. Por otro lado también se ha descrito la sobreexpresión de *c-myc* en al menos un tercio de los linfomas del manto, con superior incidencia en las formas blásticas, aunque sin asociarse a alteraciones genéticas estructurales en la mayoría de los casos (37).

De forma reciente se han identificado alteraciones genéticas que conllevan a la inactivación del gen supresor tumoral *ATM*, bien a través de la delección 11q en un alelo y la mutación del segundo alelo, o bien mediante la mutación de ambos alelos. La presencia de delección 11q se ha descrito entre el 45 y el 60% de los casos de linfoma del manto. No obstante, en un 40% de los casos sin la delección 11q también se ha podido constatar una mutación bialélica del gen *ATM* 38-40. Esto ha llevado a considerar que dicho gen puede tener una gran importancia en la patogénesis de este linfoma. Dado que *ATM* interviene en la reparación de las rupturas de ADN provocadas por mutágenos o procesos fisiológicos como la recombinación VDJ en los linfocitos B, su inactivación podría contribuir a facilitar o tolerar el desarrollo de la recombinación VDJ aberrante que da lugar a la t(11;14) (39).

*LINFOMA FOLICULAR**Alteraciones genéticas relacionadas con la sobreexpresión del gen bcl-2*

La alteración genética característica del linfoma folicular consiste en la aparición de traslocaciones cromosómicas que yuxtaponen el cromosoma 18q21, que incluye el gen *bcl-2*, con el promotor del gen IgH en la t(14;18)(q32;q21) y, en menor medida, del gen IgK en la t(2;18)(p11;q21) o bien del gen Ig en la t(18;22)(q21;q11) (41-43). Esto genera una disregulación transcripcional del gen *bcl-2* que se traduce en la sobreexpresión de la proteína BCL-2, capaz de inhibir la apoptosis (44-46). La consecuencia directa de ello es el aumento de la supervivencia de la célula, lo que la predispone a acumular nuevas alteraciones en el ADN, así como la expansión del tejido linfoide folicular (47).

La mayoría de las t(14;18) provocan los reordenamientos patológicos de *bcl-2* a partir de dos puntos de ruptura principales en el cromosoma 18: los puntos de ruptura mayor (MBR) y menor (mcr) que suponen respectivamente el 70 y el 10-15% de las traslocaciones observadas (41-43,48). En hasta el 18% de los casos se han descrito otra serie de puntos de ruptura comprendidos entre MBR y mcr tales como el 3'BCL2 o el 5'mcr (49-51). Existen técnicas de PCR ampliamente usadas para el estudio de los dos reordenamientos principales (52,53) y, recientemente, se han puesto a punto técnicas capaces de detectar una buena parte de los restantes (54).

En el 8-20% restante de los linfomas foliculares el gen *bcl-2* aparentemente presenta una configuración de línea germinal sin ninguna alteración genética sobreañadida (51,55). A pesar de ello, en un 90% de estos casos se puede objetivar la sobreexpresión patológica del gen (56-58). Por tanto, a través de mecanismos conocidos o por dilucidar, en el 98% de los linfomas foliculares existe una sobreexpresión de la proteína BCL-2, aunque siendo menos frecuente en los linfomas foliculares grados 2 y 3 frente a los grados 1 (59,60).

Existen varios estudios que han correlacionado la presencia y el tipo de reordenamiento del gen *bcl-2* con la evolución clínica de los pacientes, objetivando que la presencia de la t(14;18) (61) y de los reordenamientos en los puntos de ruptura MBR o mcr, se asocia con un mejor índice de respuestas y supervivencia, que los casos con el gen en configuración de línea germinal (62). Otros puntos de ruptura como el 5'mcr se han relacionado con formas de enfermedad más agresivas y con masas voluminosas (51).

Otras alteraciones genéticas relacionadas con los linfomas foliculares

Dada la elevada proporción de personas sanas en las cuales es posible detectar los reordenamientos de *bcl-2* previamente descritos (63-66), es probable que sean necesarios otra serie de eventos moleculares para que se produzca la transformación hasta linfoma folicular y que son objeto de estudio actualmente (67). No obstante,

se ha descrito la presencia de al menos una alteración genética adicional a la t(14;18) en la mayoría de los linfomas foliculares (68,69) así como que el número de estas alteraciones genéticas adicionales aumenta conforme pasamos de las histologías más indolentes (linfoma folicular grado 1), hasta las más agresivas (linfoma folicular grado 3 y transformación a linfoma difuso de célula grande B) (70).

Entre las alteraciones genéticas implicadas en la evolución clonal del linfoma folicular destacan por su importancia las inactivaciones de genes supresores tumorales, tales como las derivadas de las mutaciones o deleciones de p53, que afectan al cromosoma 17 (71-73), las inactivaciones de p16 (36) o las deleciones del cromosoma 6q (73,74). En un pequeño número de casos también se han implicado reordenamientos que afectan a c-myc en esta evolución del linfoma folicular hacia formas más agresivas (75). Recientemente, se ha encontrado una relación entre la adquisición de nuevas mutaciones en la región reguladora del gen *bcl-6* y la transformación de linfomas foliculares a LDCGB (76).

Las alteraciones genéticas que afectan al gen *bcl-6*, de gran importancia en el linfoma difuso de célula grande B (LDCGB), también ocurren en el linfoma folicular aunque con una frecuencia menor (9-14%) (77). De forma llamativa, se ha descrito un pequeño subgrupo de linfomas foliculares en los que se producen reordenamientos patológicos de *bcl-6*, con *bcl-2* en configuración de línea germinal y mayoritariamente negativos para CD10 o BCL-2 por inmunohistoquímica. Sin embargo, estos casos son clínicamente similares al resto de los linfomas foliculares y por ello esta vía se ha descrito como una alternativa a la linfomagénesis folicular mediada por *bcl-2* (78). De hecho, a partir de estas evidencias y de la diferente incidencia en los casos de linfoma folicular de la t(14;18) entre Asia y occidente, a pesar de una homogénea distribución de esta traslocación entre individuos sanos, recientemente se ha planteado la hipótesis de que puedan existir diferentes formas moleculares de linfomagénesis en función de la zona geográfica en que se producen (67).

LINFOMAS DEL TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A MUCOSAS (MALT)

Los linfomas MALT pueden aparecer en mucosas tales como las del estómago, intestino delgado, parótida, epitelio respiratorio, tiroides y otros órganos sin mucosas como la piel, mama, hígado, páncreas y riñón. Su patogenia se ha relacionado con la exposición de estos tejidos a procesos infecciosos o inflamatorios crónicos tales como la infección por *H. pylori* en el estómago, la tiroiditis de Hashimoto en el tiroides y el síndrome de Sjögren en la parótida.

En el caso de los linfomas MALT gástricos se ha sugerido que inicialmente puedan depender de la estimulación antigénica que provoca el *H. pylori*, dado que la erradicación de dicha infección con antibióticos va asociada a una remisión del linfoma (79). No obstante, en algún momento, dicha proliferación puede hacerse

autónoma, coincidiendo generalmente con la adquisición de alteraciones genéticas, e independiente del *H. pylori*, así como evolucionar clonalmente hacia una histología más agresiva (80,81).

La alteración genética más importante asociada al linfoma MALT gástrico es la t(11;18)(q21;q21) que afecta entre el 21 y el 60% de los casos (82,83). Esta traslocación provoca el reordenamiento del gen API2, que codifica una proteína inhibidora de la apoptosis, con el gen MLT, generando una nueva proteína de fusión con actividad antiapoptótica (84-86). Datos recientes han demostrado que estos casos suelen ser genéticamente muy estables y que raramente adquieren alteraciones genéticas adicionales o evolucionan hacia LDCGB gástrico (87).

Por el contrario, la mayoría de los casos de linfoma MALT gástrico que no presentan la t(11;18) adolecen de una gran inestabilidad genética y asocian generalmente múltiples alteraciones genéticas. Dentro de ellas, en un 21% de los casos se han descrito amplificaciones de la región 3q26.2-27 (*locus* del gen *bcl-6* y del gen PIK3CA, oncogén implicado en el cáncer de ovario) (88) y desequilibrios alélicos en las regiones 3q26.2-27, 6q23.3-25, 7q31, 11q23-24 y 18q21. Dado que los LDCGB gástricos no presentan t(11;18) y sí una incidencia similar de estas alteraciones adicionales, se ha propuesto que sean estos linfomas MALT sin la t(11;18), los eslabones intermedios hacia la transformación a LDCGB gástrico por evolución clonal (87). Otro trabajo reciente señala la adquisición de amplificaciones en la región 2p13-15 (*locus* del proto-oncogén REL), pérdidas en el cromosoma 13q o ganancias en el cromosoma 12, así como ganancias en 8q24 (*locus* del gen *c-myc*) o pérdidas en 2q, como 2 vías alternativas relacionadas con la evolución clonal de los linfomas MALT sin la t(11;18) hacia LDCGB gástrico (89). Con una importancia menor se ha descrito también la asociación de los linfomas MALT con la t(1;14)(p22;q32), que dis regula transcripcionalmente la expresión del gen *bcl-10* con actividad también antiapoptótica (90).

LINFOMA DIFUSO DE CÉLULA GRANDE B

Los LDCGB constituyen un grupo heterogéneo de SLP B con la característica común de constituir una proliferación neoplásica de centroblastos de origen centrogerminal. Por un lado pueden aparecer *de novo*, o bien a partir de la transformación por evolución clonal de linfomas indolentes como el linfoma folicular. Por otro lado su comportamiento clínico y agresividad también son variables, así como su origen genético y molecular (91,92). En cualquier caso, la patogenia de este tipo de linfomas se ve influida por los múltiples procesos que regulan el funcionamiento y desarrollo celular en el centrogerminal donde tienen su origen (93,94). De forma global se describen tres grandes grupos patogénicos desde el punto de vista genético en los LDCGB: a) los linfomas aparecidos *de novo* que presentan alteraciones genéticas ligadas al gen *bcl-6*; b) los que derivan de la transformación a LDCGB de linfomas foliculares preexistentes, que habitualmente suponen

la evolución clonal de células que sobreexpresan el gen *bcl-2*; y c) una vía *de novo* adicional mediada por otras alteraciones genéticas, algunas de las cuales todavía no son conocidas. Recientemente se ha descrito también la importancia de los mecanismos de hipermutación somática centrogerminales afectando a múltiples proto-oncogenes (95).

Alteraciones genéticas ligadas a *bcl-6*

BCL-6 es un factor de transcripción represor con capacidad de inhibir la expresión de genes que contienen una secuencia diana de ADN específica (96). Se expresa de forma específica en linfocitos B del centrogerminal, estando ausente tanto en células pre-germinales como post-germinales. Por este motivo, parece desempeñar un papel importante en el desarrollo y supervivencia dentro del centrogerminal, así como inhibir la diferenciación ulterior post-germinal (97).

El proto-oncogén *bcl-6* se encuentra localizado en la banda 3q27 (98-102), que presenta reordenamientos cromosómicos en aproximadamente un 35% de los LDCGB (77,103) y mutaciones en hasta el 73%, de forma independiente a la presencia o ausencia de reordenamientos (104).

Los reordenamientos cromosómicos de 3q27 se producen a través de traslocaciones "promiscuas" recíprocas en las que participan de forma constante la región 3q27 y de forma variable, múltiples cromosomas que se representan en la figura 1, entre los que se encuentran los genes de las inmunoglobulinas en 14q32 (IgH), 2p11 (IgK) y 22q11 (Ig) (105-107). Ello conlleva la sustitución del promotor de *bcl-6* por secuencias reguladoras heterólogas de otros genes, de forma que se evita

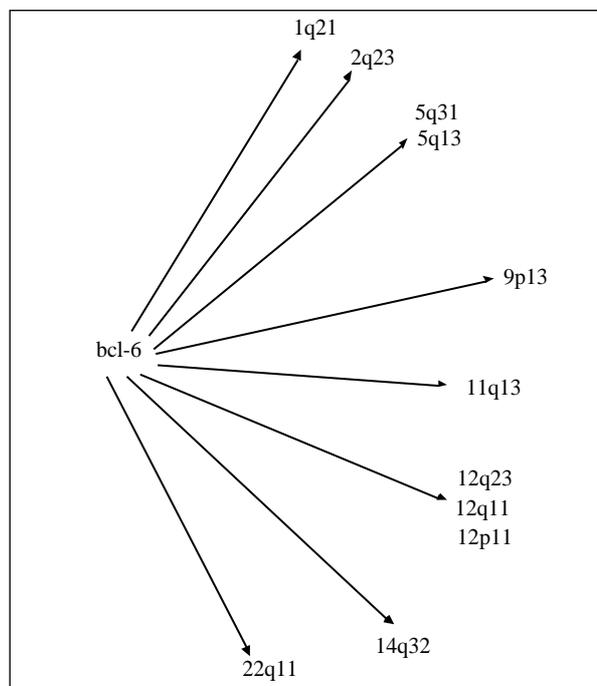


Fig. 1. Reordenamiento de *bcl-6*.

la inhibición de la expresión de *bcl-6* y, por tanto, se bloquea la diferenciación de la célula hacia estadios madurativos post-germinales (105,108). El punto de ruptura del gen *bcl-6* está en la mayor parte de los casos localizado en su región 5' no codificante (MBR), sin embargo de forma reciente se ha identificado un punto de ruptura alternativo (ABR) (109). Por último, las mutaciones afectan de forma múltiple y selectiva a la región 5' no codificante reguladora del gen *bcl-6*, lo cual modifica también su regulación trascricional (104).

Alteraciones genéticas ligadas a bcl-2 y su evolución clonal

Aproximadamente en un tercio de los casos de LDCGB se observan reordenamientos patológicos del gen *bcl-2* (69,92). Generalmente, esta vía de generación de LDCGB es alternativa a la mediada por *bcl-6* y se asocia con procesos de evolución clonal de linfomas foliculares preexistentes. En muchos de estos casos, además de los reordenamientos de *bcl-2*, existen otras alteraciones genéticas sobreañadidas que inactivan genes supresores tumorales importantes tales como las mutaciones o deleciones que afectan a p53 (71) o las deleciones 6q (74). Todas estas alteraciones parecen asociarse con formas de enfermedad más agresivas y de peor pronóstico.

Otras alteraciones genéticas

Un subgrupo de LDCGB presentan sobreexpresión del proto-oncogén REL localizado en la región 2p13-15. Dicho proto-oncogén pertenece a la familia de factores de transcripción NF-kb/REL y parece asociarse con formas de LDCGB con afectación preferentemente extranodal o primaria mediastínica (110). También se ha descrito un peor pronóstico y peor respuesta a tratamiento en casos con alteraciones a nivel del cromosoma 9q (111).

Papel de los mecanismos de hipermutación somática

Además del papel patogénico de las hipermutaciones somáticas que acaecen sobre el gen *bcl-6* o *fas*, recientemente se ha descrito también la hipermutación de múltiples proto-oncogenes en más del 50% de los pacientes con LDCGB. Los genes implicados son *pim-1*, *c-myc*, *pax-5* y *RhoH/TTF*. Dichas mutaciones se producen sobre la región 5' no codificante o bien sobre la región codificante, son independientes de traslocaciones cromosómicas y muestran características propias de la hipermutación somática asociada a los genes de las regiones variables de las inmunoglobulinas. Estas mutaciones ni se encuentran en linfocitos B normales ni en otros linfomas centrogerminales, por lo que pueden tener un papel específico en la génesis de los LDCGB que está todavía por dilucidar (95).

LINFOMA DE BURKITT

Variantes clínicas del linfoma de Burkitt

El linfoma de Burkitt constituye un grupo heterogéneo de SLP B de alto grado de agresividad. Existen al menos tres formas clínicamente reconocidas como son la variedad endémica, propia de África Ecuatorial y Nueva Guinea; la variedad esporádica observable en Europa y EE.UU. así como la variedad asociada a inmunodepresión por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (112). En otros casos la enfermedad se puede iniciar como una afectación masiva de médula ósea y sangre periférica en cuyo caso ha sido denominada tradicionalmente como leucemia aguda linfoblástica tipo L3, pero que desde la clasificación REAL de los SLP en 1994 se considera otra forma clínica de expresión de la misma entidad (91).

Alteraciones genéticas relacionadas con el gen c-myc

El linfoma de Burkitt en cualquiera de sus variantes clínicas se asocia de forma invariable con rupturas cromosómicas que afectan a 8q24 (91) y disregulan la expresión del proto-oncogen *c-myc*. Esto ocurre a través de tres mecanismos fundamentales: la generación de traslocaciones que aumentan la expresión de *c-myc*, la neutralización de secuencias reguladoras negativas incluidas dentro del propio gen *c-myc* y la colaboración de mutaciones que aumentan la concentración y vida media de la proteína *c-Myc*.

El primer mecanismo tiene lugar a través de traslocaciones que yuxtaponen el gen *c-myc* con secuencias de los genes de las inmunoglobulinas. En el 80% de los casos, dicha traslocación incluye el gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (IgH) dando lugar a la t(8;14)(q24;q32). En un 15% de los casos, *c-myc* se yuxtapone al gen de las cadenas ligeras kappa (Ig κ) en la t(2;8)(p11;q24) y en el 5% restante al gen de las cadenas ligeras lambda (Ig λ) en la t(8;22)(q24;q11) (113-117).

El segundo mecanismo consiste en la deleción de secuencias reguladoras negativas incluidas dentro del exón 1 (118) e intrón 1 (119) del gen *c-myc* bien de forma directa en el proceso de traslocación o posteriormente a través de mutaciones en dichas áreas (120,121). En tercer lugar, otras mutaciones pueden colaborar en la estabilización de la proteína *c-Myc*, de forma que su concentración aumente, como las que afectan al exón 2 del gen *c-myc* o a través de la fosforilación del residuo treonina 58, en las que se reduce la degradación proteolítica de la propia proteína mediada por proteosoma (122-125).

Efectos biológicos de la sobreexpresión de c-Myc

El producto del gen *c-myc* es una proteína que funciona como un activador transcripcional y que interactúa con componentes del complejo de transcripcional de la ARN polimerasa (126,127).

c-Myc influye en múltiples procesos celulares de forma que su sobreexpresión puede dar lugar a la transformación neoplásica a través de múltiples vías. Existen múltiples evidencias de que *c-Myc* incrementa la proliferación celular: se expresa normalmente en las células en división, está inhibido en células en reposo o tras diferenciación terminal así como sobreexpresado tras la adición de mitógenos (127-130).

c-Myc también es capaz de bloquear la diferenciación celular, de forma directa a través de la propia activación persistente del ciclo celular o bien a través de la represión de genes capaces de promover la diferenciación celular (131,132). Por otro lado, se ha descrito la capacidad de *c-Myc* para intervenir en diversas rutas metabólicas con el objetivo de facilitar la proliferación y mejorar la supervivencia celular: la activación de la transcripción de la lactato deshidrogenasa A que permite a la célula sobrevivir mejor en condiciones de hipoxia (133), la intervención en el metabolismo del hierro para incrementar el hierro intracelular disponible (134), o en la síntesis de nucleótidos (135-137) o proteínas (138,139).

Paradójicamente, la sobreexpresión de *c-Myc* es capaz de inducir la apoptosis celular a través de las vías dependientes o independientes de *p53* (140). Dicha capacidad es la responsable del patrón en cielo estrellado habitual del linfoma de Burkitt. Sin embargo, generalmente la adquisición de nuevas alteraciones genéticas o mecanismos asociados dan lugar al bloqueo de este efecto proapoptótico (141-143). Al mismo tiempo, *c-Myc* parece mantener la expresión de la enzima telomerasa, lo cual tiene un efecto inmortalizador que evita la pérdida de sus telómeros asociada al envejecimiento celular (144,145).

Por último se ha descrito que *c-Myc*, a través de la inhibición de la síntesis de determinadas moléculas de adhesión (LFA-1 o proteínas de la matriz extracelular como el colágeno o la fibronectina), puede favorecer la diseminación tumoral (146).

Papel de la infección por el virus de Epstein-Barr (VEB)

En el origen del linfoma de Burkitt se ha relacionado también la infección por el VEB, dado que se puede detectar en la mayoría de los casos endémicos, aproximadamente el 30% de los casos esporádicos y al menos el 40% de los casos asociados a infección por VIH (147-149). Algunos trabajos han objetivado una monoclonalidad en las cepas que infectan las células del linfoma de Burkitt, sugiriendo que esta infección puede ser un evento patogénico previo o concomitante a la transformación neoplásica (150,151). Sin embargo, otros trabajos recientes han determinado que esta infección también puede ocurrir de forma tardía sobre las células ya transformadas y desempeñar por tanto un papel exclusivamente adyuvante en su evolución clonal (152).

En cualquier caso el papel de la infección por VEB en el origen del linfoma de Burkitt no está claro. Dado que el VEB es capaz de generar una expansión policlo-

nal de linfocitos B, a través de la estimulación de dicha proliferación en el seno del centro germinal puede aumentar las posibilidades de que se produzca un reordenamiento patológico de *c-myc* durante el proceso de hipermutación somática (153,154). Esto cobraría mayor importancia en el caso de pacientes inmunodeprimidos, en los que una mayor duración de la infección aguda por el VEB, aumentaría las posibilidades de que se produjese la transformación maligna (155).

Alteraciones genéticas no específicas asociadas al linfoma de Burkitt

Además de las traslocaciones que afectan al gen *c-myc*, existen otra serie de alteraciones genéticas no específicas que pueden aparecer recurrentemente en el linfoma de Burkitt. Dado que las células tumorales que presentan sobreexpresión de la proteína *c-Myc* pueden entrar en apoptosis por diferentes vías, lesiones genéticas que bloqueen el proceso de muerte celular programada actuarían como mecanismo de escape tumoral. En este sentido se han descrito mutaciones del gen *p53* en el cromosoma 17p en aproximadamente un tercio de los pacientes con linfoma de Burkitt, independientemente de la variante clínica o geográfica (13). En una proporción similar se ha descrito la inactivación transcripcional del gen *p73*, que actúa de forma homóloga a *p53* (156). En otras ocasiones la alteración genética bloquea de forma directa el propio mecanismo de la apoptosis a través de la inactivación transcripcional de los genes de proteínas quinasas asociadas a muerte celular (157).

En aproximadamente otro tercio de los casos también se ha observado la inactivación del gen supresor tumoral *p16* que bloquea su papel en el control de la proliferación celular (158). Entre el 30 y el 50% de los casos presentan inicialmente alteraciones del gen *bcl-6*, lo cual confirma el origen centrogerminal de este linfoma (159,160). Como en otros linfomas B, con gran frecuencia se observan también deleciones o reordenamientos del cromosoma 6q (región 6q25-27), por lo que se ha sugerido que puede contener un gen supresor tumoral importante (74,161). Por último, sin que se conozca en profundidad su mecanismo patogénico, el linfoma de Burkitt se ha asociado recurrentemente también a las trisomías 7, 8, 12 y 18, así como a alteraciones de la región cromosómica 1q2 que codifica el factor de crecimiento de células B (162).

Recientemente se ha sugerido, a través de estudios *in vitro* en líneas celulares de pacientes con linfoma de Burkitt, la existencia de un orden en la adquisición de lesiones genéticas. Gutiérrez y cols. observaron que las traslocaciones que afectan al gen *c-myc* y las mutaciones del gen *bcl-6*, parecen ser eventos iniciales en la aparición de la enfermedad. Por el contrario las alteraciones que afectan a *p53*, las mutaciones de *c-myc* o, incluso en algunos casos, la infección por parte del VEB de la clona tumoral se objetivaron como eventos tardíos añadidos durante el curso de la enfermedad (152).

LINFOMA T ANAPLÁSICO ALK+

En el 75% de los linfomas T anaplásicos ALK+ se puede detectar una traslocación característica, la t(2;5)(p23;q35) (163-167). En ella, parte de la región codificante del gen *ALK*, localizado en el cromosoma 2p23 y que da lugar a una proteína con actividad tirosín-quinasa, queda yuxtapuesta a las secuencias promotoras y parte de las codificantes del gen *NPM*, localizado en 5q35. El resultado es una proteína de fusión *de novo* NPM/ALK, transcrita a partir de las regiones codificantes fusionadas de ambos genes, sobreexpresada por acción de las secuencias promotoras del gen *NPM* (168). En el restante 25% de los casos se observan diversas traslocaciones "promiscuas" que afectan de forma común a 2p23 y por otro lado a múltiples genes representados en la figura 1.

La proteína NPM/ALK tiene actividad tirosín-quinasa capaz de estimular la proliferación e inhibir la apoptosis de las células afectadas (169-171). De forma fisiológica, las proteínas tirosín-quinasa requieren ser activadas a través de un proceso de oligomerización (172). Sin embargo la proteína NPM/ALK, se encuentra activada constitutivamente por efecto de la porción derivada de NPM, que favorece la oligomerización constitutiva de la proteína de fusión (169). Por este motivo, los efectos oncogénicos de la proteína NPM/ALK requieren ambos segmentos de la proteína. Así, deleciones o mutaciones de una u otra parte inhiben su potencial oncogénico (169-171).

No obstante, aunque la expresión de ALK juega un papel primordial en la oncogénesis en linfomas T anaplásicos, probablemente no sea suficiente para producir la transformación neoplásica. El estudio de ratones transfectados con genes *ALK*, demuestra que se requieren largos periodos de tiempo para dar lugar a neoplasias, por lo que es probable que se necesiten otros eventos secundarios no conocidos en la actualidad para completar la linfomagénesis (173). Otro argumento de que esto es realmente lo que sucede, viene dado por la presencia de proteínas de fusión ALK+ en infiltrados linfoides reactivos y en sangre, periférica de individuos sin evidencia de neoplasias (174, 175).

La importancia diagnóstica de la detección de la expresión de ALK radica en el hecho de que su promotor no es activo en células linfoides normales. Por lo tanto la detección por inmunohistoquímica de esta proteína en una población linfoide, implica la presencia de traslocaciones que afectan a ese gen. Sin embargo, la tinción por inmunohistoquímica de ALK, no es enteramente exclusiva o específica de tumores que presentan reordenamientos ALK. En algún caso de LDCGB se puede expresar la proteína ALK completa (176). Es llamativo que el comportamiento de estos linfomas B que expresan ALK, es diferente del habitual en los linfomas T anaplásicos ALK+ (177).

La importancia de la expresión de ALK en un linfoma T anaplásico radica en su valor pronóstico. A pesar de su habitual presentación en individuos jóvenes, varios autores han observado en estudios multivariantes un peor pronóstico para los linfomas ALK negativos de forma independiente a la edad (177-181). Este ha hecho sugerir la conveniencia de establecer a los linfomas ALK+ como entidad diferenciada (Alkoma).

Desde el punto de vista terapéutico, la importancia patogénica de la activación constitutiva de esta tirosín-quinasa hace pensar que dicha actividad podría tratar de inhibirse, de forma similar a lo experimentado en otras neoplasias (leucemia mieloide crónica o tumores gastrointestinales del estroma), donde las tirosín-quinasa involucradas (BCR/ABL y c-KIT respectivamente) pueden ser inhibidas por fármacos con actividad antitumoral eficaz (182,183). En estos momentos, los resultados en laboratorio parecen objetivar que ése es en efecto el caso (184), sin embargo esta hipótesis precisa todavía ser probada *in vivo*.

Análogamente a otros tipos de linfomas, la aplicación de los sistema de detección de este reordenamiento para el estudio de la EMR necesita todavía la experiencia de ensayos prospectivos capaces de calibrar su valor y de consensuar sus aspectos técnicos fundamentales.

LINFOMAS NO HODGKIN EN PACIENTES CON SIDA

Los linfomas no Hodgkin en pacientes con SIDA presentan en mayor o menor medida las alteraciones estructurales genéticas que se observan en los linfomas que afectan al huésped inmunocompetente. Entre estas alteraciones se han observado reordenamientos del gen *c-myc*, en aproximadamente el 75% de los casos en los tres tipos morfológicos fundamentales: linfoma de Burkitt, LDCGB e inmunoblástico (185). Delecluse y cols. (186) sugieren que el LDCGB e inmunoblástico pueden ser en realidad subtipos de linfoma de Burkitt asociado a SIDA que ha adoptado una morfología de célula grande o inmunoblástica en el contexto de una alteración en la inmunovigilancia. La mayor parte de linfomas Burkitt asociados al SIDA exhiben, como se ha mencionado, reordenamientos del gen *c-myc*, pero muchos de ellos a diferencia del huésped inmunocompetente no contienen secuencias del VEB (187).

Otros genes como el asociado al HHV-8, *bcl-6*, *Ras* y *p53*, se afectan en grado diferente en los diferentes subtipos de linfomas asociados al SIDA. En la tabla IV se detallan estas alteraciones. Deleciones en el cromosoma 6 se observan con relativa frecuencia en los LDCGB y al parecer se asocian a un mal pronóstico (188). Existen dos regiones, (RMD-1: región de mínima deleción y RMD-2, situadas en 6q27 y 6q21-23 respectivamente. En dichas localizaciones pueden existir sendos oncogenes supresores, por lo que su deleción podría tener un papel importante en la linfomagénesis (189). Concretamente la deleción de RMD-2 en pacientes con LDCGB o inmunoblástico en pacientes con SIDA, se han observado hasta en un 25% de los casos desconociéndose por el momento el mecanismo preciso de esta lesión en la linfomagénesis (190).

Otro tipo de linfomas característicamente asociados al SIDA es el linfoma primario cerebral que, a diferencia de los linfomas sistémicos asociados al SIDA, característicamente contiene el genoma del VEB y no presenta reordenamientos del gen *c-myc* (191). El linfoma de cavidades casi siempre contiene secuencias del VEB y, sin embargo, no presenta alteraciones en otros genes típicamente involucrados en otros subtipos (192). De

TABLA IV
ALTERACIONES GENÉTICAS DE LOS LINFOMAS SISTÉMICOS ASOCIADOS A SIDA

Alteración genética	L. de Burkitt	L. tipo Burkitt	LDCGB	L. inmunoblástico
VEB	83%	40%	9%	50%
HHV-8	0%	0%	0%	15%
c-myc	84%	45%	50%	31%
bcl-6	0%	15%	25%	15%
ras	0%	5%	0%	8%
p53	50%	30%	17%	31%

gran interés sin embargo es su asociación constante en opinión de algunos autores con el virus HHV-8 que tendría un papel patogénico fundamental (193). Sin embargo se ha descrito algún caso típico de este linfoma sin la presencia de este virus (194). Otro linfoma que característicamente afecta a esta población es el plasmablástico del cual no se conoce su perfil genético en profundidad (195).

APLICACIONES CLÍNICAS Y ORIENTACIONES FUTURAS DE LA GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LOS SLP

El desarrollo actual de las terapéuticas aplicadas a los SLP, así como los buenos resultados clínicos alcanzados en muchas de las entidades, hacen imprescindible una progresiva profundización en los factores pronósticos, al diagnóstico y tras los tratamientos, que permita una optimización de los resultados clínicos con el menor grado posible de toxicidad.

En este sentido, las técnicas de estudio de las alteraciones genéticas y moleculares asociadas a los SLP, pueden aportar grandes avances en los próximos años. Por un lado, el análisis de los patrones de expresión génica a través de las técnicas de microarray, van a ayudar a definir con mayor precisión cada una de las entidades, así como ampliar de forma importante los conocimientos patogénicos y pronósticos. Por otro lado, las aplicaciones de las técnicas de biología molecular al estudio y monitorización de la EMR pueden facilitar al clínico una valoración mucho más precisa del grado de respuesta alcanzado, las posibilidades de recaída y la indicación de tratamientos de consolidación, mantenimiento o rescate precoces.

ESTUDIO DE LOS PATRONES DE EXPRESIÓN GÉNICA DE LOS SLP A TRAVÉS DE LAS TÉCNICAS DE MICROARRAY

El estudio de la expresión génica de los SLP va a tener importantes implicaciones en el conocimiento de este tipo de entidades y su tratamiento. Al igual que anteriormente ocurrió con la introducción de nuevas técnicas como la citometría de flujo, la citogenética o los estudios de biología molecular, los ensayos de hibridación en microarray van a permitir definir con mayor precisión los SLP (196). Chan y cols., demostraron que los patrones de expresión génica de diferentes SLP,

tales como LDCGB, LF o LLC-B, son diferentes y por tanto pueden ser utilizados para su diagnóstico (197). De esta forma se han descrito “firmas” de expresión génica propias de muchos SLP.

No obstante, estos estudios han permitido detectar también subgrupos con diferente patogenia y pronóstico dentro de cada entidad. Se ha determinado la existencia de al menos dos tipos de LDCGB: uno de buen pronóstico con un patrón de expresión génica centrogerminal B (CGB) y otro asociado a mal pronóstico con expresión de genes relacionados con células B activadas (CBA) *in vitro* (197,198). Las diferencias de expresión génica entre ambos grupos se ha cifrado aproximadamente en 1.000 genes, que es similar a la diferencia que existe entre las leucemias agudas mieloide y linfoide (199). El análisis de estas diferencias ha permitido identificar el papel de la vía de señalización NF-kB en los LDCGB. NF-kB es una familia de factores de transcripción que intervienen en las respuestas inmunológicas y generan señales antiapoptóticas (200). Resultados recientes han demostrado que existe una alta expresión de los genes diana de la vía NF-kB en los LDCGB del grupo CBA pero no en el grupo CGB (201) y que dicha vía puede ser la responsable del peor pronóstico del grupo CBA al inhibir los mecanismos de apoptosis que la quimioterapia habitualmente desencadena (200). Llamativamente se ha comprobado que la inhibición de esta vía tiene actividad citotóxica *per se* en las linfomas CBA y no en los CGB (201), por lo que en la actualidad se están probando fármacos como los inhibidores del proteosoma (PS341) capaces de bloquearla.

En función de estos resultados es posible que se pueda predecir el grado de respuesta que se obtendrá con las diferentes terapéuticas y, de esta forma, poder individualizar dicho tratamiento. En este sentido se están desarrollando trabajos que analizan la respuesta a diferentes regímenes de tratamiento en base a los patrones de expresión génica, como el de Shipp y cols., que estudia LDCGB tratados con el esquema CHOP y determina supervivencias globales a los 5 años radicalmente diferentes (70 *versus* 12%) entre los grupos CGB y CBA (202). Teniendo en cuenta estos resultados, podrían tomarse decisiones terapéuticas diferenciadas para mejorar la supervivencia de estos pacientes, o bien implementarse terapias específicas de las vías patogénicas implicadas en cada subgrupo, como el PS341 en los LDCGB CBA.

En la LLC-B las técnicas de microarray han permitido definir también dos grupos pronósticos que se correlacionan de forma casi total con la presencia de hipermutación somática en los genes de las inmunoglobulinas y que definen dos orígenes patogénicos diferentes (18,203). Asimismo han permitido identificar genes aislados relacionados con el estado mutacional de los genes de las inmunoglobulinas, tales como el ZAP70, de forma que se puedan diseñar métodos diagnósticos para su valoración, más sencillos que las técnicas de secuenciación.

En linfomas foliculares también se han realizado estudios que han permitido caracterizar muchos de los genes expresados en los linfomas foliculares y que pueden estar relacionados en los procesos de transformación hacia LDCGB (204,205). Incluso se han descrito patrones de expresión génica ligados a la actividad inmunológica del paciente que influyen en el grado de respuesta ante tratamientos inmunoterápicos como la administración de anti-CD20 (206). En el linfoma del manto, se ha demostrado una inhibición de múltiples genes relacionados con la apoptosis y que puede contribuir activamente a su patogenia de forma adicional a la conocida sobreexpresión de ciclina D1 (207). También se han identificado al menos 2 grupos en función de su perfil de expresión génica (208).

APLICACIONES DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR AL ESTUDIO DE LA EMR

El concepto de EMR implica la persistencia tras los tratamientos de células malignas residuales no detectables por los medios clínicos, radiológicos o patológicos habituales, y que pueden dar lugar eventualmente a la recaída de la enfermedad. En su detección se han aplicado diversas técnicas tales como la morfología o citoquímica convencionales, la citometría de flujo, el cariotipado convencional o la FISH, que pueden identificar hasta un 1 célula maligna entre 100 y 500 normales. Sin embargo, los grandes avances en el estudio de la EMR sólo se alcanzaron tras la introducción de las técnicas de PCR, merced a su gran sensibilidad que amplió la capacidad de detección hasta 1 célula neoplásica entre 104 y 108 células normales (209).

En el campo de los SLP el estudio de la EMR se puede realizar de dos formas principales: a) la detección inespecífica de monoclonalidad linfoide B o T, a través del estudio de los reordenamientos de los genes de las inmunoglobulinas o del receptor de las células T210; b) la identificación específica de determinados reordenamientos bien definidos y asociados a entidades concretas, tales como los derivados de la t(14;18) o la t(11;14). Dichos estudios pueden ser realizados de forma cualitativa con PCR convencional o bien a través de métodos cuantitativos (PCR en tiempo real), que permiten conocer el número de copias de los reordenamientos patológicos, tales como los de bcl-1 y bcl-2, que existen por microgramo de ADN (211-215). Recientemente, se ha descrito también una técnica capaz de cuantificar el número de transcritos de ARN de la ciclina D1, aunque existe muy poca experiencia en relación con su utilidad clínica (216).

Existen múltiples trabajos que han estudiado la utilidad clínica de la PCR cualitativa y cuantitativa en la monitorización de la EMR en los linfomas foliculares y del manto. De forma llamativa existe un cierto grado de discrepancia en relación con el valor pronóstico de las respuestas moleculares. Por un lado varios autores han comunicado un impacto positivo sobre la SLE en aquellos pacientes con linfoma folicular o del manto que alcanzan la respuesta molecular en sangre periférica, médula ósea o productos de aféresis (217) tras tratamiento quimioterápico convencional (218,219), trasplante autólogo (215,220,221) o alogénico (222). Sin embargo, otros trabajos no han logrado constatar esta relación pronóstica positiva (223,224). Además se ha descrito una importante proporción de individuos sanos en los cuales es posible detectar la t(14;18) y su reordenamiento a través de estas técnicas de biología molecular sin que se asocia a una ulterior aparición del linfoma (63-66).

Existen varias explicaciones posibles en relación con estos hechos. En primer lugar, como se ha podido constatar en un trabajo multicéntrico reciente, pueden existir diferencias en el nivel de sensibilidad o especificidad de los diferentes laboratorios implicados en los estudios, en particular en el caso de la PCR cualitativa convencional (225). En segundo lugar, es posible que la t(14;18) no sea suficiente para generar la transformación neoplásica y que existan otros eventos genéticos añadidos necesarios o bien exista un control diferente por parte de los sistemas de inmunovigilancia. En tercer lugar, es posible que en algunos casos, las células residuales que queden, o bien no sean clonogénicas o hayan iniciado un proceso de apoptosis, con lo cual no sean capaces de provocar una recidiva neoplásica. En cuarto lugar, por los motivos anteriores, es posible que lo fundamental no sea alcanzar una respuesta molecular completa sino más bien que el nivel de EMR se mantenga estable. En este sentido, varios trabajos basados en PCR cuantitativa han objetivado que aquellos pacientes que después de tratamiento mantienen niveles estables de EMR, se asocian con SLE superiores a aquéllos cuyos niveles de EMR son crecientes (215,221). También es posible que se pueda determinar un punto de corte a partir del cual la probabilidad de recaída o progresión de enfermedad sea significativa.

En cualquier caso, estamos en una situación en la que cualquier decisión clínica o terapéutica que se tome en relación con los estudios de EMR debe de ser valorada con la debida cautela o bien en el seno de ensayos clínicos. Al menos hasta que se acumule la suficiente experiencia clínica, a lo cual ayudará en buena medida la utilización de las nuevas técnicas de PCR cuantitativa.

CONCLUSIONES

En conclusión podemos decir que las técnicas de citogenética y biología molecular han sido y son fundamentales para el conocimiento fisiopatológico, diagnóstico y terapéutico de los síndromes linfoproliferativos, desde los estudios más sencillos de monoclonalidad lin-

foide B o T, hasta la identificación y monitorización de sus múltiples alteraciones genéticas. No obstante queda un gran trabajo por hacer en relación con la definición de la utilidad clínica del estudio de los patrones de expresión génica y de la monitorización de la EMR.

Por un lado, la aplicación de las nuevas tecnologías de cribado genético va a desempeñar un papel fundamental en el ordenamiento funcional de los diferentes subtipos de linfomas, así como en el conocimiento de su fisiopatología. Esto permitirá profundizar en los mecanismos de linfomagénesis de cada una de las entidades, que eventualmente se puede traducir en la identificación de nuevas dianas terapéuticas. Todo ello, correlacionado con los resultados clínicos ante diferentes tratamientos, permitirá la obtención de datos pronósticos más precisos y una individualización de los tratamientos. Por otro lado, el conocimiento del papel de la EMR en la evolución clínica de los linfomas y su relación con

factores del huésped, es imprescindible para poder realizar un seguimiento mucho más preciso, así como implementar terapias de rescate precoz o mantenimiento adecuadas. Sin lugar a dudas, a través de un uso racional de estas técnicas vamos a asistir a un cambio radical en la forma de diagnosticar, monitorizar y tratar estas neoplasias en los próximos años.

CORRESPONDENCIA:

J. Rodríguez
Servicio de Hematología
Hospital Son Dureta
Avenida Andrea Doria, 55
07014 Palma de Mallorca

BIBLIOGRAFÍA

- Mitelman F, Mertens F, Johansson B. A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. *Nat Genet* 1997; 15 Spec No: 417-74.
- Eshleman JR, Markowitz SD. Microsatellite instability in inherited and sporadic neoplasms. *Curr Opin Oncol* 1995; 7: 83-9.
- Gamberi B, Gaidano G, Parsa N, et al. Microsatellite instability is rare in B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1997; 89: 975-9.
- Juliussen G, Oscier DG, Fitchett M, et al. Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N Engl J Med* 1990; 323: 720-4.
- Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343: 1910-6.
- Offit K, Louie DC, Parsa NZ, et al. Clinical and morphologic features of B-cell small lymphocytic lymphoma with del(6)(q21q23). *Blood* 1994; 83: 2611-8.
- Fegan C, Robinson H, Thompson P, et al. Karyotypic evolution in CLL: identification of a new sub-group of patients with deletions of 11q and advanced or progressive disease. *Leukemia* 1995; 9: 2003-8.
- Neilson JR, Auer R, White D, et al. Deletions at 11q identify a subset of patients with typical CLL who show consistent disease progression and reduced survival. *Leukemia* 1997; 11: 1929-32.
- Starostik P, Manshoury T, S OB, et al. Deficiency of the ATM protein expression defines an aggressive subgroup of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Res* 1998; 58: 4552-7.
- Cuneo A, Bigoni R, Rigolin GM, et al. Late appearance of the 11q22.3-23.1 deletion involving the ATM locus in B-cell chronic lymphocytic leukemia and related disorders. Clinico-biological significance. *Haematologica* 2002; 87: 44-51.
- El Rouby S, Thomas A, Costin D, et al. p53 gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia is associated with drug resistance and is independent of Mdr1/Mdr3 gene expression. *Blood* 1993; 82: 3452-9.
- Dohner H, Fischer K, Bentz M, et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 1995; 85: 1580-9.
- Gaidano G, Ballerini P, Gong JZ, et al. p53 mutations in human lymphoid malignancies: association with Burkitt lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5413-7.
- Bullrich F, Veronese ML, Kitada S, et al. Minimal region of loss at 13q14 in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1996; 88: 3109-15.
- Kalachikov S, Migliazza A, Cayanis E, et al. Cloning and gene mapping of the chromosome 13q14 region deleted in chronic lymphocytic leukemia. *Genomics* 1997; 42: 369-77.
- Corcoran MM, Rasool O, Liu Y, et al. Detailed molecular delineation of 13q14.3 loss in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1998; 91: 1382-90.
- Fais F, Ghiotto F, Hashimoto S, et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest* 1998; 102: 1515-25.
- Hamblyn TJ, Davis Z, Gardiner A, et al. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94: 1848-54.
- Krober A, Seiler T, Benner A, et al. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 100: 1410-6.
- Offit K, Parsa NZ, Filippa D, et al. t(9; 14)(p13; q32) denotes a subset of low-grade non-Hodgkin's lymphoma with plasmacytoid differentiation. *Blood* 1992; 80: 2594-9.
- Lida S, Rao PH, Nallasivam P, et al. The t(9; 14)(p13; q32) chromosomal translocation associated with lymphoplasmacytoid lymphoma involves the PAX-5 gene. *Blood* 1996; 88: 4110-7.
- Michaelson JS, Singh M, Birshtein BK. B cell lineage-specific activator protein (BSAP). A player at multiple stages of B cell development. *J Immunol* 1996; 156: 2349-51.
- Mansoor A, Medeiros LJ, Weber DM, et al. Cytogenetic findings in lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenstrom macroglobulinemia. Chromosomal abnormalities are associated with the polymorphous subtype and an aggressive clinical course. *Am J Clin Pathol* 2001; 116: 543-9.
- Tsujimoto Y, Yunis J, Onorato-Showe L, et al. Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t(11; 14) chromosome translocation. *Science* 1984; 224: 1403-6.
- Erikson J, Finan J, Tsujimoto Y, et al. The chromosome 14 breakpoint in neoplastic B cells with the t(11; 14) translocation involves the immunoglobulin heavy chain locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 4144-8.
- Tsujimoto Y, Jaffe E, Cossman J, et al. Clustering of breakpoints on chromosome 11 in human B-cell neoplasms with the t(11; 14) chromosome translocation. *Nature* 1985; 315: 340-3.
- Motokura T, Bloom T, Kim HG, et al. A novel cyclin enco-

- ded by a bcl1-linked candidate oncogene. *Nature* 1991; 350: 512-5.
28. Withers DA, Harvey RC, Faust JB, et al. Characterization of a candidate bcl-1 gene. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 4846-53.
 29. Rosenberg CL, Wong E, Petty EM, et al. PRAD1, a candidate BCL1 oncogene: mapping and expression in centrocytic lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 9638-42.
 30. Stilgenbauer S, Nickolenko J, Wilhelm J, et al. Expressed sequences as candidates for a novel tumor suppressor gene at band 13q14 in B-cell chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma. *Oncogene* 1998; 16: 1891-7.
 31. Louie DC, Offit K, Jaslow R, et al. p53 overexpression as a marker of poor prognosis in mantle cell lymphomas with t(11; 14)(q13; q32). *Blood* 1995; 86: 2892-9.
 32. Hernández L, Fest T, Cazorla M, et al. p53 gene mutations and protein overexpression are associated with aggressive variants of mantle cell lymphomas. *Blood* 1996; 87: 3351-9.
 33. Greiner TC, Moynihan MJ, Chan WC, et al. p53 mutations in mantle cell lymphoma are associated with variant cytology and predict a poor prognosis. *Blood* 1996; 87: 4302-10.
 34. Koduru PR, Raju K, Vadmal V, et al. Correlation between mutation in P53, p53 expression, cytogenetics, histologic type, and survival in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90: 4078-91.
 35. Dreyling MH, Bullinger L, Ott G, et al. Alterations of the cyclin D1/p16-pRB pathway in mantle cell lymphoma. *Cancer Res* 1997; 57: 4608-14.
 36. Pinyol M, Cobo F, Bea S, et al. p16(Ink4a) gene inactivation by deletions, mutations, and hypermethylation is associated with transformed and aggressive variants of non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1998; 91: 2977-84.
 37. Hernández L, Hernández S, Bea S, et al. c-myc mRNA expression and genomic alterations in mantle cell lymphomas and other nodal non-Hodgkin's lymphomas. *Leukemia* 1999; 13: 2087-93.
 38. Monni O, Zhu Y, Franssila K, et al. Molecular characterization of deletion at 11q22.1-23.3 in mantle cell lymphoma. *Br J Haematol* 1999; 104: 665-71.
 39. Stilgenbauer S, Winkler D, Ott G, et al. Molecular characterization of 11q deletions points to a pathogenic role of the ATM gene in mantle cell lymphoma. *Blood* 1999; 94: 3262-4.
 40. Schaffner C, Idler I, Stilgenbauer S, et al. Mantle cell lymphoma is characterized by inactivation of the ATM gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2773-8.
 41. Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P, et al. Cloning the chromosomal breakpoint of t(14; 18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell* 1985; 41: 899-906.
 42. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14; 18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226: 1097-9.
 43. Cleary ML, Sklar J. Nucleotide sequence of a t(14; 18) chromosomal breakpoint in follicular lymphoma and demonstration of a breakpoint-cluster region near a transcriptionally active locus on chromosome 18. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7439-43.
 44. Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988; 335: 440-2.
 45. Núñez G, Seto M, Seremetis S, et al. Growth- and tumor-promoting effects of deregulated BCL2 in human B-lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 4589-93.
 46. Hockenbery D, Nunez G, Millman C, et al. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348: 334-6.
 47. McDonnell TJ, Deane N, Platt FM, et al. bcl-2-immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation. *Cell* 1989; 57: 79-88.
 48. Cleary ML, Galili N, Sklar J. Detection of a second t(14; 18) breakpoint cluster region in human follicular lymphomas. *J Exp Med* 1986; 164: 315-20.
 49. Wang YL, Addya K, Edwards RH, et al. Novel bcl-2 breakpoints in patients with follicular lymphoma. *Diagn Mol Pathol* 1998; 7: 85-9.
 50. Buchonnet G, Lenain P, Ruminy P, et al. Characterisation of BCL2-JH rearrangements in follicular lymphoma: PCR detection of 3' BCL2 breakpoints and evidence of a new cluster. *Leukemia* 2000; 14: 1563-9.
 51. Buchonnet G, Jardin F, Jean N, et al. Distribution of BCL2 breakpoints in follicular lymphoma and correlation with clinical features: specific subtypes or same disease? *Leukemia* 2002; 16: 1852-6.
 52. Lee MS, Chang KS, Cabanillas F, et al. Detection of minimal residual cells carrying the t(14; 18) by DNA sequence amplification. *Science* 1987; 237: 175-8.
 53. Hsi ED, Tubbs RR, Lovell MA, et al. Detection of bcl-2/J(H) translocation by polymerase chain reaction: a summary of the experience of the Molecular Oncology Survey of the College of American Pathologist. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 902-8.
 54. Albinger-Hegy A, Hochreutener B, Abdou MT, et al. High frequency of t(14; 18)-translocation breakpoints outside of major breakpoint and minor cluster regions in follicular lymphomas: improved polymerase chain reaction protocols for their detection. *Am J Pathol* 2002; 160: 823-32.
 55. Horsman DE, Gascoyne RD, Coupland RW, et al. Comparison of cytogenetic analysis, southern analysis, and polymerase chain reaction for the detection of t(14; 18) in follicular lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 472-8.
 56. Pezzella F, Gatter KC, Mason DY, et al. Bcl-2 protein expression in follicular lymphomas in absence of 14; 18 translocation. *Lancet* 1990; 336: 1510-1.
 57. Seite P, Hillion J, d'Agay MF, et al. BCL2 gene activation and protein expression in follicular lymphoma: a report on 64 cases. *Leukemia* 1993; 7: 410-7.
 58. Papakonstantinou G, Verbeke C, Hastka J, et al. bcl-2 expression in non-Hodgkin's lymphomas is not associated with bcl-2 gene rearrangements. *Br J Haematol* 2001; 113: 383-90.
 59. Ngan BY, Chen-Levy Z, Weiss LM, et al. Expression in non-Hodgkin's lymphoma of the bcl-2 protein associated with the t(14; 18) chromosomal translocation. *N Engl J Med* 1988; 318: 1638-44.
 60. Lai R, Arber DA, Chang KL, et al. Frequency of bcl-2 expression in non-Hodgkin's lymphoma: a study of 778 cases with comparison of marginal zone lymphoma and monocytoid B-cell hyperplasia. *Mod Pathol* 1998; 11: 864-9.
 61. Johnson A, Brun A, Dictor M, et al. Incidence and prognostic significance of t(14; 18) translocation in follicle center cell lymphoma of low and high grade. A report from southern Sweden. *Ann Oncol* 1995; 6: 789-94.
 62. López-Guillermo A, Cabanillas F, McDonnell TI, et al. Correlation of bcl-2 rearrangement with clinical characteristics and outcome in indolent follicular lymphoma. *Blood* 1999; 93: 3081-7.
 63. Limpens J, de Jong D, van Krieken JH, et al. Bcl-2/JH rearrangements in benign lymphoid tissues with follicular hyperplasia. *Oncogene* 1991; 6: 2271-6.
 64. Liu Y, Hernández AM, Shibata D, et al. BCL2 translocation frequency rises with age in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8910-4.
 65. Limpens J, Stad R, Vos C, et al. Lymphoma-associated translocation t(14; 18) in blood B cells of normal individuals. *Blood* 1995; 85: 2528-36.
 66. Summers KE, Goff LK, Wilson AG, et al. Frequency of the Bcl-2/IgH rearrangement in normal individuals: implications for the monitoring of disease in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 420-4.
 67. Biagi JJ, Seymour JF. Insights into the molecular pathogenesis of follicular lymphoma arising from analysis of geographic variation. *Blood* 2002; 99: 4265-75.
 68. Bloomfield CD, Arthur DC, Frizzera G, et al. Nonrandom chromosome abnormalities in lymphoma. *Cancer Res* 1983; 43: 2975-84.
 69. Yunis JJ, Mayer MG, Arnesen MA, et al. bcl-2 and other genomic alterations in the prognosis of large-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1989; 320: 1047-54.
 70. Yunis JJ, Frizzera G, Oken MM, et al. Multiple recurrent genomic defects in follicular lymphoma. A possible model for cancer. *N Engl J Med* 1987; 316: 79-84.
 71. Lo Coco F, Gaidano G, Louie DC, et al. p53 mutations are

- associated with histologic transformation of follicular lymphoma. *Blood* 1993; 82: 2289-95.
72. Sander CA, Yano T, Clark HM, et al. p53 mutation is associated with progression in follicular lymphomas. *Blood* 1993; 82: 1994-2004.
 73. Tilly H, Rossi A, Stamatoullas A, et al. Prognostic value of chromosomal abnormalities in follicular lymphoma. *Blood* 1994; 84: 1043-9.
 74. Gaidano G, Hauptschein RS, Parsa NZ, et al. Deletions involving two distinct regions of 6q in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 1992; 80: 1781-7.
 75. Yano T, Jaffe ES, Longo DL, et al. MYC rearrangements in histologically progressed follicular lymphomas. *Blood* 1992; 80: 758-67.
 76. Lossos IS, Levy R. Higher-grade transformation of follicle center lymphoma is associated with somatic mutation of the 5' noncoding regulatory region of the BCL-6 gene. *Blood* 2000; 96: 635-9.
 77. Bastard C, Deweindt C, Kerckaert JP, et al. LAZ3 rearrangements in non-Hodgkin's lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 217 patients. *Blood* 1994; 83: 2423-7.
 78. Jardin F, Buchonnet G, Contentin N, et al. Follicular lymphoma (FL) with BCL6 rearrangement: a lymphoma subtype with distinct pathological, molecular and clinical characteristics. *Blood* 2001; 98: 723a.
 79. Wotherspoon AC, Doglioni C, Diss TC, et al. Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993; 342: 575-7.
 80. Chan JK, Ng CS, Isaacson PG. Relationship between high-grade lymphoma and low-grade B-cell mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (MALToma) of the stomach. *Am J Pathol* 1990; 136: 1153-64.
 81. Peng H, Du M, Diss TC, et al. Genetic evidence for a clonal link between low and high-grade components in gastric MALT B-cell lymphoma. *Histopathology* 1997; 30: 425-9.
 82. Auer IA, Gascoyne RD, Connors JM, et al. t(11; 18)(q21; q21) is the most common translocation in Malt lymphomas. *Ann Oncol* 1997; 8: 979-85.
 83. Ott G, Katzenberger T, Greiner A, et al. The t(11; 18)(q21; q21) chromosome translocation is a frequent and specific aberration in low-grade but not high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas of the mucosa-associated lymphoid tissue (MALT-) type. *Cancer Res* 1997; 57: 3944-8.
 84. Dierlamm J, Baens M, Wlodarska I, et al. The apoptosis inhibitor gene API2 and a novel 18q gene, MLT, are recurrently rearranged in the t(11; 18)(q21; q21)p6 associated with mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas. *Blood* 1999; 93: 3601-9.
 85. Akagi T, Tamura A, Motegi M, et al. Molecular cytogenetic delineation of the breakpoint at 18q21.1 in low-grade B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 24: 315-21.
 86. Kalla J, Stilgenbauer S, Schaffner C, et al. Heterogeneity of the API2-MALT1 gene rearrangement in MALT-type lymphoma. *Leukemia* 2000; 14: 1967-74.
 87. Starostik P, Patzner J, Greiner A, et al. Gastric marginal zone B-cell lymphomas of MALT type develop along 2 distinct pathogenetic pathways. *Blood* 2002; 99: 3-9.
 88. Shayesteh L, Lu Y, Kuo WL, et al. PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer. *Nat Genet* 1999; 21: 99-102.
 89. Barth TF, Bentz M, Leithauser F, et al. Pathogenic complexity of gastric B-cell lymphoma. *Blood* 2002; 100: 1095-6; discussion 1096-7.
 90. Willis TG, Jadayel DM, Du MQ, et al. Bcl10 is involved in t(1; 14)(p22; q32) of MALT B cell lymphoma and mutated in multiple tumor types. *Cell* 1999; 96: 35-45.
 91. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361-92.
 92. Volpe G, Vitolo U, Carbone A, et al. Molecular heterogeneity of B-lineage diffuse large cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1996; 16: 21-30.
 93. Liu YJ, Arpin C. Germinal center development. *Immunol Rev* 1997; 156: 111-26.
 94. Liu YJ, de Bouteiller O, Fugier-Vivier I. Mechanisms of selection and differentiation in germinal centers. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 256-62.
 95. Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature* 2001; 412: 341-6.
 96. Chang CC, Ye BH, Chaganti RS, et al. BCL-6, a POZ/zinc-finger protein, is a sequence-specific transcriptional repressor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 6947-52.
 97. Cattoretti G, Chang CC, Cechova K, et al. BCL-6 protein is expressed in germinal-center B cells. *Blood* 1995; 86: 45-53.
 98. Barón BW, Nucifora G, McCabe N, et al. Identification of the gene associated with the recurring chromosomal translocations t(3; 14)(q27; q32) and t(3; 22)(q27; q11) in B-cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5262-6.
 99. Kerckaert JP, Deweindt C, Tilly H, et al. LAZ3, a novel zinc-finger encoding gene, is disrupted by recurring chromosome 3q27 translocations in human lymphomas. *Nat Genet* 1993; 5: 66-70.
 100. Miki T, Kawamata N, Arai A, et al. Molecular cloning of the breakpoint for 3q27 translocation in B-cell lymphomas and leukemias. *Blood* 1994; 83: 217-22.
 101. Ye BH, Lista F, Lo Coco F, et al. Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science* 1993; 262: 747-50.
 102. Ye BH, Rao PH, Chaganti RS, et al. Cloning of bcl-6, the locus involved in chromosome translocations affecting band 3q27 in B-cell lymphoma. *Cancer Res* 1993; 53: 2732-5.
 103. Lo Coco F, Ye BH, Lista F, et al. Rearrangements of the BCL6 gene in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1994; 83: 1757-9.
 104. Migliazza A, Martinotti S, Chen W, et al. Frequent somatic hypermutation of the 5' noncoding region of the BCL6 gene in B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 12520-4.
 105. Dallery E, Galieque-Zouitina S, Collyn-d'Hooghe M, et al. TTF, a gene encoding a novel small G protein, fuses to the lymphoma-associated LAZ3 gene by t(3; 4) chromosomal translocation. *Oncogene* 1995; 10: 2171-8.
 106. Galieque Zouitina S, Quief S, Hildebrand MP, et al. The B cell transcriptional coactivator BOB1/OBF1 gene fuses to the LAZ3/BCL6 gene by t(3; 11)(q27; q23.1) chromosomal translocation in a B cell leukemia line (Karpas 231). *Leukemia* 1996; 10: 579-87.
 107. Akasaka T, Miura I, Takahashi N, et al. A recurring translocation, t(3; 6)(q27; p21), in non-Hodgkin's lymphoma results in replacement of the 5' regulatory region of BCL6 with a novel H4 histone gene. *Cancer Res* 1997; 57: 7-12.
 108. Ye BH, Chaganti S, Chang CC, et al. Chromosomal translocations cause deregulated BCL6 expression by promoter substitution in B cell lymphoma. *Embo J* 1995; 14: 6209-17.
 109. Butler MP, Iida S, Capello D, et al. Alternative translocation breakpoint cluster region 5' to BCL-6 in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 2002; 62: 4089-94.
 110. Houldsworth J, Mathew S, Rao PH, et al. REL proto-oncogene is frequently amplified in extranodal diffuse large cell lymphoma. *Blood* 1996; 87: 25-9.
 111. Offit K, Parsa NZ, Jhanwar SC, et al. Clusters of chromosome 9 aberrations are associated with clinico-pathologic subsets of non-Hodgkin's lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1993; 7: 1-7.
 112. Knowles DM, Chamulak GA, Subar M, et al. Lymphoid neoplasia associated with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). The New York University Medical Center experience with 105 patients (1981-1986). *Ann Intern Med* 1988; 108: 744-53.
 113. Dalla-Favera R, Bregni M, Erikson J, et al. Human *c-myc* onc gene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 7824-7.
 114. Taub R, Kirsch I, Morton C, et al. Translocation of the *c-myc* gene into the immunoglobulin heavy chain locus in human Burkitt lymphoma and murine plasmacytoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 7837-41.
 115. Dalla-Favera R, Martinotti S, Gallo RC, et al. Translocation

- and rearrangements of the *c-myc* oncogene locus in human undifferentiated B-cell lymphomas. *Science* 1983; 219: 963-7.
116. Davis M, Malcolm S, Rabbits TH. Chromosome translocation can occur on either side of the *c-myc* oncogene in Burkitt lymphoma cells. *Nature* 1984; 308: 286-8.
 117. Hollis GF, Mitchell KF, Battey J, et al. A variant translocation places the lambda immunoglobulin genes 3' to the *c-myc* oncogene in Burkitt's lymphoma. *Nature* 1984; 307: 752-5.
 118. Bentley DL, Groudine M. A block to elongation is largely responsible for decreased transcription of *c-myc* in differentiated HL60 cells. *Nature* 1986; 321: 702-6.
 119. Zajac-Kaye M, Levens D. Phosphorylation-dependent binding of a 138-kDa *myc* intron factor to a regulatory element in the first intron of the *c-myc* gene. *J Biol Chem* 1990; 265: 4547-51.
 120. Cesarman E, Dalla-Favera R, Bentley D, et al. Mutations in the first exon are associated with altered transcription of *c-myc* in Burkitt lymphoma. *Science* 1987; 238: 1272-5.
 121. Zajac-Kaye M, Gelmann EP, Levens D. A point mutation in the *c-myc* locus of a Burkitt lymphoma abolishes binding of a nuclear protein. *Science* 1988; 240: 1776-80.
 122. Flinn EM, Busch CM, Wright AP. *myc* boxes, which are conserved in *myc* family proteins, are signals for protein degradation via the proteasome. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 5961-9.
 123. Salghetti SE, Kim SY, Tansey WP. Destruction of *Myc* by ubiquitin-mediated proteolysis: cancer-associated and transforming mutations stabilize *Myc*. *Embo J* 1999; 18: 717-26.
 124. Bahram F, von der Lehr N, Cetinkaya C, et al. *c-Myc* hot spot mutations in lymphomas result in inefficient ubiquitination and decreased proteasome-mediated turnover. *Blood* 2000; 95: 2104-10.
 125. Gregory MA, Hann SR. *c-Myc* proteolysis by the ubiquitin-proteasome pathway: stabilization of *c-Myc* in Burkitt's lymphoma cells. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 2423-35.
 126. Amati B, Dalton S, Brooks MW, et al. Transcriptional activation by the human *c-Myc* oncoprotein in yeast requires interaction with Max. *Nature* 1992; 359: 423-6.
 127. Henriksson M, Luscher B. Proteins of the *Myc* network: essential regulators of cell growth and differentiation. *Adv Cancer Res* 1996; 68: 109-82.
 128. Mateyak MK, Obaya AJ, Sedivy JM. *c-Myc* regulates cyclin D-Cdk4 and -Cdk6 activity but affects cell cycle progression at multiple independent points. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 4672-83.
 129. Yokoyama K, Imamoto F. Transcriptional control of the endogenous *MYC* protooncogene by antisense RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7363-7.
 130. Karn J, Watson JV, Lowe AD, et al. Regulation of cell cycle duration by *c-myc* levels. *Oncogene* 1989; 4: 773-87.
 131. Li LH, Nerlov C, Prendergast G, et al. *c-Myc* represses transcription *in vivo* by a novel mechanism dependent on the initiator element and *Myc* box II. *Embo J* 1994; 13: 4070-9.
 132. Mink S, Mutschler B, Weiskirchen R, et al. A novel function for *Myc*: inhibition of C/EBP-dependent gene activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 6635-40.
 133. Shim H, Dolde C, Lewis BC, et al. *c-Myc* transactivation of *Ldh-a*: implications for tumor metabolism and growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 6658-63.
 134. Wu KJ, Polack A, Dalla-Favera R. Coordinated regulation of iron-controlling genes, H-ferritin and IRP2, by *c-MYC*. *Science* 1999; 283: 676-9.
 135. Mai S, Jalava A. *c-Myc* binds to 5' flanking sequence motifs of the dihydrofolate reductase gene in cellular extracts: role in proliferation. *Nucleic Acids Res* 1994; 22: 2264-73.
 136. Pusch O, Soucek T, Hengstschlager-Ottmad E, et al. Cellular targets for activation by *c-Myc* include the DNA metabolism enzyme thymidine kinase. *DNA Cell Biol* 1997; 16: 737-47.
 137. Bello-Fernández C, Packham G, Cleveland JL. The ornithine decarboxylase gene is a transcriptional target of *c-Myc*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7804-8.
 138. Schuldiner O, Eden A, Ben-Yosef T, et al. ECA39, a conserved gene regulated by *c-Myc* in mice, is involved in G1/S cell cycle regulation in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7143-8.
 139. Rosenwald IB, Rhoads DB, Callanan LD, et al. Increased expression of eukaryotic translation initiation factors eIF-4E and eIF-2 alpha in response to growth induction by *c-myc*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6175-8.
 140. Zindy F, Eischen CM, Randle DH, et al. *Myc* signaling via the ARF tumor suppressor regulates p53-dependent apoptosis and immortalization. *Genes Dev* 1998; 12: 2424-33.
 141. Eischen CM, Weber JD, Roussel MF, et al. Disruption of the ARF-Mdm2-p53 tumor suppressor pathway in *Myc*-induced lymphomagenesis. *Genes Dev* 1999; 13: 2658-69.
 142. Bissonnette RP, Echeverri F, Mahboubi A, et al. Apoptotic cell death induced by *c-myc* is inhibited by *bcl-2*. *Nature* 1992; 359: 552-4.
 143. Fanidi A, Harrington EA, Evan GI. Cooperative interaction between *c-myc* and *bcl-2* proto-oncogenes. *Nature* 1992; 359: 554-6.
 144. Wang J, Xie LY, Allan S, et al. *Myc* activates telomerase. *Genes Dev* 1998; 12: 1769-74.
 145. Wu KJ, Grandori C, Amacker M, et al. Direct activation of TERT transcription by *c-MYC*. *Nat Genet* 1999; 21: 220-4.
 146. Coller HA, Grandori C, Tamayo P, et al. Expression analysis with oligonucleotide microarrays reveals that *MYC* regulates genes involved in growth, cell cycle, signaling, and adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3260-5.
 147. Zur Hausen H, Schulte-Holthausen H, Klein G, et al. EBV DNA in biopsies of Burkitt tumours and anaplastic carcinomas of the nasopharynx. *Nature* 1970; 228: 1056-8.
 148. Magrath I. The pathogenesis of Burkitt's lymphoma. *Adv Cancer Res* 1990; 55: 133-270.
 149. Hamilton-Dutoit SJ, Pallesen G. A survey of Epstein-Barr virus gene expression in sporadic non-Hodgkin's lymphomas. Detection of Epstein-Barr virus in a subset of peripheral T-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1992; 140: 1315-25.
 150. Raab-Traub N, Flynn K. The structure of the termini of the Epstein-Barr virus as a marker of clonal cellular proliferation. *Cell* 1986; 47: 883-9.
 151. Neri A, Barriga F, Inghirami G, et al. Epstein-Barr virus infection precedes clonal expansion in Burkitt's and acquired immunodeficiency syndrome-associated lymphoma. *Blood* 1991; 77: 1092-5.
 152. Gutiérrez MI, Bhatia K, Cherney B, et al. Intracloonal molecular heterogeneity suggests a hierarchy of pathogenetic events in Burkitt's lymphoma. *Ann Oncol* 1997; 8: 987-94.
 153. Niedobitek G, Herbst H, Young LS, et al. Patterns of Epstein-Barr virus infection in non-neoplastic lymphoid tissue. *Blood* 1992; 79: 2520-6.
 154. Goossens T, Klein U, Kuppers R. Frequent occurrence of deletions and duplications during somatic hypermutation: implications for oncogene translocations and heavy chain disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 2463-8.
 155. Klein G. Lymphoma development in mice and humans: diversity of initiation is followed by convergent cytogenetic evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 2442-6.
 156. Corn PG, Kuerbitz SJ, van Noesel MM, et al. Transcriptional silencing of the p73 gene in acute lymphoblastic leukemia and Burkitt's lymphoma is associated with 5' CpG island methylation. *Cancer Res* 1999; 59: 3352-6.
 157. Katzenellenbogen RA, Baylin SB, Herman JG. Hypermethylation of the DAP-kinase CpG island is a common alteration in B-cell malignancies. *Blood* 1999; 93: 4347-53.
 158. Klangby U, Okan I, Magnusson KP, et al. p16/Ink4a and p15/Ink4b gene methylation and absence of p16/Ink4a mRNA and protein expression in Burkitt's lymphoma. *Blood* 1998; 91: 1680-7.
 159. Capello D, Carbone A, Pastore C, et al. Point mutations of the BCL-6 gene in Burkitt's lymphoma. *Br J Haematol* 1997; 99: 168-70.
 160. Capello D, Vitolo U, Pasqualucci L, et al. Distribution and pattern of BCL-6 mutations throughout the spectrum of B-cell neoplasia. *Blood* 2000; 95: 651-9.
 161. Parsa NZ, Gaidano G, Mukherjee AB, et al. Cytogenetic and molecular analysis of 6q deletions in Burkitt's lymphoma cell lines. *Genes Chromosomes Cancer* 1994; 9: 13-8.
 162. Kornblau SM, Goodacre A, Cabanillas F. Chromosomal abnormalities in adult non-endemic Burkitt's lymphoma and leukemia: 22 new reports and a review of 148 cases from the literature. *Hematol Oncol* 1991; 9: 63-78.
 163. Le Beau MM, Bitter MA, Larson RA, et al. The t(2; 5)(p23; q35): a recurring chromosomal abnormality in Ki-1-positive

- anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia* 1989; 3: 866-70.
164. Kaneko Y, Frizzera G, Edamura S, et al. A novel translocation, t(2; 5)(p23; q35), in childhood phagocytic large T-cell lymphoma mimicking malignant histiocytosis. *Blood* 1989; 73: 806-13.
 165. Rimokh R, Magaud JP, Berger F, et al. A translocation involving a specific breakpoint (q35) on chromosome 5 is characteristic of anaplastic large cell lymphoma ('Ki-1 lymphoma'). *Br J Haematol* 1989; 71: 31-6.
 166. Mason DY, Bastard C, Rimokh R, et al. CD30-positive large cell lymphomas ('Ki-1 lymphoma') are associated with a chromosomal translocation involving 5q35. *Br J Haematol* 1990; 74: 161-8.
 167. Duyster J, Bai RY, Morris SW. Translocations involving anaplastic lymphoma kinase (ALK). *Oncogene* 2001; 20: 5623-37.
 168. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB, et al. Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 1994; 263: 1281-4.
 169. Bischof D, Pulford K, Peschel C, et al. Role of the nucleophosmin (NPM) portion of the non-Hodgkin's lymphoma-associated NPM-anaplastic lymphoma kinase fusion protein in oncogenesis. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 2312-25.
 170. Bai RY, Dieter P, Peschel C, et al. Nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase of large-cell anaplastic lymphoma is a constitutively active tyrosine kinase that utilizes phospholipase C-gamma to mediate its mitogenicity. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 6951-61.
 171. Fujimoto J, Shiota M, Iwahara T, et al. Characterization of the transforming activity of p80, a hyperphosphorylated protein in a Ki-1 lymphoma cell line with chromosomal translocation t(2; 5). *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4181-6.
 172. Rodrigues GA, Park M. Oncogenic activation of tyrosine kinases. *Curr Opin Genet Dev* 1994; 4: 15-24.
 173. Kuefer MU, Look AT, Pulford K, et al. Retrovirus-mediated gene transfer of NPM-ALK causes lymphoid malignancy in mice. *Blood* 1997; 90: 2901-10.
 174. Trumper L, Pfreundschuh M, Bonin FV, et al. Detection of the t(2; 5)-associated NPM/ALK fusion cDNA in peripheral blood cells of healthy individuals. *Br J Haematol* 1998; 103: 1138-44.
 175. Maes B, Vanhentenrijk V, Wlodarska I, et al. The NPM-ALK and the ATIC-ALK fusion genes can be detected in non-neoplastic cells. *Am J Pathol* 2001; 158: 2185-93.
 176. Delsol G, Lamant L, Mariame B, et al. A new subtype of large B-cell lymphoma expressing the ALK kinase and lacking the 2; 5 translocation. *Blood* 1997; 89: 1483-90.
 177. Gascoyne RD, Aoun P, Wu D, et al. Prognostic significance of anaplastic lymphoma kinase (ALK) protein expression in adults with anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 1999; 93: 3913-21.
 178. Nakamura S, Shiota M, Nakagawa A, et al. Anaplastic large cell lymphoma: a distinct molecular pathologic entity: a reappraisal with special reference to p80(NPM/ALK) expression. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 1420-32.
 179. Shiota M, Nakamura S, Ichinohasama R, et al. Anaplastic large cell lymphomas expressing the novel chimeric protein p80NPM/ALK: a distinct clinicopathologic entity. *Blood* 1995; 86: 1954-60.
 180. Falini B, Pileri S, Zinzani PL, et al. ALK+ lymphoma: clinicopathological findings and outcome. *Blood* 1999; 93: 2697-706.
 181. Cataldo KA, Jalal SM, Law ME, et al. Detection of t(2; 5) in anaplastic large cell lymphoma: comparison of immunohistochemical studies, FISH, and RT-PCR in paraffin-embedded tissue. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 1386-92.
 182. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H, et al. Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med* 2001; 344: 1038-42.
 183. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 2001; 344: 1052-6.
 184. Ergin M, Denning MF, Izban KF, et al. Inhibition of tyrosine kinase activity induces caspase-dependent apoptosis in anaplastic large cell lymphoma with NPM-ALK (p80) fusion protein. *Exp Hematol* 2001; 29: 1082-90.
 185. Pelicci PG, Knowles DM, 2nd, Arlin ZA, et al. Multiple monoclonal B cell expansions and c-myc oncogene rearrangements in acquired immune deficiency syndrome-related lymphoproliferative disorders. Implications for lymphomagenesis. *J Exp Med* 1986; 164: 2049-60.
 186. Delecluse HJ, Raphael M, Magaud JP, et al. Variable morphology of human immunodeficiency virus-associated lymphomas with c-myc rearrangements. The French Study Group of Pathology for Human Immunodeficiency Virus-Associated Tumors, I. *Blood* 1993; 82: 552-63.
 187. Ballerini P, Gaidano G, Gong JZ, et al. Multiple genetic lesions in acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1993; 81: 166-76.
 188. Offit K, Wong G, Filippa DA, et al. Cytogenetic analysis of 434 consecutively ascertained specimens of non-Hodgkin's lymphoma: clinical correlations. *Blood* 1991; 77: 1508-15.
 189. Offit K, Parsa NZ, Gaidano G, et al. 6q deletions define distinct clinico-pathologic subsets of non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1993; 82: 2157-62.
 190. Gaidano G, Dalla-Favera R. Molecular pathogenesis of AIDS-related lymphomas. *Adv Cancer Res* 1995; 67: 113-53.
 191. MacMahon EM, Glass JD, Hayward SD, et al. Epstein-Barr virus in AIDS-related primary central nervous system lymphoma. *Lancet* 1991; 338: 969-73.
 192. Cesarman E, Chang Y, Moore PS, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-related body-cavity-based lymphomas. *N Engl J Med* 1995; 332: 1186-91.
 193. Karcher DS, Alkan S. Herpes-like DNA sequences, AIDS-related tumors, and Castleman's disease. *N Engl J Med* 1995; 333: 797-8; discussion 798-9.
 194. Rodríguez J, Romaguera JE, Katz RL, et al. Primary effusion lymphoma in an HIV-negative patient with no serologic evidence of Kaposi's sarcoma virus. *Leuk Lymphoma* 2001; 41: 185-9.
 195. Delecluse HJ, Anagnostopoulos I, Dallenbach F, et al. Plasmablastic lymphomas of the oral cavity: a new entity associated with the human immunodeficiency virus infection. *Blood* 1997; 89: 1413-20.
 196. Alizadeh AA, Ross DT, Perou CM, et al. Towards a novel classification of human malignancies based on gene expression patterns. *J Pathol* 2001; 195: 41-52.
 197. Chan WC, Huang JZ. Gene expression analysis in aggressive NHL. *Ann Hematol* 2001; 80 Suppl 3: B38-41.
 198. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403: 503-11.
 199. Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999; 286: 531-7.
 200. Baldwin AS. Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF-kappaB. *J Clin Invest* 2001; 107: 241-6.
 201. Davis RE, Brown KD, Siebenlist U, et al. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2001; 194: 1861-74.
 202. Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2002; 8: 68-74.
 203. Rosenwald A, Alizadeh AA, Widhopf G, et al. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med* 2001; 194: 1639-47.
 204. Robetorye RS, Bohling SD, Morgan JW, et al. Microarray Analysis of B-Cell Lymphoma Cell Lines with the t(14; 18). *J Mol Diagn* 2002; 4: 123-36.
 205. Glas A, Kersten M, Witteveen A, et al. Micro-array analysis to elucidate the pathways involved in transformation of follicular lymphoma. *Annals of Oncology* 2002; 13: 12.
 206. Bohen S, Warnke R, Botstein D, et al. Predicting rituximab response of follicular lymphoma using cDNA microarray analysis. *Annals of Oncology* 2002; 13: 13.
 207. Hofmann WK, de Vos S, Tsukasaki K, et al. Altered apoptosis

- pathways in mantle cell lymphoma detected by oligonucleotide microarray. *Blood* 2001; 98: 787-94.
208. Ek S, Hogerkrup CM, Dictor M, et al. Mantle cell lymphomas express a distinct genetic signature affecting lymphocyte trafficking and growth regulation as compared with subpopulations of normal human B cells. *Cancer Res* 2002; 62: 4398-405.
 209. Sklar J. Polymerase chain reaction: the molecular microscope of residual disease. *J Clin Oncol* 1991; 9: 1521-4.
 210. Cairns SM, Taylor JM, Gould PR, et al. Comparative evaluation of PCR-based methods for the assessment of T cell clonality in the diagnosis of T cell lymphoma. *Pathology* 2002; 34: 320-5.
 211. Luthra R, McBride JA, Cabanillas F, et al. Novel 5' exonuclease-based real-time PCR assay for the detection of t(14; 18)(q32; q21) in patients with follicular lymphoma. *Am J Pathol* 1998; 153: 63-8.
 212. Luthra R, Sarris AH, Hai S, et al. Real-time 5'→3' exonuclease-based PCR assay for detection of the t(11; 14)(q13; q32). *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 524-30.
 213. Olsson K, Gerard CJ, Zehnder J, et al. Real-time t(11; 14) and t(14; 18) PCR assays provide sensitive and quantitative assessments of minimal residual disease (MRD). *Leukemia* 1999; 13: 1833-42.
 214. Estalilla OC, Medeiros LJ, Manning JT Jr, et al. 5'→3' exonuclease-based real-time PCR assays for detecting the t(14; 18)(q32; 21): a survey of 162 malignant lymphomas and reactive specimens. *Mod Pathol* 2000; 13: 661-6.
 215. Andersen NS, Donovan JW, Zuckerman A, et al. Real-time polymerase chain reaction estimation of bone marrow tumor burden using clonal immunoglobulin heavy chain gene and bcl-1/JH rearrangements in mantle cell lymphoma. *Exp Hematol* 2002; 30: 703-10.
 216. Medeiros LJ, Hai S, Thomazy VA, et al. Real-time RT-PCR assay for quantifying cyclin D1 mRNA in B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Mod Pathol* 2002; 15: 556-64.
 217. Corradini P, Astolfi M, Cherasco C, et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in follicular and mantle cell non-Hodgkin's lymphomas treated with high-dose chemotherapy and peripheral blood progenitor cell autografting. *Blood* 1997; 89: 724-31.
 218. López-Guillermo A, Cabanillas F, McLaughlin P, et al. The clinical significance of molecular response in indolent follicular lymphomas. *Blood* 1998; 91: 2955-60.
 219. Rambaldi A, Lazzari M, Manzoni C, et al. Monitoring of minimal residual disease after CHOP and rituximab in previously untreated patients with follicular lymphoma. *Blood* 2002; 99: 856-62.
 220. Galimberti S, Marasca R, Caracciolo F, et al. The role of molecular monitoring in autotransplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 581-7.
 221. Hirt C, Dolken G. Quantitative detection of t(14; 18)-positive cells in patients with follicular lymphoma before and after autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 419-26.
 222. Mitterbauer M, Neumeister P, Kalhs P, et al. Long-term clinical and molecular remission after allogeneic stem cell transplantation (SCT) in patients with poor prognosis non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 2001; 15: 635-41.
 223. Mandigers CM, Meijerink JP, Mensink EJ, et al. Lack of correlation between numbers of circulating t(14; 18)-positive cells and response to first-line treatment in follicular lymphoma. *Blood* 2001; 98: 940-4.
 224. Howard OM, Gribben JG, Neuberg DS, et al. Rituximab and CHOP induction therapy for newly diagnosed mantle-cell lymphoma: molecular complete responses are not predictive of progression-free survival. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1288-94.
 225. Johnson PW, Swinbank K, MacLennan S, et al. Variability of polymerase chain reaction detection of the bcl-2-IgH translocation in an international multicentre study. *Ann Oncol* 1999; 10: 1349-54.

Linfomas no Hodgkin: factores pronósticos

J. M. ARRIETA, A. GARCÍA CASTAÑO, J. CALZAS, E. LASTRA, B. NIETO, C. GARCÍA-GIRÓN

Unidad de Oncología Médica. Hospital General Yagüe. Burgos

INTRODUCCIÓN

La elaboración de un pronóstico, es decir, la predicción del curso y evolución de una enfermedad en un paciente concreto, es una parte esencial de nuestra práctica clínica. La diversidad de las neoplasias humanas y su variabilidad en cuanto a la historia natural y posibilidades terapéuticas, ha hecho del análisis de factores pronósticos (FP) una herramienta de investigación determinante y la que más ha contribuido al desarrollo de la oncología en los últimos años (1).

El conocimiento de los FP en cualquier tipo de neoplasia, y en particular en los linfomas, permite la elaboración de índices pronósticos que tratan en definitiva de establecer grupos de pacientes de pronóstico homogéneo y crear un modelo predictivo con el cual se pueda inferir el riesgo relativo de un paciente concreto, a partir de un número limitado de variables presentes en el momento del diagnóstico y, en definitiva, la elección del tratamiento más adecuado en cada caso (2-4). Quizás, los linfomas sean las neoplasias humanas mejor y más ampliamente estudiadas en este sentido (5-9), aunque continúan existiendo aspectos de controversia y FP de aparición reciente que precisan de más estudios para verificar su utilidad real.

Los linfomas no hodgkinianos (LNH) son un grupo heterogéneo de neoplasias que tienen en común su origen en la proliferación de células linfoides detenidas en diferentes etapas de su desarrollo madurativo. Dada la gran variabilidad de estados funcionales (secuencia madurativa normal del linfocito) con su correspondiente traducción morfológica e inmunofenotípica a nivel celular, la clasificación de los LNH ha sido durante años confusa.

La morfología tumoral de los LNH ha sido el factor pronóstico aislado al que mayor importancia se ha concedido, elaborándose múltiples clasificaciones con criterios morfológicos (10): Rappaport 1966, Kiel 1974-

1988 (la primera en introducir el elemento pronóstico en base a su morfología, dividiendo en LNH de bajo y alto grado de malignidad) y la *Working Formulation* 1980 (introduce un grado intermedio de malignidad para aquellos linfomas de bajo grado en la clasificación de Kiel que en la práctica tienen un comportamiento más agresivo).

En los últimos años, con la introducción de las nuevas técnicas inmunohistológicas, la clasificación de los LNH se ha desarrollado de manera notoria al permitir la redefinición de las diferentes entidades ya conocidas como la descripción de otras nuevas, facilitando la práctica clínica, en cuanto a la valoración pronóstica y decisión terapéutica.

Actualmente, toda la comunidad científica se rige por la clasificación REAL-WHO 1994 (11,12), que incorpora información clínica, morfológica y molecular. Así, cada tipo de linfoma definido en la REAL tiene una presentación clínica y respuesta al tratamiento diferenciada, variables pronósticas independientes y es candidato a terapias dirigidas específicamente. Esta clasificación supone una aglutinación de todos los conocimientos existentes, así como un compromiso entre diferentes especialidades médicas y países (13). En el futuro, adaptaciones posteriores irán incorporando aportaciones nuevas de información no disponibles actualmente.

Aunque los LNH son el prototipo de enfermedad neoplásica potencialmente curable, aproximadamente el 40-50% de los pacientes mueren, bien inicialmente por fracaso en la respuesta, bien con más frecuencia por recaída y progresión de la enfermedad. Por lo tanto, en última instancia, la utilidad de los FP es discernir qué pacientes pueden beneficiarse de un tratamiento moderadamente agresivo, pero altamente efectivo, del grupo de pacientes que sólo tienen auténticas posibilidades de supervivencia a expensas de tratamientos muy agresivos, a costa de una elevada morbi-mortalidad (14).

De un modo un tanto artificioso pero útil, se pueden considerar los FP divididos en tres grandes grupos: *dependientes del tumor, del paciente y del tratamiento*.

CARACTERÍSTICAS DEPENDIENTES DEL TUMOR

SUBTIPO HISTOLÓGICO

Actualmente es el factor pronóstico individual más importante en los LNH. El patrón arquitectónico (foliular o difuso) y el aspecto citológico de las células, dividen a los LNH en grupos de significado pronóstico claramente diferenciados (15).

La importancia del subtipo histológico ha comportado múltiples intentos de clasificación en grupos de pronóstico similar (16). Como hemos comentado anteriormente, gracias al consenso internacional de un grupo de notables especialistas, se ha podido elaborar y consolidar la actual clasificación vigente de los LNH (Clasificación REAL 1994, modificada por la WHO 1997) (Tabla I). En ella se considera cada grupo como una entidad nosológica (clínica y patológicamente). En la definición de entidades se ha dado prioridad a la simplificación, evitando excesiva diversidad. Sólo se reconocen enfermedades con características diferenciales, tanto morfológicas como clínicas. La integración de datos genéticos y moleculares ha permitido validar muchas de las entidades propuestas y al mismo tiempo, matizar algunos aspectos, reconociendo el valor práctico y potencial de marcadores moleculares para prever la conducta clínica y respuesta al tratamiento.

En resumen, se pueden establecer una serie de principios pronósticos derivados de la histología:

—El patrón foliular confiere buen pronóstico, independientemente de que sea exclusivo o mixto (15).

—Los linfomas de células grandes tienen en general un comportamiento más agresivo que los de células pequeñas (17).

—Los linfomas linfoblásticos y de Burkitt revisten en general un peor pronóstico debido a su comportamiento más agresivo (18).

—Los LNH compuestos y con histología divergente tienen determinado su pronóstico por la forma histológica de mayor agresividad.

—Los distintos tipos histológicos pueden agruparse en grados de malignidad de alto significado pronóstico, siguiendo los criterios de clasificación expuestos por la REAL-WHO (Tabla II).

EXTENSIÓN DE LA ENFERMEDAD

La extensión de la enfermedad (cantidad de tumor) presente en el momento del diagnóstico, reviste una indudable importancia pronóstica en los LNH. Sin embargo, existen diferentes criterios para establecer esta extensión, lo que ha motivado una gran heterogeneidad. Pueden ser de utilidad:

TABLA I

CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS LINFOIDES DE LA WHO (MODIFICACIÓN DE LA REAL)

Neoplasias de células B

Neoplasias de precursores de células B

Leucemia / linfoma de linfoblastos B

Neoplasias de células B periféricas

Leucemia linfática crónica de células B / Linfoma

linfocítico de células pequeñas

Leucemia de células prolinfocíticas

Linfoma linfoplasmocítico

Linfoma de células del manto

Linfoma folicular

Linfoma de célula B asociado a tejido linfoide de mucosa

Linfoma ganglionar de zona marginal de células B

+/- monocitoides

Linfoma de células B esplénico de zona marginal +/- linfocitos vellosos

Leucemia de tricoleucocitos

Linfoma difuso de células B grandes

Linfoma de Burkitt

Plasmocitoma

Mieloma de células plasmáticas

Neoplasias de células T

Neoplasias de precursores de células T

Leucemia/linfoma de células linfoblásticas T

Neoplasias de célula T periférica y de células NK

Leucemia de célula prolinfocítica

Leucemia linfocítica de células grandes granulares

Enfermedad linfoproliferativa indolente de células granulares NK

Leucemia agresiva de células NK

Linfoma de células NK/T nasal y otros extraganglionares

Micosis fungoide y síndrome de Sézary

Linfoma angioinmunoblástico de célula T

Linfoma no específico periférico de célula T

Leucemia/linfoma de célula T del adulto (HTLV +)

Linfoma anaplásico de célula grande (LACG) (tipo T y nulo)

Enfermedad linfoproliferativa primaria cutánea de célula TCD30+

Linfoma de células T tipo paniculitis subcutánea

Linfoma de células T tipo enteropatía

Linfoma hepatoesplénico de células T gamma/delta

Linfoma de Hodgkin (enfermedad de Hodgkin)

Linfoma de Hodgkin de predominio nodular

Nodular

Difuso

Linfoma de Hodgkin clásico

Linfoma de Hodgkin esclerosis nodular (grados I y II)

Linfoma de Hodgkin celularidad mixta

Linfoma de Hodgkin clásico rico en linfocitos

Linfoma de Hodgkin deplección linfocitaria

TABLA II
CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LOS LNH. WHO 1997

<i>Neoplasias B</i>	<i>Neoplasias T</i>
<i>I. Leucemias/linfomas indolentes</i>	
LLC/L linfocítico bien diferenciado L. linfoplasmocítico/inmunocitoma/EW L. de tricoleucocitos L. de zona marginal esplénica* L. B de zona marginal: extraganglionar (MALT) ganglionar (monocitoide)* L. folicular grado I y II	LLL T Leucemia de células grandes T y NK Micosis fungoide Leucemia/linfoma crónica T del adulto (HTLV+)
<i>II. Linfomas agresivos</i>	
Leucemia prolinfocítica B Mieloma múltiple L. del manto L. folicular grado III L. difuso de célula grande B L. mediastínico de células B del timo L. B Burkitt <i>like</i> *	Leucemia prolinfocítica T L. periférico inespecífico T* L. angioinmunoblástico L. angiocéntrico L. intestinal T L. anaplásico de células grandes (tipo T y nulo)*
<i>III. Leucemias/linfomas muy agresivos</i>	
Leucemia/linfoma de precursores B linfoblásticos Leucemia/linfoma B Burkitt Leucemia de células plasmáticas	Leucemias/linfoma de precursores T linfoblásticos Leucemia/linfoma T del adulto (HTLV1+)

*Entidades provisionales

Estadificación de Ann-Arbor

Propuesto en 1971 inicialmente para la enfermedad de Hodgkin (EH), continúa siendo el método más utilizado para la clasificación de LNH en el momento del diagnóstico. Este modelo se basa en el concepto de origen unifocal de la enfermedad y en su propagación por continuidad, conceptos no siempre aplicables a los LNH. Aun siendo imperfecta, nos proporciona una clasificación por estadios de gran valor pronóstico, como han validado la mayoría de trabajos (19). Su valor pronóstico aumenta considerablemente cuando dividimos a los pacientes en dos grupos: estadios precoces (I y II) y estadios avanzados (III y IV) (Tabla III).

Número y localización de áreas ganglionares y extraganglionares afectas

El valor pronóstico negativo del número, así como de la localización (mediastino, retroperitoneo) de las áreas ganglionares afectas, no ha sido reconocido por todos los autores. En cuanto a la afectación extraganglionar de los LNH, está claro que cuanto mayor sea el número de las mismas, el pronóstico será más desfavorable, tanto

más cuando estén afectas determinadas localizaciones (hígado, médula ósea y SNC) (20,21).

Tamaño de las áreas ganglionares afectas

El concepto de masa voluminosa “*bulky*”, definida como aquella masa cuyo diámetro mayor es superior a 5,7 cm, según algunos autores, y más frecuentemente a 10 cm, valorando el área ganglionar más prominente. Sin embargo, su presencia nos informa de las masas tumorales, pero no de la cantidad total de tumor existente.

Carga tumoral

Posiblemente, es el factor pronóstico con una mayor incidencia en la supervivencia y en la respuesta terapéutica. El concepto de “carga tumoral” fue utilizado por primera vez en la revisión de linfomas difusos de células grandes realizada en el hospital *MD Anderson*. Los autores delimitan la carga tumoral a partir de dos parámetros: las áreas nodales extensas y el número de áreas extranodales afectas. Esta clasificación permite distinguir tres situaciones: alta, intermedia y baja carga tumoral (22) (Fig. 1).

TABLA III

CLASIFICACIÓN POR ESTADIOS DE ANN ARBOR 1971.
MODIFICACIONES DE COSTWOLDS PARA LA EH 1989

Estadio 1:

Afectación de una única región ganglionar (I) o de una única región extralinfática (IE)

Estadio 2:

Afectación de 2 o más regiones ganglionares al mismo lado del diafragma (II) o afectación localizada de un órgano o localización extralinfática y de una o más regiones ganglionares al mismo lado del diafragma (II-E)

Estadio 3:

Afectación de regiones ganglionares a ambos lados del diafragma (III), que pueden estar acompañadas por la afectación extralinfática localizada (II-E) o esplénica (III-S) o de ambas (III-ES)

Estadio 4:

Afectación diseminada de uno o más órganos extralinfáticos, asociada o no a enfermedad en los ganglios linfáticos

Síntomas:

- A: asintomático
- B: presencia de fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso superior al 10% del peso corporal de los 6 meses previos

Principales recomendaciones de la Reunión de Costwolds 1989:

- Introducción del sufijo X para mencionar enfermedad Bulky
- Introducción del sufijo E para mencionar enfermedad extraganglionar
- El nº de zonas ganglionares afectas debe figurar como un sufijo junto al estadio
- Los ganglios hiliares deben considerarse independientes entre sí y frente a los mediastínicos
- Incorporación obligatoria de la TAC abdominal en la evaluación preterapéutica
- Subdivisión del estadio IIIA en pacientes laparotomizados en:
 - Estadio IIIA1. Enfermedad limitada a bazo, ganglios hiliares esplénicos, celiacos o de la porta, por encima del hilio renal.
 - Estadio IIIA2. Enfermedad con afectación ganglionar paraaórtica, iliaca o mesentérica, por debajo del hilio renal.
- No aceptación de parámetros analíticos como criterios de afectación hepática. Exigencia de defectos locales evidenciados por un mínimo de dos técnicas de imagen (TAC, eco abdominal, gammagrafía)
- Introducción del sufijo U en la evaluación postterapéutica para la remisión completa incierta (ensanchamiento anormal del mediastino, masas abdominales postresiduales). La persistencia de la VSG aumentada recomienda estrecha vigilancia
- Definición del estadio temprano: Ann Arbor I II sin masa voluminosa y sin síntoma B

		N.º de áreas ganglionares extensas (<i>bulky</i>)		
		0	1	>1
N.º de áreas extralinfáticas	0-1	B A	INTERMEDIA	A
	2	J A	A	A
	>2	A	A	A

Fig. 1. Carga tumoral.

INMUNOFENOTIPO

Fenotipo B o T

El estudio del fenotipo inmunológico de los LNH ha aportado una información valiosa para la comprensión de la biología de los mismos, y en particular de su origen. Su significado pronóstico ha sido controvertido durante los últimos años, si bien los primeros trabajos comparativos mostraron un escaso valor pronóstico (23). Trabajos más recientes, con mayor número de pacientes, parecen concluir que ante un mismo tipo histológico el inmunofenotipo T confiere un peor pronóstico, más evidente en LNH en estadios avanzados (III y IV de Ann Arbor) (24).

Moléculas de adhesión

La expresión por las células tumorales de determinadas moléculas de adhesión también reviste significado pronóstico.

En general podemos establecer las siguientes consideraciones:

- La expresión de la selectina LAM-1 confiere un pronóstico desfavorable.
- La expresión de la integrina NCAM confiere peor pronóstico, en especial en linfomas de origen T.
- La pérdida de ICAM-1 (superfamilia de las inmunoglobulinas) está relacionada con una tendencia a la leucemización (25).
- La expresión de CD44 se relaciona con un pronóstico más agresivo y una menor supervivencia.
- Antígenos del sistema de histocompatibilidad: la ausencia de expresión del antígeno HLA-DR se asocia a peor pronóstico (26). En sentido contrario, la presencia de numerosos linfocitos infiltrantes de tumor (TIL) suele ir asociado a mejor pronóstico.

ALTERACIONES CITOGÉNÉTICAS

Algunos estudios han correlacionado la presencia de anomalías citogenéticas con el pronóstico. La relación de las diferentes alteraciones descritas aumenta constantemente, por lo que es difícil establecer el valor pronóstico de cada una de ellas de forma independiente (27). Con carácter general, sí podemos establecer que la presencia de alteraciones cromosómicas y el número de ellas puede ser un FP independiente de la histología. En este sentido, su ausencia se ha visto asociada a una mejor respuesta al tratamiento y a una mayor supervivencia.

Existen algunas alteraciones citogenéticas específicas de determinados subtipos histológicos con demostrado valor pronóstico: la translocación t(8,14) típica del linfoma de Burkitt, confiere muy mal pronóstico y la translocación t(14,18) típica de los linfomas foliculares, está asociada a un comportamiento indolente, con larga supervivencia.

Entre las alteraciones citogenéticas que en algunos estudios se han asociado a peor pronóstico podemos destacar (28): alteración del cromosoma 1, alteración del cromosoma 2 en linfomas difusos, alteración del cromosoma 3 en linfomas foliculares, trisomía del cromosoma 5, trisomía del cromosoma 6, alteración del cromosoma 7 (monosomía, delección de un fragmento comprendido entre 7q31 y 7q32 característico del linfoma esplénico de la zona marginal, lo que sugiere la localización de un gen supresor en esta localización), alteración del cromosoma 17 (monosomía, alteraciones estructurales) y trisomía del cromosoma 18.

ACTIVIDAD PROLIFERATIVA

El índice proliferativo de los LNH puede ser estimado por la proporción de células en fase de síntesis de ADN (*labelling index*) y el contenido celular de ADN (ploidía). El *labelling index* ha demostrado una excelente correlación pronóstica, de tal manera que aquellos LNH con más de un 5-10% de células en fase S, tienen un peor pronóstico que aquéllos con índice más bajos (29). En contrapartida, la ploidía celular no ha demostrado hasta la fecha una clara relación con la supervivencia.

La actividad proliferativa, valorada por otros medios, también ha demostrado correlación pronóstica. Niveles celulares elevados de determinadas enzimas del metabolismo púrico y pirimidínico (ADA, PNP, TP, TK), han sido asociadas a peor pronóstico, de la misma manera que la expresión del anticuerpo monoclonal Ki 67 sobre el núcleo de las células en proliferación (30,31).

OTRAS VARIABLES CON SIGNIFICADO PRONÓSTICO

SÍNTOMAS B

La asociación de los síntomas B (fiebre, sudoración y pérdida de peso) con el pronóstico, está claramente esta-

blecido en los LH, pero es controvertido en los LNH, aunque en general, podemos afirmar que la presencia de síntomas B comporta también un peor pronóstico (32).

PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS

La anemia fue una de las primeras variables con significación pronóstica en relación con la supervivencia de los LNH, aunque con el tiempo su importancia ha ido decreciendo (33). Las citopenias presentan un valor pronóstico muy escaso, aunque confiere mal pronóstico en aquellos casos de linfoma con afectación de la médula ósea.

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

—LDH: es uno de los FP individuales que mayor importancia pronóstica aporta, su valor está directamente relacionado con la capacidad proliferativa del linfoma (32,33).

—B-2-microglobulina: presenta una estrecha relación con la masa tumoral existente, y es de indudable valor pronóstico (34).

—Cupremia: los niveles de cobre en sangre guardan una estrecha relación con la masa tumoral y con la actividad proliferativa en los LNH, y puede ser útil en el pronóstico de los LNH.

—Albúmina: la hipoalbuminemia se relaciona con un peor pronóstico y posiblemente refleja una determinada alteración nutricional del paciente, aunque son pocos los estudios que le conceden influencia como factor pronóstico independiente.

—Citoquinas: la elevación de algunas citoquinas en plasma (IL 6, IL 10) se ha relacionado con peor pronóstico en los LNH, pero esta afirmación precisa de posteriores estudios que la validen (35,36).

MARCADORES MOLECULARES

Como hemos comentado con anterioridad, la actual clasificación de los LNH (REAL) está basada en una integración de criterios clínicos, morfológicos y moleculares. En los últimos años están adquiriendo relevancia marcadores moleculares, en función de nuevos hallazgos que informan de eventos genéticos específicos para tipos determinados de procesos linfoproliferativos. De hecho, para un alto porcentaje de las neoplasias linfoides están siendo descritos marcadores moleculares específicos, como:

—bcl-2: la proteína bcl-2, derivada de la translocación t(14,18) (q32;q21) es un inhibidor de la apoptosis. Su sobreexpresión parece asociarse a peor pronóstico (37-41).

—c-myc: factor de transcripción implicado en la progresión a lo largo del ciclo celular. Su sobre-expresión derivada de la translocación t(8,14) (q24;q32), típica del linfoma de Burkitt, se asocia a mal pronóstico, también en los LNH de células grandes.

—bcl-6: las translocaciones de bcl-6 se observan con frecuencia en linfomas primarios de células grandes. No suele observarse en casos secundarios, por lo que su presencia comporta un mejor pronóstico (42-45).

—p53: el gen supresor p53 codifica la proteína p53 que en condiciones normales es prácticamente indetectable. La detección de p53 en linfomas parece asociarse a estadios tumorales avanzados, pobre respuesta a la quimioterapia y menor supervivencia (45,46).

—MDR: el gen MDR está implicado en la resistencia que presentan ciertas clonas celulares tumorales a algunas drogas. La presencia de proteína MDR está asociada a una peor respuesta al tratamiento.

CARACTERÍSTICAS DEPENDIENTES DEL PACIENTE

EDAD

El factor edad ha estado presente en la práctica totalidad de los grandes estudios sobre factores pronósticos de los LNH, aunque su significación siempre ha estado rodeada de controversia. Para algunos grupos, la edad constituye un factor pronóstico independiente de gran importancia, mientras que para otros, cuando se ajusta el estudio en función de otros parámetros, la edad no influye de manera significativa en el pronóstico. La tendencia actual es considerar la edad un factor pronóstico independiente e importante, ya que va asociada a una mayor morbimortalidad.

ESTADO GENERAL (Performance status)

La valoración del estado general es un parámetro de utilidad universal dentro de la oncohematología y su importancia pronóstica está fuera de duda, considerándolo como uno de los factores pronósticos con mayor influencia pronóstica independiente, al valorar la repercusión que la enfermedad produce en el estado general del paciente. La capacidad funcional del enfermo suele estar directamente relacionada con la agresividad del linfoma, aunque siempre hay que tener en cuenta las situaciones de morbilidad previas e independientes del linfoma.

COMPETENCIA INMUNOLÓGICA

Las inmunodeficiencias pueden ser causa de linfomas y a su vez los linfomas que aparecen en situaciones de inmunodeficiencia suelen tener un curso más agresivo y peor pronóstico.

CARACTERÍSTICAS DEPENDIENTES DEL TRATAMIENTO

RESPUESTA OBTENIDA AL TRATAMIENTO

Los LNH son neoplasias potencialmente curables con los tratamientos actuales. El tipo de respuesta obtenida con el tratamiento será decisiva para conseguir la curación de la enfermedad, al menos, una larga supervivencia libre de la misma.

El tipo de respuesta obtenida con tratamiento (completa RC o parcial RP), así como la rapidez en alcanzar la RC (más o menos de 4 ciclos), parecen tener repercusión en el pronóstico de los pacientes, con una mayor expectativa de curación y supervivencia cuando la respuesta es completa y el tiempo en conseguirla es inferior a 4 ciclos (47-50). La duración de la RC tiene asimismo cierto valor, de modo que los pacientes que recaen a partir de los dos años, tienen mayores probabilidades de alcanzar una nueva RC y de sobrevivir más que aquellos que lo hacen antes.

ÍNDICES PRONÓSTICOS

El sistema de Ann Arbor, como único sistema pronóstico para decidir el tipo de tratamiento, no tiene en los LNH el peso específico que tiene en la EH, por lo que va siendo desplazado por nuevos sistemas que combinan diversos factores, en un intento de ofrecer mayor precisión predictiva y por tanto un tratamiento más seleccionado, de acuerdo a las características individuales de riesgo de recidiva (51-53).

La gran heterogeneidad de los LNH ha dificultado sobremanera la existencia de un sistema de estadificación útil, internacionalmente aceptado y validado para los LNH. El objetivo de todo índice pronóstico (IP) es el de agrupar a los pacientes en grupos con factores de riesgo similares, crear un modelo predictivo de evolución a partir de un número limitado de variables presentes en el momento del diagnóstico y disponer de una herramienta útil para adoptar decisiones terapéuticas.

Las características ideales exigibles a un IP serían su facilidad de manejo, inclusión de pocas variables, que exija pocos cálculos, que sea fácil de recordar y reproducible de unas series a otras.

Si bien la mayoría de los IP existentes discriminan en su aplicación entre los LNH de células grandes (*IP Princess Margaret Hospital, IP Dana Farber Institute, IP Memorial Sloan-Kettering Cancer Center; IP MD Anderson e IP Groupe d'études des Lymphomes agressifs*) y los LNH foliculares (*IP Princess Margaret Hospital, IP Scotland and Newcastle Lymphoma Group, IP Lyon, IP MD Anderson and Tumor Institute*), el amplio consenso alcanzado por el Índice Pronóstico Internacional en los últimos años, dado su elevado valor predictivo en cuanto a la respuesta al tratamiento y en cuanto a la supervivencia, ha establecido su utilidad en los diferentes tipos de LNH. Este modelo predictivo fue diseñado por un amplio grupo de expertos (*The International NHL Prognostic Factors Project*), publicado en 1993 y ya conocido en todo el mundo por el acrónimo IPI (21). Fue diseñado a partir del estudio de los FP de una serie de 3.273 pacientes con linfomas de células grandes. En dicho estudio los FP que demostraron una significación pronóstica independiente fueron: la edad (< 60 años frente a > 60 años); el estadio de Ann Arbor (I-II frente a III-IV); el número de áreas extraganglionaria

res afectas (0-1 frente a 2); el estado general (PS 0-1 frente a 2) y la LDH (normal frente a elevada). Asignando una puntuación a cada variable de las descritas, se establecieron 4 categorías pronósticas, con una supervivencia global a los 5 años del 73% para el subgrupo de bajo riesgo con 0 y 1 factores, 51 y 43% respectivamente para los subgrupos con 2 y 3 factores y del 26% para el subgrupo de alto riesgo con 4 ó 5 factores de mal pronóstico (Tabla IV).

Este índice pronóstico ha conseguido en poco tiempo una excelente aceptación internacional y ha sido validado en varios trabajos, demostrando una buena correlación pronóstica (54). Por lo tanto, puede considerarse el mejor patrón de estadificación actualmente disponible para los LNH. Aunque el IPI fue diseñado específicamente para los LNH agresivos de células grandes, su utilidad ha sido comprobada también al ser utilizado en los pacientes con linfomas de baja malignidad (55,56).

El IPI, con todo, no está exento de críticas, destacando fundamentalmente dos: la selección de cuatro grupos pronósticos que dificulta notablemente la selección de los pacientes en los estadios intermedios y el hecho de no incluir la B-2-microglobulina como FP. Así mismo, existen otros factores no incluidos en el IPI que podrían ser válidos, como la disminución del número de plaquetas, albúmina, etc. (10,57,58).

TABLA IV

ÍNDICE PRONÓSTICO INTERNACIONAL (IPI)

ÍNDICE PRONÓSTICO INTERNACIONAL (IPI)		
<i>Variables</i>		
Edad	<60 años	>60 años
Estadio Ann Arbor	I-II	III-IV
Nº áreas extraganglionares	0-1	2
Estado general (PS)	PS 0-1	PS 2
LDH	normal	elevada
<i>Grupos de riesgo</i>		
Bajo riesgo:	puntuación 0-1	
Riesgo intermedio-bajo:	puntuación 2	
Riesgo intermedio-alto:	puntuación 3	
Riesgo alto:	puntuación 4-5	

CORRESPONDENCIA:

J. M. Arrieta
 Unidad de Oncología Médica
 Hospital General Yagüe
 Avda. del Cid, 96
 09005 Burgos

BIBLIOGRAFÍA

- Feliu J, Chacón JJ, Zamora P. Factores pronósticos en oncología. *Oncología Clínica*. Ed. Interamericana McGraw-Hill, 1992. p. 179-88.
- Levine MN, Browman GP, Gent M, et al. When is a prognostic factor useful? A guide for the perplexed. *J Clin Oncol* 1991; 9: 348-56.
- González Barón M. Importancia de los factores pronósticos en oncología. *Factores pronósticos en oncología*. Ed. Interamericana McGraw-Hill, 1994. p. 1-17.
- Sánchez Hernández JJ, García de Paredes ML. Estudio de identificación de factores pronósticos. Un enfoque estadístico. Ed. Interamericana McGraw-Hill, 1994. p. 22-53.
- Pereira A, Montserrat E. Linfomas no hodgkinianos: interés de los factores pronósticos en las decisiones terapéuticas. *Med Clin (Bar)* 1988; 91: 172-4.
- Coiffier B, Lepage E. Prognosis of aggressive lymphomas: a study of five prognostic models with patients included in the LNH-84 regimen. *Blood* 1989; 74: 558-64.
- Shipp MA. Prognostic factors in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: who has "high-risk disease"? *Blood* 1994; 83: 1165-73.
- Gómez Codina J. Factores pronósticos de los LNH. *Linfomas B y T. Biología, clínica y tratamiento*. Ed. Idepsa, 1997. p. 152-86.
- Moore DF, Cabanillas P. Overview of prognostic factors in non-Hodgkin's lymphoma. *Oncology (Huntingt)* 1998; 12: 17-24.
- Monserrat E, López Guillermo A, Bosch R. linfomas no hodgkinianos: nuevas perspectivas en la clasificación, pronóstico y tratamiento. *Sangre* 1995; 40(2): 71-4.
- Harris N, Jaffe E, Stein H, et al. A revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasm: A proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361-92.
- García Conde J, Benet I. Clasificación de los linfomas. La biología como aproximación entre la anatomía patológica y la clínica. En: J. García Conde (ed): *Biología de los linfomas*, cap. 1. You & Us, S. A., 1998. p. 7-42.
- Hiddeman W, Longo DL, Coiffier B, et al. Lymphoma classification- The gap between biology and clinical management is closing. *Blood* 1996; 88: 4085-9.
- French M, Magaud JP, French P, et al. Heterogeneity of neoplastic and reactive cell proliferation in non-Hodgkin's lymphomas linked to patients survival. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 413-20.
- Anderson T, Chabner BA, Young RC, et al. Malignant lymphoma I. The histology and staging of 473 patients at the National Cancer Institute. *Cancer* 1982; 50: 2699-707.
- Rudders RA, Delellis RA, Ahl ET, et al. Adult non Hodgkin's lymphoma. Correlation of cell surface marker phenotype with prognosis, the new Working Formulation and the Rappaport and Lukes-Collins histomorphologic schemes. *Cancer* 1993; 52: 2289-99.
- Gospodarowicz MK, Bush RS, Brown TC, et al. Prognostic factors in nodular lymphomas: a multivariate analysis based on the Princess Margaret Hospital Experience. *Int J Radial Oncol Biol Phys* 1984; 10 (4): 489-97.
- Coiffier B, Gisselbrecht C, Vose JM, et al. Prognostic factors in aggressive malignant lymphomas: description and validation of a prognostic index that could identify patients requiring a more intensive therapy. *J Clin Oncol* 1991; 9: 211-9.
- Rosenberg SA. Validity of the Ann Arbor Staging Classification for the Non-Hodgkin's Lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1977; 61: 1023-7.
- Rodríguez J, Cabanillas F, McLaughlin P, et al. A proposal for a simple staging system for intermediate grade lymphoma and immunoblastic lymphoma based on the tumor score. *Ann Oncol* 1992; 3: 711-7.

21. Shipp M, Harrington D, Anderson J, et al. Development of a predictive model for aggressive lymphoma: The international NHL Prognostic Factors Project. *N Engl J Med* 1993; 329: 987-94.
22. Jagannath S, Velásquez WS, Tucker SL, et al. Tumor Burden Assessment and its Implication for a Prognostic Model in Advanced Diffuse Large-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol* 1986; 4: 859-65.
23. Lippman SM, Miller TP, Spier CM, et al. The prognostic significance of the immunotype diffuse large-cell lymphoma: a comparative study of the T-cell and B-cell phenotype. *Blood* 1988; 72: 436-41.
24. Armitage O, Vose JM, Linder J, et al. Clinical significance of immunophenotype in diffuse addressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1783-90.
25. Christiansen I, Gidlöf C, Kalkner KM, et al. Elevated serum levels of soluble ICAM-1 in non Hodgkin's lymphomas correlate with tumor burden, disease activity and other prognostic factors. *Br J Haematol* 1996; 92: 639-46.
26. Miller TP, Lippman SM, Spier CM, et al. Hla-DR (Ia) immune phenotype predicts outcome for patients with diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Invest* 1988; 82: 370-2.
27. Cuneo A, Bigoni R, Rigolin GM. Cytogenetic profile of lymphoma of follicle mantle lineage: correlation with clinicobiologic features. *Blood* 1999; 93: 1372-80.
28. Schouten HC, Sanger WG, Weisenburger DD, et al. Chromosomal abnormalities in untreated patients with non-Hodgkin's lymphoma: associations with histology, clinical characteristics and treatment outcome. *Blood* 1990; 75: 1841-7.
29. Joensuu H, Klemi PJ, Söderström K, et al. Comparison of S-phase fraction, working formulation and kiel classification in non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1991; 68: 1564-71.
30. Hall PA, Richards MA, Gregory WM, et al. The prognostic value of Ki-67 immunostaining in non-Hodgkin's lymphoma. *J Pathol* 1998; 154: 223-35.
31. Miller TP, Grogan TM, Dahlberg S, et al. Prognostic significance of the ki-67 associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a prospective Southwest Oncology Group. *Blood* 1994; 83: 1460-6.
32. Anderson T, De Vita Jr, Simón RM, et al. Malignant lymphoma II. Prognostic factors and response to treatment of 473 patients at National Center Institute. *Cancer* 1982; 50: 2708-21.
33. Ciampi A, Bush RS, Gospodarowicz M, et al. An approach to classifying prognostic factors related to survival experience for non-Hodgkin's lymphoma patients: based on a series 892 patients: 1967-1975. *Cancer* 1981; 47: 621-7.
34. Swan F, Velásquez WS, Tucker S, et al. A new serologic staging system for large-cell lymphomas based on initial B-2 microglobulin and lactate dehydrogenase levels. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1518-27.
35. Seymour JF, Talpaz M, Cabanillas F, et al. Serum interleukin-6 levels correlate with prognosis in diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 575-82.
36. Kurzrock R. Cytokine deregulation in hematological malignancies: clinical and biological implications. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 2581-4.
37. Cabanillas F, López-Guillermo F, Sie KL, et al. The number of bcl-2 rearranged cells in peripheral blood of patients with follicular lymphoma (FL) assessed by a semiquantitative PCR technique has prognostic significance. Meeting abstract ASCO 1997.
38. Kramer MH, Hermans J, Parker J, et al. Clinical significance of bcl-2 and p53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study. *J Clinical Oncol* 1996; 14: 2131-8.
39. Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, et al. Prognostic significance of bcl-2 protein and bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90: 244-51.
40. Hermine O, Haioun C, Lepage E, et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). Blood* 1996; 87: 265-72.
41. Hill ME, MacLennan KA, Cunningham DC, et al. Prognostic significance of bcl-2 expression and bcl-2 major breakpoint region rearrangement in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma: a British National Lymphoma Investigation Study. *Blood* 1996; 88: 1046-51.
42. Galdano G, Capello D, Gioghini A, et al. Frequent mutation of bcl-6 proto-oncogene in high grade, but not low grade, MALT lymphomas of the gastrointestinal tract. *Haematologica* 1999; 84: 582-8.
43. Lossos I, Jones C, Warnke R, et al. Expression of a single gene, bcl-6, strongly predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2001; 98: 945-51.
44. Offit K, Lo Coco F, Louie DC, et al. Rearrangement of the bcl-6 gene as a prognostic marker in diffuse large-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1994; 331: 74-80.
45. Zhang A, Ohsima K, Sato K, et al. Prognostic clinicopathologic factors, including immunologic expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Pathol Int* 1999; 49: 1043-52.
46. Llanos M, Álvarez-Argüelles H, Aleman R, et al. Prognostic significance of Ki-67 nuclear proliferative antigen, bcl-2 protein, and p53 expression in follicular and diffuse large B-cell lymphoma. *Med Oncol* 2001; 18: 15-22.
47. Kaller S, Holmes L, Cabanillas F. Long-term results of treatment of patients with follicular lymphomas. *Hematol Oncol* 1987; 5: 127-38.
48. Bonadonna G, Jotti GS. Prognostic factors and response to treatment in non-Hodgkin's lymphomas (review). *Anti Cancer Res* 1987; 7: 685-94.
49. Gallagher CJ, Gregory WN, Jones AT, et al. Follicular lymphoma: Prognostic factors for response and survival. *J Clin Oncol* 1986; 4: 1470-80.
50. Hoerni B, Bonichon F, Coindre JM, et al. Prognostic lymphomas folliculaires dans une serie de 180 cas. *Bull Cancer (Paris)* 1986; 73(2): 171-7.
51. Mounier N, Diviné M, Haioun C, et al. Factores pronósticos de los linfomas malignos. En: García-Conde J, Matutes E, Piris MA, Reyes F, editores. *Síndromes Linfoproliferativos*. Productos Roche SA. 1ª edición. 1999. p. 69-77.
52. López-Guillermo A. Factores pronósticos en los linfomas no Hodgkin. En: J. García-Conde Bru, editores. *Leucemias y Linfomas en el adulto*. Ediciones Ergón SA, 1996. p. 117-35.
53. Gómez J. Factores pronósticos de los LNH. En: J. Gómez Codina editor. *Linfoma B y T. Biología, clínica y tratamiento*. Idep-sa, 1ª edición, 1997. p. 152-89.
54. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group. Classification of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 1997; 89: 3909-18.
55. López-Guillermo A, Montserrat E, Bosch F, et al. Applicability of the international Index for aggressive lymphomas to patients with low-grade lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 1343-8.
56. Bastion Y, Coiffier B. Is the International Prognostic Index for aggressive lymphoma patients useful for follicular lymphoma patients? *J Clin Oncol* 1995; 12: 1340-2.
57. Djulbegovic B. Non-Hodgkin's Lymphoma. En: Djulbegovic B y Sullivan DM (eds.): *Decision making in Oncology. Evidence-based management*. Churchill Livingstone Inc., 1997. p. 69-90.
58. Seng JF, Petroni GR, Qken MM, et al. A prognostic model for low grade follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Proc ASCO* 1998; 17 (35): 10a.

Linfomas no Hodgkin de bajo grado. Nuevas orientaciones biológicas y controversias terapéuticas

J. GARCÍA-CONDE, M. TORMO

Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Valencia

BIOLOGÍA E HISTORIA NATURAL DE LOS LINFOMAS DE BAJO GRADO

Los linfomas de bajo grado representan un grupo de formas clínico-patológicas de una gran heterogeneidad tanto por su ontogenia como por la expresión biológica y por su diferente historia natural.

Fueron reunidos con esta denominación en la *Working Formulation* (WF) (formulación de trabajo para uso clínico) (1), un grupo de linfomas de curso aparentemente indolente, que responden inicialmente al tratamiento con quimioterapia y radioterapia y con supervivencia prolongada. Al lado de este buen pronóstico en cuanto a la aparente sensibilidad del tumor, aparece una rítmica y constante mortalidad anual que conducía a mínimas posibilidades de curación en la población global (2). Otra característica de estos tipos de linfomas es la transformación en un linfoma más agresivo con el transcurso del tiempo y que en el caso del linfoma folicular oscila entre el 40-70%.

La clasificación WF se basa principalmente en la procedencia de las células, su tamaño y las características del patrón nodular o difuso del ganglio. En el año 1994 el *International Lymphoma Study Group* (ILSG) publicó la "*Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms*" (clasificación REAL de las neoplasias linfoides) (3), que difiere de la clasificación anterior en dos aspectos: primero, define entidades "reales" en vez de basarse en criterios morfológicos y en la supervivencia de los pacientes, y segundo, se basa en el consenso de un amplio grupo de expertos patólogos en el estudio de los linfomas. La clasificación REAL ha dado lugar a la clasificación WHO/OMS (*World Health Organization*) en la que se incorporó el consenso de un número aún mayor de expertos patólogos en neoplasias linfoides y se amplió la clasificación a neoplasias mieloides, de mastocitos y de histiocitos (4).

Como se puede observar en la tabla I, en donde se compara la WF con la WHO, los linfomas de bajo grado incluidos en la WF están formados por entidades linfoides muy diferentes en el inmunofenotipo, la patogénia, la genética y las características clínicas. En este grupo se incluyen: el linfoma linfocítico, el linfoma linfoplasmocítico, linfoma de zona marginal esplénico, linfoma MALT, linfoma ganglionar marginal y el linfoma folicular (LF). En la tabla II se muestran las principales características inmunológicas y moleculares de este grupo de linfomas.

A continuación se analizan nuevas perspectivas biológicas y de tratamiento de este grupo de linfomas, excepto de los linfomas MALT, que debido a sus particularidades, exceden el contenido de esta revisión.

LINFOMA FOLICULAR (LF)

HISTOPATOLOGÍA

El linfoma folicular está compuesto por células pequeñas con núcleo hendido (centrocitos) y células grandes no hendidas (centroblastos). El patrón es folicular (Fig. 1) aunque pueden existir áreas difusas. La clasificación de la OMS los divide en 3 grados, dependiendo de la proporción de centroblastos: grado 1: 0-5 centroblastos (c.a.r.), grado 2: 6-15 centroblastos (c.a.r.) y grado 3: >15 centroblastos (c.a.r.) (40 x c.a.r. : campo alta resolución).

INMUNOFENOTIPO

El centro germinal de los LF expresa, mediante inmunohistoquímica, Bcl-2 (Fig. 2). Las inmunoglobulinas de superficie son positivas (sIg+), 50-60% expresan IgM, 40% IgG y pocos casos IgA. El CD20 es positivo intenso, CD10 en 60% de los casos, CD5⁻, CD23^{-/+}.

TABLA I

EQUIVALENCIA ENTRE LA *WORKING FORMULATION* Y LA CLASIFICACIÓN DE LA *WHO* DE LAS NEOPLASIAS DE LINFOCITOS T Y B MADUROS

<i>WHO</i>	<i>Working Formulation</i>
Leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico bien diferenciado	<i>Linfoma linfocítico de célula pequeña tipo LLC</i>
Leucemia prolinfocítica	
Linfoma linfoplasmocitoide	<i>Linfoma linfocítico de célula pequeña tipo plasmocitoide</i>
Linfoma del manto	<i>Linfoma linfocítico de célula pequeña tipo LLC</i> <i>Linfoma difuso de célula pequeña hendida</i>
Linfoma folicular: Grado I Grado II Grado III	<i>Linfoma folicular de célula pequeña hendida</i> <i>Linfoma folicular mixto</i> <i>Linfoma folicular de células grandes</i>
Linfoma marginal extranodal tipo MALT	<i>Linfoma linfocítico de célula pequeña tipo plasmocitoide</i> <i>Linfoma difuso de célula pequeña hendida</i>
Linfoma nodal de la zona marginal (monocitoide)	<i>Linfoma linfocítico de célula pequeña tipo plasmocitoide</i> <i>Linfoma folicular de célula pequeña hendida</i> <i>Linfoma folicular mixto</i> <i>Linfoma difuso de célula pequeña hendida</i> <i>Linfoma difuso de célula pequeña y grande hendida</i>
Linfoma esplénico marginal	<i>Linfoma linfocítico de célula pequeña</i>
Tricoleucemia	
Plasmocitoma/mieloma	Plasmocitoma extramedular
Linfoma difuso de célula grande B	Linfoma difuso de células grandes
Linfoma de Burkitt	Linfoma difuso de células pequeñas no hendidas
Leucemia linfática crónica T	<i>Linfoma linfocítico de célula pequeña tipo LLC</i>
Leucemia prolinfocítica T	
Leucemia de linfocitos grandes granulares	<i>Linfoma linfocítico de célula pequeña tipo LLC</i>
Micosis fungoide/síndrome de Sezary	Micosis fungoide
Linfoma T periférico	Linfoma difuso de célula pequeña y grande Linfoma difuso de células grandes
Linfoma T hepatoesplénico	
Linfoma T angioinmunoblástico	Linfoma difuso de célula pequeña y grande Linfoma inmunoblástico
Linfoma angiocéntrico	Linfoma difuso de célula pequeña y grande
Linfoma T intestinal	Linfoma difuso de célula pequeña hendida Linfoma difuso de célula pequeña y grande Linfoma inmunoblástico
Leucemia/linfoma T del adulto	Linfoma difuso de célula pequeña y grande
Linfoma anaplásico T	Linfoma difuso de células grandes Linfoma inmunoblástico

GENÉTICA

La alteración más característica es la t(14;18)(q32;q21) que se detecta en un 95% de linfomas foliculares grado 1 y 2 y menos frecuente en los de grado 3. Esta translocación reordena el gen BCL-2 con el promotor de gen de la cadena pesada de las Igs (IgH) por lo que el oncogen BCL-2 se sobreexpresa. Bcl-2 es una

proteína con actividad antiapoptótica, originando centrocitos de vida prolongada. El punto de ruptura más frecuente es el *mbr* (punto de ruptura mayor) que se encuentra en la región 3' no trasladada de gen IgH en el cromosoma 18 y que está presente en el 70% de los casos, mientras que el punto de ruptura menor *mcr* se localiza en un lugar más alejado (Fig. 3). La presencia de otras alteraciones citogenéticas como 6q y 17p, tie-

TABLA II
LINFOMAS DE BAJO GRADO: CARACTERÍSTICAS INMUNOLÓGICAS Y MOLECULARES

WHO	WF	Origen	Inmunofenotipo	Identificación citogenética y/o molecular
Linfoma linfocítico/LLC	A	Linfocitos B nativos CD5+ de la SP, FP y ZMF	sIg + débil, CD5+, CD23+, CD79b/CD22 + débil, FMC7 -	Trisomía 12 (20%), del 13q14 (50%), del 11q22-23 (20%), del 17p13 (p53) (10%), del 6q21 (5%)
Linfoma linfoplasmocitoide	A	Linfocito B periférico estimulado a diferenciarse hacia célula plasmática	sIg + (usualmente IgM), CD19+, CD20+, CD22+, CD79a+, CD5-, CD10-, CD23-, CD43 +/-, CD 38+	Traslocación t (9;14) (p13;q32) /reordenamiento del gen PAX-5 (50%)
Linfoma folicular	B, C	Linfocitos B del centro germinal	sIg+ (IgM +/-, IgD, IgG o raramente IgA), Bcl-2+, Bcl-6 +, CD10+, CD20+, CD19+, CD 22, CD79a+, CD5-, CD43-	Traslocación t(14;18)(q32;q21) /BCL-2 (70-95%)
Linfoma MALT	A, E	Linfocito B post centro germinal, de la zona marginal	sIg (usualmente IgM, también IgG e IgA), CD20+, CD79a+, CD5-, CD10-, CD23-, CD43+/-, CD11c +/-	Trisomía 3 (60%), t(11;18) que reordena los genes API12 y MLT (25-50%)
Linfoma B monocitoide	A, E	Linfocito B de la zona marginal ganglionar	sIgD+, CD 20+, CD 79a+, CD5-, CD10-, CD23-, CD43-	No conocida
Linfoma esplénico de la zona marginal	A	Linfocito B post centro germinal en un estadio desconocido de diferenciación	sIg (IgM e IgD)+, CD 20+, CD 79a+, CD5-, CD10-, CD23-, CD43-, CD 103-	Pérdida alélica de 7q21-32/ desregulación gen CDK6 (40%), trisomía 13 (17%)

SP: sangre periférica; FP: folículo primario, ZMF: zona del manto folicular.



Fig. 1. Histología de un ganglio linfático de un linfoma folicular grado I con el patrón histológico característico.

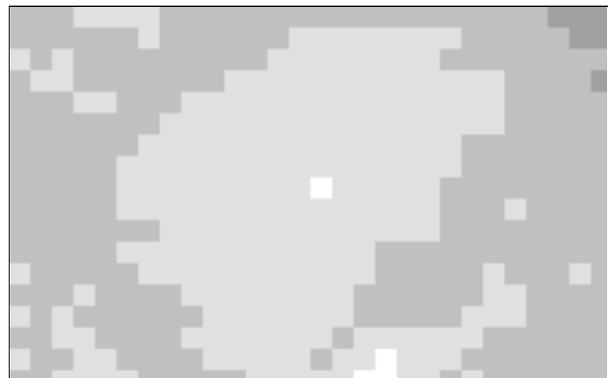


Fig. 2. Ganglio linfático de linfoma folicular Bcl-2 positivo.

nen mal pronóstico y se asocian a transformación histológica. El estudio de la expresión génica de los LF muestra que están sobreexpresadas proteínas del ciclo celular como CDK10, p¹²⁰, p²¹, CIP1, p¹⁶-INK4A, factores de transcripción y regulación como PAX-5 e Id-2 que se implican en el desarrollo de células B normales. También se expresan genes que actúan en la interacción celular como TNF, IL-2R e IL-4R. Los genes infrarregulados son MAP8 y MRP14 y se implican en la adhesión celular.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El LF aparece entre los 20 y 90 años con una mediana de incidencia a los 55 años. Representa el segundo LNH más frecuente con una proporción del 20-25%. Afecta sobre todo a los ganglios y su comienzo con localización extraganglionar es más limitado. Los estadios I y II no superan el 20% de los casos. Los estadios III comprenden el 10-15% de los casos y los estadios IV la mayoría, es decir el 70%. En la mayoría de casos con estadio IV se

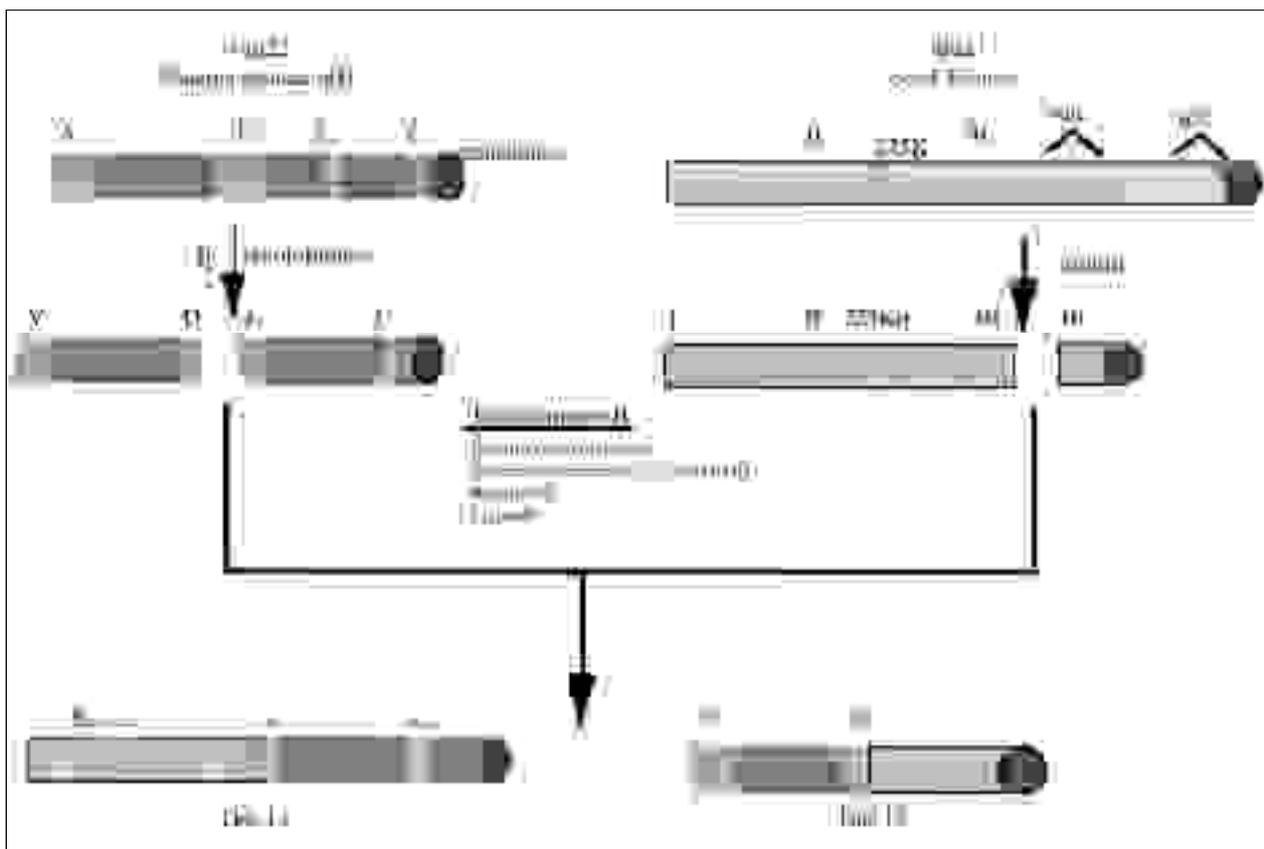


Fig. 3. Mecanismo de recombinación de la translocación $t(14;18)$. El punto de ruptura en el cromosoma 14 ocurre en el segmento J. Hay dos puntos de ruptura conocidos en el cromosoma 14: el punto de ruptura mayor (MBR) y el punto de ruptura menor (MCR). Los hallazgos sugieren que la translocación ocurre en un estadio de linfocito pre-B, cuando la recombinasa de la IgH genera la ruptura entre el segmento J y D. En los progenitores del linfoma, estos segmentos recombinan ilegítimamente con el ADN roto en las regiones MBR o MCR en el exón III del cromosoma 18q21.

encuentra invadida la médula ósea (MO). Los estadios IV son más frecuentes en los grados 1 y 2 que en los 3. En los linfomas foliculares con alta proporción de centroblastos, es más habitual encontrar centrocitocitos que centroblastos en la MO. En los estadios IV y a lo largo de su evolución, 30-50% de los casos presentan leucemización. Los LF grado 3 suelen ser formas en trasfusión, sobre todo cuando existe elevación de LDH y zonas necróticas en las masas tumorales detectadas mediante TAC. En los LF es frecuente que las adenopatías tengan un periodo de tiempo asintomático, incluso que desaparezcan y aparezcan de forma fluctuante. Esta situación también puede suceder en las recaídas, y cuando se trata de pacientes con edades muy avanzadas, comorbilidad y localizaciones reducidas y no progresivas, puede tener sentido la actitud de “observar y esperar” durante un cierto tiempo. Las adenopatías pueden ser de tamaño variable, 13% de los casos presentan masa tumoral superior a 10 cm, las localizaciones extrangliales sólo en el 5% son > 2 y los síntomas B están presentes en el 15% de los pacientes. En los LF son frecuentes las recidivas tardías y aunque la gran mayoría lo hacen dentro de los 5 primeros años, esto se puede prolongar hasta los 15 años. La transformación de los LF ocurre en un 20-30% de los casos en torno a los 8 años y es progresiva con la evolución de la enfermedad. El meca-

nismo es variable e intervienen mutaciones de p53, p16, y *c-myc* y el pronóstico es peor que el de los LNH de células grandes.

FACTORES PRONÓSTICOS

Los LF se caracterizan por una historia natural con una mediana de supervivencia de 8 a 9 años con una curva actuarial de supervivencia progresivamente descendente hasta lograr un “plateau” de 10-15% que probablemente están relacionados con estadios I-II y III. Así, 10 años después del diagnóstico, la mitad de los pacientes están vivos, pero sólo un 25% están libres de enfermedad. Esto es debido a que una vez alcanzada la remisión completa, los enfermos recaen con una tasa constante del 10 al 15% por año, y la mayoría de los pacientes fallecen finalmente a consecuencia de su enfermedad (5). Esta mediana de supervivencia no ha sido modificada de manera significativa a lo largo de los últimos 30 años, tal y como ha sido demostrado en un estudio retrospectivo realizado en la Universidad de Stanford, en el que se analizó la mediana de supervivencia de 1.021 pacientes tratados durante el periodo comprendido entre 1960 y 1991 (Fig. 4). El grupo de

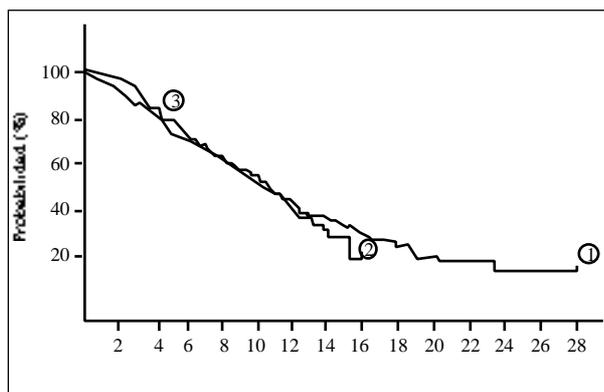


Fig. 4. Curva actuarial de la supervivencia de 1.020 pacientes con linfoma de bajo grado tratados en la Universidad de Stanford entre 1960 y 1992. No existen diferencias en la supervivencia durante 3 periodos de tiempo: 1960 a 1975 (1), 1976 a 1986 (2) y 1987 a 1992 (3) (Ref. Horning SJ, 1993).

MD Anderson Cancer Center ha limitado el estudio de factores pronósticos a la población de LF con estadio IV (6). En este grupo los factores que influyen desfavorablemente en la supervivencia son: el sexo masculino, tamaño ganglionar superior a 5 cm, infiltración de la médula ósea superior al 20% y afectación de lugares extraganglionares. El grupo de varones con 3 factores pronósticos presentan una supervivencia libre de recaída (SLR) y una supervivencia global (SG) de 12 y 43 meses respectivamente. El estudio del Grupo Italiano en 987 pacientes con LF, permite obtener 6 factores pronósticos independientes en relación con la supervivencia (Tablas III y IV) donde se pueden identificar grupos de bajo, intermedio y alto riesgo (Fig. 5). La identificación de grupos de supervivencia prolongada y otros más reducida, junto a una variabilidad en la edad de aparición, puede plantear diferentes propuestas desde el punto de vista terapéutico (7). Un aspecto muy interesante de este tipo de linfomas es el estudio de la enfermedad mínima residual (EMR) como fenómeno predictor de la recaída. El grupo del MD Anderson analizó en una serie de pacientes con linfoma folicular la importancia pronóstica de la remisión molecular inducida por el trata-

TABLA III

FACTORES PRONÓSTICOS INDEPENDIENTES RESPECTO A SUPERVIVENCIA (GRUPO ITALIANO DE LINFOMAS)		
Factor	Riesgo relativo mortalidad	Valor p
Edad (inferior 60 años vs superior 60 años)	2,6	<.0,001
Sexo (femenino vs masculino)	1,8	.0079
Lugar extraganglionar (0-1 vs 2)	2,1	.0445
LDH sérica (normal vs elevada)	2	.0074
Síntomas B (ausentes vs presentes)	2,2	.0128
VSG (<30 vs 30 mm)	2,4	.0006

TABLA IV

GRUPOS DE RIESGO SEGÚN FACTORES PRONÓSTICOS (GRUPO ITALIANO DE LINFOMAS)		
Grupos riesgo (n°)	N° factores pronósticos	Supervivencia a 5 años
Bajo riesgo (264)	0-1	90%
Riesgo intermedio (120)	2	75%
Alto riesgo (45)	3	38%

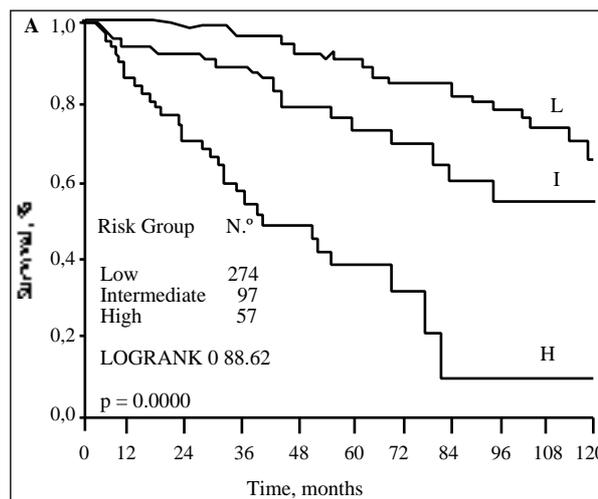


Fig. 5. Supervivencia de los pacientes con linfoma folicular de acuerdo con el modelo pronóstico del IIL (Ref. Federico M, 2000).

miento quimioterápico. Los pacientes que negativizan el reordenamiento BCL-2 de manera precoz y se mantienen en remisión molecular, presentan una supervivencia libre de progresión superior a los pacientes que persisten con enfermedad molecular, los cuales presentan una tendencia mantenida a la recaída (90 vs 40% a los 5 años) (8). Por otro lado, el grupo de Gribben en Stanford, estableció la importancia pronóstica de la negativización del reordenamiento BCL-2 en el producto medular extraído tras tratamiento *in vitro* con anticuerpos monoclonales, de manera que los pacientes que recibían una MO con el reordenamiento BCL-2 positivo, presentaban una tasa de recaídas significativamente superior a los pacientes BCL-2 negativos (9,10). Recientemente, dicho autor ha analizado el valor pronóstico de la determinación del reordenamiento BCL-2 en médula ósea y sangre periférica como factor predictor de recaídas en el trasplante autólogo de médula ósea (TAMO). Así, los pacientes que negativizan el BCL-2 tras el TAMO y persisten BCL-2 negativos durante meses, presentan una tasa de recaídas significativamente inferior a los pacientes que presentan enfermedad molecular persistente tras el trasplante. La presencia de enfermedad molecular en el producto infundido, sí que parece contribuir a la recaída experimentada por estos enfermos (11).

TRATAMIENTO DE LOS ESTADIOS I Y II

La curación clínica de los estadios I y II es factible en una cierta proporción entre el 50 y 70% de los casos. En la serie de Stanford los pacientes se trataron con radioterapia y la SLR a 10 años fue del 54%. La experiencia del grupo de *MD Anderson* demuestra que los pacientes tratados con radioterapia y quimioterapia, tenían a los 5 años una supervivencia del 79%, mientras que los que sólo recibieron radioterapia, ésta era del 47%. La SLR muestra "plateau" y ello sugiere una curación próxima al 45% de los casos. En estos casos no es adecuado el procedimiento de "watch and wait", debido a que el paso de este proceso a estadios más avanzados empeora claramente el tratamiento. Sólo en personas muy ancianas podría discutirse esta opción. La quimioterapia más utilizada suele ser 3 ciclos de CVP o CHOP.

TRATAMIENTO DE LOS ESTADIOS III Y IV

Las opciones terapéuticas en estos estadios de los LF son muy amplias y deben plantearse diferentes posibilidades en función de la previsión de eficacia, toxicidad y supervivencia. Los pacientes pueden encontrarse en edades avanzadas y en ocasiones podrían añadir comorbilidad. Los factores pronósticos pueden diferenciar grupos de pacientes con supervivencia diferente, en una enfermedad en la que no se puede definir una pauta terapéutica contrastada de curación. El tratamiento de primera línea de los pacientes con estadios III y IV de un LF sigue siendo muy controvertido, y varía desde una actitud de "ver y esperar" hasta las altas dosis de quimioterapia seguidas de trasplante de progenitores hematopoyéticos. Las opciones terapéuticas de los LF figuran en la tabla V.

Quimioterapia: los fármacos y combinaciones clásicas (CVP, CP, CHOP, BCVP, C-MOPP), obtienen entre el 55-79% del RC. La SLR de estos pacientes a 5 años es de 41 meses y la supervivencia es de 67 meses. La supervivencia es mayor en los pacientes que obtienen RC. La adición de adriamicina no es concluyente respecto a la supervivencia sobre CVP, aunque las RC sean superiores (12).

La fludarabina es un análogo de las purinas que presenta resistencia cruzada con los fármacos alquilantes, tiene una gran actividad favoreciendo la apoptosis de las células linfoides. En los pacientes en recaída, la combinación FMD (fludarabina, ciclofosfamida y dexametasona) obtiene un 47% de RC (13). En el estudio SWOG, los pacientes tratados con FMD presentan una SLR a 2 años del 63% similar a la obtenida con CHOP. Como tratamiento inicial la combinación FMD, alcanza 97% de RC a los 15-19 meses de su inicio, y 66% de remisiones moleculares (RM) Bcl-2 PCR- (8). Estudios realizados por grupos europeos y canadienses, comparando la fludarabina con fármacos alquilantes a bajas dosis o subóptimas, no muestran diferencias.

Interferón-alfa: los resultados del grupo EORTC ponen de manifiesto que la administración de IFN- durante 12-18 meses prolonga la SLR (14). El estudio

TABLA V

OPCIONES TERAPÉUTICAS EN LOS LINFOMAS FOLICULARES

<i>Watch and wait</i> (observar y esperar)
Fármacos alquilantes
Combinaciones de fludarabina (con mitoxantone y dexametasona: FMD y con ciclofosfamida: FC)
Rituximab (anticuerpo anti-CD20 quimérico)
Anticuerpos monoclonales radioconjugados
Vacunas (anticuerpos antiidiotipo)
Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos
Trasplante alogénico no ablativo
Terapia génica

francés de Solal-Celigny y cols., en el cual los pacientes fueron tratados con CHOP-like (CHVP), y de ellos un porcentaje importante presentaban masa tumoral grande o síntomas B, el IFN aumenta la supervivencia (15). Los estudios de Smalley y cols. y Avilés y cols., también muestran aumento de la supervivencia (16,17).

Rituximab: la aplicación del anticuerpo quimérico anti-CD20 (rituximab), se ha realizado en casi todas las situaciones clínicas de los linfomas de células B y particularmente dentro de diversas estrategias terapéuticas que se aplican en los LF. Los datos más contrastados proceden de las siguientes orientaciones:

1. En el estudio pivotal de McLaughlin y cols., en 166 pacientes tratados con LF en recaída sólo con rituximab, las respuestas fueron 48% y de ellas 6% completas con una mediana de progresión de 13 meses y con un apreciable cambio de la pendiente de la curva, que no obstante es progresivamente descendiente en cuanto a supervivencia (18).

2. La combinación CHOP+rituximab alcanza 95% de respuestas y 55% de RC con una mayoría de RM. Ello indica un efecto sinérgico entre rituximab y la quimioterapia que se expresa en más respuestas completas y moleculares que con el tratamiento clásico, sólo con alquilantes (19). El tiempo medio a la progresión no se alcanza como es lógico, con un tiempo medio de observación de +29 meses, pero la curva que representa tiempo a la progresión es más estable que las del LF tratado con CVP o clorambucil.

3. La administración conjunta en un estudio fase II de fludarabina y rituximab logra 67% de RC con un tiempo a la progresión de 15+ meses. Cuando rituximab se combina con FMD, las respuestas completas son 81 con 79% RM. La eficacia de rituximab es superior si se administra concomitantemente con FMD que si se hace de forma secuencial (20).

4. El tratamiento en primera línea de LF con rituximab consigue en el primer mes 64-73% de respuestas con 15-20% de RC y 20% con enfermedad estable y 47% en remisión parcial (RP). Las RM fueron 57% en sangre periférica y 31% en MO, con una adecuación entre remisiones clínicas y moleculares (21).

Anticuerpos monoclonales radioconjugados anti-CD20: los anticuerpos monoclonales desarrollados para su utilización en radioinmunoterapia en LNH, incluyen

^{131}I -tositumomab (Bexxar) y ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan (Zevalin). La zona diana para iniciar la actividad de estos anticuerpos es el antígeno CD20. Sin embargo estos fármacos no requieren la presencia de la molécula CD20 en todas las células, ya que la emisión de energía con capacidad citolítica se realiza sobre las células dianas y las de alrededor mediante un sistema de "fuego cruzado" que puede destruir tumores de notable tamaño. El tratamiento con tositumomab (Bexxar), requiere hospitalización y emite partículas gamma, sin embargo, el ibritumomab se administra en hospital de día y emite partículas beta de alta energía.

El estudio con ^{90}Y -ibritumomab alcanza 74% de respuestas de una duración de 7,5 meses. El estudio comparativo en recaídas de LF entre zevalin y rituximab (22), demuestra 80% de respuestas y 30% RC con el primero, y 56% de respuesta y 16% de RC con el segundo. Respecto a la duración de la respuesta los resultados son similares.

En el estudio pivotal con ^{131}I -tositumomab en 60 pacientes con linfoma de bajo grado o transformado, con una media de 4 regímenes previos de quimioterapia, las remisiones globales son del 65 y 34% son RC. La mediana de tiempo a la progresión es de 6,5 meses (23). El estudio Michigan (24) en 59 pacientes, comprende 42 pacientes con linfoma de bajo grado o transformado, en los cuales se obtiene 83% de remisiones, de las cuales 34% son RC. En los que responden, la mediana de supervivencia sobre la progresión es de 12 meses con 20,3 meses en aquéllos que alcanzan la RC. Siete de 20 pacientes permanecen en RC entre 3 y 5,7 años.

Vacunas expresadas como anticuerpos antiidiotipo: el idiotipo en el único determinante en todas las células B. Al originarse una proliferación clonal en estas células aparece el mismo idiotipo. Este idiotipo se puede utilizar para fabricar una vacuna específica de paciente. En el estudio realizado en Stanford (25) en 41 pacientes con LF, los cuales recibieron CVP hasta la remisión y luego vacuna antiidiotipo conjugada con KLH, 14 obtienen respuesta inmune frente al idiotipo y la supervivencia a 12 años después del diagnóstico es del 100% en este grupo. El NCI realizó un estudio (26) en el que 20 pacientes con LF en 1ª RC recibieron vacunación antiidiotipo con GM-CSF como adyuvante, de los cuales en 11 pacientes se detectó la t(14;18) por PCR tanto en el momento del diagnóstico como tras quimioterapia. La vacunación antiidiotipo obtuvo RM (Bcl-2 PCR-) en 8 de 11 casos. En un número importante de pacientes se detectó citotoxicidad específica antitumoral CD4 y CD8. En el momento actual están en curso ensayos fase III aleatorizados en pacientes en 1ª RC.

Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos: los resultados en LF con altas dosis de quimioterapia y trasplante de células germinales hematopoyéticas (TPH) son contradictorios. Sin embargo parece evidente que en las curvas de SLR no exhiben "plateau" y por lo tanto no se puede afirmar una posibilidad curativa sólo con este tratamiento. El número previo de tratamientos con quimioterapia es el factor pronóstico más desfavorable en relación con la supervivencia y la SLR. La experiencia de Nebraska en 100 pacientes tratados con

Auto-TPH (27) demuestra que a 4 años la SLR es del 44%, y en aquellos pacientes que recibieron 2, 3 ó 4 tratamientos previos, la mediana de SLR fue de 36, 20 y 12 meses respectivamente. Los pacientes que sólo recibieron un tratamiento previo con quimioterapia obtienen mejores resultados (28), pero no se puede concluir que exista curación en estos casos por la limitación del tiempo de seguimiento y el perfil de las curvas de SLR.

La experiencia de Stanford con trasplante autólogo en 1º RC o RP en LF con factores de mal pronóstico, presenta un riesgo de mortalidad del 14% y un 30% de recaídas a los 10 años (29), resultados claramente superiores a los obtenidos en un grupo control tratado exclusivamente con quimioterapia convencional (CVP). Los resultados de Freedman y cols. en Dana Farber en LF como tratamiento de consolidación de un tratamiento inicial con CHOP, obtienen una supervivencia global de 89% y una SLE del 63%, sin que a los 3 años se llegue a observar una meseta en las curvas de supervivencia (30).

El tratamiento con rituximab *in vivo* para depleccionar de células CD20 positivas es muy eficaz y alcanza en los LF la desaparición de Bcl-2 (PCR-) en cerca del 90% de los casos (31). Flinn y cols. muestran una correcta movilización después de administración de rituximab en el 90% de los pacientes (32) y lo mismo sucede con la obtención de células CD34+ (33). Ello muestra que el rituximab no altera el injerto, ni interfiere con las citocinas que actúan en este proceso. Es probable que rituximab pueda controlar las recaídas del trasplante autólogo mediante una administración mantenida. Por otra parte el rituximab administrado 8 semanas después del trasplante induce RM completa. La combinación de trasplante autólogo con rituximab comparado con controles históricos mejora la SLR. Después de trasplante autólogo la eficacia de rituximab aumenta, posiblemente debido a una mayor difusión tisular y a una menor masa tumoral.

En un estudio fase I/II el anticuerpo radioconjugado con ^{131}I (tositumomab) combinado con altas dosis de quimioterapia y trasplante autólogo en LNH de células B en recaída, se observa que los pacientes tratados con el anticuerpo anti-CD20 ^{131}I presentan una SLR a 2 años de 68% con una supervivencia de 83%, mientras que un grupo similar de pacientes no tratados con el anticuerpo radioconjugado tienen una SLR de 36% y SG de 53% (24).

Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos: la edad media de los pacientes, las diferentes oportunidades terapéuticas, la búsqueda de un donante relacionado, la toxicidad del trasplante, y la duración de la enfermedad, dificultan establecer la indicación terapéutica de este procedimiento. Es evidente que los pacientes jóvenes, con criterios de mal pronóstico que tienen una mediana de supervivencia limitada y que tienen donante HLA compatible, son candidatos, posiblemente después del segundo tratamiento, para realizar trasplante no ablativo.

En el estudio de Van Besien y cols., recogiendo los datos del registro del IBMT en LNH de bajo grado en 113 pacientes con edad media de 38 años tratados con trasplante HLA relacionado y con una media de 2 tratamientos de quimioterapia previa, la SLR fue de 48% a

los 3 años, la probabilidad de recaída del 16% y la mortalidad relacionada con el trasplante del 28% (34). Los factores pronósticos peyorativos fueron PS bajo, resistencia a la quimioterapia y la utilización de tratamiento de acondicionamiento sin radioterapia corporal total. El estudio de Khouri y cols. sobre 20 pacientes consecutivos, 18 con linfoma folicular y 2 con linfoma linfocítico tratados con trasplante no ablativo y previamente tratados con quimioterapia en fase de recurrencia de la enfermedad presentan a los 2 años una probabilidad de supervivencia del 84% (35). Todos los pacientes alcanzan RC y la EICH grado II-IV es del 20% sin aparecer ninguna recidiva de la enfermedad con un seguimiento medio de 21 meses.

En la tabla VI se exponen las opciones terapéuticas de los LF en relación con factores pronósticos, edad y comorbilidad.

¿SE PUEDEN POR LO TANTO CURAR LOS LINFOMAS FOLICULARES?

En el momento actual no parece que un solo tratamiento pueda curar esta enfermedad. En los últimos 10 años, los avances han sido “muchos y buenos”. Prácticamente todos los pacientes pueden obtener una 1ª RC clínica y molecular. Las recaídas, sobre todo las primeras, pueden alcanzar una duración prolongada, incluso superior a la anterior si se utilizan anticuerpos monoclonales, como el anti-CD20 y fármacos como la fludarabina. Los anticuerpos radioinmunoconjugados obtienen mayor número de RC en las recaídas que los Ac. quiméricos, pero en principio parecen más difíciles de combinar. No conocemos la eficacia de los radioinmunoconjugados en 1ª línea. El trasplante autólogo parece más útil antes de la 2ª recaída que en las siguientes y es muy probable que la administración de los anticuerpos anti-CD20 mejoren su rendimiento. El rituximab ha demostrado su eficacia en controlar la EMR y aumenta la eficacia de un tratamiento combinado con quimioterapia. Es probable que la administración continua prolongue la SLR y quizás la SG. El trasplante alogénico ha reducido su toxicidad mediante su variante no ablativa y sólo por esto ha elevado su eficacia.

¿Cuál es el mejor tratamiento inicial?, ¿CHOP + rituximab? o ¿combinación de fludarabina + rituximab?, ¿debe guiarse esta elección por las respuestas molecula-

res o clínicas, por la toxicidad o por la factibilidad de tratamientos posteriores?, ¿cuándo la vacunación con Ac. antiidiotipo y en qué pacientes?, en este caso si es necesario que exista una respuesta inmune, será, imprescindible que los tratamientos previos sean pocos inmunosupresores.

Aún no somos capaces de curar el LF pero es muy probable que ya dispongamos de los medios para ello, pero ¿sabemos ya combinar estos medios?: todavía no. Es importante individualizar las formas de mal pronóstico en jóvenes y también en pacientes de edad avanzada con comorbilidad.

LINFOMA LINFOCÍTICO (LL)

Representa el 4% de los LNH del adulto. Las características morfológicas se expresan con un patrón difuso de linfocitos pequeños y aparentemente maduros y la frecuente leucemización, incluso sin presentar una notable linfocitosis. El inmunofenotipo es similar al de la LLC-B: CD20, CD5 y CD23 positivo. Aproximadamente el 15% de los casos se transforman en un S. de Richter (linfoma de células grandes) y no es rara la existencia de hepatomegalia. La médula ósea puede estar afectada y también la sangre periférica. La histopatología del ganglio y la genética son similares a la LLC. Por ello se establece una identidad entre estos dos procesos con formas clínicas aparentemente diferentes (35).

En personas de edad avanzada, el tratamiento inicial debe ser clorambucil, mientras que en jóvenes son útiles los tratamientos con CHOP o con fludarabina, que obtiene un 80% de respuestas.

Las formas claramente localizadas son raras y en esos casos se puede conjugar quimioterapia y radioterapia. Las recaídas son muy frecuentes ya que se trata de una enfermedad sistémica que debe ser comprendida actualmente dentro de la heterogeneidad de la LLC.

LINFOMA LINFOPLASMOCITOIDE (LLP)

Es un linfoma de linfocitos B caracterizado por la presencia de células linfoplasmacíticas que se encuentran en los ganglios, bazo, en células circulantes y en la MO. A diferencia de la leucemia linfática crónica (LLC) es CD5-, la infiltración de la MO y de la sangre periférica es menor,

TABLA VI
POSIBILIDADES PREFERENTES EN EL TRATAMIENTO DE LOS LF EN RECAÍDA

<i>Sin factores pronósticos adversos</i>	<i>> 1 factor pronóstico adverso</i>		
Cualquier edad	Edad <55 años Poca comorbilidad	Edad 55-65 años Poca comorbilidad	Edad > 65 años Importante comorbilidad
Dosis estándar de QT Anticuerpo monoclonal “Watch and Wait”	TPH alogénico TPH autólogo Dosis estándar de QT Anticuerpo monoclonal	TPH autólogo Dosis estándar de QT Anticuerpo monoclonal	Anticuerpo monoclonal Dosis estándar de QT

las células son linfoplasmacíticas pequeñas y pueden presentar una proteína monoclonal, hiperviscosidad y crioglobulinemia, como sucede en la enfermedad de Waldenström. Las células pueden proceder de la respuesta inmune primaria como reacción ante un antígeno o a una célula postgerminal con mutaciones somáticas primitivas. La incidencia de este linfoma es 1,7%. La edad media es de 64 años y la relación varón/hembra es 3/1 (36).

El inmunofenotipo se caracteriza por la presencia de IgM y falta de IgD con presencia de los antígenos CD 19⁺, CD20⁺, CD22⁺ y CD79a⁺. No están presentes los antígenos CD5⁻, CD10⁻, CD23⁻. El estudio genético muestra reordenamiento de los genes de cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas, y los genes de la región variable presentan mutaciones somáticas que sugieren células que están bajo una selección dirigida por antígenos. Presenta en el 50% de los casos una t(9;14)(p13;p32) y reordenamiento del gen PAX5 que codifica la proteína BSAP (proteína activadora específica de células B), que es importante en el desarrollo inicial de linfocitos B y es independiente de la translocación (37).

El LLP tiene una evolución indolente aunque como en todos estos linfomas se puede observar un pequeño grupo con una evolución agresiva con células de tamaño superior a las habituales. Casi todos los pacientes se encuentran en estadio IV (90%) y el 73% tiene infiltración de la MO, son raros los síntomas B (13%) y la localización dominante se encuentra en los ganglios, el bazo, el hígado, la médula ósea y el anillo de Waldeyer. La LDH y la β_2 -microglobulina pueden elevarse si existe una transformación blástica. Es frecuente que curse con una gammapatía monoclonal tipo IgM con características de un anticuerpo con actividad crioglobulina. Esta proteína puede estar relacionada con la infección del virus C. La prevalencia del virus de la hepatitis C es bajo (1,83%) y no parece ser el agente causal de estos linfomas. La supervivencia mediana a 5 años es del 60% y la SLR de 25%, por lo tanto muy similar a la LLC. Son signos de mal pronóstico la edad, la pancitopenia y la alteración del estado general.

Los pacientes asintomáticos no requieren tratamiento. Los tratamientos más comunes aplicados en este linfoma son clorambucil, CHOP, CVP, fludarabina y 2-CDA (36). Las respuestas son 69%, de ellas 13% RC y el fracaso al tratamiento en torno al 25% de los casos considerados conjuntamente los inmunocitomas (linfoplasmacitoide, linfoplasmacítico y polimorfo). Si los pacientes presentan niveles altos de IgM e hiperviscosidad se tratan con plasmaféresis. Como todos los linfomas de bajo grado pueden transformarse en un linfoma agresivo.

LINFOMA ESPLÉNICO DE LA ZONA MARGINAL CON O SIN LINFOCITOS VELLOSO (LEZM)

Los linfocitos de este linfoma rodean y reemplazan los centros germinales de la pulpa esplénica blanca por una zona marginal con células grandes. Las células pequeñas y grandes infiltran la pulpa roja. Frecuentemente existen linfocitos vellosos en sangre periférica. La incidencia de este linfoma es inferior al 1%. La pro-

cedencia corresponde a una célula B memoria de centro postgerminal del bazo.

Las células que se encuentran en la sangre periférica y en MO tienen abundante citoplasma y superficie con vellosidades (Fig. 6), algunas de aspecto plasmocitoide, las cuales se diferencian tanto por la morfología como por el inmunofenotipo de la tricoleucemia (38). El inmunofenotipo es IgM⁺IgD⁻, CD20⁺CD19⁺CD22⁺ y CD5⁻, CD10⁻, CD23⁻ y CD43⁻. La negatividad de CD25 y CD103 lo diferencia de la tricoleucemia, CD5⁺, CD23⁺ de la LLC y CD5⁺ con ciclina D1 del LCM (39). En algunas ocasiones puede expresarse la ciclina D1 pero con CD5 negativo.

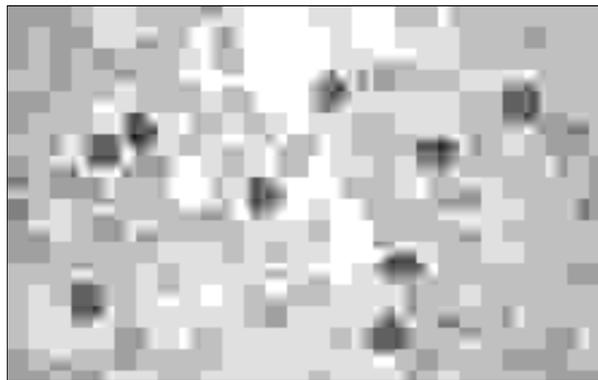


Fig. 6. Sangre periférica de linfoma marginal esplénico con linfocitos vellosos: linfocitos maduros con microvellosidades citoplásmicas de localización polar.

Los aspectos genéticos demuestran, en la región variable de las inmunoglobulinas, un alto grado de mutaciones debido a un estadio compatible con el nivel de centro postgerminal. El Bcl-2 está en línea germinal. La trisomía 3 sólo se detecta en un limitado número de casos. Se han descrito en el 40% de casos pérdidas alélicas del cromosoma 7q21-32 y así mismo la desregulación de CDK-6 cuyo gen está localizado en ese cromosoma. La ciclina D1 puede estar presente en algunos casos en los que es factible discutir la posibilidad de un linfoma del manto (40).

La edad media de presentación es 70 años con un predominio en hombres y un curso muy indolente. La forma clásica de presentación comprende una gran esplenomegalia con infiltración de la MO y aparición de células como las descritas en sangre periférica que no suelen exceder de $30 \times 10^9/L$. Suele asociarse con un pico monoclonal pequeño de inmunoglobulinas en un tercio de los casos. En un número reducido de casos presentan adenopatías. Puede evolucionar, en un 4% de los casos, a formas blásticas por transformación histopatológica.

El diagnóstico diferencial se puede plantear con aquellos linfomas que presentan leucemización (Tabla VII) como: linfoma del manto, linfoma folicular, enfermedad de Waldenström, tricoleucemia y LLC. La identificación citológica y el estudio del inmunofenotipo permiten el diagnóstico.

TABLA VII
MARCADORES DE MEMBRANA DE LOS SÍNDROMES
LINFOPROLIFERATIVOS B

	LLC	LPL	TL	LEZM	LNH
IgS	-/+	++	++	+/-	++
CD5	++	-/+	-	-/+	-
CD19	++	++	++	++	++
CD20	+	++	++	++	++
CD24	++	++	+/-	++	+/-
CD22	-/+	+	++	+/-	+
CD23	++	-/+	-	-/+	-/+
FMC7	-/+	++	++	+	++
CD10	-	-	-	-	++
CD25	-	-	++	-	-
CD11c	-	-	++	+/-	-

LLC: leucemia linfática crónica; TL: tricoleucemia; LPL: leucemia prolinfocítica; LEZM: linfoma esplénico de zona marginal; LNH: linfomas leucemizados.

En el linfoma esplénico marginal son criterios pronósticos desfavorables: el ECOG entre 2-3, la p53, la infiltración de localizaciones extrahematopoyéticas, una cifra de leucocitos superior a $30 \times 10^9/L$ y una cifra de linfocitos mayor de $4 \times 10^9/L$ indican peor pronóstico (41).

Respecto al tratamiento, la mediana de supervivencia a los 5 años es del 80%. En los pacientes que no tienen un curso estable con aumento progresivo del bazo y molestias abdominales es oportuno realizar esplenectomía o radioterapia esplénica.

Al tratamiento con clorambucil responde el 30% de los pacientes. Es un linfoma muy resistente a la quimioterapia pero sensible a rituximab, que junto a la fludarabina representa un tratamiento eficaz.

Recientemente en pacientes con infección por el virus de la hepatitis C, y tratados con interferón α -2b y/o ribavirina, se ha podido poner de manifiesto que la no detección de RNA del VHC coincidía con la desaparición del linfoma marginal. Este dato indica una importante relación entre virus hepatitis C y el linfoma con linfocitos vellosos (42).

LINFOMA MARGINAL GANGLIONAR DE CÉLULAS B (+/- MONOCITOIDES) (LMBM)

La célula del LMBM parece proceder de linfocitos B de la zona marginal de los ganglios. En este tipo de lin-

fomas se observa un patrón de mutaciones VH que sugieren células B memoria y otro grupo de células que expresan VH no mutadas y que procederían de células B vírgenes. Es similar a los ganglios infiltrados por el linfoma MALT, sin afectación extraganglionar (43). La presencia de células B monocitoides es muy marcada. La incidencia entre los LNH es del 1,8% y la edad media 60 años.

Se han descrito dos tipos de linfomas ganglionares B monocitoides cuyas formas de expresión serían (44): a) similar al linfoma MALT: tienen agregados de células B monocitoides con distribución parafolicular, perivascular y perisinusoidal, tienen centros germinales y zonas manto. El inmunofenotipo se caracteriza por IgD^+ , $CD20^+$, $CD19^+$, $CD22^+$ y $CD5^-$, $CD23^-$, $CD43^-$ y $CD10^-$; y b) similar al linfoma esplénico marginal rodeando folículos reactivos con centros germinales pero con escaso manto. Desde el punto de vista genético muestra un patrón heterogéneo de mutaciones somáticas de gen VH. No es frecuente que aparezcan la t(11;18)(q21;q21) y la trisomía 13, las cuales pueden encontrarse en el linfoma marginal extraganglionar.

En los pacientes con S. Sjögren, linfoma MALT o tiroiditis de Hashimoto, la infiltración ganglionar marginal es secundaria al linfoma primario extraganglionar.

Este linfoma puede evolucionar a una transformación en linfoma difuso de células grandes.

Los pacientes pueden presentar enfermedad ganglionar tanto localizada como generalizada y con buen estado general. La infiltración de la MO se presenta en el 30% de los casos y en raras ocasiones hay células en sangre periférica. No suelen presentar síntomas B. La tendencia a producir un linfoma extraganglionar (44%) es superior en el linfoma similar al tipo MALT. La evolución de estos linfomas es similar al linfoma folicular o al linfoma linfocítico. El linfoma MALT tiene mejor pronóstico que el linfoma B ganglionar marginal.

En pacientes jóvenes se puede recurrir a tratamientos agresivos. En edades avanzadas, que son las más frecuentes, se utiliza quimioterapia tipo CHOP o CVP que responden a este tratamiento pero con recaídas no prolongadas. La mediana de supervivencia es de 5 años. Los tratamientos con fludarabina, 2-CDA, interferón α y rituximab, no están todavía bien definidos.

CORRESPONDENCIA:

J. García-Conde
Servicio de Hematología y Oncología Médica
Hospital Clínico Universitario
Avda. Blasco Ibáñez, 17
46010 Valencia

BIBLIOGRAFÍA

1. National Cancer Institute Sponsored. Study of Classification of Non-Hodgkin's Lymphomas. Summary and description of a working Formulation For Clinical Usage. The non-Hodgkin's lymphoma pathologic classification Project. Cancer 1982; 49: 2112-35.
2. Rosenberg SA. The low-grade non-Hodgkin's lymphomas: challenges and opportunities. J Clin Oncol 1985; 3: 299-310.
3. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the Interna-

- tional Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361-92.
4. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. World Health Organization classification of neoplastic disease of the haematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November. *J Clin Oncol* 1997; 17: 3835-49.
 5. Horning SJ. Natural history and therapy for the indolent non-Hodgkin's lymphomas. *Seminars in Oncology* 1993; 20 (Supl. 5): 75-88.
 6. Romaguera JE, McLaughlin P, North L, et al. Multivariate analysis of Prognostic factors in stage IV follicular low grade lymphoma: a risk model. *J Clin Oncol* 1991; 9: 762-9.
 7. Federico M, Vitolo U, Zinzani PL, et al. Prognosis of follicular lymphoma: a predictive model base on a retrospective analysis of 987 cases. *Blood* 2000; 95: 783-9.
 8. López-Guillermo A, Cabanillas F, McLaughlin P, et al. The clinical significance of molecular response in indolent follicular lymphomas. *Blood* 1998; 91: 2955-60.
 9. Gribben JG, Neuberger D, Freedman AS, et al. Detection by polymerase chain reaction of residual cells with the bcl-2 translocation is associated with increased risk of relapse after autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *Blood* 1993; 81: 3449-57.
 10. Gribben JG, Freedman AS, Neuberger D, et al. Immunologic purging of marrow assessed by PCR before autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *N Eng J Med* 1991; 325: 1525-33.
 11. Gribben JG, Neuberger D, Marber M, et al. Detection of residual cells by polymerase chain reaction in peripheral blood is significantly less predictive for relapse than detection in bone marrow. *Blood* 1994; 83: 3800-7.
 12. Dana BW, Dahlberg S, Nathwani BN, et al. Long-term follow-up of patients with low-grade malignant lymphomas treated with doxorubicin-based chemotherapy or chemoimmunotherapy. *J Clin Oncol* 1993; 11: 644-51.
 13. McLaughlin P, Hagemester FB, Romaguera JE, et al. Fludarabine, mitoxantrone, an dexamethasone: an effective new regimen for indolent lymphoma. *J Clin Oncol* 1996; 14: 1262-1268.
 14. Hagenbeek A, Carde P, Meerwaldt JH, et al. Maintenance of remission with human recombinant interferon alfa-2a in patients with stages III and IV low-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1998; 16: 41-7.
 15. Solal-Celigny P, Lepage E, Brousse N, et al. Recombinant interferon alfa-2a combined with a regimen containing doxorubicin in patients with advanced follicular lymphoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 1608-14.
 16. Smalley RV, Andersen JW, Hawkins MJ, et al. Interferon alfa-2a combined with cytotoxic chemotherapy for patients with non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1992; 327: 1336-41.
 17. Avilés A, Duque G, Talavera A, et al. Interferon alpha 2b as maintenance therapy low-grade malignant lymphoma improves duration of remission and survival. *Leu Lymphoma* 1996; 20: 495-9.
 18. McLaughlin P, Grillo-López AJ, Link BK, et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2825-33.
 19. Czuczman MS, Grillo-López AJ, White CA, et al. Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999; 17: 268-76.
 20. Cabanillas F, McLaughlin P, Hagemester F, et al. Molecular responses with FND+Rituxan chemoimmunotherapy for stage IV indolent follicular non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 2000; 98: (Supl. 1) 331a (Abstr. 1429).
 21. Colombat P, Salles G, Brousse N, et al. Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) as single first-line therapy for patients with follicular lymphoma with a low tumour burden: clinical and molecular evaluation. *Blood* 2001; 97: 101-6.
 22. Witzing TE, White CA, Gordon LI, et al. Final results of a randomised controlled study of the Zevalin™ radioimmunotherapy regimen versus a standard course of rituximab immunotherapy for B-cell NHL. *Blood* 2000; 96: 831 a (Abstr. 3591).
 23. Kaminsky MS, Zelenetz AD, Press OW, et al. Pivotal Study of Iodine I 131 tositumomab for chemotherapy-refractory low-grade or transformed low-grade B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3918-28.
 24. Kaminsky MS, Estes J, Zasadny KR, et al. Radioimmunotherapy with iodine 131I tositumomab for relapse or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma: updated results and long-term follow-up of the University of Michigan experience. *Blood* 2000; 96: 1259-66.
 25. Hsu FJ, Caspar CB, Czerwinski D, et al. Specific-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-cell lymphoma: long-term results of a clinical trial. *Blood* 1997; 89: 3129-35.
 26. Bendandi M, Gocke CD, Kobrin CB, et al. Complete molecular remissions induced by patient-specific vaccination plus granulocyte-monocyte colony-stimulating factor against lymphoma. *Nat Med* 1999; 5: 1171-7.
 27. Bierman PJ, Vose JM, Anderson JR, et al. High-dose therapy with autologous haematopoietic rescue for follicular low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1997; 15: 445-50.
 28. Cao TM, Horning SF, Negrin RS, et al. High-dose therapy autologous haematopoietic-cell transplantation for follicular lymphoma beyond first remission: The Stanford University Experience. *Biology of bone marrow transplantation* 2001; 7: 294-301.
 29. Horning SJ, Negrin RS, Hoppe RT, et al. High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation for follicular lymphoma in first complete or partial remission: results of a phase II clinical trial. *Blood* 2001; 97: 404-9.
 30. Freedman AS, Gribben JG, Neuberger D, et al. High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation in patients with follicular lymphoma during first remission. *Blood* 1996; 88: 2780-6.
 31. Buckstein R, Imrie K, Spaner D, et al. Stem cell function and engraftment is not affected by *in vivo* purging with rituximab for autologous stem cell transplantation for patients with non-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 1999; 5 (Supl. 4): 115-22.
 32. Flinn IW, O'Donnell P, Noga SJ, et al. *In vivo* purging with rituximab during stem cell transplantation for indolent lymphoma. *Blood* 1999; 94 (Supl. 1): 638a.
 33. Van Besien K, Sobocinski KA, Rowlings PA, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for low-grade lymphoma. *Blood* 1998; 92: 1832-6.
 34. Khouri IF, Saliba RM, Giralt SA, et al. Nonablative allogeneic haematopoietic transplantation as adoptive immunotherapy for indolent lymphoma: low incidence of toxicity, acute graft-versus-host disease, and treatment-related mortality. *Blood* 2001; 98: 3595-9.
 35. Pangalis GA, Angelopoulou MK, Vassilakopoulos TP, et al. B-Chronic lymphocytic leukemia, small lymphocytic lymphoma, and lymphoplasmacytic lymphoma, including Waldenström's macroglobulinemia: a clinical, morphologic, and biologic spectrum of similar disorders. *Semin Hematol* 1999 Apr; 36 (2): 104-14.
 36. Papamichael D, Norton AJ, Foran JM, et al. Immunocytoma: a retrospective analysis from St Bartholomew's Hospital-1972 to 1996. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2847-53.
 37. Lida S, Rao PH, Nallasivam P, et al. The t(9;14)(p13;q32) chromosomal translocation associated with lymphoplasmacytoid lymphoma involves the PAX-5 gene. *Blood* 1996; 88: 4110-7.
 38. Melo JV, Robinson DSF, Gregory C, et al. Splenic B Cell Lymphoma with "Villous" lymphocytes in the peripheral blood: a disorder distinct from hairy cell leukemia. *Leukemia* 1987; 1: 294-9.
 39. Matutes E, Morilla R, Owusu-Ankomah K, et al. The Immunophenotype of splenic lymphoma with villous lymphocytes and its relevance to the differential diagnosis with other B-cell disorders. *Blood* 1994; 83: 1558-62.
 40. Jadayel D, Matutes E, Dyer MJS, et al. Splenic lymphoma with villous lymphocytes: analysis of BCL-1 rearrangements and expression of the cyclin D1 gene. *Blood* 1994; 83: 3664-71.
 41. Chacon JI, Mollejo M, Muñoz E, et al. Splenic marginal zone lymphoma: clinical characteristics and prognostic factors in a series of 60 patients. *Blood* 2002; 100: 1648-54.
 42. Hermine O, Leprère F, Bronowicki JP, et al. Regression of splenic lymphoma with villous lymphocytes after treatment of hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 89-94.
 43. Conconi A, Bertoni F, Pedrinis E, et al. Nodal marginal zone B-cell lymphomas may arise from different subsets of marginal zone B lymphocytes. *Blood*, 2001; 98:781-6.
 44. Nathwani BN, Anderson JR, Armitage JO, et al. Marginal zone B-cell lymphoma: a clinical comparison of nodal and mucosa-associated lymphoid tissue types. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2486-92.

Tratamiento de los linfomas agresivos del adulto

J. GÓMEZ CODINA

Servicio de Oncología Médica. Hospital Universitario La Fe. Valencia

DEFINICIÓN

Bajo el término linfomas agresivos del adulto se agrupa a los linfomas no hodgkinianos (LNH) cuyo comportamiento clínico es agresivo desde el diagnóstico, mortal sin tratamiento, pero en los que es posible conseguir la curación definitiva de un porcentaje variable de los mismos. Aunque suponga un claro reduccionismo desde el punto de vista biológico, lo cierto es que no disponemos de tratamientos específicos para cada subtipo histológico y dado que estos LNH mantienen unas similitudes básicas en su orientación terapéutica, es razonable agruparlos, en aras de una mayor homogeneidad y para facilitar la toma de decisiones terapéuticas.

Se incluyen en este epígrafe la mayor parte de los subtipos histológicos denominados en la Formulación de Trabajo como LNH de grado intermedio de malignidad. En la terminología REAL/OMS son los que recoge la tabla I.

TABLA I

LINFOMAS AGRESIVOS DEL ADULTO

L. folicular de células grandes, grado III
L. centrofolicular, difuso (células pequeñas hendidas)
L. difuso de células grandes B
Incluye: L. difuso mixto, L. difuso de células grandes, L. inmunoblástico y L. de células B primitivo del mediastino
L. de células B de alto grado, Burkitt-like
L. de células T periféricas (sin especificación)
L. anaplásico de células grandes CD30+

Conviene recordar que hace menos de 30 años, los linfomas de histología agresiva eran considerados una enfermedad virtualmente mortal, con una expectativa de vida inferior al año (1) y que en la actualidad, sin embargo, al menos el 50% de los pacientes alcanzan la curación definitiva y otros, al menos, una larga supervivencia libre de enfermedad (2-6).

En la literatura de los últimos años existen múltiples y magníficas revisiones de conjunto acerca del tratamiento de los LNH (7-14). Aunque no existen guías terapéuticas de amplio consenso de uso, el *National Comprehensive Cancer Network* de los EE.UU., ha editado recientemente una *guideline* que puede ser un punto de referencia práctico (15). En el mismo sentido, la Sociedad Europea de Oncología Médica ha dado a conocer una guía de “recomendaciones mínimas” con un apartado dedicado a los LNH (16). Para nuestro país, existe un libro de consenso donde pueden encontrarse recomendaciones y algoritmos de decisión útiles en la toma de decisiones para casos concretos (17).

TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA DE LOS ESTADIOS INICIALES

Los linfomas agresivos que se presentan en estadios localizados, I y II sin masas voluminosas y sin factores pronósticos adversos (puntuación IPI 0-1), representan menos de un 30% del total de los pacientes. El pronóstico es, por lo general, bueno y pueden esperarse más de un 75% de curaciones a largo plazo.

Desde la década de los 70 se conoce bien que la RT como única modalidad terapéutica, ofrece unos pobres resultados en los estadios localizados de los linfomas agresivos. Aunque los datos de la bibliografía son muy heterogéneos y de difícil interpretación, podemos afirmar que en el estadio I sólo un 50% puede conseguir la

curación y en el estadio II menos del 35% están libres de recaída a los 5 años (18-25). Por tanto, la irradiación, en dosis de 40-55 Gy sobre las zonas afectas, sólo puede ser contemplada como opción terapéutica curativa en casos muy seleccionados de estadios I y, siempre y cuando se trate de pacientes sometidos a un riguroso estudio de extensión (26-30).

El empleo de la QT, generalmente con esquemas tipo CHOP, seguida o no de RT complementaria, consigue sin embargo, buenos resultados. Está demostrado, en estudios prospectivos y retrospectivos, que el uso combinado de la QT y la RT es claramente superior al uso aislado de la RT (31-43).

El uso exclusivo de la QT en estos estadios, sin emplear RT, también ofrece buenos resultados, similares al tratamiento combinado, aunque la experiencia publicada es menor (44-46).

Existen dos estudios aleatorizados en los que se compara el tratamiento QT exclusivo frente al tratamiento combinado y en los que se apunta una ligera ventaja para el tratamiento multimodal. El estudio aleatorizado conducido por el SWOG (47) demuestra que los resultados son muy similares entre tres ciclos de CHOP seguidos de RT y ocho ciclos de CHOP, con ligero beneficio para el tratamiento combinado en los casos de muy bajo riesgo, al parecer por una menor toxicidad cardíaca tardía. Según sus propias conclusiones, el tratamiento combinado permite acortar la duración de la QT, sin comprometer los resultados. Por su parte, el estudio del grupo ECOG, del que únicamente se tiene información parcial en forma de resumen (48), compara el tratamiento mediante 8 ciclos de CHOP frente al mismo esquema seguido de RT, con una mejor supervivencia para el grupo tratado con ambas modalidades terapéuticas.

Por último, recientemente se han dado a conocer los resultados preliminares de un estudio del grupo GELA en el que se comparan cuatro ciclos de CHOP frente a la misma QT seguida de irradiación sobre el campo afecto, con resultados similares o ligeramente superiores para la rama de QT exclusiva (49).

En resumen, la mejor pauta de tratamiento para los LNH agresivos en estadios localizados, sin grandes masas ni factores pronósticos adversos, parece ser la quimioterapia de breve duración (por ejemplo CHOP x 3-4), seguida de radioterapia sobre el campo afecto (50-52). No obstante, la QT aislada puede ser, también, una opción a considerar. En los casos con enfermedad voluminosa u otras características de mal pronóstico, no está establecido con claridad el mejor esquema terapéutico, aunque parece aconsejable tratarlos como si de estados avanzados se trataran.

TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA DE LOS ESTADIOS AVANZADOS

La mayor parte de los pacientes con linfomas agresivos se diagnostican en estadios avanzados de la enfermedad y en ellos, la quimioterapia es la base del tratamiento, aunque la radioterapia puede ser de utilidad en algunas situaciones.

RADIOTERAPIA EN EL TRATAMIENTO DE LOS ESTADIOS AVANZADOS

El papel de la RT en los estadios avanzados sigue sin estar bien establecido, aunque la práctica habitual de los grandes centros o grupos cooperativos, suele ser la irradiación complementaria de las zonas con gran masa inicial. La RT se administra una vez concluida la QT y como consolidación de la respuesta obtenida con ésta, ya que las zonas "bulky" son lugar frecuente de las recaídas (29,30). El estudio aleatorizado de Avilés y cols., aunque realizado sobre un pequeño número de pacientes, pone de manifiesto un mayor número de recaídas en los pacientes que no recibieron RT complementaria (53). En sus estudios retrospectivos, los grupos alemán (54) y del MD Anderson (55), llegan a similares conclusiones.

QUIMIOTERAPIA

Los principios enunciados en 1988 por Armitage y Cheson acerca del uso de la quimioterapia como tratamiento de elección de los LNH agresivos en estadios avanzados (56) son, en líneas generales y a pesar de los años transcurridos, perfectamente aplicables en la actualidad (14,57,58):

1. Para que un régimen de QT sea curativo, debe alcanzar un elevado número de remisiones completas.

2. El esquema debe ser siempre administrado a las dosis máximas tolerables, en los plazos previstos y evitando en lo posible retrasos y reducciones de dosis.

3. Los factores pronósticos del paciente deben tenerse en cuenta a la hora de elegir el esquema a emplear.

4. La curación debe conseguirse con el tratamiento de primera línea. Los pacientes que recaen tras el tratamiento inicial tienen, por lo general, un pronóstico desfavorable.

5. El tratamiento prolongado, una vez alcanzada la remisión, no es necesario.

6. Debe asumirse que los esquemas de QT para los LNH son agresivos y que, por tanto, llevan asociada una toxicidad no desdeñable.

A partir de los años 70 en que se demostró de manera fehaciente la curabilidad de los LNH agresivos (59), se desarrollaron decenas de esquemas de quimioterapia que intentaban conseguir mejorar progresivamente los resultados. Estos regímenes se clasificaron de un modo arbitrario en esquemas de Primera, Segunda y Tercera Generaciones.

Los esquemas de Primera Generación [COP/CVP (60-63), MOPP (64), C-MOPP/COPP (59), COMLA (65-67), BACOP (68,69), CHOP (70-72), HOP (71), CHOP-Bleo] (73,74) conseguían un 40-68% de respuestas, con un 20-40% de largos supervivientes (salvo el esquema CVP que prácticamente no consigue largas supervivencias); eran fáciles de administrar y ninguno mostró una clara superioridad. En particular, el esquema CHOP, el más popular y estandarizado del grupo, consigue, en la extensa experiencia del SWOG, un 53% de remisiones completas y un 33% de pacientes curados

a largo plazo (75). Resultados similares pueden encontrarse en la experiencia española del grupo PETHEMA (76).

Con la Segunda Generación [COP-BLAM (77), M-BACOD (78,79), CHOP-OAP-Bleo-IMVP (80), ProMACE-MOPP (81), m-BACOD (82), NHL-3 (83), LNH-80] (84), se incrementó el número de drogas, con mayor mielotoxicidad y con una mayor intensidad de dosis. Con ellos se publicaron unos índices de remisiones completas superiores al 70% y unas tasas proyectadas de supervivencia superiores a las obtenidas por los esquemas clásicos.

Con los llamados regímenes de Tercera Generación [MACOP-B (85,86), F-MACHOP (87), COPBLAM III (88), LNH-84 (89), ProMACE-CytaBOM] (90), en los que se incluyeron conceptos innovadores en el modo de administración de la QT (administración semanal, perfusión continua...), y en los que se alcanzaba la mayor intensidad de dosis teórica, se publicaron unos magníficos resultados iniciales, con índices de respuesta de al menos un 80% y una supervivencia, nuevamente proyectada, realmente llamativa (más del 65% a los 2 años, con aparentes curvas en "plateau").

Sin embargo, todos estos esquemas son mucho más complejos de administrar, más costosos y tienen una toxicidad importante, con un porcentaje de muertes tóxicas del 5-10%. Ello motivó que en los ensayos correspondientes a las publicaciones originales, se incluyeran mayoritariamente pacientes sin edad avanzada y con buen estado general.

Por ello, cuando diversos grupos cooperativos intentaron validar estos resultados y fueron ensayados en gran número de pacientes, el índice de remisiones y el porcentaje de pacientes potencialmente curados descendió hasta colocarse en un nivel semejante al de los esquemas tipo CHOP en sus controles históricos. En este sentido son muy importantes los trabajos confirmatorios realizados por el grupo cooperativo SWOG con los esquemas m-BACOD, ProMACE-CytaBOM y MACOP-B (91-93). Estas diferencias en los resultados se explican básicamente por los distintos criterios de selección empleados en el reclutamiento de los pacientes entre los diferentes estudios, con pacientes menos seleccionados en los estudios multicéntricos.

Estos resultados motivaron estudios comparativos y aleatorizados entre los esquemas de segunda y tercera generación y el "patrón" CHOP o esquemas similares. Son de destacar los estudios del grupo ECOG -CHOP v. m-BACOD- (94), del grupo australiano-neozelandés CHOP v. MACOP-B- (95), de grupo cooperativo italiano -MACOP-B v. ProMACE-MOPP- (96), del *British National Lymphoma Investigation* -CHOP v. PACE-BOM- (97), del *Central Lymphoma Group* británico -CHOP-M v. CAPOMET- (98), del grupo escandinavo -CHOP v. MACOP-B-(99) y, en nuestro medio, los estudios del grupo PETHEMA -CHOP v. ProMACE-CytaBOM (100) y CHOP v. CHOP/VIA (101)-. Pero, sobre todo, el de mayor importancia y repercusión ha sido el gran estudio conjunto de los grupos SWOG y ECOG (102,103) que comparó CHOP v. M-BACOD v. ProMACE-CytaBOM v. MACOP-B. En ninguno de

estos estudios se encontraron diferencias entre los resultados de los esquemas modernos de segunda o tercera generación con relación al CHOP, ni en términos de respuesta ni de supervivencia y, sin embargo, aquéllos producían una mayor toxicidad. Los únicos estudios en los que se apunta una ligera mejoría de los resultados con los esquemas modernos, son aquéllos llevados a cabo por la EORTC (104,105). La reciente publicación de un metaanálisis de los principales estudios comparativos (106) confirma la ausencia de beneficio de los regímenes de segunda y tercera generación sobre el clásico CHOP.

Por tanto, con los datos actualmente disponibles, parece que, en lo que respecta al tratamiento de los LNH, la pregunta que se formulaba Hryniuk en 1986 -"Is more better?"- (107), al menos en los términos en que fue formulada, tiene una contestación negativa, y puede concluirse que aquellos pacientes cuya curación no se consigue con CHOP, tampoco pueden curarse con los esquemas de segunda o tercera generación. Esta afirmación, sin embargo, no puede hacernos pensar que se dispone de un tratamiento quimioterápico de eficacia universal para los linfomas agresivos del adulto, ya que todavía una proporción importante de los enfermos fallece por su enfermedad. Tan sólo puede concluirse que no hay un esquema de QT netamente superior al clásico esquema CHOP (108).

No existe una clara explicación a esta falta de eficacia de los esquemas agresivos desarrollados en la década de los 80. En esos años se pensaba de forma teórica que la exposición del tumor a un mayor número de fármacos podía mejorar los resultados, sin caer en la cuenta de que la dosis individual de los fármacos más eficaces podía comprometerse con la asociación (109,110).

OPTIMIZACIÓN DE DOSIS Y DISCIPLINA TERAPÉUTICA

Es frecuente en la clínica, que durante un tratamiento con 6-8 ciclos de CHOP u otro esquema de QT similar, se produzcan algunos retrasos o reducciones de dosis. Hoy disponemos de medios terapéuticos, como los factores estimulantes de la hematopoyesis, que son capaces de evitar o disminuir al máximo estas eventualidades y conseguir una mayor disciplina terapéutica (111-113), por lo que puede intentarse optimizar los tratamientos convencionales con el empleo complementario de G/GM-CSF. Aunque probablemente el impacto de este proceder sea modesto, hoy parece claro que el mantener una intensidad de dosis adecuada es importante para los resultados finales, por lo que puede recomendarse su uso asistencial como profilaxis secundaria cuando la mala tolerancia hematológica así lo aconseje (114), tal y como se recoge en la última edición -año 2000- de la guía de práctica clínica de ASCO (115).

INTERFERÓN

El empleo de modificadores de la respuesta biológica, tales como los interferones, parecía una opción razo-

nable a explorar en el tratamiento de los LNH agresivos, sin embargo, la administración de interferón, asociado a QT tipo CHOP, no parece aportar beneficio alguno en términos de respuesta o supervivencia, tal y como ha demostrado un ensayo aleatorizado realizado por un intergrupo americano y publicado recientemente (116).

ANTICUERPOS MONOCLONALES Y TRATAMIENTOS COMBINADOS

Al igual que en los linfomas de bajo grado, la inmunoterapia específica con AcMo ha sido objeto de investigación en el tratamiento de los LNH agresivos y ha conseguido éxitos notables en fechas recientes, hasta el punto de haber establecido un nuevo estándar de tratamiento para estos LNH.

Rituximab, un AcMo quimérico humano-murino, es el más y mejor estudiado y el que ha demostrado una actividad significativa tanto en monoterapia como, y sobre todo, asociado a QT tipo CHOP. La dosis recomendada por los estudios fase I (117,118) es de 375 mg/m².

Empleado en monoterapia en pacientes en recaída o refractarios a la QT convencional, rituximab induce un 31% de respuestas en los ensayos fase II (119). Por su parte, cuando se administró en combinación con CHOP en la primera línea de tratamiento, los resultados de los estudios iniciales fueron espectaculares, con un 94% de respuestas (61% de RC) (120). Ello motivó la realización de ensayos aleatorizados en fase III para dilucidar el papel de este AcMo en el tratamiento de los LNH agresivos. El primer estudio que ha sido publicado de modo definitivo, realizado por el grupo GELA, compara la administración de CHOP frente a la asociación de CHOP más rituximab (administrando una dosis de rituximab previo a cada ciclo de QT) en pacientes de más de 60 años (121). Los resultados de este estudio demuestran una ganancia estadísticamente significativa tanto en el porcentaje de respuestas completas (76 *versus* 63%) como en la supervivencia a los 2 años (70 *versus* 57%) para el tratamiento combinado, siendo el primer esquema terapéutico que consigue modificar la supervivencia de este grupo de pacientes en los últimos 20 años. Este ensayo y su enorme repercusión mundial, ha motivado la aprobación de la combinación CHOP-rituximab como tratamiento de primera línea de los linfomas agresivos del adulto por parte de las autoridades sanitarias de EE.UU. y Europa.

En el momento presente, existen multitud de ensayos en marcha para acabar de perfilar el papel de rituximab en la estrategia terapéutica global de los LNH agresivos y cuyos resultados conoceremos en los próximos años.

Aunque la prudencia debe presidir siempre la toma de decisiones en relación con el tratamiento de las neoplasias, y en especial en aquellas que son quimioterapiables, y teniendo en cuenta que todavía existen aspectos no totalmente aclarados (122), no cabe duda de que la asociación de QT tipo CHOP con el AcMo rituximab, ha marcado un nuevo referente y, posiblemente, un nuevo estándar en el tratamiento de estos linfomas.

TRATAMIENTO SEGÚN LOS FACTORES DE RIESGO

En los LNH agresivos, las respuestas obtenidas y la posibilidad de curación a largo plazo, dependen en gran manera de los factores pronósticos de cada paciente concreto y, como es lógico, todos los esquemas de QT ofrecen mejores resultados en aquellos pacientes sin factores pronósticos adversos.

Tras la publicación del Índice Pronóstico Internacional (IPI) (123), los artículos que han examinado los resultados del tratamiento en función del mismo han puesto de manifiesto que en los pacientes con valores de IPI inferiores a 3 (Grupos de Bajo e Intermedio-Bajo Riesgo), la QT tipo CHOP o los esquemas de segunda y tercera generación son capaces de curar a un 60-75% de los pacientes. Por el contrario, aquéllos con riesgo intermedio-alto (IPI 3) o alto (IPI 4 ó 5) tienen unas expectativas de curación inferiores al 40 y 25% respectivamente (124-127).

Por tanto, puede concluirse que en los pacientes con linfomas agresivos y sin factores de riesgo (IPI < 3), independientemente del estadio, el tratamiento estándar sigue siendo la QT tipo CHOP o similar, con el empleo de la RT como consolidación de la respuesta en las zonas con grandes masas iniciales. Por el contrario, no disponemos de tratamientos que podamos considerar estándar para los enfermos con factores pronósticos adversos.

Sin embargo, la introducción de los AcMo ha cambiado algo esta perspectiva, pues el tratamiento con CHOP-rituximab mejora las expectativas de curación en todos los grupos de riesgo (121). A pesar de ello, en los grupos con factores pronósticos adversos siguen siendo necesarias nuevas formas de tratamiento pues el nivel de curaciones sigue siendo insatisfactorio.

NUEVAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE PRIMERA LÍNEA

Como resultado de los resultados insatisfactorios que todavía hoy se obtienen en el tratamiento de los enfermos con LNH agresivos y factores de alto riesgo, la investigación clínica continúa explorando nuevas estrategias terapéuticas para mejorar el pronóstico de los mismos. La mayoría de estos tratamientos están en fase experimental y no puede recomendarse su uso fuera del contexto de ensayos clínicos controlados.

En resumen, las principales líneas de investigación actual son (114,128-130):

IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS FÁRMACOS ACTIVOS

La introducción de nuevos fármacos en el tratamiento de los LNH es dificultosa debido a la existencia de un gran número de drogas activas y al alto índice de respuestas que se obtiene con el tratamiento convencional. Es por ello que de cualquier tratamiento nuevo se espera que demuestre una actividad considerable para ser considerado útil en los LNH (generalmente unas respuestas

superiores al 25% en ensayos fase II). Además, como los pacientes que recaen después del tratamiento convencional pueden ser rescatados con tratamientos intensivos, los enfermos candidatos a estudios en fase II son escasos y se limitan a aquéllos que son refractarios a la primera línea o que recaen después de la QT intensiva, lo que los convierte en una diana muy difícil para los nuevos fármacos.

A pesar de ello, entre los fármacos citotóxicos introducidos en los últimos años, algunos muestran una actividad interesante y podrían llegar a formar parte del arsenal terapéutico disponible. Así por ejemplo, el paclitaxel (131-134) tiene una actividad limitada pero reproducible, con unas respuestas variables entre el 15 y el 40% en función del tipo histológico y de la situación de refractariedad o no del caso. La gemcitabina es otro fármaco que ha demostrado actividad en LNH y que puede ser interesante, debido a su bajo perfil de toxicidad y su uso potencial en combinación con otros fármacos (135-138). Otro grupo terapéutico que está en desarrollo y que tiene buenas perspectivas son los inhibidores de la topoisomerasa-I (139). Tanto topotecan (140) como irinotecan (141) son activos en el tratamiento de segunda línea de los LNH y la asociación de paclitaxel y topotecan se muestra muy activa, con casi un 50% de respuestas en la experiencia del grupo del MD Anderson (142).

Las nuevas antraciclinas liposomiales, daunorubicina (143,144) y adriamicina (145,146) son también activas y presentan un perfil de toxicidad diferente al de las formas no encapsuladas, por lo que podrían sustituir a éstas en algunos esquemas de combinación.

Otros fármacos con actividad demostrada pero sobre los que existe menor experiencia acumulada son docetaxel (147), oxaliplatino (148), vinorelbina (149,150) y vincristina liposomal (151).

Por último, un agente que puede ser interesante es el trióxido de arsénico, que puede inducir inhibición del crecimiento y apoptosis en células de linfoma (152) y que está actualmente en fase de estudio inicial (153).

ESCALADA DE DOSIS DE LOS ESQUEMAS CONVENCIONALES

El aumento notable de la intensidad de dosis, mediante el aumento de la dosis individual de los fármacos más activos (antraciclinas y ciclofosfamida) o acortando los intervalos entre ciclos, es una hipótesis atractiva que podría conseguir mejores resultados que el clásico CHOP cada 21 días. Este planteamiento es posible gracias a los factores estimulantes G/GM-CSF, que permiten acortar los intervalos a 14 días, incluso aumentando las dosis de los fármacos (154).

Los primeros resultados sobre esta alternativa, que podríamos denominar Super-CHOP o Mega-CHOP, publicados por grupos japoneses (155,156) y por el equipo del Dana Farber (157), fueron muy prometedores, con un índice de respuestas completas próximo al 90%. Con posterioridad se han comunicado varias experiencias similares sobre series reducidas de pacientes, siempre con buenos resultados (158-162). Sin embargo,

en la experiencia del CALGB, la utilización de dosis escaladas de CHOP y etopósido, sobre una amplia cohorte de pacientes, no parece ofrecer ventajas sobre el esquema CHOP convencional (163).

El empleo de dosis escaladas de ciclofosfamida y adriamicina ha sido siempre la filosofía de los esquemas del grupo francés GELA (164) y los resultados preliminares de su estudio comparativo frente a CHOP –mejores resultados a costa de mayor toxicidad– parecen apoyar esta idea (165).

Otra forma de alcanzar una mayor intensidad de dosis consiste en acortar los intervalos de los ciclos de los esquemas convencionales. Los resultados del estudio aleatorizado del grupo alemán (CHOP cada 14 días con apoyo de G-CSF frente a CHOP convencional cada 21 días) muestran una clara ventaja para el grupo tratado cada 14 días, con mejor supervivencia y menor toxicidad (166).

Los resultados de estos estudios, comunicados en fecha reciente, son lo suficientemente atractivos y consistentes como para suponer un cambio próximo en nuestros estándares de tratamiento. Sin embargo, una vez más la prudencia debe prevalecer y, a falta de conocer las publicaciones definitivas y los resultados de nuevos estudios comparativos, no puede recomendarse por el momento la administración de esquemas con dosis altas fuera del contexto de los ensayos clínicos (167).

NUEVOS ESQUEMAS DE QUIMIOTERAPIA

El desarrollo de nuevas combinaciones de fármacos ha continuado en fechas recientes, aunque se demuestra una vez más que los esquemas de tipo 3ª generación –VAPEC-B (168), VACPE (169), AMOPLACE (170)– no consiguen una mejor supervivencia que los esquemas clásicos. La adición de etopósido, un fármaco individualmente muy activo, al clásico CHOP tampoco mejora los resultados de éste y aumenta claramente la toxicidad (171).

Aunque faltan estudios confirmatorios y estudios comparativos, parecen interesantes los regímenes agresivos alternantes propuestos por el grupo de MD Anderson –esquema ATT: ASHAP/m-BACOS/MINE (172)– o por el Instituto Oncológico de Bari –esquema CEOP-B/VIMB (173), o el esquema intensivo CEEIM propuesto por el grupo mejicano (174), con los que se han comunicado excelentes resultados, excepto para los grupos de peor pronóstico.

INMUNOTERAPIA

Como ya se ha comentado, la inmunoterapia con AcMo se ha incorporado al tratamiento de primera línea de los linfomas agresivos (CHOP-Rituximab). Sin embargo, la investigación en este campo continúa muy activa y en los próximos años se conocerán los resultados de numerosos ensayos en marcha de combinaciones de QT y AcMo.

*QT INTENSIVA CON SOPORTE DE PROGENITORES
HEMATOPOYÉTICOS*

La única estrategia terapéutica que permite conseguir una intensidad de dosis realmente elevada es la QT mioablativa con soporte de progenitores hematopoyéticos. En los últimos años se ha realizado un considerable esfuerzo investigador en este campo y sigue siendo una línea de trabajo atractiva para mejorar el pronóstico de los enfermos. Los estudios realizados y las conclusiones de la bibliografía serán revisados en las páginas siguientes.

*TRATAMIENTO DE RESCATE DE LOS LINFOMAS
AGRESIVOS DEL ADULTO*

DEFINICIONES

Por lo general, se define un linfoma como refractario cuando no alcanza una respuesta completa con el tratamiento, de primera línea. Los casos que inicialmente responden por completo pero progresan durante el tratamiento, también son considerados refractarios o con "resistencia adquirida". Por último, aquéllos que recaen después de un tiempo variable sin evidencia de enfermedad son los linfomas recidivantes o, siguiendo un anglicismo muy extendido, linfomas recurrentes. Las recaídas precoces (las que acontecen dentro de los 6 meses tras la finalización del tratamiento), también suelen considerarse como refractarios. Es importante reconocer la quimiosensibilidad parcial a la QT antes de la progresión –respuesta parcial mantenida durante la QT– pues estos pacientes pueden beneficiarse de un cambio precoz de la QT de primera línea (175).

Entre los pacientes con linfomas agresivos tratados en primera línea con los esquemas de QT habituales, un 15-30% no alcanzan una buena respuesta de la enfermedad (linfomas refractarios) y un 20-50% de los que consiguen una RC inicial, recaen en un plazo variable de tiempo. Históricamente, estos enfermos tenían un pronóstico muy desfavorable, sin existir prácticamente largos supervivientes. Esta situación cambió de manera significativa desde el desarrollo de los nuevos esquemas de QT de rescate y, sobre todo, desde la introducción de la QT intensiva con soporte de progenitores hematopoyéticos, que es la principal opción curativa para estos pacientes (176-178).

Por tanto, las alternativas terapéuticas para los pacientes con linfomas refractarios o recidivados, dependerán de la posibilidad o no de someter al enfermo a tratamientos con QT intensiva. En general, la probabilidad de conseguir una segunda respuesta está influida por varios factores; los más importantes son la existencia de respuesta previa (recidivantes > refractarios), el intervalo libre de enfermedad (+/- 6 meses) y el nivel de la LDH en el momento de la progresión.

En algunos casos, la RT puede ser una opción terapéutica a considerar como tratamiento de rescate. En el caso de lesiones localizadas que sólo alcanzan RP tras la QT, la irradiación sobre el campo afecto es una alter-

nativa razonable que puede conseguir buenos resultados (179).

*DISTINCIÓN ENTRE PERSISTENCIA DE ENFERMEDAD Y
MASAS RESIDUALES*

Antes de indicar un tratamiento de segunda línea, es imprescindible asegurarse de la presencia de enfermedad activa. En los casos que progresan claramente esto es evidente, pero en algunas situaciones la presencia de masas después del tratamiento no siempre es indicadora de persistencia del linfoma. De hecho, un número importante de pacientes, del orden de un 20-40% de los que tienen grandes masas al diagnóstico, puede presentar masas residuales visibles en la TC, que no contengan enfermedad activa (180). En un estudio llevado a cabo por el grupo del NCI, se evaluaron con laparotomía las masas residuales abdominales de 21 pacientes, encontrando tumor viable en sólo un caso (181). Por tanto, ante la presencia de masas residuales en zonas no accesibles, deben realizarse exploraciones complementarias, como la gammagrafía con galio, la tomografía por emisión de positrones, la resonancia nuclear magnética o la punción con aguja fina, que pueden ayudar a distinguir la fibrosis residual de la enfermedad activa. No se recomienda la exploración quirúrgica salvo en casos especiales. En algunos casos, sin embargo, sólo los datos del seguimiento nos indicarán la presencia de linfoma resistente, si se comprueba un recrecimiento precoz de dichas masas (178).

*LINFOMAS REFRACTARIOS O RECIDIVANTES EN PACIENTES
NO CANDIDATOS A QT INTENSIVA*

Cuando por razón de la edad, el estado general, la presencia de comorbilidad importante o por la negativa del paciente, no pueda plantearse la realización de un tratamiento de intensificación, la principal medida terapéutica será la poliQT de rescate.

La utilización de esquemas similares a los empleados en primera línea ofrece unos resultados muy pobres, por lo que no se recomienda en ningún caso (178). Sin embargo, la administración de los mismos fármacos pero cambiando el modo de administración, mediante infusión continua, puede conseguir un 20-25% de RC, con algunos largos supervivientes (182,183).

Aparte de estas experiencias, los agentes quimioterápicos que más actividad han demostrado en segunda línea de los LNH son: ifosfamida, etopósido, arabinósido de citosina, cisplatino, mitoxantrone, metotrexate y más recientemente los inhibidores de la topoisomerasa I (topotecan), paclitaxel y gemcitabina y especialmente las combinaciones de ellos (176). Los esquemas de rescate de mayor uso en la práctica son, sin duda, los desarrollados por el grupo del *MD Anderson* o derivados de los mismos: IMVP-16 o VIM (184,185), MIME (186,187), IM (188), VIP (189), DHAP (190,191), DICE (192), E-SHAP (193,194), MINE (195), MINE/E-SHAP secuencial (196), IVAM (197). Otro

esquema interesante es la combinación ICE (ifosfamida, carboplatino y etopósido), desarrollada por el MSKCC (198).

Todos estos esquemas tienen unos resultados similares, con un 20-40% de RC, una mediana de supervivencia de 12 a 15 meses y menos de un 15% de largos supervivientes libres de enfermedad (199). En la actualidad, probablemente los más empleados sean DHAP, E-SHAP, MINE, MINE-ESHAP e ICE, y aunque sus resultados son insatisfactorios en general, son la mejor opción para los pacientes no candidatos a QT intensiva.

LINFOMAS REFRACTARIOS O RECIDIVANTES EN PACIENTES CANDIDATOS A QT INTENSIVA

Como se ha comentado, la QT intensiva con soporte de progenitores hematopoyéticos es, en la actualidad, la alternativa terapéutica que consigue un mayor número de supervivientes a largo plazo entre los pacientes con LNH refractarios o recidivantes. Para éstos, la pauta recomendada de modo general consiste en la administración de QT de rescate (DHAP, MINE, E-SHAP, ICE), para inducir una segunda remisión seguida, en los casos que muestren quimiosensibilidad, de QT de intensificación con trasplante autólogo de médula ósea o sangre periférica (175-178) y cuyas características analizaremos a continuación.

QT INTENSIVA CON SOPORTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

La relación entre la dosis de la QT y la respuesta tumoral conseguida, está bien establecida sobre todo en los tumores quimiosensibles, siguiendo el modelo propuesto por Frei y Canellos (200). Ésta ha sido la justificación teórica para la investigación de la QT a altas dosis en los LNH que no alcanzaban la curación con el tratamiento inicial, diseñando esquemas en los que la toxicidad limitante fuese la mielosupresión e intentando que la toxicidad no hematológica fuera mínima o tolerable y que comenzaran en la década de los 70 (201). El rescate con progenitores hematopoyéticos obtenidos de la médula ósea (TAMO) o la sangre periférica (TASP) permite, en este contexto, acortar la duración de la pancitopenia inducida por el tratamiento.

Si tenemos en cuenta que de cada 100 pacientes que se diagnostican de LNH, 20 son localizados, 40 se producen en pacientes mayores de 60 años (un límite de edad frecuente para la QT intensiva) y de los 40 restantes más de la mitad se curará con tratamiento convencional, sólo pueden ser candidatos a este tratamiento menos del 20% de los enfermos con LNH. Por ello la interpretación de la bibliografía disponible sobre la QT intensiva en los LNH es dificultosa, sobre todo en lo que hace referencia a la extrapolación de los resultados. La escasez de ensayos aleatorizados, las diversas indi-

caciones y lo seleccionado de las series publicadas, añade aún mayor confusión. Si a ello añadimos las dificultades de acceso a la QT intensiva por razones socioeconómicas en los EE.UU. (202) (que es la mayor fuente de información bibliográfica), debemos ser prudentes en la interpretación de los trabajos a la hora de extraer conclusiones.

QT INTENSIVA EN PACIENTES REFRACTARIOS

Los pacientes que muestran una refractariedad primaria (en el tratamiento de primera línea) o secundaria (en la recaída) a la QT, tienen un ominoso pronóstico y sólo existen largos supervivientes como casos anecdóticos. Por este motivo se incluyeron en los primeros estudios sobre QT intensiva, en un intento de mejorar estas pobres expectativas (203,204).

Inicialmente la QT intensiva se administraba sin QT de rescate previa (205), pero los malos resultados obtenidos pronto aconsejaron intentar inducir una segunda remisión con esquemas de rescate convencional, previos a la QT intensiva. Con estos estudios, se demostró que los pacientes que se transplantan con enfermedad refractaria responden en un porcentaje muy bajo a la QT a altas dosis, la duración de estas respuestas es corta y muy pocos pacientes alcanzan una larga supervivencia (206-220). Por este motivo, la mayor parte de los autores desaconsejan la QT intensiva en pacientes en progresión y con enfermedad refractaria.

QT INTENSIVA EN PACIENTES EN RESPUESTA PARCIAL TRAS QT DE PRIMERA LÍNEA

Los pacientes que no alcanzan una RC con la QT de primera línea, tienen un pésimo pronóstico, sin observarse prácticamente ningún largo superviviente a pesar de la QT de segunda línea (221). Sin embargo, entre ellos, los que consiguen una RP muestran algún grado de quimiosensibilidad, por lo que parece atractivo el empleo de QT de intensificación en este grupo.

Los trabajos publicados no son muy numerosos, pero los resultados son alentadores, con una supervivencia libre de progresión del 30-50% a los 2-3 años en estudios no comparativos (210,222-227). En estas series, la QT intensiva se llevó a cabo después de completar todo el tratamiento previsto de primera línea.

Aunque existen importantes diferencias en el diseño de los estudios, estos datos son en parte contradictorios con dos ensayos aleatorizados realizados en aquellos pacientes llamados "lentos respondedores" –aquéllos cuyo tumor es quimiosensible, pero que no alcanzan una RC con los primeros ciclos de QT–. En ambos casos, la QT intensiva precoz no ha demostrado una clara ventaja con respecto al tratamiento convencional (228,229). Por este motivo, la recomendación de someter a QT intensiva a los pacientes en RP todavía no puede establecerse de modo inequívoco.

QT INTENSIVA EN PACIENTES CON RECAÍDA QUIMIOSENSIBLE

La indicación mejor establecida de la QT intensiva en los LNH es el tratamiento de los enfermos con recaída quimiosensible. Existen multitud de estudios iniciales no controlados en los que se observó que la supervivencia y las expectativas de curación eran muy superiores a la QT convencional de rescate en este grupo de pacientes (205,207,222,230-233). Estos resultados fueron confirmados en trabajos posteriores, comunicando una SLR del 38 al 60% a los 2 ó 3 años de la QT a altas dosis (211,214,221,234-242). Incluso los enfermos refractarios a la primera línea de QT, pero que responden a los esquemas de rescate pueden conseguir una SLR del orden del 25% (215,243,244).

Hay que tener en cuenta que todos estos estudios estuvieron sometidos a importantes sesgos de selección de los pacientes, por lo que aunque sus resultados eran interesantes, sus conclusiones no eran definitivas. De hecho, en muchos de estos estudios, menos de la mitad de los pacientes que se pretendía trasplantar (LNH agresivo en recaída y sin contraindicaciones para la QT intensiva) acababan siendo sometidos al procedimiento, bien por refractariedad a la QT de rescate, o a otras causas diversas (189,245,246). Por tanto, en términos de "análisis por intención de tratar", la extrapolación de resultados desde la bibliografía disponible hasta los pacientes concretos es dificultosa y puede no ser correcta si no se la somete a un cierto análisis crítico.

La mejor evidencia del beneficio de la QT intensiva en pacientes recidivantes o refractarios, pero quimiosensibles al tratamiento de rescate, lo aportan dos estudios. El primero, del grupo GELA (247) demuestra una SLR a los 4 años del 10% con QT de rescate, frente al 35% con TAMO, en una comparación histórica. El segundo y más importante, el estudio prospectivo y aleatorizado del grupo PARMA, en el que se incluyeron 188 pacientes en recaída, de los cuales fueron aleatorizados un total de 95, consigue una SLR del 46% a los 5 años en los tratados con QT intensiva, frente a un 12% en los que recibieron únicamente QT de rescate convencional -DHAP- (248,249).

Como conclusión, la mejor opción terapéutica para los enfermos en recaída quimiosensible, esto es, que responden a una quimioterapia de segunda línea, es la consolidación con QT intensiva seguida de soporte de progenitores hematopoyéticos.

QT INTENSIVA COMO CONSOLIDACIÓN DE LA RESPUESTA COMPLETA INICIAL EN PACIENTES DE ALTO RIESGO

Los enfermos con linfomas agresivos y factores de alto riesgo (IPI > 2) tienen una expectativa de curación inferior al 40%; incluso entre los pacientes de este grupo que alcanzan una RC, muchos sufren una recaída de la enfermedad y acaban falleciendo por la misma. Por este motivo, parece justificado ensayar nuevos tratamientos en este grupo de pacientes. La QT intensiva con soporte de TAMO/TASP, con su baja mortalidad actual

(0-5%), es una opción interesante a considerar. De todos modos, hay que tener en cuenta que debido a que el principal indicador de buen pronóstico es, precisamente, haber alcanzado una RC, resulta metodológicamente muy difícil demostrar el beneficio de cualquier procedimiento terapéutico de consolidación en este grupo de pacientes (250).

Diversos grupos de trabajo exploraron esta posibilidad en estudios piloto, con resultados muy apreciables (SLR del 50-70% a 5 años) (251-253), aunque una vez más, incluyendo un pequeño número de pacientes y utilizando criterios de selección poco claros. En la revisión de la casuística del registro europeo de TAMO, el 72% de los enfermos trasplantados en primera remisión estaban vivos a 2 años (254).

En el tratamiento de consolidación de la respuesta con QT a altas dosis, existen dos líneas de investigación con diseños diferentes: una estrategia en la que la QT intensiva se aplica tras completar la QT convencional y otra en la que ésta se aplica tras una QT de inducción de corta duración.

Con el primer diseño existen dos estudios comparativos. El más importante por el número de pacientes incluidos -541- es el estudio LNH87-2 del grupo GELA que comparó de manera aleatorizada la QT intensiva con TAMO frente a una QT de consolidación estándar. En el primer análisis del estudio, incluyendo la totalidad de los pacientes, no se demostró una ganancia significativa para la QT intensiva (255). Sin embargo, en un análisis *a posteriori* de subgrupos, los pacientes con factores pronósticos adversos (IPI ajustado a la edad > 1) que habían sido trasplantados, mostraban una supervivencia superior que aquéllos que recibieron tratamiento convencional (256-258). Un segundo estudio multicéntrico italiano comparó una QT de tercera generación (VACOP-B) con o sin QT intensiva de consolidación en 124 pacientes, no pudiendo demostrar una mejoría significativa para la rama que incluía trasplante al considerar el total de los pacientes, pero con tendencia a unos mejores resultados en el grupo de alto riesgo (259).

La QT de intensificación aplicada tras una QT estándar de corta duración parecía ser una opción interesante para los pacientes con LNH agresivos y factores de alto riesgo, como se apuntaba en estudios retrospectivos (260). Sin embargo, existen dos grandes estudios prospectivos y aleatorizados (el estudio LNH-93-3 del GELA (261) y el estudio del *German High-grade Lymphoma Study Group*) (262), cuyos resultados preliminares se conocen sólo en forma de resumen, que han comparado una QT estándar frente a la misma QT durante 3 ciclos seguida de QT a altas dosis, sin beneficio alguno para la rama sometida al tratamiento de intensificación. Existe un tercer estudio aleatorizado, realizado por un grupo tailandés y que incluye un número muy bajo de pacientes -58- que compara la QT CHOP estándar frente a tres ciclos de CHOP seguido de ESHAP y QT intensiva, con mejores resultados en la rama intensificada (263).

Como resumen, la QT intensiva parece tener un papel en el tratamiento de consolidación de los pacientes con linfomas de alto riesgo, pero siempre y cuando

se administre tras completar todo el tratamiento estándar inicial.

QT INTENSIVA COMO TRATAMIENTO INICIAL

Una estrategia diferente consiste en el empleo de la QT intensiva como parte del tratamiento inicial de los LNH agresivos. Es decir, no se emplea como tratamiento de consolidación de la respuesta lograda con el tratamiento convencional, sino que forma parte del esquema programado inicialmente.

En este caso, la QT intensiva se integra en un esquema secuencial que incluye una fase de inducción seguida inmediatamente de QT intensiva. Existen estudios piloto que demuestran que este procedimiento es factible y alcanza un elevado porcentaje de remisiones completas (264,265).

Siguiendo este planteamiento, el Instituto de los Tumores de Milán llevó a cabo un estudio comparativo entre el tratamiento con QT tipo MACOP-B y una QT secuencial que incluía QT intensiva con soporte hematopoyético. Los resultados fueron claramente favorables para la rama que incluía QT intensiva de inicio, aunque el tamaño muestral era pequeño (98 pacientes) y no ha habido estudios confirmatorios (266). El mismo grupo ha seguido trabajando en la misma línea, asociando inmunoterapia con rituximab a la QT intensiva (267) con excelentes resultados.

TIPO DE ACONDICIONAMIENTO EMPLEADO

Existen múltiples esquemas de tratamiento mieloablatoivo previo al TAMO/TASP, incluyendo altas dosis de QT o de quimio-radioterapia, sin que parezcan existir diferencias importantes entre ellos (268). Sin embargo, los regímenes que incluyen irradiación corporal total (TBI) –ciclofosfamida o ciclofosfamida y etopósido más TBI– llevan asociada una mayor toxicidad: neumonitis intersticial; enfermedad veno-oclusiva; miocardiopatía; leucoencefalopatía y síndromes mielodisplásicos (204). Entre los esquemas de acondicionamiento más utilizados destacan las combinaciones CBV –ciclofosfamida, BCNU y etopósido– (269,270) y BEAM –BCNU, etopósido, ara-C y melfalán– (215,222,271,272).

FUENTE DE RESCATE HEMATOPOYÉTICO

En el momento actual, no existen datos que sugieran que los resultados de la QT intensiva dependan de la fuente de progenitores hematopoyéticos empleada. El empleo de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica (TASP) ofrece ventajas logísticas y económicas frente a la médula ósea, con una más rápida recuperación hematológica y menores tiempos de hospitalización, sin que los resultados terapéuticos sean diferentes (273-279) por lo que se ha impuesto este tipo de fuente de progenitores en todos los centros.

En cuanto al método de movilización de progenito-

res, la asociación de QT más G/GM-CSF parece ser la que mejores resultados ofrece (277,280).

El trasplante alogénico se asocia a una toxicidad mucho mayor y no ofrece unos resultados diferentes a los del trasplante autólogo (281-283), por lo que no parece una buena opción para los pacientes con linfomas agresivos, como se demuestra en la experiencia del grupo de Seattle (230), del MD Anderson (284) o del registro europeo (285).

TRATAMIENTO IN VITRO DE LA FUENTE DE RESCATE HEMATOPOYÉTICO

La posibilidad de que la médula ósea o los productos de aféresis de sangre periférica contengan células linfomatosas, ha estimulado el desarrollo de técnicas de “purgado” para intentar eliminarlas. Pero a pesar de los buenos resultados comunicados por algunos grupos de trabajo (286,287), en el momento actual y sobre la base de estudios caso-control retrospectivos, no parece que el tratamiento *in vitro* añada una ventaja significativa (288). Sin embargo, existe una justificación teórica suficiente como para seguir investigando en esta línea.

TOXICIDAD A LARGO PLAZO

A medida que la QT intensiva ha conseguido mejores resultados y su morbi-mortalidad se ha reducido considerablemente, ha aumentado la preocupación por los posibles efectos secundarios tardíos de estos tratamientos. Además de una considerable toxicidad aguda, en forma de vómitos, mucositis, fiebre e infecciones, enfermedad veno-oclusiva, etc. (289), está demostrado que la QT a dosis ablativas produce una alteración del sistema inmune que puede durar varios meses y que se traduce en un aumento de la incidencia de herpes zoster (290). También puede existir toxicidad pulmonar tardía en forma de neumonitis intersticial, que es más frecuente cuando se usan altas dosis de nitrosureas y/o TBI.

Uno de los mayores problemas de los pacientes con LNH es la mayor incidencia de segundas neoplasias, que podría incrementarse con el uso de los tratamientos mieloablatoivos (291,292). De particular interés es el elevado riesgo (5-15%) de sufrir síndromes mielodisplásicos en los largos supervivientes, especialmente cuando se usan agentes alquilantes y TBI en el acondicionamiento (293-296). Esta complicación hematológica tardía tiene muy mal pronóstico en la mayoría de los casos, aunque quizá sea parte del precio a pagar por el progreso que ha supuesto la introducción de los tratamientos intensivos (297,298).

CONCLUSIONES SOBRE LA QT INTENSIVA

Los tratamientos con dosis mieloablatoivas de QT o QT-RT han demostrado su utilidad en los LNH agresivos en diferentes situaciones clínicas; las recaídas quimiosensibles y posiblemente algunos pacientes de muy

mal pronóstico en primera RC, pueden beneficiarse de estos tratamientos. Los factores pronósticos que indican una pobre respuesta a la QT intensiva son la existencia de grandes masas o LDH elevada en el momento del trasplante, el mayor número de tratamientos recibidos con anterioridad, la quimiorresistencia y el IPI elevado (299,300).

Además, no hay que olvidar que se trata de procedimientos tóxicos y muy costosos (301,302), por lo que se debe intentar que los enfermos se traten dentro de estudios clínicos prospectivos, prestando una especial atención en la selección de los pacientes y contemplando largos periodos de seguimiento (303).

En la literatura de los últimos años se encuentran excelentes revisiones sobre el papel de la QT intensiva en el tratamiento de los linfomas agresivos (304-309). Se ha publicado también una revisión sistemática de la literatura con criterios de Medicina Basada en la Evidencia (310) que resume de modo gráfico (Tablas II, III y IV) la situación actual de los conocimientos. Por último, existe una guía terapéutica de consenso, publicada en 1999 y avalada por un amplio panel de expertos (311), cuyas recomendaciones finales son coincidentes con las expuestas en la tabla IV.

TABLA II
GRADOS DE EVIDENCIA

1. Evidencia obtenida de, al menos, un estudio controlado, aleatorizado y bien diseñado
 - 2-1. Evidencia obtenida a través de estudios controlados no aleatorizados
 - 2-2. Evidencia obtenida a través de estudios caso-control o de cohortes, realizados en varios centros o grupos cooperativos
 - 2-3. Evidencia obtenida a través de múltiples estudios prospectivos o de resultados muy llamativos de estudios no controlados
3. Opiniones de expertos basadas en experiencia clínica o estudios descriptivos
4. Evidencia inadecuada secundaria a problemas en la metodología de los estudios o a conflictos de evidencia

TABLA III
RECOMENDACIONES TERAPÉUTICAS
(Basadas en el grado de evidencia)

1. Tratamiento efectivo
2. Tratamiento marginalmente efectivo
3. Tratamiento no efectivo (no diferencias significativas entre las alternativas terapéuticas)
4. Tratamiento inadecuadamente evaluado, pero con recomendación para estudios comparativos
5. Tratamiento inadecuadamente evaluado, pero sin recomendación para estudios comparativos

TABLA IV
QT INTENSIVA EN LNH AGRESIVOS

<i>Indicación</i>	<i>Recomendación (Tabla III)</i>	<i>Nivel de evidencia (Tabla II)</i>
Recaída quimiosensible	1	1
LNH refractarios	4	2
Consolidación de RC		
Tras QT estándar		
Bajo riesgo	3	1
Alto riesgo	1	2
Tras QT de corta duración	3	1
Respuesta parcial	4	2
Tratamiento inicial		
Bajo riesgo	4	1
Alto riesgo	1	1

TRATAMIENTO DE LOS LINFOMAS AGRESIVOS DEL ANCIANO

La incidencia de los LNH agresivos aumenta progresivamente con la edad. De hecho, la edad media ronda los 65 años, y más del 25% de los pacientes tienen edades superiores a los 70 años (312,313). Sin embargo, en la mayor parte de los estudios publicados sobre tratamiento de los LNH agresivos, la edad media no sobrepasa los 60 años. Por tanto, las conclusiones de estos trabajos no son necesariamente aplicables a la población de ancianos con LNH agresivos. Sin embargo, en los últimos años se está prestando una mayor atención a los pacientes ancianos con cáncer en general y a aquellos con linfomas agresivos en particular (314-321).

Se conoce bien que los linfomas en esta población tienen una supervivencia más corta que los enfermos más jóvenes, lo que sitúa a la edad como uno de los factores pronósticos más importantes (123,322-330). Sin embargo, cuando se ajusta la edad en función de otros factores pronósticos, esta diferencia no es tan evidente (331-336).

Por tanto, a través de la revisión de estos estudios se pone de manifiesto que no existen unas diferencias apreciables entre las características clínicas o biológicas de los LNH en jóvenes y ancianos, salvo por el mayor número de enfermedades concomitantes en la población anciana (337-339). También, los factores de alto riesgo (estado general, carga tumoral, LDH...) son los mismos. Sin embargo, todos los autores consideran la edad como un dato de especial trascendencia pronóstica, ya que la supervivencia es menor, incluso eliminando las causas de muerte no relacionadas con el linfoma (340-344).

Las causas de esta peor supervivencia parecen estar relacionadas con el mayor número de efectos adversos graves relacionados con la QT en el grupo de enfermos mayores y con la mayor incidencia de comorbilidad en esta población (345-349). Así pues, la capacidad predictiva de la edad cronológica y la tolerancia al tratamiento se relacionan con el estado general, las enfermedades asociadas, los recursos fisiológicos del enfermo y la

intensidad de la dosis de la QT, y no con las características intrínsecas del tumor (344,350,351).

En el caso de los LNH agresivos localizados y sin factores pronósticos adversos, el tratamiento con QT CHOP de corta duración y RT sobre el campo afecto, como en los pacientes más jóvenes, parece una opción razonable y que consigue buenos resultados (352).

En el pasado existieron dos tendencias o posturas en el tratamiento de los linfomas agresivos del anciano en estadios avanzados o con factores pronósticos adversos. Por una parte quienes defendían el uso de los esquemas estándares tipo CHOP, y por otra quienes diseñaron esquemas específicos para estos pacientes.

La QT con CHOP consigue unos resultados similares a los alcanzados en pacientes jóvenes, pero tiene una toxicidad mucho mayor que en éstos, con un 10-30% de muertes tóxicas. Sin embargo, en pacientes con buen estado general y sin enfermedades concurrentes, las muertes relacionadas con el tratamiento son similares a las que se producen en pacientes jóvenes (102,342,347, 353). Por contra, cuando se ha intentado reducir las dosis del CHOP, el porcentaje de RC y la supervivencia han disminuido de manera notable (321,354). Similares conclusiones se deducen del empleo de combinaciones similares a CHOP, como CNOP (con mitoxantrone en lugar de adriamicina) (355,356); CAP/BOP (ciclofosfamida, adriamicina, procarbazona, bleomicina, vincristina y prednisona) (332); m-BACOD (357), VNCOP-B (VP16, mitoxantrone, ciclofosfamida, vincristina, prednisona y bleomicina) (358,359) y P-VEBEC (epirubicina, ciclofosfamida, etopósido, vinblastina, bleomicina y prednisona) (360,361). Por otro lado, en la población de edad avanzada la utilización de factores estimulantes de la hemopoyesis disminuye el riesgo de la morbilidad asociada a neutropenia y permite mantener la disciplina terapéutica (362,363).

Muchos centros y grupos de trabajo han intentado desarrollar esquemas de QT específicamente diseñados para la población de edad avanzada, generalmente usando dosis reducidas, con el objeto de disminuir la toxicidad. Regímenes como VMP (VP16, mitoxantrone, prednimustina) (364); MVP (mitoxantrone, VP16, prednisona) (365); ACOP-B a bajas dosis (adriamicina,

ciclofosfamida, vincristina, prednisona y bleomicina) (366); VAPE (vincristina, adriamicina, bleomicina, VP16, prednisona) (359); P/DOCE (epirubicina, vincristina, ciclofosfamida, VP16, prednisona) (367); MCOP (CNOP a dosis bajas) (368) y VMP/CNOP (369). Todos ellos se caracterizan por una baja toxicidad, con muy pocas muertes tóxicas, pero las RC son menores que con CHOP y la SLR a los 2 años no suele superar el 33%.

En los últimos años, se han llevado a cabo diversos estudios comparativos y aleatorizados entre el patrón CHOP y esquemas diseñados específicamente para pacientes ancianos (370-372) y en todos los casos se comprueba que en los casos sin comorbilidad asociada, el tratamiento con un esquema tipo CHOP ofrece los mejores resultados. A la misma conclusión llega una reciente revisión sistemática de la literatura (373).

A modo de resumen, en la actualidad parece claramente demostrado que la aproximación terapéutica en los pacientes ancianos con linfomas agresivos debe ser guiada por el estado general y funcional del paciente y la presencia o ausencia de enfermedades debilitantes asociadas. Ante un anciano con buen estado general y sin comorbilidad importante, debe administrarse un tratamiento con intención curativa con esquemas tipo CHOP o similares. Para enfermos mayores y debilitados ("anciano frágil"), probablemente sea más realista una actitud paliativa, con esquemas adaptados de baja toxicidad (VMP o MVP, por ejemplo) (312-319,344,345). Algo que siempre debe tenerse en cuenta es que la edad no puede convertirse en un factor de riesgo para recibir un tratamiento inadecuado (374,375).

CORRESPONDENCIA:

José Gómez Codina
Servicio de Oncología Médica
Hospital Universitario La Fe
Avda. Campanar, 21
46009 Valencia

BIBLIOGRAFÍA

1. Pasmantier MW, Coleman M, Silver RT. Chemotherapy of the non-Hodgkin's lymphomas. *Med Clin N Am* 1976; 60: 1043-52.
2. McKelvey EM, Moon TE. Curability of Non-Hodgkin's Lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1977; 61: 1185-90.
3. Coleman M, Gerstein G, Topilow A. Advances in chemotherapy for large cell lymphoma. *Semin Hematol* 1987; 24 (Supl. 1): 8-20.
4. Fernández-Rañada JM. Curabilidad de los linfomas malignos. *Rev Clin Esp (Mad.)* 1991; 189: 382-5.
5. Vose J. Current approaches to the management of non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 1998; 25: 483-91.
6. Longo DL. Lymphoma: there's something happening here. *Curr Opin Oncol* 1998; 10: 375-6.
7. Armitage JO. Treatment of Non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993; 328: 1023-1030.
8. Cavalli F. Recent Advances in the management of lymphoma. *Eur J Cancer* 1995; 31A: 841-4.
9. Hiddemann W. Non Hodgkin's Lymphomas. Current status of therapy and future perspectives. *Eur J Cancer* 1995; 31A: 2141-5.
10. Ojeda Gutiérrez E. Enfermedad de Hodgkin y linfomas no Hodgkin. *Rev Clin Esp* 1999; 199: 44-57.
11. Yuen AR. Progress in the non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Oncol* 1999; 10 (Supl. 6): s19-s22.
12. Magrath I (edit.). *The Non-Hodgkin's Lymphomas*. 2nd Edition. Londres: Arnold, 1997.
13. Canellos GP, Lister TA, Sklar JL (edit.). *The Lymphomas*. Filadelfia: WB Saunders Company, 1998.
14. Armitage JO, Mauch PM, Harris NL, Bierman P. Non-Hodgkin's Lymphomas. En: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (edit.). *Cancer. Principles and Practice of Oncology*. 6^a Edición. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins 2001: 2256-316.

15. Non Hodgkin's Lymphoma. Practice Guideline in Oncology. Version 2001. Second Edition. National Comprehensive Cancer Network. www.nccn.org.
16. Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of newly diagnosed large cell non-Hodgkin's lymphoma. Lugano: Esmo, 2002. www.esmo.org.
17. Moreno Nogueira JA. Linfomas (Documentos de Consenso Oncología). Madrid: Nova Sidonia Oncología, 1999.
18. Jones SE, Fuks Z, Kaplan HS, Rosenberg SA. Non-Hodgkin's lymphomas. V. Results of radiotherapy. *Cancer* 1973; 32: 682-91.
19. Hellman S, Chaffey JT, Rosenthal DS, Moloney WC, Canellos GP, Skarin AT. The place of radiation therapy in the treatment of non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer* 1977; 39: 843-51.
20. Bush RS, Gospodarowicz M, Sturgeon J, Alison R. Radiation therapy of localized Non-Hodgkin's Lymphoma. *Cancer Treat Rep* 1977; 61: 1129-36.
21. Fuller LM, Gamble JF, Butler JJ, Sinkovics JG, Wallace S, Martin RG, et al. Team approach to management of non-Hodgkin's lymphomas: Past and present. *Cancer Treat Rep* 1977; 61: 1137-48.
22. Miller TP, Jones SE. Is there a role for radiotherapy in localized diffuse lymphomas? *Cancer Chemother Pharmacol* 1980; 4: 67-70.
23. Lester JN, Fuller LM, Conrad FG, Sullivan JA, Velasquez WS, Butler JJ, et al. The roles of staging laparotomy, chemotherapy, and radiotherapy in the management of localized diffuse large cell lymphoma: a study of 75 patients. *Cancer* 1982; 49: 1746-53.
24. Horwich A, Catton CN, Quigley M, Easton D, Brada M. The management of early-stage aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol Oncol* 1988; 6: 291-8.
25. Lee CK, Levitt SH. Long-term follow-up of pathologic stage I large cell non-Hodgkin's lymphoma patients after primary radiotherapy. *Am J Clin Oncol* 1996; 19: 93-8.
26. Sutcliffe SB, Gospodarowicz MK, Bush RS, Brown TC, Chua T, Bean HA, et al. Role of radiation therapy in localized non-Hodgkin's lymphoma. *Radiother Oncol* 1985; 4: 211-23.
27. Vaughan Hudson BV, Vaughan Hudson GV, MacLennan KA, Anderson L, Linch DC. Clinical stage I Non-Hodgkin's Lymphomas: Long-term follow-Up of patients treated by the British National Lymphoma Investigation with radiotherapy alone as initial therapy. *Br J Cancer* 1994; 69: 1088-93.
28. Kamath SS, Marcus RB Jr, Lynch JW, Mendenhall NP. The impact of radiotherapy dose and other treatment-related and clinical factors on in-field control in stage I and II non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 44: 563-8.
29. de las Heras M, Salinas J, Fernández J. La utilidad de la radioterapia en los linfomas no-Hodgkin. *Oncología* 1996; 19: 508-24.
30. Shulman LN, Mauch PM. Current role of radiotherapy in Hodgkin's and Non-Hodgkin's lymphoma. *Current Opinion in Oncology* 1995; 7: 421-5.
31. Monfardini S, Banfi A, Bonadonna G, Rilke F, Milani F, Valagussa P, et al. Improved five year survival after combined radiotherapy-chemotherapy for stage I-II non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1980; 6: 125-34.
32. Nissen NI, Ersboll J, Hansen HS, Walbom-Jorgensen S, Pedersen-Bjergaard J, Hansen MM, et al. A randomized study of radiotherapy versus radiotherapy plus chemotherapy in stage I-II non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer* 1983; 52: 1-7.
33. Carde P, Burgers JMV, van Glabbeke M, et al. Combination radiotherapy - chemotherapy for early stages non-Hodgkin's lymphoma: The 1975-1980. EORTC controlled lymphoma trial. *Radiother Oncol* 1984; 2: 301-12.
34. Miller TP, Jones SE. Initial chemotherapy for clinically localized lymphomas of unfavorable histology. *Blood* 1983; 62: 413-8.
35. Connors JM, Klimo P, Fairey RN, Voss N. Brief chemotherapy and involved field radiation therapy for limited-stage, histologically aggressive lymphoma. *Ann Intern Med* 1987; 107: 25-30.
36. Jones SE, Miller TP, Connors JM. Long-term follow-up and analysis for prognostic factors for patients with limited stage diffuse large-cell lymphoma treated with initial chemotherapy with or without radiotherapy. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1186-91.
37. Mauch P, Leonard R, Skarin A, Rosenthal D, Come S, Chaffey J, et al. Improved survival following combined radiation therapy and chemotherapy for unfavorable prognosis stage I-II Non-Hodgkin's Lymphomas. *J Clin Oncol* 1985; 3: 1301-8.
38. Longo DL, Glatstein E, Duffey PL, Ihde DC, Hubbard SM, Fisher RL, et al. Treatment of localized aggressive lymphomas with combination chemotherapy followed by involved-field radiation therapy. *J Clin Oncol* 1989; 9: 1295-302.
39. Tondini C, Zanini M, Lombardi F, Bengala C, Rocca A, Giardini R, et al. Combined modality treatment with primary CHOP chemotherapy followed by locoregional irradiation in stage I or II histologically aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1993; 11: 720-5.
40. Freilone R, Botto B, Vitolo U, Bertini M, Audisio E, Calvi R, et al. Combined modality treatment with a weekly brief chemotherapy (ACOP-B) followed by locoregional radiotherapy in localized-stage intermediate- to high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1996; 7: 919-24.
41. Munck JN, Dhermain F, Koscielny S, Girinsky T, Carde P, Bosq J, et al. Alternating chemotherapy and radiotherapy for limited-stage intermediate and high-grade non-Hodgkin's lymphomas: long-term results for 96 patients with tumors >5 cm. *Ann Oncol* 1996; 7: 925-31.
42. Martelli MP, Martelli M, Pescarmona E, De Sanchis V, Donato V, Palombi F, et al. MACOP-B and involved field radiation therapy is an effective therapy for primary mediastinal large B-cell lymphoma with sclerosis. *Ann Oncol* 1998; 9: 1027-9.
43. Shenkier TN, Voss N, Fairey R, Gascoyne RD, Hoskins P, Klasa R, et al. Brief chemotherapy and involved-region irradiation for limited-stage diffuse large-cell lymphoma: an 18-year experience from the British Columbia Cancer Agency. *J Clin Oncol* 2002; 20: 197-204.
44. Miller TP, Jones SE. Chemotherapy of localised histiocytic lymphoma. *Lancet* 1979; 1: 358-60.
45. Cabanillas F, Bodey GP, Freireich EJ. Management with chemotherapy only of stage I and II malignant lymphoma of aggressive histologic types. *Cancer* 1980; 46: 2356-9.
46. Miller TP, Jones SE. Initial chemotherapy for clinically localized lymphomas of unfavorable histology. *Blood* 1983; 62: 413-8.
47. Miller TP, Dahlberg S, Cassady JR, Adelstein DJ, Spier CM, Grogan TM, et al. Chemotherapy alone compared with chemotherapy plus radiotherapy for localized intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1998; 339: 21-6.
48. Glick J, Kim K, Earle J, O'Connell M. An ECOG randomized phase III trial of CHOP vs. CHOP + radiotherapy for intermediate grade early stage non-Hodgkin's lymphoma. *Proc ASCO* 1995; 14: 391.
49. Bonnet C, Fillet G, Mounier N, Thieblemont C, Fermé C, Quesnel B, et al. Radiotherapy is unnecessary in elderly patients with localized aggressive non Hodgkin's lymphoma: Results of the LNH 93-4 study. *Ann Oncol* 2002; 13 (Supl. 2): 27. (resumen 079).
50. Velasquez WS. Manejo de los linfomas de células grandes en estadios I y II. En: Cabanillas F (Editor). *Linfomas no Hodgkin*. Barcelona: Doyma, 1988. p. 43-50.
51. Longo DL. Combined modality therapy for localized aggressive lymphoma: Enough or too much? *J Clin Oncol* 1989; 7: 1179-81.
52. Tsang RW, Gospodarowicz MK. Management of localized (stage I and II) clinically aggressive lymphomas. *Ann Hematol* 2001; 80 (Supl. 3): B66-72.
53. Avilés A, Delgado S, Nambo MJ, Alatrste S, Diaz-Maqueo JC. Adjuvant radiotherapy to sites of previous bulky disease in patients with stage IV diffuse large cell lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 30: 799-803.
54. Rube C, Nguyen TP, Kloss M, Loeffler M, Trumper L, Pfreunschuh M. Consolidation radiotherapy to bulky disease in aggressive NHL. First results of the NHL B-94 trial of the DSHNHL. *Ann Hematol* 2001; 80 (Supl. 3): B84-85.
55. Schlembach PJ, Wilder RB, Tucker SL, Ha CS, Rodríguez MA, Hess MA, et al. Impact of involved field radiotherapy after CHOP-based chemotherapy on stage III-IV, intermediate

- grade and large-cell immunoblastic lymphomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 48: 1107-10.
56. Armitage JO, Cheson BD. Interpretation of clinical trials in diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1988; 6: 1335-47.
 57. Gaynor ER, Fisher RI. Diffuse aggressive lymphomas in adults. En: Magrath IT, ed. *The Non-Hodgkin's Lymphomas* (2ª ed). Londres: Arnold, 1997. p. 897-906.
 58. Gaynor ER, Fisher RI. Diffuse large cell and immunoblastic lymphomas. En: Canellos P, Lister TA, Sklar JL, eds. *The Lymphomas*. Filadelfia: WB Saunders, 1998. p. 399-412.
 59. DeVita VT, Canellos GP, Chabner B, Schein P, Hubbard SP, Young RC. Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease. *Lancet* 1975; 1: 248-50.
 60. Hoogstraten B, Owens AH, Lenhard RE, Glidewell OJ, Leone LA, Olson KB, et al. Combination chemotherapy in lymphosarcoma and reticulum cell sarcoma. *Blood* 1969; 33: 370-7.
 61. Luce JK, Gamble JF, Wilson HE, Monto RW, Isaacs BL, Palmer RL, et al. Combined Cyclophosphamide, Vincristine, and Prednisone therapy of malignant lymphoma. *Cancer* 1971; 28: 306-17.
 62. Bagley CM, DeVita VT Jr, Berard CW, Canellos GP. Advanced lymphosarcoma: intensive cyclical combination chemotherapy with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone. *Ann Intern Med* 1972; 76: 227-34.
 63. Portlock CS, Rosenberg SA. Combination chemotherapy with cyclophosphamide, bincristine, and prednisone in advanced non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer* 1976; 37: 1275-82.
 64. Lowenbraun S, DeVita VT Jr, Serpick AA. Combination chemotherapy with nitrogen mustard, vincristine, procarbazine, and prednisone in lymphosarcoma and reticulum cell sarcoma. *Cancer* 1970; 25: 1018-25.
 65. Levitt M, Marsh JC, DeConti RC, Mitchell MS, Skeel RT, Farber LR, et al. Combination sequential chemotherapy in advanced reticulum cell sarcoma. *Cancer* 1972; 29: 630-6.
 66. Berd D, Cornog J, DeConti RC, Levitt M, Bertino JR. Long-term remission in diffuse histiocytic lymphoma treated with combination sequential chemotherapy. *Cancer* 1975; 35: 1050-4.
 67. Gaynor ER, Ultmann JE, Golomb HM, Sweet DL. Treatment of diffuse histiocytic lymphoma with COMLA (cyclophosphamide, oncovin, methotrexate, leucovorin, cytosine arabinoside): A 10-year experience in a single institution. *J Clin Oncol* 1985; 3: 1596-604.
 68. Schein PS, DeVita VT Jr, Hubbard S, Chabner BA, Canellos GP, Berard CW, et al. Bleomycin, adriamycin, cyclophosphamide, vincristine, and prednisone (BACOP) combination chemotherapy in the treatment of advanced diffuse histiocytic lymphoma. *Ann Intern Med* 1976; 85: 417-22.
 69. Skarin AT, Rosenthal DS, Moloney WC, Frei III E. Combination chemotherapy of advanced non-Hodgkin's lymphoma with bleomycin, adriamycin, cyclophosphamide, vincristine, and prednisone (BACOP). *Blood* 1977; 49: 759-70.
 70. Gottlieb JA, Gutterman JU, McCredie KB, Rodríguez V, Frei III E. Chemotherapy of malignant lymphoma with Adriamycin. *Cancer Res* 1973; 33: 3024-8.
 71. McKelvey EM, Gottlieb JA, Wilson HE, Haut A, Talley RW, Stephens R, et al. Hidroxyldaunomycin (Adriamycin) combination chemotherapy in malignant lymphoma. *Cancer* 1976; 38: 1484-93.
 72. Ellias L, Portlock CS, Rosenberg SA. Combination chemotherapy of diffuse histiocytic lymphoma with cyclophosphamide, adriamycin, vincristine and prednisone (CHOP). *Cancer* 1978; 42: 1705-10.
 73. Rodríguez V, Cabanillas F, Burgess MA, McKelvey EM, Valdivieso M, Bodey GP, et al. Combination chemotherapy ("CHOP-Bleo") in advanced (non-Hodgkin) malignant lymphoma. *Blood* 1977; 49: 325-33.
 74. Lee R, Cabanillas F, Bodey GP, Freireich EJ. A 10-year update of CHOP-Bleo in the treatment of diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1986; 4: 1455-61.
 75. Coltman CA, Dahlberg S, Jones SE. CHOP is curative in thirty percent of patients with large cell lymphoma: a twelve year Southwest Oncology Group follow up. En: Skarin A (Editor). *Advances in cancer chemotherapy: update on treatment for diffuse large cell lymphoma*. Nueva York: Park Row, 1986. p. 71-7.
 76. Giral M, Montserrat E, Maldonado J, Rodríguez-Fernández JM, Cirera L, Mayans JR, et al. Terapéutica de los linfomas no Hodgkinianos clínicamente agresivos en estadios III y IV con CHOP. Estudio del grupo PETHEMA. *Neoplasia* 1986; 3: 119-24.
 77. Laurence J, Coleman M, Allen SL, Silver RT, Pasmantier M. Combination chemotherapy of advanced diffuse histiocytic lymphoma with the six-drug COP-BLAM regimen. *Ann Intern Med* 1982; 97: 190-5.
 78. Skarin AT, Canellos GP, Rosenthal DS, Case DC, MacIntyre JM, Pinkus GS, et al. Improved prognosis of diffuse histiocytic and undifferentiated lymphoma by use of high dose Methotrexate alternating with standard agents (M-BACOD). *J Clin Oncol* 1983; 1: 91-8.
 79. Anderson KC, Skarin AT, Rosenthal DS, Macintyre JM, Pinkus GS, Case DC, et al. Combination chemotherapy for advanced non-Hodgkin's lymphomas other than diffuse histiocytic or undifferentiated histologies. *Cancer Treat Rep* 1984; 68: 1343-50.
 80. Cabanillas F, Burgess MA, Bodey GP, Freireich EJ. Sequential chemotherapy and late intensification for malignant lymphomas of aggressive histologic type. *Am J Med* 1983; 74: 382-8.
 81. Fisher RI, DeVita VT Jr, Hubbard SM, Longo DL, Wesley R, Chabner BA, et al. Diffuse aggressive lymphomas: increased survival after alternating flexible sequences of ProMACE and MOPP chemotherapy. *Ann Intern Med* 1983; 98: 304-9.
 82. Skarin AT, Canellos GP, Rosenthal DS, Case DC, MacIntyre JM, Pinkus GS, et al. Moderate dose methotrexate combined with bleomycin, adriamycin, cyclophosphamide, oncovin, and dexametasona, m-BACOD, in diffuse histiocytic lymphoma. *Proc ASCO* 1983; 2: 220.
 83. Koziner B, Sklaroff R, Little C, Labriola D, Thaler HT, Straus DJ, et al. NHL-3 Protocol. Six-drug combination chemotherapy for non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1984; 53: 2592-600.
 84. Coiffier B, Pryon PA, Berger F, Archimbaud E, Ffrench M, Extra JM, et al. Intensive sequential combination chemotherapy for aggressive malignant lymphomas (Protocol LNH-80). *J Clin Oncol* 1986; 4: 147-53.
 85. Klimo P, Connors JM. MACOP-B chemotherapy for the treatment of diffuse large-cell lymphoma. *Ann Intern Med* 1985; 102: 596-602.
 86. Klimo P, Connors JM. Updated clinical experience with MACOP-B. *Semin Hematol* 1987; 24 (Supl. 1): 26-34.
 87. Guglielmi C, Amadori S, Ruco LP, Mantovano L, Martelli M, Papa G, Mandelli F. Combination chemotherapy for the treatment of diffuse aggressive lymphomas: F-MACHOP Update. *Semin Oncol* 1987; 14 (Supl. 1): 104-9.
 88. Boyd DB, Coleman M, Papish SW, Topilow A, Kapel SK, Bernhardt B, et al. COPBLAM III: infusional combination chemotherapy for diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1988; 6: 425-33.
 89. Coiffier B, Gisselbrecht C, Herbrecht R, Tilly H, Bosly A, Brousse N. LNH-84 regimen: a multicenter study of intensive chemotherapy in 737 patients with aggressive malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1018-26.
 90. Fisher RI, Longo DL, DeVita VT Jr, Hubbard SM, Miller TP, Young RC. Long-term follow-up of ProMACE-CytaBOM in non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Oncol* 1991; 2 (Supl. 1): 33-5.
 91. Dana BW, Dahlberg S, Miller TP, Fisher RI, Jones SE, Coltman CA. m-BACOD treatment for intermediate and high grade malignant lymphomas: a southwest oncology group clinical phase II trial. *J Clin Oncol* 1990; 8: 1155-62.
 92. Miller TP, Dahlberg S, Weick JK, Fisher RI, Coltman CA. ProMACE-CytaBOM is active with acceptable toxicity in patients with unfavorable non-Hodgkin's lymphomas. A group-wide Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1990; 8: 1951-8.
 93. Weick JK, Dana B, Fisher RI, Dana B, Miller TP, Balcerzak SP, et al. Combination chemotherapy of intermediate-grade and high-grade non-Hodgkin's lymphoma with MACOP-B: a southwest oncology group study. *J Clin Oncol* 1991; 9: 748-53.
 94. Gordon LI, Harrington D, Andersen J, Colgan J, Glick J, Neiman R, et al. Comparison of a second-generation chemotherapeutic regimen (m-BACOD) with a standard regimen (CHOP) for advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1992; 327: 1342-9.

95. Cooper IA, Wolf MM, Robertson TI, Fox RM, Matthews JP, Stone JM, et al. Randomized comparison of MACOP-B with CHOP in patients with intermediate-grade non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 769-78.
96. Sertoli MR, Santini G, Chinesi T, Congiu AM, Rubagotti A, Contu A, et al. MACOP-B *versus* ProMACE-MOPP in the treatment of advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma: results of a prospective randomized trial by the non-Hodgkin's Lymphoma Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 1994; 12: 1366-74.
97. Linch DC, Hudson BV, Hancock BW, Hoskin PJ, Cunningham DC, Mewland AC, et al. A randomised comparison of a third-generation regimen (PACBOM) with a standard regimen (CHOP) in patients with histologically aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a British National Lymphoma Investigation report. *Br J Cancer* 1996; 74: 318-22.
98. Bailey NP, Stuart NSA, Bessell EM, Child JA, Norfolk D, Fletcher J, et al. Five-year follow-up of a prospective randomised multi-centre trial of weekly chemotherapy (CAPOMET) *versus* cyclical chemotherapy (CHOP-Mtx) in the treatment of aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1998; 9: 633-8.
99. Jerkeman M, Anderson H, Cavallin-Stahl E, Dictor M, Hagberg H, Johnson A, et al. CHOP *versus* MACOP-B in aggressive lymphoma—a Nordic lymphoma group randomised trial. *Ann Oncol* 1999; 10: 1079-86.
100. Montserrat E, García-Conde J, Viñolas N, López-Guillermo A, Hernández-Nieto L, Zubizarreta A, et al. CHOP *vs* ProMACE-CytaBOM in the treatment of aggressive non-Hodgkin's lymphomas: long-term results of a multicenter randomized trial. (PETHEMA: Spanish Cooperative Group for the Study of Hematological Malignancies Treatment, Spanish Society of Hematology). *Eur J Haematol* 1996; 57: 377-83.
101. López-Guillermo A, García-Conde J, Álvarez-Carmona AM, León P, Maldonado J, Alcalá A, et al. Comparación de la quimioterapia CHOP frente a CHOP/VIA para el tratamiento de los linfomas no hodgkianos agresivos: estudio multicéntrico aleatorizado en 132 pacientes. *Med Clin* 1998; 110: 601-4.
102. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S, Oken MM, Grogan TM, Mice EM, et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphomas. *N Engl J Med* 1993; 328: 1002-6.
103. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S, Oken MM, Grogan TM, Mize EM, et al. A phase III comparison of CHOP *vs* m-BACOD *vs* ProMACE-CytaBOM *vs* MACOP-B in patients with intermediate- or high-grade non-Hodgkin's lymphoma: results of SWOG-8516. (Intergroup 0067), the National High-Priority Lymphoma Study. *Ann Oncol* 1994; 5 (Supl. 2): 91-5.
104. Carde P, Meerwaldt JH, van Glabbeke M, Somers R, Monconduit M, Thomas J, et al. Superiority of second over first generation chemotherapy in a randomized trial for stage III-IV intermediate and high-grade non-Hodgkin's lymphoma (NHL): the 1980-1985. EORTC trial. The EORTC Lymphoma Group. *Ann Oncol* 1991; 2: 431-5.
105. Somers R, Carde P, Thomas J, Tirelli U, Keuning JJ, Bron D, et al. EORTC study of non-Hodgkin's lymphoma: phase III study comparing CHVmP-VB and ProMACE-MOPP in patients with stage II, III, and IV intermediate- and high-grade lymphoma. *Ann Oncol* 1994; 5 (Supl. 2): 85-9.
106. Messori A, Vaiani M, Trippoli S, Rigacci L, Jerkeman M, Longo G. Survival in patients with intermediate or high grade non-Hodgkin's lymphoma: meta-analysis of randomized studies comparing third generation regimens with CHOP. *Br J Cancer* 2001; 84: 303-7.
107. Hryniuk W. Is more beter? *J Clin Oncol* 1986; 4: 621-2.
108. Canellos GP. CHOP may have been part of the beginning but certainly not the end: issues in risk-related therapy of large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1713-6.
109. Coltman CA. Diffuse large-cell lymphoma: more CHOP-Bleo is not better. *J Clin Oncol* 1986; 4: 1439-40.
110. Gelman R, Neuberger D. Making cocktails *versus* making soup. *J Clin Oncol* 1991; 9: 200-3.
111. Steinke B, Manegold Ch, Freund M, Reinold HM, Fisher JTH, Arnold H, et al. G-CSF for treatment intensification in high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas. *Onkologie* 1992; 15: 46-50.
112. Gerhartz HH, Engelhard M, Meusers P, Brittinger G, Wilmanns W, Schlimok G, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of recombinant human Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor as adjunct to induction treatment of high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1993; 82: 2329-39.
113. Gisselbrecht C, Haioun C, Lepage E, Bastion Y, Tilly H, Bosly A, et al. Placebo-controlled phase III study of lenograstim (glycosylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factor) in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: factors influencing chemotherapy administration. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *Leuk Lymphoma* 1997; 25: 289-300.
114. Linch DC. Dose optimisation and dose intensification in malignant lymphoma. *Eur J Cancer* 1994; 30A: 122-5.
115. www.asco.org/prof/pp/html/guide/color/m_colorintro.htm.
116. Giles FJ, Shan J, Advani SH, Akan H, Aydogdu I, Aziz Z, et al. A prospective randomized study of Chop *versus* Chop plus alpha-2B interferon in patients with intermediate and high grade non-Hodgkin's lymphoma: the International Oncology Study Group NHL1 Study. *Leuk Lymphoma* 2000; 40: 95-103.
117. Maloney DG, Grillo-López AJ, Bodkin DJ, White CA, Liles TM, Royston I, et al. IDEC-C2B8: Results of a phase I multiple-dose trial in patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1997; 15: 3266-74.
118. Tobinai K, Kobayashi Y, Narabayashi M, Ogura M, Kagami Y, Morishima Y, et al. Feasibility and pharmacokinetic study of a chimeric anti-CD20. Monoclonal antibody (IDEC-C2B8, rituximab) in relapsed B-cell lymphoma. The IDEC-C2B8. Study Group. *Ann Oncol* 1998; 9: 527-34.
119. Coiffier B, Haioun C, Ketterer N, Engert A, Tilly H, Ma D, et al. Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma: a multicenter phase II study. *Blood* 1998; 92: 1927-32.
120. Vose JM, Link BK, Grossbard ML, Czuczman M, Grillo-Lopez A, Gilman P, et al. Phase II study of Rituximab in combination with CHOP chemotherapy in patients with previously untreated, aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 389-97.
121. Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346: 235-42.
122. Cheson BD. CHOP plus rituximab. Balancing facts and opinion. *N Engl J Med* 2002; 346: 280-2.
123. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 987-94.
124. Bartlett NL, Kwak LW, Horning SJ. MACOP-B +/- radiation therapy for diffuse large cell lymphoma. Analysis of the Stanford results according to prognostic indices. *Cancer* 1993; 71: 4034-42.
125. Velasquez WS, McLaughlin P, Fuller LM, Allen PK, Tucker SL, Swan F, et al. Intermediate-grade lymphomas treated with cyclophosphamide-methotrexate-etoposide-dexamethasone. Application of prognostic models to data analysis. *Cancer* 1994; 73: 2408-16.
126. Sertoli MR, Santini G, Chinesi T, Congiu AM, Rubagotti A, Contu A, et al. MACOP-B *versus* ProMACE-MOPP in the treatment of advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma: results of a prospective randomized trial by the non-Hodgkin's lymphoma cooperative study group. *J Clin Oncol* 1994; 12: 1366-74.
127. Gordon LI, Andersen J, Colgan J, Glick J, Resnick GD, O'Connell M, et al. Advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma. Analysis of prognostic factors by the International Index and by lactic dehydrogenase in an intergroup study. *Cancer* 1995; 75: 865-73.
128. Fisher RI. Treatment of aggressive non-Hodgkin's lymphomas. Lessons from the past 10 years. *Cancer* 1994; 74: 2657-61.
129. Bonadonna G. Will new treatment strategies improve the control of non-Hodgkin's lymphomas? *Current Opinion in Oncology* 1994; 6: 453-5.
130. Godwin JE, Fisher RI. Diffuse Large Cell Lymphomas. En: Cavalli F, Armitage JO, Longo DL (edit.). *Annual of Lymphoid Malignancies*. Londres: Martin Dunitz Ltd, 2001. p. 69-84.

131. Wilson WH, Chabner BA, Bryant G, Bates S, Fojo A, Regis JA, et al. Phase II study of paclitaxel in relapsed non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1995; 13: 381-6.
132. Hopfinger G, Heinz R, Pfeilstöcker M, Schlögl E, Waldner R, Pittermann E. Paclitaxel in the salvage treatment of Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1996; 7: 423-5.
133. Younes A, Ayoub JP, Sarris A, Hagemester F, North L, Pate O, et al. Paclitaxel activity for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: final report of a phase II trial. *Br J Haematol* 1997; 96: 328-32.
134. Press OW, LeBlanc M, O'Rourke TJ, Gagnet S, Chapman RA, Balcerzak SP, et al. Phase II trial of paclitaxel by 24-hour continuous infusion for relapsed non-Hodgkin's lymphomas: Southwest Oncology Group trial 9246. *J Clin Oncol* 1998; 16: 574-8.
135. Zinzani PL, Magagnoli M, Bendandi M, Orcioni GF, Gherlinzoni F, Albertini P, et al. Therapy with gemcitabine in pretreated peripheral T-cell lymphoma patients. *Ann Oncol* 1998; 9: 1351-3.
136. Fossa A, Santoro A, Hiddemann W, Truemper L, Niederle N, Buksmaui S, et al. Gemcitabine as a single agent in the treatment of relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3786-92.
137. Savage DG, Rule SA, Tighe M, Garrett TJ, Oster MW, Lee RT, et al. Gemcitabine for relapsed or resistant lymphoma. *Ann Oncol* 2000; 11: 595-7.
138. Nabhan C, Krett N, Gandhi V, Rosen S. Gemcitabine in hematologic malignancies. *Curr Opin Oncol* 2001; 13: 514-21.
139. Cabanillas F. The role of topoisomerase-I inhibitors in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Hematol* 1999; 36 (Supl. 8): 11-5.
140. Kraut EH, Balcerzak SP, Young D, Davis MP, Jacobs SA. A phase II study of topotecan in non-Hodgkin's lymphoma: an Ohio State University phase II research consortium study. *Cancer Invest* 2002; 20: 174-9.
141. Sarris AH, Romaguera J, Hagemester FB, Rodríguez MA, McLaughlin P, Pro B, et al. Irinotecan in relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *Oncology (Huntingt)* 2001; 15 (Supl. 8): 53-6.
142. Younes A, Preti HA, Hagemester FB, McLaughlin P, Romaguera JE, Rodríguez MA, et al. Paclitaxel plus topotecan treatment for patients with relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2001; 12: 923-27.
143. Flinn IW, Goodman SN, Post L, Jamison J, Miller CB, Gore S, et al. A dose-finding study of liposomal daunorubicin with CVP (COP-X) in advanced NHL. *Ann Oncol* 2000; 11: 691-5.
144. Tulpule A, Rarick MU, Kolitz J, Bernstein J, Myers A, Buchanan LA, et al. Liposomal daunorubicin in the treatment of relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2001; 12: 457-62.
145. Wollina U, Graefe T, Karte K. Treatment of relapsing or recalcitrant cutaneous T-cell lymphoma with pegylated liposomal doxorubicin. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 40-6.
146. Muggia FM. Liposomal encapsulated anthracyclines: new therapeutic horizons. *Curr Oncol Rep* 2001; 3: 156-62.
147. Budman DR, Petroni GR, Johnson JL, Cooper MR, Schlossman DM, Barcos M, et al. Phase II trial of docetaxel in non-Hodgkin's lymphomas: a study of the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 1997; 15: 3275-9.
148. Germann N, Brienza S, Rotarski M, Emile JF, Di Palma M, Musset M, et al. Preliminary results on the activity of oxaliplatin (L-OHP) in refractory/recurrent non-Hodgkin's lymphoma patients. *Ann Oncol* 1999; 10: 351-4.
149. Balzarotti M, Santoro A, Tondini C, Fornier M, Bonadonna G. Activity of single agent vinorelbine in pretreated non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1996; 7: 970-2.
150. Sarris AH, Psyri A, Hagemester F, Romaguera J, McLaughlin P, Rodríguez MA, et al. Infusional vinorelbine in relapsed or refractory lymphomas. *Leuk Lymphoma* 2000; 39: 291-9.
151. Sarris AH, Hagemester F, Romaguera J, Rodríguez MA, McLaughlin P, Tsimberidou AM, et al. Liposomal vincristine in relapsed non-Hodgkin's lymphomas: early results of an ongoing phase II trial. *Ann Oncol* 2000; 11: 69-72.
152. Zhu XH, Shen YL, Jing YK, Cai X, Jia PM, Huang Y, et al. Apoptosis and growth inhibition in malignant lymphocytes after treatment with arsenic trioxide at clinically achievable concentrations. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 772-8.
153. Murgu AJ. Clinical trials of arsenic trioxide in hematologic and solid tumors: overview of the National Cancer Institute Cooperative Research and Development Studies. *Oncologist* 2001; 6 (Supl. 2): 22-8.
154. Pfreundschuh M, Hasenclever D, Loeffler M, Ehninger G, Schmitz N, Kirchner H, et al. Dose escalation of cytotoxic drugs using haematopoietic growth factors: a randomized trial to determine the magnitude of increase provided by GM-CSF. *Ann Oncol* 2001; 12: 471-7.
155. Tanosaki R, Okamoto S, Akatsuka N, Ishida A, Michikawa N, Masuda Y, et al. Dose escalation of biweekly cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone using recombinant human granulocyte colony stimulating factor in non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1994; 74: 1939-41.
156. Sawada KI, Sato N, Kohno M, Hannda H, Yasukouchi T, Tanno M, et al. Efficacy of delayed granulocyte colony-stimulating factor after full dose CHOP therapy in non-Hodgkin's lymphoma: a pilot study for a leukocyte count oriented regimen. *Leuk Lymphoma* 1995; 20: 103-9.
157. Shipp MA, Neuberg D, Janicek M, Canellos GP, Shulman LN. High-dose CHOP as initial therapy for patients with poor-prognosis aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a dose-finding pilot study. *J Clin Oncol* 1995; 13: 2916-23.
158. Juliusson G, Liliemark J. Dose escalation of high-dose cyclophosphamide and etoposide with high-dose doxorubicin (CDE) and filgrastim for poor-risk non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1996; 7: 1037-41.
159. Talbot SM, Westerman DA, Grigg AP, Toner GC, Wolf M, Bishop J, et al. Phase I and subsequent phase II study of filgrastim (r-met-HuG-CSF) and dose intensified cyclophosphamide plus epirubicin in patients with non-Hodgkin's lymphoma and advanced solid tumors. *Ann Oncol* 1999; 10: 907-14.
160. Santoro A, Balzarotti M, Tondini C, Zanini M, Giardini R, Latteri F, et al. Dose-escalation of CHOP in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1999; 10: 519-25.
161. Itoh K, Ohtsu T, Wakita H, Igarashi T, Ishizawa K, Onozawa Y, et al. Dose-escalation study of CHOP with or without prophylactic G-CSF in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2000; 11: 1241-7.
162. Bouabdallah R, Stoppa AM, Coso D, Bardou VJ, Blaise D, Chabannon C, et al. Clinical outcome after front-line intensive sequential chemotherapy (ISC) in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma and high-risk international prognostic index (IPI 3): final analysis of survival in two consecutive ISC trials. *Ann Oncol* 2001; 12: 513-7.
163. Bartlett NL, Petroni GR, Parker BA, Wagner ND, Gockerman JP, Omura GA, et al. Dose-escalated cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone, and etoposide (CHOPE) chemotherapy for patients with diffuse lymphoma: Cancer and Leukemia Group B studies 8852 and 8854. *Cancer* 2001; 92: 207-17.
164. Coiffier B. Fourteen years of high-dose CHOP (ACVB regimen): Preliminary conclusions about the treatment of aggressive-lymphoma patients. *Ann Oncol* 1995; 6: 211-7.
165. Tilly H, Coiffier B, Casasnovas O, Bouabdallah R, Reman O, Quesnel B, et al. Survival advantage of ACVBP regimen over standard CHOP in the treatment of advanced aggressive non-Hodgkin's lymphoma (NHL). The LNH 93-5 study. *Ann Oncol* 2002; 13 (Supl. 2): 28 (Resumen 082).
166. Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M, Schmitz N, Glass B, Schmits R, et al. Two weekly CHOP (CHOP-14): the new standard regimens for patients with aggressive non-hodgkin's lymphoma (NHL) > 60 years of age. *Ann Oncol* 2002; 13 (Supl. 2): 27 (Resumen 081).
167. Santoro A, Balzarotti M, Castagna L. Intensified CHOP in non-Hodgkin's lymphoma: what we know and what we need to know. *Ann Oncol* 1999; 10: 875-6.
168. Radford JA, Whelan JS, Rohatiner AZS, Deakin D, Harris M, Stansfeld AG, et al. Weekly VAPEC-B chemotherapy for high-grade non-Hodgkin's lymphoma: Results of treatment in 184 patients. *Ann Oncol* 1994; 5: 147-51.

169. Bergmann L, Karakas T, Lautenschläger G, Jäger E, Knuth A, Mitrou PS, et al. Vincristine, doxorubicin, cyclofosfamide, prednisone and etoposide (VACPE) in high-grade non-Hodgkin's lymphoma - a multicenter phase II study. *Ann Oncol* 1995; 6: 1019-24.
170. Parker BA, Santarelli M, Green MR, Anderson JR, Cooper MR, Case D, et al. AMOPLACE treatment of intermediate-grade and high-grade malignant lymphoma: a cancer and leukemia group B study. *J Clin Oncol* 1993; 11: 248-254.
171. Celsing F, Widell S, Merk K, Bernell P, Grimfors G, Hedlund A, et al. Addition of etoposide to CHOP chemotherapy in untreated patients with high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1998; 9: 1213-7.
172. Cabanillas F, Rodríguez-Díaz Pavón J, Hagemester FB, McLaughlin P, Rodríguez MA, Romaguera JE, et al. Alternating triple therapy for the treatment of intermediate grade and immunoblastic lymphoma. *Ann Oncol* 1998; 9: 511-8.
173. De Lena M, Ditonno P, Loruso V, Brandi M, Timurian A, Marzullo F, et al. CEOP-B alternated with VIMB in intermediate-grade and high-grade non-Hodgkin's lymphoma: a pilot study. *J Clin Oncol* 1995; 13: 953-60.
174. Avilés A, Guzmán R, Delgado S, Nambo MJ, García EL, Díaz-Maqueo JC. Intensive brief chemotherapy with hematopoietic growth factors as hematological support and adjuvant radiotherapy improve the prognosis in aggressive malignant lymphoma. *Am J Hematol* 1996; 52: 275-80.
175. Preti A, Cabanillas F. Management of recurrent or refractory lymphomas. En: Magrath IT, ed. *The Non-Hodgkin's Lymphomas* (2ª edición). Londres: Arnold, 1997: 715-22.
176. López Guillermo A, Sierra J, Montserrat E. Tratamiento de los linfomas no hodgkinianos resistentes o en recaída. *Med Clin (Barc.)* 1989; 93: 304-8.
177. Fisher RI, Stiff PJ. Treatment options for recurrent lymphomas. *Semin Oncol* 1990; 17 (Supl. 4): 63-7.
178. Vose JM. Treatment for non-Hodgkin's lymphoma in relapse. What are the alternatives? *N Engl J Med* 1995; 333: 1565-6.
179. Wilder RB, Rodríguez MA, Tucker SL, Ha CS, Hess MA, Cabanillas FF, et al. Radiation therapy after a partial response to CHOP chemotherapy for aggressive lymphomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 50: 743-9.
180. Canellos GP. Residual mass in lymphoma may not be residual disease. *J Clin Oncol* 1988; 6: 931-3.
181. Surbone A, Longo DL, DeVita Jr VT, Ihde DC, Duffey PL, Jaffe ES, et al. Residual abdominal masses in aggressive non-Hodgkin's lymphoma after combination chemotherapy: significance and management. *J Clin Oncol* 1988; 6: 1832-7.
182. Sparano JA, Wiernik PH, Leaf A, Dutcher JP. Infusional cyclophosphamide, doxorubicin, and etoposide in relapsed and resistant non-Hodgkin's lymphoma: evidence for a schedule-dependent effect favoring infusional administration of chemotherapy. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1071-9.
183. Wilson WH, Bryant G, Bates S, Fojo A, Wittes RE, Steinberg SM, et al. EPOCH chemotherapy: toxicity and efficacy in relapsed and refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1573-82.
184. Cabanillas F, Hagemester FB, Bodey GP, Freireich EJ. IMVP-16: an effective regimen for patients with lymphoma who have relapsed after initial combination chemotherapy. *Blood* 1982; 60: 693-7.
185. Helbrecht R, Damonte JC, Dufour P, Maloisel F, Liu KL, Ortiz S, et al. Etoposide, ifosfamide, and methotrexate combination chemotherapy for aggressive non-Hodgkin's lymphomas after failure of the LNH 84 regimen. *Semin Oncol* 1992; 19 (Supl. 1): 7-10.
186. Cabanillas F, Hagemester FB, McLaughlin P, Velasquez WS, Riggs S, Fuller L, et al. Results of MIME salvage regimen for recurrent or refractory lymphoma. *J Clin Oncol* 1987; 5: 407-12.
187. Enblad G, Glimelius B, Hagberg H, Lindemalm C. Methyl-GAG, ifosfamide and etoposide (MIME) as salvage therapy for Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *Acta Oncol* 1990; 29: 297-301.
188. Dovey GJ, Child JA, Simmons AV, Barnard DL, Parapias L, Morgan M, et al. Ifosfamide and mitoxantrone (IM) in relapsed and refractory high grade non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease. *Hematol Oncol* 1990; 8: 205-13.
189. Nichols CR, Loehrer PJ, Greist A, Kubilis PS, Hoffman R. Salvage chemotherapy for lymphoma with VP-16, ifosfamide, and cisplatin. *Med Pediat Oncol* 1988; 16: 12-6.
190. Velasquez WM, Cabanillas F, Salvador F, McLaughlin P, Fridrick M, Tucker S, et al. Effective salvage therapy for lymphoma with cisplatin in combination with high-dose Ara-C and dexamethasone (DHAP). *Blood* 1988; 71: 117-22.
191. Press OW, Livingston R, Mortimer J, Collins C, Appelbaum F. Treatment of relapsed non-Hodgkin's lymphoma with dexamethasone, high dose cytarabine, and cisplatin before marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1991; 9: 423-31.
192. Goss PE, Shepherd FA, Scott JG, Warner E, Baker MA, Sutton D, et al. Dexamethasone/ifosfamide/cisplatin/etoposide (DICE) as therapy for patients with advanced refractory non-Hodgkin's lymphoma: Preliminary report of a phase II study. *Ann Oncol* 1991; 2 (Supl. 1): 43-6.
193. Velasquez WS, McLaughlin P, Tucker S, Hagemester FB, Swan F, Rodríguez MA, et al. ESHAP - An effective chemotherapy regimen in refractory and relapsing lymphoma: a 4-year follow-up study. *J Clin Oncol* 1994; 12: 1169-76.
194. Aparicio J, Gómez-Codina J, Molins C, Pastor M, Maestu I, Munárriz B, et al. E-SHAP for refractory and relapsing lymphoma: Influence of patient selection. *Ann Oncol* 1993; 4: 896.
195. Rodríguez MA, Cabanillas FC, Hagemester FB, McLaughlin E, Romaguera JE, Swan F, et al. A phase II trial of mesna/ifosfamide, mitoxantrone and etoposide for refractory lymphomas. *Ann Oncol* 1995; 6: 609-11.
196. Rodríguez MA, Cabanillas FC, Velasquez W, Hagemester FB, McLaughlin P, Swan F, et al. Results of a salvage treatment program for relapsing lymphoma: MINE consolidated with ESHAP. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1734-41.
197. Stamatoullas A, Fruchard C, Bastit D, Boulet D, Monconduit M, Piguat H, Tilly H. Ifosfamide, etoposide, cytarabine, and methotrexate as salvage chemotherapy in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1996; 77: 2302-7.
198. Moskowitz CH, Bertino JR, Glassman JR, Hedrick EE, Hunte S, Coody-Lyons N, et al. Ifosfamide, carboplatin, and etoposide: a highly effective cytoreduction and peripheral-blood progenitor-cell mobilization regimen for transplant-eligible patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3776-85.
199. Armitage JO, Vose JM, Bierman PJ. Salvage therapy for patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1990; 10: 39-43.
200. Frei E, Canellos G. Dose: a critical factor in cancer chemotherapy. *Am J Med* 1980; 69: 585-94.
201. Appelbaum FR, Herzig GP, Ziegler JL, Graw RG, Levine AS, Deisseroth AB. Successful engraftment of cryopreserved autologous bone marrow in patients with malignant lymphoma. *Blood* 1978; 52: 85-95.
202. Mitchell JM, Meehan KR, Kong J, Schulman KA. Access to bone marrow transplantation for leukemia and lymphoma: the role of sociodemographic factors. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2644-51.
203. Armitage JO, Jagannath S, Spitzer G, Bierman P, Kessinger A, Kumar P, et al. High dose therapy and autologous marrow transplantation as salvage treatment for patients with diffuse large cell lymphoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22: 871-7.
204. Vose JM, Armitage JO, Bierman PJ, Weisenburger DD, Hutchins M, Dowling MD, et al. Salvage therapy for relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma utilizing autologous bone marrow transplantation. *Am J Med* 1989; 87: 285-8.
205. Petersen FB, Appelbaum FR, Hill R, Fisher LD, Bigelow CL, Sanders JE, et al. Autologous transplantation for malignant lymphoma: A report of 101 cases from Seattle. *J Clin Oncol* 1990; 8: 638-47.
206. Phillips GL, Herzig RH, Lazarus HM, Fay JW, Wolff SN, Mill WB, et al. Treatment of resistant malignant lymphoma with cyclophosphamide, total body irradiation, and transplantation of cryopreserved autologous marrow. *N Engl J Med* 1984; 310: 1557-61.
207. Philip T, Biron P, Maraninchi D, Goldstone AH, Herve P, Souillet G, et al. Massive chemotherapy with autologous bone marrow transplantation in 50 cases of bad prognosis non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 1985; 60: 599-609.

208. Verdonck LF, Dekker AW, Loes van Kempen M, Punt K, van Unnik JAM, van Peperzeel HA, et al. Intensive cytotoxic therapy followed by autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma of high-grade malignancy. *Blood* 1985; 65: 984-9.
209. Philip T, Armitage JO, Spitzer G, Chauvin F, Jagannath S, Cahn JY, et al. High dose therapy and autologous bone marrow transplantation after failure of conventional chemotherapy in adults with intermediate-grade or high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1987; 316: 1493-8.
210. Gribben JG, Goldstone AH, Linch DC, Taghipour G, McMillan AK, Souhami RL, et al. Effectiveness of high dose combination chemotherapy and autologous bone marrow transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma who are still response to conventional dose therapy. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1621-9.
211. Lazarus HM, Crilly P, Ciobanu N, Creger J, Fox RM, Shina DC, et al. High-dose carmustine, etoposide, and cisplatin and autologous bone marrow transplantation for relapsed and refractory lymphoma. *J Clin Oncol* 1989; 10: 1682-9.
212. Colombat P, Gorin NC, Lemonnier MP, Binet C, Laporte JP, Douay L, et al. The role of bone marrow transplantation in 46 adult patients with non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1990; 8: 630-7.
213. Ghalie R, Richman CM, Adler SS, Korenblit AD, Kramer TS, Manson S, et al. Involved field radiation, fractionated total body irradiation, high dose cyclophosphamide, and autologous bone marrow transplantation in the treatment of malignant lymphomas. *Bone Marrow Transplant* 1991; 8: 41-5.
214. Sáez R, Dahlberg S, Appelbaum FR, Hartsock RJ, Lemaistre F, Coltman CA Jr, et al. Autologous bone marrow transplantation in adults with non-Hodgkin's lymphoma: a Southwest Oncology Group study. *Hematol Oncol* 1994; 12: 75-85.
215. Mills W, Chopra R, McMillan A, Pearce R, Linch DC, Goldstone AH. BEAM chemotherapy and autologous bone marrow transplantation for patients with relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 588-95.
216. Mahendra P, Johnson D, Hood IM, Scott MA, Barker P, Bass G, et al. High-dose therapy and autologous stem cell rescue for poor risk and refractory lymphoma: a single centre experience of 123 patients. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 973-8.
217. Girouard C, Dufresne J, Imrie K, Stewart AK, Brandwein J, Prince HM, et al. Salvage chemotherapy with mini-BEAM for relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma prior to autologous bone marrow transplantation. *Ann Oncol* 1997; 8: 675-80.
218. Gryn J, Johnson E, Goldman N, Devereux L, Grana G, Hageboutros A, et al. The treatment of relapsed or refractory intermediate grade non-Hodgkin's lymphoma with autologous bone marrow transplantation followed by cyclosporine and interferon. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19: 221-6.
219. Stiff PJ, Dahlberg S, Forman SJ, McCall AR, Horning SJ, Nademanee AP, et al. Autologous bone marrow transplantation for patients with relapsed or refractory diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma: value of augmented preparative regimens—a Southwest Oncology Group trial. *J Clin Oncol* 1998; 16: 48-55.
220. Kewalramani T, Zelenetz AD, Hedrick EE, Donnelly GB, Hunte S, Priovolos AC, et al. High-dose chemoradiotherapy and autologous stem cell transplantation for patients with primary refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma: an intention-to-treat analysis. *Blood* 2000; 96: 2399-404.
221. Haq R, Sawka CA, Franssen E, Berinstein NL. Significance of partial or slow response to front-line chemotherapy in the management of intermediate-grade or high-grade non-Hodgkin's lymphoma: a literature review. *J Clin Oncol* 1994; 12: 1074-84.
222. Huijgens PC, Ossenkoppele GJ, van der Lelie J, Thomas LLM, Wijngaarden MJ, Reijneke RMR. Ifosfamide and VP-16213 combination chemotherapy combined with ablative chemotherapy and autologous marrow transplantation as salvage treatment for malignant lymphoma. *Eur J Cancer* 1988; 24: 483-6.
223. Philip T, Hartmann O, Biron P, Cahn JY, Pein F, Bordigoni P, et al. High dose therapy and autologous bone marrow transplantation in partial response after first line induction therapy for diffuse NHL. *J Clin Oncol* 1988; 6: 1118-24.
224. Gulati SC, Shank B, Black P, Yopp Y, Koziner B, Straus D, et al. Autologous bone marrow transplantation for patients with poor prognosis lymphoma. *J Clin Oncol* 1988; 6: 1303-13.
225. Prince HM, Imrie K, Crump M, Stewart AK, Girouard C, Colwill R, et al. The role of intensive therapy and autologous blood and marrow transplantation for chemotherapy-sensitive relapsed and primary refractory non-Hodgkin's lymphoma: identification of major prognostic groups. *Br J Haematol* 1996; 92: 880-9.
226. Prince HM, Crump M, Imrie K, Stewart AK, Girouard C, Brandwein JM, et al. Intensive therapy and autotransplant for patients with an incomplete response to front-line therapy for lymphoma. *Ann Oncol* 1996; 7: 1043-9.
227. Vose JM, Zhang MJ, Rowlings PA, Lazarus HM, Bolwell BJ, Freytes CO, et al. Autologous transplantation for diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma in patients never achieving remission: a report from the autologous blood and marrow transplant registry. *J Clin Oncol* 2001; 19: 406-13.
228. Verdonck LF, van Putten WLJ, Hagenbeek A, Schouten HC, Sonneveld P, van Imhoff GW, et al. Comparison of CHOP chemotherapy with autologous bone marrow transplantation for slowly responding patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1995; 332: 1045-51.
229. Martelli M, Vignetti M, Zinzani PL, Gherlinzoni F, Meloni G, Fiacchini M, et al. High-dose chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation versus dexamethasone, cisplatin, and cytarabine in aggressive non-Hodgkin's lymphoma with partial response to front-line chemotherapy: a prospective randomized italian multicenter study. *J Clin Oncol* 1996; 14: 534-42.
230. Mascret B, Maraninchi D, Gastaut JA, Tubiana N, Sebahoun G, Horschowski N, et al. Treatment of malignant lymphoma with high dose of chemo or chemoradiotherapy and bone marrow transplantation. *Eur J Cancer* 1986; 22: 461-71.
231. Appelbaum FR, Sullivan KM, Buckner CD, Clift RA, Deeg HJ, Fefer A, et al. Treatment of malignant lymphoma in 100 patients with chemotherapy, total body irradiation, and bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1987; 5: 1340-7.
232. Takvorian T, Canellos GP, Ritz J, Freedman AS, Anderson KC, Mauch P, et al. Prolonged disease-free survival after autologous bone marrow transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1987; 316: 1499-505.
233. Kessinger A, Armitage JO, Smith DM, Landmark JD, Bierman PJ, Weisenburger DD. High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for patients with lymphoma. *Blood* 1989; 74: 1260-5.
234. Freedman AS, Takvorian T, Anderson KC, Mauch P, Rabinowe SN, Blake K, et al. Autologous bone marrow transplantation in B-cell non-Hodgkin's lymphoma: very low treatment-related mortality in 100 patients in sensitive relapse. *J Clin Oncol* 1990; 8: 784-91.
235. Huijgens PC, Ossenkoppele GJ, van der Lelie J, Thomas LLM, Wijngaarden MJ, Slaper CM. IMVP-16 followed by high dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation as salvage treatment for malignant lymphoma. *Hematol Oncol* 1991; 9: 245-251.
236. Gulati S, Yahalom J, Acaba L, Reich L, Motzer R, Crown J, et al. Treatment of patients with relapsed and resistant non-Hodgkin's lymphoma using total body irradiation, etoposide, and cyclophosphamide and autologous bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1992; 10: 936-41.
237. Rapoport AP, Rowe JM, Koides PA, Duerst RA, Abboud CN, Liesveld JL, et al. One hundred autotransplants for relapsed or refractory Hodgkin's disease and lymphoma: value of pretreatment disease status for prediction outcome. *J Clin Oncol* 1993; 11: 2351-61.
238. Horning SJ, Negrin RS, Chao NJ, Long GD, Hoppe RT, Blume KG. Fractionated total-body irradiation, etoposide, and cyclophosphamide plus autografting in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2552-8.
239. Weaver CH, Petersen FB, Appelbaum FR, Bensing WI, Press O, Martin P, et al. High-dose fractionated total body irradiation, etoposide, and cyclophosphamide followed by autologous stem-cell support in patients with malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2559-66.

240. Nademane A, Sniecinski I, Schmidt GM, Dagus AC, O'Donnell MR, Snyder DS, et al. High-dose therapy followed by autologous peripheral-blood stem-cell transplantation for patients with Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma using unprimed and granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral-blood stem cells. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2176-86.
241. van Besien K, Tabocoff J, Rodríguez M, Anderson B, Mehra R, Przeriorcka D, et al. High-dose chemotherapy with BEAC regimen and autologous bone marrow transplantation for intermediate grade and immunoblastic lymphoma: durable complete remissions, but a high rate of regimen-related toxicity. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 549-55.
242. Arranz R, Sanz-Rodríguez C, Pajuelo FJ, Martínez Chamorro C, Acevedo A, Pérez G, et al. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas como tratamiento de rescate en pacientes con linfomas no hodgkinianos agresivos. *Med Clin* 2000; 114: 128-31.
243. Attal M, Canal P, Schlaifer D, Chatelud E, Dezeuze A, Huguet F, et al. Escalating dose of mitoxantrone with high-dose cyclophosphamide, carmustine, and etoposide in patients with refractory lymphoma undergoing autologous bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1994; 12: 141-8.
244. Vaughan WP, Kris JV, Vose J, Bierman PJ, Gwilt P, Armitage JO. Phase I/II study incorporating intravenous hydroxyurea into high-dose chemotherapy for patients with primary refractory or relapsed and refractory intermediate-grade and high-grade malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1089-95.
245. Verdonck LF, Dekker AW, de Gast GC, van Kemper ML, Lokhorst HM, Nieuwenhuis HK. Salvage chemotherapy with proMACE-MOPP followed by intensive chemo-radiotherapy and autologous bone marrow transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma who failed to respond to first line CHOP. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1949-54.
246. Brandwein J, Smith AM, Langley GR, Burnell M, Sutcliffe SB, Keating A. Outcome of patients with relapse or refractory non-Hodgkin's lymphoma referred for autologous bone marrow transplantation. *Leuk Lymphoma* 1991; 4: 231-8.
247. Bosly A, Coiffier B, Gisselbrecht C, Tilly H, Auzanneau G, Andrien F, et al. Bone Marrow Transplantation prolongs survival after relapse in aggressive-lymphoma patients treated with the LNH-84 regimen. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1615-23.
248. Philip T, Chauvin F, Armitage J, Bron D, Hagenbeek A, Biron P, et al. Parma International Protocol: pilot study of DHAP followed by involved-field radiotherapy and BEAC with autologous bone marrow transplantation. *Blood* 1991; 77: 1587-92.
249. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, van derLelie H, Bron DB, et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1995; 333: 1540-5.
250. Peterson BA. The role of transplantation in non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2524-6.
251. Nademane A, Schmidt GM, O'Donnell MR, Snyder DS, Parker PA, Stein A, et al. High dose chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation as consolidation therapy during first complete remission in adult patients with poor-risk aggressive lymphoma: a pilot study. *Blood* 1992; 80: 1130-4.
252. Freedman AS, Takvorian T, Neuberger D, Mauch P, Rabinowe SN, Anderson KC, et al. Autologous bone marrow transplantation in poor-prognosis intermediate-grade and high-grade B-cell non-Hodgkin's lymphoma in first remission: a pilot study. *J Clin Oncol* 1993; 11: 931-6.
253. Pettengell R, Radford JA, Morgenstern GR, Scarffe JH, Harris M, Woll PJ, et al. Survival benefit from high-dose therapy with autologous blood progenitor-cell transplantation in poor-prognosis non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1996; 14: 586-92.
254. Sweetenham JW, Proctor SJ, Blaise D, De Laurenzi A, Pearce R, Taghipour G, et al. High-dose therapy and autologous bone marrow transplantation in first complete remission for adult patients with high-grade non-Hodgkin's lymphoma: the EBMT experience. Lymphoma Working Party of the European Group for Bone Marrow Transplantation. *Ann Oncol* 1994; 5 (Supl. 2): 155-9.
255. Haioun C, Lepage E, Gisselbrecht Ch, Coiffier B, Bosly A, Tilly H, et al. Comparison of autologous bone marrow transplantation with sequential chemotherapy for intermediate and high-grade non-Hodgkin's lymphoma in first complete remission. A study of 464 patients. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2542-50.
256. Haioun C, Lepage E, Gisselbrecht C, Bastion Y, Coiffier B, Brice P, et al. Benefit of autologous bone marrow transplantation over sequential chemotherapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: updated results of the prospective study LNH87-2. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1131-7.
257. Haioun C, Lepage E, Gisselbrecht C, Salles G, Coiffier B, Brice P, et al. Survival benefit of high-dose therapy in poor-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma: final analysis of the prospective LNH87-2 protocol—a groupe d'Etude des lymphomes de l'Adulte study. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3025-30.
258. Bosly A, Haioun C, Gisselbrecht C, Reyes F, Coiffier B. High-dose treatment with autologous stem cell transplantation versus sequential chemotherapy: the GELA experience. *Eur J Haematol Suppl* 2001; (64): 3-7.
259. Santini G, Salvagno L, Leoni P, Chisesi T, De Souza C, Sertoli MR, et al. VACOP-B versus VACOP-B plus autologous bone marrow transplantation for advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma: results of a prospective randomized trial by the non-Hodgkin's lymphoma cooperative study group. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2796-802.
260. Cortellazzo S, Rossi A, Bellavita P, Oldani E, Viero P, Buelli M, et al. Clinical outcome after autologous transplantation in non-Hodgkin's lymphoma patients with high international prognostic index (IPI). *Ann Oncol* 1999; 10: 427-32.
261. Reyes F, Lepage E, Morel P, et al. Failure of first-line intensive high-dose chemotherapy (HDC) in poor-risk patients (PRP) with aggressive lymphoma: updated results of the randomized LNH93-3 study. *Blood* 1997; 90 (Supl. 1): 594a.
262. Kaiser U, Uebelacker I, Havemann K, on the behalf of the German High-grade Lymphoma Study Group. Marburg, Germany. High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation in high-grade NHL. First analysis of a randomized multicenter study. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21 (Supl. 1): s177.
263. Intragumtornchai T, Prayoonwiwat W, Numbenjapon T, Assawametha N, O'Charoen R, Swasdikul D. CHOP versus CHOP plus ESHAP and high-dose therapy with autologous peripheral blood progenitor cell transplantation for high-intermediate-risk and high-risk aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Lymphoma* 2000; 1: 219-25.
264. Vitolo U, Cortellazzo S, Liberati AM, Freilone R, Falda M, Bertini M, et al. Intensified and high-dose chemotherapy with granulocyte colony-stimulating factor and autologous stem-cell transplantation support as first-line therapy in high-risk diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1997; 15: 491-8.
265. Stoppa AM, Bouabdallah R, Chabannon C, Novakovitch G, Vey N, Camerlo J, et al. Intensive sequential chemotherapy with repeated blood stem-cell support for untreated poor-prognosis non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1722-9.
266. Gianni AM, Bregni M, Siena S, Brambilla C, Di Nicola M, Lombardi F, et al. High-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation compared with MACOP-B in aggressive B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1997; 336: 1290-7.
267. Ladetto M, Zallio F, Vallet S, Ricca I, Cuttica A, Caracciolo D, et al. Concurrent administration of high-dose chemotherapy and rituximab is a feasible and effective chemo/immunotherapy for patients with high-risk non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 2001; 15: 1941-9.
268. Mounier N, Gisselbrecht C. Conditioning regimens before transplantation in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1998; 9 (Supl. 1): s15-s21.
269. Gisselbrecht C, Bosly A, Lepage E, Reyes F, Philip T, Haioun C, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in intermediate and high grade non-Hodgkin's lymphoma: a review. *Ann Oncol* 1993; 4 (Supl. 1): 7-14.
270. Wheeler C, Strawderman M, Ayash L, Churchill WH, Bierer BE, Elias A, et al. Prognostic factors for treatment outcome in autotransplantation of intermediate-grade and high-grade non-Hodgkin's lymphoma with cyclophosphamide, carmustine, and etoposide. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1085-91.

271. Gaspard MH, Maraninchi D, Stoppa AM, Gastaut JA, Michel G, Tubiana N, et al. Intensive chemotherapy with high doses of BCNU, etoposide, cytosine arabinoside, and melphalan (BEAM) followed by autologous bone marrow transplantation: toxicity and antitumor activity in 26 patients with poor-risk malignancies. *Cancer Chemother Pharmacol* 1988; 22: 256-62.
272. Linch DC, Vaughan Hudson B, Anderson L, Vaughan Hudson G. Impact of high-dose salvage therapy (BEAM) on overall survival in younger patients with advanced large-cell lymphomas entered into BNLI trials. *Ann Oncol* 1997; 8 (Supl. 1): 63-5.
273. Liberti G, Pearce R, Taghipour G, Majolino I, Goldstone AH. Comparison of peripheral blood stem-cell and autologous bone marrow transplantation for lymphoma patients: a case-controlled analysis of the EBMT Registry data. Lymphoma Working Party of the EBMT. *Ann Oncol* 1994; 5. (Supl. 2): 151-3.
274. Schmitz N, Linch DC, Dreger P, Goldstone AH, Boogaerts MA, Ferrant A, et al. Randomised trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients. *Lancet* 1996; 347: 353-7.
275. Damiani D, Fanin R, Silvestri F, Grimaz S, Infanti L, Geromin A, et al. Randomized trial of autologous filgrastim-primed bone marrow transplantation versus filgrastim-mobilized peripheral blood stem cell transplantation in lymphoma patients. *Blood* 1997; 90: 36-42.
276. Majolino I, Pearce R, Taghipour G, Goldstone AJ. Peripheral-blood stem-cell transplantation versus autologous bone marrow transplantation in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas: a new matched-pair analysis of the European group for blood and marrow transplantation registry data. *J Clin Oncol* 1997; 15: 509-17.
277. Hartmann O, Le Corroller AG, Blaise D, Michon J, Philip I, Norol F, et al. Peripheral blood stem cell and bone marrow transplantation for solid tumors and lymphomas: hematologic recovery and costs. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1997; 126: 600-7.
278. Kessinger A. Consensus conference on high-dose therapy with hematopoietic stem cell transplantation in diffuse large-cell lymphoma. Type of cells, optimal mobilization of stem cells—positive and negative selection. *Ann Oncol* 1998; 9 (Supl. 1): s23-s30.
279. Vose JM, Sharp G, Chan WC, Nichols C, Loh K, Inwards D, et al. Autologous transplantation for aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results of a randomized trial evaluating graft source and minimal residual disease. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2344-52.
280. Petit J, Boque C, Cancelas JA, Sarra J, Muñoz J, García J, et al. Feasibility of ESHAP + G-CSF as peripheral blood hematopoietic progenitor cell mobilisation regimen in resistant and relapsed lymphoma: a single-center study of 22 patients. *Leuk Lymphoma* 1999; 34: 119-27.
281. Bierman PJ. Allogeneic bone marrow transplantation for lymphoma. *Blood Rev* 2000; 14: 1-13.
282. Ratanatharathorn V, Uberti J, Karanes C, Abella E, Lurh L, Momin F, et al. Prospective comparative trial of autologous *versus* allogeneic bone marrow transplantation for advanced malignant lymphoma. *Blood* 1994; 84: 1050-5.
283. Bierman PJ, Sweetenham J, Loberiza F, Horowitz M, Lazarus H, Van Besien K, et al. Syngenic hematopoietic stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma: comparison with allogeneic and autologous transplants suggests a role for purging. *Proc ASCO* 2001; 20: 5a (resumen 15).
284. van Besien KW, Mehra RC, Giralt SA, Kantarjian HM, Pugh WC, Khouri IF, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for poor-prognosis lymphoma: response, toxicity and survival depend on disease histology. *Am J Med* 1996; 100: 299-307.
285. Chopra R, Goldstone AH, Pearce R, Philip T, Petersen F, Appelbaum F, et al. Autologous *versus* allogeneic bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma: a case-controlled analysis of the European Bone Marrow Transplant Group data registry. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1690-5.
286. Gribben JG, Freedman AS, Neuberg D, Roy DC, Blake KW, Woo SD, et al. Immunologic purging of marrow assessed by PCR before autologous bone marrow transplantation for B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1525-33.
287. Fouillard L, Laporte JP, Labopin M, Lesage S, Isnard F, Douay L, et al. Autologous stem-cell transplantation for non-Hodgkin's lymphomas: the role of graft purging and radiotherapy posttransplantation—results of a retrospective analysis on 120 patients autografted in a single institution. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2803-16.
288. Williams CD, Goldstone AH, Pearce RM, Philip T, Hartmann O, Colombat P, et al. Purging of bone marrow in autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma: a case-matched comparison with unpurged cases by the European Blood and Marrow Transplant Lymphoma Registry. *J Clin Oncol* 1996; 14: 2454-64.
289. Bearman SI, Appelbaum FR, Back A, Petersen FB, Buckner CD, Sullivan KM, et al. Regimen-related toxicity and early posttransplant survival in patients undergoing marrow transplantation for lymphoma. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1288-94.
290. Christiansen NP, Haake RJ, Hurd DD. Early herpes zoster infection in adult patients with Hodgkin's disease undergoing autologous bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant* 1991; 7: 435-7.
291. Travis LB, Curtis RE, Glimelius B, Holoaty E, van Leeuwen CF, Lynch CF, et al. Second cancers among long term survivors of non-Hodgkin's lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1932-7.
292. Haddy TB, Adde MA, McCalla J, Domanski MJ, Datile M, Meehan SC, et al. Late effects in long-term survivors of high-grade non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2070-9.
293. Miller JS, Arthur DC, Litz CE, Negilia P, Miller WJ, Weisdorf DJ. Myelodysplastic syndrome after autologous bone marrow transplantation: an additional late complication of curative cancer chemotherapy. *Blood* 1994; 83: 3780-6.
294. Darrington DL, Vose JM, Anderson JR, Bierman PJ, Bishop MR, Chan WC, et al. Incidence and characterization of secondary myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia following high-dose chemoradiotherapy and autologous stem-cell transplantation for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2527-34.
295. Stone RM, Neuberg D, Soiffer R, Takvorian T, Whelan M, Rabinowe SN, et al. Myelodysplastic syndrome as a late complication following autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2535-42.
296. Hosing C, Munsell M, Yazji S, Andersson B, Couriel D, de Lima M, et al. Risk of therapy-related myelodysplastic syndrome/acute leukemia following high-dose therapy and autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2002; 13: 450-9.
297. Rohatiner A. Myelodysplasia and acute myelogenous leukemia after myeloablative therapy with autologous stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2521-3.
298. Stone RM. Myelodysplastic syndrome after autologous bone marrow transplantation for lymphoma: the price of progress? *Blood* 1994; 83: 3437-40.
299. Vose JM, Anderson JR, Kessinger A, Bierman PJ, Coccia P, Reed EC, et al. High-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem-cell transplantation for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1846-51.
300. Moskowitz CH, Nimer SD, Glassman JR, Portlock CS, Yahalom J, Straus DJ, et al. The International Prognostic Index predicts for outcome following autologous stem cell transplantation in patients with relapsed and primary refractory intermediate-grade lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23: 561-7.
301. Bennett CL, Armitage JL, Armitage GO, Vose JL, Bierman PJ, Armitage JO, Anderson JR. Cost of care and outcomes for high-dose therapy and autologous transplantation for lymphoid malignancies: results from the University of Nebraska 1987. *J Clin Oncol* 1995; 13: 969-73.
302. Uyl-de Groot CA, Okhuijsen SY, Hagenbeek A, Huijgens PC, van Imhoff GW, Löwenberg B, et al. Costs of introducing autologous BMT in the treatment of lymphoma and acute leukemia in The Netherlands. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 605-10.
303. Freedman AS, Nadler LM. Which patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma benefit from high-dose therapy and hematopoietic stem-cell transplantation? *J Clin Oncol* 1993; 11: 1841-3.

304. Stahel RA, Jost LM, Pichert G, Widmer L. High-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation for malignant lymphomas. *Cancer Treat Rev* 1995; 21: 3-32.
305. Laport GF, Williams SF. The role of high-dose chemotherapy in patients with Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol* 1998; 25: 503-17.
306. Mink SA, Armitage JO. High-dose therapy in lymphomas: a review of the current status of allogeneic and autologous stem cell transplantation in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *Oncologist* 2001; 6: 247-56.
307. Vose JM, Armitage JO. Bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphomas. En: Magrath IT, ed. *The Non-Hodgkin's Lymphomas* (2ª edición). Londres: Arnold, 1997. p. 723-37.
308. Stein RS. Autologous stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Advances in Oncology* 1999; 15: 11-6.
309. Philip T, Biron P. High-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation in diffuse intermediate- and high-grade non-Hodgkin lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002; 41: 213-23.
310. Hahn T, Wolff SN, Czuczman M, Fisher RI, Lazarus HM, Vose J, et al. The role of cytotoxic therapy with hematopoietic stem cell transplantation in the therapy of diffuse large cell B-cell non-Hodgkin's lymphoma: an evidence-based review. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7: 308-331 <http://mmsserver.cjp.com/gems/bbmt/7.6.Hahn.pdf>.
311. Shipp MA, Abeloff MD, Antman KH, Carroll G, Hagenbeek A, Loeffler M, et al. International consensus conference on high-dose therapy with hematopoietic stem-cell transplantation in aggressive non-Hodgkin's lymphomas: report of the jury. *Ann Oncol* 1999; 10: 13-9.
312. Vercelli M, Quaglia A, Casella C, Parodi S, Capocaccia R, Martínez García. Relative survival in elderly cancer patients in Europe. *Eur J Cancer* 1998; 34: 2264-70.
313. Sant M, Capocaccia R, Coleman MP, Berrino F, Gatta G, Micheli A, et al. Cancer survival increases in Europe, but international differences remain wide. *Eur J Cancer* 2001; 37: 1659-67.
314. Fiorentino MV. Lymphomas in the elderly. *Leukemia* 1991; 5: 79-85.
315. O'Reilly SE, Connors JM, Macpherson N, Klasa R, Hoskins P. Malignant lymphomas in the elderly. *Clin Geriatr Med* 1997; 13: 251-63.
316. Connors JM, O'Reilly SE. Treatment considerations in the elderly patient with lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 1997; 11: 949-61.
317. Gómez H, Colomer R. Tratamiento del linfoma en el anciano. *Med Clin* 1998; 110: 574-5.
318. Tirelli U, Zagonel V, Errante D, Fratino L, Monfardini S. Treatment of non-Hodgkin's lymphoma in the elderly: an update. *Hematol Oncol* 1998; 16: 1-13.
319. Coiffier B. Non-Hodgkin's Lymphoma in elderly patients. En: Canellos P, Lister TA, Sklar JL, eds. *The Lymphomas*. Filadelfia: WB Saunders, 1998. p. 543-56.
320. Greil R. Prognosis and management strategies of lymphatic neoplasias in the elderly. I. Aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Oncology* 1998; 55: 189-217.
321. Flores E, Afonso R. Linfomas de células grandes. En: Pérez Manga G (Edit.). *Oncología Geriátrica*. Madrid: Nova Sidonia Oncología, 2001. p. 254-64.
322. Danieu L, Wong G, Koziner B, Clarkson B. Predictive model for prognosis in advanced diffuse histiocytic lymphoma. *Cancer Res* 1986; 46: 5372-9.
323. Jagannath S, Velasquez WS, Tucker SL, Manning JT, McLaughlin P, Fuller LM. Stage IV diffuse large-cell lymphoma: a long-term analysis. *J Clin Oncol* 1985; 3: 39-47.
324. Dixon DO, Neilan B, Jones SE, Lipschitz AD, Miller PT, Grozea NP, et al. Effect of age on therapeutic outcome in advanced diffuse histiocytic lymphoma: the Southwest Oncology Group experience. *J Clin Oncol* 1986; 4: 295-305.
325. Solal-Celigny Ph, Chastang C, Herrera A, Desaint B, Renoux M, Gaulard Ph, et al. Age as the main prognostic factor in adult aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Med* 1987; 83: 1075-9.
326. Tirelli U. Management of malignant lymphoma in the elderly. An EORTC retrospective evaluation. *Acta Oncol* 1989; 28: 199-201.
327. Simon R, Durrleman S, Hoppe RT, Bonadonna G, Bloomfield CD, Rudders RA, et al. Prognostic factors for patients with diffuse large cell or immunoblastic Non-Hodgkin's Lymphomas: Experience of the non-Hodgkin's lymphoma pathologic classification project. *Med Pediatr Oncol* 1990; 18: 89-96.
328. Coiffier B, Gisselbrecht C, Vose JM, Tilly H, Herbrecht R, Bosly A, et al. Prognostic factors in aggressive lymphomas: description and validation of a prognostic index that could identify patients requiring a more intensive therapy. *J Clin Oncol* 1991; 9: 211-9.
329. Hoskins PJ, Ng V, Spinelli JJ, Klimo P, Connors JM. Prognostic variables in patients with diffuse large-cell lymphoma treated with MACOP-B. *J Clin Oncol* 1991; 9: 220-6.
330. Ansell SM, Falkson G, van der Merwe R, Uys A. Chronological age is a multifactorial prognostic variable in patients with Non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1992; 3: 45-50.
331. Cabanillas F, Burke JS, Smith TL, Moon TE, Butler JJ, Rodríguez V. Factors predicting for response and survival in adults with advanced non-Hodgkin's lymphoma. *Arch Intern Med* 1978; 138: 413-8.
332. Fisher RI, Hubbard SM, DeVita VT Jr, Berard CW, Wesley R, Cossman J, et al. Factors predicting long term survival in diffuse mixed, histiocytic, or undifferentiated lymphoma. *Blood* 1981; 58: 45-51.
333. Koziner B, Little C, Passe S, Thaler HT, Sklaroff R, Straus J, et al. Treatment of advanced diffuse histiocytic lymphoma: an analysis of prognostic variables. *Cancer* 1982; 49: 1571-9.
334. Armitage JO, Dick FR, Corder MP, Garneau SC, Platz CE, Slymen DJ. Predicting therapeutic outcome in patients with diffuse histiocytic lymphoma treated with cyclophosphamide, adriamycin, vincristine and prednisone (CHOP). *Cancer* 1982; 50: 1695-702.
335. Shipp MA, Harrington DP, Klatt MM, Jochelson MS, Pinkus GS, Marshall JL, et al. Identification of major prognostic subgroups of patients with large-cell lymphoma treated with m-BACOD or M-BACOD. *Ann Intern Med* 1986, 104: 757-65.
336. Vose JM, Armitage JO, Weisenburger DD, Bierman PJ, Sorensen S, Hutchins M, et al. The importance of age in survival of patients treated with chemotherapy for aggressive Non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1988; 6: 1838-44.
337. Chan WC, Armitage JO, Gascoyne R, Connors J, Close P, Jacobs P, et al. Effect of age on the characteristics and clinical behavior of non-Hodgkin's lymphoma patients. The non-Hodgkin's lymphoma classification project. *Ann Oncol* 1997; 8: 973-8.
338. Bastion Y, Blay JY, Divine M, Brice P, Bordessoule D, Sebban C, et al. Elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: disease presentation, response to treatment, and survival—a groupe d'Etude des lymphomes de l'adulte study on 453 patients older than 69 years. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2945-53.
339. Maartense E, Hermans J, Kluin-Nelemans JC, Kluin PM, Van Deijk WA, Snijder S, et al. Elderly patients with non-Hodgkin's lymphoma: population-based results in the Netherlands. *Ann Oncol* 1998; 9: 1219-27.
340. Pereira A, Montserrat E. Linfomas no hodgkinianos: interés de los factores pronósticos en las decisiones terapéuticas. *Med Clin (Barc.)* 1988; 91: 172-4.
341. Coiffier B, Shipp MA, Cabanillas F, Crowther D, Armitage JO, Canellos GP. Report of the first workshop on prognostic factors in large-cell lymphomas. *Ann Oncol* 1991; 2: 213-7.
342. Child JA. Prognostic factors in the non-Hodgkin's lymphomas. A time for consensus? *Br J Cancer* 1991; 63: 837-40.
343. Shipp M. Prognostic factors in non-Hodgkin's lymphoma. *Current Opinions in Oncology* 1992; 4: 856-62.
344. Shipp MA. Prognostic factors in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: who has "High Risk" disease? *Blood* 1994; 83: 1165-73.
345. Armitage JO, Potter JF. Aggressive chemotherapy for diffuse histiocytic lymphoma in the elderly: increased complications with advancing age. *J Am Geriatr Soc* 1984; 32: 269-73.
346. Hoerni B, Sotto JJ, Eghbali H, Sotto MF, Hoerni-Simon G, Pegourie B. Non-Hodgkin's malignant lymphomas in patients

- older than 80. 70 cases. *Cancer* 1988; 61: 2057-9.
347. Carbone A, Volpe R, Gloghini A, Trovo M, Zagonel V, Tirelli U, et al. Risk factors for treatment-related death in elderly. I. Pathologic features at presentation. *Cancer* 1990; 66: 1991-4.
 348. Coiffier B. What treatment for elderly patients with aggressive lymphoma? *Ann Oncol* 1994; 5: 873-5.
 349. Obrist R. Aggressive non-Hodgkin's lymphoma in elderly patients: Where to go from here? *Eur J Cancer* 1994; 30A: 1213-4.
 350. Gómez H, Hidalgo M, Casanova L, Colomer R, Pen DLK, Otero J, et al. Risk factors for treatment-related death in elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results of a multivariate analysis. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2065-9.
 351. Gómez H, Mas L, Casanova L, Pen DLK, Santillana S, Valdivia S, et al. Elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma treated with CHOP chemotherapy plus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: identification of two age subgroups with differing hematologic toxicity. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2352-8.
 352. Oguchi M, Izuno I, Takei K, Shikama N, Sasaki S, Gomi K, et al. Treatment for non-Hodgkin's lymphoma (stage I, II) of the elderly: usefulness of local and regional irradiation and reduced dose chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 37: 87-92.
 353. O'Connell MJ, Earle JD, Harrington DP, Johnson GJ, Glick JH. Initial chemotherapy doses for elderly patients with malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 1986; 4: 1418.
 354. Orlandi E, Lazzarino M, Brusamolino E, Castelli G, Pagnucco G, Morra E, et al. Non-Hodgkin's lymphoma in elderly: the impact of advanced age on therapeutic options and clinical results. *Haematologica* 1991; 76: 204-8.
 355. Sonneveld P, Michiels JJ. Full-dose chemotherapy in elderly patients with non-Hodgkin's lymphoma. A feasibility study using mitoxantrone-containing regimen. *Br J Cancer* 1990; 62: 105-8.
 356. Sonneveld P, Hop W, Mulder AH, et al. Full-dose chemotherapy for non-Hodgkin's lymphoma in the elderly. *Semin Hematol* 1994; 31: s9-s12.
 357. Grogan L, Corbally N, Dervan PA, Byrne A, Carney DN. Comparable prognostic factors and survival in elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma treated with standard-dose adriamycin-based regimens. *Ann Oncol* 1994; 5 (Supl. 2): 47-51.
 358. Zinzani PL, Bendandi M, Gherlinzoni F, Mazza P, Salvucci M, Aitini E, et al. VNCOP-B regimen in the treatment of high-grade non-Hodgkin's lymphoma in the elderly. *Haematologica* 1993; 78: 378-82.
 359. Zinzani PL, Storti S, Zaccaria A, Moretti L, Magagnoli M, Pavone E, et al. Elderly aggressive-histology non-Hodgkin's lymphoma: first-line VNCOP-B regimen experience on 350 patients. *Blood* 1999; 94: 33-8.
 360. Bertini M, Freilone R, Vitolo U, Botto B, Pizzuti M, Gavarotti P, et al. P-VEC: a new 8-weekly schedule with or without rG-CSF for elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Ann Oncol* 1994; 5: 895-900.
 361. Bertini M, Freilone R, Vitolo U, Botto B, Ciotti R, Cinieri S, et al. The treatment of elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphomas: feasibility and efficacy of an intensive multi-drug regimen. *Leuk Lymphoma* 1996; 22: 483-93.
 362. Guerci A, Lederlin P, Reyes F, Bordessoule D, Sebban C, Tilly H, et al. Effect of granulocyte colony-stimulating factor administration in elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma treated with a pirarubicin-combination chemotherapy regimen. *Ann Oncol* 1996; 966-9.
 363. Zinzani PL, Pavone E, Storti S, Moretti L, Fattori PP, Guardigni L, et al. Randomized trial with or without granulocyte-stimulating factor as adjunct to induction VNCOP-B treatment of elderly high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 89: 3974-9.
 364. Tirelli U, Zagonel V, Errante D. A prospective study of a new combination chemotherapy regimen in patients older than 70 years with unfavorable non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1992; 10: 228-36.
 365. Salvagno L, Contu A, Bianco A. A combination of mitoxantrone, etoposide and prednisone in elderly patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1992; 3: 833-7.
 366. O'Reilly SE, Klimo P, Connors JM. Low-dose ACOP-B and VAPE. Weekly chemotherapy for elderly patients with advanced-stage diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1991; 9: 741-7.
 367. O'Reilly SE, Connors JM, Howdle S, Hoskins P, Klasa R, Klimo P, et al. In search of an optimal regimen for elderly patients with advanced-stage diffuse large-cell lymphoma: Results of a phase II study of P/DOCE chemotherapy. *J Clin Oncol* 1993; 11: 2250-7.
 368. Bessel EM, Coutts A, Fletcher J, Toghil PJ, Moloney AJ, Ellis IO, et al. Non-Hodgkin's lymphoma in elderly patients: a phase II study of MCOP chemotherapy in patients aged 70 years of over with intermediate or high-grade histology. *Eur J Cancer* 1994; 30A: 1337-41.
 369. Young WA, Greco FA, Greer JP, Hainsworth JD. Aggressive non-Hodgkin's lymphoma in the elderly: an effective, well tolerated treatment regimen containing extended-schedule etoposide. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1356-47.
 370. Sonneveld P, De Ridder M, Van der Lelie H, Nieuwenhuis K, Schouten H, Mulder A, et al. Comparison of doxorubicin and mitoxantrone in the treatment of elderly patients with advanced diffuse non-Hodgkin's lymphoma using CHOP versus CNOP chemotherapy. *J Clin Oncol* 1995; 13: 2530-9.
 371. Bastion Y, Blay JY, Divine M, Brice P, Bordessoule D, Sebban C, et al. Elderly patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: disease presentation, response to treatment, and survival—a Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte study on 453 patients older than 69 years. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2945-53.
 372. Tirelli U, Errante D, Van Glabbeke M, Teodorovic I, Kluin-Nelemans JC, Thomas J, et al. CHOP is the standard regimen in patients 70 years of age with intermediate-grade and high-grade non-Hodgkin's lymphoma: results of a randomized study of the European organization for research and treatment of cancer lymphoma cooperative study group. *J Clin Oncol* 1998; 16: 27-34.
 373. Kouroukis CT, Browman GP, Esmail R, Meyer RM. Chemotherapy for older patients with newly diagnosed, advanced-stage, aggressive-histology non-Hodgkin lymphoma: a systematic review. *Ann Intern Med* 2002; 136: 136-43.
 374. Wetle T. Age as risk factor for inadequate treatment. *JAMA* 1987; 258: 516-7.
 375. Muss HB. Older age-not a barrier to cancer treatment. *N Engl J Med* 2001; 345: 1127-8.