

LINFOMAS NO HODGKIN FOLICULARES Y ENFERMEDAD RESIDUAL MINIMA

SALVADOR BRUNO

*Departamento de Oncohematología, Instituto de Investigaciones Hematológicas,
 Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires.*

Resumen Los linfomas foliculares constituyen el 40% de los linfomas no Hodgkin (LNH). La mayoría (85%) presentan la translocación t14:18 con expresión alterada del BCL2. La carencia de factores pronósticos clínicos de alto valor de segregación de grupos de muy mal pronóstico ha provocado la evaluación de la t14:18 para el diagnóstico de respuesta molecular. Asimismo, el sitio de rotura de la translocación está siendo activamente evaluado como factor pronóstico. Nuevas modalidades terapéuticas orientadas a modificar el BCL2 como las vacunas antiidiotípicas o los oligonucleótidos antisentido contra el BCL2 despiertan alto interés clínico.

Abstract *Follicular non-Hodgkin lymphomas and minimal residual disease.* Follicular lymphomas constitute 40% of non-Hodgkin lymphomas (NHL). Most of them (85%) present the t14:18 translocation with altered expression of BCL2. The lack of clinical prognostic factors able to separate a group of patients with poor outcome have shifted the interest to the assessment of t14:18 as a molecular marker for clinical response. Moreover, the translocation site is being studied as a prognostic variable. New therapeutic modalities aimed to affect BCL2 such as the antiidiotypic vaccines or antisense oligonucleotides against BCL2 have motivated great expectancy.

Key words: non-Hodgkin lymphoma, minimal residual disease, BCL2

Los linfomas no Hodgkin (LNH) constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias cuya incidencia ha aumentado notoriamente desde 1973. El mayor incremento ha ocurrido en el subgrupo de los linfomas extrano-dales, entre otros factores posibles, debido al avance de las técnicas de inmunomarcación y citología que ahora hacen posible el diagnóstico de LNH en procesos previamente no identificables como tales¹.

La epidemia de SIDA ha contribuido al aumento de los LNH de alto grado y en menor medida el auge de los trasplantes de órganos. Se estima que la incidencia de los LNH asociados al SIDA es de 5-10%. Los nuevos casos de LNH calculados para el año 2000 en EE.UU. son 54 900 y de estos morirán 26 100 (47%) el mismo año. La incidencia estimada de los LNH foliculares es de 17 000 nuevos casos constituyendo el 40% del total de los LNH².

El LNH folicular es una entidad plena de paradojas clínicas³, a saber:

- 1) Si bien responden repetidas veces a quimioterapia, radioterapia o terapias biológicas, también recaen repetidas veces;
- 2) La mayoría de los pacientes gozan de sobrevidas prolongadas, pero los más, mueren como consecuencia

de su enfermedad, a menudo luego de la transformación a LNH difuso a células grandes;

- 3) Muchos pacientes con enfermedad diseminada no requieren tratamiento y pueden ser manejados con sólo observación activa (*watch and wait*).

Esta bien establecida la larga sobrevida media de los LNH foliculares aunque es de notar que la mayoría de las series importantes en número de pacientes no diferencian variedades histológicas, incluyendo los foliculares propiamente dichos, junto con las variedades de linfocitos pequeños y linfoplasmocíticos.

En la era de la radioterapia, como único tratamiento disponible, la sobrevida media era de 5 años. Actualmente, la misma es de 9 a 10 años, siendo las curvas de las distintas series del mundo superimponibles.

Es de destacar que la sobrevida media es directamente proporcional al estadio siendo el estadio I, el único que actualmente puede lograr sobrevidas medias prolongadas, equivalentes a un 70% de curación, con radioterapia sola. Los demás estadios demandan otros tipos de tratamiento. También se conoce que la duración de cada subsecuente recaída es progresivamente mas breve.

La transformación a linfomas agresivos depende del número de biopsias que se realicen en cada recaída, con rango de probabilidad muy amplio, del 15 al 70%. La transformación puede ocurrir temprano en el curso de la enfermedad, o luego de varias recurrencias, o nun-

ca, y no depende del inicio temprano o tardío del tratamiento³. Una vez ocurrida la transformación histológica, el pronóstico es grave, con sobrevida media de 1 ½ año. Frecuentemente la transformación se asocia con la expresión de p53 o re-arreglos del oncogen B6^{3, 4}.

El tratamiento inicial de los linfomas foliculares varía según el país; en Inglaterra se utiliza el Clorambucil, en otros lugares de Europa la elección es la combinación CVP (ciclofosfamida, vincristina y prednisona). En EE.UU. y en nuestro país, la combinación CHOP (ciclofosfamida, hidroxidaunomicina o adriamicina, oncovin, vincristina y prednisona) es de elección, a pesar de no haberse demostrado, en estudios randomizados, su superioridad a esquemas menos intensos. En general, los resultados con los diferentes esquemas logran 50-90% de remisiones completas.

Tratamientos más intensos, combinando 7 u 8 drogas utilizadas con grupos alternados o secuenciales (ej.: Promace-MOPP: prednisona, metotrexato, adriamicina, ciclofosfamida y etoposido-mostaza nitrogenada, vincristina, procortigen, prednisona. Promace-cytobon: citarabina, bleomicina, vincristina y metotrexato; o CHOP-Bleo) no demostraron mejorar la sobrevida media global en ensayos clínicos controlados³.

Incluso la utilización de altas dosis de quimioterapia con trasplante autólogo de médula ósea o células progenitoras periféricas logran en pacientes recaídos una interesante sobrevida libre de enfermedad, de 42-55%, pero las curvas de sobrevidas medias no parecen adquirir un *plateau*, indicando la continua recaída de los pacientes^{3, 5, 6}. De todos modos, el trasplante autólogo es de considerar en el grupo de pacientes con linfomas transformados, cuyo pronóstico de por sí es grave, siendo los resultados alentadores.

El trasplante alogénico también se ha intentado y se ha observado una alta sobrevida libre de enfermedad (49-80%) pero, a expensas de una mortalidad excesiva del 20-40%⁶. Están siendo evaluadas nuevas modalidades de trasplante alogénico no mieloablativas como otra opción terapéutica en pacientes jóvenes⁷.

La utilización de interferon $\alpha 2$ recombinante en la inducción, como en el mantenimiento, no demostró ser de utilidad en la prolongación de la sobrevida, en estudios randomizados⁹.

En los últimos años, la introducción al arsenal terapéutico del nucleosido fluororado, fludarabina, renovó el interés en su uso como monodroga y en combinación con otros citostáticos como la mitoxantrona, dexametasona o ciclofosfamida. Actualmente, la fludarabina constituye una droga útil en el tratamiento de pacientes recaídos, pero no ha producido un cambio en la historia natural de la enfermedad⁹. Recientemente, el anticuerpo quimérico monoclonal anti CD20, con una porción humana y una variable murina, ha sido extensamente

evaluado^{10, 11}. En el estudio de eficacia de MacLaughling et al.¹³ se han obtenido remisiones completas en un 6% y remisiones parciales en 42% de los pacientes con una duración media de las mismas de 13.2 meses.

Resultados similares han sido confirmados en varios países. Su utilización en primera línea en pacientes con carga tumoral baja produce 77% de remisiones globales siendo 28% de éstas, completas¹².

La combinación del anti CD20 con esquemas de quimioterapia como el CHOP y otros, parecen prometedores¹⁴. Asimismo el uso de anticuerpos monoclonales adicionados con radioisótopos como el I¹³¹ o Itrium 90 (Bexxar- Zevalin) más que duplican el número de remisiones completas a expensas de una mayor toxicidad, sobre todo, hematológica¹⁵. Ambos compuestos aun esperan la aprobación de la FDA.

El uso de factores pronósticos que segreguen poblaciones con diferentes riesgos sensibles a diversos tratamientos, es un objetivo muy importante en el manejo clínico de los linfomas foliculares. El Índice Pronóstico Internacional desarrollado en 1993 para los LNH de alto grado¹⁶ demostró la utilidad de factores como la edad < o > de 60 años, la LDH normal o elevada, la aptitud física en la escala de EGOG (Grupo Cooperativo del Este) 0-1 y 2-4, el estadio localizados I - II o avanzados III y IV y los sitios extranodales 1 o > de 1, como factores pronósticos significativos que combinados constituyen grupos de riesgo según el número de factores. En los LNH agresivos la remisión completa, sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global segregan bien cuatro grupos de riesgo denominados bajo, bajo intermedio, alto intermedio y alto riesgo, con sobrevidas libre de enfermedad y global de 70 y 73% a 5 años en los de bajo riesgo comparado con cifras 40 y 28% para los de alto riesgo.

La misma agrupación se intentó en los LNH indolentes y aunque se segregan 4 grupos con riesgos diferentes, aun el grupo de alto riesgo tiene una sobrevida global en que algunos de los pacientes superan los 5 años y sólo es útil en el largo plazo de los 10 años para definir un grupo de grave pronóstico¹⁷. Además, este grupo de alto riesgo constituye sólo el 17% del total de los pacientes.

La falta de factores pronósticos clínicos altamente eficientes en la separación de grupos de riesgo y el conocimiento de que la mayoría de los LNH foliculares presentan la translocación 14:18 (t14:18) identificable por PCR, ha movido a los investigadores a su estudio como valor pronóstico. La translocación resulta en la yuxtaposición del gen BCL2 en cromosoma 18 al locus de la cadena pesada de la inmunoglobulina Ig (IgH) en el cromosoma 14. Como consecuencia se produce un aumento del ARN mensajero permitiendo su acción en la apoptosis celular¹⁸.

Las células hematopoiéticas tienen diferentes mecanismos de apoptosis conocidos (Tabla 1). El BCL2 representa uno de los principales y más estudiados mecanismos moleculares de apoptosis. El BCL2 pertenece a una familia de proteínas donde algunos de sus miembros y otras proteínas: BCL2, Bcl-XL, BCL-W, Mcl1 y A1 tienen función de protección celular a la inducción de apoptosis por estímulos diversos. Asimismo, otros miembros de la familia BCL2 como BAX, BAK y BAD promueven la muerte celular. La susceptibilidad de la célula a la apoptosis está determinada por la expresión relativa de proteínas pro y antiapoptóticas¹⁸ (Tabla 2).

La sobreexpresión del BCL2, situado en el interior de la membrana de la mitocondria inhibiría la liberación de Citocromo C mitocondrial que, a su turno, actúa sobre las APAF1 (*Apoptotic Protease Activating Factors*) promoviendo su función activadora de caspasas. El BCL2 regularía potenciales eléctricos de la membrana mitocondrial modificando su volumen e impidiendo la liberación del Citocromo C. A su vez, el BCL2 se uniría a las APAF1 para bloquear su función sobre las caspasas. Los efectos opuestos de BAX sobre la apoptosis se deberían a su acción de formación de canales iónicos de transmembrana mitocondrial de alta conductancia, facilitando la liberación de Citocromo C y la redistribución del mismo. Las caspasas también liberan Citocromo C por un mecanismo de retroregulación (*feed back*) (Fig. 1). Es interesante destacar que el BCL2 puede ser anulado

Fig. 1.- Mecanismo de apoptosis

por el mecanismo de fosforilación que afecta su dimerización necesaria para actuar. Este mecanismo inhibitorio ocurre con el alltransretinoico (ATRA) utilizado en el tratamiento de las leucemias promielocíticas pero no en linfomas¹⁹.

Las caspasas constituyen una familia de proteasas que actúan en los pasos finales de la apoptosis. Habitualmente, se expresan como proteínas inactivas o procaspasas que requieren clivarse en sitios adyacentes a residuos aspartatos para su activación. Actúan en verdadera cascada activándose una a otra, siendo los sustratos de la caspasa 3: la enzima reparadora de ADN, la ADP-ribosa polimerasa y gelsolina (forma parte del citoesqueleto). Asimismo inactiva endonucleasas que protegen la fragmentación del ADN en sitios internucleozonales de la cromatina, produciendo los cambios morfológicos observados en las células apoptóticas de rotura del ADN en forma de trozos de escalera por la fragmentación internucleosomal del mismo¹⁸ (Tabla 3).

Normalmente, el BCL2 presenta alta expresión en el organismo humano sano en linfocitos de memoria B, en linfocitos T maduros CD4+ y CD8+, en tejido neuronal, mucosa intestinal. El BCL-XL se expresa en células progenitoras de sangre periférica CD34+, pero no el BCL2, lo que permitiría el uso de oligonucleótidos anti sentido (anti BCL2) sin el riesgo de disminuir dichas células en tratamientos de altas dosis de quimioterapia con rescate de células CD34+.

La expresión alterada del BCL2 ocurre en los linfomas foliculares debido a la t14:18 en aproximadamente el 85% de los mismos y constituye un blanco interesante de evaluación de enfermedad mínima residual como factor pronóstico de respuesta molecular.

La pregunta de si t14:18 constituye el mecanismo molecular fisiopatogénico de los linfomas ha sido abordada por investigadores básicos: en ratones transgé-

TABLA 1.- *Apoptosis: mecanismos*

1	BCL2
1	IAP: inhibidores de apoptosis: codifican inhibidores de caspasas (<i>Malt linfomat</i> t11:18)
1	FAS-TNF: proteínas de receptores de transmembrana. Su dominio intracitoplasmático se inhibe al unirse a ligandos previniendo la muerte celular.
1	Perforina y granzimas A y B: opera en linfocitos T

TABLA 2.- *Antiapoptosis y proapoptosis*

Antiapoptosis

- | | |
|---|---|
| 1 | BCL2 pertenece a familia de proteínas con función de protección celular a la inducción de apoptosis por diferentes estímulos. |
| 1 | Otras familias proteicas incluyen: BCL-XL, BCL-W, MCL-1 y A ₁ |

Proapoptosis

- | | |
|---|--|
| 1 | Miembros de las familias BCL2 como BAX, BAK y BAD promueven la muerte celular. |
|---|--|

La susceptibilidad de la célula a la apoptosis está determinada por la concentración relativa de proteínas pro y antiapoptosis

TABLA 3.- Regulación de la apoptosis: caspasas

1	Caspasas
1	Familia de proteasas que median el estadio final de la apoptosis
1	Se expresan como procaspasas inactivas que se activan al clivarse en sitios adyacentes a residuos aspartatos.
1	Actúan en cascada (9 → 3-6-7)
1	Sustratos de Caspasa 3 son:
	ADP - ribosa polimerasa (repara ADN)
	Gelsolina (citoesqueleto)
1	Caspasa 3 inactiva endonucleasas que protegen fragmentación del ADN en sitios internucleosomales de la cromatina

nicos, la incorporación del BCL2 al animal produce sobreexpresión de BCL2 en los linfocitos B maduros que adquieren una vida mas prolongada, con acumulación de los mismos, pero sin demostrar rasgos neoplásicos²⁰. Ahora bien, la doble expresión de BCL2 y C-MYC, sí produce linfocitos malignos, en concordancia con la teoría del doble golpe (*two hit*) genético para la adquisición del fenotipo maligno²¹. También se conoce que la expresión forzada de BCL2 y BCL-XL en líneas leucémicas y linfomatosas confiere resistencia a drogas citostáticas²² pero en linfomas no pareciera producir resistencia completa²³, al menos, al logro de remisiones completas clínicas.

La influencia del BCL2 en el pronóstico de los pacientes ha ocupado numerosos grupos de investigadores. Freedman et al.²⁴ evaluaron los resultados a largo plazo de 153 pacientes con LNH foliculares, recaídos y tratados con trasplante autólogo de médula ósea luego de purgar el inóculo medular con múltiples anticuerpos monoclonales, la mayoría con anti B1, anti B5 y anti J5. La sobrevida media a los 8 años de los 153 pacientes fue de 64% y la sobrevida libre de enfermedad 42%. De los 48 pacientes cuya médula ósea fue negativa por PCR para el rearrreglo BCL2/IgH luego de la purga, solo 6 recayeron, mientras que de los 65 pacientes con PCR+, 49 lo hicieron (sobrevida libre de recaída 83% para PCR- y 19% para PCR+, a los 8 años ($p = 0.001$)).

Lopez Guillermo et al.²⁵ evaluaron la respuesta molecular en 194 pacientes sin tratamiento previo con linfoma folicular. El PCR se usó en la detección del rearrreglo del BCL2 en sangre periférica y médula ósea antes y después del tratamiento con varios esquemas de quimioterapia de primera línea. La proporción de respuestas moleculares fue más alta en pacientes que lograron remisión clínica completa (aproximadamente 66% del total) comparado con los que obtuvieron remisión clínica parcial (aproximadamente 33%). Los pacientes que obtuvieron respuesta molecular durante el primer

año de tratamiento lograron una sobrevida libre de recaída significativamente más larga que los que no la obtuvieron, 76% vs. 38%, $p < 0.001$, a los 4 años.

Cuando un factor pronóstico clásico (B2 microglobulina) se evaluó en conjunción con la respuesta molecular, tres grupos pronósticos emergieron: 1) B2-M baja y respuesta molecular; 2) B2-M baja y respuesta molecular negativa y 3) B2-M alta y respuesta molecular negativa. La sobrevida libre de recaída a 4 años de los 3 grupos fue de 86%, 68% y 23%, respectivamente.

Los pacientes que lograron respuesta molecular sostenida por 18 meses y B2-M normal constituyen el 50% del total (43 pacientes) y tienen un excelente pronóstico, proyectándose que más del 80% de los mismos estarán vivos y en remisión completa 5 años mas tarde. Un mayor seguimiento determinará si una proporción significativa de este grupo está curado. Por el contrario, el 15% (15 pacientes) con peor pronóstico (grupo 3) están expuestos a recaídas tempranas pero aún con sobrevida media global de > 24 meses, no definiendo claramente un grupo de pronóstico ominoso donde utilizar estrategias terapéuticas de investigación.

La evaluación de la respuesta molecular definiendo como factor pronóstico el tipo de rearrreglo del BCL2 fue llevado a cabo por el mismo grupo del MD Anderson²⁶. El rearrreglo del gen BCL2 ocurre mas frecuentemente (~ 70%) en la zona final 3' no traducida del último exon, denominada región de rotura mayor (*MBR: Major Breakpoint Region*), mientras que en el ~10% el rearrreglo se produce en un sitio a unas 30 Kb por debajo del gen BCL2 o región de agrupación menor (*mcr: minor cluster region*). En ~15% de los linfomas no se puede detectar la t14:18 por el método citogenético; *Southern blot* o PCR (configuración germinal).

La determinación del sitio de ruptura fue definido en 247 pacientes con LNH vírgenes de tratamiento. El sitio de rotura folicular ocurrió en el MBR en 175 casos (71%), en el mcr en 27 (11%) y en 45 (18%) no se detectó ningún sitio de rotura (germinal). Las respuestas clínicas completas fueron menores en los germinales que en los otros dos grupos: germinal 71%, MBR 90% y mcr: 96%, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. La sobrevida libre de recaída fue superior en los casos con ruptura de mcr y menor en los germinales. Cuando se analizaron los sitios de ruptura en relación a LDH y B2M se observaron tres subgrupos de pacientes. Los pacientes con LDH y B2M normales no mostraron diferencia estadística según el sitio de rotura, mientras que los pacientes con ambos LDH y B2M elevados, o una de las dos elevadas, mantuvieron diferencias en sobrevida libre de recaída a favor de los con mcr que tienen mejor pronóstico, siendo el peor grupo el de los germinales, sugiriendo que el sitio de rotura es un factor pronostico independiente de LDH y B2M. Como grupo, los pacientes mcr+ han demostrado tener un ex-

TABLA 4.- BCL2 - Oligonucleótidos antisentido

1	PTS con LNH folicular, BCL2 + en biopsia ganglionar, recaídos a dos líneas de Tx (incluyendo Clorambucilo y Fludarabina).
1	G 3139 OA administrado subcutáneo por dos semanas, infusión continua en abdomen con dosis escaladas (10% dosis letal ratón inicial).
1	Resultados 21 pacientes evaluables Fox: hematológica trombocitopenia es la dosis limitante 1 RC > 3 años duración 2 RP Mejoría de síntomas y valores de laboratorio

celente pronóstico. Sus variables pronosticas pretratamiento fueron mas positivas con estadios más favorables , menores niveles de B2M y remisión completa y sobrevida libre de recaída más altas. Solo 1 de 27 pacientes recayó con un seguimiento medio de 27 meses. En el otro extremo están los pacientes BCL2 germinales con bajas remisiones completas (< 70%) y mayor índice de recaída con curvas de recaídas similares a la de los linfomas agresivos: recaídas tempranas en los primeros 3 años, y luego no más eventos adversos. Una observación más prolongada es necesaria para confirmar este hecho. Finalmente los pacientes con MBR+ demostraron tener una curva de recaída típica de linfomas foliculares consistiendo en un patrón continuo de recaídas con asomo de *plateau*.

En consecuencia, el tipo de rearrreglo del BCL2 sí pareciera tener importancia biológica clínica, especialmente cuando se combina con otras variables pronósticas clásicas como la LDH y B2M.

Con los métodos de PCR disponibles se puede apreciar la desaparición del BCL2 en sangre periférica y/o médula ósea en un numero variable de casos según el tratamiento utilizado. Con esquemas de quimioterapia como el CHOP y otros, la negativización del BCL2 se logra en 37-66% de los casos, con el monoclonal quimérico anti CD20 en un 56-60% y con vacunas autólogas antiidiotipo en un 72%²⁹. Esta última modalidad está siendo activamente evaluada en pacientes y constituye un intento interesante si se demuestra en un seguimiento prolongado que la negativización del BCL2 es sinónimo de curación^{27, 28}.

Asimismo, con los oligonucleótidos antisentido dirigidos a reducir o bloquear la producción de BCL2, se ha comenzado la fase de estudios clínicos y aunque los resultados son preliminares han despertado el merecido interés científico de búsqueda de nuevas modalidades de tratamiento basadas en modificar el BCL2³⁰⁻³¹ (Tabla 4).

En conclusión, la investigación del BCL2 como factor pronóstico de enfermedad residual mínima tiene valor sólo si se analiza el sitio de ruptura cromosómica y aso-

ciado a otros factores pronósticos tradicionales. La inhibición y otra modificación del BCL2 como estrategia terapéutica es posible con las herramientas actuales de la investigación, pero faltan los resultados a largo plazo para demostrar, fehacientemente, un cambio en la historia natural de los linfomas foliculares.

Bibliografía

1. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 2000; 50: 7-33.
2. Press O. Innovative new therapies for non-Hodgkin's lymphomas: monoclonal antibodies and immunoconjugates. *Am Soc Clin Onc Educational Book*. 2000; 328-337.
3. Rohatiner A. New approaches to follicular lymphoma. *Am. Soc. Clin. Onc. Meeting. Educational book*. 2000; 465-472.
4. Capello D, Vitolo U, Pasqualucci L. Distribution and pattern of BCL-6 mutations thought the spectrum of B-cell neoplasia. *Blood*. 1999; 45, 15: 651-9.
5. Weisdorf D, Andersen J, Glick J. Survival after relapse of low-grade non-Hodgkin's lymphoma: implications for marrow transplantation. *J Clin Onc* 1992; 10: 942-7.
6. Freedman A. Bone marrow transplantation for indolent lymphoma. *Am Soc Hematol Educational Book* 1999; 298-304.
7. Giral S. Non-myeloablative stem cell transplantation: lesson from the first-generation trials. *Leukaemia and Lymphoma Updates* 1999; Vol 2, 2, 3-7.
8. Cheson B. New treatment strategies for the treatment of indolent non-Hodgkin's lymphomas. *Am Soc Hemat. Education Book* 1999; 291-8.
9. Horning S. Monoclonal antibody-based therapy for follicular lymphoma. *Am Soc Clin Onc Meeting Educational Book* 2000; 473-9.
10. Maloney D, Grillo López A, Bodkin D. Results of a phase I multiple - dose trial in patients with relapsed IDEC-C2B8: non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1997; 15: 3266-74.
11. Solal - Celigny P, Salles G, Brousse N. Rituximab as first-line treatment of patient with follicular lymphoma and a low burden tumor: clinical and molecular evaluation. *Blood* 1999; 94, (Suppl. 1), 631.
12. MacLaughlin P, Grillo-López A, Link B. Rituximab chimeric anti-CD20. Monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2825-33.
13. Czuczman M, Grillo-López A, White C. 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.
14. Witzig T, White C, Gordon L. Prospective randomized controlled study of Zevalin (IDEC-Y 2B8) radioimmunotherapy compared to rituximab immunotherapy for B cell NHL: report of interim results. *Blood* 1999; 94: (Suppl. 1), 631a
15. Shipp M, Harrington D, Anderson J. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma the international non-Hodgkin's lymphoma prognostic factors project. *N Engl J M*. 1993; 329: 987-94.
16. Lopez Guillermo A, Montserrat E, Bosch F. Applicability of the international index for aggressive lymphoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 1343-48.
17. Wickremasinghe R, Hoffbrand A. Biochemical and genetic control of apoptosis: relevance to normal hematopoiesis and hematological malignancies. *Blood* 1998; 93: 3587-600.
18. Hu Z, Minden M, Mc Culloch E. Phosphorylation of BCL-2

- after exposure of human leukemic cells to retinoic acid. *Blood* 1998; 92: 1768-75.
19. Mc Donnell T, Deane N, Platt F. BCL2 - immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation. *Cell* 1989; 57: 79.
 20. Strasser A, Harris A, Bath M. Novel primitive lymphoid tumors induced in transgenic mice by cooperation between myc and BCL2. *Nature* 1990; 348: 331.
 21. Miyashida T, Reed J. BCL2 oncoprotein blocks chemotherapy-induced apoptosis in human leukemia cell line. *Blood* 1993; 81: 151.
 22. Miyashida T, Reed J. BCL2 gene transfer increases relative resistance of 549.1 and wehi 7.2 lymphoid cells to cell death and DNA fragmentation induced by glucocorticoids and multiple chemotherapeutic drugs. *Cancer Res* 1992, 52: 5407.
 23. Freedman A, Neuberg D, Mauch P. Long term follow-up of autologous bone marrow transplantation in patients with relapsed follicular lymphoma. *Blood* 1999; 94: 3325-33.
 24. Lopez Guillermo A, Cabanillas F, Mc Laughlin P. The clinical significance of molecular response in indolent follicular lymphomas. *Blood* 1998; 91: 2955-60.
 25. Lopez Guillermo A, Cabanillas F, McLaughlin P. Correlation of BCL2 rearrangement with clinical characteristics and outcome in indolent follicular lymphoma. *Blood* 1999; 93: 3081-87.
 26. Hu F, Caspar L, Czerwinski D. Tumor-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-cell lymphoma. Long term results. *Blood* 1997; 89: 3129-35.
 27. Kwak L, Campbell M, Czerwinski D. Induction of immune responses in patients with B-cell lymphoma against the surface-immunoglobulin idiotype expressed by their tumors. *N Engl J M* 1992; 327: 1209-15.
 28. Bendandi M, Gocke C, Kobrin C. Complete molecular remissions induced by patient-special vaccination plus granulocyte-monocyte colony-stimulating factor against lymphoma. *Nature Medicine* 1999: 1171-77.
 29. Webb A, Cunningham D, Cotter F. BCL2 antisense therapy in patients with non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* 1997; 349: 1137-41.
 30. Waters J, Webb A, Cunningham D. Phase I clinical and pharmacokinetic of BCL2 antisense oligonucleotide therapy in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Onc* 2000; 18: 1812-23.
 31. Cotter F. Antisense therapy for malignancy. *Am Soc Clin Onc Meeting Educational Book* 2000; 338-48.

Jim and I hit it off immediately, partly because our interests were astonishingly similar and partly, I suspect, because a certain youthful arrogance, a ruthlessness, and an impatience with sloppy thinking came naturally to both of us. Jim was distinctly more outspoken than I was, but our thought processes were fairly similar. ... What was it like to live with the double helix? I think we realized almost immediately that we had stumbled onto something important. According to Jim, I went into the Eagle, the pub across the road where we had lunch every day, and told everyone that we'd discovered the secret of life. Of that I have no recollection, but I do recall going home and telling Odile that we seemed to have made a big discovery. Years later she told me that she hadn't believed a word of it. "You were always coming home and saying things like that", she said "so naturally I thought nothing of it"

Con Jim nos entendimos inmediatamente, en parte porque nuestros intereses eran remarcablemente similares y en parte, supongo, porque compartíamos una cierta arrogancia juvenil, un cierto atrevimiento y una impaciencia frente a los discursos desprolijos. ... ¿Cómo era vivir con la doble hélice? Creo que nos dimos cuenta casi inmediatamente que habíamos tropezado con algo bien grande. Según Jim, yo entré en el Eagle, el restaurant del otro lado de la calle donde almorzábamos todos los días, y les dije a todos que habíamos descubierto el secreto de la vida. De eso no me acuerdo, pero sí me acuerdo que al llegar a casa le dije a Odile que creía que habíamos hecho un gran descubrimiento. Años después me dijo que no me había creído. "Siempre llegabas a casa diciendo palabras similares" dijo "así que naturalmente no presté atención".

Francis Crick

What mad pursuit. A personal view of scientific discovery. New York: Basic Books, 1988, p 77