



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias Sociales y de la Salud

Estudio Farmacogenético de la Respuesta al
Anticuerpo Monoclonal Anti-CD20 (Rituximab) en el
Tratamiento de Pacientes con Linfoma Folicular

Autor:

María del Rocío Gutiérrez Cívicos

Directores:

Dr. D. Pablo Conesa Zamora

Dr. D. Ignacio Español Morales

Dr. D. Luciano Consuegra Sánchez

Murcia, Mayo de 2017



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias Sociales y de la Salud

Estudio Farmacogenético de la Respuesta al
Anticuerpo Monoclonal Anti-CD20 (Rituximab) en el
Tratamiento de Pacientes con Linfoma Folicular

Autor:

María del Rocío Gutiérrez Cívicos

Directores:

Dr. D. Pablo Conesa Zamora

Dr. D. Ignacio Español Morales

Dr. D. Luciano Consuegra Sánchez

Murcia, Mayo de 2017



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. Pablo Conesa Zamora, el Dr. D. Ignacio Español Morales y el Dr. D. Luciano Consuegra Sánchez como Directores de la Tesis Doctoral titulada “Estudio Farmacogenético de la Respuesta al Anticuerpo Monoclonal Anti-CD20 (Rituximab) en el Tratamiento de Pacientes con Linfoma Folicular” realizada por Dña. María del Rocío Gutiérrez Cívicos en el Departamento de Ciencias de la Salud, **autorizan su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento a los Reales Decretos 99/2011, 1393/2007, 56/2005 y 778/98, en Cartagena a 25 de mayo de 2017.

D. Pablo Conesa Zamora D. Ignacio Español Morales D. Luciano Consuegra Sánchez

UCAM



EIDUCAM
Escuela Internacional
de Doctorado

RESUMEN

FUNDAMENTO Y OBJETIVOS: El linfoma folicular es un Linfoma no Hodgkin (LNH) derivado de la expansión neoplásica de linfocitos B procedentes del centro germinal. Es el segundo subtipo de LNH más frecuente. Se caracteriza por ser una enfermedad de crecimiento lento que no suele manifestarse de forma precoz. A pesar del tratamiento recibido, la mayoría recaen, por lo que se le considera una enfermedad incurable a la terapia convencional.

La incorporación del rituximab, un anticuerpo monoclonal quimérico anti-CD20, como inmunoterapia en el tratamiento del linfoma folicular se ha convertido en una terapia esencial, mejorando de forma significativa la supervivencia y presentando un perfil de toxicidad aceptable. Sin embargo, todavía existen dos restos importantes, como son la falta de respuesta al tratamiento y las resistencias.

La variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos es bien conocida y plantea un problema en la medicina, asociándose tanto a factores genéticos como no genéticos. La farmacogenética estudia la variación individual de la respuesta farmacológica según la secuencia de ADN de un paciente y tiene por objetivo identificar variaciones genéticas o polimorfismos en genes relacionados con el mecanismo de acción de los fármacos que puedan influir en su eficacia y seguridad.

La apoptosis se ha establecido como uno de los mecanismos de acción del rituximab, por lo que identificar polimorfismos en genes que codifican para moléculas implicadas con la apoptosis, tales como *FAS*, *FASL*, *TRAILR1*, *TRAIL* y *TNFR1*, que puedan influir en la variabilidad de la respuesta podría ser útil en el manejo clínico de los pacientes con linfoma folicular tratados con rituximab. Por el momento, no existen estudios publicados que analicen la influencia de estos polimorfismos y la respuesta a rituximab, de ahí la importancia de investigar acerca de los mismos. El objetivo principal de este estudio es evaluar la influencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) en genes que codifican para receptores y ligandos relacionados con la apoptosis, en la respuesta al tratamiento

de inducción en primera línea con rituximab, en pacientes diagnosticados de linfoma folicular.

MATERIAL Y MÉTODOS: En el estudio se incluyeron 126 pacientes diagnosticados de linfoma folicular procedentes de las Áreas de Salud II y VI del Servicio Murciano de Salud que iniciaron tratamiento de inducción en primera línea con esquemas farmacológicos que contenían rituximab. La respuesta obtenida a mitad del tratamiento de inducción y al finalizar el mismo se evaluó mediante técnicas de imagen (TAC o PET-TAC). Los SNPs en genes que codifican para receptores y ligandos relacionados con la apoptosis estudiados fueron *TRAILR1* rs20575, *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAIL* rs12488654, *FAS* rs1800682, *FASL* rs763110 y *TNFR1* rs757455. También se evaluaron diversas variables clínicas que podían influir en la respuesta al tratamiento. El análisis estadístico realizado ha consistido en un análisis descriptivo, análisis de la asociación de las variables a estudio con la respuesta, análisis de la asociación de las variables a estudio con los polimorfismos, análisis univariante mediante regresión logística binaria no ajustada, análisis de regresión logística binaria multivariante y análisis de supervivencia.

RESULTADOS: No se ha encontrado asociación significativa entre los polimorfismos *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAIL* rs12488654 y *FAS* rs1800682 con la respuesta. Sin embargo, el genotipo AA para *TNFR1* rs757455 fue más elevado en el grupo de respondedores parciales/no respondedores [RpP/NoRp (49,2%)] que en el de respondedores (30,3%) a mitad del tratamiento, presentando una tendencia a la significación estadística ($p=0,077$). El análisis multivariante a mitad del tratamiento mostró que la evaluación mediante PET-TAC (OR=3,215, IC95% 1,020-10,137, $p=0,046$) y el genotipo AA para *TNFR1* rs757455 (OR=2,849, IC95% 1,037-7,824, $p=0,042$) fueron factores predictores positivos independientes de no respuesta completa a rituximab, en un modelo multivariado parsimonioso con una buena calibración [Chi² de 6,848 (6 grados de libertad, $p=0,335$)] y discriminación [estadístico C=0,722 (IC95% 0,615-0,828)]. Asimismo, el genotipo CC para *TRAILR1* rs20575 fue más elevado en el grupo de respondedores (27,5%) que en el de RpP/NoRp (11,8%) al final del tratamiento presentando una tendencia a la significación estadística ($p=0,064$). El genotipo CC para *FASL* rs763110 también presentó diferencias estadísticamente significativas en la distribución ($p=0,028$), siendo más frecuente en el grupo de respondedores

(34,1%) que en el de RpP/NoRp (14,3%) al final del tratamiento. En el análisis multivariante al final del tratamiento mostró que el género femenino (OR=0,370, IC95% 0,142-0,963, p=0,042) y el genotipo CC para *TRAILR1* rs20575 (OR=0,126, IC95% 0,025-0,631, p=0,012) fueron factores predictores negativos independientes de no respuesta completa a rituximab, en un modelo multivariado parsimonioso con una buena calibración [Chi² de 3,619 (7 grados de libertad, p=0,823)] y discriminación [estadístico C=0,753 (IC95% 0,660-0,847)].

CONCLUSIONES: En pacientes con linfoma folicular tratados con rituximab como fármaco incluido en esquemas de inducción en primera línea se ha podido establecer relaciones de asociación significativa entre la respuesta al tratamiento y SNPs en genes que codifican para moléculas relacionadas con la apoptosis.

PALABRAS CLAVE: Rituximab, linfoma folicular, polimorfismo, farmacogenética, apoptosis, SNP, anticuerpo monoclonal, respuesta.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Follicular lymphoma is a non-Hodgkin lymphoma (NHL) derived from a neoplastic expansion of B cells from the germinal center. It is the second most common subtype of NHL and is characterized by a slow-growing pattern that does not usually manifest itself early. Despite the treatment received, the majority relapse, and is therefore considered an incurable disease to conventional therapy.

The incorporation of rituximab, a chimeric anti-CD20 monoclonal antibody, as immunotherapy in the follicular lymphoma treatment has become an essential therapy, significantly improving survival and presenting an acceptable toxicity profile. However, there are still two important concerns, such as lack of treatment response and resistance.

The interindividual variability in the drugs response is well known and raises a problem in medicine, being associated with both genetic and non-genetic factors. The pharmacogenetic studies the individual variation of the pharmacological response according to the DNA sequence of a patient and aims to identify genetic variations or polymorphisms in genes related to the mechanism of action of drugs that may influence its efficacy and safety.

Apoptosis has been established as one of the mechanisms of action of rituximab, thus identifying polymorphisms in genes coding for molecules involved with apoptosis, such as *FAS*, *FASL*, *TRAILR1*, *TRAIL* and *TNFR1*, which may influence the variability of response, may be useful in the clinical management of follicular lymphoma patients treated with rituximab. At the moment, there are no published studies that analyze the influence of these polymorphisms and the rituximab response, hence the importance of investigating them. The main objective of this study is to evaluate the influence of single nucleotide polymorphisms (SNPs) on genes encoding apoptosis-related receptors and ligands in response to first-line induction therapy with rituximab in follicular lymphoma patients.

MATERIAL AND METHODS: The study included 126 patients diagnosed with follicular lymphoma from the Health Areas II and VI of the Murcia Health Service who started induction treatment in the first line with pharmacological regimens containing rituximab. The response obtained halfway through the induction treatment and at the end of the treatment was evaluated using imaging techniques (CT or PET-CT). The SNPs in genes coding for apoptosis-related receptors and ligands were *TRAILR1* rs20575, *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAIL* rs12488654, *FAS* rs1800682, *FASL* rs763110 and *TNFR1* rs757455. A number of clinical variables that could influence response to treatment were also evaluated. The statistical analysis consisted of a descriptive analysis, analysis of the association of study variables with the response, analysis of the association of study variables with polymorphisms, univariate analysis by non-adjusted binary logistic regression, multivariable binary logistic regression analysis and survival analysis.

RESULTS: No significant association was found between the polymorphisms *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAIL* rs12488654 and *FAS* rs1800682 with the response. However, *TNFR1* rs757455 AA genotype was more frequent in mid-treatment partial responders/non-responders [RpP/NoRp (49.2%)] than responders (30.3%), showing a trend towards a statistical significance ($p=0.077$). In the multivariate analysis at mid-treatment, PET-CT (OR=3.215, CI95% 1.020-10.137, $p = 0.046$) and *TNFR1* rs757455 AA genotype (OR=2.849, CI95% 1.037-7.824, $p=0.042$) were independent positive predictive factors of complete non-response to rituximab, in a multivariate model with good calibration [Chi² of 6.848 (6 degrees of freedom, $p=0.335$)] and discrimination [C-statistic=0.722 CI95% 0.615-0.828]. Also, *TRAILR1* rs20575 CC genotype was more abundant in responders (27.5%) than RpP/NoRp (11.8%) at the end of the treatment, this association showing a trend towards a statistical significance ($p=0.064$). *FASL* rs763110 CC genotype also had statistically significant differences in the distribution ($p = 0.028$), showing to be more frequent in responders (34.1%) than RpP/NoRp (14.3%) at the end of the treatment. In the multivariate analysis at the end of treatment, female gender (OR=0.370, CI95% 0.142-0.963, $p=0.042$) and *TRAILR1* rs20575 CC genotype (OR=0.382, CI95% 0.025-0.631, $p=0.012$) were independent negative predictors of complete non-response to rituximab, in a

multivariate model with good calibration [Chi² of 3.619 (7 degrees of freedom, p=0.823)] and discrimination [C-statistic=0.753 (CI95% 0.660-0.847)].

CONCLUSIONS: In follicular lymphoma patients treated with rituximab as a drug included in first-line induction schemes it has been possible to establish relationships of significant association between the response to treatment and SNPs in genes encoding apoptosis-related molecules thus paving the way for a tailored therapy in these patients.

KEYWORDS: Rituximab, follicular lymphoma, polymorphism, pharmacogenetics, apoptosis, SNP, monoclonal antibody, response.

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas a las que quiero expresar mi más sincero agradecimiento por haber contribuido de una forma u otra a la realización de este proyecto.

En primer lugar, quiero agradecer de manera especial a mis Directores de Tesis, Pablo, Ignacio y Luciano, por darme la oportunidad de realizar esta investigación, por todo el tiempo que han dedicado a este proyecto, por su inestimable apoyo e implicación y la confianza puesta en mí.

Al grupo de hemodonación del Hospital General Universitario Morales Meseguer, en especial a Andrés Jeréz y Ana Hurtado, por su inestimable ayuda en el reclutamiento de pacientes y en la recogida de datos, porque sin vuestra colaboración no habría sido posible llevar a cabo esta investigación.

A Loles, por su disponibilidad y tiempo dedicado en la recogida de datos, siempre de forma desinteresada y amigable.

A mis compañeros del Servicio de Farmacia del Hospital General Universitario Santa Lucía, por ayudarme a crecer tanto personal como profesionalmente.

A mis padres, Jose Carlos y Lucía, y a mi hermano, Jose Antonio, por vuestro cariño, motivación y dedicación incondicional, por apoyarme en todo lo que hago, por estar siempre a mi lado a pesar de la distancia, por recordarme cada día las cosas importantes de la vida.

A mis abuelos, espero estéis orgullosos de mí.

A mis sobrinos, Álex y Valeria, los niños de mis ojos, por regalarme cada día vuestra sonrisa.

A Víctor, por tener siempre unas palabras de ánimo y un gesto de cariño, por sacarme siempre una sonrisa cuando más lo necesito, por ser el motor de mi vida, por tantos momentos felices y por impulsarme a ser la persona que soy.

Muchas gracias a todos.

ÍNDICE GENERAL

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES	5
RESUMEN	7
ABSTRACT	11
AGRADECIMIENTOS	15
ÍNDICE GENERAL	17
SIGLAS Y ABREVIATURAS.....	23
ÍNDICE DE FIGURAS, DE TABLAS Y DE ANEXOS.....	27
I - INTRODUCCIÓN	37
1.1. LINFOMA FOLICULAR	37
1.1.1. Características generales.....	37
1.1.2. Epidemiología	38
1.1.2.1. Epidemiología del LNH	38
1.1.2.2. Epidemiología del linfoma folicular	39
1.1.3. Etiopatogenia.....	40
1.1.4. Clasificación de los linfomas	43
1.1.5. Manifestaciones clínicas.....	45
1.1.6. Diagnóstico	46
1.1.7. Sistemas de estadiaje	48
1.1.8. Clasificaciones pronósticas	49
1.1.9. Tratamiento	53
1.1.9.1. Tratamiento inicial	60
1.1.9.2. Tratamiento de mantenimiento o consolidación	66

1.1.9.3. Tratamiento de rescate en recaídas o refractariedad	67
1.1.10. Criterios de respuesta.....	69
1.2. RITUXIMAB.....	78
1.2.1. Citotoxicidad celular dependiente del complemento (CCDC).....	80
1.2.2. Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA).	81
1.2.3. Inducción de la apoptosis.	82
1.3. FARMACOGENÉTICA	84
1.3.1. Farmacogenética del rituximab.....	86
1.3.1.1. Polimorfismos relacionados con la CCDC.....	87
1.3.1.2. Polimorfismos relacionados con la CCDA.....	87
1.3.1.3. Polimorfismos relacionados con la inducción de la apoptosis.....	89
II - JUSTIFICACIÓN.....	97
III - OBJETIVOS	101
3.1. OBJETIVO PRINCIPAL	101
3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	101
IV - MATERIAL Y MÉTODO	105
4.1. DISEÑO Y ÁMBITO DEL ESTUDIO.....	105
4.2. SUJETOS DEL ESTUDIO.....	105
4.2.1. Criterios de inclusión	106
4.2.2. Criterios de exclusión.....	106
4.2.3. Aspectos éticos	106
4.3. VARIABLES DEL ESTUDIO	107
4.3.1. Recogida de datos.....	107
4.4. CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA	111
4.5. ESTUDIO FARMACOGENÉTICO	111

	19
4.5.1. Muestras.....	111
4.5.2. Extracción de ADN y cuantificación.....	112
4.5.3. Genotipado.....	112
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	114
V - RESULTADOS.....	119
5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESULTADOS.....	119
5.1.1. Características basales.....	119
5.1.2. Características del tratamiento.....	121
5.1.3. Características de la respuesta.....	125
5.2. ANÁLISIS DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO.....	127
5.2.1. Influencia de las variables del estudio en la respuesta al tratamiento de inducción en primera línea con rituximab.....	127
5.3. ESTUDIO FARMACOGENÉTICO.....	133
5.3.1. Polimorfismo rs12488654 en el gen <i>TRAIL</i>	133
5.3.1.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs12488654 en el gen <i>TRAIL</i>	133
5.3.1.2. Influencia del polimorfismo rs12488654 en el gen <i>TRAIL</i> en la respuesta al tratamiento con rituximab.....	135
5.3.2. Polimorfismo rs2230229 en el gen <i>TRAILR1</i>	136
5.3.2.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs2230229 en el gen <i>TRAILR1</i>	136
5.3.2.2. Influencia del polimorfismo rs2230229 en el gen <i>TRAILR1</i> en la respuesta al tratamiento con rituximab.....	138
5.3.3. Polimorfismo rs20575 en el gen <i>TRAILR1</i>	140
5.3.3.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs20575 en el gen <i>TRAILR1</i>	140

5.3.3.2. Influencia del polimorfismo rs20575 en el gen <i>TRAILR1</i> en la respuesta al tratamiento con rituximab	144
5.3.4. Polimorfismo rs20576 en el gen <i>TRAILR1</i>	145
5.3.4.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs20576 en el gen <i>TRAILR1</i>	145
5.3.4.2. Influencia del polimorfismo rs20576 en el gen <i>TRAILR1</i> en la respuesta al tratamiento con rituximab	147
5.3.5. Polimorfismo rs1800682 en el gen <i>FAS</i>	149
5.3.5.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs1800682 en el gen <i>FAS</i>	149
5.3.5.2. Influencia del polimorfismo rs1800682 en el gen <i>FAS</i> en la respuesta al tratamiento con rituximab	151
5.3.6. Polimorfismo rs763110 en el gen <i>FASL</i>	153
5.3.6.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs763110 en el gen <i>FASL</i>	153
5.3.6.2. Influencia del polimorfismo rs763110 en el gen <i>FASL</i> en la respuesta al tratamiento con rituximab	157
5.3.7. Polimorfismo rs767455 en el gen <i>TNFR1</i>	158
5.3.7.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs767455 en el gen <i>TNFR1</i>	158
5.3.7.2. Influencia del polimorfismo rs767455 en el gen <i>TNFR1</i> en la respuesta al tratamiento con rituximab	163
5.3.8. Estudio farmacogenético por alelos conjuntos para los SNP en <i>FAS</i> , <i>FASL</i> , <i>TRAILR1</i> , <i>TRAIL</i> y <i>TNFR1</i>	164
5.4. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA NO AJUSTADA.....	169
5.5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE.....	175
5.6. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.....	177

	21
5.6.1. Supervivencia libre de progresión.....	177
5.6.2. Supervivencia global	183
VI - DISCUSIÓN	197
6.1. LIMITACIONES	212
VII - CONCLUSIONES	217
VIII - MENCIONES.....	221
IX - REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA	237
X - ANEXOS	267

SIGLAS Y ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
APs	Artritis psoriásica
AR	Artritis reumatoide
AloTPH	Transplante alogénico con precursores hematopoyéticos
AutoTPH	Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos
Benda	Bendamustina
BNLI	<i>British National Lymphoma Investigation</i>
CCDA	Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos
CCDC	Citotoxicidad celular dependiente de complemento
CEIC	Comité Ético de Investigación Clínica
Cloramb	Clorambucilo
DD	Dominio de muerte
DE	Desviación estándar
DR	<i>Death receptor</i>
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EDTA	Ácido etildiaminotetraacético
EE	Enfermedad estable
FADD	<i>FAS-associated death domain protein</i>
FASL	<i>Fragment for apoptosis stimulation ligand</i>
Fc γ R	Receptor Fc γ
FDG	<i>Fluorodesoxiglucosa</i>
FLIPI	Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular
FLIPI 2	Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular 2
Flu	Fludarabina
FRET	<i>Fluorescence Resonance Energy Transfer</i>

GELF	<i>Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires</i>
HGUMM	Hospital General Universitario Morales Meseguer
HGUSL	Hospital General Universitario Santa Lucía
HGUSMR	Hospital Universitario Santa María del Rosell
HR	Hazard Ratio
Ibritum	Ibritumomab
IC	Intervalo de confianza
IgG	Inmunoglobulina G
ILSG	Grupo Internacional del Estudio del Linfoma
IMIB	Instituto Murciano de Investigaciones Biomédicas
IPI	Índice Pronóstico Internacional
LDCBG	Linfoma difuso de células B grandes
LDH	Lactato deshidrogenasa
LH	Linfoma de Hodgkin
LNH	Linfoma no Hodgkin
Mono	Monoterapia
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds Ratio
PAAF	Punción-aspiración con aguja fina
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PD	Farmacodinamia
PE	Progresión de la enfermedad
PET	Tomografía por emisión de positrones
PET 5PS	Escala de cinco puntos para tomografía por emisión de positrones
PK	Farmacocinética
PS	<i>Performance Status</i>
RC	Respuesta completa
RCu	Respuesta completa no confirmada

REAL	<i>Revised European-American Classification</i>
RI	Rango intercuartílico
RP	Respuesta parcial
SG	Supervivencia global
SLE	Supervivencia libre de enfermedad
SLEv	Supervivencias libres de eventos
SLP	Supervivencia libre de progresión
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
TAC	Tomografía axial computarizada
TNF	Factor de necrosis tumoral
TNFR	Receptor de factor de necrosis tumoral
TNFRSF	Superfamilia del factor de necrosis tumoral
TPH	Trasplante de progenitores hematopoyéticos
TRADD	<i>TNF receptor-associated death domain protein</i>
TRAIL	<i>Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand</i>
TTF	Tiempo hasta el fracaso del tratamiento
TTP	Tiempo hasta la progresión
UV	Ultravioleta
VHB	Virus de la Hepatitis V
VHC	Virus de la Hepatitis C
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
VNTR	<i>Variable Number of Tandem Repeats</i>
STRs	<i>Short Tandem Repeats</i>
YY1	Ying Yang 1

ÍNDICE DE FIGURAS, DE TABLAS Y DE ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Estructura y composición de un ganglio linfático	38
Figura 1.2. Estimación de las tasas de incidencia estandarizadas por edad por cada 100.000 personas y año del LNH	39
Figura 1.3. Origen celular de los linfomas de células B	41
Figura 1.4. Propuesta de un modelo del microambiente relacionado con el linfoma folicular	43
Figura 1.5. Localización y recuento de las áreas afectadas	51
Figura 1.6. Algoritmo terapéutico del tratamiento de primera línea en linfoma folicular	60
Figura 1.7. Algoritmo terapéutico del tratamiento de rescate en recaída o refractariedad en linfoma folicular	60
Figura 1.8. Mecanismos de acción del rituximab; los tres mecanismos independientes son: 1) CCDA; 2) CCDC; 3) Apoptosis. Esquema de la estructura de CD20 y rituximab	80
Figura 1.9. Vías de activación del sistema del complemento	81
Figura 1.10. Mecanismo de inmunosensibilización mediado por rituximab	83
Figura 1.11. Receptores de muerte celular y los correspondientes ligandos	90
Figura 1.12. Principales rutas activadas por receptores de la familia TNF (TNFR)	91
Figura 5.1. Análisis de desequilibrio entre los polimorfismos a estudio	166
Figura 5.2. Curva de Kaplan-Meier de la SLP relacionada con la presencia de síntomas B	181

Figura 5.3. Curva de Kaplan-Meier de la SLP relacionada con la terapia de consolidación con rituximab	181
Figura 5.4. Curva de Kaplan-Meier de la SLP relacionada con <i>TRAILR1</i> rs2230229	182
Figura 5.5. Curva de Kaplan-Meier de la SLP relacionada con <i>FASL</i> rs763110	182
Figura 5.6. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con la edad agrupada al diagnóstico	187
Figura 5.7. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con el ECOG al diagnóstico	187
Figura 5.8. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con la terapia de consolidación con rituximab	188
Figura 5.9. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas	188
Figura 5.10. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con la aparición de las recaídas (3 años post-diagnóstico)	189
Figura 5.11. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con la aparición de las recaídas (5 años post-diagnóstico)	189
Figura 5.12. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas tempranas (≤ 3 años) en pacientes no tratados con terapia de consolidación con rituximab	191
Figura 5.13. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas tempranas (≤ 3 años) en pacientes tratados con terapia de consolidación con rituximab	191
Figura 5.14. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas a los 5 años post-diagnóstico en pacientes no tratados con terapia de consolidación con rituximab	192
Figura 5.15. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas a los 5 años post-diagnóstico en pacientes tratados con terapia de consolidación con rituximab	192

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Valoración de la escala ECOG	46
Tabla 1.2. Criterios de clasificación de Ann Arbor y las modificaciones de Cotswolds ...	49
Tabla 1.3. Diferencias entre los índices pronósticos FLIPI y FLIPI 2	53
Tabla 1.4. Principales fármacos quimioterápicos utilizados en el tratamiento del linfoma folicular	55
Tabla 1.5. Principales fármacos de terapia dirigida utilizados en el tratamiento del linfoma folicular.....	57
Tabla 1.6. Esquemas de inducción en primera línea más comunes utilizados en el linfoma folicular	58
Tabla 1.7. Criterios internacionales para definir la actividad del linfoma folicular que requiere tratamiento farmacológico	59
Tabla 1.8. Criterios de respuesta de Cheson (1999)	72
Tabla 1.9. Criterios de respuesta revisados por el Grupo Internacional de Trabajo (2007)	73
Tabla 1.10. Criterios de respuesta de Lugano (2014)	74
Tabla 4.1. Variables clínicas incluidas en el estudio	110
Tabla 5.1. Características basales de la población del estudio	119
Tabla 5.2. Datos analíticos y moleculares de la población del estudio	120
Tabla 5.3. Clasificaciones pronósticas y sistemas de estadiaje de la población del estudio	121
Tabla 5.4. Esquemas de inducción en primera línea utilizados	122
Tabla 5.5. Esquemas de quimioterapia agrupados según el número de ciclos recibidos	123
Tabla 5.6. Radioterapia concomitante y rituximab de mantenimiento recibidos	124

Tabla 5.7. Prueba radiológica utilizada y evaluación de la respuesta a mitad del tratamiento de inducción de la población del estudio	125
Tabla 5.8. Esquemas de consolidación según la respuesta obtenida al final del tratamiento de inducción	126
Tabla 5.9. Respuesta obtenida al finalizar el tratamiento de consolidación con rituximab	126
Tabla 5.10. Aparición de recaídas después de completar tratamiento de consolidación con rituximab	127
Tabla 5.11. Características basales en relación con la respuesta a mitad del tratamiento	128
Tabla 5.12. Características basales en relación con la respuesta al final del tratamiento	130
Tabla 5.13. Características basales en función del polimorfismo <i>TRAIL</i> rs12488654	133
Tabla 5.14. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (<i>TRAIL</i> rs12488654)	135
Tabla 5.15. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (<i>TRAIL</i> rs12488654)	136
Tabla 5.16. Características basales en función del polimorfismo <i>TRAILR1</i> rs2230229 ...	137
Tabla 5.17. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (<i>TRAILR1</i> rs2230229)	139
Tabla 5.18. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (<i>TRAILR1</i> rs2230229)	139
Tabla 5.19. Características basales en función del polimorfismo <i>TRAILR1</i> rs20575	141
Tabla 5.20. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (<i>TRAILR1</i> rs20575)	144
Tabla 5.21. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (<i>TRAILR1</i> rs20575)	145

Tabla 5.22. Características basales en función del polimorfismo <i>TRAILR1</i> rs20576	146
Tabla 5.23. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (<i>TRAILR1</i> rs20576)	148
Tabla 5.24. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (<i>TRAILR1</i> rs20576)	148
Tabla 5.25. Características basales en función del polimorfismo <i>FAS</i> rs1800682	149
Tabla 5.26. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (<i>FAS</i> rs1800682)	151
Tabla 5.27. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (<i>FAS</i> rs1800682)	152
Tabla 5.28. Características basales en función del polimorfismo <i>FASL</i> rs763110	154
Tabla 5.29. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (<i>FASL</i> rs763110)	157
Tabla 5.30. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (<i>FASL</i> rs763110)	158
Tabla 5.31. Características basales según el polimorfismo <i>TNFR1</i> rs767455	160
Tabla 5.32. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (<i>TNFR1</i> rs767455)	163
Tabla 5.33. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (<i>TNFR1</i> rs767455)	164
Tabla 5.34. Resultados del estudio farmacogenético por alelos conjuntos al finalizar tratamiento de inducción en primera línea	167
Tabla 5.35. Regresión logística binaria no ajustada de las características clínicas y los polimorfismos genéticos para la respuesta a mitad del tratamiento	169
Tabla 5.36. Regresión logística binaria no ajustada de las características clínicas y los polimorfismos genéticos para la respuesta al final del tratamiento	172

Tabla 5.37. Modelo multivariado clínico-genético de predicción de respuesta a mitad del tratamiento	175
Tabla 5.38. Modelo multivariado clínico-genético de predicción de respuesta al final del tratamiento (Modelo 1)	176
Tabla 5.39. Modelo multivariado clínico-genético de predicción de respuesta al final del tratamiento (Modelo 2)	176
Tabla 5.40. Asociación de las características basales y terapéuticas con la SLP	177
Tabla 5.41. Asociación de los polimorfismos con la SLP	178
Tabla 5.42. Asociación de las características basales y terapéuticas con la SG	183
Tabla 5.43. Asociación de los polimorfismos con la SG	184

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado 267

I – INTRODUCCIÓN

I - INTRODUCCIÓN

1.1. LINFOMA FOLICULAR

1.1.1. Características generales

Los linfomas son un grupo heterogéneo de neoplasias del sistema linfático (bazo, timo, ganglios linfáticos y médula ósea) que se originan a partir de la proliferación de unas células conocidas como linfocitos cuya función principal es defender al organismo frente a agresiones externas (infecciones) e internas (cáncer y enfermedades autoinmunes) (1–3).

Los linfomas se pueden clasificar en dos grandes grupos: los linfomas de Hodgkin (LH) que representan alrededor del 10% de casos y se caracterizan por la presencia de un tipo de células llamado Reed-Sternberg (4), y los linfomas no Hodgkin (LNH) que abarcan el 90% de los linfomas y que tienen su origen a partir de los linfocitos B, linfocitos T y, de manera menos frecuente, de las células *Natural Killer* (NK). Aproximadamente, el 80-85% de los LNH en adultos se originan a partir de linfocitos B (5–7).

El linfoma folicular es un tipo de LNH bien caracterizado derivado de los linfocitos B maduros presentes en el centro germinal del ganglio linfático. Se le considera un tipo de linfoma indolente debido a su crecimiento lento, con frecuentes diagnósticos en estadios avanzados de la enfermedad. Es, además, el LNH indolente más frecuente (8).

En la mayoría de los pacientes con linfoma folicular, el ganglio linfático es el principal órgano donde se localizan las células neoplásicas. Estructuralmente, el ganglio linfático se organiza en tres compartimentos: la corteza (parte externa), la paracorteza y la médula (parte interna), tal y como se muestra en la **Figura 1.1**. Los folículos que contienen los centros germinales se encuentran dentro de la corteza, separados por compartimentos. Los linfocitos B, generalmente, se

encuentran en los folículos dentro de la corteza exterior, mientras que los linfocitos T están presentes principalmente en la paracorteza y la médula (9).

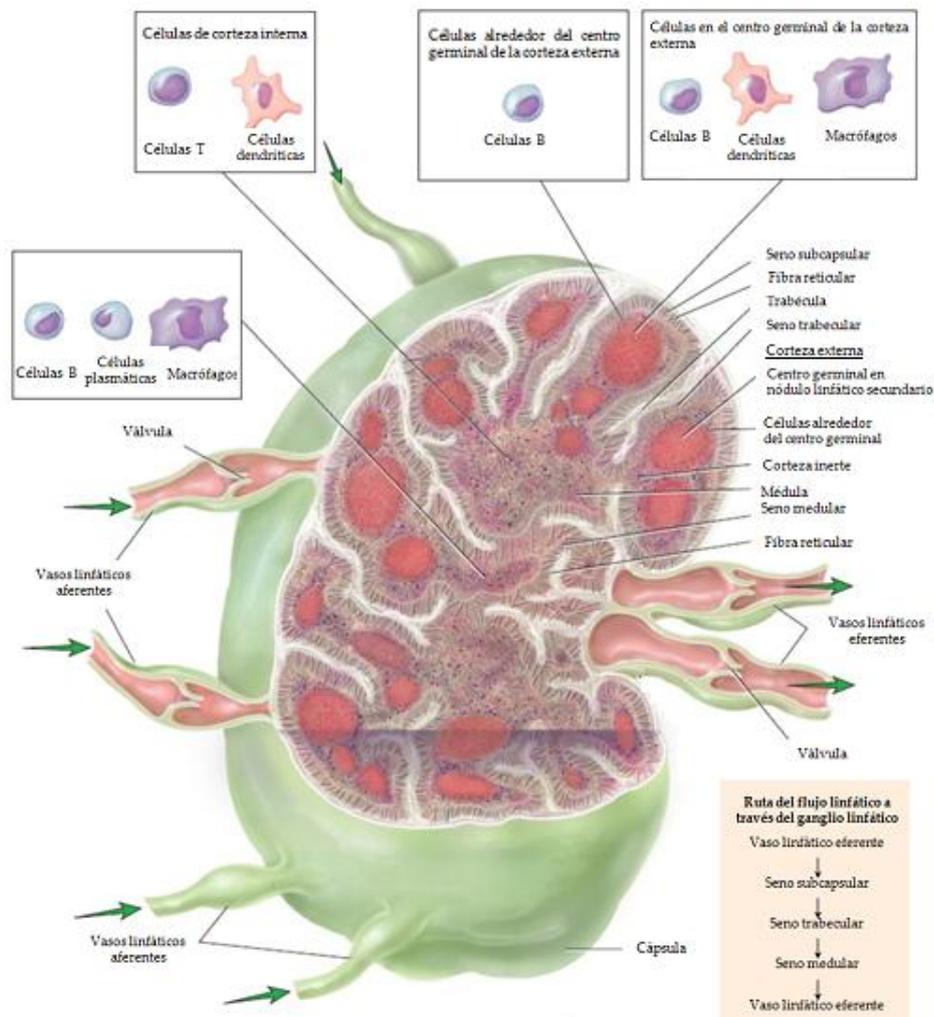


Figura 1.1. Estructura y composición de un ganglio linfático [adaptado de (10)].

1.1.2. Epidemiología

1.1.2.1. Epidemiología del LNH

LNH es la 8ª causa de diagnóstico de cáncer en hombres y la 11ª causa en mujeres. En general, la enfermedad predomina más en los hombres y representa

un 5,1% de todos los casos de neoplasia (11). La incidencia del LNH es más elevada en los países desarrollados, variable según el área geográfica y la raza, destacando Norteamérica, Europa, Oceanía, Australia y Nueva Zelanda como las áreas de mayor incidencia. Por el contrario, la tasa más baja se estima en Asia (11,12). En la **Figura 1.2** se muestran las tasas de incidencia estandarizadas por edad por cada 100.000 personas y año (2012) del LNH.

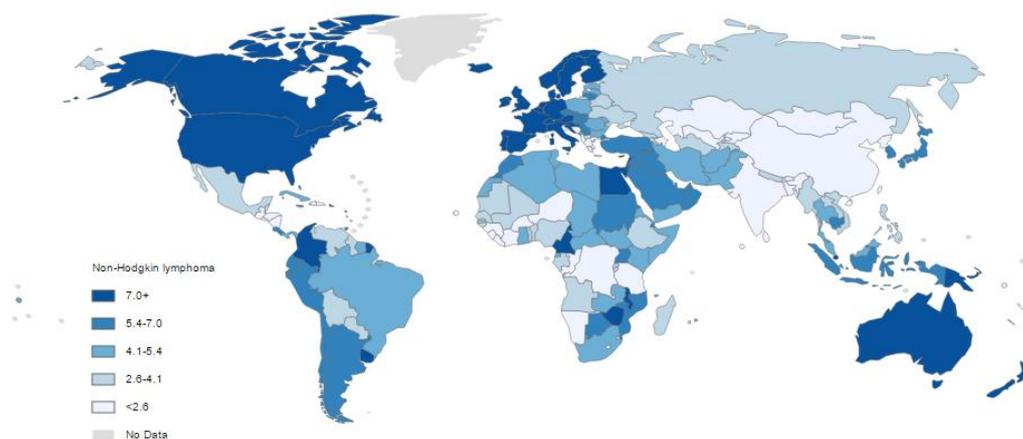


Figura 1.2. Estimación de las tasas de incidencia estandarizadas por edad por cada 100.000 personas y año (2012) del LNH (12).

En 2012, se estimaron 386.000 nuevos casos (2,7% de todos los cánceres) y 200.000 muertes (2,4% de todas las muertes por cáncer) por LNH a nivel mundial (12). En la Región de Murcia, según el Registro de Cáncer de Murcia, la tasa de incidencia de LNH ajustada a la población europea estándar aumentó de 5,2 casos por 100.000 habitantes por año en 1983 a 13,1 en 2003 en hombres y de 4,8 casos por 100.000 habitantes por año a 10,5 en mujeres (13). De igual modo, a partir del último tercio del siglo XX, las tasas de incidencia mundial de LNH aumentaron de forma continuada en todos los grupos de edad y en ambos sexos (7), lo que parece estar relacionado con la evolución de las técnicas diagnósticas (14), hasta que a finales de los años 90 este aumento tendió a estabilizarse (15).

1.1.2.2. Epidemiología del linfoma folicular

El linfoma folicular es el segundo subtipo más frecuente de LNH después del linfoma difuso de células B grandes (LDCBG) y juntos suponen más del 60%

del total de los linfomas (8). El linfoma folicular representa alrededor del 20% de los linfomas en los países occidentales (16). Se presenta con mayor frecuencia en adultos y ancianos con una mediana de edad al diagnóstico de 60-65 años y con un ligero predominio en las mujeres (17,18). La incidencia mundial no se conoce con exactitud debido a la falta de datos epidemiológicos de algunos países. La mayoría de los datos provienen de los estudios retrospectivos realizados en pacientes procedentes de Estados Unidos y Europa (19). En Estados Unidos, se ha estimado una incidencia de 3,18 casos por 100.000 habitantes por año, representando un 35% de los LNH (20), mientras que la tasa ajustada por edad en Europa según el Registro Europeo HAEMACARE es de 2,18 casos por 100.000 habitantes por año (21). En un estudio español realizado entre 1999 y 2009, se registraron 3651 neoplasias linfoides, representando el linfoma folicular el segundo subtipo más frecuente con un 18% de los diagnósticos (22).

1.1.3. Etiopatogenia

En la actualidad son muchos los factores de riesgo asociados al desarrollo del LNH y, más concretamente, del linfoma folicular, aunque se desconoce la etiología exacta. Estudios epidemiológicos evidencian la implicación de diversos agentes infecciosos, como el Virus de Epstein-Barr, *Helicobacter pylori*, Virus de la Hepatitis C (VHC) o Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), con una mayor predisposición a desarrollar diferentes subgrupos de LNH (23-25). Otros factores que pueden actuar como desencadenantes de la enfermedad son situaciones de inmunodeficiencia congénita (ataxia-telangiectasia, inmunodeficiencia grave combinada) o adquirida (síndrome de inmunodeficiencia adquirida, postrasplante de órganos y exposición a fármacos/toxinas químicas) (7,26,27).

En el linfoma folicular, se ha identificado el consumo de tabaco, principalmente en mujeres (28-31), la obesidad en adultos jóvenes (30) y la exposición a agentes químicos o tóxicos medioambientales como pesticidas, herbicidas, tintes del pelo (32,33) o disolventes industriales (34,35) como factores de riesgo que juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. El Síndrome de Sjögren ha sido la única enfermedad autoinmune asociada negativamente con el linfoma folicular, observándose un aumento del riesgo

(27,30). No obstante, algunos factores han presentado efectos opuestos relacionados con la etiología de la neoplasia. Por todo ello, se sugiere que el linfoma folicular es una enfermedad con una etiología multifactorial en la que intervienen tanto factores ambientales como genéticos (30).

Los LNH se desarrollan a partir de una alteración en la diferenciación de los linfocitos T y B, provocando la proliferación descontrolada de los mismos. Las características inmunofenotípicas de las células neoplásicas son similares a las observadas en los linfocitos normales, así se consigue diferenciar cada subtipo de neoplasia linfoide mediante la identificación de la célula que se encuentra alterada, tal y como se observa en la **Figura 1.3** (36).

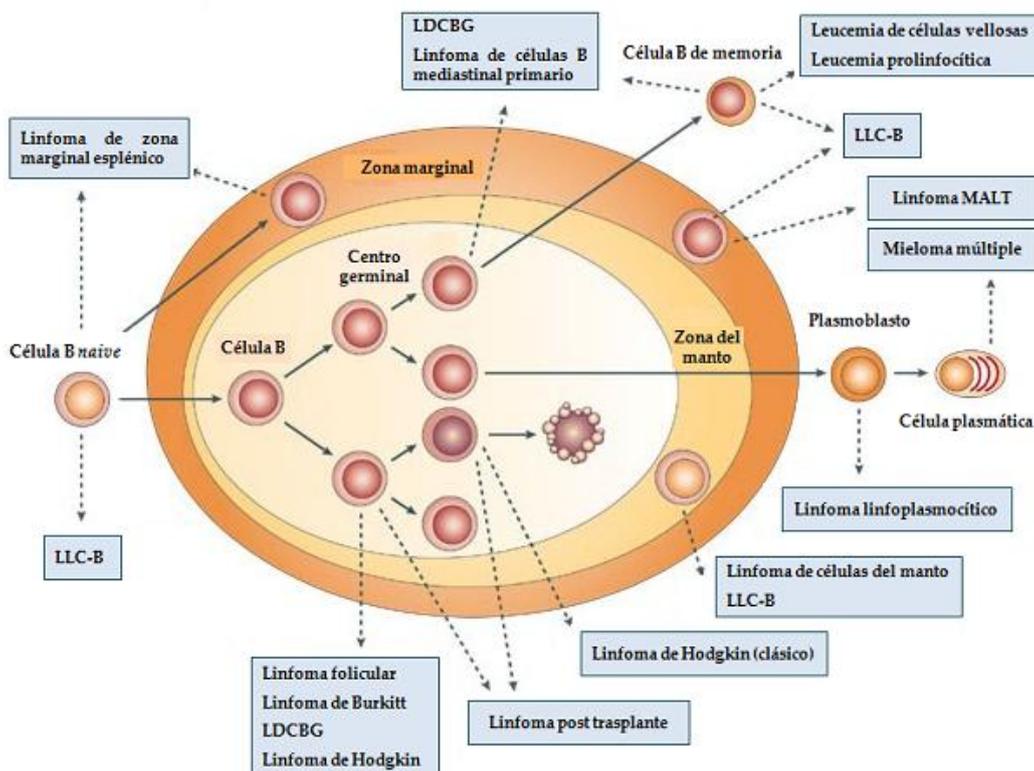


Figura 1.3. Origen celular de los linfomas de células B [adaptado de (36)].

El linfoma folicular es una entidad clinicopatológica heterogénea caracterizada por presentar un patrón infiltrativo nodular, con células de estirpe linfoide B, que imita la arquitectura del folículo secundario del ganglio linfático normal. La proliferación de los linfocitos B se origina en la zona centro-folicular

del ganglio, proporcionándole un aspecto nodular tanto de forma macroscópica como microscópica. La composición celular es similar a la que presenta normalmente el centro germinal, incluyendo un conjunto heterogéneo de células no neoplásicas tales como los linfocitos T, linfocitos B, células dendríticas foliculares y macrófagos (36,37). En la morfología de los folículos neoplásicos se pueden diferenciar dos tipos de células B neoplásicas, las células pequeñas o centrocitos y las células grandes o centroblastos, constituyentes del centro germinal reactivo (38,39).

Generalmente, el linfoma folicular está caracterizado por un inmunofenotipo uniforme. Los linfocitos B neoplásicos expresan en su superficie una serie de marcadores, como los antígenos CD19, CD20, CD22, CD79a, CD79b, CD10 y BCL6 (40), mientras que carecen de la expresión de CD5, CD23 y, en algunas ocasiones, de CD43 (41). Estos marcadores pueden actuar como dianas frente a la acción de determinadas terapias biológicas con anticuerpos monoclonales específicos como es el rituximab (42). La alteración citogenética más frecuente es la translocación cromosómica t(14;18)(q32;q21), presente en aproximadamente un 85% de los casos (43,44). Esta translocación implica el reordenamiento del proto-oncogén *BCL2* (linfoma de células B 2) en el cromosoma 18, su activación y la posterior sobreexpresión de la proteína BCL2 (45). Esta proteína es una potente molécula antiapoptótica expresada en los linfocitos B del manto peri-folicular y post-folicular con la función de promover la producción de los linfocitos B de memoria. Mientras que, en condiciones normales, los linfocitos B que entran en el centro germinal carecen de la expresión de la proteína BCL2 y, por lo tanto, son eliminados por apoptosis, en el linfoma folicular se origina una acumulación de linfocitos B con una vida media prolongada debido a la sobreexpresión de BCL2 (38). A pesar de la presencia de dicha translocación, no se considera un factor único y suficiente en la linfomagénesis (7,38,46). El desarrollo y la progresión del linfoma folicular están favorecidos por interacciones complejas entre las células B neoplásicas y el microambiente que las rodea. Las células neoplásicas pueden manipular el microambiente alterando la diferenciación de las células inmunitarias, atrayendo a las células T reguladoras o monocitos supresores o secretando citoquinas que promuevan un ambiente inmunosupresor (9,47). En la **Figura 1.4** se muestra la propuesta de un modelo del microambiente relacionado con el linfoma folicular.

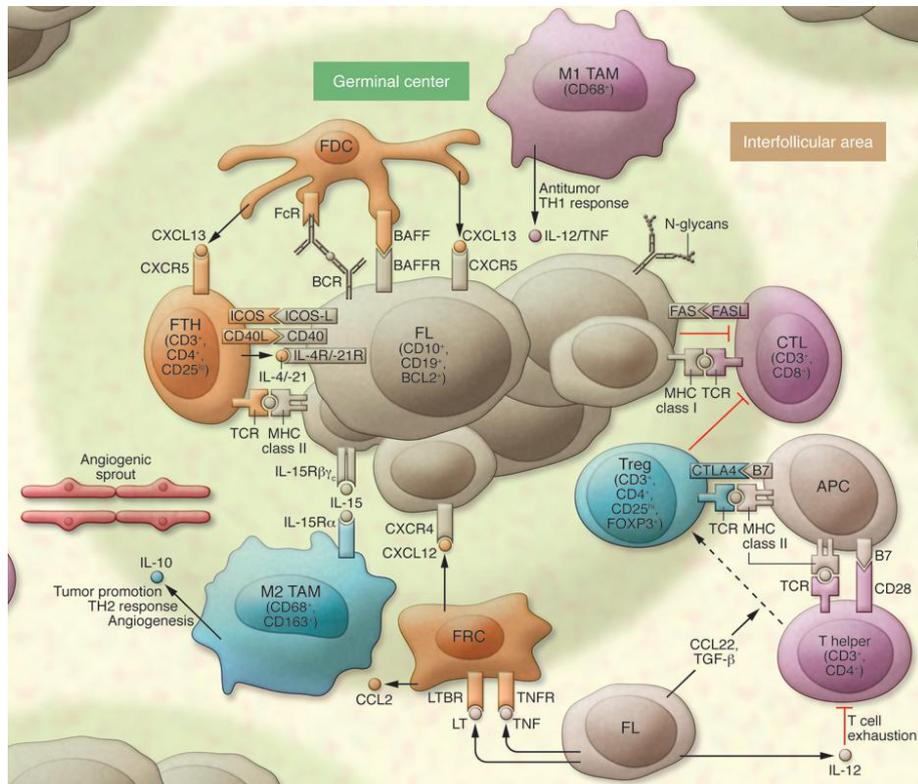


Figura 1.4. Propuesta de un modelo del microambiente relacionado con el linfoma folicular (48).

1.1.4. Clasificación de los linfomas

A lo largo de la historia, las clasificaciones de los linfomas han presentado múltiples modificaciones asociadas a un mayor conocimiento de la biología de las células linfoides y al desarrollo de nuevas tecnologías de estudio, inmunológicas, citogenéticas y moleculares, utilizando distintos sistemas de clasificación.

Los primeros sistemas de clasificación, entre los que hay que destacar la clasificación de Rappaport (1966, EEUU) (49), se basaron en características morfológicas, en la arquitectura y la citología ganglionar, lo que permitió correlacionar el tipo histológico del linfoma con el pronóstico de la enfermedad (50). Los avances en el desarrollo de la inmunología permitieron definir las características inmunofenotípicas de las distintas entidades nosológicas que compartían un perfil clínico, pronóstico y tratamiento similar, ampliando el conocimiento de las mismas. Por ello, mediante los estudios inmunológicos que

distinguían entre las estirpes linfoides B y T, surgieron las clasificaciones de Kiel (1974, Alemania) (51) y Lukes-Collins (1974, EEUU) (52).

Un Comité Internacional de Expertos elaboró en 1982 una clasificación de consenso, conocida como *Working Formulation*, con el objetivo de establecer correlaciones con las categorías previas y aportar información sobre el pronóstico, el curso clínico y la supervivencia de la enfermedad, agrupando los diferentes subtipos en tres grupos (bajo, intermedio y alto grado), útil desde el punto de vista clínico debido a las implicaciones terapéuticas asociadas con cada grupo (50).

En 1994 el Grupo Internacional del Estudio del Linfoma (ILSG) redactó la "*Revised European-American Classification*" (REAL), una nueva clasificación de las neoplasias linfoides que incorporaba la información procedente de las nuevas tecnologías de inmunohistoquímica, inmunofenotipaje y genética molecular a la presentación y curso clínico (53). La clasificación REAL ha sido la base para el desarrollo de las posteriores clasificaciones elaboradas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la primera en 2001 (54), su modificación en 2008 (8) y, recientemente, su actualización en 2016, ampliándose el abanico de entidades respecto al anterior, siendo ésta la clasificación vigente utilizada en la actualidad para tipificar los linfomas (55). Las clasificaciones de la OMS de 2008 y 2016 definen las entidades patológicas según el linaje celular y el grado de diferenciación e incorporan toda la información disponible, incluyendo los hallazgos clínicos y diagnósticos objetivos. A diferencia de las clasificaciones anteriores que se centraban en el curso clínico (indolente, agresivo, muy agresivo) o en el grado de malignidad (bajo, intermedio o alto grado), las clasificaciones de la OMS excluyen los diferentes grados de malignidad debido a que cada entidad puede estar influenciada por diversos factores pronóstico, en relación con las características morfológicas, inmunológicas, genéticas, moleculares y clínicas, que pueden hacer que se englobe en un grupo o en otro. En esta nueva actualización de 2016, se incorpora una gran información publicada en estos últimos años relacionada con las entidades existentes con importantes implicaciones diagnósticas, pronósticas y terapéuticas (55).

El linfoma folicular se ha clasificado tradicionalmente de acuerdo al número y la distribución morfológica de centroblastos presentes en el folículo neoplásico, estratificándose en tres grados histológicos (56):

- **Grado 1** con 0-5 centroblastos por campo microscópico de gran aumento.
- **Grado 2** con 6-15 centroblastos por campo microscópico de gran aumento.
- **Grado 3** con > 15 centroblastos por campo microscópico de gran aumento.

La clasificación de 2008 de la OMS engloba al linfoma folicular con menos de 15 centroblastos en una única categoría denominada como grado 1-2, sin recomendar una separación adicional, considerándolo como un linfoma de bajo grado (8). Asimismo, el grado 3 se subdivide en dos tipos, el grado 3A caracterizado por la presencia de centrocitos y el grado 3B carente de centrocitos, compuesto únicamente de centroblastos (40,56,57). Varios estudios han identificado diferencias biológicas entre los dos subgrupos 3A y 3B relacionando linfoma folicular grado 3B con el LDCBG debido a un comportamiento clínico más agresivo (58-60).

1.1.5. Manifestaciones clínicas

El comportamiento clínico de los linfomas foliculares es muy heterogéneo, dependiendo del grado histológico y de la extensión de la enfermedad (61). De manera general, se caracteriza por un curso clínico indolente donde muchos pacientes permanecen asintomáticos largos periodos de tiempo hasta el desarrollo de la enfermedad en fases más avanzadas (62).

La presentación clínica más habitual es en forma de linfadenopatías periféricas generalizadas, indoloras, de crecimiento progresivo y con diversas localizaciones a nivel de las regiones cervical, axilar, inguinal y femoral. Es frecuente que exista una historia de adenopatías fluctuantes, en la que los ganglios linfáticos aumentan y disminuyen espontáneamente de tamaño a lo largo de los años. El linfoma folicular también puede manifestarse con una serie de síntomas generales, conocidos como "*síntomas B*", que engloban la pérdida de peso superior al 10% del peso habitual, fiebre persistente no justificada superior a 38°C y sudoración nocturna. Estos síntomas aparecen en hasta un 20% de los pacientes y son indicativos de una enfermedad extendida y avanzada que implican un mal pronóstico del linfoma folicular (63-66).

Otras manifestaciones que pueden aparecer son determinados síntomas específicos relacionados con los órganos infiltrados por el linfoma, como el dolor

torácico y abdominal, el síndrome de compresión de vena cava superior, el síndrome de compresión medular, la astenia o la ascitis (63,64). Las adenopatías a nivel abdominal, pélvico o retroperitoneal pueden estar compuestas por masas voluminosas conocidas como masas “bulky” (39).

1.1.6. Diagnóstico

El diagnóstico del linfoma folicular se realiza mediante el estudio de extensión, que incluye una serie de exploraciones que permiten detectar la extensión exacta de la enfermedad a través de la anamnesis, la exploración física, las determinaciones analíticas, las pruebas radiológicas y la biopsia escisional de un ganglio linfático (67,68).

Anamnesis y exploración física. La influencia de la enfermedad sobre el estado general del paciente se valora determinando el índice del estado funcional (*Performance Status*; PS) mediante la escala ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*), la aparición de síntomas B y los antecedentes patológicos. A través de la exploración física, se comprueban todos los territorios ganglionares para detectar cualquier afectación ganglionar, así como el hígado y el bazo para identificar posibles visceromegalias (hepatomegalia y esplenomegalia, respectivamente) y otras masas tumorales o afecciones extraganglionares (68). La valoración de la escala ECOG se resume en la **Tabla 1.1**.

Tabla 1.1. Valoración de la escala ECOG (69).

Escala ECOG	
0	Asintomático. Con capacidad de realizar un trabajo y actividades normales de la vida diaria.
1	Sintomático pero con capacidad para desempeñar su trabajo y actividades cotidianas.
2	Necesidad de encamamiento < 50% al día. Realización de la mayoría de las actividades cotidianas sin ayuda.
3	Necesidad de encamamiento > 50% al día. Necesidad de ayuda para la mayoría de las actividades cotidianas.
4	Incapacidad grave. Encamamiento permanente.

Determinaciones analíticas. Las pruebas complementarias incluyen un estudio de pruebas de laboratorio con un hemograma completo y una bioquímica de la función hepática y renal, estudio inflamatorio, pruebas serológicas virales del VIH, VHC y Virus de Hepatitis B (VHB), proteinograma e inmunoelectroforesis y marcadores de masa tumoral como β 2-microglobulina y lactato deshidrogenasa (LDH) (65,68,70). En relación con los datos analíticos, existen diversos parámetros de laboratorio que pueden estar alterados al diagnóstico, entre los que se encuentra la anemia con la disminución de los niveles de hemoglobina, la elevación de los niveles de LDH y citopenias causadas por una afectación esplénica y/o de la médula ósea (63,65).

Estudio radiológico. El diagnóstico del linfoma folicular se completa con la realización de pruebas de imagen radiológicas como la radiografía simple de tórax y pruebas de medicina nuclear como la tomografía axial computarizada (TAC) cervical, torácica, abdominal y pélvica (65,68,70). La tomografía por emisión de positrones (PET)-TAC de cuerpo completo es una prueba de imagen que mejora la precisión para detectar algunas lesiones no palpables, tanto ganglionares como extraganglionares, y puede ayudar a diagnosticar la transformación de linfoma folicular a linfomas de alto grado debido a la distinta captación de contraste radiactivo que pueden presentar las lesiones malignas (67,71).

Biopsia ganglionar y aspirado de médula ósea. El estudio anatomopatológico se lleva a cabo mediante la biopsia de tejido excisional de un ganglio linfático, con el objetivo de determinar la morfología y la inmunohistoquímica de las células neoplásicas y de realizar las técnicas diagnósticas complementarias adecuadas, que permitan obtener las características inmunológicas, citogenéticas y moleculares necesarias para su correcta tipificación (71,72). Los marcadores inmunohistoquímicos más utilizados para el diagnóstico son CD20+, CD23+/-, CD10+, CD43-, BCL2+, BCL6+, CD5- y CCND1-. El estudio genético molecular ayuda a identificar el reordenamiento de *BCL2*, así como la citogenética y la fluorescencia de hibridación *in situ* identifican la translocación cromosómica t(14;18)(q32;q21), facilitando el diagnóstico (71). La infiltración de la médula ósea está presente hasta en un 60% de los pacientes con linfoma folicular. La biopsia de la médula ósea es necesaria para determinar el estadiaje del linfoma (72). El método de punción-aspiración con aguja fina (PAAF)

ganglionar se considera una técnica inadecuada para el diagnóstico inicial debido a la falta de precisión para determinar el subtipo histológico (73,74).

1.1.7. Sistemas de estadiaje

El estudio de extensión en la evaluación inicial del linfoma folicular es un procedimiento que ayuda a establecer tanto el diagnóstico como la identificación de las variables con valor pronóstico. De este modo, se han diseñado una serie de sistemas de clasificación que permiten cuantificar el pronóstico clínico del linfoma, evaluar la extensión de la enfermedad y proporcionar información para diseñar una estrategia terapéutica óptima.

El sistema de estadiaje clinicopatológico de Ann Arbor, diseñado en 1971 (75,76) y modificado en 1989 en la Conferencia de Cotswolds (77), se ha utilizado para caracterizar y agrupar los linfomas en función de la extensión de la enfermedad en el momento del diagnóstico. Este sistema se propuso inicialmente para el estadiaje de los LH pero, debido a la analogía con los LNH, también ha servido de base para su estadiaje anatómico, aunque con algunas deficiencias como la insuficiente discriminación para determinar el pronóstico de los LNH (78). Actualmente, este sistema de estadiaje de Ann Arbor sigue vigente y se continúa utilizando como sistema para determinar la extensión del linfoma folicular.

Los criterios de Ann Arbor divide a los pacientes en cuatro estadios, basándose en la enfermedad localizada, múltiples localizaciones de la enfermedad a un lado u otro del diafragma, afectación linfática a ambos lados del diafragma y afectación extraganglionar diseminada (78). En la **Tabla 1.2** se describen los criterios de clasificación de Ann Arbor y las modificaciones de Cotswolds.

Tabla 1.2. Criterios de clasificación de Ann Arbor y las modificaciones de Cotswolds [adaptado de (78)].

CLASIFICACIÓN DE ANN ARBOR	
Estadio I	Afectación de una única región o estructura linfática (p.e bazo, timo, anillo de Waldeyer)
Estadio II	Afectación de dos o más regiones o estructuras linfáticas en el mismo lado del diafragma
Estadio III	Afectación de regiones o estructuras linfáticas a ambos lados del diafragma
Estadio IV	Afectación diseminada de una o más localizaciones extralinfáticas, con o sin afectación ganglionar (exceptuando las denominadas E)

Para todos los estadios:
A: ausencia de síntomas
B: síntomas B (fiebre >38°C, sudoración nocturna, pérdida de peso (>10% del peso inicial en los 6 meses previos))

Para estadios I-III:
E: afectación de una única localización extranodal contigua o próxima a una afectación ganglionar conocida.

MODIFICACIONES DE COTSWOLDS

- Indicar con una X si existe enfermedad voluminosa (*bulky*). Se considera si existe una masa >1/3 de la anchura mediastínica o masa adenopática >10 cm de diámetro.
- Indicar el número de regiones ganglionares afectadas con un subíndice.
- El estadio III puede dividirse en III₁ (con o sin afectación de ganglios esplénicos, hiliares, celiacos o portales) y III₂ (afectación de ganglios paraórticos, iliacos o mesentéricos).
- La estadificación debe clasificarse en estadio clínico (CS) o patológico (PS).
- La afectación patológica de un órgano determinado debe indicarse mediante un subíndice: M: médula ósea; H: hígado; L: pulmón; O: hueso; P: pleura, D: piel.

1.1.8. Clasificaciones pronósticas

Debido a la falta de información pronóstica del sistema de estadiaje de Ann Arbor para los LNH, en los últimos años se han desarrollado diferentes modelos pronósticos que han permitido correlacionar diversas variables clínicas con la supervivencia de estos pacientes. Históricamente, los factores pronósticos se han ido definiendo con el objetivo de apoyar y racionalizar las decisiones clínicas. Los estudios pronósticos están diseñados para desarrollar modelos predictivos que permitan ser fácilmente reproducibles en la práctica clínica y la estratificación de los pacientes en diferentes grupos de riesgo.

Entre los factores más relevantes con un valor pronóstico establecido se puede distinguir:

a- *Factores relacionados con el paciente.* La edad avanzada es uno de los factores

adversos más importantes debido al mayor riesgo de presentar comorbilidades asociadas con una peor tolerancia y mayor toxicidad al tratamiento. El estado general y la presencia de síntomas B también influyen en el pronóstico del linfoma folicular (26).

b- *Factores relacionados con el linfoma.* Los factores pronóstico más significativos dependen de la carga tumoral y de su extensión. La extensión de la enfermedad se puede evaluar directamente mediante el sistema de clasificación de Ann Arbor o indirectamente a través de la enfermedad voluminosa y la afectación de la médula ósea (79). En general, existe un pronóstico más desfavorable cuando se presenta una gran carga tumoral, tanto por extensión (estadios III y IV) como por existencia de masas voluminosas *bulky*, y los marcadores indirectos de actividad y proliferación se encuentran alterados, tales como niveles de LDH y β 2-microglobulina séricos elevados (26).

c- *Factores relacionados con la evolución.* Se debe tener en cuenta el tipo de tratamiento recibido, la respuesta alcanzada y la duración de la misma.

Inicialmente, en 1993 se publicó el Índice Pronóstico Internacional (IPI) en base a un estudio internacional realizado a pacientes diagnosticados de linfomas de linfocitos B agresivos, convirtiéndose en el índice clínico estándar de los LNH agresivos. El IPI se cuantifica considerando como variables la edad (≥ 60 años), el estadio tumoral (estadios III-IV de la clasificación de Ann Arbor), niveles elevados de LDH, el número de áreas extraganglionares afectadas (mayor de 2 áreas) y el estado funcional o ECOG (≥ 2). Por cada presencia de uno de estos factores se asigna un punto, pudiéndose clasificar la enfermedad en cuatro grupos de riesgo (80):

- **Bajo** (0-1 factores de riesgo)
- **Intermedio bajo** (2 factores de riesgo)
- **Intermedio alto** (3 factores de riesgo)
- **Alto** (4-5 factores de riesgo).

El IPI fue probado en grupos estratificados de pacientes diagnosticados de linfoma folicular con diferentes supervivencias. Sin embargo, no ha supuesto una herramienta de pronóstico óptima para este tipo de linfomas debido a que no consideraba todas las variables relevantes en los linfomas indolentes, por lo que no discriminaba correctamente los diferentes grupos de riesgo (81). Por este

motivo, se han ido desarrollando clasificaciones pronósticas específicas para el linfoma folicular. Así, en 2004 se desarrolló una clasificación pronóstica denominada Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular (FLIPI) (82), que ha contribuido a predecir de forma más precisa el curso global de la enfermedad y elaborar un plan estratégico para cada grupo de pacientes (37).

El FLIPI incluye cinco variables pronósticas desfavorables que se relacionan con la supervivencia global (SG), siendo estas variables la edad (> 60 años), el estadio tumoral (estadios III-IV de Ann Arbor), el nivel de hemoglobina (< 12 g/dL), el nivel de LDH (mayor al límite superior de normalidad) y el número de áreas ganglionares afectadas (≥ 5 áreas), cuyas localizaciones se describen en la **Figura 1.5**. En función de la presencia de estos factores, se agrupa a los pacientes en tres grupos de riesgo con distintas probabilidades de supervivencia (82):

- **Bajo** (0-1 factores de riesgo)
- **Intermedio** (2 factores de riesgo)
- **Alto** (≥ 3 factores de riesgo).

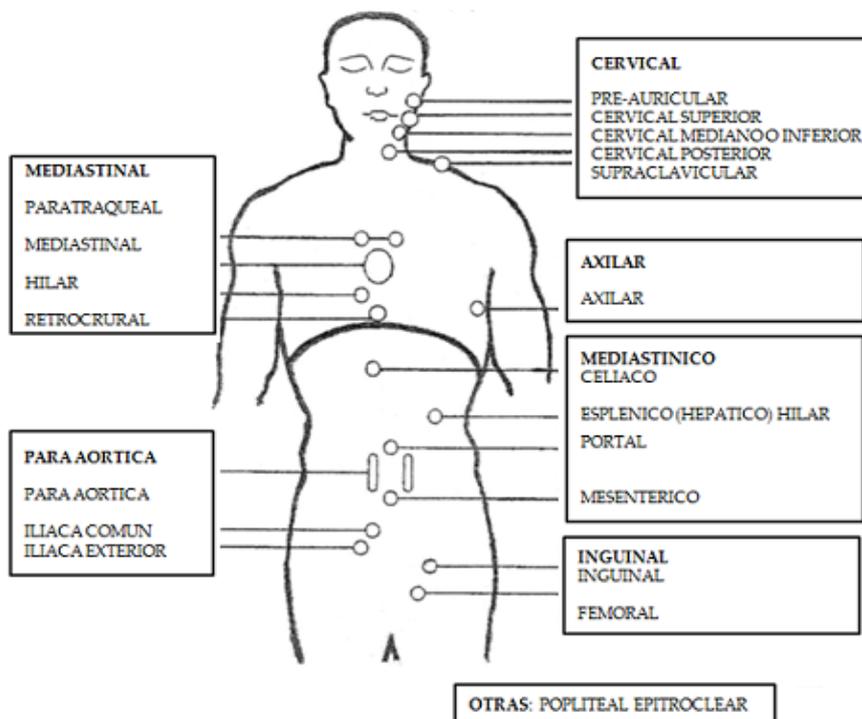


Figura 1.5. Localización y recuento de las áreas afectadas [adaptado de (82)].

A pesar de su amplia utilización, el FLIPI presenta una serie de limitaciones: fue diseñado como un estudio retrospectivo considerando la SG como objetivo principal del estudio y, en el momento del análisis, algunos parámetros clínicos y biológicos importantes, entre los que se encuentra el nivel de β 2-microglobulina, no se recogieron de forma rutinaria, por lo que no han formado parte del FLIPI (81). Estas limitaciones llevaron a crear, en 2009, un nuevo índice conocido como Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular 2 (FLIPI 2) (83) a través de un estudio prospectivo que consideraba nuevos factores pronósticos y la supervivencia libre de progresión (SLP) como objetivo final (81). El FLIPI 2 incluye cinco variables pronósticas desfavorables que se relacionan con la SLP y la SG, la edad (> 60 años), el nivel de hemoglobina (< 12 g/dL), la médula ósea infiltrada, el nivel de β 2-microglobulina (mayor al límite superior de normalidad) y la carga tumoral calculada mediante el diámetro más largo del ganglio linfático de mayor tamaño (> 6 cm). En función de la presencia de estos factores, se estratifica a los pacientes en tres grupos de riesgo con diferentes probabilidades de supervivencia (83):

- **Bajo** (ningún factor de riesgo)
- **Intermedio** (1-2 factores de riesgo)
- **Alto** (≥ 3 factores de riesgo).

De igual modo, el FLIPI 2 también tiene ciertas limitaciones. A diferencia del FLIPI, la distribución de los pacientes en cada grupos de riesgo fue menos uniforme, la población de estudio sólo la componía un 59% de los pacientes tratados con rituximab y el seguimiento fue de corta duración (38 meses) (81). Por ello, el FLIPI 2 podría utilizarse de forma complementaria al FLIPI como predictor de SLP (84).

La principal utilidad de los índices pronósticos es delimitar los grupos de pacientes de manera homogénea con diferentes tipos de supervivencia. En la **Tabla 1.3** se describen las principales diferencias entre ambos índices.

Tabla 1.3. Diferencias entre los índices pronósticos FLIPI y FLIPI 2 [adaptado de (82,83)].

FLIPI (Índice Pronóstico Internacional del Linfoma Folicular)				
Grupos de riesgo	Número de factores	Distribución de pacientes	SG a los 5 años	SG a los 10 años
Bajo	0-1	36%	91%	71%
Intermedio	2	37%	78%	51%
Alto	3-5	27%	53%	36%

FACTORES DE RIESGO

- Edad > 60 años
- Hemoglobina < 12 g/dL
- Estadio de Ann Arbor III-IV
- N° áreas extraganglionales afectadas > 4
- LDH > límite superior de normalidad

FLIPI 2 (Índice Pronóstico Internacional del Linfoma Folicular 2)						
Grupos de riesgo	Número de factores	Distribución de pacientes	SLP a los 3 años	SG a los 3 años	SLP a los 5 años	SG a los 5 años
Bajo	0	20%	91%	99%	80%	98%
Intermedio	1-2	53%	69%	96%	51%	88%
Alto	3-5	27%	51%	82%	19%	77%

FACTORES DE RIESGO

- Edad > 60 años
- Hemoglobina < 12 g/dL
- Afectación de la médula ósea Sí
- β 2-microglobulina > límite superior de normalidad
- Diámetro mayor de área ganglionar de mayor tamaño > 6 cm

LDH: Lactato deshidrogenasa; SG: Supervivencia global; SLP: Supervivencia libre de progresión.

1.1.9. Tratamiento

La selección de las distintas estrategias del tratamiento del linfoma folicular se basa fundamentalmente en el grado y estadio de la enfermedad, la carga tumoral, la presencia de síntomas clínicos, la edad del paciente y sus comorbilidades y el objetivo de la terapia (85,86).

El objetivo terapéutico será distinto en función de la afectación y el estadio en el que se ha diagnosticado. Mientras que en estadios donde la enfermedad está localizada se pretende lograr la eliminación del linfoma, en los estadios avanzados el objetivo del tratamiento es paliativo.

Entre las opciones terapéuticas que componen el tratamiento del linfoma folicular cabe distinguir la radioterapia locorregional, el tratamiento farmacológico sistémico y el trasplante de progenitores hematopoyéticos. El tratamiento farmacológico se basa principalmente en la combinación de quimioterapia e inmunoterapia. En las **Tablas 1.4 y 1.5** se describe el mecanismo de acción, la indicación y el esquema en el que se incluyen los principales fármacos antineoplásicos utilizados en el tratamiento del linfoma folicular.

Los esquemas farmacológicos de inmunoquimioterapia de inducción en primera línea, más comunes, utilizados en el linfoma folicular se resumen en la **Tabla 1.6**.

Los signos y síntomas más utilizados para iniciar tratamiento farmacológico antineoplásico se basan en una serie de criterios internacionales propuestos por el "*Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires*" (GELF) (87) y la "*British National Lymphoma Investigation*" (BNLI) (16,88) que permiten identificar a los pacientes con elevada masa tumoral o alto riesgo de los de baja masa tumoral o bajo riesgo mediante la presencia o ausencia de algunos de dichos criterios, respectivamente. Los criterios GELF y BNLI para definir la actividad se resumen en la **Tabla 1.7**.

Tabla 1.4. Principales fármacos quimioterápicos utilizados en el tratamiento del linfoma folicular.

QUIMIOTERAPIA			
Principio activo	Mecanismo de acción	Indicación	Esquema
ANTRACICLINAS			
Doxorubicina (89)	Inhibe la topoisomerasa II, se intercala con las polimerasas de ARN y ADN y forma especies reactivas de oxígeno como radicales libres hidroxilos, ejerciendo un efecto perjudicial en la síntesis de ADN, efecto alquilante y peroxidación lipídica. Se une a membranas celulares.	Linfomas malignos, tipo enfermedad de Hodgkin y linfomas no Hodgkin en fases avanzadas (como agente único o en terapia combinada).	R-CHOP±R R-COP±R
Mitoxantrona (90)	Inhibe la topoisomerasa II, se intercala entre las bases de ADN y ARN inhibiendo su síntesis y provoca la formación de enlaces cruzados dando lugar a la ruptura de las cadenas de ADN. Tiene efecto citocida.	LNH	R-CNOP R-FMD
AGENTES ALQUILANTES			
Bendamustina (91)	Entrecruzamiento de las cadenas del ADN por alquilación. No presenta resistencia cruzada con otros agentes alquilantes, antraciclinas, ni rituximab.	Monoterapia en linfomas indolentes no Hodgkin que hayan progresado durante o en los 6 meses siguientes a un tratamiento con rituximab o un régimen que contenga rituximab.	R-Benda
Ciclofosfamida (92)	Profármaco que se activa vía citocromo P-450. Actúa como agente alquilante inhibiendo la síntesis de ADN, ARN y proteínas.	LNH	R-CHOP±R R-COP±R R-CNOP R-FC R-FCM
Clorambucilo (92)	Crea puentes de unión estables entre las dos cadenas de ADN que impiden la separación de cadenas necesarias para su síntesis.	LNH de bajo grado	R-Cloramb

Tabla 1.4. Principales fármacos quimioterápicos utilizados en el tratamiento del linfoma folicular.

QUIMIOTERAPIA			
Principio activo	Mecanismo de acción	Indicación	Esquema
ALCALOIDES DE LA VINCA			
Vincristina (93)	Afecta a la mitosis celular por la unión o cristalización de proteínas microtubulares provocando la detección de la división celular durante la metafase y la muerte celular. Inhibición de la síntesis proteica y de ácidos nucleicos, a altas dosis.	Linfomas malignos, incluyendo: enfermedad de Hodgkin, LNH (tipos linfocítico, de células mixtas, histiocíticos, no diferenciado, nodular y difuso).	R-CHOP±R R-COP±R R-CNOP
ANTIMETABOLITOS			
Fludarabina (94)	Análogo 5 monofosfato de citarabina. Es desfosforilada en el plasma y transportada al interior celular, donde se refosforila a su metabolito activo. Ejerce su actividad sobre células en división y quiescentes mediante la inhibición de la ribonucleótido reductasa.	LNH (indicación no autorizada en España).	R-FC R-FCM R-FMD
OTROS AGENTES ANTINEOPLÁSICOS			
Idelalisib (95)	Inhibe la fosfatidilinositol 3-quinasa p110δ (PI3Kδ). Es un inhibidor selectivo de la unión del adenosina-5'-trifosfato al dominio catalítico de PI3Kδ, lo que genera una inhibición de la fosforilación del fosfatidilinositol, un segundo mensajero lipídico clave, y la prevención de la fosforilación de Akt (proteína quinasa B). Inhibe la apoptosis y la señalización a través de receptores de quimiocinas CXCR4 y CXCR5 inducida por las quimiocinas CXCL12 y CXCL13	Monoterapia en linfoma folicular refractario a dos líneas de tratamiento anteriores (al menos a rituximab y agentes alquilantes)	-
<p><i>ADN: Ácido desoxirribonucleico; ARN: Ácido ribonucleico; Benda: Bendamustina; C: Ciclofosfamida; Cloramb: Clorambucilo; D: Dexametasona; F: Fludarabina; H: Doxorubicina; LNH: Linfoma no Hodgkin; N: Mitoxantrona; O: Vincristina; P: Prednisona; R: Rituximab.</i></p>			

Tabla 1.5. Principales fármacos de terapia dirigida utilizados en el tratamiento del linfoma folicular.

INMUNOTERAPIA			
Principio activo	Mecanismo de acción	Indicación	Esquema
ANTINEOPLÁSICOS, ANTICUERPOS MONOCLONALES			
Rituximab (96)	Ac monoclonal quimérico IgG1 que actúa específicamente frente al antígeno CD20 expresado en los linfocitos pre-B y B maduros. Induce la lisis celular mediada por la CDC, la CCDA y por apoptosis.	En combinación con quimioterapia en LNH folicular estadios III-IV no tratados previamente. En tratamiento de mantenimiento del LNH folicular que hayan respondido al tratamiento de inducción. En monoterapia en LNH folicular estadios III-IV quimiorresistente o está en segunda o posterior recidiva tras la quimioterapia.	R-CHOP±R R-COP±R R-CNOP R-FC R-FCM R-FMD R-Benda R-Cloramb R mono
Obinutuzumab (medicamento huérfano) (97)	Ac monoclonal humanizado IgG1 que actúa específicamente frente al antígeno CD20 expresado en los linfocitos pre-B y B maduros. Induce la muerte celular directa y la CCDA y ADCP mediante el reclutamiento de células efectoras inmunes FcRIII positivas.	En combinación con bendamustina en el linfoma folicular que no ha respondido o ha progresado durante o hasta 6 meses después del tratamiento con rituximab o con un régimen con rituximab.	Ob-benda
RADIOFÁRMACO			
Ibritumomab tiuxetan (98)	Ac monoclonal murino IgG1 marcado con el isótopo ⁹⁰ Y se une específicamente al antígeno CD20 expresado en linfocitos B y libera radiación, produciendo su depleción.	Tratamiento de consolidación tras inducción de la remisión en linfoma folicular no tratados anteriormente. Tratamiento del LNH folicular de células B CD20+ en recaída o refractario a rituximab.	R- Ibritum
<p><i>Ac: Anticuerpo; ADCP: Fagocitosis celular dependiente de anticuerpos; Benda: Bendamustina; C: Ciclofosfamida; CCDA: Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos; CDC: Citotoxicidad dependiente de complemento; Cloramb: Clorambucilo; D: Dexametasona; F: Fludarabina; IgG: Inmunoglobulina G; H: Doxorubicina; Ibritum: ibritumomab; LNH: Linfoma no Hodgkin; Mono: Monoterapia; N: Mitoxantrona; O: Vincristina; Ob: Obinutuzumab; P: Prednisona; R: Rituximab</i></p>			

Tabla 1.6. Esquemas de inducción en primera línea más comunes utilizados en el linfoma folicular (99,100).

Esquema	Fármaco	Dosis	Días ciclo	Nº de ciclos	Frecuencia
R-COP	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	6-8	21 días
	Ciclofosfamida	750 mg/m ² iv	1		
	Vincristina	1,4 mg/m ² iv	1		
	Prednisona	60 mg oral	1-5		
R-COP+R	Ídem R-COP	-	-	6+2	21 días
	Rituximab	375 mg/m ² iv	1		
R-CHOP	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	6-8	21 días
	Ciclofosfamida	750 mg/m ² iv	1		
	Doxorubicina	50 mg/m ² iv	1		
	Vincristina	1,4 mg/m ² iv	1		
	Prednisona	60 mg oral	1-5		
R-CHOP+R	Ídem R-CHOP	-	-	6+2	21 días
	Rituximab	375 mg/m ² iv	1		
R-CNOP	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	6	21 días
	Ciclofosfamida	750 mg/m ² iv	1		
	Mitoxantrona	10 mg/m ² iv	1		
	Vincristina	1,4 mg/m ² iv	1		
	Prednisona	60 mg oral	1-5		
R-FC	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	6	28 días
	Fludarabina	25 mg/m ² iv	1-3		
	Ciclofosfamida	750 mg/m ² iv	1-3		
R-FCM	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	6	28 días
	Fludarabina	25 mg/m ² iv	1-3		
	Ciclofosfamida	200 mg/m ² iv	1-3		
	Mitoxantrona	6 mg/m ² iv	1		
R-FMD	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	6	28 días
	Fludarabina	25 mg/m ² iv	2-4		
	Mitoxantrona	10 mg/m ² iv	2-4		
	Dexametasona	20 mg oral (Dt)	1-5		
R-Benda	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	6	28 días
	Bendamustina	90 mg/m ² iv	1-2		
R-Cloramb	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	6	28 días
	Clorambucilo	10 mg oral	1-7		
R mono	Rituximab	375 mg/m ² iv	1	4	7 días

Benda: Bendamustina; C: Ciclofosfamida; Cloramb: Clorambucilo; D: Dexametasona; Dt: Dosis total; F: Fludarabina; H: Doxorubicina; Mono: Monoterapia; N: Mitoxantrona; O: Vincristina; P: Prednisona; R: Rituximab; Dosis de administración máxima de vincristina de 2 mg.

Tabla 1.7. Criterios internacionales para definir la actividad del linfoma folicular que requiere tratamiento farmacológico [adaptado de (16)].

a. CRITERIOS GELF
<ul style="list-style-type: none"> - Elevada carga tumoral definida como uno de los siguientes criterios: <ul style="list-style-type: none"> - ≥ 3 regiones ganglionares afectadas, con un diámetro ≥ 3 cm - Diámetro de masa tumoral ≥ 7 cm - Esplenomegalia sintomática - Citopenias (leucocitos $<1,0 \times 10^9/L$ o plaquetas $<100 \times 10^9/L$) - Células malignas circulantes en sangre periférica ($>5,0 \times 10^9/L$) - Ascitis o derrame pleural - Síntomas B. - LDH o $\beta 2$-microglobulina elevada. - ECOG ≥ 1.

b. CRITERIOS BNLI
<ul style="list-style-type: none"> - Progresión de la enfermedad en menos de 3 meses desde el diagnóstico. - Afectación de órganos vitales. - Afectación renal o hepática. - Lesiones óseas. - Síntomas B o prurito. - Citopenias (hemoglobina < 10 g/dL o leucocitos $< 1,0 \times 10^9/L$ o plaquetas $< 100 \times 10^9/L$).

La presencia de enfermedad voluminosa, así como la elevación de los niveles de LDH o $\beta 2$ -microglobulina, son características propias que pueden requerir el inicio del tratamiento, incluso en ausencia de otros síntomas descritos anteriormente (16).

En la **Figura 1.6** se muestra el algoritmo terapéutico del tratamiento de primera línea en el linfoma folicular avanzado, en función de los síntomas y la carga tumoral. El algoritmo diferencia cuatro situaciones con las estrategias de manejo sugeridas: a) asintomática, baja carga tumoral; b) asintomática, alta carga tumoral; c) sintomática, baja carga tumoral; d) sintomática, alta carga tumoral (86). En la **Figura 1.7** se muestra el algoritmo terapéutico del tratamiento de rescate en recaída o refractariedad en el linfoma folicular.

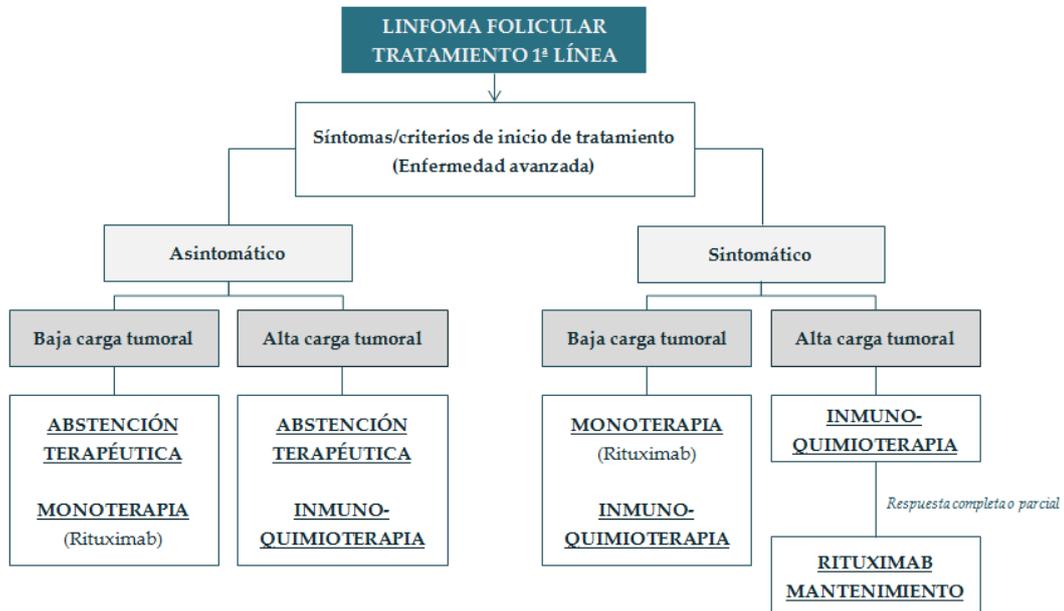
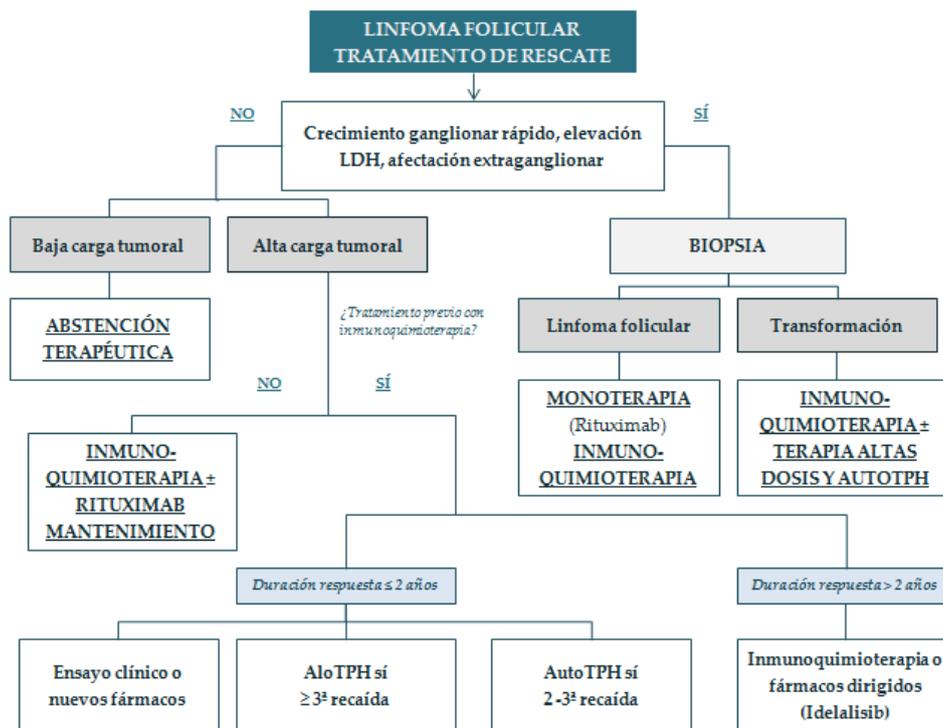


Figura 1.6. Algoritmo terapéutico del tratamiento de primera línea en linfoma folicular [adaptado de (86)].



AloTPH: Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos; AutoTPH: Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos; LDH: Lactato deshidrogenasa

Figura 1.7. Algoritmo terapéutico del tratamiento de rescate en recaída o refractariedad en linfoma folicular [adaptado de (86)].

1.1.9.1. Tratamiento inicial

El primer aspecto a considerar a la hora de tratar el linfoma folicular es el grado histológico. Las diferentes guías terapéuticas hacen referencia al tratamiento de los grados histológicos 1 y 2 como el tratamiento propio del linfoma folicular, por presentar un curso clínico indolente.

Sin embargo, el manejo terapéutico del linfoma folicular de grado 3 ha generado controversia a lo largo de la historia. Aunque la distribución entre grado 3A y grado 3B no ha presentado datos de significación clínica, se ha considerado que el grado 3A debe ser tratado como linfoma folicular por tender hacia un curso clínico indolente, y el grado 3B como LDCBG, con un esquema de quimioterapia basado en antraciclinas, al ser considerada una enfermedad más agresiva (101).

Enfermedad localizada: Estadios I-II no bulky o baja carga tumoral

El diagnóstico del linfoma folicular en estadios localizados de la enfermedad (estadios IA y IIA) es poco frecuente, representando entre un 15-25%. A diferencia de la enfermedad en estadios avanzados, la enfermedad localizada puede presentar supervivencias libres de eventos (SLEv) durante largos periodos de tiempo (62).

En los estadios iniciales de la enfermedad localizada, con baja carga tumoral y sin factores pronósticos adversos, la radioterapia se ha considerado el tratamiento de elección debido a su alto potencial de curación (16,73). El tratamiento con radioterapia tiene como objetivo erradicar el linfoma localizado consiguiendo una remisión prolongada y un aumento en la supervivencia libre de enfermedad (SLE) (102,103), observándose unos resultados en tasas de SG a 10 años del 60-80%, con una mediana de supervivencia de aproximadamente 19 años (104,105). La dosis de radioterapia recomendada sobre el campo afectado por el linfoma es de 24-36 Gy repartida en 12 fracciones, presentando un adecuado perfil de eficacia y seguridad. El aumento de la dosis se ha relacionado con una mayor toxicidad sin aumentar de manera significativa la respuesta (106,107).

A pesar de la evidencia sobre el empleo de la radioterapia, hasta un 20% de los casos diagnosticados de enfermedad localizada pueden presentar remisiones

espontáneas, por lo que se puede plantear la “abstención terapéutica”, la observación y el seguimiento como una alternativa cuando se predice una morbilidad significativa asociada a la radioterapia (85,108). Asimismo, se ha sugerido el tratamiento farmacológico con rituximab en monoterapia como alternativa a la irradiación local para evitar los efectos adversos de la radiación (109), consiguiendo tasas de respuesta completa (RC) de 40-50% con una duración de la respuesta en torno a 5 años (110).

Enfermedad avanzada: Estadios I-II sintomáticos o con elevada carga tumoral y estadios III-IV

El diagnóstico del linfoma folicular en estadios avanzados es la situación clínica más frecuente. Su curso puede variar de un paciente a otro desde el mantenimiento de la enfermedad estable durante años hasta una progresión más rápida. A pesar de los avances terapéuticos que mejoran notablemente los resultados, el linfoma folicular es considerado como una enfermedad crónica caracterizada por desarrollar múltiples recurrencias con las terapias actuales.

La decisión individualizada del tratamiento se hace en base a la edad, las condiciones generales, los síntomas de la enfermedad (síntomas B y/o masas *bulky*) y otros factores de riesgo como los niveles elevados de LDH y/o β 2-microglobulina, sin existir una estrategia terapéutica en primera línea aceptada universalmente (62).

En los estadios I-II con elevada carga tumoral, características clínicas y/o biológicas adversas y/o cuando no es factible aplicar la radioterapia local debido a la localización de la afectación, puede emplearse un tratamiento farmacológico sistémico indicado para las etapas avanzadas (109,111).

Abstención terapéutica (“watch and wait”)

De manera general, debido al curso indolente del linfoma folicular, los pacientes con enfermedad avanzada asintomáticos, sin criterios de riesgo y con un pronóstico favorable no precisan tratamiento inmediato tras el diagnóstico debido a una falta de evidencia que demuestre mejores resultados en términos de SG o SLP a largo plazo con respecto a la observación (88,108,112). La estrategia a seguir en estos casos se basa en la “abstención terapéutica” y el seguimiento

expectante. Posponer el tratamiento hasta la progresión de la enfermedad se ha considerado una opción razonable aportando la ventaja que presenta retrasar el inicio del tratamiento sistémico evitando los efectos adversos asociados, sobre todo en pacientes ancianos con enfermedades concomitantes (16,88,113,114). Los pacientes que no requieren tratamiento inmediato deben ser evaluados periódicamente para determinar si a lo largo del seguimiento está indicado iniciarlo. Es importante destacar que el inicio precoz del tratamiento puede dar como resultado tasas más altas de remisiones completas y se ha relacionado con una reducción en la incidencia de transformación histológica del linfoma, comparándolo con “abstención terapéutica” (88).

Radioterapia

Los linfomas indolentes son muy sensibles a la radioterapia, permitiendo obtener una respuesta satisfactoria tras completar las sesiones prescritas, incluso a bajas dosis de radiación. El papel de la radioterapia en estadios avanzados del linfoma folicular se limita al uso de radiación paliativa local como complemento a la quimioterapia en afectaciones con gran masa tumoral o localizaciones en las que se precisa una rápida reducción tumoral para aliviar los síntomas asociados, y en aquellas zonas donde la quimioterapia no ha conseguido una respuesta óptima (115,116).

Monoterapia

La terapia antineoplásica con un único fármaco se ha considerado una opción terapéutica en una selección de pacientes sintomáticos frágiles que precisan de una simplificación en el tratamiento. No obstante, la monoterapia se ha caracterizado por presentar respuestas incompletas y transitorias con un control de la enfermedad de corta duración en comparación con los esquemas que incluyen quimioterapia combinada. En pacientes ancianos y en situaciones en las que se prevé una toxicidad importante, el esquema de rituximab en monoterapia, tanto en inducción como en mantenimiento, se ha utilizado como primera línea en linfomas indolentes con tasas de respuesta global del 70%, tasas de RC de más del 30% y una duración mediana de la respuesta de 2-4 años (117-120).

Inmunoquimioterapia

El tratamiento más común en el linfoma folicular avanzado no tratado previamente y con elevada carga tumoral incluye la combinación de fármacos que darán lugar a distintos esquemas de quimioterapia e inmunoterapia con anticuerpos monoclonales, como el rituximab. La toma de decisiones terapéuticas se basa en elegir entre dos objetivos: optimizar la calidad de vida y conseguir una supervivencia prolongada.

El rituximab ha cambiado el paradigma del tratamiento del linfoma folicular. El beneficio de la adición de rituximab a la quimioterapia para el tratamiento inicial se ha demostrado en diversos ensayos aleatorizados de quimioterapia con o sin rituximab. En todos estos ensayos, la asociación de rituximab en combinación con quimioterapia compuesta por múltiples fármacos ha demostrado mejores resultados en la tasa de respuesta global, la SLP y la SG (121–125).

Los esquemas de inmunoquimioterapia utilizados con mayor frecuencia en el linfoma folicular son R-CHOP y R-COP, que incluyen la combinación de rituximab con ciclofosfamida, vincristina y prednisona, con o sin doxorubicina, respectivamente (121,124). Un estudio observacional prospectivo multicéntrico ("*National LymphoCare Study*"), que incluyó a 2738 pacientes diagnosticados de linfoma folicular, mostró que un 52% habían recibido tratamiento con inmunoquimioterapia en primera línea, de los cuales, los esquemas más utilizados fueron R-CHOP (55%), R-COP (23%) y rituximab con esquemas que contenían fludarabina (R-Flu) (15,5%) (126). En relación con los esquemas descritos anteriormente, se han obtenido tasas de SLP a los 2 años similares entre los paciente tratados con R-CHOP, R-COP y R-Flu (78%, 72% y 76%, respectivamente), mientras que las SG a los 2 años mostraron diferencias significativas (94%, 88% y 91%, respectivamente), con un beneficio para R-CHOP frente a R-COP en el subgrupo de pacientes clasificados con un FLIPI de bajo riesgo (127).

Un ensayo clínico aleatorizado fase III comparó el tratamiento inicial en 534 pacientes con linfoma folicular en estadio II-IV, con R-CHOP o R-COP o R-FM (rituximab, fludarabina, mitoxantrona). Tanto R-CHOP como R-FM fueron

superiores a R-COP en términos de SLP (62%, 59%, 46%, respectivamente) y tiempo hasta el fracaso del tratamiento (TTF) (68%, 63%, 52%, respectivamente) a los 3 años, con una mediana de seguimiento de 34 meses, sin encontrar diferencias en la SG ni en la RC. R-FM mostró una mayor toxicidad relacionada con neutropenias grado 3-4 con respecto a R-COP y R-CHOP (64%, 28%, 50%, respectivamente) (128).

En este contexto, aunque R-COP presenta unos resultados inferiores a R-CHOP en términos de SLP, las antraciclinas no han demostrado prolongar la SG o mayores tasas de respuesta o duración de la misma, si bien, en caso de transformación a linfoma agresivo existe una preferencia por esquemas que contengan antraciclinas. La incorporación de rituximab al esquema CHOP presentó un 95-100% de respuestas globales (44-87% RC) y con el esquema R-COP la respuestas globales fueron del 83% (41% RC) (121,124,129).

Por todo ello, a pesar de que los estudios comentados anteriormente sugieren una ventaja potencial de R-CHOP sobre R-COP ambos esquemas son considerados tratamientos estándar de primera línea en el linfoma folicular, y la selección de la terapia más adecuada dependerá principalmente de los factores individuales de cada paciente. El esquema R-COP se reserva a pacientes frágiles, ancianos y con contraindicación en el uso de antraciclinas, como son aquellos con enfermedad cardíaca subyacente (19).

Los esquemas de inmunoterapia basados en fludarabina, tales como R-FC (rituximab, fludarabina, ciclofosfamida) o R-FM, son tratamientos que presentan toxicidad a nivel de las células madre hematopoyéticas. No se recomienda administrar en pacientes jóvenes candidatos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (AutoTPH), debido a que la fludarabina se ha relacionado con una baja movilización de células hematopoyéticas a sangre periférica en los linfomas (130-132). Sin embargo, estos esquemas son una alternativa en pacientes ancianos, con una adecuada eficacia y tolerancia (128,133).

Bendamustina es un fármaco alquilante que presenta en su estructura química un anillo benzimidazol, y se caracteriza por tener una baja resistencia cruzada con otros fármacos alquilantes, aportándole propiedades citotóxicas únicas. La combinación de bendamustina a rituximab (R-Benda) se ha comparado

con el esquema R-CHOP en un ensayo aleatorizado fase III en 514 pacientes con linfomas indolentes y de células del manto, presentando tasas de respuesta similares en ambos grupos, en torno al 90%, con RC del 40% en el grupo de R-Benda frente al 30% en el grupo R-CHOP. R-Benda consiguió una mediana de SLP superior (69,5 frente a 31,2 meses), con menor toxicidad hematológica, incluyendo tasas más bajas de neutropenia y leucopenia grado 3-4. No hubo diferencias en la SG en una mediana de seguimiento de 45 meses (134). El estudio BRIGHT encontró que R-Benda era no inferior a R-CHOP/R-COP con unas tasas de RC (31% versus 25%) y respuesta global (97% versus 91%) similares entre dichos esquemas (135).

En la actualidad, el uso del esquema R-Benda está aumentando debido a un menor número de efectos adversos y a la mayor eficacia demostrada en ensayos clínicos en comparación con R-CHOP. Sin embargo, los datos relacionados con la utilización de una terapia con R-Benda en pacientes que presentan una enfermedad más agresiva con grado histológico 3A son reducidos, por lo que el esquema de elección en esta situación de enfermedad clínicamente más agresiva es R-CHOP (19).

Por otro lado, el esquema R-CNOP (rituximab, ciclofosfamida, mitoxantrona, vincristina, prednisona) se ha utilizado en linfomas folicular con un comportamiento más agresivo (grado histológico 3) como alternativa al esquema R-CHOP en primera línea pacientes ancianos con una función ventricular izquierda disminuida, con contraindicación en el uso de doxorubicina debido a la toxicidad cardíaca, aunque en la actualidad se encuentra en desuso (136,137).

1.1.9.2. Tratamiento de mantenimiento o consolidación

Los pacientes que alcanzan RC o respuesta parcial (RP) después del tratamiento de inducción con inmunoquimioterapia, principalmente R-CHOP y R-COP, son candidatos a recibir tratamiento de mantenimiento con rituximab. La disponibilidad de rituximab como fármaco eficaz en monoterapia y su reducida toxicidad ha permitido utilizarlo no sólo para mejorar la eficacia de la quimioterapia sino también para retrasar la progresión después del tratamiento inicial.

De este modo, en el ensayo fase III PRIMA se evaluó el perfil de eficacia y seguridad del rituximab de mantenimiento en pacientes diagnosticados de linfoma folicular que respondieron al tratamiento farmacológico de inducción con rituximab asociado a quimioterapia [R-CHOP (75%), R-COP (22%) o R-FCM (3%)], utilizado en la práctica clínica. Después del tratamiento de inducción, 1019 pacientes que lograron una RC o RP fueron asignados aleatoriamente con rituximab (375 mg/m² cada 8 semanas durante 2 años) o placebo. Con una mediana de seguimiento de 3 años, los pacientes asignados al mantenimiento con rituximab tuvieron mayores tasas de SLP (75% frente a 58%) y un mayor porcentaje de RC y respuesta completa no confirmada (RCu) a los 24 meses (72% frente a 52%). Sin embargo, la SG fue similar entre ambos grupos (138). La terapia de mantenimiento con rituximab post-inducción no ha mostrado beneficio en la SLP en pacientes con linfoma folicular después del tratamiento farmacológico de inducción con R-FCM. Por lo tanto, el papel del mantenimiento con otros esquemas, diferentes a R-CHOP y R-COP, sigue siendo incierto (133). La pauta posológica recomendada en la terapia de mantenimiento con rituximab es de una dosis de 375 mg/m² cada 8 semanas durante 2 años, debido a que un periodo de mantenimiento más corto ha presentado un beneficio inferior (139,140).

Otra alternativa de tratamiento de consolidación post-inducción es el uso de la radioinmunoterapia con ibritumomab tiuxetan unido al itrio-90 (⁹⁰Y). Los pacientes en RC, RCu o RP después del tratamiento de inducción de primera línea, consolidados con ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan, prolongaron significativamente la mediana de la SLP (36,5 frente a 13,3 meses) (141). Sin embargo, el beneficio obtenido con la radioinmunoterapia es inferior que con rituximab de mantenimiento durante 2 años (142).

1.1.9.3. Tratamiento de rescate en recaídas o refractariedad

La historia natural de los linfomas indolentes se caracteriza por un curso clínico con múltiples recaídas y remisiones después de recibir tratamiento de inducción. Antes de iniciar tratamiento para la progresión y/o recaída de la enfermedad es preciso descartar, mediante un estudio histológico, una transformación a una entidad histológica más agresiva, siendo la más frecuente el LDCBG. La transformación histológica se considera un factor de mal pronóstico en la evolución del linfoma folicular y requiere pautas de tratamiento similares a

las de los linfomas agresivos (143).

Las opciones terapéuticas para tratar la recaída son principalmente las mismas que en primera línea y las indicaciones para iniciar tratamiento son similares a las referidas en el momento del diagnóstico. La selección del tratamiento de rescate depende de varios factores, incluyendo el tratamiento previo utilizado, la duración de la respuesta, la edad del paciente, las comorbilidades y el objetivo del tratamiento (86,144). De este modo, en recaídas precoces inferiores a 2 años, el esquema de elección es aquel que no presente resistencia cruzada con el esquema previo utilizado. Entre las opciones terapéuticas adecuadas se incluyen esquemas que contengan fludarabina o fármacos alquilantes. La adición de rituximab se recomienda, fundamentalmente, cuando el esquema farmacológico previo con rituximab consiguió una duración de la remisión superior a 6 meses (111).

La inmunoterapia se engloba entre las opciones de tratamiento de la enfermedad en recaída del linfoma folicular. En aquellas situaciones con baja carga tumoral y como terapia paliativa en recaídas posteriores, destaca la utilización de rituximab en monoterapia. La radioinmunoterapia con ⁹⁰Y-íbritumomab tiuxetan puede representar un abordaje terapéutico eficaz en pacientes ancianos con comorbilidades en los que no es apropiado el tratamiento con quimioterapia (111). Con una reciente comercialización, el fármaco anti-CD20, obinutuzumab, representa un tratamiento alternativo en combinación con bendamustina en el linfoma folicular que no ha respondido o ha progresado durante o hasta 6 meses después del tratamiento con rituximab o con un esquema que contenga rituximab (145).

Debido al perfil de toxicidad favorable del rituximab en mantenimiento durante 2 años y a la prolongación de la SLP y SG en recaída o refractariedad, los pacientes que responden al tratamiento de inducción con inmunquimioterapia pueden beneficiarse de su utilización (146).

El empleo de altas dosis de quimioterapia seguido de AutoTPH demostró prolongación de la SLP y SG en recaída o refractariedad, siendo una opción en recaídas sensibles a la quimioterapia, especialmente en pacientes que experimentan remisiones de corta duración (≤ 2 años) tras el uso de esquemas que contienen rituximab (111,147). El trasplante alogénico con precursores

hematopoyéticos (AloTPH) se considera una alternativa terapéutica potencialmente curativa en pacientes jóvenes de alto riesgo, muy seleccionados, con recaídas precoces, enfermedad refractaria y recaídas posteriores al AutoTPH, preferiblemente con un acondicionamiento de baja intensidad (147).

En los últimos años, debido al creciente conocimiento de la patogénesis del linfoma folicular, una gran cantidad de nuevas terapias que actúan mediante diversos mecanismos de acción han mostrado resultados prometedores (148). Se están ensayando, además, nuevos receptores diana para anticuerpos monoclonales diferentes a CD20 y fármacos dirigidos contra las vías de señalización intracelular que constituyen un arsenal de fármacos en investigación. Entre los nuevos fármacos estudiados con actividad antineoplásica en el linfoma folicular destacan: El inhibidor de PI3K δ , idelalisib, que ha demostrado eficacia en el linfoma folicular refractario a dos líneas de tratamiento anteriores, al menos a rituximab y agentes alquilantes, indicándose en esta situación en monoterapia (149); ofatumumab, un anticuerpo monoclonal anti-CD20 con actividad citotóxica dependiente del complemento aumentada con respecto a rituximab, se ha estudiado en monoterapia en recaídas o progresión (150); ibrutinib, un inhibidor selectivo de cinasa que se une de forma irreversible a BTK, previene el crecimiento celular y bloquea las señales de supervivencia, ha demostrado actividad significativa en linfoma folicular en recaída y refractariedad, de manera que cuanto mayor es la duración del tratamiento mayor es la tasa de respuestas (148,151); lenalidomida, un derivado de la talidomida con actividad inmunomoduladora, antiangiogénica y antiinflamatoria, ha mostrado un amplio espectro de acción en alteraciones linfoproliferativas y, asociado a rituximab, parece presentar un efecto sinérgico, por lo que se considera una alternativa en linfoma folicular en segunda y posteriores líneas (101); bortezomib, un inhibidor del proteasoma que ha mostrado actividad en alteraciones linfoproliferativas, es un fármaco que se ha estudiado sustituyendo la vincristina del esquema R-CHOP en recaída o refractariedad, presentando una elevada tasa de respuesta (152).

1.1.10. Criterios de respuesta

La elaboración estandarizada de criterios de respuesta es esencial para desarrollar una investigación clínica debido a que facilita la interpretación de los

datos, las comparaciones de los resultados entre varios ensayos clínicos y la identificación de nuevos fármacos, y proporcionan información para evaluar las nuevas percepciones biológicas e inmunológicas de las enfermedades estudiadas (153). Con el desarrollo de estos criterios se ha conseguido comparar las pautas terapéuticas entre diferentes estudios y ha facilitado una valoración de los nuevos fármacos y tratamientos en el linfoma folicular.

Los primeros criterios de respuesta consensuados y aceptados universalmente para evaluar la respuesta de los LNH y, por tanto, del linfoma folicular fueron publicados en 1999 por el Grupo Internacional de Trabajo, compuesto por médicos, radiólogos y anatomopatólogos, conocidos como “Criterios de Cheson”. Estos criterios clasificaron la respuesta en 5 grupos, tal y como se observa en la **Tabla 1.8** (153).

Posteriormente, el uso generalizado de tecnologías cada vez más sensibles y específicas para evaluar la enfermedad, tales como la PET con fluorodesoxiglucosa unida al ^{18}F (^{18}F -FDG), la inmunohistoquímica de la médula ósea y la citometría de flujo justificó la revisión, en 2007, de los “Criterios de Cheson” realizándose una nueva evaluación de los criterios y la incorporación de los exámenes y los procedimientos más innovadores descritos para evaluar la respuesta, que se describen en la **Tabla 1.9** (154).

De manera general, los “Criterios de Cheson” y su revisión por el Grupo Internacional de Trabajo definen la respuesta como:

- Respuesta completa (RC): desaparición completa de toda evidencia clínica y radiológica de enfermedad detectable y de los síntomas relacionados con la enfermedad que hubiera antes del tratamiento. El tamaño de los ganglios linfáticos tiene que normalizarse. El hígado y el bazo no deben ser palpables en el examen físico y los nódulos relacionados con el linfoma han de desaparecer tras el tratamiento. La infiltración de la médula ósea debe desaparecer tras realizarse la biopsia; si el resultado no es concluyente por morfología, la inmunohistoquímica tiene que ser negativa.
- Respuesta parcial (RP): disminución de al menos un 50% de la afectación ganglionar y ausencia de nuevas localizaciones de la enfermedad. No debe haber aumento del tamaño del hígado y el bazo. Los nódulos esplénicos o hepáticos han de reducirse un 50% o más con respecto al diámetro inicial.

- Enfermedad estable (EE): cuando no cumple los criterios de RC, RP o progresión de la enfermedad.
- Progresión de la enfermedad (PE): aparición de cualquier nueva lesión o incremento de al menos el 50% a partir de la mejor respuesta.

Uno de los principales inconvenientes de los “Criterios de Cheson” originales fue la interpretación errónea del término de respuesta completa no confirmada (RCu). RCu se aplicaba de manera frecuente a aquellas situaciones en las que la suma del producto de los diámetros de lesiones múltiples disminuía en al menos el 75%, por lo que era más apropiado designarlo como RP. También se consideraba RCu cuando se cumplían todas las condiciones para una RC después del tratamiento, excepto que la médula ósea se consideraba morfológicamente indeterminada o que no se realizaba una biopsia de repetición para confirmar la respuesta. Por ello, en los últimos criterios de respuesta revisados se ha eliminado el término de RCu, de manera que la presencia de alguna masa residual o persistente será clasificada metabólicamente como RC o RP (67,154,155).

Después de una extensa experiencia con estos criterios, y reconociendo los avances logrados tras su publicación, particularmente en técnicas de imagen, se realizó un taller en la XI Conferencia Internacional sobre Linfoma Maligno en Lugano (Suiza), en junio de 2011. El objetivo fue desarrollar criterios mejorados de estadificación y respuesta, tanto para el LH como el LNH, debido al aumento del conocimiento de la enfermedad, nuevos factores pronósticos y una mejor comprensión de la biología del tumor que hicieron necesaria la actualización de los sistemas anteriores. De este modo, en un taller posterior realizado en la 12^a Conferencia Internacional sobre Linfoma Maligno (2013), se presentaron las revisiones que permitieron elaborar la “Clasificación de Lugano” de la respuesta. Esta clasificación aporta una visión global de cómo se lleva a cabo la evaluación de la respuesta basada en PET-TAC frente a la basada en TAC, tal y como se muestra en la **Tabla 1.10** (67).

Tabla 1.8. Criterios de respuesta de Cheson (1999) [adaptado de (153)].

CRITERIOS DE CHESON, 1999			
DEFINICIÓN	GANGLIOS Y MASAS GANGLIONARES	HÍGADO, BAZO	MÉDULA ÓSEA
RESPUESTA COMPLETA			
Desaparición de toda evidencia clínica y radiológica de enfermedad	Regresión a tamaño normal de ganglios linfáticos y masas ganglionares (1,5 cm en su DT máximo para los ganglios, 1,5 cm antes del tratamiento). Disminución de ganglios de 1,1-1,5 cm de DT máximo antes del tratamiento a 1 cm en su mayor DT después del tratamiento, o > 75% en la SDM	Disminución de hígado y bazo, no palpables en el examen físico. Los nódulos macroscópicos han de desaparecer. Disminución de otros órganos aumentados por el linfoma	Desaparición de la infiltración de la médula ósea después del tratamiento, tras realizarse la biopsia
RESPUESTA COMPLETA NO CONFIRMADA			
Idem RC	Masa residual de ganglios linfáticos > 1,5 cm en el mayor DT con disminución > 75% en la SDM. Ganglios individuales con disminución > 75% en la SDM en comparación con el tamaño de masa basal	Idem RC	Médula ósea indeterminada
RESPUESTA PARCIAL			
Regresión de la enfermedad medible sin haber nuevos sitios de la enfermedad	≥ 50% de disminución en SDM de los 6 ganglios dominantes o masas ganglionares mayores. Estos ganglios o masas se seleccionan según: (a) Medibles en al menos dos dimensiones perpendiculares; (b) Ser de regiones diferentes del cuerpo; (c) Incluir áreas mediastínicas y retroperitoneales de la enfermedad cuando estos sitios están involucrados	No aumento en el tamaño de otros nódulos, hígado o bazo ≥ 50% de disminución en la SM de los nódulos esplénicos y hepáticos. La afectación de otros órganos se considera enfermedad evaluable y no medible	-
ENFERMEDAD ESTABLE			
No cumple criterios de RC, RP o PE			
PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD			
Nueva lesión o aumento ≥ 50% de los sitios previos involucrados	Aumento ≥ 50% en la SDM de cualquier lesión previa basal	Aparición de cualquier nueva lesión durante o al final del tratamiento	Afectación nueva o recurrente
DT: Diámetro trasversal; PE: Progresión de la enfermedad; RC: Respuesta completa; RP: Respuesta parcial; SDM: Suma de los diámetros máximos			

Tabla 1.9. Criterios de respuesta revisados por el Grupo Internacional de Trabajo (2007) [adaptado de (154)].

CRITERIOS REVISADOS POR EL GRUPO INTERNACIONAL DE TRABAJO, 2007			
DEFINICIÓN	MASAS GANGLIONARES	HÍGADO, BAZO	MÉDULA ÓSEA
RESPUESTA COMPLETA			
Desaparición de toda evidencia de enfermedad	-FDG-avida o PET+ antes de la terapia: masa de cualquier tamaño permitida si PET- -FDG-avida variable o PET-: regresión a tamaño normal en TAC	No palpable, desaparición de nódulos	Desaparición de la infiltración en la biopsia de repetición. Si la morfología es indeterminada, la IHC debe ser negativa
RESPUESTA PARCIAL			
Regresión de las lesiones medibles sin aparición de nuevas localizaciones	Reducción $\geq 50\%$ en la SDM de las 6 masas dominantes sin aumento del tamaño del resto -FDG-avida o PET+ antes de la terapia: una o más lesiones PET+ en el sitio previamente involucrado -FDG-avida variable o PET-: regresión en TAC	$\geq 50\%$ de disminución en la SDM de nódulos (para un nódulo simple se toma el mayor diámetro trasversal), sin aumento del tamaño de hígado o bazo	Irrelevante si es positivo antes de la terapia. Se debe especificar el tipo de célula
ENFERMEDAD ESTABLE			
No cumple criterios de RC, RP o PE	-FDG-avida o PET+ antes de la terapia: PET+ en localizaciones basales, sin aparición de nuevos focos en TAC y PET -FDG-avida variable o PET-: sin cambios de tamaño de las lesiones previas en TAC	-	-
PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD			
Cualquier nueva lesión o aumento $\geq 50\%$ del mínimo tamaño de cualquier lesión basal	Aparición de nueva lesión $> 1,5$ cm en cualquier eje, $\geq 50\%$ en la SDM o del diámetro máximo de un ganglio previamente identificado > 1 cm en el eje corto Lesiones PET+ si FDG-avida del linfoma o PET+ previo a la terapia	Aumento $> 50\%$ desde el mínimo tamaño en la SDM de lesiones basales	Infiltración nueva o recurrente
<p><i>FDG: Fluorodesoxiglucosa IHC: Inmunohistoquímica; PET: Tomografía por emisión de positrones; SDM: Suma de los diámetros máximos; TAC: Tomografía axial computarizada.</i></p>			

Tabla 1.10. Criterios de respuesta de Lugano (2014) [adaptado de (67,156)].

<i>CRITERIOS DE LUGANO, 2014</i>		
SITIO	PET-TAC (Respuesta metabólica)	TAC (Respuesta radiológica)
RESPUESTA COMPLETA		
Ganglios linfáticos y sitios extralinfáticos	Puntuación 1, 2 o 3 con o sin masa residual en 5-PS* La captación puede ser mayor que el mediastino y/o hígado normales en anillo de Waldeyer o sitios extraganglionares, con alta absorción fisiológica o con activación dentro del bazo o la médula. En esta situación, puede deducirse una respuesta metabólica completa si la captación en los sitios basales afectados no es mayor que el tejido normal próximo incluso si el tejido tiene una alta absorción fisiológica	Los ganglios/masas ganglionares deben regresar a $\leq 1,5$ cm en LDi
Lesión no medida	No aplicable	Ausente
Aumento órganos	No aplicable	Regresar a la normalidad
Nuevas lesiones	Ninguna	Ninguna
Médula ósea	Sin evidencia de enfermedad FDG-ávida	Normal por morfología; Si es indeterminada, IHC negativo
RESPUESTA PARCIAL		
Ganglios linfáticos y sitios extralinfáticos	Puntuación 4 o 5 con absorción reducida en comparación con las masas basales y residuales de cualquier tamaño. Durante el tratamiento, sugiere que la enfermedad responde. Al final del tratamiento, indica enfermedad residual	Disminución $\geq 50\%$ en la SPD de 6 ganglios medibles objetivos y sitios extranodales. Cuando una lesión es pequeña para medirla por TAC, se asigna el valor 5 mm x 5 mm. Si no es visible, 0 mm x 0 mm. Para un nódulo > 5 mm x 5 mm, pero más pequeño de lo normal, se utilizar la medida real
Lesión no medida	No aplicable	Ausente/normal, reducido, pero sin aumento
Aumento órganos	No aplicable	El bazo debe haber reducido un 50% en longitud más de lo normal
Nuevas lesiones	Ninguna	Ninguna
Médula ósea	Captación residual mayor que la captación en la médula normal pero reducida en comparación con la línea base. Si hay cambios focales persistentes en la médula en el contexto de una respuesta nodal, se debe considerar la posibilidad de una evaluación posterior con RM o biopsia o un análisis de intervalo	No aplicable

Tabla 1.10. Criterios de respuesta de Lugano (2014) [adaptado de (67,156)].

CRITERIOS DE LUGANO, 2014		
SITIO	PET-TAC (Respuesta metabólica)	TAC (Respuesta radiológica)
ENFERMEDAD ESTABLE		
Ganglios/masas ganglionales; lesiones extraganglionales	Puntuación 4 o 5 sin cambios significativos en la captación de FDG en la evaluación durante el tratamiento o al final del tratamiento	< 50% de disminución de la SPD de hasta 6 ganglios dominantes medibles y sitios extraganglionales; No se cumplen los criterios para la enfermedad progresiva
Lesión no medida	No aplicable	No hay aumento consecuente con la progresión
Aumento órganos	No aplicable	No hay aumento consecuente con la progresión
Nuevas lesiones	Ninguna	Ninguna
Médula ósea	Sin cambios respecto a los datos de base	No aplicable
PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD		
Masas/nódulos individuales; lesiones extranodales	Puntuación 4 o 5 con un aumento en la intensidad de la absorción y/o nuevos focos FDG-ávidos relacionados con el linfoma en la evaluación durante el tratamiento o final del tratamiento	Un ganglio o lesión individual debe ser anormal con: LDi > 1,5 cm, aumento en un 50% del PPD inicial y un aumento del LDi o SDi inicial 0,5 cm para lesiones ≤ 2 cm; 1,0 cm para lesiones > 2 cm Con respecto a la esplenomegalia, la longitud esplénica debe aumentar más del 50% de la extensión de su aumento previo con respecto al basal. Si no hay esplenomegalia previa debe aumentar al menos 2 cm respecto al valor basal. Esplenomegalia nueva o recurrente
Lesión no medida	Ninguna	Nueva o clara progresión de lesiones no medibles preexistentes
Nuevas lesiones	Nuevos focos FDG-ávidos relacionados con linfoma en lugar de otra etiología (por ejemplo, infección, inflamación). Si se desconoce la etiología de las nuevas lesiones, se puede considerar la biopsia o el escáner por intervalos	Rebote de lesiones previamente resueltas Un nuevo nódulo > 1,5 cm en algún eje. Un nuevo sitio extranodal > 1,0 cm en algún eje. Si < 1,0 cm en algún eje, su presencia debe ser inequívoca y debe atribuirse al linfoma Enfermedad evaluable de cualquier tamaño atribuible al linfoma
Médula ósea	Nuevos o recurrentes focos FDG-ávidos	Afectación nueva o recurrente

5-PS: Escala de 5 puntos; FDG: Fluorodesoxiglucosa IHC: Inmunohistoquímica; LDi: Diámetro transversal más largo de una lesión; PET: Tomografía por emisión de positrones; PPD: Producto cruzado del LDi y diámetro perpendicular; RM: Resonancia magnética; SDi: Eje más corto perpendicular al LDi; SPD: Suma del producto de los diámetros perpendiculares para lesiones múltiples; TAC: Tomografía axial computarizada.

** PET 5PS: 1, ausencia de captación; 2, captación ≤ mediastino; 3, captación > mediastino pero ≤ hígado; 4, captación moderadamente > hepática; 5, la captación es notablemente mayor que el hígado y / o lesiones nuevas; X, es poco probable que las nuevas áreas de captación estén relacionadas con el linfoma.*

La "Clasificación de Lugano" representa un cambio importante del sistema de estadificación de Ann Arbor y de los criterios del Grupo de Trabajo Internacional para la evaluación de la respuesta. El objetivo de su desarrollo es la simplificación y estandarización de la evaluación de la respuesta. Según esta clasificación, la evaluación por TAC identifica 4 grupos de respuesta: (a) RC radiológica: desaparición de todos los ganglios menores o iguales a 1,5 cm de diámetro más largo, sin hallazgos de linfoma; (b) RP: reducción del 50% o más de la carga de morbilidad; (c) EE: menos de un 50% de disminución de la carga de morbilidad; (d) PE: adenopatía nueva o aumentada o nuevo linfoma extranodal (157).

La evaluación de la respuesta por PET-TAC se basa en la actividad metabólica por evaluación visual de la captación de FDG utilizando la "escala de cinco puntos" (PET 5PS), descrita en la **Tabla 1.10**. Según la PET 5PS, se han establecido 4 categorías de respuesta: (a) puntuación de respuesta metabólica completa: puntuación de 1, 2 o 3; (b) puntuación de respuesta metabólica parcial: puntuación de 4 o 5 con absorción reducida de FDG; (c) ninguna respuesta metabólica: puntuación de 4 o 5 sin cambio significativo en la captación de FDG; (d) enfermedad metabólica progresiva: puntuación de 4 o 5 con aumento de la captación de FDG o con nuevas lesiones (67,156,157).

Para entender los objetivos que se persiguen en una investigación clínica, a continuación se definen aquellos conceptos más utilizados en los diferentes ensayos clínicos realizados en linfomas (154,158):

- **Supervivencia global (SG)**. La SG es el tiempo desde el momento que el paciente entra en el estudio hasta la muerte por cualquier causa. No siempre es un punto final óptimo debido al tiempo que se tarda en lograr ese punto final y porque puede reflejar los efectos de las terapias subsiguientes.

- **Supervivencia libre de progresión (SLP)**. La SLP se define como el tiempo desde que el paciente entra en el estudio hasta la progresión del linfoma o la muerte por cualquier causa. SLP es a menudo el punto final elegido en los ensayos clínicos de linfoma, especialmente aquellos que implican histologías incurables o indolentes, porque refleja el crecimiento del tumor y por lo tanto es interpretable antes que el punto final de la SG y no se confunde con las terapias subsiguientes.

- **Supervivencia Libre de Eventos (SLEv).** La SLEv (tiempo hasta el fracaso del tratamiento) se mide desde el momento de la entrada del estudio hasta cualquier fracaso del tratamiento o la interrupción del tratamiento por cualquier motivo (por ejemplo, progresión de la enfermedad, toxicidad, preferencia del paciente, progresión o muerte). Generalmente, este criterio de valoración no es promovido por las agencias reguladoras porque está influenciado por la eficacia, la toxicidad y la retirada del paciente. Sin embargo, puede ser útil en la evaluación de algunas terapias tóxicas.

- **Tiempo hasta la progresión (TTP).** El TTP se define como el tiempo desde la entrada del estudio hasta la progresión del linfoma documentada o la muerte atribuible al linfoma. En TTP, las muertes por otras causas se censuran, ya sea en el momento de la muerte o en un momento anterior de la evaluación, lo que representa un patrón aleatorio de la pérdida del estudio. TTP puede ser útil en histologías curables, en el que la mayoría de las muertes en un estudio pueden no estar relacionadas con el linfoma y en su lugar estar causadas por toxicidad del tratamiento o seguimiento prolongado.

- **Supervivencia libre de enfermedad (SLE).** La SLE se mide desde el momento de la aparición del estado libre de enfermedad o de la RC hasta la recurrencia de la enfermedad o la muerte por linfoma o la toxicidad aguda del tratamiento. Este punto extremo puede complicarse por las muertes que ocurren durante el período de seguimiento que no están relacionadas con el linfoma. Si tales muertes deben ser consideradas como acontecimientos o censuradas en el momento de la ocurrencia es controvertido porque no siempre es posible identificar las muertes relacionadas con el linfoma, lo que conduce a la posibilidad de sesgo.

- **Duración de la respuesta.** La duración de la respuesta es desde el momento en que se cumplen los criterios de respuesta (es decir, RC o RP), siendo el evento la primera documentación de recaída o progresión.

- **Tiempo para el siguiente tratamiento.** Para ciertos ensayos, el tiempo hasta el siguiente tratamiento con linfoma puede ser de interés, definido como tiempo desde el final del tratamiento primario hasta la instauración de la siguiente terapia.

- **Beneficio clínico.** El beneficio clínico es uno de los puntos finales más importantes, pero menos definidos, en los ensayos clínicos. Puede reflejar una

mejora en la calidad de vida, una reducción de los síntomas del paciente, la necesidad de transfusiones y las infecciones frecuentes u otros parámetros.

1.2. RITUXIMAB

Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico humano-murino anti-CD20 constituido por una inmunoglobulina glicosilada con las regiones constantes de la Inmunoglobulina G1 (IgG1) humana y las secuencias de la región variable de las cadenas ligeras y pesadas murinas. Se obtiene por ingeniería genética a partir de un cultivo en suspensión de células de mamífero (células de ovario de hámster chino) y se purifica mediante cromatografía de afinidad y de intercambio iónico, incluyendo procedimientos específicos de inactivación y de eliminación viral (96).

La dosificación del rituximab se hace en función de la superficie corporal del paciente (mg/m^2). Antes de cada administración, se debe premedicar con un antitérmico y un antihistamínico para prevenir reacciones adversas infusionales relacionadas con la perfusión intravenosa. La posología según la indicación en linfoma folicular se especifica a continuación (96):

- Linfoma folicular con terapia combinada: para el tratamiento de inducción en pacientes en recidiva o refractario o que no hayan sido previamente tratados, la posología recomendada de rituximab en combinación con quimioterapia es de $375 \text{ mg}/\text{m}^2$ por ciclo, hasta 8 ciclos. Se administra el día 1 de cada ciclo por vía intravenosa.
- Linfoma folicular en terapia de mantenimiento, no tratado previamente, que han respondido a terapia de inducción: la posología es de $375 \text{ mg}/\text{m}^2$ una vez cada 2 meses (empezando dos meses después de la última dosis de la terapia de inducción) hasta progresión de la enfermedad o hasta un periodo máximo de dos años.
- Linfoma folicular en terapia de mantenimiento, en recaída o refractario, que han respondido a terapia de inducción: la posología es de $375 \text{ mg}/\text{m}^2$ una vez cada 3 meses (empezando tres meses después de la última dosis de la terapia de inducción) hasta progresión de la enfermedad o hasta un periodo máximo de dos años.

- Linfoma folicular en recaída o refractario en monoterapia: usado como tratamiento de inducción en pacientes adultos con linfoma folicular estadio III-IV que sean quimiorresistentes o estén en su segunda o subsiguientes recaídas tras quimioterapia. La posología es de 375 mg/m² administrada en forma de perfusión intravenosa una vez por semana durante cuatro semanas.

Recientemente se ha aprobado la presentación de rituximab para administración subcutánea con una posología recomendada en pacientes adultos a una dosis fija de 1400 mg, independientemente del área de superficie corporal, después de haber recibido una dosis completa de rituximab intravenoso, con la ventaja de esta nueva presentación para administrarse en 5 minutos (96).

Así pues, rituximab se ha convertido en un fármaco imprescindible para el tratamiento los LNH agresivos e indolentes.

A pesar de su amplia utilización en la práctica clínica desde su comercialización, el mecanismo de acción no se conocía con exactitud pero la realización de diversos estudios a lo largo de los años ha permitido completar el conocimiento de su mecanismo específico en los seres humanos (159). El principal efecto del rituximab se debe, fundamentalmente, a su unión con el antígeno CD20, una fosfoproteína transmembrana no-glucosilada expresada en la mayoría de las etapas del desarrollo de los linfocitos B, desde las células pre-B hasta los linfocitos B de memoria maduros, perdiéndose cuando se diferencia a célula plasmática. El complejo antígeno-anticuerpo transloca las balsas de lípidos presentes en la membrana celular. Las balsas de lípidos son dominios heterogéneos de membrana ricos en colesterol y esfingolípidos. Se ha demostrado que los linfocitos B malignos pueden producir balsas de lípidos anómalas que pueden modificar la sensibilidad del rituximab sobre el LNH (160).

La eficacia de la terapia anti-CD20 con rituximab está mediada por una combinación de factores y mecanismos de acción que engloban la apoptosis, la citotoxicidad celular dependiente del complemento (CCDC) y los mecanismos mediados por el receptor Fc γ (Fc γ R), incluyendo la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA) y la fagocitosis, tal y como se observa en la **Figura 1.8**.

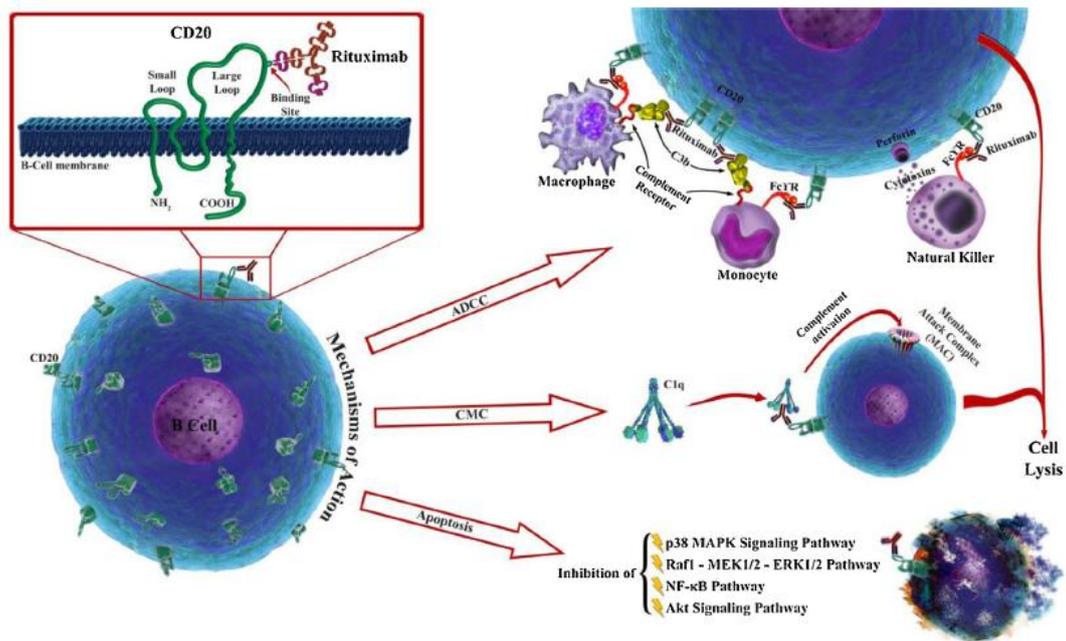


Figura 1.8. Mecanismos de acción del rituximab; los tres mecanismos independientes son: 1) CCDA; 2) CCDC; 3) Apoptosis. Esquema de la estructura de CD20 y rituximab (161).

1.2.1. Citotoxicidad celular dependiente del complemento (CCDC)

El primer paso de la activación del complemento por la vía clásica es la unión de C1q a las porciones Fc de las IgG. Esta unión desencadena una cascada proteolítica que genera grandes cantidades de C3b. Las moléculas C3b tienen una doble acción, actuar como opsoninas y unirse a la C3 convertasa para formar una C5 convertasa, conduciendo a la generación de complejos de ataque de membrana que destruyen la membrana celular. Las convertasas C3/C5 liberan también dos fragmentos pequeños, C3a y C5a, que actúan como moléculas quimioatrayentes de neutrófilos. Los receptores del complemento se expresan en las células efectoras tales como granulocitos, macrófagos y células NK y pueden inducir la lisis celular (159). En la **Figura 1.9** se muestran las vías de activación del sistema del complemento.

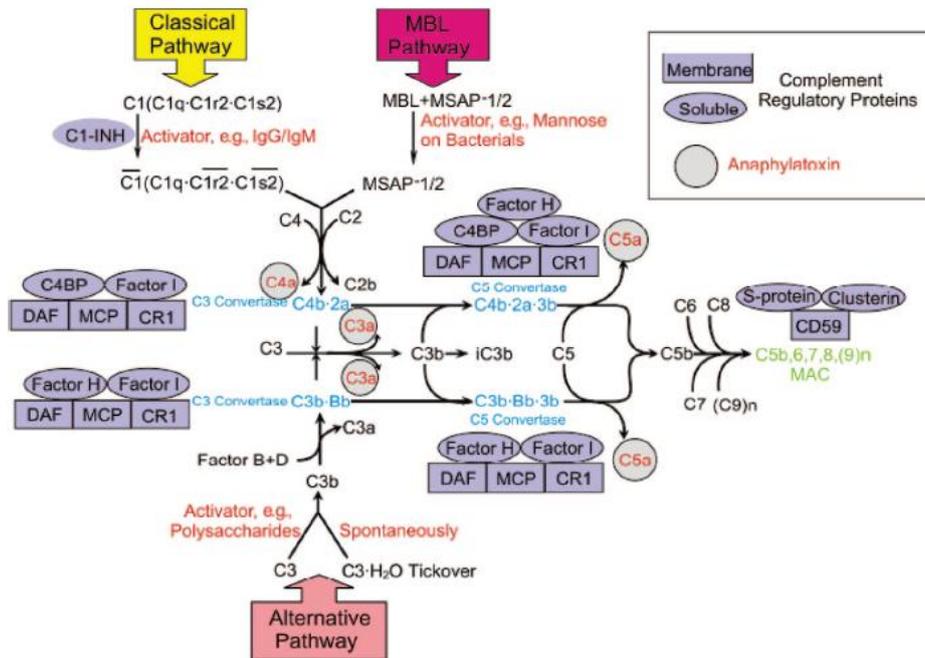


Figura 1.9. Vías de activación del sistema del complemento (162).

El efecto del rituximab en la CCDC se produce mediante la interacción de C1q con el fragmento Fc del rituximab expuesto después de unirse al antígeno CD20 localizado en la superficie de los linfocitos B, activando así la cascada del complemento a través de la vía clásica, lo que conduce a la citólisis (162,163). Los niveles del complemento parecen desempeñar una papel predominante en el efecto del rituximab (164). Asimismo, en relación con la toxicidad, se ha demostrado una correlación directa entre la activación del complemento por el rituximab y las reacciones infusionales (165).

1.2.2. Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA)

La muerte de las células tumorales mediante la CCDA se consigue a través de la interacción entre la fracción Fc del rituximab y el receptor Fcγ expresado en las células inmunes con actividad citotóxica, como los monocitos, macrófagos, células NK y granulocitos, dando lugar a la activación de dichas células efectoras y a la destrucción de los linfocitos B unidos al rituximab por fagocitosis o lisis celular. Esta interacción inicia una serie de vías de señalización que conduce a la

liberación de gránulos citotóxicos compuestos por mediadores inmunes inflamatorios y/o citotóxicos, incluyendo citoquinas, quimiosinas, proteasas y especies reactivas de oxígeno, que desencadenan en la muerte celular (159,162,166). Se han identificado tres tipos de receptores Fc γ , los receptores activadores Fc γ RI o CD64 de alta afinidad y Fc γ RIII o CD16 de baja afinidad y el receptor Fc γ RII o CD32 de baja afinidad, compuestos por 8 isoformas (Fc γ RIa/b/c, Fc γ RIIa/b/c, Fc γ RIIIa/b) (162,167,168). En determinadas líneas de investigación se ha considerado la CCDA como el principal mecanismo de acción del rituximab. En estudios *in vivo* se ha observado que la actividad antitumoral de rituximab se reduce considerablemente en ratones deficientes en receptores Fc γ RI/ Fc γ RIII, mientras que la interrupción del gen que codifica para el receptor Fc γ RIIb, única isoforma con actividad inhibidora, aumenta la actividad antitumoral (169).

1.2.3. Inducción de la apoptosis

Las caspasas tienen interés clínico debido a que diversos agentes antineoplásicos intervienen en el mecanismo de apoptosis a través de la vía dependiente de las caspasas. Una segunda vía apoptótica es la mediada por las proteínas de la familia de genes *BCL*. Esta familia de genes incluye tanto proteínas proapoptóticas como antiapoptóticas y el balance entre las señales de estas proteínas contribuye a la susceptibilidad celular a la apoptosis (160).

Rituximab induce la apoptosis de los linfocitos B del LNH mediante vías de quimio e inmunosensibilización. El antígeno CD20 está asociado con la familia Src de tirosina cinasa, Lyn, Fyn y Lck (170,171). Así, cuando rituximab se une específicamente a CD20, las balsas lipídicas de la membrana celular se redistribuyen activando a la familia Src de tirosina cinasa e iniciando las vías de señalización que desencadenan en la apoptosis (162). Rituximab sensibiliza a las células tumorales resistentes a la inducción de la apoptosis a diversos fármacos quimioterapéuticos mediante las vías de señalización Raf-1-MEK1/2-ERK1/2, p38 MAPK, NF- κ B, ERK1/2 y Akt (161,172).

Debido al papel que juega el NF- κ B en la resistencia a los ligandos TRAIL (“Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand”) y FASL (“Fragment for apoptosis stimulation ligand”), se ha propuesto que rituximab tiene la capacidad de sensibilizar las líneas celulares de LNH-B a la apoptosis mediada por TRAIL y

FASL. Se ha demostrado la sensibilización de la apoptosis inducida por FASL mediante la inhibición de NF- κ B o de la proteína de transcripción Ying Yang 1 (YY1) (173). Ambas moléculas, YY1 y NF- κ B, regulan negativamente la transcripción del receptor DR5 para TRAIL, por lo que su inhibición favorece la sensibilización de las células tumorales a la apoptosis inducida por TRAIL (174). Se ha demostrado que rituximab actúa regulando DR5 y sensibilizando las líneas celulares de LNH-B a la apoptosis promovida por TRAIL, induciendo la inhibición de YY1 y NF- κ B (175). Estas evidencias han permitido ampliar el conocimiento del mecanismo de inmunosensibilización mediado por rituximab y su papel en la inducción de la eliminación de células tumorales por células efectoras que expresan los ligandos TRAIL y FASL (**Figura 1.10**) (161).

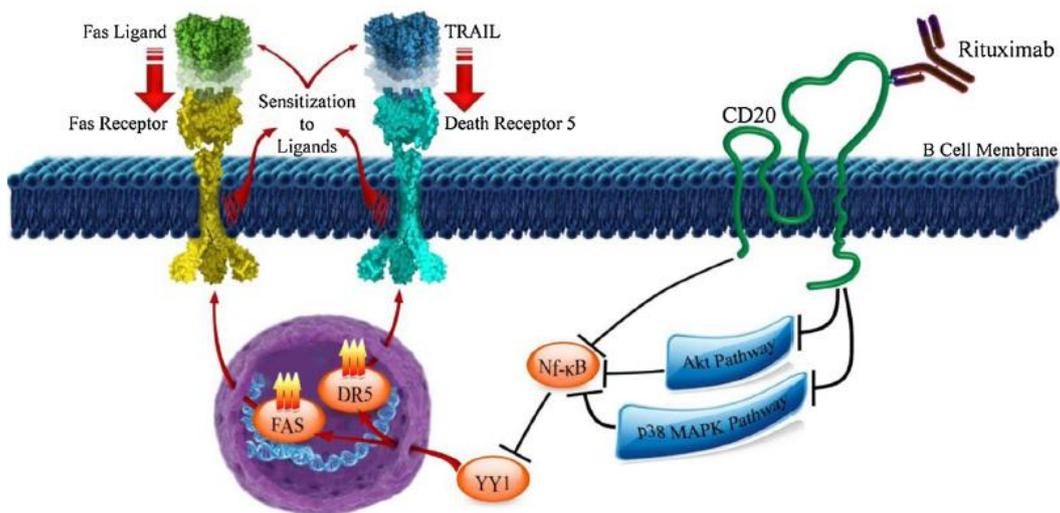


Figura 1.10. Mecanismo de inmunosensibilización mediado por rituximab (161).

Recientemente, debido a las resistencias adquiridas por las células neoplásicas de linfocitos B al tratamiento, se ha investigado la importancia de los lisosomas sobre estas células. Se ha descubierto el papel de CD20, diana terapéutica del rituximab, en la permeabilización lisosomal de la membrana a través de su co-localización con el receptor de factor de necrosis tumoral 1 (TNFR1) implicado en la apoptosis, favoreciendo la muerte celular inducida por lisosomas (176).

1.3. FARMACOGENÉTICA

La respuesta de los medicamentos de un individuo a otro varía considerablemente, de manera que resulta difícil predecir la efectividad o la seguridad de un medicamento determinado en un paciente concreto. Esta variabilidad interindividual en la respuesta es bien conocida y plantea un problema en la medicina debido a que un mismo medicamento administrado a distintos pacientes diagnosticados con la misma patología no produce la misma respuesta en todos ellos, considerándose que una dosis efectiva y segura en unos pacientes puede ser infraterapéutica o tóxica en otros (177).

Los factores determinantes de esta variabilidad incluyen tanto factores genéticos como no genéticos y puede afectar a los procesos farmacocinéticos (PK) de absorción, distribución, metabolización y excreción o a los procesos farmacodinámicos (PD) relacionados con la interacción del fármaco con el receptor o diana farmacológica (178). Las proteínas que participan en los procesos PK/PD están codificadas por genes cuya expresión difiere de unos individuos a otros, motivo que explicaría gran parte de las diferencias en la respuesta a los medicamentos, a partir de las características genéticas (179).

El término “farmacogenética” fue utilizado por primera vez en 1959 por Friedrich Vogel para designar el estudio del papel que juegan las variaciones genéticas de manera individualizada en la respuesta a los medicamentos (180). Por lo tanto, la farmacogenética se define como la disciplina científica que estudia el perfil genético de cada individuo o población relacionado con la variabilidad de la respuesta a los medicamentos, en términos tanto de eficacia como de seguridad, y permite optimizar ambas características de los diferentes fármacos (181).

En los últimos años, la medicina individualizada ha experimentado un gran avance impulsado por la finalización del Proyecto Genoma Humano y el Proyecto Internacional HapMap. La descodificación del genoma humano ha desvelado que existen diferencias entre el genoma de dos personas en el 0,1%, por lo que el 99,9% de las bases que forman el ADN humano es idéntico para todos los individuos. Mediante la comparación de este 0,1% distinto se podrá conocer la posible relación entre determinadas regiones del genoma y la predisposición

genética a determinadas enfermedades, así como identificar mutaciones que puedan explicar las diferencias entre las respuestas individuales a los tratamientos farmacológicos (182).

Un polimorfismo genético se define como la presencia de dos o más alelos en un mismo locus génico, con una frecuencia de al menos el 1% de la población, originando variaciones en la secuencia de nucleótidos del ADN entre individuos de una población (183). Se conocen diferentes tipos de polimorfismos genéticos, como el polimorfismo de nucleótido único (SNP) y el polimorfismo de número variable de secuencias repetidas [*Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR); *Short Tandem Repeats* (STRs)]. El SNP representa el 90% de la variabilidad genética, se caracteriza por la sustitución de un único nucleótido [adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)] en la secuencia del ADN y aparece con una frecuencia aproximada de uno cada mil nucleótidos, considerándose el polimorfismo con mayor interés en farmacogenética (184).

En la actualidad se considera que los genes humanos pueden presentar polimorfismos genéticos que pueden conducir a modificaciones funcionales significativas y, por consiguiente, conllevar a una expresión alterada del gen o a una actividad diferente del producto génico. El estudio de los polimorfismos que afectan a receptores y dianas farmacológicas tiene interés para conocer su implicación en la respuesta a los fármacos.

En ocasiones, es frecuente analizar varios polimorfismos simultáneamente en posiciones polimórficas presentes en una misma región de forma conjunta. Esto se debe a que algunos SNPs, por estar localizados muy cerca físicamente, se heredan juntos en pequeños bloques de desequilibrio de ligamiento (185). El desequilibrio de ligamiento es un fenómeno que puede ser entendido como una co-segregación de dos posiciones polimórficas, de forma que el conocimiento de un alelo en un SNP puede predecir el alelo del otro SNP, si la probabilidad de asociación es alta entre estos dos polimorfismos (186,187). Por este motivo, es interesante identificar el conjunto de alelos que se transmiten juntos en cada cromosoma. La combinación específica de alelos de distintos SNPs relacionados, localizados muy próximos entre sí en un cromosoma, constituye una serie de SNPs en bloque denominada "haplotipo" (185).

El objetivo fundamental que persigue la farmacogenética es optimizar el

tratamiento de manera individual mediante una terapia personalizada más segura y eficiente, identificando los SNPs y/o haplotipos o alelos conjuntos que se transmiten juntos relacionados con la respuesta a un medicamento. La farmacogenética puede ayudar a seleccionar a los pacientes que podrían responder mejor o peor a un fármaco determinado antes de iniciar el tratamiento, creando un perfil farmacogenético, seleccionar la medicación más apropiada y segura para un determinado paciente y seleccionar la dosis más adecuada y segura para pacientes con unas determinadas características genotípicas y fenotípicas (178).

1.3.1. Farmacogenética del rituximab

La introducción del rituximab como anticuerpo monoclonal anti-CD20 ha conducido a mejorar la eficacia del tratamiento de los LNH, en general, y del linfoma folicular, en particular, observándose un importante beneficio en la SG de la enfermedad en comparación con los controles históricos de las últimas décadas (84).

El rituximab se ha convertido en una terapia esencial para el tratamiento convencional de los LNH, tanto en primera línea como en el mantenimiento y en las recaídas (160). Sin embargo, todavía existen dos retos en el tratamiento de los LNH, como son la falta de respuesta y la resistencia (162). La variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento con rituximab se ha relacionado con la presencia de diferentes SNPs en genes implicados en su mecanismo de acción, como factor principal. La identificación temprana de aquellos pacientes que puedan responder positivamente al rituximab podría servir de ayuda para establecer un tratamiento efectivo a este medicamento, así como de minimizar los costes y mejorar la seguridad de su uso.

A lo largo de los años, se han incrementado las investigaciones relacionadas con la susceptibilidad de padecer determinadas enfermedades y de cómo determinados SNPs intervienen en el desarrollo de las mismas. También se están ampliando los estudios farmacogenéticos que permiten llevar a cabo una terapéutica basada en “la medicina personalizada”.

En relación con el mecanismo de acción del rituximab, son numerosos los estudios realizados sobre la influencia de los polimorfismos presentes en los

genes involucrados en la CCDA y la respuesta que se consigue en los LNH, especialmente en el linfoma folicular y en el LDCBG (188–194). Por el contrario, los estudios realizados sobre la influencia de los polimorfismos en los genes relacionados con la apoptosis y la respuesta al tratamiento con rituximab son escasos, de ahí la importancia de seguir investigando acerca de los mismos.

1.3.1.1. Polimorfismos relacionados con la CCDC

C1q desempeña un papel importante en la eliminación de cuerpos apoptóticos a través de la vía clásica de activación del complemento y es un elemento fundamental para la actividad terapéutica *in vivo* del rituximab (195,196).

En un estudio realizado por Racila et al. (196) se evaluó el impacto del polimorfismo A276G localizado en el gen *C1QA* sobre la tasa de respuesta con rituximab en monoterapia en pacientes con linfoma folicular. Se observó que los homocigotos para el alelo G (GG) presentaban niveles séricos elevados de C1q y mayores tasas de recaída que los portadores del alelo A (AA/AG). Asimismo, los homocigotos para el alelo A obtenían una tasa de respuesta completa más elevada que los heterocigotos (AG) y los homocigotos para el alelo G.

1.3.1.2. Polimorfismos relacionados con la CCDA

En pacientes diagnosticados de linfoma CD20+, el rituximab favorece el reclutamiento de células efectoras de la CCDA, como las células NK y los macrófagos, que expresan receptores Fc (FcγRIIa o CD32a y FcγRIIIa o CD16a). El gen *FCGR3A* muestra un dimorfismo funcional que genera dos alelos, codificando para valina o fenilalanina (*FCGR3A* 158V/F). El principal polimorfismo del gen *FCGR2A* es una mutación que afecta al aminoácido en la posición 131, codificando para arginina o histidina (*FCGR2A* 131R/H) (197).

Los polimorfismos relacionados con la CCDA han sido los más estudiados hasta el momento. De esta manera, los estudios realizados por Carton et al. (188) en linfoma folicular tratado con rituximab en monoterapia, Kim et al. (197) en LDCBG tratado con R-CHOP y Zhang et al. (189) en LNH (LDCBG y LNH tipo T) tratado con R-CHOP concluyen que los portadores del alelo *FCGR3A* 158V eran más sensibles y se correlaciona con una mejor y más rápida tasa de respuesta que

el alelo 158F considerándose un predictor de la respuesta, sin embargo, no asociaron el polimorfismo *FCGR2A* 131H/R con la respuesta por no encontrar diferencias estadísticamente significativas. Además, Veeramani et al. (190) evaluaron a pacientes diagnosticados de diferentes enfermedades proliferativas de células B, una vez administrada una dosis estándar de rituximab como fármaco único o formando parte de una terapia combinada, valorando si los polimorfismos del gen *FCGR3A* afectaban al número y la activación de células NK. Asimismo, observaron que el rituximab producía una activación de células NK en los pacientes que presentaban los genotipos 158VF/VV y no con el genotipo 158FF. Este descubrimiento podría ayudar a explicar mejores resultados clínicos en el subgrupo de pacientes con polimorfismo *FCGR3A* 158VF/VV tratados con rituximab.

Por el contrario, Prochazka et al. (191) no encontraron diferencias entre los genotipos *FCGR3A* en la respuesta al tratamiento en pacientes diagnosticados de linfoma folicular después de la inmunoterapia, a diferencia de Weng et al. (192) que estudiaron los polimorfismos *FCGR3A* y *FCGR2A* observando que, tanto el genotipo *FCGR3A* 158VV como el genotipo *FCGR2A* 131HH, se asociaban independientemente con la tasa de respuesta y la enfermedad libre de progresión. En otro estudio llevado a cabo por Paiva et al. (193) se observó que los pacientes con genotipo *FCGR2A* 131HH presentaban mayor porcentaje de respuesta completa en comparación con el genotipo *FCGR2A* 131RR, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas en términos de SG o SLP entre los alelos. Se postuló que el genotipo HH aumentaba la afinidad del receptor FcγRIIIa mejorando la unión con el rituximab. Por otro lado, las células efectoras, además de expresar en su superficie receptores FcγRIIIa (CD16) y FcγRIIIa (CD32a), cuyas funciones son activadoras, también expresan el receptor FcγRIIb (CD32b) con actividad inhibidora.

El receptor FcγRIIb, con actividad inhibidora, es expresado tanto en macrófagos como en linfocitos B. Se ha identificado que el polimorfismo en la posición 232 puede codificar para Isoleucina o Treonina (*FCGR2B* 232I/T) (194). En un estudio realizado por Weng et al. (194) se evaluó, de igual manera, la influencia del polimorfismo *FCGR2B* en la respuesta al tratamiento de rituximab en linfoma folicular. El genotipo predominante en los pacientes de este estudio fue 232II seguido de 232IT y 232TT. La tasa de respuesta fue similar entre los tres

grupos y no se encontraron diferencias entre la SLP y el tiempo medio de progresión entre 232II y 232IT (no se determinó con *TT* por el bajo número de pacientes que lo presentaban).

1.3.1.3. Polimorfismos relacionados con la inducción de la apoptosis

La apoptosis o muerte celular programada es un mecanismo fisiológico de eliminación celular estrechamente regulado y caracterizado por una secuencia de cambios morfológicos. A nivel molecular, se trata de una cadena de señales que están reguladas positiva y negativamente manteniendo la homeostasis y concluyendo con la activación de la cascada proteolítica donde participan proteínas de la familia de las caspasas (198). La apoptosis puede activarse mediante dos mecanismos diferenciados, por vía intrínseca cuando se altera la permeabilidad mitocondrial por señales de estrés intracelular, y por vía extrínseca a través de la unión en la membrana plasmática de citoquinas de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF), tales como FASL, TRAIL y TNF- α , a los receptores del TNF (199). La apoptosis desempeña un papel protector frente a posibles enfermedades, sin embargo, este mecanismo se puede ver alterado durante el desarrollo del cáncer, favoreciendo la progresión tumoral y la resistencia a las terapias antitumorales habituales (200). Los SNPs que tienen lugar en los genes que codifican a receptores y moléculas relacionados con la apoptosis se han asociado con la susceptibilidad a padecer enfermedades autoinmunes, neurodegenerativas o cáncer.

A nivel de la apoptosis mitocondrial, es frecuente que los linfomas foliculares presenten la translocación t(14;18). La translocación yuxtapone el gen *BCL2*, localizado en el cromosoma 18, a la región potenciadora del gen de las inmunoglobulinas localizada en el cromosoma 14. La región potenciadora favorece la sobreexpresión del gen *BCL2* y la producción de la proteína mitocondrial *BCL2* responsable del bloqueo de la apoptosis, convirtiéndose en un evento iniciador de la oncogénesis del linfoma folicular (201).

Las vías de señalización extrínseca están mediadas por receptores de la superfamilia del TNF (TNFRSF) que representan glicoproteínas transmembranales cuya estructura está constituida por una fracción extracelular, una región transmembrana y una región intracelular (202). Estos receptores

contienen un “dominio de muerte” (DD), que permite su interacción con unas proteínas que albergan un dominio homólogo. Hay cuatro receptores principales de muerte: FAS, también conocido como CD95 o APO1 (gen *TNFRSF6*); TRAILR1 o DR4 (gen *TNFRSF10A*); TRAILR2 o DR5 (gen *TNFRSF10B*); y TNFR1 o DR1 (gen *TNFRSF1A*). Las células citotóxicas efectoras expresan en su superficie determinados ligandos extracelulares de muerte celular implicados en la modulación de la supervivencia celular mediante la activación de la apoptosis, como FASL, TRAIL y $TNF\alpha$, que median la citotoxicidad directa de células sensibles que expresan los receptores correspondientes a cada ligando (FAS, TRAILR y TNFR, respectivamente) (203). En la **Figura 1.11** se muestran los receptores de muerte celular y sus correspondientes ligandos.

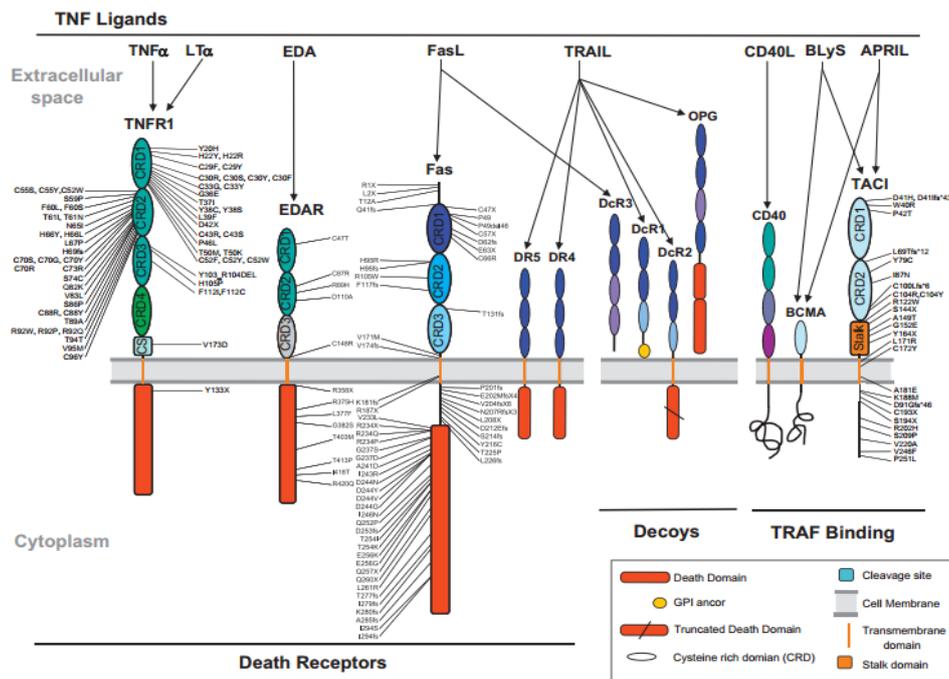


Figura 1.11. Receptores de muerte celular y los correspondientes ligandos (202).

El ligando TRAIL puede unirse a cuatro receptores, TRAILR1 (“*death receptor 4*”, DR4) y TRAILR2 (“*death receptor 5*”, DR5) que contienen un DD citoplasmático y transmiten señales proapoptóticas, y TRAILR3 (DcR1) y TRAILR4 (DcR2) que actúan como receptores de membrana y están desprovistos de dominios de unión con una proteína adaptadora. Los receptores FAS,

TRAILR1 y TRAILR2 se unen a la misma proteína adaptadora intracelular, FADD (“FAS-associated death domain protein”), mientras que TNFR1 se une a la proteína adaptadora TRADD (“TNF receptor-associated death domain protein”). Ambas proteínas adaptadoras pueden estimular la producción de la proteína iniciadora caspasa 8, siendo capaz de activar la caspasa 3 efectora y desencadenar el proceso de la apoptosis (203,204). En la **Figura 1.12** se muestran las principales rutas activadas por receptores de la familia TNF (TNFR).

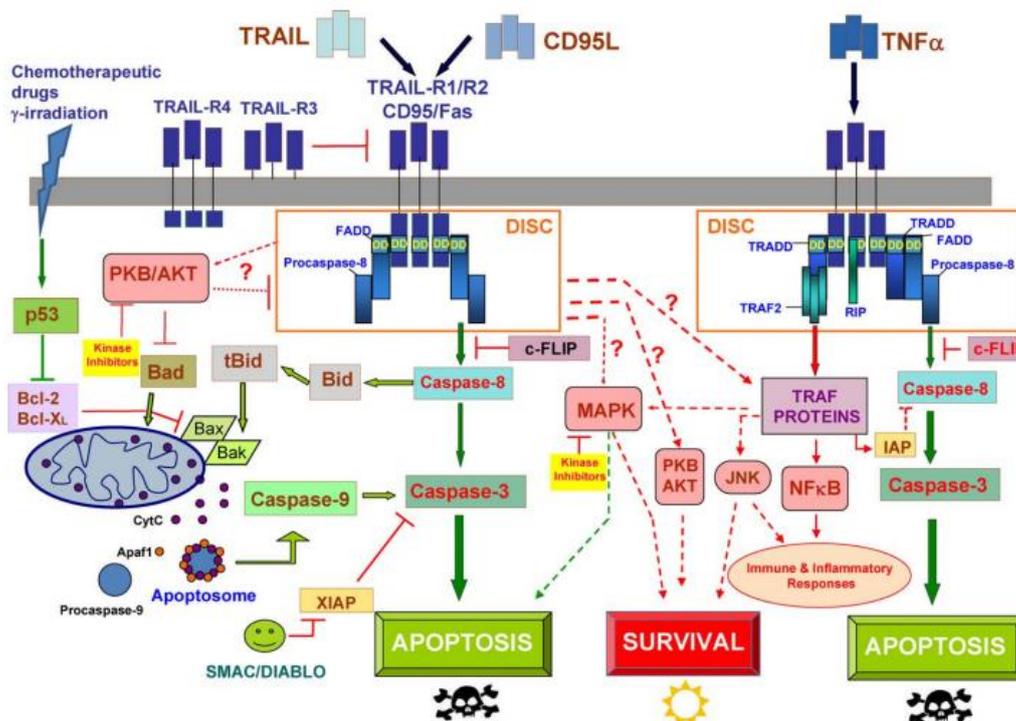


Figura 1.12. Principales rutas activadas por receptores de la familia TNFR (199).

Los receptores TRAILR1 y TRAILR2 se han relacionado con la participación en la regulación de diferentes poblaciones de células linfoides, en particular con la prevención de la expansión de linfocitos autorreactivos y el desarrollo de trastornos autoinmunes (205). En diversos estudios *in vivo* realizados, se han publicado datos que demuestran la interferencia de rituximab en los sistemas FASL/FAS y TRAIL/TRAILR mediante la sensibilización de líneas celulares tumorales de LNH de células B y la inducción de la apoptosis mediada por TRAIL (206,207) y por FASL (208,209).

Los genes que codifican para receptores y ligandos relacionados con la apoptosis por vía extrínseca se encuentran localizados en la región cromosómica 10q24.1 para *FAS*, 8p21 para *TRAILR1*, 12p13.2 para *TNFR1*, 1q23 para *FASL*, 3q26 para *TRAIL* y 6p21.3 para *TNF* (210).

Hasta el momento, no existen estudios publicados que analicen la influencia de los polimorfismos en genes de receptores TNFRSF en la respuesta al tratamiento con rituximab. Sin embargo, se han desarrollado diversos estudios farmacogenéticos sobre la influencia de polimorfismos en genes de apoptosis y la respuesta a tratamiento con terapias biológicas en enfermedades autoinmunes. En un estudio realizado por Hlavaty et al. (211) se demostró la relación de los genotipos GG y TT de *FAS* rs1800682 (-670A>G) y *FASL* rs763110 (-844C>T), respectivamente, con la no respuesta al tratamiento con el anticuerpo monoclonal anti-TNF α , infliximab, en pacientes con enfermedad de Crohn. Por otro lado, en un estudio llevado a cabo por Morales-Lara et al. (212) se encontró evidencia de que el genotipo CC en *TRAILR1* rs20575 (C626G) se asociaba con una mejor respuesta al tratamiento con anti-TNF α (adalimumab, infliximab y etanercept) en sujetos diagnosticados de Artritis Reumatoide (AR) y Artritis Psoriásica (APs), mientras que el alelo G estaba relacionado con una peor respuesta a infliximab (213). El polimorfismo *TNFR1* rs767455 (A36G) muestra una asociación distinta con efectos opuestos en la respuesta a anti-TNF α según la enfermedad considerada en el análisis. Mientras que los pacientes con APs portadores del genotipo AA presentan una mejor respuesta al tratamiento, en pacientes con AR con el mismo genotipo manifiestan una peor respuesta a dichos fármacos (212).

En los últimos años, se han relacionado diferentes polimorfismos en genes que codifican para el receptor *TRAILR1* con la susceptibilidad de desarrollar varios tipos de cáncer, como cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, LNH y cáncer de mama. En un metaanálisis publicado por Chen et al. (214), los polimorfismos estudiados fueron *TRAILR1* rs20575 (C626G), *TRAILR1* rs2230229 (A1322G) y *TRAILR1* rs20576 (A683C), de los cuales el alelo G de *TRAILR1* rs2230229 y el alelo C de *TRAILR1* rs20576 se asociaron con un incremento del riesgo de cáncer. Así mismo, en un estudio realizado en Heredia-Galvez et al. (215) en pacientes diagnosticados de LNH y LH se ha demostrado que el alelo A (AG/AA) del polimorfismo rs12488654 (G716A) en el gen *TRAIL* presentan una fuerte asociación con el riesgo de desarrollo de linfomas.

En relación con polimorfismos en genes que codifican para el sistema FASL/FAS, diversas investigaciones han demostrado que *FAS* rs1800682 y *FASL* rs763110 se relacionan con la susceptibilidad de desarrollar cáncer (216). Para el polimorfismo *FASL* rs763110, el alelo C se ha asociado con una mayor expresión basal de FASL en células T y, por consiguiente, con una mayor tasa de apoptosis que sugiere un aumento en el riesgo de desarrollar cáncer, en comparación con el alelo T que reduce significativamente la expresión de FASL (217). Se ha observado que los individuos con el genotipo TT tienen un menor riesgo de cáncer que los individuos con el genotipo CC (218). En relación con estos hallazgos, se ha confirmado que el genotipo CC aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de páncreas, a diferencia del genotipo TT que lo disminuye (219).

El polimorfismo *FAS* rs1800682 ha demostrado estar implicado en la patogénesis, las manifestaciones clínicas y la supervivencia de la leucemia de células T en individuos adultos (ATL). El genotipo AA se encontraba sobreexpresado en pacientes diagnosticados de ATL y comprendía subgrupos clínicos significativamente más agresivos (agudos y linfomas). Asimismo, la presencia de un alelo A (genotipos AA y AG) se asoció con un aumento de la mortalidad durante el primer año de seguimiento desde el diagnóstico de ATL en relación con el genotipo GG (220).

Debido al papel que juega los TNFRSF en el mantenimiento de la homeostasis del sistema inmune y la asociación entre diversos polimorfismos en genes que codifican para estos receptores de muerte con la susceptibilidad a desarrollar cáncer o la respuesta a la inmunoterapia (211,212,214–216,218,221,222), estudiar SNPs en genes que codifican para receptores y ligandos de los sistemas FAS/FASL, TRAILR/TRAIL y TNFR1/TNF α , involucrados en la apoptosis a través de la vía extrínseca, ayudaría a esclarecer su implicación en la respuesta al tratamiento con rituximab, tales como *FASL* rs763110, *FAS* rs1800682, *TRAIL* rs12488654, *TRAILR1* rs20575, *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229 y *TNFR1* rs767455.

El desarrollo de investigaciones encaminadas a la búsqueda de marcadores farmacogenéticos válidos que puedan predecir la respuesta a este tipo de fármacos ha estado favorecido por la falta respuesta completa al tratamiento en un porcentaje considerable de pacientes, la aparición de efectos adversos y el elevado coste que supone el uso de las terapias biológicas. A pesar de que se han

descrito un número elevado de polimorfismos en relación con su influencia en la respuesta al tratamiento farmacológico con rituximab en diversos linfomas, por el momento no existe un marcador genético validado para su utilización en la práctica clínica.

II - JUSTIFICACIÓN

II - JUSTIFICACIÓN

La ampliación del conocimiento de la biología molecular ha permitido conocer mejor la fisiopatología del linfoma folicular y desarrollar nuevos fármacos que actúen frente a distintas dianas terapéuticas ampliando el arsenal farmacológico.

De este modo, la introducción del rituximab como fármaco específicamente dirigido hacia los CD20 ha permitido aumentar la supervivencia de los pacientes con linfoma folicular y mejorar la respuesta al tratamiento convencional, hecho que marcó un antes y un después en la terapéutica de la enfermedad. A pesar de ello, aún sigue habiendo un destacado porcentaje de pacientes que no responden de manera satisfactoria al tratamiento.

La respuesta a los medicamentos es un proceso complejo en el que intervienen diversos factores, por lo que resulta fundamental evaluar e identificar aquellos que puedan explicar la heterogeneidad entre los pacientes. En los últimos años, la farmacogenética se ha ido desarrollando como una de las disciplinas en auge dentro de la investigación biomédica aplicada. Gran parte de la variabilidad interindividual en la respuesta puede deberse a la variación genética entre individuos. La identificación de polimorfismos que puedan influir en la respuesta a rituximab en pacientes con linfoma folicular ayudaría a emplear una terapia más eficiente, evitando efectos adversos y costes innecesarios, así como a predecir la respuesta al tratamiento.

La inducción de la apoptosis se ha establecido como uno de los mecanismos de acción del rituximab. Por ello, la hipótesis de partida de este trabajo es que los SNPs presentes en genes funcionales que codifican para moléculas implicadas en la apoptosis por vía extrínseca, tales como *FAS*, *FASL*, *TRAILR1*, *TRAIL* y *TNFR1*, pueden estar relacionados con la variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento con el anticuerpo monoclonal anti-CD20 rituximab, considerando la identificación de estos polimorfismos como marcadores farmacogenéticos útiles en el manejo clínico de los pacientes con linfoma folicular, para mejorar y optimizar la farmacoterapia.

III - OBJETIVOS

III - OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

- Evaluar, mediante un estudio farmacogenético y de alelos conjuntos, la influencia de polimorfismos tipo SNPs en genes que codifican para receptores y ligandos relacionados con la apoptosis (*TRAILR1* rs20575, *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAIL* rs12488654, *FAS* rs1800682, *FASL* rs763110, *TNFR1* rs757455) en la respuesta al tratamiento de inducción en primera línea con rituximab, en pacientes diagnosticados de linfoma folicular, a mitad del tratamiento (3-4º ciclos) y al final del tratamiento.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Evaluar el impacto de diversos factores clínicos con la respuesta al tratamiento con rituximab como fármaco incluido en el esquema de inducción en primera línea.
- Analizar la asociación y predicción de factores clínico-biológicos y de polimorfismos en genes relacionados con la apoptosis con la supervivencia.

IV - MATERIAL Y MÉTODO

IV - MATERIAL Y MÉTODO

4.1. DISEÑO Y ÁMBITO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio observacional analítico de cohortes, retrospectivo, de pacientes diagnosticados de linfoma folicular que iniciaron tratamiento con rituximab como inmunoterapia incluida en los esquemas de inducción en primera línea.

El estudio se ha llevado a cabo en el Servicio de Hematología del Complejo Hospitalario Universitario de Cartagena, compuesto por el Hospital General Universitario Santa Lucía (HGUSL) y el Hospital General Santa María del Rosell (HGSMR), con pacientes pertenecientes al Área de Salud II del Servicio Murciano de Salud de la Región de Murcia, y en el Servicio de Hematología del Hospital General Universitario Morales Meseguer (HGUMM) de Murcia, con pacientes pertenecientes al Área de Salud VI del Servicio Murciano de Salud.

La inclusión de pacientes y recolección de muestras se realizó de manera prospectiva. El periodo del estudio para la recogida de datos clínicos estuvo comprendido entre mayo de 2013 y mayo de 2016.

4.2. SUJETOS DEL ESTUDIO

La recogida de la muestra se hizo entre enero de 2006 y mayo de 2014. La población a estudio comprende un subgrupo de una serie previamente descrita de 131 pacientes diagnosticados de linfoma folicular (223). Se incluyeron un total de 126 pacientes diagnosticados de linfoma folicular (59 pacientes procedentes del Complejo Hospitalario HGUSL-HUSMR y 67 pacientes procedentes del HGUMM) que iniciaron tratamiento con rituximab durante el periodo de recogida de muestra.

4.2.1. Criterios de inclusión

- Pacientes con diagnóstico confirmado de linfoma folicular.
- Pacientes que iniciaron tratamiento de inducción en primera línea con un esquema farmacológico que contenga rituximab.
- Pacientes que completaron el tratamiento de inducción en primera línea con un esquema farmacológico con rituximab y aquellos que no completaron tratamiento por progresión del linfoma como motivo de la suspensión.
- Participación voluntaria en el estudio mediante la obtención del Consentimiento Informado (**Anexo 1**) de cada paciente de acuerdo con la Ley de Investigación Biomédica del 4 de julio de 2007.

4.2.2. Criterios de exclusión

- Pacientes con edad menor a 18 años en el momento del inicio del tratamiento farmacológico de inducción en primera línea con inmunoterapia con rituximab.
- Pacientes a los que no se les ha podido evaluar y confirmar la respuesta al tratamiento antineoplásico mediante técnicas de imagen (TAC o PET-TAC).
- Pacientes que denegaron su participación para participar en el estudio, mediante la no obtención del Consentimiento Informado.

4.2.3. Aspectos éticos

Las investigaciones biomédicas, tales como los estudios farmacogenéticos, precisan de la obtención de muestras biológicas procedentes de pacientes o sujetos que participen en el estudio. Para ello, es necesario solicitar la autorización de la incorporación de material biológico sobrante proveniente de pruebas que forman parte de un proceso asistencial, siendo estas muestras incorporadas a un biobanco que las custodia. Posteriormente, estas muestras biológicas se utilizan

para extraer el ADN y determinar los polimorfismos genéticos, para llevar a cabo el estudio farmacogenético.

La recogida de la muestra se realizó en las consultas de los Servicios de Hematología de los tres mencionados Hospitales previa entrega a los pacientes del Consentimiento Informado (**Anexo 1**) por escrito, aprobado previamente por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Complejo Hospitalario del Área 2 de Cartagena y por el Comité Científico del Instituto Murciano de Investigaciones Biomédicas (IMIB). A cada paciente se le informaba acerca de la incorporación de la muestra biológica en el biobanco, de las condiciones en las que se llevaba a cabo y del derecho de retirarse del estudio sin que esto ocasionase perjuicio alguno.

El Consentimiento Informado se elaboró de acuerdo a lo establecido en la Ley 14/2007, del 4 de julio de Investigación Biomédica. El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los participantes del estudio se llevó a cabo según lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de Protección de Datos Personales, garantizando la confidencialidad de los datos.

4.3. VARIABLES DEL ESTUDIO

4.3.1. Recogida de datos

La recogida de los datos clínicos necesarios para llevar a cabo el estudio se realizó de forma sistemática mediante su registro en una base de datos compuesta por una hoja Excel® que incluía las variables del estudio.

Los datos del estudio se obtuvieron a partir de la revisión de las historias clínicas informatizadas (Selene®), de las historias clínicas en formato papel y de las analíticas incluidas en el programa electrónico del laboratorio de Análisis Clínico (Servolab®).

4.3.2. Datos clínicos

Las variables clínicas recogidas en el estudio se indican en la **Tabla 4.1** y se

definen a continuación:

a. Características del paciente

- Características demográficas: edad, género. Según la edad al diagnóstico, los pacientes se clasificaron en dos grupos, < 60 años y \geq 60 años.
- Variables analíticas y moleculares al diagnóstico: presencia de VHB, VHC y VIH, presencia de médula ósea infiltrada, grado histológico clasificado como grado 1, 2 o 3 (englobándose en dos grupos: grado 1-2 y grado 3), nivel de β 2-microglobulina (se consideró β 2-microglobulina elevada a valores > 1,8 μ g/mL), nivel de LDH (se consideró LDH elevada a valores > 246 UI/mL), nivel de hemoglobina (se clasificaron a los pacientes en dos grupos considerando como punto de corte un nivel de hemoglobina de 12 g/dL: < 12 g/dL o \geq 12 g/dL).
- Sistemas de estadios y clasificaciones pronósticas del linfoma folicular: escala FLIPI clasificada como riesgo bajo (0-1 factores de riesgo), intermedio (2 factores de riesgo) o alto (\geq 3 factores de riesgo) que contribuye a valorar la enfermedad y elaborar un plan estratégico para cada grupo (82); estadio de Ann Arbor que agrupa los linfomas en función de la extensión de la enfermedad en el momento del diagnóstico, clasificado como estadio I, II, III o IV (78).
- Estado funcional al diagnóstico clasificado mediante la escala ECOG (69).
- Antecedentes oncológicos descritos como tipo de cáncer.
- Presencia de síntomas B.
- Presencia de enfermedad voluminosa o masas *bulky*.

b. Variables relacionadas con el tratamiento

- Fecha de inicio del tratamiento de inducción en primera línea con inmunoterapia con rituximab.
- Tratamiento con radioterapia previa o concomitante a la administración del tratamiento de inducción en primera línea: descripción de la zona de irradiación y dosis administrada.

- Esquema del tratamiento de inducción en primera línea, número de ciclos administrados y cambio o suspensión de algún medicamento del esquema utilizado.
- Tratamiento de mantenimiento con rituximab, tras obtener RC o RP al tratamiento de inducción en primera línea, indicando la pauta posológica administrada y el número de dosis.
- TPH indicando el tipo de trasplante.

c. Variables relacionadas con la respuesta.

- Tipo de técnica de imagen utilizada en la evaluación de la respuesta (TAC o PET-TAC).
- Tasa de respuesta según los “Criterios de Cheson” revisados por el Grupo Internacional de Trabajo para la evaluación por PET-TAC (154) y “Criterios de respuesta de Lugano” para a la evaluación por TAC (67).
- Fecha de documentación de la obtención de RC.
- Número de recaídas, fecha de fin de seguimiento y causas de fallecimiento.

d. Variables relacionadas con la supervivencia.

- Fecha del último contacto o revisión.
- SG. Se consideró el periodo de tiempo (meses) desde el momento del diagnóstico (fecha de confirmación anatomopatológica, histológica e inmunohistoquímica) hasta la fecha de fallecimiento por cualquier causa. Los pacientes perdidos durante el seguimiento y los no fallecidos en el momento de finalizar el estudio fueron censurados a fecha del último contacto.
- SLP. Se consideró el periodo de tiempo (meses) desde la fecha del inicio del tratamiento hasta la primera evidencia de progresión. La SLP se censuró en la fecha de fallecimiento o en la fecha del último seguimiento en los pacientes que continuaban libres de progresión en ese momento.

Tabla 4.1. Variables clínicas incluidas en el estudio.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	
<i>Características del paciente</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Edad - Género - ECOG - Antecedentes oncológicos - Presencia de síntomas B - Presencia de enfermedad voluminosa (<i>Bulky</i>)
<i>Datos analíticos y moleculares al diagnóstico</i>	<ul style="list-style-type: none"> - VHB - VHC - VIH - Nivel de β2-microglobulina - Nivel de LDH - Nivel de Hemoglobina - Presencia de médula ósea infiltrada - Grado histológico
<i>Sistemas de estadiaje y clasificaciones pronósticas</i>	<ul style="list-style-type: none"> - FLIPI - Estadio de Ann Arbor
TRATAMIENTO	
<ul style="list-style-type: none"> - Fecha inicio del tratamiento - Radioterapia previa o concomitante a la administración del tratamiento de inducción en primera línea - Esquema de inducción en primera línea - Número de ciclos recibidos, cambio o suspensión de algún medicamento del esquema utilizado - Tratamiento de mantenimiento con rituximab - Trasplante de progenitores hematopoyéticos 	
RESPUESTA	
<ul style="list-style-type: none"> - Tipo de evaluación de la respuesta (TAC o PET-TAC) - Tasa de respuesta según los “Criterios de Cheson” revisados por el Grupo Internacional de Trabajo y “Criterios de respuesta de Lugano” 	

Tabla 4.1. Variables clínicas incluidas en el estudio.

RESPUESTA
<ul style="list-style-type: none"> - Fecha de documentación de RC - Número de recaídas - Fecha de fin de seguimiento - Causas de fallecimiento
SUPERVIVENCIA
<ul style="list-style-type: none"> - Supervivencia global - Supervivencia libre de progresión

4.4. CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA

La respuesta al tratamiento fue evaluada tras recibir la mitad de los ciclos previstos del esquema de inducción en primera línea, es decir, al 3-4º ciclo y al finalizar el tratamiento, utilizando técnicas de imagen (TAC o PET-TAC).

Para evaluar la respuesta se utilizaron los “Criterios de Cheson” revisados por el Grupo Internacional de Trabajo y “Criterios de respuesta de Lugano”, en función de la técnica de imagen empleada, clasificándose como RC, RP, EE y PE (67,154).

Se agruparon a los pacientes como respondedores cuando alcanzaron la RC y respondedores parciales-no respondedores al resto de pacientes que presentaron RP, EE o PE en la evaluación de la respuesta.

4.5. ESTUDIO FARMACOGENÉTICO

4.5.1. Muestras

Se utilizaron muestras de capa leucoplaquetar obtenidas por centrifugación de 5 mL de sangre periférica recogida en tubo de hemograma anticoagulado con ácido etildiaminotetraacético (EDTA) tripotásico, a 2500 rpm durante 5 minutos, empleando la centrífuga Sorvall S6.

4.5.2. Extracción de ADN y cuantificación

La extracción de ADN de las muestras de capa leucoplaquetar se llevó a cabo mediante el método de purificación en columna Qiagen® empleando el Kit QIAmp® DNA minikit (Qiagen, Hilden, Alemania) y el equipo de extracción automatizado QIAcube® (Qiagen, Hilden, Alemania). El sistema QIAmp® proporciona el aislamiento y purificación del ADN en cuatro etapas integradas sin interrupciones con el equipo automatizado QIAcube®. El procedimiento de purificación se describe a continuación (224):

- Lisis de las células presentes en la muestra en condiciones de desnaturalización a altas temperaturas.
- Unión del ADN del lisado celular a la membrana de la columna de centrifugación. Se añade etanol a los lisados, se aplican a la columna de centrifugación y, a medida que el lisado la atraviesa, el ADN se adsorbe sobre la membrana de gel de sílice mientras que los contaminantes pasan a través de ella.
- Lavado de la membrana con dos soluciones tampón de lavado para eliminar los contaminantes, permaneciendo unido el ADN a la membrana de la columna de centrifugación.
- Elución del ADN de la membrana con la solución tampón de elución.

La cuantificación del ADN se llevó a cabo mediante la metodología de absorbancia ultravioleta (UV) utilizando el espectrofotómetro Eppendorf BioPhotometer® (Hamburgo, Alemania).

4.5.3. Genotipado

La detección de los polimorfismos (*TRAILR1* rs20575, *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAIL* rs12488654, *FAS* rs1800682, *FASL* rs763110, *TNFR1* rs757455) se realizó utilizando sondas KASPar® (KBioscience, Hertfordshire, Reino Unido) basadas en una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) competitiva alelo específica empleando la tecnología FRET (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*). Para llevar a cabo la PCR competitiva, se utilizó el equipo de

PCR a tiempo real 7500F de Applied Biosystems® (Foster City, CA, EEUU) en placas de 96 pocillos.

Este sistema emplea una Taq polimerasa modificada sin actividad 3'-5' exonucleasa y cebadores que generan productos de PCR fluorescentes permitiendo genotipar el SNP en un paso único. Está diseñado como un ensayo multiplex que detecta ambos alelos en un único tubo de reacción con tres *primers* específicos para el SNP sin marcar y dos *primers* universales marcados con fluorescencia. Los *primers* universales marcados con fluorescencia, si no se unen al ADN molde, adoptan una estructura de horquilla en donde la molécula de fluorocromo se encuentra muy próxima a un apantallador o “*quencher*” que le impide la emisión de fluorescencia. Sin embargo, cuando son complementarios al ADN molde, la estructura de horquilla se rompe y el fluorocromo es capaz de emitir fluorescencia que es medida por el detector. En la PCR a tiempo real, los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea. A través de la detección de fluorescencia puede medirse la cantidad de ADN sintetizado conforme avanza la amplificación, siendo esta cantidad proporcional a la emisión de fluorescencia producida en la reacción.

La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones de temperatura y tiempo, para los polimorfismos *TRAILR1* rs20575 y *TNFR1* rs767455: 94°C durante 15 minutos seguidos de 35 ciclos de 57°C durante 25 segundos y 72°C durante 40 segundos. Asimismo, la PCR para los polimorfismos *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAIL* rs12488654, *FASL* rs763110 y *FAS* rs1800682, se realizó mediante el protocolo *touchdown*, bajo las siguientes condiciones de temperatura y tiempo: activación de la polimerasa a 94°C durante 15 minutos; 10 ciclos *touchdown* consistentes en desnaturalización durante 10 segundos a 94°C y temperatura de anillamiento durante 60 segundos con bajada desde 61°C a 55°C a razón de 0,6°C por ciclo para finalizar con 26 ciclos de 94°C durante 10 segundos y a una temperatura de anillamiento fija de 55°C durante 60 segundos.

La mezcla preparada para realizar la PCR competitiva está compuesta por 4 µL de DNA (concentración media 60 ng/µL), 4 µL de mezcla maestra 2X Kaspar Master Mix, 0,11µl de *primer* y sondas fluorescentes específicas de alelo y 0,064µl de MgCl₂ (50mM).

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables del estudio se representaron como frecuencia absoluta y relativa (porcentaje) para las categóricas y como media \pm desviación estándar (DE) o mediana [rango intercuartílico (RI): percentil 25-percentil 75] para las variables continuas, en función de que la variable presentara o no una distribución normal, respectivamente. Para verificar la normalidad de las variables continuas se representó gráficamente mediante un histograma de frecuencias y se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Una vez descrita la muestra, se analizó la asociación de cada una de las variables categóricas entre el grupo de pacientes respondedores y el grupo de respondedores parciales-no respondedores, así como entre los diferentes genotipos para los polimorfismos estudiados, empleando el test Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher cuando se observaba una frecuencia esperada menor a 5 en alguna de casilla de la tabla de contingencia, según procediera. Del mismo modo, para analizar la asociación de cada una de las variables continuas con los dos grupos clasificados en función de la respuesta y con los diferentes genotipos, se utilizó el test T de Student en caso de que siguieran una distribución normal o el test U de Mann-Whitney en caso opuesto. Los resultados de los polimorfismos se estudiaron siguiendo un modelo co-dominante, dominante, recesivo y por alelos.

La asociación entre las variables del estudio, incluidos los diferentes polimorfismos, y la respuesta al tratamiento como variable dependiente, se evaluó también mediante una regresión logística binaria no ajustada. Se estimó la prueba de Chi-cuadrado para cada variable como método para evaluar la importancia relativa de cada una dentro del modelo. Posteriormente, se realizó un análisis de regresión logística binaria multivariante que incluyó aquellas variables (covariables) que en el modelo de regresión logística binaria no ajustada presentaban una mayor puntuación en el test Chi-cuadrado, independientemente del valor de p, permitiendo elaborar un modelo multivariado y determinar el efecto de dichas variables. Del mismo modo, se seleccionaron aquellas covariables más relevantes en el modelo (parsimonioso) evitando el sobreajuste. Estas covariables fueron introducidas en un bloque mediante el método introducir. Los resultados obtenidos tanto en el análisis de regresión logística binaria no ajustada

como en el de regresión logística binaria multivariante se expresaron como Odds Ratio (OR) e intervalo de confianza al 95% (IC95%). La calibración del modelo se evaluó utilizando la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow y para la discriminación del modelo se empleó el Estadístico C.

En el análisis genético por alelos conjuntos se utilizó el test Chi-cuadrado de Pearson. Para interpretar la influencia de los distintos alelos se tuvieron en cuenta únicamente los alelos conjuntos que presentaban una frecuencia de aparición mayor al 10%, como porcentaje mínimo, en alguno de los dos grupos. El desequilibrio del ligamiento se consideró relevante cuando el valor del coeficiente de desequilibrio D normalizado (D') era superior a 0,500.

La confirmación de que los genotipos cumplían con el equilibrio de Hardy-Weinberg se evaluó utilizando el test Chi-cuadrado de Pearson aplicando la calculadora on-line de la Universidad de Tufts, EEUU, disponible en: www.tufts.edu.

Para el análisis de supervivencia se emplearon las curvas de Kaplan-Meier, comparando las curvas de supervivencia obtenidas mediante el test de Log-Rank. El modelo de regresión de Cox univariante (método introducir) se utilizó para evaluar el valor pronóstico independiente de las características basales y de los polimorfismos genéticos en la SLP y SG. Los resultados obtenidos se expresaron como Hazard Ratio (HR) con su correspondiente intervalo de confianza al 95%.

El valor $p < 0,05$ fue elegido como punto de corte para la significación estadística. Para llevar a cabo el análisis estadístico se utilizó el software estadístico SPSS® versión 22.0 para Windows® (IBM, Nueva York, Estados Unidos). El presente estudio se plantea como exploratorio o piloto y por ello no se ha realizado un cálculo del tamaño muestral. El análisis por alelos conjuntos se realizó mediante el software SHEsis para análisis genético disponible en la página web <http://analysis.bio-x.cn/myAnalysis.php>.

V - RESULTADOS

V - RESULTADOS

5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESULTADOS

5.1.1. Características basales

Se incluyeron en el estudio un total de 126 pacientes. Las características clínicas, los datos analíticos y moleculares al diagnóstico y las clasificaciones pronósticas y sistemas de estadiaje de los pacientes se describen a continuación en las siguientes **Tablas 5.1, 5.2 y 5.3**. La edad media fue $56,1 \pm 15,1$ años, siendo un 56,3% hombres. Los niveles al diagnóstico de LDH, $\beta 2$ -microglobulina y hemoglobina fueron normales en un 31,7%, 18,3% y 70,6%, respectivamente. Según el género, los niveles de hemoglobina fueron menores a 12 g/dL en 13 (19,1%) hombres y 20 (37,0%) mujeres. Más de la mitad de los pacientes presentaba un estadio III-IV (77,0%), un grado histológico 1-2 (76,2%) y un buen estado funcional (ECOG 0-1, 86,5%).

Tabla 5.1. Características basales de la población del estudio.

VARIABLES	COHORTE TOTAL (n=126)
Edad, años	56,1±15,1
Género masculino, n (%)	71 (56,3)
Grupos de edad, n (%)	
< 60 años	73 (57,9)
≥ 60 años	53 (42,1)
ECOG, n (%)	
0-1	109 (86,5)
≥ 2	13 (10,3)
No disponible	4 (3,2)
Antecedentes oncológicos, n (%)	
Sí	12 (9,5)
No	114 (90,5)

Tabla 5.1. Características basales de la población del estudio.

VARIABLES	COHORTE TOTAL (n=126)
Presencia de síntomas B, n (%)	
Sí	22 (17,5)
No	97 (77,0)
No disponible	7 (5,6)
Presencia de enfermedad <i>bulky</i> , n (%)	
Sí	7 (5,6)
No	119 (94,4)

ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*.

Tabla 5.2. Datos analíticos y moleculares de la población del estudio.

VARIABLES	COHORTE TOTAL (n=126)
VHB, n (%)	1 (0,8)
VHC, n (%)	1 (0,8)
LDH, UI/L	312,0 (RI: 194,0-394,5)
β 2-microglobulina, μ g/mL	2,5 (RI: 1,9-3,5)
Hemoglobina, g/dL	13,2 (RI: 11,8-14,2)
LDH, n (%)	
Elevada	80 (63,5)
Normal	40 (31,7)
No disponible	6 (4,8)
β 2-microglobulina, n (%)	
Elevada	88 (69,8)
Normal	23 (18,3)
No disponible	15 (11,9)
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)	
Sí	33 (26,2)
No	89 (70,6)
No disponible	4 (3,2)
Médula ósea infiltrada, n (%)	
Sí	63 (50,0)
No	51 (40,5)
No disponible	12 (9,5)

Tabla 5.2. Datos analíticos y moleculares de la población del estudio.

VARIABLES	COHORTE TOTAL (n=126)
Grado histológico, n (%)	
1-2	96 (76,2)
3A	23 (18,3)
3B	5 (4,0)
No disponible	2 (1,6)

LDH: *Lactato deshidrogenasa*; VHB: *Virus de Hepatitis B*; VHC: *Virus de Hepatitis C*; VIH: *Virus de Inmunodeficiencia Adquirida*; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; LDH elevada: > 246 UI/mL.

Tabla 5.3. Clasificaciones pronósticas y sistemas de estadiaje de la población del estudio.

VARIABLES	COHORTE TOTAL (n=126)
Estadio de Ann Arbor, n (%)	
I-II	22 (17,5)
III-IV	97 (77,0)
No disponible	7 (5,6)
Escala FLIPI, n (%)	
Bajo	41 (32,5)
Intermedio	36 (28,6)
Alto	39 (31,0)
No disponible	10 (7,9)

FLIPI: *Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular*.

5.1.2. Características del tratamiento

Considerando el tratamiento farmacológico recibido en primera línea para tratar el linfoma folicular, en 124 pacientes se utilizó rituximab asociado a quimioterapia y en 2 pacientes se utilizó rituximab en monoterapia (rituximab semanal). En la **Tabla 5.4** se muestran los esquemas de inducción en primera línea recibidos.

Tabla 5.4. Esquemas de inducción en primera línea utilizados.

VARIABLES	COHORTE TOTAL (n=126)
R-CHOP, n (%)	65 (51,6)
R-COP, n (%)	27 (21,4)
R-CHOP+R, n (%)	16 (12,7)
R-COP+R, n (%)	7 (5,6)
R-Bendamustina, n (%)	3 (2,4)
R-CNOP, n (%)	2 (1,6)
Rituximab semanal, n (%)	2 (1,6)
R-FC, n (%)	1 (0,8)
R-FCM, n (%)	1 (0,8)
R-FMD, n (%)	1 (0,8)
R-Clorambucilo, n (%)	1 (0,8)

R-Bendamustina: Rituximab 375mg/m²+bendamustina 90mg/m² c/28 días; **R-Clorambucilo:** Rituximab 375mg/m²+clorambucilo 10mg c/28 días; **R-CHOP:** Rituximab 375mg/m²+ciclofosfamida 750mg/m²+doxorubicina 50mg/m²+vincristina 1,4mg/m²+ prednisona 60mg c/21 días; **R-CHOP+R:** Idem R-CHOP+2 rituximab 375mg/m² c/21 días; **R-CNOP:** Rituximab 375mg/m²+ciclofosfamida 750mg/m²+mitoxantrona 10mg/m²+vincristina 1,4mg/m²+ prednisona 60mg c/21 días; **R-COP:** Rituximab 375mg/m²+ciclofosfamida 750mg/m²+vincristina 1,4mg/m²+ prednisona 60mg c/21 días; **R-COP+R:** Idem R-COP+2 rituximab 375mg/m² c/21 días; **R-FC:** Rituximab 375mg/m²+fludarabina 25mg/m²+ciclofosfamida 750mg/m² c/28 días; **R-FCM:** Rituximab 375mg/m²+fludarabina 25mg/m²+ciclofosfamida 200mg/m²+mitoxantrona 6mg/m² c/28 días; **R-FMD:** Rituximab 375mg/m²+fludarabina 25mg/m²+mitoxantrona 10mg/m²+dexametasona 20mg c/28 días; **Rituximab semanal:** 375 mg/m² c/7 días durante 4 semanas. Todos los fármacos se administraron vía intravenosa, excepto prednisona y dexametasona administrados vía oral.

La **Tabla 5.4** refleja la variabilidad de los esquemas farmacológicos utilizados en la práctica clínica en el tratamiento del linfoma folicular. Para el análisis estadístico, los pacientes se agruparon en función del tipo de esquema y del número de ciclos que habían recibido. En la **Tabla 5.5** se muestra la distribución de los diferentes esquemas utilizados en función del número de ciclos recibidos, divididos éstos en tres grupos: a) Número de ciclos mayor de 6; b) Número de ciclos igual a 6; c) Número de ciclos menor de 6. Las dos dosis de rituximab asociadas a los esquemas R-COP (R-COP+R) y R-CHOP (R-CHOP+R) se contabilizaron como un ciclo cada una.

Tabla 5.5. Esquemas de quimioterapia agrupados según el número de ciclos recibidos.

ESQUEMAS DE INDUCCIÓN	Nº ciclos > 6 n=40	Nº ciclos = 6 n=76	Nº ciclos < 6 n=10
R-CHOP, n (%)	13 (32,5)	47 (61,8)	5 (50,0)
R-COP, n (%)	2 (5,0)	24 (31,6)	1 (10,0)
R-CHOP+R, n (%)	16 (40,0)	-	-
R-COP+R, n (%)	6 (15,0)	1 (1,3)	-
R-Bendamustina, n (%)	1 (2,5)	1 (1,3)	1 (10,0)
R-CNOP, n (%)	1 (2,5)	1 (1,3)	-
Rituximab semanal, n (%)	-	-	2 (20,0)
R-FC, n (%)	-	1 (1,3)	-
R-FCM, n (%)	-	-	1 (10,0)
R-FDM, n (%)	1 (2,5)	-	-
R-Clorambucilo, n (%)	-	1 (1,3)	-

R-Bendamustina: Rituximab 375mg/m²+bendamustina 90mg/m² c/28 días; **R-Clorambucilo:** Rituximab 375mg/m²+clorambucilo 10mg c/28 días; **R-CHOP:** Rituximab 375mg/m²+ciclofosfamida 750mg/m²+doxorubicina 50mg/m²+vincristina 1,4mg/m²+ prednisona 60mg c/21 días; **R-CHOP+R:** Idem R-CHOP+2 rituximab 375mg/m² c/21 días; **R-CNOP:** Rituximab 375mg/m²+ciclofosfamida 750mg/m²+mitoxantrona 10mg/m²+vincristina 1,4mg/m²+ prednisona 60mg c/21 días; **R-COP:** Rituximab 375mg/m²+ciclofosfamida 750mg/m²+vincristina 1,4mg/m²+ prednisona 60mg c/21 días; **R-COP+R:** Idem R-COP+2 rituximab 375mg/m² c/21 días; **R-FC:** Rituximab 375mg/m²+fludarabina 25mg/m²+ciclofosfamida 750mg/m² c/28 días; **R-FCM:** Rituximab 375mg/m²+fludarabina 25mg/m²+ciclofosfamida 200mg/m²+mitoxantrona 6mg/m² c/28 días; **R-FMD:** Rituximab 375mg/m²+fludarabina 25mg/m²+mitoxantrona 10mg/m²+dexametasona 20mg c/28 días; **Rituximab semanal:** 375 mg/m² c/7 días durante 4 semanas. Todos los fármacos se administraron vía intravenosa, excepto prednisona y dexametasona administrados vía oral.

En relación con los esquemas comentados anteriormente, fue necesario suspender algún fármaco en 6 pacientes por presentar toxicidad relacionada. De este modo, 2 pacientes precisaron suspender la infusión de rituximab en el primer ciclo del esquema R-CHOP por reacción infusional, administrándose en los ciclos posteriores; 3 pacientes presentaron toxicidad cardíaca a doxorubicina en los últimos ciclos, cambiándose el esquema R-CHOP por R-COP; y un paciente presentó pérdida de sensibilidad asociada a vincristina en los últimos ciclos, cambiándose el esquema R-COP por R-CP. Además, el paciente que recibió el esquema R-COP+R con un total de 6 ciclos, éstos corresponden a 4 de R-COP y 2 de rituximab en monoterapia administrado cada 21 días.

Otros datos relacionados con el tratamiento se describen en la **Tabla 5.6**, indicando en la misma la terapia de consolidación con radioterapia concomitante al tratamiento farmacológico de inducción antes de evaluar la respuesta al final del tratamiento y el número de pacientes que fueron tratados con rituximab de mantenimiento después de conseguir una RC o RP con el tratamiento de inducción.

Tabla 5.6. Radioterapia concomitante y rituximab de mantenimiento recibidos.

VARIABLES	COHORTE TOTAL (n=126)
Radioterapia concomitante, n (%)	
Sí	14 (11,1)
No	112 (88,9)
Rituximab de mantenimiento, n (%)	
Sí	82 (65,1)
No	44 (34,9)

Las sesiones de radioterapia se realizaron con una dosis total de 36 Gy (64,3%), 30 Gy (21,4%), 24 Gy (7,1%) y 18 Gy (7,1%) irradiada sobre el campo afectado [inguinal (n=4), abdominal (n=2), retroperitoneal (n=2), mediastínica (n=2), axilar (n=1), lumbar (n=1), supraclavicular y laterocervical (n=1) y sacra (n=1).

Los esquemas de rituximab de mantenimiento recibidos después del tratamiento de inducción en primera línea fueron:

1 dosis de 375 mg/m² de rituximab cada 2 meses durante 1 año (n=8; 9,8%)

1 dosis de 375 mg/m² de rituximab cada 2 meses durante 2 años (n=57; 69,5%).

1 dosis de 375 mg/m² de rituximab cada 3 meses durante 1 año (n=1; 1,2%).

1 dosis de 375 mg/m² de rituximab cada 3 meses durante 2 años (n=16; 19,5%).

Además, 4 pacientes recibieron tratamiento con rituximab semanal como terapia de consolidación alternativa a rituximab de mantenimiento, después de completar tratamiento de inducción con rituximab, cuyo esquema se basa en la administración de una dosis de rituximab de 375 mg/m² intravenoso cada 7 días durante 4 semanas.

El TPH se realizó a 13 (10,3%) pacientes, clasificándose en AloTPH (n=2; 15,4%), AutoTPH (n=6; 46,2%) o ambos trasplantes (n=5; 38,5%).

5.1.3. Características de la respuesta

La distribución de la respuesta evaluada al finalizar tratamiento de inducción en primera línea fue: 91 (72,2%) pacientes en RC, 30 (23,8%) en RP, 4 (3,2%) en EE y 1 (0,8%) en PE. Asimismo, la distribución de la respuesta evaluada a mitad del tratamiento fue: 36 (36,7%) pacientes en RC, 57 (58,2%) en RP y 5 (5,1%) en EE.

La respuesta clínica de los pacientes del estudio fue evaluada 1-2 meses después de finalizar el tratamiento de inducción mediante examen físico y pruebas radiológicas de imagen utilizando TAC o PET-TAC, como se muestra en la **Tabla 5.7**. En esta tabla se indica también el número de pacientes a los que se realizó evaluación de la respuesta a mitad del tratamiento de inducción, tras recibir el 3-4º ciclo del esquema de tratamiento seleccionado en primera línea.

Tabla 5.7. Prueba radiológica utilizada y evaluación de la respuesta a mitad del tratamiento de inducción de la población del estudio.

VARIABLES	COHORTE TOTAL (n=126)
Evaluación de la respuesta, n (%)	
TAC	86 (68,3)
PET-TAC	40 (31,7)
Evaluación a mitad del tratamiento, n (%)	
Sí	98 (77,8)
No	28 (22,2)

PET: Tomografía por emisión de positrones; TAC: Tomografía axial computarizada.

El tratamiento de consolidación basado en la administración de rituximab de mantenimiento o rituximab semanal, según la respuesta obtenida (RC, RP) tras el tratamiento de inducción en primera línea, se indica en la **Tabla 5.8**.

Tabla 5.8. Esquemas de consolidación según la respuesta obtenida al final del tratamiento de inducción.

Esquema de consolidación	RESPUESTA	
	RC (n=68)	RP (n=18)
1 dosis de R cada 2 meses durante 1 año, n (%)	6 (8,8)	2 (11,1)
1 dosis de R cada 2 meses durante 2 años, n (%)	43 (63,2)	14 (77,8)
1 dosis de R cada 3 meses durante 1 año, n (%)	1 (1,5)	-
1 dosis de R cada 3 meses durante 2 años, n (%)	14 (20,6)	2 (11,1)
Rituximab semanal, n (%)	4 (5,9)	-

Dosis de R: 375 mg/m² intravenoso; R: Rituximab; RC: Respuesta completa; RP: Respuesta parcial; Rituximab semanal: 375 mg/m² intravenoso c/7 días durante 4 semanas.

Las respuestas obtenidas después de finalizar el tratamiento de consolidación con rituximab, según el esquema utilizado, se describe en la **Tabla 5.9**. En 9 pacientes no se evaluó la respuesta al tratamiento de consolidación debido a que no habían completado tratamiento de mantenimiento con rituximab tras finalizar el estudio. En estos pacientes la respuesta evaluada antes de comenzar el tratamiento de rituximab de mantenimiento fue 88,9% RC (n=8) y 11,1% RP (n=1).

Tabla 5.9. Respuesta obtenida al finalizar el tratamiento de consolidación con rituximab.

Esquema de consolidación	RESPUESTA	
	RC (n=71)	RP (n=6)
1 dosis de R cada 2 meses durante 1 año, n (%)	7 (9,9)	1 (16,7)
1 dosis de R cada 2 meses durante 2 años, n (%)	44 (62,0)	4 (66,7)
1 dosis de R cada 3 meses durante 1 año, n (%)	1 (1,4)	-
1 dosis de R cada 3 meses durante 2 años, n (%)	15 (21,1)	1 (16,7)
Rituximab semanal, n (%)	4 (5,6)	-

Dosis de R: 375 mg/m² intravenoso; R: Rituximab; RC: Respuesta completa; RP: Respuesta parcial; Rituximab semanal: 375 mg/m² intravenoso c/7 días durante 4 semanas.

Durante el periodo de seguimiento, 28 (22,2%) pacientes desarrollaron una primera recaída, 15 (11,9%) una segunda recaída y 8 (6,3%) una tercera recaída. La aparición de segundas neoplasias tuvo lugar en 8 (6,3%) pacientes. Tras finalizar el periodo de seguimiento del estudio, las causas de fallecimiento fueron: 4 (3,2%)

fallecimientos por progresión de la enfermedad, 4 (3,2%) por infección respiratoria, 2 (1,6%) por fracaso multiorgánico, 1 (0,8%) por apendicitis perforada, 1 (0,8%) por otra comorbilidad, 1 (0,8%) por hepatitis B fulminante y 1 (0,8%) por esclerosis lateral amiotrófica.

El desarrollo de recaídas en función del esquema de consolidación con rituximab recibido y completado se describe en la **Tabla 5.10**.

Tabla 5.10. Aparición de recaídas después de completar tratamiento de consolidación con rituximab.

Esquema de consolidación	RECAÍDA	
	NO (n=67)	SI (n=10)
1 dosis de R cada 2 meses durante 1 año, n (%)	6 (9,0)	2 (20,0)
1 dosis de R cada 2 meses durante 2 años, n (%)	48 (71,6)	-
1 dosis de R cada 3 meses durante 1 año, n (%)	1 (1,5)	-
1 dosis de R cada 3 meses durante 2 años, n (%)	11 (16,4)	5 (50,0)
Rituximab semanal, n (%)	1 (1,5)	3 (30,0)

Dosis de R: 375 mg/m² intravenoso; R: Rituximab; Rituximab semanal: 375 mg/m² intravenoso c/7 días durante 4 semanas.

5.2. ANÁLISIS DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO

5.2.1. Influencia de las variables del estudio en la respuesta al tratamiento de inducción en primera línea con rituximab

Con motivo del análisis estadístico, se agruparon a los pacientes en 2 grupos en función de la respuesta: a) Pacientes respondedores (incluye a los pacientes que alcanzaron RC en la evaluación al final del tratamiento de inducción y en la evaluación a mitad del tratamiento); b) Pacientes respondedores parciales y no respondedores [RpP/NoRp (incluye a los pacientes que alcanzaron RP, EE y PE en la evaluación al final del tratamiento de inducción y en la evaluación a mitad del tratamiento)]. El análisis de cada uno de estos grupos con las características basales, descritas anteriormente, se refleja en las **Tablas 5.11 y 5.12**.

Tabla 5.11. Características basales en relación con la respuesta a mitad del tratamiento.

VARIABLES	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
	Respondedores n=36; 36,7%	RpP-NoRp n=62; 63,3%	
Edad, años	56,4±14,4	55,1±15,0	0,944
Género masculino, n (%)	17 (47,2)	41 (66,1)	0,066
Grupos de edad, n (%)			
< 60 años	19 (52,8)	40 (64,5)	
≥ 60 años	17 (47,2)	22 (35,5)	0,252
ECOG, n (%)			
0-1	31 (86,1)	55 (88,7)	
≥ 2	4 (11,1)	6 (9,7)	
No disponible	1 (2,8)	1 (1,6)	1
LDH, UI/L	294,0 (167,5-357,0)	312,0 (213,5-347,5)	0,524
LDH, n (%)			
Elevada	21 (58,3)	42 (67,7)	
Normal	14 (38,9)	18 (29,0)	
No disponible	1 (2,8)	2 (3,2)	0,320
β2-microglobulina, µg/mL	2,2 (1,7-2,9)	2,5 (1,9-3,6)	0,577
β2- microglobulina, n (%)			
Elevada	22 (61,1)	46 (74,2)	
Normal	10 (27,8)	10 (16,1)	
No disponible	4 (11,1)	6 (9,8)	0,149
Hemoglobina, g/dL	13,0 (12,0-14,3)	13,4 (12,2-14,3)	0,946
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)			
Sí	9 (25,0)	14 (22,6)	
No	26 (72,2)	47 (72,8)	
No disponible	1 (2,8)	1 (1,6)	0,760
Médula ósea infiltrada, n (%)			
Sí	22 (61,1)	28 (45,2)	
No	12 (33,3)	27 (43,5)	
No disponible	2 (5,6)	7 (11,3)	0,202
Estadio Ann Arbor, n (%)			
I-II	11 (30,6)	9 (14,5)	
III-IV	25 (69,4)	48 (77,4)	
No disponible	-	5 (8,1)	0,091
Grado histológico, n (%)			
1-2	27 (75,0)	46 (74,2)	
3	8 (22,2)	15 (24,2)	
No disponible	1 (2,8)	1 (1,6)	0,848

Tabla 5.11. Características basales en relación con la respuesta a mitad del tratamiento.

VARIABLES	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
	Respondedores n=36; 36,7%	RpP-NoRp n=62; 63,3%	
Presencia de síntomas B, n (%)			0,018
Sí	2 (5,6)	14 (22,6)	
No	34 (94,4)	43 (69,4)	
No disponible	-	5 (8,1)	
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)			0,410
Sí	1 (2,8)	5 (8,1)	
No	35 (97,2)	57 (91,9)	
Escala FLIPI, n (%)			0,466
Bajo	16 (44,4)	21 (33,9)	
Intermedio	8 (22,2)	20 (32,3)	
Alto	9 (25,0)	17 (27,4)	
No disponible	3 (8,3)	4 (6,5)	
Esquema de inducción, n (%)			0,123
Esquema 1	19 (52,8)	45 (72,6)	
Esquema 2	14 (38,9)	15 (24,2)	
Esquema 3	3 (8,3)	2 (3,2)	
Evaluación respuesta, n (%)			0,093
TAC	28 (77,8)	38 (61,3)	
PET-TAC	8 (22,2)	24 (38,7)	

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; LDH: Lactato deshidrogenasa; PET: Tomografía por emisión de positrones; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores; TAC: Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: $> 1,8 \mu\text{g/mL}$; Esquema 1: incluye los esquemas tipo R-CHOP, R-CHOP+R y R-CNOP; Esquema 2: incluye los esquemas tipo R-COP y R-COP+R; Esquema 3: incluye los esquemas tipo R-Bendamustina, R-FC, R-FCM y R-FMD; LDH elevada: $> 246 \text{ UI/ml}$.

Como se refleja en la **Tabla 5.11**, al analizar la asociación entre las características basales de la población a estudio y la respuesta a mitad del tratamiento, se han observado diferencias estadísticamente significativas en la presencia de síntomas B entre ambos grupos, con un mayor porcentaje en el grupo de RpP/NoRp (respondedores: 5,6% vs RpP/NoRp: 22,6%; $p=0,018$). Del mismo modo, se observó una tendencia hacia la significación para el género masculino, siendo más frecuente en el grupo de peor respuesta al tratamiento (respondedores: 66,1% vs RpP/NoRp: 47,2%; $p=0,066$), así como para el estadio de

Ann Arbor, siendo más frecuente el estadio I-II en el grupo de mejor respuesta al tratamiento (respondedores: 30,6% vs RpP/NoRp: 14,5%; $p=0,091$).

Debido a la variabilidad de los esquemas farmacológicos utilizados en la práctica clínica en el tratamiento del linfoma folicular, se realizó un análisis considerado solamente los pacientes con esquemas tipo R-CHOP, que engloban al esquema R-CHOP, R-COP y R-CNOP ($n=94$), de manera que la respuesta obtenida a mitad del tratamiento fue similar a la obtenida en la cohorte total de pacientes del estudio [esquema tipo R-CHOP: respondedores: $n=24$ (33,8%) vs RpP/NoRp: $n=47$ (66,2%); cohorte total: respondedores: $n=36$ (36,7%) vs RpP/NoRp: $n=62$ (63,3%)].

Tabla 5.12. Características basales en relación con la respuesta al final del tratamiento.

VARIABLES	RESPUESTA FINAL		P valor
	Respondedores n=91; 72,2%	RpP-NoRp n=35; 27,8%	
Edad, años	56,6±15,0	54,8±15,5	0,550
Género masculino, n (%)	45 (49,5)	26 (74,3)	0,012
Grupos de edad, n (%)			
< 60 años	50 (54,9)	23 (65,7)	0,273
≥ 60 años	41 (45,1)	12 (34,3)	
ECOG, n (%)			
0-1	79 (86,8)	30 (85,7)	0,805
≥ 2	9 (9,9)	4 (11,4)	
No disponible	3 (3,3)	1 (2,9)	
LDH, UI/L	312,0 (186,0-402,0)	306,0 (211,0-349,0)	0,812
LDH, n (%)			
Elevada	57 (62,6)	23 (65,7)	0,886
Normal	29 (31,9)	11 (31,4)	
No disponible	5 (5,5)	1 (2,9)	
β2-microglobulina, µg/mL	2,4 (1,9-3,4)	3,1 (2,1-3,9)	0,053
β2- microglobulina, n (%)			
Elevada	63 (69,2)	25 (71,4)	0,284
Normal	19 (20,9)	4 (11,4)	
No disponible	9 (9,9)	6 (17,1)	
Hemoglobina, g/dL	13,2 (12,2-14,1)	12,9 (11,7-14,4)	0,566

Tabla 5.12. Características basales en relación con la respuesta al final del tratamiento.

VARIABLES	RESPUESTA FINAL		P valor
	Respondedores n=91; 72,2%	RpP-NoRp n=35; 27,8%	
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)			
Sí	21 (23,1)	12 (34,3)	
No	67 (73,6)	22 (62,9)	
No disponible	3 (3,3)	1 (2,9)	0,203
Médula ósea infiltrada, n (%)			
Sí	48 (52,7)	16 (45,7)	
No	35 (38,5)	15 (42,9)	
No disponible	8 (8,8)	4 (11,4)	0,367
Estadio Ann Arbor, n (%)			
I-II	18 (19,8)	4 (11,4)	
III-IV	70 (76,9)	27 (77,1)	
No disponible	3 (3,3)	4 (11,4)	0,352
Grado histológico, n (%)			
1-2	68 (74,7)	28 (80,0)	
3	21 (23,1)	7 (20,0)	
No disponible	2 (2,2)	-	0,666
Presencia de síntomas B, n (%)			
Sí	13 (14,3)	9 (25,7)	
No	75 (82,4)	22 (62,9)	
No disponible	3 (3,3)	4 (11,4)	0,079
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)			
Sí	3 (3,3)	4 (11,4)	
No	88 (96,7)	31 (88,6)	0,093
Escala FLIPI, n (%)			
Bajo	32 (35,2)	9 (25,7)	
Intermedio	26 (28,6)	10 (28,6)	
Alto	26 (28,6)	13 (37,1)	
No disponible	7 (7,7)	3 (8,6)	0,523
Radioterapia concomitante, n (%)			
Sí	8 (8,8)	6 (17,1)	
No	83 (91,2)	29 (82,9)	0,210
Nº ciclos del esquema, n (%)			
> 6	28 (30,8)	12 (34,3)	
= 6	55 (60,4)	21 (60,0)	
< 6	8 (8,8)	2 (5,7)	0,818

Tabla 5.12. Características basales en relación con la respuesta al final del tratamiento.

VARIABLES	RESPUESTA FINAL		P valor
	Respondedores n=91; 72,2%	RpP-NoRp n=35; 27,8%	
Evaluación respuesta, n (%)			
TAC	65 (71,4)	21 (60,0)	0,217
PET-TAC	26 (28,6)	14 (40,0)	

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; LDH: Lactato deshidrogenasa; PET: Tomografía por emisión de positrones; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores; TAC: Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: $> 1,8 \mu\text{g/mL}$; LDH elevada: $> 246 \text{ UI/mL}$; Radioterapia concomitante: administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta.

Tal y como se describe en la **Tabla 5.12**, al analizar la asociación entre las características basales de la población a estudio y la respuesta al final del tratamiento, se observaron diferencias estadísticamente significativas para el género masculino entre ambos grupos, habiendo un mayor porcentaje de hombres en el grupo de peor respuesta al tratamiento (respondedores: 49,5% vs RpP/NoRp: 74,3%; $p=0,012$). Del mismo modo, se observó una tendencia hacia la significación para la presencia de síntomas B y de enfermedad voluminosa o *bulky* al diagnóstico, siendo más frecuentes en el grupo de peor respuesta al tratamiento (respondedores: 14,3% vs RpP/NoRp: 25,7%; $p=0,079$; respondedores: 3,3% vs RpP/NoRp: 11,4%; $p=0,093$, respectivamente). La mediana de los niveles de β 2-microglobulina al diagnóstico mostró una tendencia hacia la significación (respondedores: $2,4 \mu\text{g/mL}$ vs RpP/NoRp: $3,1 \mu\text{g/mL}$; $p=0,053$), siendo más elevada en el grupo de peor respuesta al tratamiento, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a la agrupación de los niveles de β 2-microglobulina como elevados y no elevados.

Debido a la variabilidad de los esquemas farmacológicos utilizados en la práctica clínica en el tratamiento del linfoma folicular, se realizó un análisis considerando solamente los pacientes con esquemas tipo R-CHOP, que engloban al esquema R-CHOP, R-COP y R-CNOP ($n=94$), de manera que la respuesta obtenida al final del tratamiento fue similar a la obtenida en la cohorte total de pacientes del estudio [esquema tipo R-CHOP: respondedores: $n=68$ (72,3%) vs

RpP/NoRp: n=26 (27,7%); cohorte total: respondedores: n=91 (72,2%) vs RpP/NoRp: n=35 (27,8%).

5.3. ESTUDIO FARMACOGENÉTICO

5.3.1. Polimorfismo rs12488654 en el gen TRAIL

5.3.1.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs12488654 en el gen TRAIL

El estudio del polimorfismo *TRAIL* rs12488654 se realizó en 125 muestras de 126 pacientes (1 muestra no procesable por falta de calidad óptima del ADN). La distribución por genotipos, cumpliendo con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,538$), fue la siguiente: 1,6% AA, 27,2% GA y 71,2% GG.

Las características basales de la población a estudio según la distribución de los genotipos del polimorfismo *TRAIL* rs12488654 se muestra en la **Tabla 5.13**. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes características y la distribución por genotipos.

Tabla 5.13. Características basales en función del polimorfismo *TRAIL* rs12488654.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	AA n=2; 1,6%	GA n=34; 27,2%	GG n=89; 71,2%	
Grupos de edad, n (%)				
< 60 años	2 (100)	16 (47,1)	54 (60,7)	0,186
≥ 60 años	-	18 (52,9)	35 (39,3)	
Género masculino, n (%)	2 (100)	16 (47,1)	52 (58,4)	0,236
ECOG, n (%)				
0-1	1 (50,0)	30 (88,2)	77 (86,5)	0,140
≥ 2	1 (50,0)	2 (5,9)	10 (11,2)	
No disponible	-	2 (5,9)	2 (2,2)	
LDH, n (%)				
Elevada	2 (100)	21 (61,8)	56 (62,9)	0,510
Normal	-	9 (26,5)	31 (34,8)	
No disponible	-	4 (11,8)	2 (2,2)	

Tabla 5.13. Características basales en función del polimorfismo *TRAIL* rs12488654.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	AA n=2; 1,6%	GA n=34; 27,2%	GG n=89; 71,2%	
β2-microglobulina, n (%)				
Elevada	1 (50,0)	25 (73,5)	61 (68,5)	0,500
Normal	1 (50,0)	5 (14,7)	17 (19,1)	
No disponible	-	4 (11,8)	11 (12,3)	
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)				
Sí	-	8 (23,5)	25 (28,1)	0,629
No	2 (100)	24 (70,6)	62 (69,7)	
No disponible	-	2 (5,9)	12 (13,5)	
Médula ósea infiltrada, n (%)				
Sí	2 (100)	19 (55,9)	42 (47,2)	0,373
No	-	13 (38,2)	37 (41,6)	
No disponible	-	2 (5,9)	10 (11,2)	
Estadio Ann Arbor, n (%)				
I-II	-	7 (20,6)	15 (16,9)	0,734
III-IV	2 (100)	26 (76,5)	68 (76,4)	
No disponible	-	1 (2,9)	6 (6,7)	
Grado histológico, n (%)				
1-2	2 (100)	28 (82,4)	65 (73,0)	0,494
3	-	6 (17,6)	22 (24,7)	
No disponible	-	-	2 (2,2)	
Presencia síntomas B, n (%)				
Sí	1 (50,0)	6 (17,6)	15 (16,9)	0,517
No	1 (50,0)	27 (79,4)	68 (76,4)	
No disponible	-	1 (2,9)	6 (6,7)	
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)	-	1 (2,9)	6 (6,7)	0,673
Escala FLIPI, n (%)				
Bajo	1 (50,0)	12 (35,3)	27 (30,3)	0,752
Intermedio	-	8 (23,5)	28 (31,5)	
Alto	1 (50,0)	12 (35,3)	26 (29,2)	
No disponible	-	2 (5,9)	8 (9,0)	
Antecedentes oncológicos, n (%)	-	2 (5,9)	10 (11,2)	0,598
Rt concomitante, n (%)	-	4 (11,8)	10 (11,2)	0,877
Nº ciclos del esquema, n (%)				
> 6	1 (50,0)	9 (26,5)	30 (33,7)	0,819
= 6	1 (50,0)	23 (67,6)	51 (57,3)	
< 6	-	2 (5,9)	8 (9,0)	

Tabla 5.13. Características basales en función del polimorfismo *TRAIL* rs12488654.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	AA n=2; 1,6%	GA n=34; 27,2%	GG n=89; 71,2%	
Evaluación respuesta, n (%)				
TAC	1 (50,0)	24 (70,6)	60 (67,4)	0,812
PET-TAC	1 (50,0)	10 (29,4)	29 (32,6)	

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; LDH: Lactato deshidrogenasa; PET: Tomografía por emisión de positrones; Rt: Radioterapia; TAC: Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; LDH elevada: > 246 UI/mL; Radioterapia concomitante: administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta.

5.3.1.2. Influencia del polimorfismo rs12488654 en el gen *TRAIL* en la respuesta al tratamiento con rituximab

Tanto en el estudio por genotipos como en el estudio por alelos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al evaluar la influencia del polimorfismo en la respuesta al tratamiento de inducción en primera línea con rituximab a mitad del tratamiento y tras finalizarlo (Tablas 5.14 y 5.15).

Tabla 5.14. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (*TRAIL* rs12488654).

<i>TRAIL</i> rs12488654	Cohorte total n=98	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=36; 36,7%	RpP-NoRp n=62; 63,3%	
Genotipo, n (%)				
AA	2 (2,0)	1 (2,8)	1 (1,6)	0,923
GA	27 (27,6)	10 (27,8)	17 (27,4)	
GG	69 (70,4)	25 (69,4)	44 (71,0)	
Genotipo (MD), n (%)				
GG	69 (70,4)	25 (69,4)	44 (71,0)	0,873
AA/GA	29 (29,6)	11 (30,6)	18 (29,0)	
Alelo, n (%)				
A	31 (15,8)	12 (16,7)	19 (15,3)	0,804
G	165 (84,2)	60 (83,3)	105 (84,7)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

Tabla 5.15. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (*TRAIL* rs12488654).

<i>TRAIL</i> rs12488654	Cohorte total n=125	RESPUESTA FINAL		P valor
		Respondedores n=90; 72,0%	RpP-NoRp n=35; 28,0%	
Genotipo, n (%)				
AA	2 (1,6)	2 (2,2)	-	0,508
GA	34 (27,2)	26 (28,9)	8 (22,9)	
GG	89 (71,2)	62 (68,9)	27 (77,1)	
Genotipo (MD), n (%)				
GG	89 (71,2)	62 (68,9)	27 (77,1)	0,360
AA/GA	36 (28,8)	28 (31,1)	8 (22,9)	
Alelo, n (%)				
A	38 (15,2)	30 (16,7)	8 (11,4)	0,300
G	212 (84,8)	150 (83,3)	62 (88,6)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

5.3.2. Polimorfismo rs2230229 en el gen *TRAILR1*

5.3.2.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs2230229 en el gen *TRAILR1*

El estudio del polimorfismo *TRAILR1* rs2230229 se realizó en 125 muestras de 126 pacientes (1 muestra no procesable por falta de calidad óptima del ADN). La distribución por genotipos, cumpliendo con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,250$), fue la siguiente: 75,2% AA, 21,6% GA y 3,2% GG.

Las características basales de la población a estudio según la distribución de los genotipos del polimorfismo *TRAILR1* rs2230229 se muestran en la **Tabla 5.16**. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes características y la distribución por genotipos.

Tabla 5.16. Características basales en función del polimorfismo *TRAILR1* rs2230229.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	AA n=94; 75,2%	GA n=27; 21,6%	GG n=4; 3,2%	
Grupos de edad, n (%)				
< 60 años	55 (58,5)	15 (55,6)	2 (50,0)	
≥ 60 años	39 (41,5)	12 (44,4)	2 (50,0)	0,917
Género masculino, n (%)	54 (57,4)	14 (51,9)	2 (50,0)	0,849
ECOG, n (%)				
0-1	80 (85,1)	26 (96,3)	2 (50,0)	
≥ 2	10 (10,6)	1 (3,7)	2 (50,0)	
No disponible	4 (4,3)	-	-	0,020
LDH, n (%)				
Elevada	60 (63,8)	15 (55,6)	4 (100)	
Normal	29 (30,9)	11 (40,7)	-	
No disponible	5 (5,3)	1 (3,7)	-	0,229
β2-microglobulina, n (%)				
Elevada	67 (71,3)	17 (63,0)	3 (75,0)	
Normal	18 (19,1)	5 (18,5)	-	
No disponible	9 (9,6)	5 (18,5)	1 (25,0)	0,657
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)				
Sí	21 (22,3)	9 (33,3)	2 (50,0)	
No	69 (73,4)	18 (66,7)	2 (50,0)	
No disponible	4 (4,3)	-	-	0,325
Médula ósea infiltrada, n (%)				
Sí	46 (48,9)	14 (51,9)	2 (50,0)	
No	37 (39,4)	13 (48,1)	1 (25,0)	
No disponible	9 (9,6)	-	1 (25,0)	0,870
Estadio Ann Arbor, n (%)				
I-II	17 (18,1)	5 (18,5)	-	
III-IV	72 (76,6)	21 (77,8)	3 (75,0)	
No disponible	5 (5,3)	1 (3,7)	1 (25,0)	0,703
Grado histológico, n (%)				
1-2	74 (78,7)	18 (66,6)	3 (75,0)	
3	19 (20,2)	8 (29,6)	1 (25,0)	
No disponible	1 (1,1)	1 (3,7)	-	0,536
Presencia síntomas B, n (%)				
Sí	18 (19,1)	3 (11,1)	-	
No	71 (75,5)	23 (85,2)	3 (75,0)	
No disponible	5 (5,3)	1 (3,7)	1 (25,0)	0,427

Tabla 5.16. Características basales en función del polimorfismo *TRAILR1* rs2230229.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	AA n=94; 75,2%	GA n=27; 21,6%	GG n=4; 3,2%	
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)	7 (7,4)	-	-	0,294
Escala FLIPI, n (%)				
Bajo	31 (33,0)	8 (29,6)	2 (50,0)	
Intermedio	27 (28,7)	9 (33,3)	-	
Alto	26 (27,7)	10 (37,0)	2 (50,0)	
No disponible	10 (10,6)	-	-	0,656
Anteced oncológicos, n (%)	9 (9,6)	3 (11,1)	-	0,780
Rt concomitante, n (%)	9 (9,6)	5 (18,5)	-	0,331
Nº ciclos del esquema, n (%)				
> 6	30 (31,9)	8 (29,6)	1 (25,0)	
= 6	56 (59,6)	17 (63,0)	3 (75,0)	
< 6	8 (8,5)	2 (7,4)	-	0,960
Evaluación respuesta, n (%)				
TAC	63 (67,0)	18 (66,7)	4 (100)	
PET-TAC	31 (33,0)	9 (33,3)	-	0,378

Anteced: Antecedentes; *ECOG*: Eastern Cooperative Oncology Group; *FLIPI*: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; *LDH*: Lactato deshidrogenasa; *PET*: Tomografía por emisión de positrones; *Rt*: Radioterapia; *TAC*: Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; *LDH elevada*: > 246 UI/mL; *Radioterapia concomitante*: administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta.

5.3.2.2. Influencia del polimorfismo rs2230229 en el gen *TRAILR1* en la respuesta al tratamiento con rituximab

Tanto en el estudio por genotipos como en el estudio por alelos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al evaluar la influencia del polimorfismo en la respuesta al tratamiento de inducción en primera línea con rituximab a mitad del tratamiento y tras finalizarlo (**Tablas 5.17 y 5.18**).

Tabla 5.17. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (*TRAILR1* rs2230229).

<i>TRAILR1</i> rs2230229	Cohorte total n=97	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=36; 37,1%	RpP-NoRp n=61; 62,9%	
Genotipo, n (%)				
AA	73 (75,3)	25 (69,4)	48 (78,7)	0,248
GA	20 (20,6)	8 (22,2)	12 (19,7)	
GG	4 (4,1)	3 (8,3)	1 (1,6)	
Genotipo (MD), n (%)				
AA	73 (75,3)	25 (69,4)	48 (78,7)	0,308
GA/GG	24 (24,7)	11 (30,6)	13 (21,3)	
Alelo, n (%)				
A	166 (85,6)	58 (80,6)	108 (88,5)	0,127
G	28 (14,4)	14 (19,4)	14 (11,5)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

Tabla 5.18. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (*TRAILR1* rs2230229).

<i>TRAILR1</i> rs2230229	Cohorte total n=125	RESPUESTA FINAL		P valor
		Respondedores n=91; 72,8%	RpP-NoRp n=34; 27,2%	
Genotipo, n (%)				
AA	94 (75,2)	65 (71,4)	29 (85,3)	0,255
GA	27 (21,6)	23 (25,3)	4 (11,8)	
GG	4 (3,2)	3 (3,3)	1 (2,9)	
Genotipo (MD), n (%)				
AA	94 (75,2)	65 (71,4)	29 (85,3)	0,110
GA/GG	31 (24,8)	26 (28,6)	5 (14,7)	
Alelo, n (%)				
A	215 (86,0)	153 (84,1)	62 (91,2)	0,149
G	35 (14,0)	29 (15,9)	6 (8,8)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

5.3.3. Polimorfismo rs20575 en el gen TRAILR1

5.3.3.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs20575 en el gen TRAILR1

El estudio del polimorfismo *TRAILR1* rs20575 se realizó en 125 muestras de 126 pacientes (1 muestra no procesable por falta de calidad del ADN óptima). La distribución por genotipos, cumpliendo con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,211$), fue la siguiente: 23,2% CC, 44,0% GC y 32,8% GG.

Las características basales de la población a estudio según la distribución de los genotipos del polimorfismo *TRAILR1* rs20575 se muestran en la **Tabla 5.19**. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la administración concomitante de radioterapia y la distribución por genotipos, presentando un mayor porcentaje de pacientes el genotipo GG con respecto a CC y GC (22%, 6,9% y 5,5%, respectivamente; $p=0,028$). Asimismo, se observó una tendencia a la significación en la presencia de síntomas B y la distribución por genotipos, siendo los pacientes con genotipo GC el de menor proporción frente a CC y GG (9,1%, 27,6%, 19,5%, respectivamente; $p=0,067$).

Según la distribución de los genotipos agrupados del polimorfismo *TRAILR1* rs20575 (GC/GG frente a CC; modelo dominante), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la administración concomitante de radioterapia y la distribución por genotipos, a diferencia del análisis anterior. Asimismo, se observó una tendencia a la significación en la presencia de síntomas B al diagnóstico y la distribución por genotipos, siendo el porcentaje de pacientes con genotipo GC/GG menor que con el genotipo CC (13,5%, 22,6%, respectivamente; $p=0,086$).

Tabla 5.19. Características basales en función del polimorfismo *TRAILR1* rs20575.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	CC n=29; 23,2%	GC n=55; 44,0%	GG n=41; 32,8%		CC n=29; 23,2%	GC/GG n=96; 76,8%	
Grupos de edad, n (%)							
< 60 años	19 (65,5)	29 (52,7)	25 (61,0)	0,486	19 (65,5)	54 (56,3)	0,375
≥ 60 años	10 (34,5)	26 (47,3)	16 (39,0)		10 (34,5)	42 (43,8)	
Género masculino, n (%)	17 (58,6)	30 (54,5)	23 (56,1)	0,938	17 (58,6)	53 (55,2)	0,832
ECOG, n (%)							
0-1	24 (82,8)	50 (90,9)	35 (85,4)	0,611	24 (82,8)	85 (88,5)	0,470
≥ 2	4 (13,8)	4 (7,3)	4 (9,8)		4 (13,8)	8 (8,3)	
No disponible	1 (3,4)	1 (1,8)	2 (4,9)		1 (3,4)	3 (3,1)	
LDH, n (%)							
Elevada	21 (72,4)	33 (60,0)	25 (61,0)	0,512	21 (72,1)	58 (60,4)	0,270
Normal	7 (24,1)	20 (36,4)	13 (31,7)		7 (24,1)	33 (34,4)	
No disponible	1 (3,4)	2 (3,6)	3 (7,3)		1 (3,4)	5 (5,2)	
β2-microglobulina, n (%)							
Elevada	21 (72,4)	38 (69,1)	28 (68,3)	0,936	21 (72,4)	66 (68,8)	0,810
Normal	5 (17,2)	11 (20,0)	7 (17,1)		5 (17,2)	18 (18,8)	
No disponible	3 (10,3)	6 (10,9)	6 (14,6)		3 (10,3)	8 (8,3)	
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)							
Sí	10 (34,5)	10 (18,2)	12 (29,3)	0,187	10 (34,5)	22 (22,9)	0,205
No	18 (62,1)	44 (80,0)	27 (65,9)		18 (62,1)	71 (74,0)	
No disponible	1 (3,4)	1 (1,8)	2 (4,9)		1 (3,4)	3 (3,1)	

Tabla 5.19. Características basales en función del polimorfismo *TRAILR1* rs20575.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	CC n=29; 23,2%	GC n=55; 44,0%	GG n=41; 32,8%		CC n=29; 23,2%	GC/GG n=96; 76,8%	
Médula ósea infiltrada, n (%)							
Sí	15 (51,7)	24 (43,6)	24 (58,5)		15 (51,7)	48 (50,0)	
No	10 (34,5)	26 (47,3)	15 (36,6)		10 (34,5)	41 (42,7)	
No disponible	4 (13,8)	5 (9,1)	2 (4,9)	0,384	4 (13,8)	7 (7,3)	0,590
Estadio Ann Arbor, n (%)							
I-II	4 (13,8)	11 (20,0)	6 (14,6)		4 (13,8)	17 (17,7)	
III-IV	23 (79,3)	42 (76,4)	32 (78,0)		23 (79,3)	74 (77,1)	
No disponible	2 (6,9)	2 (3,6)	3 (7,3)	0,746	2 (6,9)	5 (5,2)	0,779
Grado histológico, n (%)							
1-2	22 (75,9)	42 (76,4)	31 (75,6)		22 (75,9)	73 (76,0)	
3	6 (20,7)	12 (21,8)	10 (24,4)		6 (20,7)	22 (22,9)	
No disponible	1 (3,4)	1 (1,8)	-	0,952	1 (3,4)	1 (1,0)	0,848
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)	1 (3,4)	2 (3,6)	3 (7,3)	0,655	1 (3,4)	5 (5,2)	1
Antecedentes oncológicos, n (%)	2 (6,9)	7 (12,7)	3 (7,3)	0,574	2 (6,9)	10 (10,4)	0,731
Rt concomitante, n (%)	2 (6,9)	3 (5,5)	9 (22,0)	0,028	2 (6,9)	12 (12,5)	0,518
Presencia de síntomas B, n (%)							
Sí	8 (27,6)	5 (9,1)	8 (19,5)		8 (27,6)	13 (13,5)	
No	19 (65,5)	48 (87,3)	30 (73,2)		19 (65,5)	78 (81,3)	
No disponible	2 (6,9)	2 (3,6)	3 (7,3)	0,067	2 (6,9)	5 (5,2)	0,086

Tabla 5.19. Características basales en función del polimorfismo *TRAILR1* rs20575.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	CC n=29; 23,2%	GC n=55; 44,0%	GG n=41; 32,8%		CC n=29; 23,2%	GC/GG n=96; 76,8%	
Escala FLIPI, n (%)							
Bajo	9 (31,0)	22 (40,0)	10 (24,4)	0,432	9 (31,0)	32 (33,3)	0,447
Intermedio	6 (20,7)	16 (29,1)	14 (34,1)		6 (20,7)	30 (31,3)	
Alto	11 (37,9)	14 (25,5)	13 (31,7)		11 (37,9)	27 (28,1)	
No disponible	3 (10,3)	3 (5,5)	4 (9,8)		3 (10,3)	7 (7,3)	
Nº ciclos del esquema, n (%)							
> 6	7 (24,1)	20 (36,4)	13 (31,7)	0,573	7 (24,1)	33 (34,4)	0,262
= 6	21 (72,4)	30 (54,5)	24 (58,5)		21 (72,4)	54 (56,3)	
< 6	1 (3,4)	5 (9,1)	4 (9,8)		1 (3,4)	9 (9,4)	
Evaluación respuesta, n (%)							
TAC	22 (75,9)	37 (67,3)	26 (63,4)	0,540	22 (75,9)	63 (65,6)	0,300
PET-TAC	7 (24,1)	18 (32,7)	15 (36,6)		7 (24,1)	33 (34,4)	

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; LDH: Lactato deshidrogenasa; MD: Modelo dominante; PET: Tomografía por emisión de positrones; Rt: Radioterapia; TAC: Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; LDH elevada: > 246 UI/mL; Radioterapia concomitante: administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta.

5.3.3.2. *Influencia del polimorfismo rs20575 en el gen TRAILR1 en la respuesta al tratamiento con rituximab*

No se encontró asociación entre genotipos y alelos y la respuesta al tratamiento en primera línea con rituximab en la valoración a mitad de tratamiento. Sin embargo, en el estudio por genotipos y alelos, sí se observó una tendencia a la significación al comparar los pacientes con genotipo CC con respecto a la asociación de genotipos GC/GG (modelo dominante) siendo más frecuente en el grupo de respondedores que en el de RpP/NoRp (33,3% vs 21,3%, respectivamente; $p=0,064$) (Tablas 5.20 y 5.21).

Debido a la variabilidad de los esquemas farmacológicos utilizados en la práctica clínica en el tratamiento del linfoma folicular, se realizó una análisis considerando solamente los pacientes con esquemas tipo R-CHOP que engloban al esquema R-CHOP, R-COP y R-CNOP ($n=94$), de manera que la asociación de genotipos GC/GG con respecto a la respuesta obtenida al final del tratamiento fue similar a la obtenida en la cohorte total de pacientes del estudio [esquema tipo R-CHOP: GC/GG en respondedores: 73,8% vs RpP/NoRp: 84,0% ($p=0,232$); cohorte total: GC/GG en respondedores: 72,5% vs RpP/NoRp: 88,2% ($p=0,064$)].

Tabla 5.20. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (*TRAILR1* rs20575).

<i>TRAILR1</i> rs20575	Cohorte total n=97	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=36; 37,1%	RpP-NoRp n=61; 62,9 %	
Genotipo, n (%)				
CC	25 (25,8)	12 (33,3)	13 (21,3)	0,402
GC	43 (44,3)	15 (41,7)	28 (45,9)	
GG	29 (29,9)	9 (25,0)	20 (32,8)	
Genotipo (MD), n (%)				
CC	25 (25,8)	12 (33,3)	13 (21,3)	0,191
GC/GG	72 (74,2)	24 (66,7)	48 (78,7)	
Alelo, n (%)				
C	93 (47,9)	39 (54,2)	54 (44,3)	0,182
G	101 (52,1)	33 (45,8)	68 (55,7)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

Tabla 5.21. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (*TRAILR1* rs20575).

<i>TRAILR1</i> rs20575	Cohorte total n=125	RESPUESTA FINAL		P valor
		Respondedores n=91; 72,8%	RpP-NoRp n=34; 27,2%	
Genotipo, n (%)				
CC	29 (23,2)	25 (27,5)	4 (11,8)	0,179
GC	55 (44,0)	38 (41,8)	17 (50,0)	
GG	41 (32,8)	28 (30,8)	13 (38,2)	
Genotipo (MD), n (%)				
CC	29 (23,2)	25 (27,5)	4 (11,8)	0,064
GC/GG	96 (76,8)	66 (72,5)	30 (88,2)	
Alelo, n (%)				
C	113 (45,2)	88 (48,4)	25 (36,8)	0,101
G	137 (54,8)	94 (51,6)	43 (63,2)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

5.3.4. Polimorfismo rs20576 en el gen *TRAILR1*

5.3.4.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs20576 en el gen *TRAILR1*

El estudio del polimorfismo *TRAILR1* rs20576 se realizó en 121 muestras de 126 pacientes (5 muestras no procesables por falta de calidad óptima del ADN). La distribución por genotipos, cumpliendo con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,953$), fue la siguiente: 55,4% AA, 38,0% CA y 6,6% CC.

Las características basales de la población a estudio según la distribución de los genotipos del polimorfismo *TRAILR1* rs20576 se muestran en la **Tabla 5.22**. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la administración previa de radioterapia, presentando un menor porcentaje de pacientes el genotipo AA con respecto a CA y CC (6,0%, 15,2% y 37,5%, respectivamente; $p=0,019$).

Tabla 5.22. Características basales en función del polimorfismo *TRAILR1* rs20576.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	AA n=67; 55,4%	CA n=46; 38,0%	CC n=8; 6,6%	
Grupos de edad, n (%)				
< 60 años	41 (61,2)	25 (54,3)	3 (37,5)	
≥ 60 años	26 (38,8)	21 (45,7)	5 (62,5)	0,396
Género masculino, n (%)	38 (56,7)	29 (63,0)	3 (37,5)	0,386
ECOG, n (%)				
0-1	56 (83,6)	41 (89,1)	8 (100)	
≥ 2	9 (13,4)	3 (6,5)	-	
No disponible	2 (3,0)	2 (4,3)	-	0,303
LDH, n (%)				
Elevada	44 (65,7)	27 (58,7)	5 (62,5)	
Normal	19 (28,4)	19 (41,3)	1 (12,5)	
No disponible	4 (6,0)	-	2 (25,0)	0,314
β2-microglobulina, n (%)				
Elevada	48 (71,6)	31 (79,5)	4 (50,0)	
Normal	13 (19,4)	8 (20,5)	2 (25,0)	
No disponible	6 (9,0)	-	2 (25,0)	0,773
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)				
Sí	19 (28,4)	10 (21,7)	2 (25,0)	
No	45 (67,2)	36 (78,3)	5 (62,5)	
No disponible	3 (4,5)	-	1 (12,5)	0,643
Médula ósea infiltrada, n (%)				
Sí	32 (47,8)	23 (50,0)	5 (62,5)	
No	25 (37,3)	21 (45,7)	3 (37,5)	
No disponible	10 (14,9)	2 (4,4)	-	0,842
Estadio Ann Arbor, n (%)				
I-II	9 (13,4)	13 (28,3)	-	
III-IV	54 (80,6)	33 (71,7)	5 (62,5)	
No disponible	4 (6,0)	-	3 (37,5)	0,101
Grado histológico, n (%)				
1-2	54 (80,6)	36 (78,3)	4 (50,0)	
3	13 (19,4)	8 (17,4)	4 (50,0)	
No disponible	-	2 (4,3)	-	0,113
Presencia síntomas B, n (%)				
Sí	13 (19,4)	6 (13,0)	1 (12,5)	
No	50 (74,6)	40 (87,0)	4 (50,0)	
No disponible	4 (6,0)	-	3 (37,5)	0,582

Tabla 5.22. Características basales en función del polimorfismo *TRAILR1* rs20576.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	AA n=67; 55,4%	CA n=46; 38,0%	CC n=8; 6,6%	
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)	3 (4,5)	4 (8,7)	-	0,493
Escala FLIPI, n (%)				
Bajo	23 (34,3)	17 (37,0)	1 (12,5)	0,491
Intermedio	17 (25,4)	16 (34,8)	2 (25,0)	
Alto	22 (32,8)	10 (21,7)	3 (37,5)	
No disponible	5 (7,5)	3 (6,5)	2 (25,0)	
Anteced oncológicos, n (%)	6 (9,0)	5 (10,9)	1 (12,5)	0,916
Rt concomitante, n (%)	4 (6,0)	7 (15,2)	3 (37,5)	0,019
Nº ciclos del esquema, n (%)				
> 6	19 (28,4)	19 (41,3)	2 (25,0)	0,292
= 6	40 (59,7)	26 (56,5)	5 (62,5)	
< 6	8 (11,9)	1 (2,2)	1 (12,5)	
Evaluación respuesta, n (%)				
TAC	45 (67,2)	34 (73,9)	5 (62,5)	0,678
PET-TAC	22 (32,8)	12 (26,1)	3 (37,5)	

Anteced: Antecedentes; *ECOG:* Eastern Cooperative Oncology Group; *FLIPI:* Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; *LDH:* Lactato deshidrogenasa; *MD:* Modelo dominante; *PET:* Tomografía por emisión de positrones; *Rt:* Radioterapia; *TAC:* Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; *LDH elevada:* > 246 UI/mL; *Radioterapia concomitante:* administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta.

5.3.4.2. Influencia del polimorfismo rs20576 en el gen *TRAILR1* en la respuesta al tratamiento con rituximab

Tanto en el estudio por genotipos como en el estudio por alelos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al evaluar la influencia del polimorfismo en la respuesta al tratamiento de inducción en primera línea con rituximab a mitad del tratamiento y tras finalizarlo (Tablas 5.23 y 5.24).

Tabla 5.23. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (*TRAILR1* rs20576).

<i>TRAILR1</i> rs20576	Cohorte total n=95	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=33; 34,7%	RpP-NoRp n=62; 65,3%	
Genotipo, n (%)				
AA	54 (56,8)	17 (51,5)	37 (59,7)	0,110
CA	36 (37,9)	16 (48,5)	20 (32,3)	
CC	5 (5,3)	-	5 (8,1)	
Genotipo (MD), n (%)				
AA	54 (56,8)	17 (51,5)	37 (59,7)	0,444
CA/CC	41 (43,2)	16 (48,5)	25 (40,3)	
Alelo, n (%)				
A	144 (75,7)	50 (75,8)	94 (75,8)	0,994
C	46 (24,2)	16 (24,2)	30 (24,2)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

Tabla 5.24. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (*TRAILR1* rs20576).

<i>TRAILR1</i> rs20576	Cohorte total n=121	RESPUESTA FINAL		P valor
		Respondedores n=86; 71,1%	RpP-NoRp n=35; 28,9%	
Genotipo, n (%)				
AA	67 (55,4)	47 (54,7)	20 (57,1)	0,781
CA	46 (38,0)	34 (39,5)	12 (34,3)	
CC	8 (6,6)	5 (5,8)	3 (8,6)	
Genotipo (MD), n (%)				
AA	67 (55,4)	47 (54,7)	20 (57,1)	0,803
CA/CC	54 (44,6)	39 (45,3)	15 (42,9)	
Alelo, n (%)				
A	180 (74,4)	128 (74,4)	52 (74,3)	0,983
C	62 (25,6)	44 (25,6)	18 (25,7)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

5.3.5. Polimorfismo rs1800682 en el gen FAS

5.3.5.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs1800682 en el gen FAS

El estudio del polimorfismo *FAS* rs1800682 se realizó en 121 muestras de 126 pacientes (5 muestras no procesables por falta de calidad óptima del ADN). La distribución por genotipos, cumpliendo con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,854$), fue la siguiente: 23,8% CC, 50,8% TC y 25,4% TT.

Las características basales de la población a estudio según la distribución de los genotipos del polimorfismo *FAS* rs1800682 se muestran en la **Tabla 5.25**. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de ciclos de quimioterapia asociada a rituximab, siendo el genotipo CC el que presentó un mayor número de pacientes a los que se ha administrado un número de ciclos mayor a 6 en comparación con los genotipos TC y TT, cuyo porcentaje mayor fue para la administración de ciclos igual a 6 (número de ciclos > 6: 51,2%, 19,4% y 38,7%; número de ciclos = 6: 41,1%, 69,4% y 58,1%, respectivamente; $p=0,022$).

Tabla 5.25. Características basales en función del polimorfismo *FAS* rs1800682.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	CC n=29; 23,8%	TC n=62; 50,8%	TT n=31; 25,4%	
Grupos de edad, n (%)				
< 60 años	15 (51,7)	36 (58,1)	21 (67,7)	
≥ 60 años	14 (48,3)	26 (41,9)	10 (32,3)	0,441
Género masculino, n (%)	15 (51,7)	38 (61,3)	15 (48,4)	0,440
ECOG, n (%)				
0-1	27 (93,1)	51 (82,3)	28 (90,3)	
≥ 2	2 (6,9)	8 (12,9)	2 (6,5)	
No disponible	-	3 (4,8)	1 (3,2)	0,476
LDH, n (%)				
Elevada	18 (62,1)	40 (64,5)	21 (67,7)	
Normal	9 (31,0)	18 (29,0)	10 (32,3)	
No disponible	2 (6,9)	4 (6,5)	-	0,977

Tabla 5.25. Características basales en función del polimorfismo *FAS* rs1800682.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	CC n=29; 23,8%	TC n=62; 50,8%	TT n=31; 25,4%	
β 2-microglobulina, n (%)				
Elevada	22 (75,9)	41 (66,1)	22 (71,0)	0,955
Normal	5 (17,2)	11 (17,7)	6 (19,4)	
No disponible	2 (6,9)	10 (16,1)	3 (9,7)	
Hemoglobina <12 g/dL, n (%)				
Sí	8 (27,6)	15 (24,2)	10 (32,3)	0,787
No	20 (69,0)	44 (71,0)	21 (67,7)	
No disponible	1 (3,4)	3 (4,8)	-	
Médula ósea infiltrada, n (%)				
Sí	14 (48,3)	29 (46,8)	19 (61,3)	0,588
No	14 (48,3)	23 (37,1)	11 (35,5)	
No disponible	1 (3,4)	10 (16,1)	1 (3,2)	
Estadio Ann Arbor, n (%)				
I-II	5 (17,2)	12 (19,4)	4 (12,9)	0,714
III-IV	21 (72,4)	47 (75,8)	26 (83,9)	
No disponible	3 (10,3)	3 (4,8)	1 (3,2)	
Grado histológico, n (%)				
1-2	22 (75,9)	49 (79,0)	23 (74,2)	0,933
3	7 (24,1)	13 (21,0)	7 (22,6)	
No disponible	-	-	1 (3,2)	
Presencia síntomas B, n (%)				
Sí	8 (27,6)	8 (12,9)	5 (16,1)	0,161
No	18 (62,1)	51 (82,3)	25 (80,6)	
No disponible	3 (10,3)	3 (4,8)	1 (3,2)	
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)	1 (3,4)	4 (6,5)	1 (3,2)	0,728
Escala FLIPI, n (%)				
Bajo	10 (34,5)	20 (32,3)	9 (29,0)	0,643
Intermedio	8 (27,6)	20 (32,3)	7 (22,6)	
Alto	9 (31,0)	16 (25,8)	13 (41,9)	
No disponible	2 (6,9)	6 (9,7)	2 (6,5)	
Anteced oncológicos, n (%)	3 (10,3)	5 (8,1)	4 (12,9)	0,757
Rt concomitante, n (%)	3 (10,3)	9 (14,5)	2 (6,5)	0,504

Tabla 5.25. Características basales en función del polimorfismo *FAS* rs1800682.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor
	CC n=29; 23,8%	TC n=62; 50,8%	TT n=31; 25,4%	
Nº ciclos del esquema, n (%)				0,022
> 6	15 (51,7)	12 (19,4)	12 (38,7)	
= 6	12 (41,4)	43 (69,4)	18 (58,1)	
< 6	2 (6,9)	7 (11,3)	1 (3,2)	
Evaluación respuesta, n (%)				0,874
TAC	19 (65,5)	41 (66,3)	22 (71,0)	
PET-TAC	10 (34,5)	21 (33,9)	9 (29,0)	

Anteced: Antecedentes; *ECOG:* Eastern Cooperative Oncology Group; *FLIPI:* Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; *LDH:* Lactato deshidrogenasa; *MD:* Modelo dominante; *PET:* Tomografía por emisión de positrones; *Rt:* Radioterapia; *TAC:* Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; *LDH elevada:* > 246 UI/mL; *Radioterapia concomitante:* administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta.

5.3.5.2. Influencia del polimorfismo rs1800682 en el gen *FAS* en la respuesta al tratamiento con rituximab

Tanto en el estudio por genotipos como en el estudio por alelos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al evaluar la influencia del polimorfismo en la respuesta al tratamiento de inducción en primera línea con rituximab a mitad del tratamiento y tras finalizarlo (**Tablas 5.26 y 5.27**).

Tabla 5.26. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (*FAS* rs1800682).

<i>FAS</i> rs1800682	Cohorte total n=95	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=34; 35,8%	RpP-NoRp n=61; 64,2%	
Genotipo, n (%)				0,159
CC	24 (25,3)	6 (17,6)	18 (29,5)	
TC	49 (51,6)	22 (64,7)	27 (44,3)	
TT	22 (23,2)	6 (17,6)	16 (26,2)	
Genotipo (MD1), n (%)				0,342
TT	22 (23,2)	6 (17,6)	16 (26,2)	
CC/TC	73 (76,8)	28 (82,4)	45 (73,8)	

Tabla 5.26. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (FAS rs1800682).

FAS rs1800682	Cohorte total n=95	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=34; 35,8%	RpP-NoRp n=61; 64,2%	
Genotipo (MD 2), n (%)				
CC	24 (25,3)	6 (17,6)	18 (29,5)	0,202
TC/TT	71 (74,7)	28 (82,4)	43 (70,5)	
Alelo, n (%)				
C	97 (51,1)	34 (50,0)	63 (51,6)	0,828
T	93 (48,9)	34 (50,0)	59 (48,4)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

Tabla 5.27. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (FAS rs1800682).

FAS rs1800682	Cohorte total n=122	RESPUESTA FINAL		P valor
		Respondedores n=88; 72,1%	RpP-NoRp n=34; 27,9%	
Genotipo, n (%)				
CC	29 (23,8)	21 (23,9)	8 (23,5)	0,715
TC	62 (50,8)	43 (48,9)	19 (55,9)	
TT	31 (25,4)	24 (27,3)	7 (20,6)	
Genotipo (MD1), n (%)				
TT	31 (25,4)	24 (27,3)	7 (20,6)	0,447
CC/TC	91 (74,6)	64 (72,7)	27 (79,4)	
Genotipo (MD 2), n (%)				
CC	29 (23,8)	21 (23,9)	8 (23,5)	0,969
TC/TT	93 (76,2)	67 (76,1)	26 (76,5)	
Alelo, n (%)				
C	120 (49,2)	85 (48,3)	35 (51,5)	0,657
T	124 (50,8)	91 (51,7)	33 (48,5)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

5.3.6. Polimorfismo rs763110 en el gen FASL

5.3.6.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs763110 en el gen FASL

El estudio del polimorfismo *FASL* rs763110 se realizó en 126 muestras de 126 pacientes. La distribución por genotipos, cumpliendo con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,147$), fue la siguiente: 28,6% CC, 55,6% TC y 15,9% TT.

Las características basales de la población a estudio según la distribución de los genotipos del polimorfismo *FASL* rs763110 se muestran en la **Tabla 5.28**. Se encontró asociación significativa entre el grado histológico y la distribución por genotipos, siendo el genotipo CC el de mayor proporción con grado histológico 1-2 con respecto a TC y TT (91,7%, 72,9%, 60,0%, respectivamente; $p=0,019$).

Según la distribución de los genotipos agrupados del polimorfismo *FASL* rs763110 (TC/TT frente a CC; modelo dominante), se observaron diferencias estadísticamente significativas con el grado histológico, siendo los genotipos TC/TT los de mayor proporción con grado histológico 3 en comparación con genotipo CC (27,8% vs 8,3%, respectivamente; $p=0,015$). Con respecto a la presencia de enfermedad voluminosa (*bulky*) y la distribución por genotipos agrupados, no se observó una tendencia a la significación, a diferencia del análisis anterior.

Tabla 5.28. Características basales en función del polimorfismo *FASL* rs763110.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	CC n=36; 28,6%	TC n=70; 55,6%	TT n=20; 15,9%		CC n=36; 28,6%	TC/TT n=90; 71,5%	
Grupos de edad, n (%)							
< 60 años	20 (55,6)	43 (61,4)	10 (50,0)	0,622	20 (55,6)	53 (58,9)	0,732
≥ 60 años	16 (44,4)	27 (38,6)	10 (50,0)		16 (44,4)	37 (41,1)	
Género masculino, n (%)	19 (52,8)	39 (55,7)	13 (65,0)	0,668	19 (52,8)	52 (57,8)	0,609
ECOG, n (%)							
0-1	30 (83,3)	62 (88,6)	17 (85,0)	0,450	30 (83,3)	79 (87,8)	0,517
≥ 2	5 (13,9)	5 (7,1)	3 (15,0)		5 (13,9)	8 (8,9)	
No disponible	1 (2,8)	3 (4,3)	-		1 (2,8)	3 (3,3)	
LDH, n (%)							
Elevada	25 (69,4)	43 (61,4)	12 (60,0)	0,603	25 (69,4)	55 (61,1)	0,316
Normal	9 (25,0)	24 (34,3)	7 (35,0)		9 (25,0)	31 (34,4)	
No disponible	2 (5,6)	3 (4,3)	1 (5,0)		2 (5,6)	4 (4,4)	
β2-microglobulina, n (%)							
Elevada	26 (72,2)	47 (67,1)	15 (75,0)	0,597	26 (72,2)	62 (68,9)	0,457
Normal	5 (13,9)	15 (21,4)	3 (15,0)		5 (13,9)	18 (20,0)	
No disponible	5 (13,9)	8 (11,4)	2 (10,0)		5 (13,9)	10 (11,1)	
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)							
Sí	6 (16,7)	20 (28,6)	7 (35,0)	0,240	6 (16,7)	27 (30,0)	0,118
No	29 (80,6)	48 (68,6)	12 (60,0)		29 (80,6)	60 (66,7)	
No disponible	1 (2,8)	2 (2,9)	1 (5,0)		1 (2,8)	3 (3,3)	

Tabla 5.28. Características basales en función del polimorfismo *FASL* rs763110.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	CC n=36; 28,6%	TC n=70; 55,6%	TT n=20; 15,9%		CC n=36; 28,6%	TC/TT n=90; 71,5%	
Médula ósea infiltrada, n (%)							
Sí	18 (50,0)	37 (52,9)	8 (40,0)	0,498	18 (50,0)	45 (50,0)	0,393
No	11 (30,6)	30 (42,9)	10 (50,0)		11 (30,6)	40 (44,4)	
No disponible	7 (19,4)	3 (4,3)	2 (10,0)		7 (19,4)	5 (5,6)	
Estadio Ann Arbor, n (%)							
I-II	6 (16,7)	9 (12,9)	7 (35,0)	0,106	6 (16,7)	16 (17,8)	0,807
III-IV	29 (80,6)	55 (78,6)	13 (65,0)		29 (80,6)	68 (75,6)	
No disponible	1 (2,8)	6 (8,6)	-		1 (2,8)	6 (6,7)	
Grado histológico, n (%)							
1-2	33 (91,7)	51 (72,9)	12 (60,0)	0,019	33 (91,7)	63 (70,0)	0,015
3	3 (8,3)	17 (24,3)	8 (40,0)		3 (8,3)	25 (27,8)	
No disponible	-	2 (2,9)	-		-	2 (2,2)	
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)	1 (2,8)	3 (4,3)	3 (15,0)	0,126	1 (2,8)	6 (6,7)	0,672
Antecedentes oncológicos, n (%)	2 (5,6)	7 (10,0)	3 (15,0)	0,503	2 (5,6)	10 (11,1)	0,506
Rt concomitante, n (%)	2 (5,6)	8 (11,4)	4 (20,0)	0,255	2 (5,6)	12 (13,3)	0,347
Presencia de síntomas B, n (%)							
Sí	6 (16,7)	11 (15,7)	5 (25,0)	0,599	6 (16,7)	16 (17,8)	0,807
No	29 (80,6)	53 (75,7)	15 (75,0)		29 (80,6)	68 (75,6)	
No disponible	1 (2,8)	6 (8,5)	-		1 (2,8)	6 (6,7)	

Tabla 5.28. Características basales en función del polimorfismo *FASL* rs763110.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	CC n=36; 28,6%	TC n=70; 55,6%	TT n=20; 15,9%		CC n=36; 28,6%	TC/TT n=90; 71,5%	
Escala FLIPI, n (%)							
Bajo	13 (36,1)	21 (30,0)	7 (35,0)		13 (36,1)	28 (31,1)	
Intermedio	10 (27,8)	22 (31,4)	4 (20,0)		10 (27,8)	26 (28,9)	
Alto	10 (27,8)	21 (30,0)	8 (40,0)		10 (27,8)	29 (32,2)	
No disponible	3 (8,3)	6 (8,6)	1 (5,0)	0,799	3 (8,3)	7 (7,8)	0,830
Nº ciclos del esquema, n (%)							
> 6	13 (36,1)	18 (25,7)	9 (45,0)		13 (36,1)	27 (30,0)	
= 6	18 (50,0)	47 (67,1)	11 (55,0)		18 (50,0)	58 (64,4)	
< 6	5 (13,9)	5 (7,1)	-	0,156	5 (13,9)	5 (5,6)	0,179
Evaluación respuesta, n (%)							
TAC	27 (75,0)	46 (65,7)	13 (65,0)		27 (75,0)	59 (65,6)	
PET-TAC	9 (25,0)	24 (34,3)	7 (35,0)	0,588	9 (25,0)	31 (34,4)	0,304

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; LDH: Lactato deshidrogenasa; MD: Modelo dominante; PET: Tomografía por emisión de positrones; Rt: Radioterapia; TAC: Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; LDH elevada: > 246 UI/mL; Radioterapia concomitante: administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta.

5.3.6.2. Influencia del polimorfismo rs763110 en el gen FASL en la respuesta al tratamiento con rituximab

No se encontró asociación entre genotipos y alelos y la respuesta al tratamiento en primera línea con rituximab en la valoración a mitad de tratamiento. Sin embargo, en el estudio por genotipos y alelos y la respuesta al final del tratamiento se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con genotipo CC frente a TC/TT (modelo dominante) y la respuesta al tratamiento, siendo más frecuente el genotipo CC en el grupo de pacientes respondedores que en el grupo RpP/NoRp (34,1% vs 14,3%, respectivamente; $p=0,028$) (Tablas 5.29 y 5.30).

Debido a la variabilidad de los esquemas farmacológicos utilizados en la práctica clínica en el tratamiento del linfoma folicular, se realizó un análisis considerando solamente los pacientes con esquemas tipo R-CHOP, que engloban al esquema R-CHOP, R-COP y R-CNOP ($n=94$), de manera que la asociación de genotipos TC/TT con respecto a la respuesta obtenida al final del tratamiento fue similar a la obtenida en la cohorte total de pacientes del estudio [esquema tipo R-CHOP: genotipo TC/TT en respondedores: 63,2% vs RpP/NoRp: 92,3% ($p=0,005$); cohorte total: genotipo TC/TT en respondedores: 65,9% vs RpP/NoRp: 85,7% ($p=0,028$)].

Tabla 5.29. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (FASL rs763110).

FASL rs763110	Cohorte total n=98	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=36; 36,7%	RpP-NoRp n=62; 63,3%	
Genotipo, n (%)				
CC	33 (33,7)	14 (38,9)	19 (30,6)	0,391
TC	51 (52,0)	19 (52,8)	32 (51,6)	
TT	14 (14,3)	3 (8,3)	11 (17,7)	
Genotipo (MD), n (%)				
CC	33 (33,7)	14 (38,9)	19 (30,6)	0,405
TC/TT	65 (66,3)	22 (61,1)	43 (69,4)	

Tabla 5.29. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (*FASL* rs763110).

<i>FASL</i> rs763110	Cohorte total n=98	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=36; 36,7%	RpP-NoRp n=62; 63,3%	
Alelo, n (%)				
C	117 (59,7)	47 (65,3)	70 (56,5)	0,225
T	79 (40,3)	25 (34,7)	54 (43,5)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

Tabla 5.30. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (*FASL* rs763110).

<i>FASL</i> rs763110	Cohorte total n=126	RESPUESTA FINAL		P valor
		Respondedores n=91; 72,2%	RpP-NoRp n=35; 27,8%	
Genotipo, n (%)				
CC	36 (28,6)	31 (34,1)	5 (14,3)	0,083
TC	70 (55,6)	46 (50,5)	24 (68,6)	
TT	20 (15,9)	14 (15,4)	6 (17,1)	
Genotipo (MD), n (%)				
CC	36 (28,6)	31 (34,1)	5 (14,3)	0,028
TC/TT	90 (71,4)	60 (65,9)	30 (85,7)	
Alelo, n (%)				
C	142 (56,3)	108 (59,3)	34 (48,6)	0,123
T	110 (43,6)	74 (40,7)	36 (51,4)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

5.3.7. Polimorfismo rs767455 en el gen *TNFR1*

5.3.7.1. Relación de las características basales con el polimorfismo rs767455 en el gen *TNFR1*

El estudio del polimorfismo *TNFR1* rs767455 se realizó en 122 muestras de 126 pacientes (4 muestras no procesables por falta de calidad óptima del ADN). La distribución por genotipos, cumpliendo con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,463$), fue la siguiente: 11,5% GG, 49,2% AG y 39,3% AA.

Las características basales de la población a estudio según la distribución de los genotipos del polimorfismo *TNFR1* rs767455 se muestran en la **Tabla 5.31**. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características basales de la población y los genotipos. Sin embargo, sí se observó una tendencia a la significación en la evaluación de la respuesta, siendo más frecuente la evaluación por PET-TAC en el genotipo AG con respecto a GG y AA (40,0% vs 21,4% vs 20,8%, respectivamente; $p=0,073$). Asimismo, se observó una tendencia a la significación en la presencia de síntomas B y la distribución por genotipos, siendo los pacientes con genotipo AA el de mayor proporción frente a AG y GG (27,1%, 13,3%, 7,1%, respectivamente; $p=0,093$).

Según la distribución de los genotipos agrupados del polimorfismo *TNFR1* rs767455 (AG/GG frente a AA; modelo dominante), se observaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de síntomas B y la distribución por genotipos, siendo los pacientes con genotipo AA el de mayor proporción frente a los genotipos AG/GG (27,1% vs 12,2%, respectivamente; $p=0,033$). También se observó una tendencia a la significación en la evaluación de la respuesta, siendo más frecuente la evaluación por PET-TAC en los genotipos AG/GG que en AA (36,5% vs 20,8%, respectivamente; $p=0,066$).

Tabla 5.31. Características basales según el polimorfismo *TNFR1* rs767455.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	GG n=14; 11,5%	AG n=60; 49,2%	AA n=48; 39,3%		AA n=48; 39,3%	AG/GG n=74; 60,7%	
Grupos de edad, n (%)							
< 60 años	8 (57,1)	23 (38,3)	23 (47,9)	0,606	25 (52,1)	45 (60,8)	0,341
≥ 60 años	6 (42,9)	37 (61,7)	25 (52,1)		23 (47,9)	29 (39,2)	
Género masculino, n (%)	8 (57,1)	36 (60,0)	25 (52,1)	0,711	25 (52,1)	44 (59,5)	0,422
ECOG, n (%)							
0-1	13 (92,9)	53 (88,3)	39 (81,3)	0,390	39 (81,3)	66 (89,2)	0,556
≥ 2	-	7 (11,7)	6 (12,5)		6 (12,5)	7 (9,5)	
No disponible	1 (7,1)	-	3 (6,3)		3 (6,3)	1 (13,5)	
LDH, n (%)							
Elevada	10 (71,4)	38 (63,3)	32 (66,7)	0,972	32 (66,7)	48 (64,9)	0,866
Normal	4 (28,6)	17 (28,3)	15 (31,3)		15 (31,3)	21 (28,4)	
No disponible	-	5 (8,3)	1 (2,1)		1 (2,1)	5 (6,8)	
β2-microglobulina, n (%)							
Elevada	11 (78,6)	42 (70,0)	32 (66,7)	0,565	32 (66,7)	53 (71,6)	0,292
Normal	2 (14,3)	9 (15,0)	11 (22,9)		11 (22,9)	11 (14,9)	
No disponible	1 (7,1)	9 (15,0)	5 (10,4)		5 (10,4)	10 (13,5)	
Hemoglobina < 12 g/dL, n (%)							
Sí	4 (28,6)	13 (21,7)	16 (33,3)	0,518	16 (33,3)	17 (23,0)	0,303
No	10 (71,4)	43 (71,7)	32 (66,7)		32 (66,7)	53 (71,6)	
No disponible	-	4 (6,7)	-		-	4 (5,4)	

Tabla 5.31. Características basales según el polimorfismo *TNFR1* rs767455.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	GG n=14; 11,5%	AG n=60; 49,2%	AA n=48; 39,3%		AA n=48; 39,3%	AG/GG n=74; 60,7%	
Médula ósea infiltrada, n (%)							
Sí	7 (50,0)	35 (58,3)	20 (41,7)	0,397	20 (41,7)	42 (56,8)	0,238
No	6 (42,9)	21 (35,0)	21 (43,8)		21 (43,8)	27 (36,5)	
No disponible	1 (7,1)	4 (6,7)	7 (14,6)		7 (14,6)	5 (6,8)	
Estadio Ann Arbor, n (%)							
I-II	1 (7,1)	10 (16,7)	9 (18,8)	0,638	9 (18,8)	11 (14,9)	0,554
III-IV	11 (78,6)	48 (80,0)	36 (75,0)		36 (75,0)	59 (79,7)	
No disponible	2 (14,3)	2 (3,3)	3 (6,3)		3 (6,3)	4 (5,4)	
Grado histológico, n (%)							
1-2	11 (78,6)	45 (75,0)	36 (75,0)	0,911	36 (75,0)	56 (75,7)	0,826
3	3 (21,4)	15 (25,0)	10 (20,8)		10 (20,8)	18 (24,3)	
No disponible	-	-	2 (4,2)		2 (4,2)	-	
Presencia de <i>bulky</i> , n (%)	1 (7,1)	2 (3,3)	4 (8,3)	0,525	4 (8,3)	3 (4,1)	0,432
Antecedentes oncológicos, n (%)	2 (14,3)	4 (6,7)	6 (12,5)	0,503	6 (12,5)	6 (8,1)	0,537
Rt concomitante, n (%)	1 (7,1)	6 (10,0)	6 (12,5)	0,827	6 (12,5)	7 (9,5)	0,595
Presencia de síntomas B, n (%)							
Sí	1 (7,1)	8 (13,3)	13 (27,1)	0,093	13 (27,1)	9 (12,2)	0,033
No	11 (78,6)	50 (83,3)	32 (66,7)		32 (66,7)	61 (82,4)	
No disponible	2 (14,3)	2 (3,3)	3 (6,3)		3 (6,3)	4 (5,4)	

Tabla 5.31. Características basales según el polimorfismo *TNFR1* rs767455.

VARIABLES	GENOTIPO			P valor	GENOTIPO (MD)		P valor
	GG n=14; 11,5%	AG n=60; 49,2%	AA n=48; 39,3%		AA n=48; 39,3%	AG/GG n=74; 60,7%	
Escala FLIPI, n (%)							
Bajo	4 (28,6)	18 (30,0)	17 (35,4)		17 (35,4)	22 (29,7)	
Intermedio	3 (21,4)	21 (35,0)	10 (20,8)		10 (20,8)	24 (32,4)	
Alto	4 (28,6)	17 (28,3)	18 (37,5)		18 (37,5)	21 (28,4)	
No disponible	3 (21,4)	4 (6,7)	3 (6,3)	0,580	3 (6,3)	7 (9,5)	0,300
Nº ciclos del esquema, n (%)							
> 6	5 (35,7)	18 (30,0)	16 (33,3)		16 (33,3)	23 (31,1)	
= 6	9 (64,3)	36 (60,0)	29 (60,4)		29 (60,4)	45 (60,8)	
< 6	-	6 (10,0)	3 (6,3)	0,759	3 (6,3)	6 (8,1)	0,912
Evaluación respuesta, n (%)							
TAC	11 (78,6)	36 (60,0)	38 (79,2)		38 (79,2)	47 (63,5)	
PET-TAC	3 (21,4)	24 (40,0)	10 (20,8)	0,073	10 (20,8)	27 (36,5)	0,066

Anteced: Antecedentes; *ECOG:* Eastern Cooperative Oncology Group; *FLIPI:* Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; *LDH:* Lactato deshidrogenasa; *MD:* Modelo dominante; *PET:* Tomografía por emisión de positrones; *Rt:* Radioterapia; *TAC:* Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; *LDH elevada:* > 246 UI/mL; *Radioterapia concomitante:* administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta.

5.3.7.2. *Influencia del polimorfismo rs767455 en el gen TNFR1 en la respuesta al tratamiento con rituximab*

No se encontró asociación entre genotipos y alelos y la respuesta al tratamiento en primera línea con rituximab en la valoración a mitad y final del tratamiento. Sin embargo, se observó una tendencia a la significación al comparar los genotipo AA con respecto a la asociación AG/GG, siendo más frecuente en el grupo RpP/NoRp que en respondedores (49,2% vs 30,3%, respectivamente; $p=0,064$), al igual que el alelo A con respecto a G, siendo más frecuente en el grupo RpP/NoRp que en el de respondedores (70,5% vs 57,6%, respectivamente; $p=0,074$), en la evaluación a mitad del tratamiento (**Tablas 5.32 y 5.33**).

Debido a la variabilidad de los esquemas farmacológicos utilizados en la práctica clínica en el tratamiento del linfoma folicular, se realizó un análisis considerado solamente los pacientes con esquemas tipo R-CHOP que engloban al esquema R-CHOP, R-COP y R-CNOP ($n=94$), de manera el genotipo AA con respecto a la respuesta obtenida a mitad del tratamiento fue similar a la obtenida en la cohorte total de pacientes del estudio [esquema tipo R-CHOP: genotipo AA en respondedores: 31,8% vs RpP/NoRp: 53,2% ($p=0,097$); cohorte total: genotipo AA en respondedores: 30,3% vs RpP/NoRp: 42,6% ($p=0,077$)].

Tabla 5.32. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos a mitad del tratamiento (*TNFR1* rs767455).

<i>TNFR1</i> rs767455	Cohorte total n=94	RESPUESTA INTERMEDIA		P valor
		Respondedores n=33; 35,1%	RpP-NoRp n=61; 64,9%	
Genotipo, n (%)				
GG	10 (10,6)	5 (15,2)	5 (8,2)	0,181
AG	44 (46,8)	18 (54,5)	26 (42,6)	
AA	40 (42,6)	10 (30,3)	30 (49,2)	
Genotipo (MD), n (%)				
AA	40 (42,6)	10 (30,3)	30 (49,2)	0,077
AG/GG	54 (57,4)	23 (69,7)	31 (50,8)	
Alelo, n (%)				
G	64 (34,0)	28 (42,4)	36 (29,5)	0,074
A	124 (66,0)	38 (57,6)	86 (70,5)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

Tabla 5.33. Estudio farmacogenético por genotipos y alelos al final del tratamiento (*TNFR1* rs767455).

<i>TNFR1</i> rs767455	Cohorte total n=122	RESPUESTA FINAL		P valor
		Respondedores n=87; 71,3%	RpP-NoRp n=35; 28,7%	
Genotipo, n (%)				
GG	14 (11,5)	8 (9,2)	6 (17,1)	0,460
AG	60 (49,2)	44 (50,6)	16 (45,7)	
AA	48 (39,3)	35 (40,2)	13 (37,1)	
Genotipo (MD), n (%)				
AA	48 (39,3)	35 (40,2)	13 (37,1)	0,752
AG/GG	74 (60,7)	52 (59,8)	22 (62,9)	
Alelo, n (%)				
G	88 (36,1)	60 (34,5)	28 (40,0)	0,417
A	156 (63,9)	114 (65,5)	42 (60,0)	

MD: Modelo dominante; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

5.3.8. Estudio farmacogenético por alelos conjuntos para los SNP en FAS, FASL, TRAILR1, TRAIL y TNFR1.

Para realizar el análisis genético por alelos conjuntos se analizaron todas las combinaciones formadas por los polimorfismos relacionados con los sistemas FAS/FASL y TRAILR1/TRAIL y TNFR1 incluidos en el estudio. El estudio por alelos conjuntos se realizó sobre la respuesta obtenida al finalizar el tratamiento de inducción en primera línea, considerando los dos grupos de respuesta previamente definidos.

Debido al elevado número de combinaciones posibles, en la **Tabla 5.34** solamente se muestran aquellos alelos conjuntos cuya diferencia de frecuencia entre los dos grupos era estadísticamente significativa. En el estudio realizado, se observó que determinados alelos conjuntos eran más frecuentes en el grupo de pacientes respondedores mientras que otros presentaban una frecuencia mayor en el grupo de RpP/NoRp, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

Los alelos conjuntos más frecuentes en el grupo de respondedores, observándose diferencias estadísticamente significativas, fueron los alelos conjuntos 2 [AA-CC--], 5 [A-GCC--] y 6 [A--CC--], que representan una frecuencia

de 22,5%, 22,8% y 29,3% frente al 7,1%, 8,9% y 13,8% en el grupo de RpP/NoRp, ($p=0,006$; $p=0,008$; $p=0,012$, respectivamente). Cabe destacar la combinación de alelos CC de los polimorfismos *TRAILR1* rs20575 y *FASL* rs763110. Su presencia podría considerarse un predictor de respuesta al tratamiento con rituximab.

Los alelos conjuntos más frecuentes en el grupo de RpP/NoRp, observándose diferencias estadísticamente significativas, fueron los alelos conjuntos 7 [AA-G---], 8 [AAGG---], 19 [-AGG---] y 20 [-AGGC--], que representan una frecuencia de 39,4%, 36,5%, 60,4% y 40,3% frente al 23,8%, 18,9%, 34,1% y 19,3% en el grupo de respondedores, respectivamente. Cabe destacar la combinación del alelo G del polimorfismo *TRAILR1* rs20575 y la combinación de los alelos AAG en *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229 y *TRAIL* rs12488654. Su presencia podría considerarse un predictor de peor respuesta al tratamiento con rituximab.

Por otro lado, entre los alelos conjuntos que presentaron frecuencia mayor al 10% en alguno de los dos grupos cabe destacar la presencia de la secuencia de alelos G (*TRAIL* rs12488654), C (*TRAILR1* rs20575) y C (*FASL* rs763110), presentes en los alelos conjuntos 1 [AAGCC--], 5 [A-GCC--] y 18 [--GCC--], que apareció con mayor frecuencia en el grupo de respondedores con respecto al grupo de RpP/NoRp, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (alelos conjuntos 1: 15,7% vs 6,2%, $p=0,029$; alelos conjuntos 5: 22,8% vs 8,9%, $p=0,008$; alelos conjuntos 18: 21,4% vs 9,0%, $p=0,024$). Por el contrario, la combinación G (*TRAIL* rs12488654), G (*TRAILR1* rs20575) y T (*FASL* rs763110), presentes en los alelos conjuntos 23 [--GGTCC] y 24 [--GGT--], fue más frecuente en el grupo de RpP/NoRp con respecto al grupo de respondedores (alelos conjuntos 23: 19,4% vs 6,4%, $p=0,006$; alelos conjuntos 24: 31,3% vs 16,9%, $p=0,013$).

El análisis por alelos conjuntos mostró un grado de desequilibrio del ligamiento entre *TRAILR1* rs20576 y *TRAILR1* rs20575 ($D'=0,740$; $r^2=0,153$) y entre *TRAILR1* rs2230229 y *FASL* rs763110 ($D'=0,588$; $r^2=0,043$) (**Figura 5.1**).

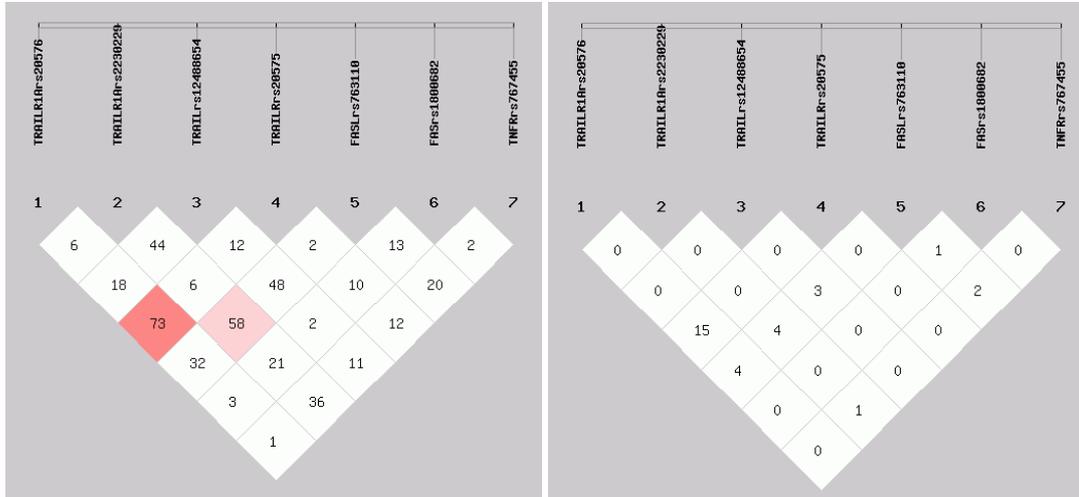


Figura 5.1. Análisis de desequilibrio entre los polimorfismos a estudio. El diagrama de la derecha muestra el coeficiente de desequilibrio D' normalizado (D') y el de la izquierda el parámetro r^2 (ambos $\times 100$).

Tabla 5.34. Resultados del estudio farmacogenético por alelos conjuntos al finalizar tratamiento de inducción en primera línea.

AleConj	ALELO							FRECUENCIA (%)		P valor	OR (IC95%)
	TRAILR1 rs20576	TRAILR1 rs2230229	TRAIL rs12488654	TRAILR1 rs20575	FASL rs763110	FAS rs1800682	TNFR1 rs757455	Resp (n=91)	RpP-NoRp (n=35)		
AleConj1	A	A	G	C	C	-	-	15,7	6,2	0,029	0,313 (0,105-0,931)
AleConj2	A	A	-	C	C	-	-	22,5	7,1	0,006	0,262 (0,095-0,717)
AleConj3	A	A	-	C	C	T	-	10,4	2,7	0,038	0,211 (0,042-1,053)
AleConj4	A	A	-	C	C	-	A	16,2	6,0	0,038	0,326 (0,108-0,983)
AleConj5	A	-	G	C	C	-	-	22,8	8,9	0,008	0,307 (0,124-0,763)
AleConj6	A	-	-	C	C	-	-	29,3	13,8	0,012	0,387 (0,181-0,830)
AleConj7	A	A	-	G	-	-	-	23,8	39,4	0,017	2,074 (1,131-1,148)
AleConj8	A	A	G	G	-	-	-	18,9	36,5	0,011	2,269 (1,199-4,294)
AleConj9	A	A	G	G	-	-	G	6,0	17,5	0,009	3,209 (1,295-7,951)
AleConj10	A	A	-	G	-	-	G	7,2	17,4	0,022	2,692 (1,129-6,418)
AleConj11	A	-	-	C	T	C	G	-	10,9	<0,001	-
AleConj12	A	A	G	G	C	T	-	5,3	20,3	<0,001	4,610 (1,831-11,604)
AleConj13	A	A	-	G	C	T	-	3,6	14,0	0,008	3,995 (1,350-11,821)
AleConj14	A	A	-	G	C	-	G	2,9	15,0	<0,001	6,072 (1,948-18,925)
AleConj15	C	A	-	G	C	T	A	2,5	12,1	0,007	4,857 (1,391-16,961)

Tabla 5.34. Resultados del estudio farmacogenético por alelos conjuntos al finalizar tratamiento de inducción en primera línea.

AleConj	ALELO							FRECUENCIA (%)		P valor	OR (IC95%)
	TRAILR1 rs20576	TRAILR1 rs2230229	TRAIL rs12488654	TRAILR1 rs20575	FASL rs763110	FAS rs1800682	TNFR1 rs757455	Resp (n=91)	RpP-NoRp (n=35)		
AleConj16	C	A	-	G	C	-	A	3,4	10,5	0,029	3,396 (1,068-10,799)
AleConj17	-	A	-	C	C	-	-	21,6	7,4	0,010	0,290 (0,108-0,779)
AleConj18	-	-	G	C	C	-	-	21,4	9,0	0,024	0,364 (0,147-0,898)
AleConj19	-	A	G	G	-	-	-	34,4	60,4	<0,001	2,923 (1,628-5,248)
AleConj20	-	A	G	G	C	-	-	19,3	40,3	0,001	2,862 (1,537-5,330)
AleConj21	-	A	-	G	C	-	-	23,6	39,0	0,015	2,095 (1,144-3,837)
AleConj22	-	-	G	G	C	T	A	3,2	19,6	<0,001	6,700 (2,334-19,231)
AleConj23	-	-	G	G	T	C	G	6,4	19,4	0,006	3,246 (1,351-7,799)
AleConj24	-	-	G	G	T	-	-	16,9	31,3	0,013	2,231 (1,172-4,247)

AleConj: Alelos conjuntos; IC: Intervalo de confianza; OR: Odds ratio; Resp: Respondedores; RpP-NoRp: Respondedores parciales-No respondedores.

5.4. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA NO AJUSTADA

Adicionalmente, se realizó un análisis de regresión logística binaria no ajustada incluyendo las características basales, los datos analíticos y moleculares, las clasificaciones pronósticas y sistemas de estadiaje y las características relacionadas con el tratamiento, así como los polimorfismos genéticos relacionados con la apoptosis, con respecto a la respuesta obtenida a mitad y al final del tratamiento, tal y como se describe en las **Tabla 5.35 y 5.36**. En estas tablas se refleja la puntuación Chi², que permite entender la importancia relativa de cada covariable.

Tabla 5.35. Regresión logística binaria no ajustada de las características clínicas y los polimorfismos genéticos para la respuesta a mitad del tratamiento.

VARIABLES	OR	IC95%	p valor	Chi ²
Edad (≥ 60 años)	0,615	0,266-1,418	0,254	1,303
Género masculino	2,182	0,942-5,052	0,069	3,355
ECOG				
0-1	1	-	-	
≥ 2	0,845	0,221-3,227	0,806	0,023
Antecedentes oncológicos	0,854	0,217-3,358	0,821	0,002
Presencia de síntomas B	5,535	1,177-26,035	0,030	6,395
Presencia de <i>bulky</i>	3,070	0,344-27,375	0,315	1,242
LDH elevada	1,556	0,650-3,724	0,321	0,008
β ₂ -microglobulina elevada	2,091	0,759-5,759	0,154	0,844
Hemoglobina < 12 g/dL	0,861	0,328-2,258	0,760	1,608
Médula ósea infiltrada	0,566	0,235-1,364	0,204	3,156
Grado histológico				
1-2	1	-	-	
3	0,848	0,413-2,935	0,667	0,037
Estadio Ann Arbor				
I-II	1	-	-	
III-IV	2,347	0,859-6,410	0,096	2,789
Escala FLIPI				
Bajo	1	-	-	
Intermedio	1,905	0,669-5,424	0,228	
Alto	1,439	0,510-4,060	0,491	0,640

Tabla 5.35. Regresión logística binaria no ajustada de las características clínicas y los polimorfismos genéticos para la respuesta a mitad del tratamiento.

VARIABLES	OR	IC95%	p valor	Chi ²
Evaluación respuesta				
TAC	1	-	-	
PET-TAC	2,211	0,866-5,644	0,097	2,912
<i>TRAILR1</i> rs20576				
AA				
CA				
CC				
	NO APLICABLE			
<i>TRAILR1</i> rs20576 (MD)				
AA	1	-	-	
CA/CC	0,718	0,307-1,681	0,445	0,583
<i>TRAILR1</i> rs2230229				
AA	1	-	-	
GA	0,781	0,283-2,160	0,634	
GG	0,174	0,017-1,756	0,138	1,948
<i>TRAILR1</i> rs2230229 (MD)				
AA	1	-	-	
GA/GG	0,616	0,241-1,571	0,310	1,022
<i>TRAIL</i> rs12488654				
AA	1	-	-	
GA	1,700	0,095-30,277	0,718	
GG	1,760	0,105-29,378	0,694	0,064
<i>TRAIL</i> rs12488654 (MD)				
GG	1	-	-	
GA/AA	0,930	0,379-2,279	0,873	0,025
<i>TRAILR1</i> rs20575				
CC	1	-	-	
GC	1,723	0,631-4,705	0,288	
CC	2,051	0,675-6,231	0,205	1,607
<i>TRAILR1</i> rs20575 (MD)				
CC	1	-	-	
GC/GG	1,846	0,732-4,656	0,194	1,679
<i>FASL</i> rs763110				
CC	1	-	-	
TC	1,241	0,508-3,033	0,636	
TT	2,702	0,633-11,533	0,180	1,625

Tabla 5.35. Regresión logística binaria no ajustada de las características clínicas y los polimorfismos genéticos para la respuesta a mitad del tratamiento.

VARIABLES	OR	IC95%	p valor	Chi ²
<i>FASL</i> rs763110 (MD)				
CC	1	-	-	
TC/TT	1,440	0,609-3,405	0,406	0,687
<i>FAS</i> rs1800682				
CC	1	-	-	
TC	0,409	0,139-1,207	0,105	
TT	0,889	0,238-3,317	0,861	0,049
<i>FAS</i> rs1800682 (MD1)				
CC	1	-	-	
TC/TT	0,603	0,211-1,723	0,345	0,932
<i>FAS</i> rs1800682 (MD2)				
TT	1	-	-	
TC/CC	0,512	0,181-1,447	0,207	1,692
<i>TNFR1</i> rs767455				
GG	1	-	-	
AG	1,444	0,364-5,728	0,601	
AA	3,000	0,717-12,553	0,132	3,314
<i>TNFR1</i> rs767455 (MD)				
AA	1	-	-	
AG/GG	0,449	0,183-1,101	0,080	3,186

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; IC: Intervalo de confianza; LDH: Lactato deshidrogenasa; MD: Modelo dominante; OR: Odds ratio; PET: Tomografía por emisión de positrones; TAC: Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; LDH elevada: > 246 UI/mL. Se presenta el odds ratio siendo la variable dependiente "respondedores" definida previamente. El análisis estadístico no es aplicable para el polimorfismo *TRAILR1* rs20576 debido a que el genotipo CC no está presente en el grupo de respondedores.

En relación con la respuesta a mitad del tratamiento (**Tabla 5.35**), se ha observado que el género masculino (OR=2,182, IC95% 0,942-5,052, p=0,069), la presencia de síntomas B (OR=5,535, IC95% 1,177-26,035, p=0,030) y la evaluación de la respuesta mediante PET-TAC (OR=2,211, IC95% 0,866-5,644, p=0,097), pueden ser factores predictores de peor respuesta al tratamiento, mientras que los genotipos AG/GG *TNFR1* rs767455 (OR=0,449, IC95% 0,183-1,101, p=0,080) pueden ser factores predictores de respuesta completa al tratamiento. La

evaluación de la puntuación χ^2 informó que, por orden de importancia, la variable más relevante fue la presencia de síntomas B ($\chi^2=6,395$), seguido del género ($\chi^2=3,355$), el polimorfismo *TNFR1* rs767455 [modelo dominante ($\chi^2=3,186$)] y la evaluación de la respuesta mediante PET-TAC ($\chi^2=2,912$).

Tabla 5.36. Regresión logística binaria no ajustada de las características clínicas y los polimorfismos genéticos para la respuesta al final del tratamiento.

VARIABLES	OR	IC95%	p valor	Chi ²
Edad (≥ 60 años)	0,636	0,283-1,432	0,275	1,220
Género masculino	2,953	1,247-6,994	0,014	6,591
ECOG				
0-1	1	-	-	
≥ 2	1,170	0,335-4,087	0,805	0,060
Antecedentes oncológicos	0,854	0,217-3,358	0,821	0,052
Presencia de síntomas B	2,360	0,891-6,249	0,084	2,881
Presencia de <i>bulky</i>	3,785	0,802-17,867	0,093	2,819
LDH elevada	1,064	0,456-2,480	0,886	0,021
$\beta 2$ -microglobulina elevada	1,885	0,583-6,095	0,290	1,224
Hemoglobina < 12 g/dL	1,740	0,738-4,102	0,205	1,573
Médula ósea infiltrada	0,684	0,299-1,565	0,368	0,811
Grado histológico				
1-2	1	-	-	
3	0,810	0,309-2,118	0,667	0,189
Estadio Ann Arbor				
I-II	1	-	-	
III-IV	1,736	0,538-5,597	0,356	0,921
Escala FLIPI				
Bajo	1	-	-	
Intermedio	1,368	0,484-3,864	0,555	
Alto	1,778	0,657-4,809	0,257	1,301
Radioterapia concomitante	2,147	0,687-6,711	0,189	1,658
Nº ciclos con rituximab				
> 6	1	-	-	
$= 6$	0,891	0,384-2,069	0,788	
< 6	0,583	0,108-3,163	0,532	0,324
Evaluación respuesta				
TAC	1	-	-	
PET-TAC	1,667	0,738-3,765	0,219	1,489

Tabla 5.36. Regresión logística binaria no ajustada de las características clínicas y los polimorfismos genéticos para la respuesta al final del tratamiento.

VARIABLES	OR	IC95%	p valor	Chi ²
<i>TRAILR1</i> rs20576				
AA	1	-	-	
CA	0,829	0,358-1,923	0,663	
CC	1,410	0,307-6,473	0,659	<0,001
<i>TRAILR1</i> rs20576 (MD)				
AA	1	-	-	
CA/CC	0,904	0,409-1,997	0,803	0,063
<i>TRAILR1</i> rs2230229				
AA	1	-	-	
GA	0,390	0,124-1,229	0,108	
GG	0,747	0,075-7,490	0,804	2,064
<i>TRAILR1</i> rs2230229 (MD)				
AA	1	-	-	
GA/GG	0,431	0,150-1,235	0,117	2,752
<i>TRAIL</i> rs12488654				
AA				
GA				
GG				
NO APLICABLE				
<i>TRAIL</i> rs12488654 (MD)				
GG	1	-	-	
GA/AA	0,656	0,265-1,624	0,362	0,862
<i>TRAILR1</i> rs20575				
CC	1	-	-	
GC	2,796	0,842-9,287	0,093	
CC	2,902	0,837-10,064	0,093	2,451
<i>TRAILR1</i> rs20575 (MD)				
CC	1	-	-	
GC/GG	2,841	0,908-8,885	0,073	3,792
<i>FASL</i> rs763110				
CC	1	-	-	
TC	3,235	1,114-9,390	0,031	
TT	2,657	0,693-10,190	0,154	2,747
<i>FASL</i> rs763110 (MD)				
CC	1	-	-	
TC/TT	3,100	1,094-8,782	0,033	5,308

Tabla 5.36. Regresión logística binaria no ajustada de las características clínicas y los polimorfismos genéticos para la respuesta al final del tratamiento.

VARIABLES	OR	IC95%	p valor	Chi ²
<i>FAS</i> rs1800682				
CC	1	-	-	
TC	1,160	0,437-3,081	0,766	
TT	0,766	0,237-2,470	0,655	0,201
<i>FAS</i> rs1800682 (MD1)				
CC	1	-	-	
TC/TT	1,019	0,401-2,586	0,969	0,595
<i>FAS</i> rs1800682 (MD2)				
TT	1	-	-	
TC/CC	1,446	0,557-3,757	0,449	0,002
<i>TNFR1</i> rs767455				
GG	1	-	-	
AG	0,485	0,146-1,615	0,238	
AA	0,495	0,144-1,703	0,265	0,702
<i>TNFR1</i> rs767455 (MD)				
AA	1	-	-	
AG/GG	1,139	0,507-2,557	0,752	1,453

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; IC: Intervalo de confianza; LDH: Lactato deshidrogenasa; MD: Modelo dominante; OR: Odds ratio; PET: Tomografía por emisión de positrones; TAC: Tomografía axial computarizada; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; LDH elevada: > 246 UI/mL; Radioterapia concomitante: administrada junto con esquema de inducción antes de la evaluación de la respuesta. Se presenta el odds ratio siendo la variable dependiente "respondedores" definida previamente. El análisis estadístico no es aplicable para el polimorfismo TRAIL rs12488654 debido a que el genotipo AA no está presente en el grupo de RpP-NoRp.

En relación con la respuesta al final del tratamiento (**Tabla 5.36**), se ha observado que el género masculino (OR=2,953, IC95% 1,247-6,994, p=0,014), la presencia de síntomas B (OR=2,881, IC95% 0,891-6,249, p=0,084), la presencia de enfermedad *bulky* (OR=3,785, IC95% 0,802-17,867, p=0,093), los genotipos GC/GG TRAILR1 rs20575 (OR=2,841, IC95% 0,908-8,885, p=0,073) y los genotipos TC/TT FASL rs763110 (OR=3,100, IC95% 1,094-8,782, p=0,033) pueden ser factores predictores de peor respuesta al tratamiento. La evaluación de la puntuación Chi² informó que, por orden de importancia, la variable más relevante fue el género (Chi²=6,591), seguido del polimorfismo FASL rs763110 [modelo dominante

($\text{Chi}^2=5,308$), el polimorfismo *TRAILR1* rs20575 [modelo dominante ($\text{Chi}^2=3,792$)], la presencia de síntomas B ($\text{Chi}^2=2,881$) y la presencia de *bulky* ($\text{Chi}^2=2,819$).

5.5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

En el modelo de regresión logística binaria multivariante, en relación con la respuesta a mitad del tratamiento, se incluyeron como covariables el género, la presencia de síntomas B, el tipo de evaluación de la respuesta y el polimorfismo *TNFR1* rs767455, cuyas variables fueron las más relevantes mediante la puntuación de Chi^2 . Tal y como se muestra en la **Tabla 5.37**, las variables consideradas como predictores independientes de respuesta a mitad del tratamiento fueron la evaluación mediante PET-TAC y el genotipo AA en *TNFR1* rs767455.

Tabla 5.37. Modelo multivariado clínico-genético de predicción de respuesta a mitad del tratamiento.

VARIABLES	OR ajustado	IC95%	p valor
Género femenino	0,616	0,240-1,580	0,314
Presencia de síntomas B	3,113	0,619-15,646	0,168
Evaluación mediante PET-TAC	3,215	1,020-10,137	0,046
<i>TNFR1</i> rs767455, Genotipo AA	2,849	1,037-7,824	0,042

IC: Intervalo de confianza; OR: Odds ratio; PET: Tomografía por emisión de positrones; TAC: Tomografía axial computarizada. Se presenta el odds ratio siendo la variable dependiente "respondedores" definida previamente. Calibración del modelo ajustado con cuatro variables por el método introducir (género, presencia de síntomas B, evaluación de la respuesta y *TNFR1* rs767455): Prueba de Hosmer-Lemeshow: $\text{Chi}^2=6,848$; $gl=6$; $p=0,335$. El estadístico C del modelo clínico-genético fue de 0,722 (IC95% 0,615-0,828).

Se han realizado dos modelos de regresión logística binaria multivariante para predecir la respuesta al final del tratamiento debido a la proximidad en la puntuación Chi^2 para la presencia de síntomas B y presencia de *bulky*. En el primer modelo, se incluyeron como covariables el género, la presencia de *bulky* y los polimorfismos *TRAILR1* rs20575 y *FASL* rs763110. Tal y como se muestra en la **Tabla 5.38**, la variable considerada como predictora independientes de respuesta, según este modelo, fue únicamente el género femenino.

Tabla 5.38. Modelo multivariado clínico-genético de predicción de respuesta al final del tratamiento (Modelo 1).

VARIABLES	OR ajustado	IC95%	p valor
Género femenino	0,345	0,141-0,845	0,020
Presencia de <i>bulky</i>	2,371	0,403-13,948	0,340
<i>TRAILR1</i> rs20575, Genotipo CC	0,331	0,101-1,079	0,067
<i>FASL</i> rs763110, Genotipo CC	0,351	0,120-1,027	0,056

IC: Intervalo de confianza; OR: Odds ratio. Se presenta el odds ratio siendo la variable dependiente "respondedores" definida previamente. Calibración del modelo ajustado con cuatro variables por método introducir (género, presencia de *bulky*, *FASL* rs763110 y *TRAILR1* rs20575): Prueba de Hosmer-Lemeshow: $\chi^2=3,703$ (gl=5; p=0,593). El estadístico C del modelo clínico-genético fue de 0,699 (IC95% 0,596-0,803).

En el segundo modelo, se incluyeron como covariables el género, la presencia de síntomas B y los polimorfismos *TRAILR1* rs20575 y *FASL* rs763110. Tal y como se muestra en la **Tabla 5.39**, las variables consideradas como predictoras independientes de respuesta, según este modelo, fueron el género femenino y el genotipo CC de *TRAILR1* rs20575.

Tabla 5.39. Modelo multivariado clínico-genético de predicción de respuesta al final del tratamiento (Modelo 2).

VARIABLES	OR ajustado	IC95%	p valor
Género femenino	0,370	0,142-0,963	0,042
Presencia de síntomas B	3,163	0,964-10,381	0,058
<i>TRAILR1</i> rs20575, Genotipo CC	0,126	0,025-0,631	0,012
<i>FASL</i> rs763110, Genotipo CC	0,382	0,123-1,182	0,095

IC: Intervalo de confianza; OR: Odds ratio. Se presenta el odds ratio siendo la variable dependiente "respondedores" definida previamente. Calibración del modelo ajustado con cuatro variables por el método introducir (género, presencia de síntomas B, *FASL* rs763110 y *TRAILR1* rs20575): Prueba de Hosmer-Lemeshow: $\chi^2=3,619$ (gl=7; p=0,823). El estadístico C del modelo clínico-genético fue de 0,753 (IC95% 0,660-0,847).

5.6. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

5.6.1. Supervivencia libre de progresión

Mediante regresión de Cox se realizó un análisis bivalente para estudiar la potencial asociación entre las diferentes características de la población y los polimorfismos genéticos relacionados con la apoptosis y la SLP (Tablas 5.40 y 5.41).

Tabla 5.40. Asociación de las características basales y terapéuticas con la SLP.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
Edad (≥ 60 años)	1,032	0,464-2,295	0,938
Género masculino	0,654	0,293-1,460	0,654
ECOG			
0-1	1	-	-
≥ 2	0,423	0,057-3,153	0,401
Antecedentes oncológicos	0,373	0,050-2,766	0,335
Presencia de síntomas B	2,591	1,105-6,074	0,029
Presencia de <i>bulky</i>	0,641	0,086-4,746	0,663
LDH elevada	1,842	0,729-4,655	0,196
$\beta 2$ -microglobulina elevada	1,874	0,627-5,602	0,261
Hemoglobina < 12 g/dL	1,060	0,420-2,674	0,903
Médula ósea infiltrada	1,136	0,504-2,559	0,758
Grado histológico			
1-2	1	-	-
3	1,199	0,479-3,019	0,701
Estadio Ann Arbor			
I-II	1	-	-
III-IV	1,415	0,489-4,093	0,522
Escala FLIPI			
Bajo	1	-	-
Intermedio	1,154	0,427-3,124	0,777
Alto	1,391	0,531-3,640	0,502

Tabla 5.40. Asociación de las características basales y terapéuticas con la SLP.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
Radioterapia concomitante	0,251	0,034-1,852	0,175
Nº ciclos con rituximab			
> 6	1	-	-
= 6	0,952	0,431-2,106	0,904
< 6	0,541	0,069-4,239	0,558
Evaluación respuesta			
TAC	1	-	-
PET-TAC	0,937	0,388-2,264	0,885
Consolidación con rituximab	0,285	0,130-0,628	0,002

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; HR: Hazard ratio; IC: Intervalo de confianza; LDH: Lactato deshidrogenasa; PET: Tomografía por emisión de positrones; TAC: Tomografía axial computarizada; TPH: Trasplante de progenitores hematopoyéticos; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; Consolidación con rituximab: administración de algún esquema de consolidación con rituximab de mantenimiento o rituximab semanal después del tratamiento de inducción; LDH elevada: > 246 UI/mL; Segunda neoplasia: diagnóstico de neoplasia durante el estudio, posterior al tratamiento de inducción; Radioterapia: administrada en cualquier momento durante el estudio. Se presenta el hazard ratio siendo la variable dependiente "fallecimientos".

Tabla 5.41. Asociación de los polimorfismos con la SLP.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
TRAILR1 rs20576			
AA	1	-	-
CA	1,314	0,590-2,925	0,504
CC	1,690	0,375-7,606	0,494
TRAILR1 rs20576			
AA	1	-	-
CA/CC	1,357	0,627-2,934	0,438
TRAILR1 rs2230229			
AA	NO APLICABLE		
GA			
GG			

Tabla 5.41. Asociación de los polimorfismos con la SLP.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
<i>TRAILR1</i> rs2230229			
AA	1	-	-
GA/GG	0,324	0,097-1,077	0,066
<i>TRAIL</i> rs12488654	NO APLICABLE		
AA			
GA			
GG			
<i>TRAIL</i> rs12488654			
GG	1	-	-
GA/AA	1,004	0,422-2,392	0,992
<i>TRAILR1</i> rs20575			
CC	1	-	-
GC	0,999	0,385-2,588	0,999
CC	1,022	0,380-2,745	0,966
<i>TRAILR1</i> rs20575			
CC	1	-	-
GC/GG	1,009	0,426-2,392	0,984
<i>FASL</i> rs763110			
CC	1	-	-
TC	2,459	0,830-7,284	0,105
TT	2,769	0,729-10,519	0,135
<i>FASL</i> rs763110			
CC	1	-	-
TC/TT	2,516	0,866-7,310	0,090
<i>FAS</i> rs1800682			
CC	1	-	-
TC	0,940	0,346-2,558	0,904
TT	1,049	0,352-3,125	0,931
<i>FAS</i> rs1800682			
TT	1	-	-
TC/CC	0,916	0,378-2,218	0,846
<i>TNFR1</i> rs767455			
GG	1	-	-
AG	1,149	0,329-4,012	0,828
AA	0,872	0,240-3,173	0,836

Tabla 5.41. Asociación de los polimorfismos con la SLP.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
TNFR1 rs767455			
AA	1	-	-
AG/GG	1,283	0,586-2,808	0,533

HR: Hazard ratio; IC: Intervalo de confianza; Se presenta el hazard ratio siendo la variable dependiente "fallecimientos". El análisis estadístico no es aplicable para el polimorfismo TRAILR1 rs2230229 y TRAIL rs12488654 debido a que no hay pacientes portadores del genotipo GG y AA, respectivamente, que hayan sufrido una recaída.

Como se muestra en las **Tablas 5.40 y 5.41**, se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la SLP y la presencia de síntomas B ($p=0,029$) y la terapia de consolidación con rituximab ($p=0,002$). Además, se observó una tendencia hacia la significación entre la SLP y los polimorfismos TRAILR1 rs2230229, comparando el genotipo AA frente a GA/GG [(Modelo dominante); $p=0,066$], y FASL rs763110, comparando el genotipo CC frente a TC/TT [(Modelo dominante); $p=0,090$]. Las curvas de Kaplan-Meier correspondientes se muestran en la **Figura 5.2** (síntomas B), la **Figura 5.3** (consolidación con rituximab), la **Figura 5.4** (TRAILR1 rs2230229) y la **Figura 5.5** (FASL rs763110).

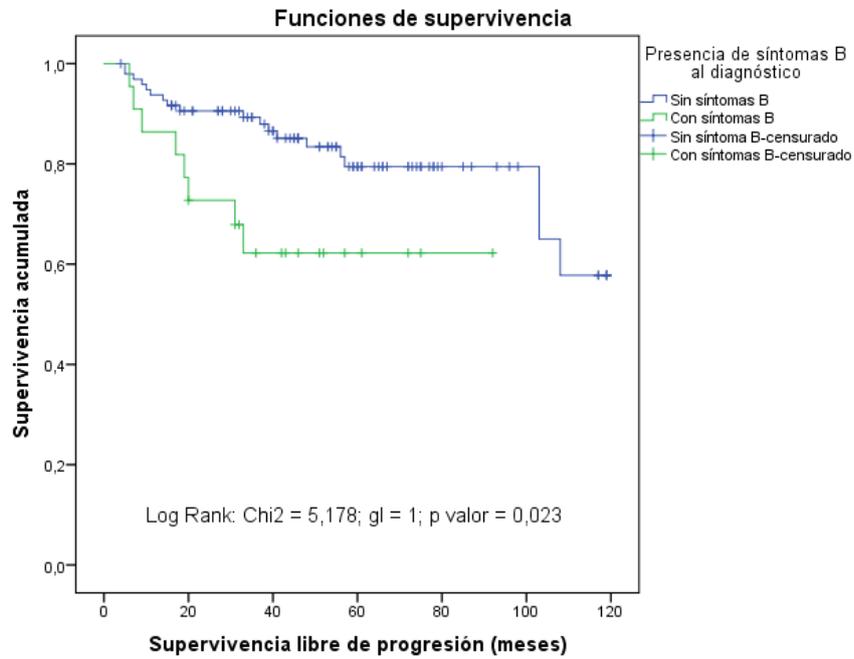


Figura 5.2. Curva de Kaplan-Meier de la SLP relacionada con la presencia de síntomas B.

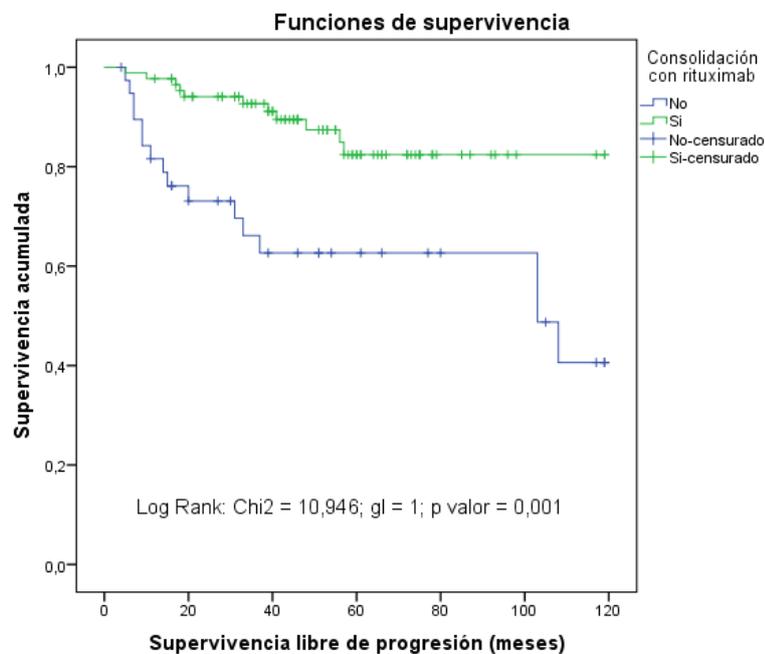


Figura 5.3. Curva de Kaplan-Meier de la SLP relacionada con la terapia de consolidación con rituximab.

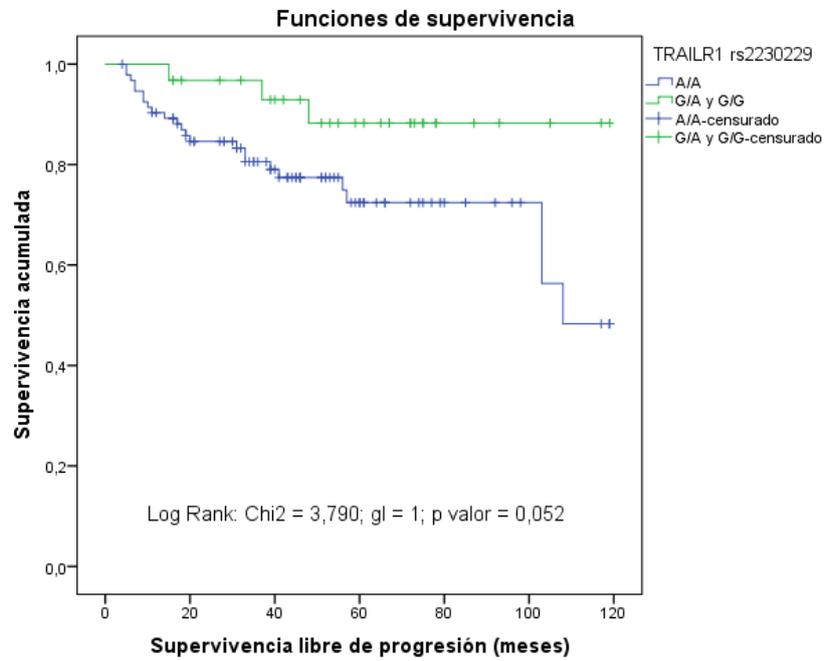


Figura 5.4. Curva de Kaplan-Meier de la SLP relacionada con *TRAILR1* rs2230229.

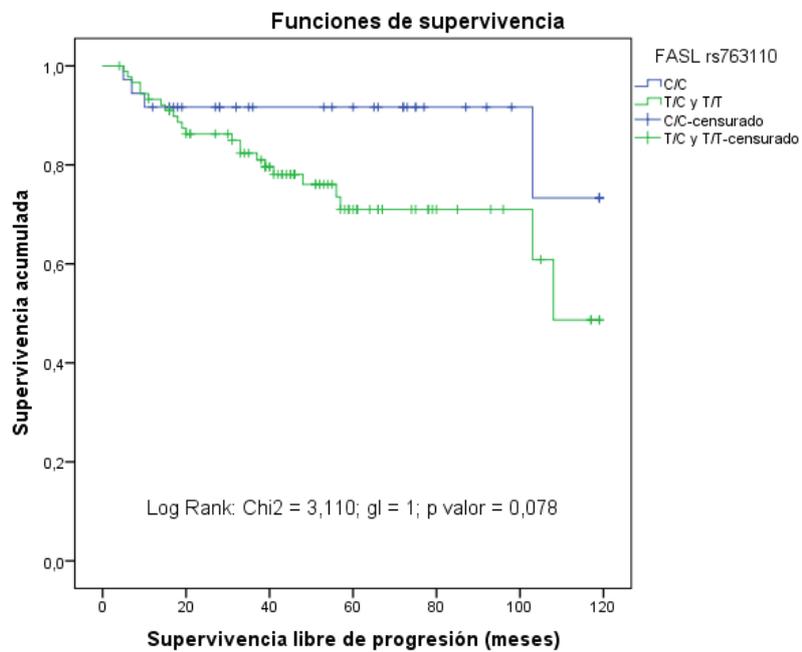


Figura 5.5. Curva de Kaplan-Meier de la SLP relacionada con *FASL* rs763110.

La SLP a los 3 años desde el diagnóstico fue del 81,8% (27 pacientes censurados) y a los 5 años del 63,6% (60 pacientes censurados).

5.6.2. Supervivencia global

Mediante regresión de Cox se realizó un análisis bivalente para estudiar la potencial asociación entre las diferentes características de la población y los polimorfismos genéticos relacionados con la apoptosis con la SG (Tablas 5.42 y 5.43).

Tabla 5.42. Asociación de las características basales y terapéuticas con la SG.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
Edad (≥ 60 años)	4,132	1,382-12,357	0,011
Género masculino	2,156	0,681-6,828	0,191
ECOG			
0-1	1	-	-
≥ 2	6,280	1,818-21,701	0,004
Antecedentes oncológicos	NO APLICABLE		
Presencia de síntomas B	1,902	0,599-6,035	0,275
Presencia de <i>bulky</i>	3,598	0,777-16,675	0,102
LDH elevada	1,643	0,449-6,007	0,453
$\beta 2$ -microglobulina elevada	1,854	0,409-8,402	0,423
Hemoglobina < 12 g/dL	1,954	0,636-6,001	0,242
Médula ósea infiltrada	1,850	0,568-6,021	0,307
Grado histológico			
1-2	1	-	-
3	0,738	0,164-3,328	0,693
Estadio Ann Arbor			
I-II	1	-	-
III-IV	0,646	0,206-2,032	0,455
Escala FLIPI			
Bajo	1	-	-
Intermedio	1,712	0,218-13,444	0,609
Alto	1,592	0,207-12,269	0,656
Radioterapia	0,758	0,170-3,366	0,715

Tabla 5.42. Asociación de las características basales y terapéuticas con la SG.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
Nº ciclos con rituximab			
> 6	1	-	-
= 6	0,911	0,296-2,800	0,870
< 6	2,453	0,470-12,798	0,287
Evaluación respuesta			
TAC	1	-	-
PET-TAC	0,502	0,110-2,283	0,372
Consolidación con rituximab	0,268	0,090-0,799	0,018
Recaídas	4,851	1,609-14,623	0,005
TPH	1,692	0,475-6,026	0,417
Segunda neoplasia	2,544	0,709-9,123	0,152
Aparición de 1ª recaída			
≤ 3 años post-diagnóstico	1	-	-
> 3 años post-diagnóstico	0,069	0,019-0,250	<0,001
Aparición de 1ª recaída			
≤ 5 años post-diagnóstico	1	-	-
> 5 años post-diagnóstico	0,154	0,034-0,695	0,015

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Índice Pronóstico Internacional en Linfoma Folicular; HR: Hazard ratio; IC: Intervalo de confianza; LDH: Lactato deshidrogenasa; PET: Tomografía por emisión de positrones; TAC: Tomografía axial computarizada; TPH: Trasplante de progenitores hematopoyéticos; β 2-microglobulina elevada: > 1,8 μ g/mL; Consolidación con rituximab: administración de algún esquema de consolidación con rituximab de mantenimiento o rituximab semanal después del tratamiento de inducción; LDH elevada: > 246 UII/mL; Segunda neoplasia: diagnóstico de neoplasia durante el estudio, posterior al tratamiento de inducción; Radioterapia: administrada en cualquier momento durante el estudio. Se presenta el hazard ratio siendo la variable dependiente "fallecimientos". El análisis estadístico no es aplicable para los antecedentes oncológicos debido a que no se encontraba presente en ningún paciente fallecido.

Tabla 5.43. Asociación de los polimorfismos con la SG.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
TRAILR1 rs20576			
AA	1	-	-
CA	1,062	0,356-3,169	0,914
CC	3,267	0,671-15,904	0,143

Tabla 5.43. Asociación de los polimorfismos con la SG.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
<i>TRAILR1</i> rs20576			
AA	1	-	-
CA/CC	1,280	0,463-3,536	0,634
<i>TRAILR1</i> rs2230229			
AA	NO APLICABLE		
GA	NO APLICABLE		
GG	NO APLICABLE		
<i>TRAILR1</i> rs2230229			
AA	1	-	-
GA	0,227	0,030-1,730	0,152
<i>TRAIL</i> rs12488654			
AA	1	-	-
GA	0,683	0,080-5,841	0,728
GG	0,317	0,038-2,632	0,288
<i>TRAIL</i> rs12488654			
GG	1	-	-
GA/AA	2,249	0,813-6,225	0,119
<i>TRAILR1</i> rs20575			
CC	1	-	-
GC	1,011	0,283-3,610	0,986
CC	0,821	0,205-3,286	0,780
<i>TRAILR1</i> rs20575			
CC	1	-	-
GC/GG	0,924	0,289-2,960	0,895
<i>FASL</i> rs763110			
CC	1	-	-
TC	1,463	0,387-5,521	0,575
TT	3,268	0,706-15,124	0,130
<i>FASL</i> rs763110			
CC	1	-	-
TC/TT	1,775	0,499-6,311	0,375
<i>FAS</i> rs1800682			
CC	1	-	-
TC	1,363	0,361-5,151	0,648
TT	0,893	0,180-4,429	0,890

Tabla 5.43. Asociación de los polimorfismos con la SG.

VARIABLES	HR no ajustado	IC95%	p valor
<i>FAS</i> rs1800682			
TT	1	-	-
TC/CC	1,919	0,332-4,274	0,788
<i>TNFR1</i> rs767455			
GG	1	-	-
AG	0,856	0,182-4,036	0,844
AA	0,628	0,121-3,250	0,579
<i>TNFR1</i> rs767455			
AA	1	-	-
AG/GG	1,404	0,478-4,121	0,537

HR: Hazard ratio; IC: Intervalo de confianza; Se presenta el hazard ratio siendo la variable dependiente "fallecimientos". El análisis estadístico no es aplicable para el polimorfismo *TRAILR1* rs2230229 debido a que no hay pacientes portadores del genotipo GG que hayan fallecido.

Como se muestra en la **Tabla 5.43**, se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la SG y la edad agrupada al diagnóstico ($p=0,011$), el ECOG al diagnóstico ($p=0,004$), la terapia de consolidación con rituximab ($p=0,018$) y las recaídas ($p=0,005$). También se muestra asociación estadísticamente significativa entre la SG y la aparición de la primera recaída a los 3 años post-diagnóstico ($p<0,001$) y 5 años post-diagnóstico ($0,015$). Las curvas de Kaplan-Meier correspondientes se muestran en la **Figura 5.6** (edad agrupada al diagnóstico), la **Figura 5.7** (ECOG al diagnóstico), la **Figura 5.8** (consolidación con rituximab), la **Figura 5.9** (recaídas), la **Figura 5.10** (recaída 3 años post-diagnóstico) y la **Figura 5.11** (recaída 5 años post-diagnóstico).

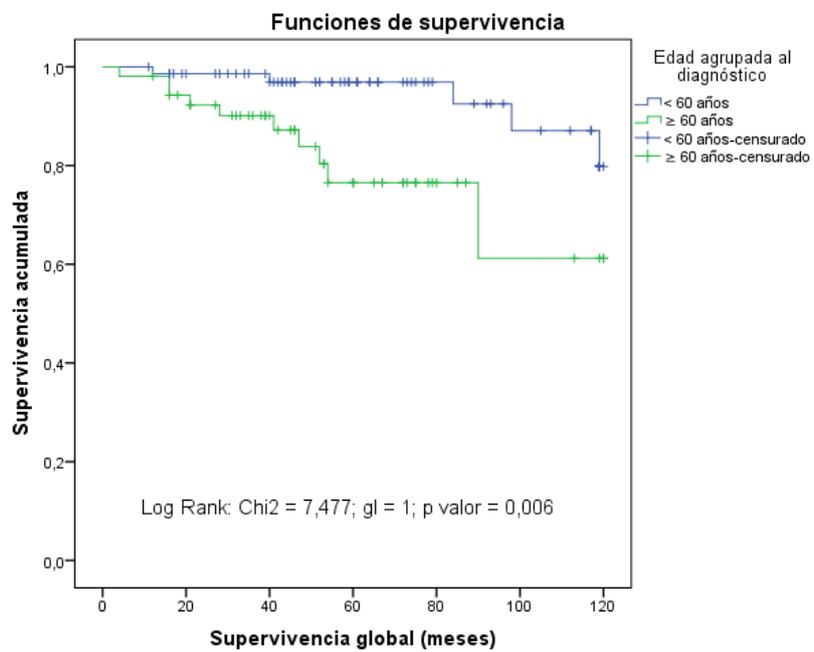


Figura 5.6. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con la edad agrupada al diagnóstico.

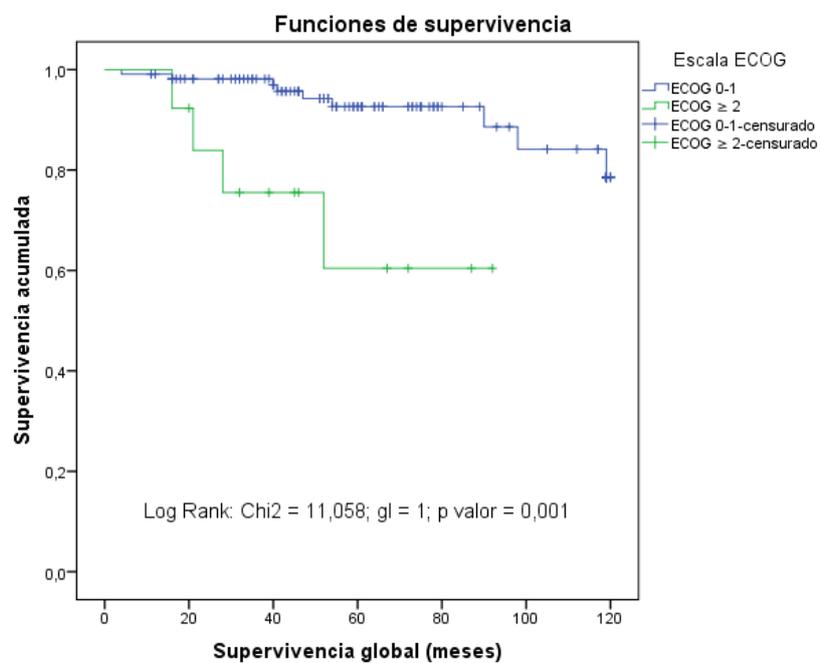


Figura 5.7. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con el ECOG al diagnóstico.

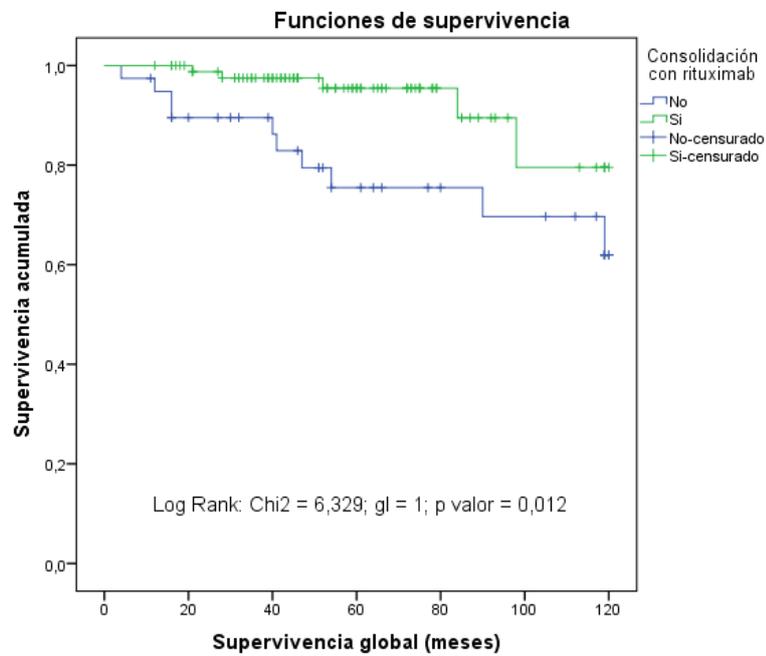


Figura 5.8. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con la terapia de consolidación con rituximab.

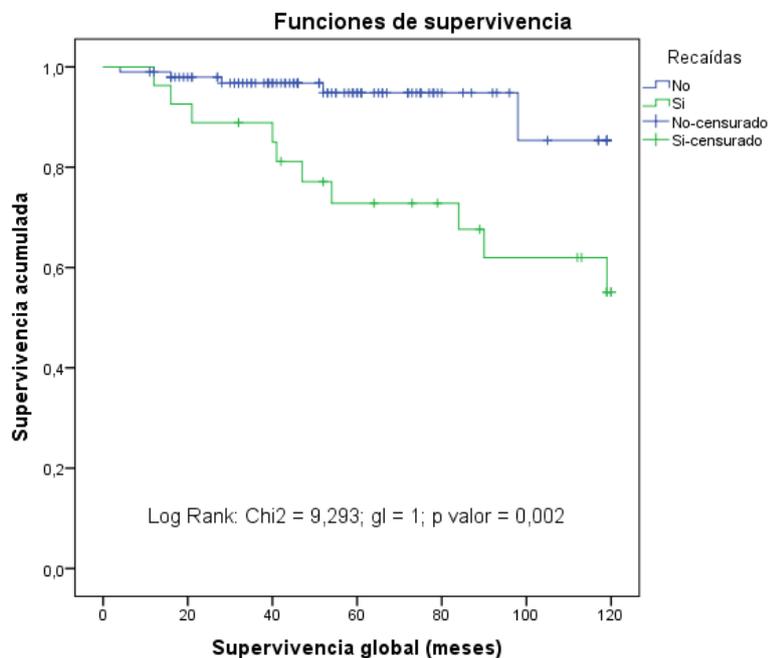


Figura 5.9. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas.

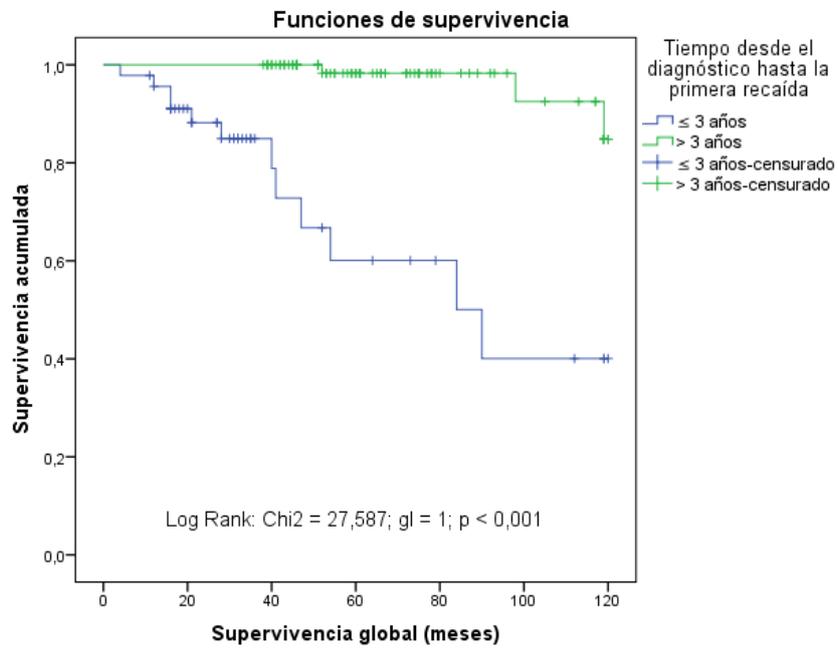


Figura 5.10. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con la aparición de las recaídas (3 años post-diagnóstico).

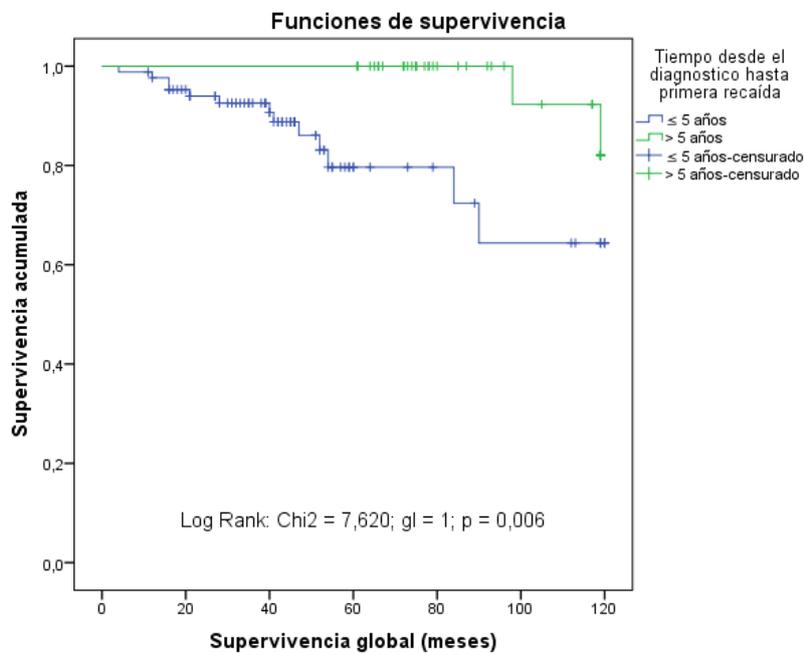


Figura 5.11. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con la aparición de las recaídas (5 años post-diagnóstico).

Según los resultados obtenidos previamente, se hizo un análisis estratificado de la SG diferenciando el desarrollo de la primera recaída durante los 3 años posteriores al diagnóstico del linfoma folicular comparándolo con el desarrollo de la primera recaída posterior a los 3 años, tanto en los pacientes tratados con consolidación con rituximab después de la terapia de inducción en primera línea como en los no tratados. Las curvas de Kaplan-Meier correspondientes se muestran en la **Figur 5.12** (sin consolidación con rituximab) y la **Figura 5.13** (con consolidación con rituximab). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el subgrupo de pacientes que no recibieron consolidación con rituximab (Log Rank: $\text{Chi}^2=15,795$; $p<0,001$), de manera que las recaídas desarrolladas durante los 3 años posteriores al diagnóstico presentaron una peor SG.

Del mismo modo, se hizo un análisis estratificado de la SG diferenciando el desarrollo de la primera recaída durante los 5 años posteriores al diagnóstico del linfoma folicular comparándolo con el desarrollo de la primera recaída posterior a los 5 años, tanto en los pacientes tratados con consolidación con rituximab después de la terapia de inducción en primera línea como en los no tratados. Las curvas de Kaplan-Meier correspondientes se muestran en la **Figura 5.14** (sin consolidación con rituximab) y la **Figura 5.15** (con consolidación con rituximab). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el subgrupo de pacientes que no han recibido consolidación con rituximab (Log Rank: $\text{Chi}^2=8,389$; $p=0,004$), de manera que las recaídas desarrollados durante los 5 años posteriores al diagnóstico presentaron una peor SG.

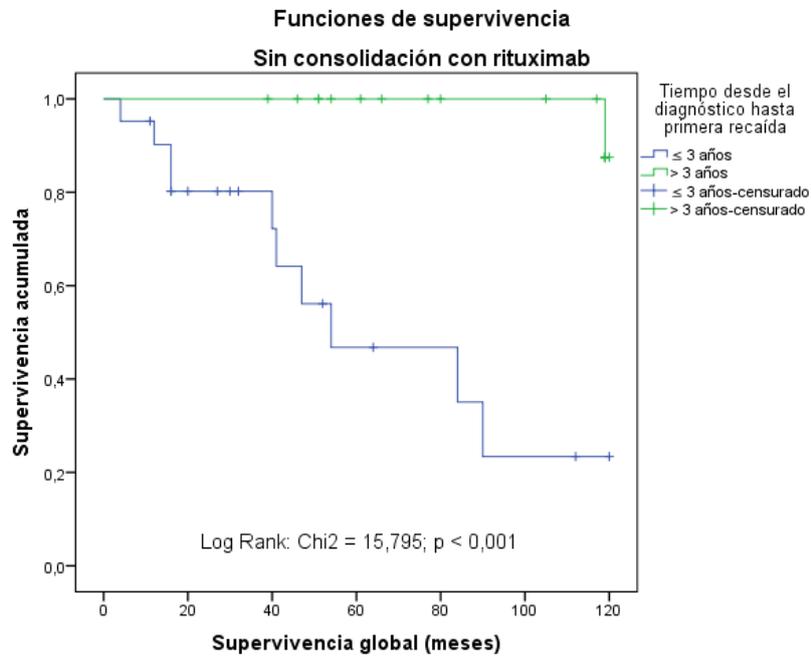


Figura 5.12. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas tempranas (≤ 3 años) en pacientes no tratados con terapia de consolidación con rituximab.

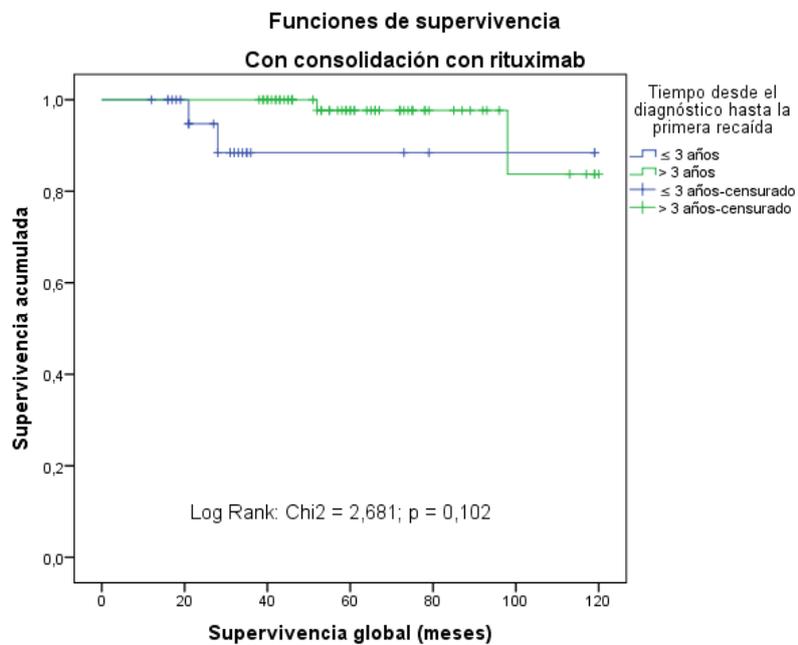


Figura 5.13. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas tempranas (≤ 3 años) en pacientes tratados con terapia de consolidación con rituximab.

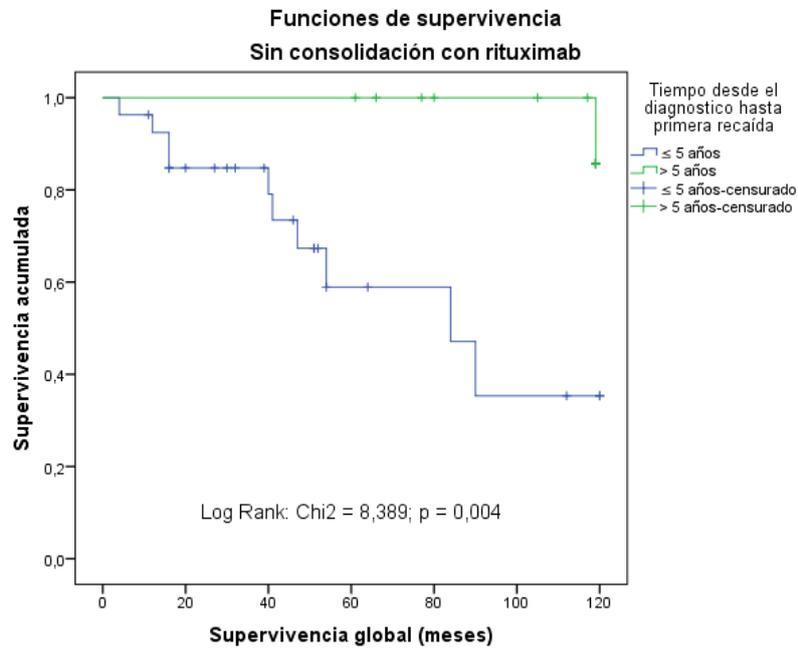


Figura 5.14. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas a los 5 años post-diagnóstico en pacientes no tratados con terapia de consolidación con rituximab.

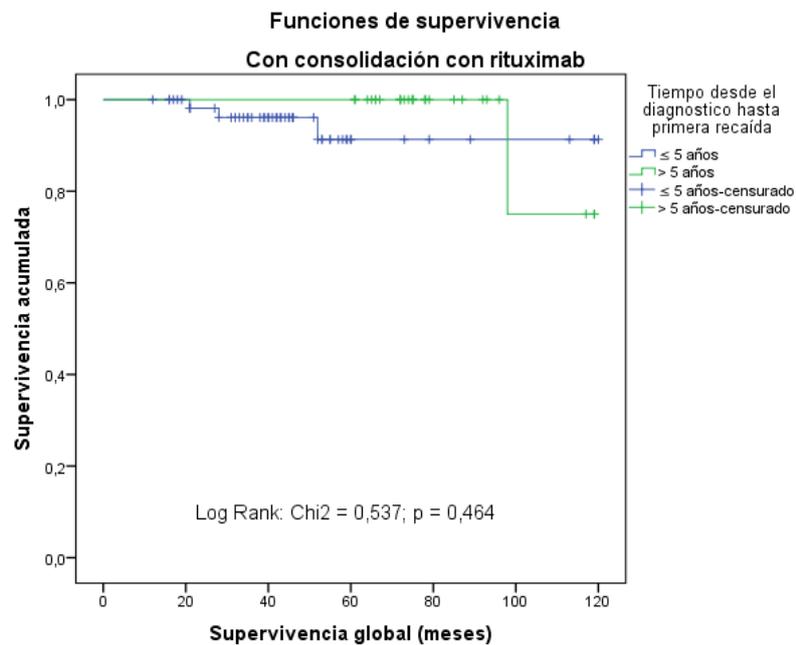


Figura 5.15. Curva de Kaplan-Meier de la SG relacionada con las recaídas a los 5 años post-diagnóstico en pacientes tratados con terapia de consolidación con rituximab.

La SG a los 3 años desde el diagnóstico fue del 94,1% (25 pacientes censurados) y a los 5 años del 83,6% (59 pacientes censurados).

VI - DISCUSIÓN

VI - DISCUSIÓN

La introducción del rituximab como inmunoterapia ha supuesto un gran avance en el tratamiento del linfoma folicular convirtiéndose en una terapia esencial que ha dado lugar a una mejora significativa en la respuesta clínica y en la supervivencia con un perfil de toxicidad aceptable (84,162,225). A pesar del aumento de la supervivencia con la utilización del rituximab, el linfoma folicular sigue siendo una enfermedad incurable (226,227). Debido al curso indolente del linfoma folicular, que se caracteriza por múltiples recaídas e intervalos de remisión progresivamente más cortos, el desarrollo de nuevas terapias y la identificación de nuevos objetivos como las remisiones completas duraderas y una mayor calidad de vida, son puntos a considerar para prevenir las recaídas y prolongar la supervivencia (198).

El tratamiento con rituximab administrado en monoterapia o en combinación con quimioterapia, incluyendo el tratamiento de inducción en primera línea, el mantenimiento y la terapia de rescate, ha cambiado el enfoque clínico del linfoma folicular. Sin embargo, su efectividad está limitada en gran medida por el desarrollo de resistencias al tratamiento que se reflejan en la aparición de recaídas o progresión de la enfermedad (160).

La variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos es bien conocida y plantea un problema en la medicina. Esta variabilidad puede encontrarse tanto en la efectividad como en la toxicidad a un tratamiento. La experiencia en la práctica clínica revela que la administración de un mismo fármaco a diferentes pacientes a las dosis de prescripción recomendada produce respuestas distintas que van a depender tanto de factores genéticos como clínicos (178). Las causas de la variabilidad en la respuesta al rituximab son desconocidas, pudiendo estar asociada con la presencia de polimorfismos en genes funcionales relacionados con los mecanismos de acción de la terapia biológica, por lo que el componente genético jugaría un papel importante en su efectividad (228). En la actualidad, se dispone de la farmacogenética como una herramienta de ayuda que permite evaluar la influencia de determinados factores genéticos en la respuesta a

diversos fármacos e identificar a aquellos pacientes con una peor respuesta a los mismos para mejorar y optimizar el tratamiento que reciben.

La lisis de los linfocitos B inducida por rituximab está mediada por diferentes mecanismos de acción que engloban la apoptosis, la CCDA y la CCDC. Para cada una de estas vías principales de acción, se han descrito mecanismos potenciales de resistencia tumoral, entre los que hay que sumar el elevado tamaño molecular de los anticuerpos monoclonales, en comparación con otros fármacos antineoplásicos utilizados en el linfoma folicular, y los mecanismos extracelulares que potencian estos mecanismos de resistencia. A diferencia de los fármacos quimioterapéuticos tradicionales, la actividad biológica antitumoral del rituximab depende no sólo de la célula neoplásica, sino también del microambiente tumoral donde destacan las células inmunes efectoras (169,229).

La apoptosis es un proceso fisiológico de eliminación celular estrechamente regulado y caracterizado por una secuencia de cambios morfológicos. A nivel molecular, se trata de una cadena de señales que están reguladas positiva y negativamente manteniendo la homeostasis, concluyendo con la activación de la cascada proteolítica (198). Sin embargo, durante el desarrollo del cáncer, este mecanismo se puede ver alterado favoreciendo la susceptibilidad de la enfermedad, la progresión tumoral y la resistencias a las terapias antineoplásicas habituales (200). Las células citotóxicas expresan en su superficie ligandos de muerte celular, como FASL, TRAIL y TNF α , que median la activación de la apoptosis a través de la vía extrínseca de células sensibles que expresen los receptores correspondientes a cada ligando.

En el presente estudio se han evaluado polimorfismos en los genes que codifican para alguna de las moléculas del sistema de receptores y ligandos de muerte celular, involucrados en la apoptosis a través de la vía extrínseca, tales como *FAS*, *FASL*, *TRAILR1*, *TRAIL* y *TNFR1*. Hasta la fecha, no se han encontrado estudios previos que analicen la influencia de estos polimorfismos con la respuesta al rituximab en linfomas ni en otras patologías, siendo éste el primer estudio al respecto.

No obstante, aunque escasos, existen algunos trabajos cuyo objetivo ha sido la evaluación de la influencia de polimorfismos en genes relacionados con la apoptosis en la susceptibilidad a desarrollar linfomas. En este sentido, en el

estudio realizado por Heredia-Galvez et al. (215), que incluyó a 190 pacientes y 191 controles, se evaluó la asociación del riesgo de linfomas con los polimorfismos rs20576, rs2230229 y rs20575 en *TRAILR1* y rs12488654 en *TRAIL*. Los resultados muestran una distribución por genotipos diferente entre los casos y los controles para *TRAIL* rs12488654, siendo más frecuente los portadores del alelo A (CA/AA) en los casos con diferentes tipos de linfoma (45,0% en linfoma folicular, 45,2% en LDCBG, 40,0% en LH y 52,6% en otros LNH) que en los controles (15,7%), observándose estas diferencias como estadísticamente significativas ($p < 0,001$; $p = 0,001$; $p = 0,027$; $p < 0,001$, respectivamente), al presentar una fuerte asociación con el riesgo de desarrollar linfomas (OR=3,5, IC95% 2,1-5,9; OR=3,5, IC95% 1,6-7,9; OR=2,9, IC95% 1,1-7,5; OR=4,8, IC95% 1,8-12,6, respectivamente).

En el metaanálisis realizado por Chen et al. (214) estudiaron varias investigaciones relacionadas con la influencia de los polimorfismos *TRAILR1* rs20575 (C626G), rs2230229 (A1322G) y rs20576 (A683C), en la susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón, de cabeza y cuello, de mama y LNH. Los resultados obtenidos fueron que el alelo G de *TRAILR1* rs2230229 y el alelo C de *TRAILR1* rs20576 se asociaban con un incremento del riesgo de cáncer.

Villa-Morales M et al. (230) publicaron en 2010 los resultados de un estudio realizado en líneas celulares procedentes de ratones donde destacaron la implicación de polimorfismos funcionales en *FAS*, *FASL* y *FADD* en la susceptibilidad de aparición de linfomas linfoblásticos de células T.

Por otro lado, existen trabajos publicados que abordan la influencia de polimorfismos en otros receptores de muerte celular y la susceptibilidad a desarrollar LNH. De esta manera, Cerhan et al. (231) genotiparon 54 SNPs en los genes *TNF*, *Linfotoxina α* (*LTA*) y en nueve genes de la vía NF- κ B (*TNFRSF1A*, *TRADD*, *TRAF2*, *TRAF5*, *RIPK1*, *CHUK*, *IKBKB*, *NFKB1* y *REL*) y estudiaron como influían estos polimorfismos en la susceptibilidad de desarrollar LNH, concluyendo que el genotipo AA del polimorfismo *TNF* rs1800629 (G308A) se asociaba con un mayor riesgo de desarrollar linfoma folicular y LDCBG. En otro estudio realizado por Skibola et al. (232) se examinaron los SNPs en *TNFRSF5* y *TNFSF5*, que codifican para las proteínas coestimuladoras CD40 y CD154, respectivamente. En este estudio, se observó que aquellos pacientes con genotipo TT para el polimorfismo *TNFRSF5* rs1883832 (-1C/T) de la región promotora

presentaban mayor riesgo a desarrollar linfoma folicular. Estos resultados sugirieron que el polimorfismo *TNFRSF5* rs1883832 podía aumentar la susceptibilidad de desarrollar linfoma folicular debido a la desregulación de la respuesta inmune celular del centro germinal. Además, la variante del alelo A del SNP *TNFRSF5* rs3092933 (G6809A) localizado en el cromosoma X se asoció con un mayor riesgo de linfoma folicular en mujeres.

El desarrollo de resistencias a fármacos quimioterapéuticos por las células neoplásicas es el resultado, en gran parte, de la aparición de mecanismos anti-apoptóticos. El sistema inmunitario citotóxico mediado por las células NK y los linfocitos T citotóxicos participan en esa muerte celular por mecanismos apoptóticos a través de los ligandos FASL, TNF α y TRAIL. Estos ligandos pueden estar presentes tanto en la superficie celular de células NK, monocitos y los linfocitos T citotóxicos como ser secretados fuera de la célula en forma soluble (233–236).

A diferencia de la ausencia de estudios de polimorfismos en genes de apoptosis, existen estudios donde evaluaron la influencia de polimorfismos relacionados con la CCDA, los SNPs *FCGR2A* 131H/R, *FCGR2B* 232I/T y *FCGR3A* 158V/F, y un polimorfismo relacionado con la CCDC, el SNP *C1QA* G267A, con la respuesta a rituximab. En el primer trabajo al respecto, llevado a cabo por Carton et al. (188) en una cohorte de 49 pacientes con linfoma folicular, se evaluó la implicación del polimorfismo *FCGR3A* 158V/F, relacionándose a los pacientes homocigotos 158VV con una mejor respuesta clínica y biológica a rituximab en monoterapia, sugiriendo así que la lisis de células neoplásicas mediada por CCDA era más eficaz en estos casos. Del mismo modo, Kim et al. (197) encontraron que, en 113 pacientes con LDCBG tratado con R-CHOP, el alelo *FCGR3A* 158V se correlacionaba significativamente con una mejor respuesta. Asimismo, Weng et al. (192) realizaron un estudio en 87 pacientes con linfoma folicular en los que se evaluó ese polimorfismo en *FCGR3A* y la respuesta a rituximab en monoterapia, encontrándose el genotipo 158VV como un factor independiente asociado con una mejor tasa de respuesta y enfermedad libre de progresión.

En este sentido, se ha demostrado que la unión de la fracción Fc de un anticuerpo con el receptor FcR localizado en las células NK, estimula la expresión

de FASL por dichas células, facilitando la muerte de las células neoplásicas portadoras del receptor FAS. Además, la interacción de FASL en las células NK estimuladas por el FcR con sus receptores FAS desencadena la apoptosis de las células NK e influye de manera crítica en la capacidad de mediar la muerte celular paracrina y autocrina (237). Las células NK también inducen la lisis de los linfocitos B de LNH a través de la liberación de perforina y granzimas o por apoptosis a través de la inducción de la señalización por FASL (238). Por ello, los SNPs en los genes *FAS* y *FASL* podrían influir a su vez en el mecanismo de acción basado en la CCDA.

En relación con la CCDC, Racila et al. (196) evaluaron el impacto del polimorfismo *C1QA* rs172378 (A276G), en pacientes con linfoma folicular, sobre la tasa de respuesta con rituximab en monoterapia. Los homocigotos para el alelo G presentaban mayores tasas de recaída, con un menor tiempo hasta la progresión y una menor tasa de respuesta completa que los portadores del alelo A. Estos resultados se evaluaron por Jin et al. (239) en pacientes con LDCBG tratados con R-CHOP concluyendo que la tasa de respuesta completa y la SG en los homocigotos para el alelo A fueron mayores que para el alelo G. C1q es la proteína de reconocimiento de diana de la vía clásica del complemento y un importante nexo de conexión entre la inmunidad innata y adquirida. Curiosamente, el componente del complemento C1q está estructuralmente relacionado mediante un dominio homólogo con varias proteínas de la superfamilia TNF, a pesar de la aparente divergencia funcional entre el complemento y los sistemas TNF (240).

El rituximab induce la apoptosis en los linfocitos B del LNH a través de vías de señalización seleccionadas y de inmunosensibilización. Hay estudios *in vivo* en los que se ha demostrado que rituximab interfiere en los sistemas FAS/FASL y TRAIL/TRAILR1 a través de la sensibilización de las líneas de células tumorales de LNH-B a la apoptosis inducida por FASL (208,209) y TRAIL (206,207), actuando como inhibidor de diferentes vías de señalización intracelulares, tales como p38 MAPK, NK- κ B, YY1 y AKT. Estos hallazgos establecen el papel de las células efectoras que expresan FASL o TRAIL en la eliminación de células neoplásicas después del tratamiento con rituximab (161,241).

Con todo lo comentado, los polimorfismos relacionados con los tres

mecanismos de acción: CCDA, CCDC y apoptosis, podrían estar implicados en la respuesta a rituximab. En cuanto al estudio farmacogenético realizado, nuestros resultados muestran que, en pacientes con linfoma folicular tratados con rituximab utilizado como inmunoterapia en esquemas de inducción en primera línea, la presencia del genotipo CC para *TRAILR1* rs20575 y el genotipo CC para *FASL* rs763110 manifestaban una mejor respuesta evaluada al final del tratamiento, no encontrándose diferencias en la evaluación de la respuesta a mitad del tratamiento de inducción. Inicialmente, el genotipo CC para *FASL* rs763110 tenía una distribución diferente entre los dos grupos de respuesta al final del tratamiento, siendo significativamente mayor en el grupo de respondedores con respecto al grupo de RpP/NoRp (34,1% frente a 14,3%, $p=0,028$), mientras que para el genotipo CC para *TRAILR1* rs20575 se encontraba en un mayor porcentaje en el grupo de respondedores con respecto al grupo de RpP/NoRp, presentando estas diferencias una tendencia hacia la significación (27,5% frente a 11,8%, $p=0,064$).

Por el contrario, el genotipo AA para *TNFR* rs767455 se asoció con una peor respuesta evaluada a mitad del tratamiento, no encontrando diferencias al final del mismo, de manera que el genotipo AA se encontraba en un mayor porcentaje en el grupo de RpP/NoRp con respecto al de respondedores a mitad del tratamiento, tendiendo estas diferencias hacia la significación (49,2% frente a 30,3%, $p=0,077$).

Aunque no hay estudios publicados relacionados directamente con la respuesta al rituximab, sí que existen publicaciones sobre la influencia de estos polimorfismos en otras patologías y para otros anticuerpos monoclonales. De hecho, en el estudio realizado por Morales-Lara et al. (212,213) mostraron que el genotipo CC para *TRAILR1* rs20575 también se asociaba con una mejor respuesta al tratamiento con el anticuerpo monoclonal anti-TNF α infliximab, en pacientes con AR, mientras que el alelo G se asociaba con peor respuesta. Igualmente, evaluaron el polimorfismo *TNFR1* rs767455 con resultados contradictorios en pacientes diagnosticados de AR que de APs; mientras que el genotipo AA se asoció con una mejor respuesta en AR, en pacientes con APs este mismo genotipo se asoció con peor respuesta (212). Es interesante señalar que el rituximab es un fármaco que también ha sido aprobado en el tratamiento de la AR como una

opción en segunda línea por lo que sería posible que los mismos polimorfismos asociados con respuesta a anticuerpos monoclonales en AR lo fueran también en linfoma folicular (242). En relación con las diferencias observadas en nuestro estudio para *TNFR1* rs767455 a mitad del tratamiento, es posible que exista una relación directa con los niveles elevados de $\text{TNF}\alpha$. El $\text{TNF}\alpha$ y la LTA son moléculas implicadas en la patogénesis de los trastornos linfoproliferativos, de manera que, los pacientes con LNH-B a menudo presentan niveles séricos elevados de TNF, por lo que pueden estar asociados con un mal resultado. Los polimorfismos de *TNF α* y *LTA* influyen en la expresión de estas citoquinas y pueden explicar la variabilidad de la respuesta a la terapia. Ambas moléculas median sus funciones a través de la unión con los receptores *TNFR1* y *TNFR2*, respectivamente, modulando la activación, proliferación o apoptosis celular (243). Tras la estimulación de los receptores TNFR, el perfil de expresión génica ha demostrado la regulación de *NF- κ B*, un gen responsable de la activación de los factores de transcripción involucrados en la linfomagénesis (244).

En concordancia con lo comentado, nuestros resultados indican que los pacientes con linfoma folicular con el alelo G para *TRAILR1* rs20575 y el alelo T para *FASL* rs763110 presentaban una peor respuesta al tratamiento con rituximab en primera línea. Asimismo, *TRAILR1* rs20575, pero no *FASL* rs763110, se asociaba con la respuesta en el modelo ajustado de regresión logística binaria multivariante donde fue considerado como factor predictor independiente de respuesta. Este hallazgo podría ser debido a la asociación previamente observada entre *FASL* rs763110 y el grado histológico del linfoma folicular, donde el genotipo CC se presentaba en un porcentaje mayor en linfomas foliculares de grado histológico 1-2 con respecto a TC/TT (91,7% frente a 70,0%, $p=0,015$), lo que podría relacionar a este polimorfismo con la gravedad de la enfermedad, además de con la respuesta a anti-CD20. Por el contrario, la implicación del polimorfismo *TRAILR1* rs20575, que resulta en una sustitución de una arginina por la treonina, estaría simplemente relacionada con el mecanismo de acción del rituximab. Curiosamente, en estudios previos, el alelo C para *FASL* rs763110, que en nuestro estudio está asociado con buena respuesta, ha mostrado un aumento en la expresión de *FASL* en comparación con el alelo T. Además, el alelo T se ha asociado con una peor respuesta para el anticuerpo monoclonal anti- $\text{TNF}\alpha$ infliximab en la enfermedad de Crohn (211), destacando así el concepto de un

mecanismo de acción común para los anticuerpos monoclonales, independientemente de la molécula diana y la patología.

En los últimos años, diversas investigaciones han demostrado la importancia de los receptores TNFRSF como dianas de interés para la inducción de la apoptosis de las células neoplásicas. Por esta razón, se han aprobado o están en fase de desarrollo varios agentes terapéuticos dirigidos a modificar y actuar sobre las vías anti-apoptóticas alteradas con el fin de potenciar, preferentemente, los mecanismos pro-apoptóticos que desencadenarán la muerte de las células neoplásicas o la sensibilización a la apoptosis asociando la quimioterapia convencional con la terapia molecular dirigida (199,245,246). Nuestros resultados podrían ser interesantes no sólo en el contexto de una respuesta única a rituximab, sino también en la combinación de rituximab con otros anticuerpos monoclonales dirigidos hacia los sistemas FASL/FAS, TRAIL/TRAILR1 y TNF/TNFR1. Se ha demostrado que el mapatumumab, un anticuerpo monoclonal agonista dirigido a TRAILR1, desencadena la apoptosis mediante la activación de la respuesta inmune innata y la sensibilización de linfocitos B del linfoma. Por otra parte, la combinación de mapatumumab con rituximab demostró ser más eficaz en el control del crecimiento de las células del linfoma que cualquiera de dos anticuerpos monoclonales por separado (246). La combinación de rituximab con estas terapias pro-apoptóticas parece una estrategia muy prometedora en el tratamiento del LNH de células B resistentes (207,247,248).

La respuesta obtenida tras el tratamiento de inducción se utiliza como medida subrogada de otras medidas de beneficio clínico, tales como la SLP y la SG, y puede ayudar en la toma de decisiones sobre la continuación o el cambio de la terapia a una estrategia alternativa que pudiera mejorar las tasas de remisión, con un menor riesgo de morbi-mortalidad. La importancia de la respuesta después del tratamiento de inducción en primera línea en el linfoma folicular ha sido analizada en un estudio llevado a cabo durante un seguimiento a muy largo plazo, con una mediana de 14,9 años, en el que se demostró que aquellos pacientes que alcanzaban RC tenían una SG significativamente mejor que los que alcanzaban RP. De manera que alcanzar RC tras el tratamiento antineoplásico podría ser un marcador representativo de la supervivencia a largo plazo (227). No hemos encontrado una relación directa entre la obtención de RC frente a la RP en

nuestra cohorte de pacientes con los datos de supervivencia, donde probablemente sería necesario llevar a cabo un seguimiento más prolongado. No obstante, detectar aquellos pacientes que no alcancen RC después del tratamiento de inducción en primera línea y las causas que influyen en ello, podría aportar información para que estos pacientes se beneficien de una intensificación del tratamiento, de una terapia de mantenimiento con rituximab, de otros tratamientos más novedosos que actúen sobre diferentes dianas de acción o, incluso del TPH (227).

En los estudios farmacogenéticos, el análisis por haplotipos o alelos conjuntos puede ser de gran utilidad, ya que proporciona información acerca de la recombinación, cuando se produce intercambio físico del ADN durante la meiosis. Entre los diferentes polimorfismos localizados en un mismo cromosoma o relativamente próximos entre sí puede observarse un cierto grado de correlación o asociación estadística conocida como desequilibrio del ligamiento. Por este motivo, resulta interesante identificar el conjunto de alelos que se transmiten juntos. La realización de estos análisis permite analizar de manera simultánea polimorfismos en un gen o regiones próximas. La combinación de estudios por genotipos y haplotipos o alelos conjuntos suele aportar mayor información que cualquiera de los dos realizados individualmente (187,249).

Hasta el momento, no se han encontrado estudios de análisis de haplotipos o alelos conjuntos que evalúen su influencia en la respuesta al tratamiento en los LNH, en general, ni en el linfoma folicular, en particular. Sin embargo, aunque escasos, hay algunos trabajos publicados que evalúan la influencia de haplotipos formados por los alelos de SNPs en *TNF* con la predisposición y el desarrollo de LNH, con una implicación en la susceptibilidad (250–252).

En nuestro estudio se evaluó la asociación de alelos conjuntos, constituida por diferentes combinaciones de alelos de los SNPs estudiados, con la respuesta a rituximab alcanzada al final del tratamiento del linfoma folicular. Se observó que los desequilibrios del ligamiento más altos encontrados se debían a los polimorfismos presentes en el mismo gen del *TRAILR1*, es decir, para *TRAILR1* rs20576 y *TRAILR1* rs20575. De estos resultados cabe destacar la presencia de la combinación de alelos AAGG en *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAILR1* rs12488654 y *TRAILR1* rs20575, respectivamente, en el grupo de pacientes

RpP/NoRp, por lo que su presencia podría considerarse un predictor de peor respuesta al tratamiento con rituximab.

En cuanto al análisis de supervivencia, hemos observado que los genotipos AA para *TRAILR1* rs2230229 y CC para *FASL* rs763110 presentaban una mejor SLP con respecto a los genotipos GA/GG y TC/TT, respectivamente, aunque sin llegar a alcanzar una significación estadística. Estos resultados observados para el polimorfismo *FASL* rs763110 se correlacionan con los datos obtenidos en el estudio farmacogenético en el que el genotipo CC se asociaba con una mejor respuesta al tratamiento de inducción con rituximab evaluada al finalizar el mismo. No obstante, no se observó ninguna asociación entre los diferentes polimorfismos estudiados en genes relacionados con la apoptosis y la SG. En consonancia con el análisis de alelos conjuntos, ambos polimorfismos *TRAILR1* rs2230229 y *FASL* rs763110 mostraban un grado de desequilibrio del ligamiento entre ellos, lo que podría aportar información adicional acerca de la transmisión conjunta de estos alelos y su posible asociación con la SLP.

Es bien conocido que el pronóstico del linfoma folicular está relacionado con la presencia de distintos factores, tanto genéticos como clínicos y biológicos, por lo que tiene una influencia multifactorial. Una serie de factores pronósticos pre-tratamiento bien establecidos ha permitido predecir la supervivencia en grandes cohortes de pacientes con linfoma folicular, utilizados para determinar la estrategia terapéutica inicial (82,83). Los factores pronósticos más relevantes dependen de la cantidad de tumor, de su extensión y de la tolerancia al tratamiento (72,253). En general, existe un pronóstico desfavorable cuanto mayor es la carga tumoral, ya sea por extensión (estadios III-IV), por la existencia de masas voluminosas o *bulky* (>10 cm) o por marcadores indirectos de actividad y proliferación (tales como los niveles de LDH y β 2-microglobulina elevados o la presencia de síntomas B) (26).

La escala FLIPI es un índice pronóstico que predice la supervivencia en pacientes con linfoma folicular. El estadio del linfoma forma parte de esta puntuación, y los pacientes con estadios avanzados (III/IV) tienden a presentar un peor pronóstico que aquellos con estadios localizados (I/II). Además, la edad avanzada y los niveles séricos elevados de LDH y bajos de hemoglobina también son variables de peor pronóstico incluidas en esta escala (82). De manera

complementaria, la escala FLIPI 2 creada posteriormente incluye además, entre las variables pronósticas desfavorables, los niveles séricos elevados de β 2-microglobulina a diferencia del FLIPI (83).

En nuestro estudio farmacogenético, hemos evaluado diversas características clínicas que parecen influir en la respuesta al rituximab. La cohorte de pacientes del estudio se caracteriza, mayoritariamente, por presentar al diagnóstico niveles séricos elevados de LDH (63,5%) y β 2-microglobulina (69,8%), grado histológico 1-2 (76,2%), estadio III-IV de la clasificación de Ann Arbor (77,0%) y buen estado funcional con un ECOG 0-1 (86,5%). Además, se ha identificado, en un bajo porcentaje de pacientes, la presencia de enfermedad *bulky* (5,6%), síntomas B (17,5%) y niveles séricos < 12 g/dL de hemoglobina (26,2%). En relación con estas variables clínicas, nuestros resultados han mostrado una asociación entre la presencia de síntomas B y la presencia de enfermedad voluminosa o *bulky* con la respuesta al tratamiento. La presencia de síntomas B tenía una distribución estadísticamente diferente entre los dos grupos de respuesta evaluada a mitad del tratamiento, siendo más frecuentes en el grupo de RpP/NoRp en relación al de respondedores (22,6% frente a 5,5%; $p=0,018$). En la evaluación al final del tratamiento, esta diferencia en la distribución mostraba una tendencia a ser superior en el grupo de RpP/NoRp con respecto al de respondedores (25,7% frente a 14,3%; $p=0,079$), aunque sin llegar a ser estadísticamente significativa. Asimismo, al comparar estas variables clínicas con la distribución de genotipos se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de síntomas B y la distribución por genotipos para *TNFR1* rs767455, siendo los pacientes con genotipo AA el de mayor porcentaje que presentaba síntomas B frente a los genotipos AG/GG (27,1% frente a 12,2%; $p=0,033$). Asimismo, la presencia de síntomas B mostraba una tendencia hacia la significación en la distribución de los diferentes genotipos de *TRAILR1* rs20575, estando presente en un mayor porcentaje en el genotipo CC con respecto a GC y GG (27,6%, 9,1% y 19,5%, respectivamente; $p=0,067$). La presencia de enfermedad *bulky* se asoció con una peor respuesta en la evaluación al final del tratamiento, aunque con una ligera distribución mayor en el grupo de pacientes RpP/NoRp con respecto al de respondedores, (11,4% frente a 3,3%; $p=0,093$), sin llegar a ser estadísticamente significativa.

Históricamente, la presencia de síntomas B se ha relacionado con un aumento de los niveles plasmáticos de proteínas y citoquinas inflamatorias, tales como la proteína C reactiva (254) y la interleucina 6 (255). De forma similar, estos marcadores inflamatorios elevados se han correlacionado con otros factores pronósticos en LNH, incluyendo el estado funcional y los niveles de β 2-microglobulina (255,256), objetivándose una peor tasa de respuesta y de supervivencia con respecto a los pacientes que presentaban niveles normales de proteínas inflamatorias (257,258). En los resultados del análisis de regresión logística binaria no ajustada, la presencia de síntomas B se ha considerado un factor de peor respuesta, no siendo un predictor independiente de respuesta en el modelo multivariante ni a mitad ni al final del tratamiento. Estos datos se complementan con los resultados obtenidos en el análisis de supervivencia, donde la presencia de síntomas B al diagnóstico se ha relacionado de manera significativa con una menor SLP en comparación con la ausencia de síntomas B.

Otra variable que valora la influencia de la enfermedad sobre el estado general del paciente es el índice del estado funcional o escala ECOG. Este parámetro se ha considerado un factor pronóstico incluido dentro del IPI (80) utilizado como índice clínico estándar en los LNH agresivos. Sin embargo, no se ha considerado como factor pronóstico en los índices FLIPI (82) y FLIPI 2 (83) específicos para el linfoma folicular. No obstante, en nuestro estudio se ha evaluado la posible relación con la respuesta y la supervivencia en el linfoma folicular, relacionándose un ECOG ≥ 2 con una menor SG, indicativo de una mayor influencia de la enfermedad, aunque sin encontrar una influencia directa en la respuesta al tratamiento de inducción.

Por otra parte, el género no es un parámetro incluido en el FLIPI ni en FLIPI 2, pero tradicionalmente ha sido reconocido como un factor pronóstico en el linfoma folicular (84,259). El género masculino es considerado como un factor pronóstico adverso tanto en el linfoma folicular como en el LDCBG después de la incorporación de rituximab a la terapia (260,261). Además, se ha demostrado que las mujeres responden mejor al tratamiento del linfoma folicular y LDCBG que los hombres a pesar de presentar similares factores de riesgo asociados (262–264). En concordancia con estos hallazgos, en la cohorte de pacientes de nuestro estudio se encontró una fuerte asociación con una peor respuesta al final del tratamiento

para el género masculino, considerándose como factor predictor independiente en el modelo multivariante. También se asoció con una peor respuesta en la evaluación a mitad del tratamiento, con la diferencia de que no fue un factor predictor independiente en el modelo multivariante. Esta diferencia podría deberse al hecho de que, en términos farmacocinéticos, la tasa de eliminación de rituximab es mayor en los hombres que en las mujeres (265,266).

En líneas generales, el linfoma folicular es una neoplasia que afecta a una población de edad avanzada con una mediana de edad al diagnóstico de 60 años (17,18). La edad avanzada es un factor muy adverso debido a las comorbilidades que suelen presentar estos pacientes, asociada a una peor tolerancia y mayor toxicidad al tratamiento antineoplásico (26). La cohorte de pacientes de nuestro estudio se ha caracterizado por presentar una media de edad al diagnóstico de $56,1 \pm 15,1$ años, englobándose un 57,9% dentro del grupo de menos de 60 años. En correlación con estos datos, no se ha encontrado asociación entre la edad al diagnóstico, utilizando como punto de corte 60 años, y la respuesta al tratamiento de inducción en primera línea. Sin embargo, en el análisis de supervivencia, el diagnóstico de la enfermedad en una edad avanzada (≥ 60 años) se ha estimado como un factor pronóstico adverso relacionado negativamente con una menor SG.

Durante la evolución del linfoma folicular, los pacientes con enfermedad avanzada suelen responder al tratamiento antineoplásico pero es frecuente que aparezcan recaídas recurrentes a intervalos cada vez más cortos de tiempo entre ellas, manteniendo generalmente las mismas características clínicas determinadas al diagnóstico (26). A pesar de la mayor eficacia al incorporar el rituximab en los esquemas de quimioterapia, tales como R-COP (123), R-CHOP (267), R-FM (128) y R-Bendamustina (134,135), aproximadamente un 20% de los pacientes con linfoma folicular desarrollan recaídas con progresión de la enfermedad dentro de los 2 años posteriores al diagnóstico y al tratamiento de inducción en primera línea (134,267), incluso a pesar del beneficio adicional del tratamiento de mantenimiento con rituximab (138).

Los pacientes con linfoma folicular tratados con diversos esquemas de inmunquimioterapia que desarrollan progresión de la enfermedad durante los 2 años posteriores al diagnóstico tienen una SG significativamente peor que cuando la desarrollan durante los 5 años posteriores, por lo que la recaída temprana en

estos casos es predictiva de una menor supervivencia (268). Los resultados de nuestro estudio muestran que la aparición de recaídas durante el periodo de seguimiento se ha relacionado de manera significativa con una menor SG. Considerando estos resultados, realizamos un estudio estratificado comparando la SG con la aparición de recaídas tempranas a los 3 años post-diagnóstico y recaídas a los 5 años post-diagnóstico tanto en los pacientes tratados con consolidación con rituximab tras el tratamiento de inducción en primera línea como en los no tratados con consolidación con rituximab, encontrando diferencias estadísticamente significativas en el grupo no tratado con consolidación con rituximab que desarrollaron recaídas durante estos dos periodos de tiempo y una menor SG, asociándose con peores resultados. En este sentido, nuestros hallazgos concuerdan con el estudio de Casulo C et al. (268) realizado en pacientes tratados con un esquema tipo R-CHOP como tratamiento de inducción en primera línea, sin mantenimiento con rituximab, utilizando como punto de corte las recaídas tempranas que aparecen a los 2 años post-diagnóstico, asociándose con mayor riesgo de muerte. Asimismo, en el estudio de Mozessohn et al. (269), también observaron que la aparición de recaídas y progresión de la enfermedad temprana durante los 6 meses después de la última dosis de rituximab, tanto en la inducción como en el mantenimiento, se asociaba a una supervivencia más corta con peor respuesta al tratamiento antineoplásico administrado durante las recaídas.

Por otra parte, los esquemas de consolidación con rituximab utilizados en la cohorte de pacientes del estudio son muy diversos, presentando una variabilidad importante entre ellos. Sin embargo, nuestros resultados muestran una mayor SLP y SG en los pacientes que recibieron tratamiento de consolidación con rituximab en comparación con los que no la recibieron, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. En este sentido, el tratamiento con rituximab de mantenimiento en aquellos pacientes que respondieron a la terapia de inducción en primera línea con rituximab asociado a quimioterapia se ha estudiado en varios ensayos aleatorios a gran escala, demostrando un efecto beneficioso al prolongar la duración de la respuesta en la primera remisión y en los pacientes con enfermedad recurrente (117,119,138,270–272). No obstante, con respecto a la variabilidad de la pauta posológica de los esquemas, se ha comparado la administración de rituximab de mantenimiento cada 2 meses en esquemas de

corto tiempo (4 infusiones) frente a esquemas más prolongados (con un máximo de 5 años o hasta progresión de la enfermedad o toxicidad), sin mostrar una diferencia significativa entre ambos esquemas con respecto a la SLP y SG, aunque sí se han asociado los esquemas más prolongados con un aumento de la toxicidad (273).

Las pruebas de imagen utilizadas para evaluar la respuesta al tratamiento engloban tanto TAC como la combinación PET-TAC. PET-TAC es una prueba de imagen que mejora la precisión para detectar algunas lesiones no palpables, tanto ganglionares como extraganglionares, y puede ayudar a diagnosticar la transformación de linfoma folicular a linfomas de alto grado debido a la distinta captación de contraste radiactivo que pueden presentar las lesiones malignas (67,71). En linfoma folicular, sería adecuado utilizar dicha técnica cuando se pretenda valorar la tasa de respuesta terapéutica, así como cuando se disponga de un estudio basal (154).

La evaluación de la respuesta al tratamiento realizada de forma precoz tras recibir 2-4 ciclos se conoce como exploración *interim* o intermedia y su principal finalidad es obtener datos fiables de respuesta que permitan confirmar o modificar de manera segura la terapia instaurada. Sin embargo, obtener una PET-TAC *interim* positiva durante terapias que incluyan rituximab no identifica de manera adecuada los pacientes de alto riesgo, por tanto, no se debería utilizar como única herramienta a tener en cuenta para realizar cambios en el tratamiento instaurado (274). Esto se debe a que el rituximab tiene la capacidad de sensibilizar las células quimiorresistentes, dando lugar a una sinergia junto a la quimioterapia en el tratamiento de los LNH (275). Por ese motivo, se ha postulado que la adición de rituximab a la quimioterapia puede inducir una respuesta inflamatoria inespecífica asociada al reclutamiento de células inmunes en la localización tumoral, que puede conllevar a una elevada tasa de falsos positivos en la evaluación por PET-TAC, principalmente en la evaluación *interim* (276). En los resultados de nuestro estudio, la evaluación de la respuesta a mitad del tratamiento mediante PET-TAC se consideró un predictor positivo independiente de no respuesta completa junto al genotipo AA para *TNFR1* rs767455. Adicionalmente, en la distribución de los genotipos de *TNFR1* rs767455 también se observó una tendencia a la significación en la evaluación de la respuesta a

mitad del tratamiento mediante PET-TAC, siendo más frecuente dicha evaluación en los genotipos AG/GG que en AA (36,5% vs 20,8%, respectivamente; $p=0,066$). Por el contrario, no hubo diferencias entre la evaluación de la respuesta con TAC frente a PET-TAC al final del tratamiento, así como con la SLP y la SG.

En resumen, este ha sido el primer estudio en el que la presencia de SNPs en genes funcionales que codifican para moléculas implicadas en la vía extrínseca de la apoptosis se asocia con la respuesta a rituximab en pacientes con linfoma folicular. El estudio farmacogenético para el rituximab podría ser de utilidad en pacientes seleccionados, que no responden adecuadamente a la terapia de inducción. Es importante destacar que el componente genético forma parte de un conjunto global de factores clínicos que modifican la respuesta farmacológica a rituximab, por lo que su evaluación debe basarse en la determinación de diversos factores de riesgo que influyen sobre ella, y no solo en el estudio genético como un componente único.

6.1. LIMITACIONES

El tamaño muestral es una de las principales limitaciones del estudio, que se centró en los pacientes que iniciaron tratamiento antineoplásico basado en inmunoterapia con rituximab durante el periodo de recogida de muestra y que dieron su consentimiento informado. Con respecto a la farmacogenética en genes relacionados con la apoptosis, no hay estudios previos que evalúen la asociación entre los polimorfismos que hemos estudiado y la respuesta al tratamiento con rituximab, por lo que no ha sido posible calcular el tamaño muestral necesario para detectar las asociaciones mostradas en base a este estudio. Por ello, sería necesario realizar estudios confirmatorios más grandes e independientes.

Como consecuencia de la necesidad de un periodo de seguimiento relativamente largo, la recogida de datos clínicos se llevó a cabo de manera retrospectiva mediante su registro en las historias clínicas, con la consiguiente pérdida de información para algunas variables. Los estudios prospectivos no son eficientes para evaluar eventos o respuestas que precisen de un seguimiento muy largo, ya que estos serían muy costosos. En este caso, nos planteamos realizar el estudio de manera retrospectiva para facilitar el reclutamiento de la mayoría de los pacientes que habían sido tratados con rituximab y obtener una muestra

relativamente amplia, representativa y suficiente de pacientes.

Además, aunque todos los pacientes fueron tratados con rituximab, existe un grado de heterogeneidad en los esquemas utilizados en la práctica clínica asistencial en el tratamiento del linfoma folicular. Sin embargo, esta limitación no parece constituir un sesgo, ya que el análisis realizado solamente con esquemas de tipo R-CHOP, tales como R-CHOP, R-COP y R-CNOP, donde se compara la respuesta al tratamiento con los polimorfismos que mostraron una asociación con la misma, no hubo diferencias significativas al aplicar la comparativa con los esquemas antineoplásicos utilizados en la cohorte total del estudio y al restringir el análisis a los esquemas tipo R-CHOP. La distribución de los genotipos para estos polimorfismos (*TRAILR1* rs20575, *FASL* rs763110 y *TNFR1* rs767455) entre el grupo de respondedores y el grupo de RpP/NoRp fue similar a la obtenida para toda la cohorte.

Por otro lado, la evaluación de la respuesta se realizó mediante dos tipos de técnicas de imagen, TAC y PET-TAC, utilizadas habitualmente en la práctica clínica. Estas dos técnicas presentan características diferentes en cuanto a la sensibilidad y la captación del linfoma por lo que es una limitación del estudio. Los resultados obtenidos a mitad del tratamiento mostraron que la evaluación de la respuesta por PET-TAC era un predictor positivo independiente de no respuesta completa. No obstante, al comparar los resultados obtenidos posteriormente con ambas técnicas, no se encontró ninguna diferencia con la respuesta final al tratamiento. Tampoco se correlacionó con diferencias en la SLP ni en la SG.

Para salvar estas limitaciones, realizamos diversas evaluaciones para cada variable del estudio con cada uno de los grupos de respuesta mediante distintas aproximaciones estadísticas, evitando el sobreajuste y construyendo un modelo parsimonioso, como el análisis univariante por regresión logística binaria no ajustada empleando la prueba de Chi² que determinó la potencia de las covariables en relación con la respuesta, el análisis de regresión logística multivariante en el que se incluyeron las covariables con mayor potencia en el estudio, completándolo con la regresión de Cox para analizar la influencia de las variables con la supervivencia. En el estudio, evaluamos los siete SNPs en genes de apoptosis, así como un conjunto de variables clínicas que podían influir en la respuesta, asociadas previamente con el pronóstico del linfoma folicular.

VII - CONCLUSIONES

VII - CONCLUSIONES

CONCLUSIONES EN RELACIÓN CON EL OBJETIVO PRINCIPAL:

- Los pacientes con linfoma folicular tratados con rituximab como fármaco incluido en esquemas de inducción en primera línea portadores del genotipo CC del polimorfismo rs20575 en el gen *TRAILR1* de la vía extrínseca de la apoptosis responden mejor al tratamiento con rituximab, considerándose un factor independiente de respuesta completa al final del tratamiento.
- Los pacientes portadores del genotipo CC del polimorfismo rs763110 en el gen *FASL* responden mejor al rituximab.
- Los pacientes portadores del genotipo AA del polimorfismo rs767455 en el gen *TNFR1* responden inicialmente peor al tratamiento con rituximab, considerándose un factor independiente de no respuesta completa a mitad del tratamiento.
- Los pacientes con peor respuesta al finalizar tratamiento presentan con un mayor porcentaje la combinación de alelos conjuntos AAGG en *TRAILR1* rs20576, *TRAILR1* rs2230229, *TRAIL* rs12488654 y *TRAILR1* rs20575, respectivamente.

CONCLUSIONES EN RELACIÓN CON EL PRIMER OBJETIVO SECUNDARIO:

- El género femenino se asocia con una mejor respuesta al tratamiento con rituximab, considerándose un factor independiente de respuesta completa al final del tratamiento.
- La presencia de síntomas B y enfermedad *bulky* se identifican con enfermedad avanzada y mayor carga tumoral, influyendo negativamente en la respuesta al tratamiento con rituximab.
- La evaluación de la respuesta mediante PET-TAC a mitad del tratamiento se considera como un factor independiente de peor respuesta.

CONCLUSIONES EN RELACIÓN CON EL SEGUNDO OBJETIVO SECUNDARIO:

- La administración de terapia de consolidación con rituximab es un factor positivo relacionado con una mayor SLP. Por el contrario, la presencia de síntomas B es un factor pronóstico negativo relacionado directamente con una menor SLP.
- La administración de terapia de consolidación con rituximab es un factor positivo relacionado con una mayor SG. Por el contrario, la edad ≥ 60 años, el ECOG ≥ 2 y la aparición de recaídas son factores pronósticos negativos relacionados directamente con una menor SG. Asimismo, la aparición de recaídas tempranas dentro de los 3 y 5 años post-diagnóstico son factores pronósticos negativos que se relacionan con una menor SG.

VIII – MENCIONES

VIII - MENCIONES

Los resultados de esta investigación han sido publicados en las siguientes revistas indexadas con impacto:

1. Gutiérrez-Cívicos R, Hurtado AM, Torres-Moreno D, Sanchez-Blanco JJ, Español I, Consuegra-Sánchez L, Perez-Ceballos E, Gutiérrez-Meca MD, Jerez A, Conesa-Zamora P. Rituximab response in follicular lymphoma is associated with the rs20575 polymorphism in *TRAILR1* extrinsic apoptosis trigger. *Pharmacogenet Genomics*. 2017 Feb;27(2):70-77. (Factor de impacto 2,857) (Artículo 1).
2. Gutiérrez-Cívicos R, Hurtado AM, Torres-Moreno D, Sanchez-Blanco JJ, Español I, Consuegra-Sánchez L, Perez-Ceballos E, Gutiérrez-Meca MD, Jerez A, Conesa-Zamora P. A polymorphism in *FASL* is associated with rituximab response in follicular lymphoma patients. *Am J Hematol*. 2016 Jun;91(6):E305-7. (Factor de impacto 5,0) (Artículo 2).

Los resultados de esta investigación han sido presentados en formato tipo póster en los siguientes congresos:

1. IV Congreso de Oncología Médica y Farmacia Oncológica, noviembre 2016:
 - Estudio farmacogenético sobre la influencia de los polimorfismos rs20576 en el gen *TRAILR1A* y rs12488654 en el gen *TRAIL* en la variabilidad de la respuesta al tratamiento con rituximab en pacientes con linfoma folicular.
 - Estudio sobre la influencia de variables clínicas en la respuesta al tratamiento con rituximab asociado a quimioterapia en pacientes con linfoma folicular.
2. 21º Congreso Europeo de European Association of Hospital Pharmacists, marzo 2016:
 - Pharmacogenetic study of the influence of polymorphisms in the *TNFR1A* and *FAS* genes on the response to rituximab and chemotherapy in follicular lymphoma patients.

3. 60º Congreso Nacional de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria, noviembre 2015:
 - Estudio farmacogenético sobre la influencia de los polimorfismos rs767455 en el gen *TNFR* y rs2230229 en el gen *TRAILR1A* en la variabilidad de respuesta al tratamiento con rituximab en pacientes con linfoma folicular.
 - Estudio farmacogenético por alelos y haplotipos de la influencia de cinco polimorfismos en el sistema TRAIL/TRAILR1 en la variabilidad de la respuesta a rituximab en pacientes con linfoma folicular.
4. I Jornadas de Investigación y Doctorado: Calidad y Acreditación. Universidad Católica San Antonio. Murcia, junio 2015:
 - Estudio farmacogenético de la respuesta al anticuerpo monoclonal anti-CD20 (rituximab) en el tratamiento del linfoma folicular.
5. 20º Congreso Europeo de European Association of Hospital Pharmacists, marzo 2015:
 - Pharmacogenetic study of the effect of polymorphisms in the TRAILR1/TRAIL system on the response to treatment with rituximab in follicular lymphoma patients.

Artículo 1

70 Original article

Rituximab response in follicular lymphoma is associated with the rs20575 polymorphism in TRAILR1 extrinsic apoptosis trigger

Rocío Gutiérrez-Cívicos^a, Ana M. Hurtado^f, Daniel Torres-Moreno^b, José J. Sanchez-Blanco^f, Ignacio Español^c, Luciano Consuegra-Sánchez^d, Elena Perez-Ceballos^f, María D. Gutiérrez-Meca^c, Andrés Jerez^f and Pablo Conesa-Zamora^e

Objective Rituximab in combination with chemotherapy has been proven to increase progression-free and overall survival in follicular lymphoma (FL), but there is considerable interindividual variability in the response. Extrinsic pathway apoptosis triggered by death receptors seems to be involved in the mechanism of action of monoclonal antibodies. This study aimed to assess the association between *TRAILR1/TRAIL* polymorphisms (rs20575, rs20576, rs2230229, rs12488654) and rituximab response and the relationship with *FASL* rs763110, previously found to be associated with rituximab response.

Patients and methods Polymorphisms were determined in a study cohort of 125 FL patients treated with rituximab as first-line treatment and correlated with response, which was scored according to the International Working Group Consensus Revised as complete response, partial response, stable disease, and progressive disease.

Results No significant association with response was found for rs20576, rs2230229, and rs12488654 polymorphisms. In contrast, rs20575 GC/GG carriers were more partial/nonresponders (88.2%) than complete responders (72.5%), showing a trend toward statistical significance ($P = 0.064$). In a multivariable setting, we found that female sex [odds ratio = 0.355, 95% confidence interval (CI): 0.137–0.922, $P = 0.033$] and the *TRAILR1* rs20575 CC

genotype (odds ratio = 0.162, 95% CI: 0.035–0.757, $P = 0.021$) were independent positive predictive factors of complete clinical response to rituximab, constructing a parsimonious model with good calibration [χ^2 of 5.719 ($d.f. = 6$, $P = 0.455$)] and discrimination (C-statistic = 0.739, 95% CI: 0.636–0.842).

Conclusion After studying the pharmacogenetic role of *TRAILR1/TRAIL* polymorphisms in rituximab-treated FL patients, we found that the rs20575 CC genotype is an independent predictive factor of better rituximab response, indicating the possible involvement of death receptors in anti-CD20 mechanisms of action. *Pharmacogenetics and Genomics* 27:70–77 Copyright © 2017 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Pharmacogenetics and Genomics 2017, 27:70–77

Keywords: *FASL*, follicular lymphoma, monoclonal antibody, pharmacogenetics, polymorphism, response, rituximab, single nucleotide polymorphism, *TRAILR1*

Departments of ^aPharmacy, ^bPathology, ^cHematology, ^dCardiology, Statistical Consulting Unit, ^eClinical Analysis, Instituto Murciano de Investigaciones Biomédicas (IMIB), Santa Lucía University Hospital, Cartagena and ^fDepartment of Hematology and Medical Oncology, University Hospital Morales Meseguer, Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia, IMIB, Murcia, Spain

Correspondence to Pablo Conesa-Zamora, PharmD, Clinical Analysis Department, Santa Lucía University Hospital C/Mezquita sn, 30202 Cartagena, Spain
Tel: +34 968 128 600; fax: +34 968 128 628; e-mail: pablo.conesa@carm.es

Received 1 August 2016 Accepted 23 November 2016

Introduction

Follicular lymphoma (FL) is a non-Hodgkin lymphoma (NHL) derived from a neoplastic expansion of B-cells from the germinal center [1]. It is the second most common subtype of NHL and its natural history is characterized by a typically indolent clinical course. In advanced stages of the disease, it is considered an incurable disorder presenting multiple episodes of relapse [2,3].

Rituximab, a chimeric monoclonal IgG antibody, targets neoplastic B-cells expressing the CD20 antigen and is

effective, alone or in combination with chemotherapy, in the treatment of aggressive or indolent NHL, thus playing an essential role in the conventional therapy against FL [4,5].

Despite the fact that rituximab in combination with chemotherapy has been proven to increase FL progression-free and overall survival [2,6–8], there are still two important challenges to overcome, that is, lack of primary response in some patients and the occurrence of treatment resistance. The mechanism of action is not fully understood, but it involves the induction of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity [9,10], complement-dependent cytotoxicity [11–13], and apoptosis enhancement [14,15]. Death receptors (DRs) are

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's website (www.pharmacogeneticsandgenomics.com).

1744-6872 Copyright © 2017 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

DOI: 10.1097/FPC.0000000000000262

crucial inducers of the extrinsic pathway of apoptosis upon corresponding ligand binding.

To date, different genetic polymorphisms in complement-dependent cytotoxicity-associated [16] and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity-associated genes have been linked with rituximab response [17–23], but there are no studies analyzing the relationship between polymorphisms in DRs and rituximab response.

DRs and their ligands, especially those represented by the Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) and its receptors (TRAILR1/DR4 and TRAILR2/DR5) and FASL/FAS systems, are known triggers of apoptosis through the extrinsic pathway and their role as potential molecular targets is emerging. We and others have reported the association of *TRAILR1* and *FASL* polymorphisms with tumor susceptibility or immunotherapy response [24–28]. Moreover, a recent report has shown an association between a polymorphism in *FASL* and rituximab response in FL patients [29].

In this work, we aimed to study whether polymorphisms in the TRAILR1/TRAIL system might influence the rituximab response after first-line treatment in FL patients and whether they have an independent predictive value toward the contribution of the rs763110 (–844C > T) *FASL* polymorphism.

Patients and methods

Study population and monitoring

A total of 126 FL patients were recruited between January 2006 and May 2014 from the outpatient clinics of Hematology Departments from two hospitals (Morales Meseguer General University Hospital, Murcia; Santa Lucia General University Hospital, Cartagena) located in the Southeast of Spain. The study included adult patients with voluntary participation who received rituximab as a first-line treatment as monotherapy or combined with chemotherapy. Peripheral blood samples were incorporated into a biobank with previous informed consent. Largely, our study population comprises a subgroup of a previously described series of FL patients [30].

A descriptive analysis was carried out on patients' age, sex, performance status scale (Eastern Cooperative Oncology Group), lactate dehydrogenase, β 2-microglobulin, hemoglobin level, bone marrow involvement, disease stage, histological grade, presence of B-symptoms, Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) score, radiotherapy before chemotherapy, and number of rituximab infusions, according to the response groups, as shown in Table 1. All patients were treated with rituximab alone or in combination with the following first-line schemes: R-CHOP-type [including R-CHOP, R-CNOP, and R-COP (rituximab, cyclophosphamide, with or without doxorubicin or mitoxantrone, vincristine, prednisone)], R-CHOP + R-type [including R-CHOP + R, and R-COP + R (rituximab, cyclophosphamide, with or without doxorubicin, vincristine, prednisone and two

Table 1 Baseline characteristics of follicular lymphoma patients according to treatment response

Variables	n (%)			P-value
	Patient cohort n = 126	Complete responders n = 91 (72.2%)	Partial/ nonresponders n = 35 (27.8%)	
Age (years)	56.1 ± 15.1	56.6 ± 15.0	54.8 ± 15.5	0.550
Male sex	71 (56.3)	45 (49.5)	26 (74.3)	0.012
Groups of age				
< 60 years	73 (57.9)	50 (54.9)	23 (65.7)	0.273
≥ 60 years	53 (42.1)	41 (45.1)	12 (34.3)	
Performance status (ECOG)				
0–1	110 (87.3)	80 (87.9)	30 (85.7)	0.737
≥ 2	12 (9.5)	8 (8.8)	4 (11.4)	
Not available	4 (3.2)	3 (3.3)	1 (2.9)	
LDH				
Elevated	79 (62.7)	57 (62.6)	22 (62.9)	0.968
Normal	40 (31.7)	29 (31.9)	11 (31.4)	
Not available	7 (5.6)	5 (5.5)	2 (5.7)	
β 2-Microglobulin				
Elevated	88 (69.8)	63 (69.2)	25 (71.4)	0.284
Normal	23 (18.3)	19 (20.9)	4 (11.4)	
Not available	15 (11.9)	9 (9.9)	6 (17.1)	
Hemoglobin < 12 mg/dl				
Yes	33 (26.2)	21 (23.1)	12 (34.3)	0.208
No	89 (70.6)	67 (73.6)	22 (62.9)	
Not available	4 (3.2)	3 (3.3)	1 (2.9)	
Bone marrow involvement				
Yes	63 (50.0)	48 (52.7)	16 (45.7)	0.367
No	51 (40.5)	35 (38.4)	15 (42.9)	
Not available	12 (9.5)	8 (8.8)	4 (11.4)	
Stages				
I–II	23 (18.3)	19 (20.9)	4 (11.4)	0.292
III–IV	96 (76.2)	69 (75.8)	27 (77.1)	
Not available	7 (5.6)	3 (3.3)	4 (11.4)	
Histological grades				
1–2	85 (67.5)	60 (65.9)	25 (71.4)	0.981
3	24 (19.0)	17 (18.7)	7 (20.0)	
Not available	17 (13.5)	14 (15.4)	3 (8.6)	
B-symptoms				
Yes	21 (16.7)	13 (14.3)	8 (22.9)	0.166
No	98 (77.8)	75 (82.4)	23 (65.7)	
Not available	7 (5.6)	3 (3.3)	4 (11.4)	
FLIPI score				
Low	41 (32.5)	32 (35.2)	9 (25.7)	0.523
Intermediate	36 (28.6)	26 (28.6)	10 (28.6)	
High	39 (31.0)	26 (28.6)	13 (37.1)	
Not available	10 (7.9)	7 (7.7)	3 (8.6)	
Radiotherapy before chemotherapy				
Yes	14 (11.1)	8 (8.8)	6 (17.1)	0.210
No	112 (88.9)	83 (91.2)	29 (82.9)	
Number of rituximab doses				
≤ 6	89 (70.6)	65 (71.4)	24 (68.6)	0.752
> 6	37 (29.4)	26 (28.6)	11 (31.4)	
Chemotherapy schemes				
Scheme 1	95 (75.4)	69 (75.8)	26 (74.3)	0.632
Scheme 2	21 (16.7)	16 (17.6)	5 (14.3)	
Scheme 3	10 (7.9)	6 (6.6)	4 (11.4)	
LDH (U/l)	312.0	312.0	306.0	0.812
[median (IQR)]	(194.0–387.0)	(186.0–402.0)	(211.0–349.0)	
β 2-Microglobulin (μ g/ml)	2.5 (1.9–3.5)	2.4 (1.9–3.4)	3.1 (2.1–3.9)	0.053
[median (IQR)]				
Hemoglobin (mg/dl)	12.2 (11.8–14.3)	13.2 (12.2–14.1)	12.9 (11.7–14.4)	0.566
[median (IQR)]				

ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI, Follicular Lymphoma International Prognostic Index; IQR, interquartile range; LDH, lactate dehydrogenase; LDH elevated, > 246 U/l; β 2-microglobulin elevated: > 1.8 μ g/ml; scheme 1 includes R-CHOP-type; scheme 2 includes R-CHOP + R-type; scheme 3 includes another group of schemes (R-FMCR/FDM/R-FC, rituximab–bendamustine, rituximab–clorambucil, and rituximab in monotherapy).

additional infusions of rituximab), R-FMC (rituximab, fludarabine, mitoxantrone, cyclophosphamide), R-FC (rituximab, fludarabine, cyclophosphamide), R-FMD (rituximab,

fludarabine, mitoxantrone, dexamethasone), rituximab–bendamustine, and rituximab–clorambucile.

Clinical response was evaluated 1–2 months after the last treatment course by physical examination and computed tomography or PET-computed tomography scans. Responses were scored according to the revised International Working Group Consensus as complete response (CR), partial response (PR), stable disease (SD), and progressive disease (PD), in which the category of complete remission/unconfirmed was removed [31,32]. According to the purpose of the analyses, patients were grouped as ‘partial/nonresponders’ (including PR, SD and PD) and ‘complete responders’ (CR).

The study complied with the Helsinki Declaration of Human Rights, was approved by the respective hospital ethics committees, and written informed consent was obtained from all participants.

Polymorphism genotyping

Peripheral blood samples were collected and DNA was extracted using the QIAamp DNA Mini Kit (cat. no. 51306) and the QIAcube automatic nucleic acid extractor (Qiagen, Venlo, the Netherlands) according to the purveyor’s instructions.

TRAILR1/TRAIL genotypes were determined by fluorescence resonance energy transfer competitive allele-specific PCR using the Kbioscience chemistry kit (Kbioscience Ltd, Hertfordshire, UK) as described previously [24]. Following the manufacturers’ instructions, PCR cycling conditions, determined using a 7500F real-time thermocycler (Applied Biosystems, Foster City, California, USA), were 15 min at 94°C, followed by a set of 10 cycles (10 s at 94°C, 60 s at 61°C, dropping –0.6°C per cycle achieving the annealing temperature 55°C) and a second one of 26 cycles (10 s at 94°C, and 60 s at 55°C).

Statistical analysis

The Hardy–Weinberg equilibrium test and haplotype analysis of *TRAILR1* polymorphisms were carried out using the Shesis platform (<http://analysis.bio-x.cn/myAnalysis.php>). The clinical characteristics and prognostic parameters of the study patients were represented as absolute value (%) for categorical variables and mean ± SD or median (interquartile range) for continuous variables, as appropriate. Genotypes and allele frequencies are represented as %. The Gaussian distribution of continuous variables was tested graphically and using the Kolmogorov–Smirnov test.

A potential association of clinical characteristics, prognostic parameters, genotypes, and medical treatment with the condition of ‘complete responder’ (as defined above) was assessed using the χ^2 -test or the Fisher exact test for categorical variables, and the Student *t*-test or the Mann–Whitney *U*-test for continuous variables as appropriate.

We carried out nonadjusted binary logistic regression analyses to analyze the crude association of each of the variables with the condition of ‘complete responder’. Variables considered as covariates in the enter-method multivariable binary logistic regression model were those beyond the range [odds ratio (OR): 0.66–1.50], irrespective of the *P*-value. We further selected those more relevant candidates to construct a parsimonious model and avoid overfitting. Results were expressed as OR and 95% confidence intervals (CI). Calibration of the model was assessed using the Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit test and discrimination of the model was evaluated using the *C*-statistic. SPSS 20.0 statistical software package (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) was used in the present investigation.

Results

Demographic and clinical features

The total cohort included 126 FL patients. The mean age of the patients at diagnosis was 56.1 ± 15.1 years and 56.3% were men. Hemoglobin, lactate dehydrogenase, and β 2-microglobulin levels were normal in 70.6, 31.7, and 18.3%, respectively. Most of patients had stages III–IV (76.2%) and grades 1–2 (67.5%) at diagnosis. The majority of patients had a good performance status (Eastern Cooperative Oncology Group 0–1, 87.3%). Four (3.2%) patients presented bulky disease. The demographic and general characteristics of the patients in this study are summarized in Table 1.

CRs achieved were a CR in 91 (72.2%) patients, a PR in 30 (23.8%), an SD in four (3.2%), and a case with PD (0.8%). On subgrouping as described above, 91 patients were considered ‘complete responders’ and 35 as ‘partial/nonresponders’. The baseline characteristics of the study patients and their correlation with response are shown in Table 1. No significant differences were observed for the different baseline features between ‘complete responders’ and ‘partial/nonresponders’, except for male sex ($P=0.012$), which was associated with a worse rituximab response (CR: 49.5% vs. PR/SD/PD: 74.3%) (Table 2).

In terms of the first-line treatment schemes, rituximab was administered in combination with chemotherapy in 124 patients, most of them [95 (76.6%)] receiving R-CHOP-type (67 R-CHOP; 26 R-COP; 2 R-CNOP); 21 (16.9%) R-CHOP + R-type (14 R-CHOP + R; 7 R-COP + R), three (2.4%) rituximab–bendamustine, four (3.2%) R-FMC/R-FMD/R-FC, and one (0.8%) rituximab–clorambucile. Two patients were treated with rituximab in monotherapy and the average number of rituximab infusions administered was 6.4 ± 1.2.

Genotype and allelic frequencies in the study patients

A pharmacogenetic study was carried out in 125 patients for the *TRAILR1/TRAIL* polymorphisms. The genotypes and allelic frequencies for the study population are shown in Table 2. Genotype frequency distributions were consistent with Hardy–Weinberg equilibrium ($P=0.211$), and

Table 2 Association between the *TRAILR1* polymorphism and treatment response in follicular lymphoma patients

	n (%)			P-value
	Patients cohort	Complete responders	Partial/nonresponders	
<i>TRAILR1</i> rs20575	n = 125	n = 91 (72.8%)	n = 34 (27.2%)	
Genotype				
CC	29 (23.2)	25 (27.5)	4 (11.8)	0.179
GC	55 (44.0)	38 (41.8)	17 (50.0)	
GG	41 (32.8)	28 (30.8)	13 (38.2)	
Genotype (dominant model)				
CC	29 (23.2)	25 (27.5)	4 (11.8)	0.064
GC/GG	96 (76.8)	66 (72.5)	30 (88.2)	
Allele				
C	113 (45.2)	88 (48.4)	25 (36.8)	0.101
G	137 (54.8)	94 (51.6)	43 (63.2)	
<i>TRAILR1A</i> rs20576	n = 121	n = 86 (71.1%)	n = 35 (28.9%)	
Genotype				
AA	67 (55.4)	47 (54.7)	20 (57.1)	0.781
CA	46 (38.0)	34 (39.5)	12 (34.3)	
CC	8 (6.6)	5 (5.8)	3 (8.6)	
Genotype (dominant model)				
AA	67 (55.4)	47 (54.7)	20 (57.1)	0.803
CA/CC	54 (44.6)	39 (45.3)	15 (42.9)	
Allele				
A	180 (74.4)	128 (74.4)	52 (74.3)	0.983
C	62 (25.6)	44 (25.6)	18 (25.7)	
<i>TRAILR1A</i> rs2230229	n = 125	n = 91 (72.8%)	n = 34 (27.2%)	
Genotype				
AA	94 (75.2)	65 (71.4)	29 (85.3)	0.255
GA	27 (21.6)	23 (25.3)	4 (11.8)	
GG	4 (3.2)	3 (3.3)	1 (2.9)	
Genotype (dominant model)				
AA	94 (75.2)	65 (71.4)	29 (85.3)	0.110
GA/GG	31 (24.8)	26 (28.6)	5 (14.7)	
Allele				
A	215 (86.0)	153 (84.1)	62 (91.2)	0.149
G	35 (14.0)	29 (15.9)	6 (8.8)	
<i>TRAIL</i> rs12488654	n = 125	n = 90 (72.0%)	n = 35 (28.0%)	
Genotype				
AA	2 (1.6)	2 (2.2)	–	0.508
GA	34 (27.2)	26 (28.9)	8 (22.9)	
GG	89 (71.2)	62 (68.9)	27 (77.1)	
Genotype (dominant model)				
GG	89 (71.2)	62 (68.9)	27 (77.1)	0.360
AA/GA	36 (28.8)	28 (31.1)	8 (22.9)	
Allele				
A	38 (15.2)	30 (16.7)	8 (11.4)	0.300
G	212 (84.8)	150 (83.3)	62 (88.6)	

genotype and allelic frequencies were similar to those published in previous studies including White (European) populations [rs20575: CC, 20.0%; GC, 41.7%; GG, 38.3% (C, 40.8%; G, 59.2%)] (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) and in a control group (age \pm SD: 54 \pm 8.4, 53.4% women) of the same ethnicity and geographical area as the patients (CC, 26.2%; GC, 47.1%; GG, 26.7%) [25].

Clinical response to induction therapy according to *TRAILR1*/*TRAIL* polymorphisms

As shown in Table 2, no significant differences were observed between the 'complete responders' and the 'partial/nonresponders' groups according to the *TRAILR1* rs20575 genotype distribution following a co-dominant model. Nevertheless, the GC/GG association was more

frequent in 'partial/nonresponders' (88.2%) than in the 'complete responders' (72.5%) group; this difference showed a trend toward statistical significance ($P=0.064$). When only R-CHOP patients were considered ($n=95$), similar results were found (*TRAILR1* rs20575 GC/GG: 84.0 vs. 73.9%, $P=0.232$; *FASL* rs763110 TC/TT: 92.3 vs. 63.8%, $P=0.004$). For the rest of the *TRAILR1*/*TRAIL* polymorphisms, no significant associations with response were found (Table 2). *TRAILR1* haplotype analysis showed a grade of linkage disequilibrium between rs20575 and rs20576 (D' : 0.73; Supplementary Fig. S1, Supplemental digital content 1, <http://links.lww.com/FPC/B132>). Not surprisingly, the haplotypes including the A-G alleles for rs20576 and rs20575, respectively, were the only ones that showed a significant association with response (Pearson's $P=0.0172$ and 0.0367; Supplementary Table S1, Supplemental digital content 2, <http://links.lww.com/FPC/B133>). Given these two findings, only rs20575 was considered for subsequent analyses.

Table 3 shows the demographic and general characteristics according to the genotype distribution for rs20575 of the study patients. No significant differences were observed in the baseline features between genotypes distribution, except for more frequent radiotherapy before chemotherapy in rs20575 GG patients ($P=0.028$), although this significance was lost when grouping CC versus CG/GG ($P=0.402$). The distribution of genotypes for these two polymorphisms was similar among patients treated with R-CHOP-type (scheme 1), R-CHOP+R-type (scheme 2), and another group that included rituximab-bendamustine, R-FMC/R-FMD/R-FC, rituximab-clorambucil, and rituximab in monotherapy (scheme 3) ($P=0.301$ for rs20575; $P=0.838$ for rs763110). Figure 1 shows the genotype distributions according to the response grade. Patients with a complete response showed more frequently *TRAILR1* CC than GC or GG genotypes (70.0, 45.5, and 44.6%, respectively).

Multivariate analysis between baseline characteristics, *TRAILR1* and *FASL* polymorphisms and treatment response

Table 4 shows the results of a nonadjusted binary logistic regression analyses of the variables associated with the condition of a 'complete responder'. Female sex, stages I-II, CC genotype of the *TRAILR1* polymorphism, and the CC genotype of the *FASL* polymorphism were the significant predictor variables chosen to construct the multivariable binary logistic regression model (Table 5). In this analysis, we found that female sex (OR=0.355, 95% CI: 0.137–0.922, $P=0.033$) and the presence of the CC genotype in rs20575 (OR=0.162, 95% CI: 0.035–0.757, $P=0.021$) were independent predictors of a CR. Neither stage I-II (OR=0.364, 95% CI: 0.094–1.415, $P=0.145$) nor the CC genotype in rs763110 (OR=0.394, 95% CI: 0.130–1.197, $P=0.101$) were predictors of response. This final model showed a good calibration with a Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test χ^2 of 5.719

Table 3 Baseline characteristics according to the *TRAILR1* polymorphism of follicular lymphoma patients

	<i>TRAILR1</i> rs20575 [n (%)]			P-value
	CC (n=29)	GC (n=55)	GG (n=41)	
Groups of age				
< 60 years	19 (65.5)	29 (52.7)	25 (61.0)	0.486
≥ 60 years	10 (34.5)	26 (47.3)	16 (39.0)	
Male sex	17 (58.6)	30 (54.5)	23 (56.1)	0.938
Performance status (ECOG)				
0-1	24 (82.8)	50 (90.9)	36 (87.8)	0.551
≥ 2	4 (13.8)	4 (7.3)	3 (7.3)	
Unknown	1 (3.5)	1 (1.8)	2 (4.9)	
LDH				
Elevated	21 (72.4)	33 (60.0)	24 (58.5)	0.506
Normal	7 (24.1)	20 (36.4)	13 (31.7)	
Unknown	1 (3.4)	2 (3.6)	4 (9.8)	
β2-Microglobulina				
Elevated	21 (72.4)	38 (69.1)	28 (68.3)	0.936
Normal	5 (17.2)	11 (20.0)	7 (17.1)	
Unknown	3 (10.3)	6 (10.9)	6 (14.6)	
Hemoglobin < 12 mg/dl				
Yes	10 (34.5)	10 (18.2)	12 (29.3)	0.187
No	18 (62.1)	44 (80.0)	27 (65.9)	
Unknown	1 (3.5)	1 (1.8)	2 (4.9)	
Bone marrow involvement				
Yes	15 (51.7)	24 (43.6)	24 (58.5)	0.384
No	10 (34.5)	26 (47.3)	15 (36.6)	
Unknown	4 (13.8)	5 (9.1)	2 (4.9)	
Stages				
I-II	4 (13.8)	12 (21.8)	6 (14.6)	0.599
III-IV	23 (79.3)	41 (74.5)	32 (78.0)	
Unknown	2 (6.9)	2 (3.6)	3 (7.3)	
Histological grades				
1-2	18 (62.1)	39 (70.9)	27 (65.9)	0.740
3	6 (20.7)	9 (16.4)	9 (22.0)	
Unknown	5 (17.2)	7 (12.7)	5 (12.2)	
B-symptoms				
Yes	8 (27.6)	5 (9.1)	7 (17.1)	0.072
No	19 (65.5)	48 (87.3)	31 (75.6)	
Unknown	2 (6.9)	2 (3.6)	3 (7.3)	
FLIPI				
Low	9 (31.0)	22 (40.0)	10 (24.4)	0.432
Intermediate	6 (20.7)	16 (29.1)	14 (34.1)	
High	11 (37.9)	14 (25.5)	13 (31.7)	
Unknown	3 (10.3)	3 (5.5)	4 (9.8)	
Radiotherapy before chemotherapy				
Yes	2 (6.9)	3 (5.5)	9 (22.0)	0.028
No	27 (93.1)	52 (94.5)	32 (78.0)	
Number of rituximab doses				
≤ 6	22 (75.9)	37 (67.3)	29 (70.7)	0.713
> 6	7 (24.1)	18 (32.7)	12 (29.3)	
Chemotherapy schemes				
Scheme 1	22 (75.9)	38 (69.1)	34 (82.9)	0.301
Scheme 2	6 (20.7)	12 (21.8)	3 (7.3)	
Scheme 3	1 (3.4)	5 (9.1)	4 (9.8)	

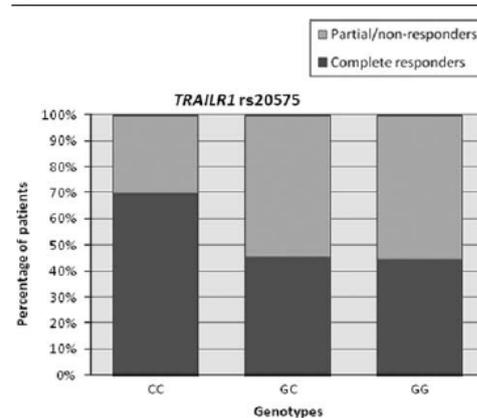
ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI, Follicular Lymphoma International Prognostic Index; LDH, lactate dehydrogenase; LDH elevated, > 246 U/l/ml; β2-microglobulina elevated, > 1.8 μg/ml; scheme 1 includes R-CHOP-type; scheme 2 includes R-CHOP+R-type; scheme 3 includes another group of schemes (R-FMC/R-FDM/R-FC, rituximab-bendamustine, rituximab-clorambucil, and rituximab in monotherapy).

(*d.f.* = 6, *P* = 0.455), as well as good discrimination (*C*-statistic = 0.739, 95% CI: 0.636–0.842).

Discussion

The interindividual variability in rituximab response may be associated with the presence of functional gene polymorphisms related to mechanisms of action of treatment [33]. Apoptosis is a physiological process of cell death characterized and, at the molecular level, it can be

Fig. 1



Genotype distribution for *TRAILR1* rs20575 in the study patients according to the response grade.

triggered through the extrinsic pathway that is mediated by death receptors and their ligands [34], including FAS and TRAILR1. However, during cancer development, this mechanism can be altered, supporting tumor progression and resistance to cancer therapies [35]. Monoclonal antibodies may contribute toward target cancer cells and subsequent killing by proapoptotic mechanisms [36]. In fact, Cartron *et al.* [18] found, by studying 49 patients with FL, that a polymorphism in *FCGR3A*, a gene associated with the induction of antibody-dependent cellular cytotoxicity and apoptosis, was associated with clinical and molecular responses to rituximab. In this line, it has been shown that the ligation of the Fc part of an antibody to the Fc receptor (such as the *FCGR3A* product) presented on human NK cells stimulates the expression of FASL on NK cells, facilitating killing of FAS-bearing cancer cells. Furthermore, the interaction of FASL on the Fc receptor-stimulated NK cells with their FAS receptors can result in apoptosis of the NK cells, which critically influences the capacity of these cells to mediate paracrine and autocrine cell death [37]. In fact, recently, we found that a polymorphism in *FASL* was associated with rituximab response in FL [29]. Here, we show, in the same series, how the presence of a certain polymorphic allele in the *TRAILR1* gene, as long as *FASL* rs763110, is independently related to an improved response to rituximab in a series of first line-treated FL patients. To the best of our knowledge, this is the first study dealing with polymorphisms in genes coding for DRs and the response to rituximab treatment. For the rest of the *TRAILR1* polymorphisms, no significant association with response was found. This finding does not rule out the possible relationships of these

Table 4 Unadjusted binary logistic regression for treatment response considering baseline features and *TRAILR1* and *FASL* polymorphisms

Variables	OR	95% CI	P-value
Age (≥ 60 years)	0.636	0.283–1.432	0.275
Male sex	2.953	1.247–6.994	0.014
Performance status (ECOG)			
0–1	1	–	–
≥ 2	1.333	0.374–4.75	0.657
LDH elevated	1.018	0.435–2.352	0.968
$\beta 2$ -Microglobulin elevated	1.885	0.583–6.095	0.290
Hemoglobin < 12 mg/dl	1.740	0.738–4.102	0.205
Bone marrow involvement	0.684	0.299–1.565	0.368
Stages			
I–II	1	–	–
III–IV	1.859	0.579–5.967	0.298
Histological grades			
1–2	1	–	–
3	0.988	0.365–2.676	0.981
Presence of B-symptoms	2.007	0.740–5.438	0.171
FLIPI score			
Low	1	–	–
Intermediate	1.368	0.484–3.864	0.555
High	1.778	0.657–4.809	0.257
Radiotherapy before chemotherapy	2.147	0.687–6.711	0.189
Number of rituximab doses			
≤ 6	1	–	–
> 6	1.146	0.492–2.671	0.753
Chemotherapy schemes			
Scheme 1	1	–	–
Scheme 2	0.829	0.276–2.493	0.739
Scheme 3	1.769	0.462–6.778	0.405
<i>TRAILR1</i> rs20575			
CC	1	–	–
GC	2.796	0.842–9.287	0.093
GG	2.902	0.837–10.064	0.093
<i>TRAILR1</i> rs20575			
CC	1	–	–
GC/GG	2.841	0.908–8.885	0.073
<i>TRAILR1</i> rs20576			
AA	1	–	–
CA	0.829	0.358–1.923	0.663
CC	1.410	0.307–6.473	0.659
<i>TRAILR1</i> rs20576			
AA	1	–	–
CA/CC	0.904	0.409–1.997	0.803
<i>TRAILR1</i> rs2230229			
AA	1	–	–
GA	0.390	0.124–1.229	0.108
GG	0.747	0.075–7.490	0.804
<i>TRAILR1</i> rs2230229			
AA	1	–	–
GA/GG	0.431	0.150–1.235	0.117
<i>TRAIL</i> rs12488654			
AA			
GA		Not applicable	
GG			
<i>TRAIL</i> rs12488654			
GG	1	–	–
GA/AA	0.656	0.265–1.624	0.362
<i>FASL</i> rs763110			
CC	1	–	–
TC	3.235	1.114–9.390	0.031
TT	2.657	0.693–10.190	0.154
<i>FASL</i> rs763110			
CC	1	–	–
TC/TT	3.100	1.094–8.782	0.033

$\beta 2$ -Microglobulin elevated, $> 1.8 \mu\text{g/ml}$; CI, confidence intervals; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI, Follicular Lymphoma International Prognostic Index; LDH, lactate dehydrogenase; LDH elevated, $> 246 \text{ U/l}$; OR, odds ratio; scheme 1 includes R-CHOP-type; scheme 2 includes R-CHOP + R-type; scheme 3 includes another group of schemes (R-FMC/R-FDM/R-FC, rituximab–bendamustine, rituximab–d-orambucic and rituximab in monotherapy).

single nucleotide polymorphisms with response when using rituximab as a single agent as has been shown for the FCGR3A polymorphism [38].

Table 5 Predictors of clinical response to rituximab by means of an enter-method multivariable binary logistic regression model

Variables	Adjusted odds ratio	95% CI	P values
Female sex	0.355	0.137–0.922	0.033
Stage I–II	0.364	0.094–1.415	0.145
<i>TRAILR1</i> rs20575, CC genotype	0.162	0.035–0.757	0.021
<i>FASL</i> rs763110, CC genotype	0.394	0.130–1.197	0.101

Hosmer–Lemeshow goodness-of-fit test: $\chi^2 = 5.719$, $d.f. = 6$, $P = 0.455$.

C-statistic = 0.739, 95% CI: 0.636–0.842.
CI, confidence intervals; $d.f.$, degrees of freedom.

Despite the increase in survival following rituximab use, FL is still a disease without a cure [39,40]. Thus, several clinical and biology features have been explored as prognostic parameters [3,41]. In our pharmacogenetic study, we have evaluated several clinical features available that seem to influence rituximab response. FLIPI is a prognostic index that predicts survival in FL patients. Lymphoma stage is part of this score, and patients with advanced stage (III/IV) tend to have a worse prognosis than those with early stages (I/II) [42]. Consequently, patients from our study with III/IV stages showed lower CRs.

However, sex is not a parameter considered in the FLIPI, but has traditionally been considered a prognostic factor in FL [43,44], with male sex found to be an adverse prognostic factor both in FL and in diffuse large B-cell lymphoma when rituximab was introduced in therapy [45,46]. In addition, it has been shown that women responded better to FL and diffuse large B-cell lymphoma treatments than men despite presenting similar associated-risk factors [47–49]. Accordingly, a strong association with a PR was found for the male sex in our cohort. This difference could be because of the fact that, in pharmacokinetic terms, the rituximab clearance rate is higher in men than in women [50,51].

In terms of the pharmacogenetic study, our results indicate that FL patients with the G-allele in *TRAILR1* rs20575 and the T-allele in *FASL* rs763110 present a worse response to rituximab treatment in first line. Moreover, the *TRAILR1*, but not *FASL*, polymorphism was associated with response in the multivariable binary logistic regression model, where known predictive factors such as sex and stage were also significant (Table 5). This finding might be because of the association observed previously between *FASL* rs763110 and the FL histological grade [39] that could relate this polymorphism with disease severity in addition to anti-CD20 response. In contrast, the implication of the *TRAILR1* rs20575 polymorphism, which results in a substitution of an arginine for threonine, would be merely related to rituximab's mechanism of action.

An important limitation of our work is the limited sample size; thus, larger and independent confirmatory studies

76 Pharmacogenetics and Genomics 2017, Vol 27 No 2

are needed. As the polymorphism has never been studied before, the estimation of statistical power was not possible. In addition, although all patients were treated with rituximab, there is a grade of heterogeneity in the schemes in which rituximab was included. Nevertheless, this issue does not seem to constitute a bias as there were no significant differences between the antineoplastic schemes applied or the treatment response with the genotype distributions and, when restricting the analysis to R-CHOP patients, the genotype distributions between CRs and partial/nonresponders were similar to those obtained for the entire series. In addition, the rationale for the associations found is supported by previous works.

Some in-vivo studies have reported that rituximab interferes in the FAS/FASL and TRAIL/TRAILR1 systems, sensitizing B-NHL tumor cell lines to FASL [52,53] and TRAIL-induced apoptosis [54,55], and on the basis of the crystal structure of TRAILR2 and its homology with TRAILR1, *TRAILR1* rs20575 polymorphisms have the potential to influence TRAIL binding to TRAILR1, thus affecting triggering of apoptosis [56]. Previous studies by our group showed that the CC genotype *TRAILR1* rs20575 was also associated with a better response in a different setting; that is rheumatoid arthritis patients treated with monoclonal antibodies targeting tumor necrosis factor [24]. Furthermore, rituximab has also been approved in the treatment of rheumatoid arthritis as a second-line option [57].

Our results are of interest not only in the context of rituximab sole response, but also when combining rituximab with other monoclonal antibodies targeting TRAIL/TRAILR1 and FAS/FASL systems. For instance, it has been shown that mapatumumab, an agonist antibody that binds TRAILR1, triggers apoptosis by activating the innate immune response and sensitizing lymphoma B-cells. Moreover, the combination of mapatumumab with rituximab proved to be more efficient in arresting growth in lymphoma cells than either monoclonal antibody alone [58].

In summary, this is the first study analyzing and reporting that the DR polymorphism is associated with rituximab response in FL, along with sex and stage. Patients with CC genotypes at rs20575 and rs763110 single nucleotide polymorphisms are better responders to rituximab therapy and this information should be taken into account when optimizing the use of anti-CD20 therapy.

Acknowledgements

The authors are grateful to the Fundación para la Formación Sanitarias (FFIS) from Health Council of Murcia Region, Spain, for supporting our technicians.

The study was funded by the CajaMurcia Foundation (ref: CM/12/08) from the Region of Murcia, Spain.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

References

- 1 Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. *WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues*, 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2008. pp. 179–268.
- 2 Cabanillas F. Curability of advanced indolent or low-grade follicular lymphomas: time for a new paradigm? *J Clin Oncol* 2013; **31**:14–16.
- 3 Salles GA. Clinical features, prognosis and treatment of follicular lymphoma. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program* 2007; **2007**:216–225.
- 4 Rezvani AR, Maloney DG. Rituximab resistance. *Best Pract Res Clin Haematol* 2011; **24**:203–216.
- 5 Cartron G, Trappe RU, Solal-Céligny P, Hallek M. Interindividual variability of response to rituximab: from biological origins to individualized therapies. *Clin Cancer Res* 2011; **17**:19–30.
- 6 Herold M, Haas A, Srock S, Neiser S, Al-Ali KH, Neubauer A, et al. Rituximab added to first-line mitoxantrone, chlorambucil, and prednisolone chemotherapy followed by interferon maintenance prolongs survival in patients with advanced follicular lymphoma: an East German Study Group Hematology and Oncology Study. *J Clin Oncol* 2007; **25**:1986–1992.
- 7 Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, Schmitz N, Lengfelder E, Schmits R, et al. Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood* 2005; **106**:3725–3732.
- 8 Marcus R, Imrie K, Solal-Céligny P, Catalano JV, Dmoszynska A, Raposo JC, et al. Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; **26**:4579–4586.
- 9 Flieger D, Renoth S, Beier I, Sauerbruch T, Schmidt-Wolf I. Mechanism of cytotoxicity induced by chimeric mouse human monoclonal antibody IDEC-C2B8 in CD20-expressing lymphoma cell lines. *Cell Immunol* 2000; **204**:55–63.
- 10 Dall'Ozzo S, Tartas S, Pintauro G, Cartron G, Colombat P, Bardos P, et al. Rituximab-dependent cytotoxicity by natural killer cells: influence of FCGR3A polymorphism on the concentration–effect relationship. *Cancer Res* 2004; **64**:4664–4669.
- 11 Golay J, Zaffaroni L, Vacca T, Lazzari M, Borleri GM, Bernasconi S, et al. Biologic response of B lymphoma cells to anti-CD20 monoclonal antibody rituximab in vitro: CD55 and CD59 regulate complement-mediated cell lysis. *Blood* 2000; **95**:3900–3908.
- 12 van Meerten T, van Rijn RS, Hol S, Hagenbeek A, Ebeling SB. Complement-induced cell death by rituximab depends on CD20 expression level and acts complementary to antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Clin Cancer Res* 2006; **12**:4027–4035.
- 13 Zhou X, Hu W, Qin X. The role of complement in the mechanism of action of rituximab for B-cell lymphoma: implications for therapy. *Oncologist* 2008; **13**:954–966.
- 14 Zhang N, Khawli LA, Hu P, Epstein AL. Generation of rituximab polymer may cause hyper-cross-linking-induced apoptosis in non-Hodgkin's lymphomas. *Clin Cancer Res* 2006; **11**:5971–5980.
- 15 Shan D, Ledbetter JA, Press OW. Signaling events involved in anti-CD20-induced apoptosis of malignant human B cells. *Cancer Immunol Immunother* 2000; **48**:673–683.
- 16 Racila E, Link BK, Weng W-K, Witzig TE, Ansell S, Maurer MJ, et al. A polymorphism in the complement component C1qA correlates with prolonged response following rituximab therapy of follicular lymphoma. *Clin Cancer Res* 2008; **14**:6697–6703.
- 17 Kim DH, Jung HD, Kim JG, Lee JJ, Yang DH, Park YH, et al. FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2006; **108**:2720–2725.
- 18 Cartron G, Dacheux L, Salles G, Solal-Céligny P, Bardos P, Colombat P, et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcγRIIIa gene. *Blood* 2002; **99**:754–758.
- 19 Zhang W, Wang X, Li J, Duan M, Zhou D. FcγRIIIa polymorphisms and efficacy of rituximab therapy on Chinese diffuse large B-cell lymphoma. *Chin Med J* 2010; **123**:199–202.
- 20 Veeramani S, Wang S-Y, Dahle C, Blackwell S, Jacobus L, Knutson T, et al. Rituximab infusion induces NK activation in lymphoma patients with the high-affinity CD16 polymorphism. *Blood* 2011; **118**:3347–3349.

Artículo 2

CORRESPONDENCE

A polymorphism in FASL is associated with rituximab response in follicular lymphoma patients

To the Editor: Follicular lymphoma (FL) is an incurable non-Hodgkin lymphoma (NHL), characterized by a typically indolent clinical course presenting multiple episodes of relapse [1]. Despite the fact that rituximab in combination with chemotherapy has proven to increase FL progression free and overall survival, there is considerable inter-individual variability in the clinical response to this anti-CD20 monoclonal antibody (MAb) [2]. Apoptosis induction seems to be a process involved in the mechanism of action of MAbs [2–4] and several studies have reported the association of polymorphisms in genes coding for apoptotic extrinsic pathway proteins, such as death receptors and their ligands, with susceptibility to lymphomas or immunotherapy response [5,6]. However, there are no studies analyzing the relationship between polymorphisms in genes coding for extrinsic apoptosis inducers and rituximab response.

In this work, we aimed to study whether rs763110 (–844C>T) FASL polymorphism, located in a putative binding domain for a transcription factor [3], might influence the rituximab response in FL patients after first-line treatment. The cohort included 126 FL patients recruited between January 2002 and May 2014 from the Hematology outpatient clinics from three hospitals from Southeast of Spain. The study was approved by the respective hospital ethics committees. All patients were treated with rituximab alone or in combination with the following first line schemes: R-CHOP-type (rituximab, cyclophosphamide, with or without doxorubicin or mitoxantrone, vincristine, prednisone), R-CHOP + R-type (rituximab, cyclophosphamide, with or without doxorubicin, vincristine, prednisone and two additional infusions of rituximab), R-FMC (rituximab, fludauridine, mitoxantrone, cyclophosphamide), R-FC (rituximab, fludarabine, cyclophosphamide), R-FMD (rituximab, fludarabine, mitoxantrone, dexamethasone), rituximab-bendamustine, and rituximab-clorambucil. Clinical response was evaluated 1–2 months after the last treatment course by means of physical examination and computed tomography (CT) or positron emission tomography (PET)-CT scans. Responses

were scored according to the International Working Group Consensus Revised as complete response (CR), partial response (PR), stable disease (SD), and progressive disease (PD). With the purpose of the analyses, patients were grouped as “partial/non-responders” (including PR, SD, and PD) and “complete responders” (CR).

Peripheral blood samples were collected and DNA was extracted using the QIAamp DNA Mini Kit and the QIAcube automatic nucleic acid extractor (Qiagen, Venlo, the Netherlands) according to the purveyor’s instructions. FASL rs763110 genotypes were determined by fluorescence resonance energy transfer competitive allele-specific PCR using the Kbioscience chemistry kit (Hertfordshire, UK).

Baseline characteristics of the study patients and their correlation with response are shown in Supporting Information 1. Median age at diagnosis was 56.1 ± 15.1 years and 56.3% were male patients. Lactate dehydrogenase, β_2 -microglobulin (β_2M), and hemoglobin levels were normal in 31.7%, 18.3%, and 70.6%, respectively. Most of patients had stage III–IV (76.2%) and grade 1–2 (67.5%) at diagnosis. The average number of rituximab infusions administered was 6.4 ± 1.2 . Clinical responses achieved were a CR in 91 patients (72.2%) PR in 30 (23.8%), SD in 4 (3.2%), and 1 in PD (0.8%). Subgrouped as described above, 91 patients were considered “complete responders” and 35 “partial/non-responders.” No significant differences were observed for the baseline features between “complete responders” and “partial/non-responders,” except for male gender which was associated with a worse rituximab response ($P = 0.012$).

Genotype frequencies fulfil Hardy-Weinberg disequilibrium and were similar to those found in public databases and prior studies on Caucasian population (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) [3]. No significant differences between the antineoplastic schemes applied and the treatment response or the genotype distributions were observed (Supporting Information 1, Table 1).

Patients with complete response were more frequently FASL CC than TC or TT carriers (70.5%, 42.4%, 47.4%, respectively). TC/TT genotypes were more often found in “partial/non-responders” (85.7%) than in “complete responders” (65.9%) reaching statistical significance ($P = 0.028$) (Table 1). When only R-CHOP patients were considered ($n = 95$) similar results were still found (TC/TT: 92.3% vs. 63.8%, $P = 0.004$).

Supporting Information 2 shows the result of a non-adjusted binary logistic regression analysis. Variables considered as covariates in the enter-method multivariable binary logistic regression model were those outside the range (odds ratio (OR) 0.66–1.50), irrespective of the P -value. We further selected those more relevant candidates to construct a parsimonious model and avoid overfitting. The variables female gender, stage III–IV, elevated β_2M , and FASL rs763110 T allele were the significant predictor variables chosen to carry out the multivariable binary logistic regression model associated with the condition of “complete responder.” We found that female gender (OR = 0.202, CI 95% 0.066–0.623, $P = 0.005$) and T allele in rs763110 (OR = 5.321, CI 95% 1.357–20.860, $P = 0.016$) were independent predictors of response. Neither stage III–IV (OR = 2.205, CI 95% 0.600–8.107, $P = 0.234$) nor β_2M elevated (OR = 2.990, CI 95% 0.729–12.269, $P = 0.128$) were predictors of response. This final model showed a good calibration with a Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test chi-square of 2.905 (6 degrees of freedom, $P = 0.821$), as well as good discrimination (C statistic = 0.768, CI 95% 0.661–0.876).

In our pharmacogenetic study we have evaluated several clinical features available that seem to influence rituximab response. FLIP1 is a prognostic index which predicts survival in FL patients lymphoma stage being part of this score whereas gender and β_2M are not included although have traditionally been regarded as prognostic factors in FL [1]. Our results indicate that FL patients carrying the FASL rs763110 T allele were associated with poorer response even after a multivariate analysis. Interestingly, the –844C allele showed increased FASL expression compared to the –844T [3]. Moreover, some in vivo studies have reported that rituximab interferes in the FAS/FASL system, sensitizing B-NHL tumor cell lines to FASL [4]. On note, FASL rs763110 T allele was previously associated with poorer response to a MAb in a different setting; i.e., anti-TNF IgG infliximab in Crohn’s disease [3] thus highlighting the concept of a common mechanism of action for MAbs regardless their target molecule.

This is the first study reporting that a polymorphism in an extrinsic apoptosis gene is associated with rituximab response in FL, along with gender, stage, and β_2M . Patients with CC rs763110 polymorphism are better responders to rituximab therapy and this information might be taken into account when optimizing the use of anti-CD20 therapy.

ROCÍO GUTIÉRREZ-CIVICOS,¹ ANA MARÍA HURTADO,² DANIEL TORRES-MORENO,³ JOSÉ JAVIER SANCHEZ-BLANCO,² IGNACIO ESPAÑA,⁴ LUCIANO CONSUEGRA-SANCHEZ,² ELENA PEREZ-CEBALLOS,² MARÍA DOLORES GUTIÉRREZ-MECA,⁴ ANDRÉS JEREZ,^{2*} PABLO CONESA-ZAMORA^{4*}

¹Pharmacy Department, Santa Lucía University Hospital, Cartagena, Spain

²Hematology and Medical Oncology Department, University Hospital Morales Meseguer, Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia, IMIB, Murcia, Spain

³Pathology Department, Santa Lucía University Hospital, Cartagena, Spain

⁴Hematology Department, Santa Lucía University Hospital, Cartagena, Spain

CORRESPONDENCE

TABLE I. Baseline Characteristics According to FASL Polymorphism of Follicular Lymphoma Patients

	FASL rs763110			P value
	CC, n = 36 (28.6%)	TC, n = 70 (55.6%)	TT, n = 20 (15.9%)	
Groups of age				
<60 years, n (%)	20 (55.6)	43 (61.4)	10 (50.0)	
≥60 years, n (%)	16 (44.4)	27 (38.6)	10 (50.0)	0.622
Male gender, n (%)	19 (52.8)	39 (55.7)	13 (65.0)	0.668
Performance status (ECOG)				
0-1, n (%)	30 (83.3)	62 (88.6)	18 (90.0)	
≥2, n (%)	5 (13.9)	5 (7.1)	2 (10.0)	0.547
Unknown, n (%)	1 (2.8)	3 (4.3)	-	
LDH				
Elevated, n (%)	25 (69.4)	42 (60.0)	12 (60.0)	
Normal, n (%)	9 (25.0)	24 (34.3)	7 (35.0)	
Unknown, n (%)	2 (5.6)	4 (5.7)	1 (5.0)	0.580
β2-microglobulina				
Elevated, n (%)	26 (72.2)	47 (67.1)	15 (75.0)	
Normal, n (%)	5 (13.9)	15 (21.4)	3 (15.0)	
Unknown, n (%)	5 (13.9)	8 (11.4)	2 (10.0)	0.597
Haemoglobin <12 mg/dL				
Yes, n (%)	6 (16.7)	20 (28.6)	7 (35.0)	
No, n (%)	29 (80.6)	48 (68.6)	12 (60.0)	
Unknown, n (%)	1 (2.8)	2 (2.9)	1 (5.0)	0.240
Bone marrow involvement				
Yes, n (%)	18 (50.0)	37 (52.9)	8 (40.0)	
No, n (%)	11 (30.6)	30 (42.9)	10 (50.0)	
Unknown, n (%)	7 (19.4)	3 (4.3)	2 (10.0)	0.498
Stage				
I-II, n (%)	6 (16.7)	10 (14.3)	7 (35.0)	
III-IV, n (%)	29 (80.6)	54 (77.1)	13 (65.0)	
Unknown, n (%)	1 (2.8)	6 (8.6)	-	0.148
Histological grade				
1-2, n (%)	28 (77.8)	46 (65.7)	11 (55.0)	
3, n (%)	2 (5.6)	16 (22.9)	6 (30.0)	
Unknown, n (%)	6 (16.7)	8 (11.4)	3 (15.0)	0.041
B symptoms				
Yes, n (%)	5 (13.9)	11 (15.7)	5 (25.0)	
No, n (%)	30 (83.3)	53 (75.7)	15 (75.0)	
Unknown, n (%)	1 (2.8)	6 (8.5)	-	0.599
FLIPI				
Low, n (%)	13 (36.1)	21 (30.0)	7 (35.0)	
Intermediate, n (%)	10 (27.8)	22 (31.4)	4 (20.0)	
High, n (%)	10 (27.8)	21 (30.0)	8 (40.0)	
Unknown, n (%)	3 (8.3)	6 (8.6)	1 (5.0)	0.799
Radiotherapy before of chemotherapy				
Yes, n (%)	2 (5.6)	8 (11.4)	4 (20.0)	
No, n (%)	34 (94.4)	62 (88.6)	16 (80.0)	0.255
Number of rituximab doses				
≤ 6, n (%)	24 (66.7)	53 (75.7)	12 (60.0)	
> 6, n (%)	12 (33.3)	17 (24.3)	8 (40.0)	0.327
Chemotherapy schemes				
Scheme 1, n (%)	27 (75.0)	54 (77.1)	14 (70.0)	
Scheme 2, n (%)	6 (16.7)	10 (14.3)	5 (25.0)	
Scheme 3, n (%)	3 (8.3)	6 (8.6)	1 (5.0)	0.838
Rituximab response				
CR	31 (34.1)	46 (50.5)	14 (15.4)	
PR/NR	5 (14.3)	24 (68.6)	6 (17.1)	0.028 ^a

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; FLIPI: Follicular Lymphoma International Prognostic Index; LDH: lactate dehydrogenase; LDH elevated: >246 U/L; β2-microglobulin elevated: >1.8 μg/mL; Scheme 1 includes R-CHOP-type; Scheme 2 includes R-CHOP + R-type; scheme 3 includes another group of schemes (R-FMCR/R-FDM/R-FC, rituximab-bendamustine, rituximab-clorambucil and rituximab in monotherapy); CR: Complete responders; PR/NR: Partial/Non-responders.

^a Analysis following the dominant model.

⁵Statistical Consulting Unit, Cardiology Department, Santa Lucía University Hospital, Cartagena, Spain

⁶Clinical Analysis Department, Santa Lucía University Hospital, Universidad Católica de Murcia (UCAM), Cartagena, Spain

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

Conflict of interest: Nothing to report.

*Correspondence to: Andrés Jerez, Hematology and Medical Oncology Department, University Hospital Morales Meseguer, Murcia, Spain.
E-mail: anjecayu@gmail.com or Pablo Conesa-Zamora, C/Mezquita sn. 30202 Cartagena, Spain. E-mail: pablo.conesa@carm.es

Received for publication: 25 February 2016; Revised: 1 March 2016; Accepted: 3 March 2016

Published online: 7 March 2016 in Wiley Online Library
(wileyonlinelibrary.com)
DOI: 10.1002/ajh.24354

References

- Salles G. Clinical features, prognosis and treatment of follicular lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007;2007:216-225.
- Rezvani AR, Maloney DG. Rituximab resistance. *Best Pract Res Clin Haematol* 2011;24:203-216.

CORRESPONDENCE

3. Hlavaty T, Pierik M, Henckaerts L, et al. Polymorphisms in apoptosis genes predict response to infliximab therapy in luminal and fistulizing Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:613–626.
4. Vega MI, Huerta-Yepez S, Jazirehi AR, et al. Rituximab (chimeric anti-CD20) sensitizes B-NHL cell lines to Fas-induced apoptosis. *Oncogene* 2005;24:8114–8127.
5. Villa-Morales M, Gonzalez-Guaged F, Shahbazi MN, et al. Modulation of the FAS-apoptosis-signaling pathway by functional polymorphisms at Fas, FasL and Fadd and their implication in T-cell lymphoblastic lymphoma susceptibility. *Carcinogenesis* 2010;31:2165–2171.
6. Heredia-Galvez B, Ruiz-Cosano J, Torres-Moreno D, et al. Association of polymorphisms in TRAIL1 and TRAILR1 genes with susceptibility to lymphomas. *Ann Hematol* 2014;93: 243–247.

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA

1. Marcus R, Sweetenham JW, Williams ME, editors. *Lymphoma: pathology, diagnosis, and treatment*. Cambridge, New York: Cambridge University Press; 2007. p. 3-67.
2. Coupland SE. The challenge of the microenvironment in B-cell lymphomas. *Histopathology*. 2011;58(1):69–80.
3. Harris NL, Stein H, Coupland SE, Hummel M, Favera RD, Pasqualucci L, et al. New approaches to lymphoma diagnosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2001;194–220.
4. Dawson PJ. The original illustrations of Hodgkin's disease. *Ann Diagn Pathol*. 1999;3(6):386–93.
5. Zelenetz AD, Abramson JS, Advani RH, Andreadis CB, Byrd JC, Czuczman MS, et al. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: non-Hodgkin's lymphomas. *J Natl Compr Canc Netw*. 2010;8(3):288–334.
6. Shankland KR, Armitage JO, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet*. 2012;380(9844):848–57.
7. Evans LS, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet*. 2003;362(9378):139–46.
8. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al, editors. *WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th Edition. Lyon, France: IARC Press; 2008. p. 179-268.
9. Yang Z-Z, Ansell SM. The tumor microenvironment in follicular lymphoma. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2012;10(12):810–8.
10. Structure of a lymph node; 2011 [cited 2017 May 10]. Available from: http://higheredbcs.wiley.com/legacy/college/tortora/0470565101/hearthis_ill/pap13e_ch22_illustr_audio_mp3_am/simulations/hear/lymph.html
11. Boffetta P. I. Epidemiology of adult non-Hodgkin lymphoma. *Annals of Oncology*. 2011;22(suppl_4):iv27-iv31.

12. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-386.
13. Chirlaque MD, Tortosa J, Valera I, López-Rojo C, Párraga E, Salmerón D, et al. Casos y Tasas de Incidencia de Cáncer en la Región de Murcia 1983-2003 [Internet]. Murcia: Consejería de Sanidad y Consumo; Dirección General de Salud Pública; 2009 [cited 2017 May 10]. Available from: https://www.murciasalud.es/recursos/ficheros/163618- incidencias_cancer.pdf.
14. Armitage JO, Bierman PJ, Bociek RG, Vose JM. Lymphoma 2006: classification and treatment. *Oncology (Williston Park, NY)*. 2006;20(3):231-239, 244, 249.
15. Bosetti C, Levi F, Ferlay J, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Incidence and mortality from non-Hodgkin lymphoma in Europe: the end of an epidemic? *Int J Cancer*. 2008;123(8):1917-23.
16. Ghilmini M, Vitolo U, Kimby E, Montoto S, Walewski J, Pfreundschuh M, et al. ESMO Guidelines consensus conference on malignant lymphoma 2011 part 1: diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), follicular lymphoma (FL) and chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Ann Oncol*. 2013;24(3):561-76.
17. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol*. 1998;16(8):2780-95.
18. Junlén HR, Peterson S, Kimby E, Lockmer S, Lindén O, Nilsson-Ehle H, et al. Follicular lymphoma in Sweden: nationwide improved survival in the rituximab era, particularly in elderly women: a Swedish Lymphoma Registry study. *Leukemia*. 2015;29(3):668-76.
19. Freedman AS, Friedberg JW, Aster JC. Clinical presentation and diagnosis of non-Hodgkin lymphoma. En Coonor RF, editor. *Uptodate*. Waltham: UpToDate; 2016.
20. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. 2006;107(1):265-76.
21. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results

- of the HAEMACARE project. *Blood*. 2010;116(19):3724–34.
22. Provencio M, Sabín P, Gómez Codina J, Rueda A, Llanos M, Gumá J, et al. Are there any significant variations in the clinical or histological presentation of lymphoid pathologies over the course of time in Spain? *Clin Transl Oncol*. 2012;14(5):386–90.
 23. Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(10):757–68.
 24. Peveling-Oberhag J, Arcaini L, Hansmann M-L, Zeuzem S. Hepatitis C-associated B-cell non-Hodgkin lymphomas. Epidemiology, molecular signature and clinical management. *J Hepatol*. 2013;59(1):169–77.
 25. Zhang Y, Dai Y, Zheng T, Ma S. Risk Factors of Non-Hodgkin Lymphoma. *Expert Opin Med Diagn*. 2011;5(6):539–50.
 26. Arranz Muñoz R, Canales Albendea MA. Linfomas No Hodgkin. En: Moraleda Jiménez JM, editor. *Pregrado de hematología*. 4º ed. Madrid: Luzan 5; 2017. p. 383–415.
 27. Ekström Smedby K, Vajdic CM, Falster M, Engels EA, Martínez-Maza O, Turner J, et al. Autoimmune disorders and risk of non-Hodgkin lymphoma subtypes: a pooled analysis within the InterLymph Consortium. *Blood*. 2008;111(8):4029–38.
 28. Diver WR, Patel AV, Thun MJ, Teras LR, Gapstur SM. The association between cigarette smoking and non-Hodgkin lymphoid neoplasms in a large US cohort study. *Cancer Causes Control*. 2012;23(8):1231–40.
 29. Morton LM, Hartge P, Holford TR, Holly EA, Chiu BCH, Vineis P, et al. Cigarette smoking and risk of non-Hodgkin lymphoma: a pooled analysis from the International Lymphoma Epidemiology Consortium (interlymph). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(4):925–33.
 30. Linet MS, Vajdic CM, Morton LM, de Roos AJ, Skibola CF, Boffetta P, et al. Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for follicular lymphoma: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monographs*. 2014;2014(48):26–40.
 31. Lu Y, Wang SS, Reynolds P, Chang ET, Ma H, Sullivan-Halley J, et al. Cigarette smoking, passive smoking, and non-Hodgkin lymphoma risk: evidence from the California Teachers Study. *Am J Epidemiol*. 2011;174(5):563–73.

32. De Sanjosé S, Benavente Y, Nieters A, Foretova L, Maynadié M, Cocco PL, et al. Association between personal use of hair dyes and lymphoid neoplasms in Europe. *Am J Epidemiol.* 2006;164(1):47–55.
33. Zhang Y, Sanjose SD, Bracci PM, Morton LM, Wang R, Brennan P, et al. Personal use of hair dye and the risk of certain subtypes of non-Hodgkin lymphoma. *Am J Epidemiol.* 2008;167(11):1321–31.
34. Cocco P, t'Mannetje A, Fadda D, Melis M, Becker N, de Sanjosé S, et al. Occupational exposure to solvents and risk of lymphoma subtypes: results from the Epilymph case-control study. *Occup Environ Med.* 2010;67(5):341–7.
35. Jiao J, Zheng T, Lan Q, Chen Y, Deng Q, Bi X, et al. Occupational solvent exposure, genetic variation of DNA repair genes, and the risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Cancer Prev.* 2012;21(6):580–4.
36. Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2005;5(4):251–62.
37. Relander T, Johnson NA, Farinha P, Connors JM, Sehn LH, Gascoyne RD. Prognostic factors in follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* 2010;28(17):2902–13.
38. Ott G, Rosenwald A. Molecular pathogenesis of follicular lymphoma. *Haematologica.* 2008;93(12):1773–6.
39. Matasar MJ, Zelenetz AD. Overview of lymphoma diagnosis and management. *Radiol Clin North Am.* 2008;46(2):175–198, vii.
40. Winter JN, Gascoyne RD, Van Besien K. Low-grade lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2004;203–20.
41. De Angelis F, Foà R. Follicular lymphoma. *Exp Oncol.* 2012;34(4):380–3.
42. Cheson BD, Leonard JP. Monoclonal antibody therapy for B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2008;359(6):613–26.
43. Johnson NA, Al-Tourah A, Brown CJ, Connors JM, Gascoyne RD, Horsman DE. Prognostic significance of secondary cytogenetic alterations in follicular lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer.* 2008;47(12):1038–48.
44. Horsman DE, Gascoyne RD, Coupland RW, Coldman AJ, Adomat SA. 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(4):472–8.
45. Weiss LM, Warnke RA, Sklar J, Cleary ML. Molecular analysis of the t(14;18) chromosomal translocation in malignant lymphomas. *N Engl J Med*. 1987;317(19):1185–9.
 46. Sehn LH. Optimal use of prognostic factors in non-Hodgkin lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006;295–302.
 47. De Jong D, Fest T. The microenvironment in follicular lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2011;24(2):135–46.
 48. Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Pathogenesis of follicular lymphoma. *J Clin Invest*. 2012;122(10):3424–31.
 49. Rappaport H. Tumors of the hematopoietic system. *Atlas of tumor pathology. Annals of Internal Medicine [Internet]*. 1967 [cited 2017 May 10];67(3_Part_1):686–7. Available from: http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-67-3-686_2.
 50. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Isaacson PG. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood*. 2008;112(12):4384–99.
 51. Lennert K, Stein H, Kaiserling E. Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphomata. *Br J Cancer Suppl*. 1975;2:29–43.
 52. Lukes RJ, Collins RD. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer*. 1974;34(4 Suppl):suppl:1488-1503.
 53. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994;84(5):1361–92.
 54. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman J. *Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2001.
 55. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375–90.
 56. Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphomas: implications for clinical practice and translational research. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009;523–31.

57. Găman AM. Follicular non-Hodgkin's lymphoma: correlation between histology, pathophysiology, cytogenetic, prognostic factors, treatment, survival. *Rom J Morphol Embryol.* 2013;54(1):71–6.
58. Ott G, Katzenberger T, Lohr A, Kindelberger S, Rüdiger T, Wilhelm M, et al. Cytomorphologic, immunohistochemical, and cytogenetic profiles of follicular lymphoma: 2 types of follicular lymphoma grade 3. *Blood.* 2002;99(10):3806–12.
59. Bosga-Bouwer AG, van Imhoff GW, Boonstra R, van der Veen A, Haralambieva E, van den Berg A, et al. Follicular lymphoma grade 3B includes 3 cytogenetically defined subgroups with primary t(14;18), 3q27, or other translocations: t(14;18) and 3q27 are mutually exclusive. *Blood.* 2003;101(3):1149–54.
60. Katzenberger T, Ott G, Klein T, Kalla J, Müller-Hermelink HK, Ott MM. Cytogenetic alterations affecting BCL6 are predominantly found in follicular lymphomas grade 3B with a diffuse large B-cell component. *Am J Pathol.* 2004;165(2):481–90.
61. Vitolo U, Ferreri AJM, Montoto S. Follicular lymphomas. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008;66(3):248–61.
62. Hiddemann W, Cheson BD. How we manage follicular lymphoma. *Leukemia.* 2014;28(7):1388–95.
63. Tan D, Horning SJ. Follicular lymphoma: clinical features and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2008;22(5):863–882, viii.
64. Freedman A. Follicular lymphoma: 2011 update on diagnosis and management. *Am J Hematol.* 2011;86(9):768–75.
65. Ansell SM, Armitage J. Non-Hodgkin lymphoma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc.* 2005;80(8):1087–97.
66. Martin AR, Weisenburger DD, Chan WC, Ruby EI, Anderson JR, Vose JM, et al. Prognostic value of cellular proliferation and histologic grade in follicular lymphoma. *Blood.* 1995;85(12):3671–8.
67. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol.* 2014;32(27):3059–68.

68. Connors JM. Non-Hodgkin lymphoma: the clinician's perspective-a view from the receiving end. *Mod Pathol.* 2013;26 Suppl 1:S111-118.
69. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1982;5(6):649-55.
70. Feugier P, Perrot A. Linfomas no Hodgkin: diagnóstico y tratamiento. *EMC Tratado de medicina. Tratado de medicina.* 2012;E-4-0180:1-6.
71. Guidelines for the diagnosis and treatment of follicular lymphoma in China. *Cancer Biol Med.* 2013;10(1):36-42.
72. Salles GA. Clinical features, prognosis and treatment of follicular lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2007;216-25.
73. Dreyling M, Ghielmini M, Marcus R, Salles G, Vitolo U, ESMO Guidelines Working Group. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2011;22 Suppl 6:vi59-63.
74. Hehn ST, Grogan TM, Miller TP. Utility of fine-needle aspiration as a diagnostic technique in lymphoma. *J Clin Oncol.* 2004;22(15):3046-52.
75. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res.* 1971;31(11):1860-1.
76. Rosenberg SA. Validity of the Ann Arbor staging classification for the non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer Treat Rep.* 1977;61(6):1023-7.
77. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos GP, Young RC, et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *J Clin Oncol.* 1989;7(11):1630-6.
78. Armitage JO. Staging non-Hodgkin lymphoma. *CA Cancer J Clin.* 2005;55(6):368-76.
79. Luminari S, Bellei M, Biasoli I, Federico M. Follicular lymphoma - treatment and prognostic factors. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012;34(1):54-9.
80. International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive

- model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1993;329(14):987–94.
81. Prochazka V, Papajik T, Jarosova M, Indrak K. Prognostic factors in follicular lymphoma in the rituximab era: how to identify a high-risk patient? *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2011;155(2):99–108.
 82. Solal-Céligny P, Roy P, Colombat P, White J, Armitage JO, Arranz-Saez R, et al. Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood.* 2004;104(5):1258–65.
 83. Federico M, Bellei M, Marcheselli L, Luminari S, Lopez-Guillermo A, Vitolo U, et al. Follicular lymphoma international prognostic index 2: a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project. *J Clin Oncol.* 2009;27(27):4555–62.
 84. Solal-Céligny P, Cahu X, Cartron G. Follicular lymphoma prognostic factors in the modern era: what is clinically meaningful? *Int J Hematol.* 2010;92(2):246–54.
 85. Dreyling M, Ghilmini M, Marcus R, Salles G, Vitolo U, Ladetto M, et al. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2014;25 Suppl 3:iii76-82.
 86. Kahl BS, Yang DT. Follicular lymphoma: evolving therapeutic strategies. *Blood.* 2016;127(17):2055–63.
 87. Brice P, Bastion Y, Lepage E, Brousse N, Haioun C, Moreau P, et al. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: a randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. *Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. J Clin Oncol.* 1997;15(3):1110–7.
 88. Ardeshtna KM, Smith P, Norton A, Hancock BW, Hoskin PJ, MacLennan KA, et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2003;362(9383):516–22.
 89. Ficha técnica de Doxorubicina Accord (Accord Healthcare SLU), 2013. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: https://www.aemps.gob.es/cima/dohtml/ft/73266/FichaTecnica_73266.html.

90. Ficha técnica de Novantrone (Meda Pharma S.L.), 2011. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: https://www.aemps.gob.es/cima/dohtml/ft/57408/FichaTecnica_57408.html.
91. Ficha técnica de Levact (Astellas Pharma GmbH), 2014. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: https://www.aemps.gob.es/cima/dohtml/ft/72571/FichaTecnica_72571.html.
92. Sociedad Española de Farmacéuticos de Hospitales. Citostáticos. Guía de Utilización. 2005.
93. Ficha técnica de Vincristina Pfizer (Pfizer SL), 2016. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: https://www.aemps.gob.es/cima/dohtml/ft/62378/FichaTecnica_62378.html.
94. Ficha técnica de Fludarabina Teva (Teva Pharma S.L.U.), 2016. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: https://www.aemps.gob.es/cima/dohtml/ft/69052/FichaTecnica_69052.html.
95. Ficha técnica de Zydelig (Sciences International Ltd), 2016. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003843/WC500175377.pdf.
96. Ficha técnica de MabThera (Roche Registration Limited), 2008. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000165/WC500025821.pdf
97. Ficha técnica de Gazyvaro (Roche Registration Limited), 2014. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002799/WC500171594.pdf.
98. Ficha técnica de Zevalin (Spectrum Pharmaceuticals B.V.), 2009. AEMPS - Centro de

- Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) [cited 2017 May 10]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000547/WC500049469.pdf.
99. Constants Cots M, González Medina I, López Sánchez R, Marcos Pascua P, Parody Porras R, Ibera Santasusana JM et al. Pautas de quimioterapia en hemopatías malignas. 6ª edición. Salinas i Argente R, Subirà Caselles M, editor. PETHEMA, FEHH; 2013.
 100. Herdrich K, Weinberger H. Selected Schedules in the Therapy of Malignant Tumors. 16th Edition. Baxter; 2011.
 101. Zelenetz AD, Gordon LI, Wierda WG, Abramson JS, Advani RH, Andreadis CB, et al. B-cell Lymphomas. Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN. 2017;Version 1:1-165.
 102. Mac Manus MP, Hoppe RT. Is radiotherapy curative for stage I and II low-grade follicular lymphoma? Results of a long-term follow-up study of patients treated at Stanford University. J Clin Oncol. 1996;14(4):1282-90.
 103. Wilder RB, Jones D, Tucker SL, Fuller LM, Ha CS, McLaughlin P, et al. Long-term results with radiotherapy for Stage I-II follicular lymphomas. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2001;51(5):1219-27.
 104. Guadagnolo BA, Li S, Neuberg D, Ng A, Hua L, Silver B, et al. Long-term outcome and mortality trends in early-stage, Grade 1-2 follicular lymphoma treated with radiation therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2006;64(3):928-34.
 105. Pugh TJ, Ballonoff A, Newman F, Rabinovitch R. Improved survival in patients with early stage low-grade follicular lymphoma treated with radiation: a Surveillance, Epidemiology, and End Results database analysis. Cancer. 2010;116(16):3843-51.
 106. Lowry L, Smith P, Qian W, Falk S, Benstead K, Illidge T, et al. Reduced dose radiotherapy for local control in non-Hodgkin lymphoma: a randomised phase III trial. Radiother Oncol. 2011;100(1):86-92.
 107. Hoskin PJ, Kirkwood AA, Popova B, Smith P, Robinson M, Gallop-Evans E, et al. 4 Gy versus 24 Gy radiotherapy for patients with indolent lymphoma (FORT): a randomised phase 3 non-inferiority trial. Lancet Oncol. 2014;15(4):457-63.

108. Solal-Céligny P, Bellei M, Marcheselli L, Pesce EA, Pileri S, McLaughlin P, et al. Watchful waiting in low-tumor burden follicular lymphoma in the rituximab era: results of an F2-study database. *J Clin Oncol.* 2012;30(31):3848–53.
109. Friedberg JW, Byrtek M, Link BK, Flowers C, Taylor M, Hainsworth J, et al. Effectiveness of first-line management strategies for stage I follicular lymphoma: analysis of the National LymphoCare Study. *J Clin Oncol.* 2012;30(27):3368–75.
110. Colombat P, Salles G, Brousse N, Eftekhari P, Soubeyran P, Delwail V, et al. Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) as single first-line therapy for patients with follicular lymphoma with a low tumor burden: clinical and molecular evaluation. *Blood.* 2001;97(1):101–6.
111. Dreyling M, Ghilmini M, Rule S, Salles G, Vitolo U, Ladetto M, et al. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2016;27(suppl 5):v83–90.
112. Ardeshtna KM, Qian W, Smith P, Braganca N, Lowry L, Patrick P, et al. Rituximab versus a watch-and-wait approach in patients with advanced-stage, asymptomatic, non-bulky follicular lymphoma: an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(4):424–35.
113. Rueda A, Casanova M, Redondo M, Pérez-Ruiz E, Medina-Pérez A. Has the time to come leave the “watch-and-wait” strategy in newly diagnosed asymptomatic follicular lymphoma patients? *BMC Cancer.* 2012;12:210.
114. Press OW, Palanca-Wessels MC. Selection of first-line therapy for advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* 2013;31(12):1496–8.
115. Haas RLM, Poortmans P, de Jong D, Aleman BMP, Dewit LGH, Verheij M, et al. High response rates and lasting remissions after low-dose involved field radiotherapy in indolent lymphomas. *J Clin Oncol.* 2003;21(13):2474–80.
116. Chan EK, Fung S, Gospodarowicz M, Hodgson D, Wells W, Sun A, et al. Palliation by low-dose local radiation therapy for indolent non-Hodgkin lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;81(5):e781-786.
117. Ghilmini M, Schmitz S-FH, Cogliatti SB, Pichert G, Hummerjohann J, Waltzer U, et al. Prolonged treatment with rituximab in patients with follicular lymphoma significantly increases event-free survival and response duration compared with

- the standard weekly x 4 schedule. *Blood*. 2004;103(12):4416–23.
118. Witzig TE, Vukov AM, Habermann TM, Geyer S, Kurtin PJ, Friedenberg WR, et al. Rituximab therapy for patients with newly diagnosed, advanced-stage, follicular grade I non-Hodgkin's lymphoma: a phase II trial in the North Central Cancer Treatment Group. *J Clin Oncol*. 2005;23(6):1103–8.
 119. Hainsworth JD, Litchy S, Burris HA, Scullin DC, Corso SW, Yardley DA, et al. Rituximab as first-line and maintenance therapy for patients with indolent non-hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 2002;20(20):4261–7.
 120. Martinelli G, Schmitz S-FH, Utiger U, Cerny T, Hess U, Bassi S, et al. Long-term follow-up of patients with follicular lymphoma receiving single-agent rituximab at two different schedules in trial SAKK 35/98. *J Clin Oncol*. 2010;28(29):4480–4.
 121. Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, Schmitz N, Lengfelder E, Schmits R, et al. Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood*. 2005;106(12):3725–32.
 122. Herold M, Haas A, Srock S, Nesper S, Al-Ali KH, Neubauer A, et al. Rituximab added to first-line mitoxantrone, chlorambucil, and prednisolone chemotherapy followed by interferon maintenance prolongs survival in patients with advanced follicular lymphoma: an East German Study Group Hematology and Oncology Study. *J Clin Oncol*. 2007;25(15):1986–92.
 123. Marcus R, Imrie K, Belch A, Cunningham D, Flores E, Catalano J, et al. CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP as first-line treatment for advanced follicular lymphoma. *Blood*. 2005;105(4):1417–23.
 124. Marcus R, Imrie K, Solal-Celigny P, Catalano JV, Dmoszynska A, Raposo JC, et al. Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol*. 2008;26(28):4579–86.
 125. Salles G, Mounier N, de Guibert S, Morschhauser F, Doyen C, Rossi J-F, et al. Rituximab combined with chemotherapy and interferon in follicular lymphoma

- patients: results of the GELA-GOELAMS FL2000 study. *Blood*. 2008;112(13):4824–31.
126. Friedberg JW, Taylor MD, Cerhan JR, Flowers CR, Dillon H, Farber CM, et al. Follicular lymphoma in the United States: first report of the national LymphoCare study. *J Clin Oncol*. 2009;27(8):1202–8.
 127. Nastoupil L, Sinha R, Byrtek M, Taylor M, Cerhan JR, Friedberg J, et al. A Comparison of the Effectiveness of First-Line Chemoimmunotherapy Regimens for Follicular Lymphoma (FL) Used in the United States. *Blood*. 2011;118:Abstract 97.
 128. Federico M, Luminari S, Dondi A, Tucci A, Vitolo U, Rigacci L, et al. R-CVP versus R-CHOP versus R-FM for the initial treatment of patients with advanced-stage follicular lymphoma: results of the FOLL05 trial conducted by the Fondazione Italiana Linfomi. *J Clin Oncol*. 2013;31(12):1506–13.
 129. Czuczman MS, Weaver R, Alkuzweny B, Berlfein J, Grillo-López AJ. Prolonged clinical and molecular remission in patients with low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma treated with rituximab plus CHOP chemotherapy: 9-year follow-up. *J Clin Oncol*. 2004;22(23):4711–6.
 130. Micallef IN, Apostolidis J, Rohatiner AZ, Wiggins C, Crawley CR, Foran JM, et al. Factors which predict unsuccessful mobilisation of peripheral blood progenitor cells following G-CSF alone in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol J*. 2000;1(6):367–73.
 131. Ketterer N, Salles G, Moullet I, Dumontet C, ElJaafari-Corbin A, Tremisi P, et al. Factors associated with successful mobilization of peripheral blood progenitor cells in 200 patients with lymphoid malignancies. *Br J Haematol*. 1998;103(1):235–42.
 132. Kalaycio M, Rybicki L, Pohlman B, Sobecks R, Andresen S, Kuczkowski E, et al. Risk factors before autologous stem-cell transplantation for lymphoma predict for secondary myelodysplasia and acute myelogenous leukemia. *J Clin Oncol*. 2006;24(22):3604–10.
 133. Vitolo U, Ladetto M, Boccomini C, Baldini L, De Angelis F, Tucci A, et al. Rituximab maintenance compared with observation after brief first-line R-FND chemoimmunotherapy with rituximab consolidation in patients age older than 60 years with advanced follicular lymphoma: a phase III randomized study by the

- Fondazione Italiana Linfomi. *J Clin Oncol*. 2013;31(27):3351–9.
134. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, Banat GA, von Grünhagen U, Losem C, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*. 2013;381(9873):1203–10.
 135. Flinn IW, van der Jagt R, Kahl BS, Wood P, Hawkins TE, Macdonald D, et al. Randomized trial of bendamustine-rituximab or R-CHOP/R-CVP in first-line treatment of indolent NHL or MCL: the BRIGHT study. *Blood*. 2014;123(19):2944–52.
 136. Bessell EM, Burton A, Haynes AP, Glaholm J, Child JA, Cullen MH, et al. A randomised multicentre trial of modified CHOP versus MCOP in patients aged 65 years and over with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. 2003;14(2):258–67.
 137. Rivas-Vera S, Baez E, Sobrevilla-Calvo P, Baltazar S, Tripp F, Vela J, et al. Is First Line Single Agent Rituximab the Best Treatment for Indolent Non-Hodgkin's Lymphoma? Update of a Multicentric Study Comparing Rituximab vs CNOP vs Rituximab Plus CNOP. *Blood*. 2005;106 abstract:2431.
 138. Salles G, Seymour JF, Offner F, López-Guillermo A, Belada D, Xerri L, et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet*. 2011;377(9759):42–51.
 139. Seymour JF, Feugier P, Offner F, Lopez-Guillermo A, Belada D, Xerri L, et al. Updated 6 Year Follow-Up Of The PRIMA Study Confirms The Benefit Of 2-Year Rituximab Maintenance In Follicular Lymphoma Patients Responding To Frontline Immunochemotherapy. Salles GA, editor. *Blood* [Internet]. 2013;122(21):509. Available from: <http://www.bloodjournal.org/content/122/21/509.abstract>.
 140. Martinelli G, Hitz F, Mingrone W, Pabst T, Cevreska L, del Giglio A, et al. Rituximab Maintenance Treatment For a Maximum Of 5 Years In Follicular Lymphoma: Results Of The Randomized Phase III Trial SAKK 35/03. Taverna CJ, editor. *Blood* [Internet]. 2013;122(21):508. Available from: <http://www.bloodjournal.org/content/122/21/508.abstract>.

141. Morschhauser F, Radford J, Van Hoof A, Vitolo U, Soubeyran P, Tilly H, et al. Phase III trial of consolidation therapy with yttrium-90-ibritumomab tiuxetan compared with no additional therapy after first remission in advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* 2008;26(32):5156–64.
142. Canales MA, Dlouhy I, Briones J, Caballero D, Sancho JM, Vilchez SM, et al. A Randomized Phase II Study Comparing Consolidation With a Single Dose Of ⁹⁰y Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®) (Z) Vs. Maintenance With Rituximab (R) For Two Years In Patients With Newly Diagnosed Follicular Lymphoma (FL) Responding To R-CHOP. Preliminary Results At 36 Months From Randomization. Lopez-Guillermo A, editor. *Blood* [Internet]. 2013;122(21):369. Available from: <http://www.bloodjournal.org/content/122/21/369.abstract>.
143. Al-Tourah AJ, Gill KK, Chhanabhai M, Hoskins PJ, Klasa RJ, Savage KJ, et al. Population-based analysis of incidence and outcome of transformed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2008;26(32):5165–9.
144. Provencio Pulla M, Alfaro Lizaso J, de la Cruz Merino L, Gumá I Padró J, Quero Blanco C, Gómez Codina J, et al. SEOM clinical guidelines for the treatment of follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Transl Oncol.* 2015;17(12):1014–9.
145. Sehn LH, Chua N, Mayer J, Dueck G, Trněný M, Bouabdallah K, et al. Obinutuzumab plus bendamustine versus bendamustine monotherapy in patients with rituximab-refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (GADOLIN): a randomised, controlled, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(8):1081–93.
146. Vidal L, Gafter-Gvili A, Salles G, Dreyling MH, Ghilmini M, Hsu Schmitz S-F, et al. Rituximab maintenance for the treatment of patients with follicular lymphoma: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(23):1799–806.
147. Montoto S, Corradini P, Dreyling M, Ghilmini M, Kimby E, López-Guillermo A, et al. Indications for hematopoietic stem cell transplantation in patients with follicular lymphoma: a consensus project of the EBMT-Lymphoma Working Party. *Haematologica.* 2013;98(7):1014–21.
148. Sorigue M, Ribera J-M, Motlló C, Sancho J-M. New drugs for follicular lymphoma. *Leuk Res.* 2016;49:38–46.

149. Gopal AK, Kahl BS, de Vos S, Wagner-Johnston ND, Schuster SJ, Jurczak WJ, et al. PI3K δ inhibition by idelalisib in patients with relapsed indolent lymphoma. *N Engl J Med*. 2014;370(11):1008–18.
150. Maloney DG. Anti-CD20 antibody therapy for B-cell lymphomas. *N Engl J Med*. 2012;366(21):2008–16.
151. Fowler N, Davis E. Targeting B-cell receptor signaling: changing the paradigm. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013;2013:553–60.
152. Craig M, Hanna WT, Cabanillas F, Chen C-S, Esseltine D-L, Neuwirth R, et al. Phase II study of bortezomib in combination with rituximab, cyclophosphamide and prednisone with or without doxorubicin followed by rituximab maintenance in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma. *Br J Haematol*. 2014;166(6):920–8.
153. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, et al. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol*. 1999;17(4):1244–53.
154. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007;25(5):579–86.
155. Cheson BD. New response criteria for lymphomas in clinical trials. *Ann Oncol*. 2008;19 Suppl 4:iv35-38.
156. Barrington SF, Mikhael NG, Kostakoglu L, Meignan M, Hutchings M, Müller SP, et al. Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol*. 2014;32(27):3048–58.
157. Johnson SA, Kumar A, Matasar MJ, Schöder H, Rademaker J. Imaging for Staging and Response Assessment in Lymphoma. *Radiology*. 2015;276(2):323–38.
158. Cheson BD. The International Harmonization Project for response criteria in lymphoma clinical trials. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2007;21(5):841–54.
159. Cartron G, Trappe RU, Solal-Céligny P, Hallek M. Interindividual variability of response to rituximab: from biological origins to individualized therapies. *Clin Cancer Res*. 2011;17(1):19–30.

160. Rezvani AR, Maloney DG. Rituximab resistente. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2011;24(2):203–16.
161. Seyfizadeh N, Seyfizadeh N, Hasenkamp J, Huerta-Yepe S. A molecular perspective on rituximab: A monoclonal antibody for B cell non Hodgkin lymphoma and other affections. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;97:275–90.
162. Zhou X, Hu W, Qin X. The role of complement in the mechanism of action of rituximab for B-cell lymphoma: implications for therapy. *Oncologist.* 2008;13(9):954–66.
163. Cragg MS, Morgan SM, Chan HTC, Morgan BP, Filatov AV, Johnson PWM, et al. Complement-mediated lysis by anti-CD20 mAb correlates with segregation into lipid rafts. *Blood.* 2003;101(3):1045–52.
164. Beum PV, Lindorfer MA, Beurskens F, Stukenberg PT, Lokhorst HM, Pawluczko wycz AW, et al. Complement activation on B lymphocytes opsonized with rituximab or ofatumumab produces substantial changes in membrane structure preceding cell lysis. *J Immunol.* 2008;181(1):822–32.
165. Van der Kolk LE, Grillo-López AJ, Baars JW, Hack CE, van Oers MH. Complement activation plays a key role in the side-effects of rituximab treatment. *Br J Haematol.* 2001;115(4):807–11.
166. Flieger D, Renoth S, Beier I, Sauerbruch T, Schmidt-Wolf I. Mechanism of cytotoxicity induced by chimeric mouse human monoclonal antibody IDEC-C2B8 in CD20-expressing lymphoma cell lines. *Cell Immunol.* 2000;204(1):55–63.
167. Renaudineau Y, Devauchelle-Pensec V, Hanrotel C, Pers J-O, Saraux A, Youinou P. Monoclonal anti-CD20 antibodies: mechanisms of action and monitoring of biological effects. *Joint Bone Spine.* 2009;76(5):458–63.
168. Masuda A, Yoshida M, Shiomi H, Morita Y, Kutsumi H, Inokuchi H, et al. Role of Fc Receptors as a therapeutic target. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2009;8(1):80–6.
169. Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV. Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nat Med.* 2000;6(4):443–6.
170. Deans JP, Kalt L, Ledbetter JA, Schieven GL, Bolen JB, Johnson P. Association of 75/80-kDa phosphoproteins and the tyrosine kinases Lyn, Fyn, and Lck with the B cell molecule CD20. Evidence against involvement of the cytoplasmic regions of

- CD20. *J Biol Chem*. 1995;270(38):22632–8.
171. Deans JP, Li H, Polyak MJ. CD20-mediated apoptosis: signalling through lipid rafts. *Immunology*. 2002;107(2):176–82.
172. Bonavida B. What signals are generated by anti-CD20 antibody therapy? *Curr Hematol Malig Rep*. 2006;1(4):205–13.
173. Garbán HJ, Bonavida B. Nitric oxide inhibits the transcription repressor Yin-Yang 1 binding activity at the silencer region of the Fas promoter: a pivotal role for nitric oxide in the up-regulation of Fas gene expression in human tumor cells. *J Immunol*. 2001;167(1):75–81.
174. Huerta-Yepez S, Vega M, Jazirehi A, Garban H, Hongo F, Cheng G, et al. Nitric oxide sensitizes prostate carcinoma cell lines to TRAIL-mediated apoptosis via inactivation of NF-kappa B and inhibition of Bcl-xl expression. *Oncogene*. 2004;23(29):4993–5003.
175. Vega MI, Huerta-Yepez S, Martinez-Paniagua M, Martinez-Miguel B, Hernandez-Pando R, González-Bonilla CR, et al. Rituximab-mediated cell signaling and chemo/immuno-sensitization of drug-resistant B-NHL is independent of its Fc functions. *Clin Cancer Res*. 2009;15(21):6582–94.
176. Zhang F, Yang J, Li H, Liu M, Zhang J, Zhao L, et al. Combating rituximab resistance by inducing ceramide/lysosome-involved cell death through initiation of CD20-TNFR1 co-localization. *Oncoimmunology*. 2016;5(5):e1143995.
177. Thummel KE, Lin YS. Sources of interindividual variability. *Methods Mol Biol*. 2014;1113:363–415.
178. Daudén Tello E. [Pharmacogenetics I. Concept, history, objectives and areas of study]. *Actas Dermosifiliogr*. 2006;97(10):623–9.
179. Belloso WHW, Redal MA. La farmacogenómica y el camino hacia la medicina personalizada. *Medicina (B. Aires)*. 2010;70(3):265–74.
180. Meyer UA. Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet*. 2004;5(9):669–76.
181. Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med*. 2003;348(6):529–37.
182. Torrades S. Farmacogenética: la medicina a la carta. *Offarm* 2002;21(10):126-130.

183. Elston RC, Satagopan JM, Sun S. Genetic terminology. *Methods Mol Biol.* 2012;850:1–9.
184. Herrero Cervera MJ, Poveda Andrés JL, García Salom P, Aliño Pellicer SF. Metodología, retos y puntos débiles en la aplicación de la farmacogenética. *Ergon;* 2011. p. 60.
185. Universidad de Navarra. Curso de genética molecular. Ligamiento no paramétrico y su utilización en genética humana [Internet]. 2012. Available from: <http://www.unav.es/ocw/genetica/tema4-4.html>.
186. Schork NJ, Nath SK, Fallin D, Chakravarti A. Linkage disequilibrium analysis of biallelic DNA markers, human quantitative trait loci, and threshold-defined case and control subjects. *Am J Hum Genet.* 2000;67(5):1208–18.
187. Crawford DC, Nickerson DA. Definition and clinical importance of haplotypes. *Annu Rev Med.* 2005;56:303–20.
188. Cartron G, Dacheux L, Salles G, Solal-Celigny P, Bardos P, Colombat P, et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcγRIIIa gene. *Blood.* 2002;99(3):754–8.
189. Zhang W, Wang X, Li J, Duan M, Zhou D. Fcγ receptor IIIA polymorphisms and efficacy of rituximab therapy on Chinese diffuse large B-cell lymphoma. *Chin Med J.* 2010;123(2):198–202.
190. Veeramani S, Wang S-Y, Dahle C, Blackwell S, Jacobus L, Knutson T, et al. Rituximab infusion induces NK activation in lymphoma patients with the high-affinity CD16 polymorphism. *Blood.* 2011;118(12):3347–9.
191. Prochazka V, Papajik T, Gazdova J, Divoka M, Rozmanova S, Faber E, et al. FcγRIIIA receptor genotype does not influence an outcome in patients with follicular lymphoma treated with risk-adapted immunochemotherapy. *Neoplasma.* 2011;58(3):263–70.
192. Weng W-K, Levy R. Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* 2003;21(21):3940–7.
193. Paiva M, Marques H, Martins A, Ferreira P, Catarino R, Medeiros R. FcγRIIIa polymorphism and clinical response to rituximab in non-Hodgkin lymphoma

- patients. *Cancer Genet Cytogenet.* 2008;183(1):35–40.
194. Weng W-K, Levy R. Genetic polymorphism of the inhibitory IgG Fc receptor FcγRIIb is not associated with clinical outcome in patients with follicular lymphoma treated with rituximab. *Leuk Lymphoma.* 2009;50(5):723–7.
 195. Di Gaetano N, Cittera E, Nota R, Vecchi A, Grieco V, Scanziani E, et al. Complement activation determines the therapeutic activity of rituximab in vivo. *J Immunol.* 2003;171(3):1581–7.
 196. Racila E, Link BK, Weng W-K, Witzig TE, Ansell S, Maurer MJ, et al. A polymorphism in the complement component C1qA correlates with prolonged response following rituximab therapy of follicular lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2008;14(20):6697–703.
 197. Kim DH, Jung HD, Kim JG, Lee J-J, Yang D-H, Park YH, et al. FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2006;108(8):2720–5.
 198. Tageja N, Padheye S, Dandawate P, Al-Katib A, Mohammad RM. New targets for the treatment of follicular lymphoma. *J Hematol Oncol.* 2009;2:50.
 199. Russo M, Mupo A, Spagnuolo C, Russo GL. Exploring death receptor pathways as selective targets in cancer therapy. *Biochem Pharmacol.* 2010;80(5):674–82.
 200. Pazo Cid RA, Álvarez Alejandro M, Cebollero de Miguela A, Agustín MJ, Martínez Lostao L, Anel Bernal A, et al. Apoptosis, cáncer & Co. *Rev Int Grupos Invest Oncol.* 2012;1(1):23–8.
 201. De Jong D. Molecular pathogenesis of follicular lymphoma: a cross talk of genetic and immunologic factors. *J Clin Oncol.* 2005;23(26):6358–63.
 202. Lobito AA, Gabriel TL, Medema JP, Kimberley FC. Disease causing mutations in the TNF and TNFR superfamilies: Focus on molecular mechanisms driving disease. *Trends Mol Med.* 2011;17(9):494–505.
 203. Robert J. *Textbook of Cell Signalling in Cancer. An Educational Approach. Apoptosis Induction and Regulation.* Springer International Publishing Switzerland 2015; 221-240.
 204. Bouralexis S, Findlay DM, Evdokiou A. Death to the bad guys: targeting cancer via

- Apo2L/TRAIL. *Apoptosis*. 2005;10(1):35–51.
205. Fernández V, Jares P, Beà S, Salaverria I, Guino E, Sanjosé S et al. Frequent polymorphic changes but not mutations of TRAIL receptors DR4 and DR5 in mantle cell lymphoma and other B-cell lymphoid neoplasms. *Haematologica*. 2004;89(11):1322-1331.
 206. Vega MI, Baritaki S, Huerta-Yepez S, Martinez-Paniagua MA, Bonavida B. A potential mechanism of rituximab-induced inhibition of tumor growth through its sensitization to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-expressing host cytotoxic cells. *Leuk Lymphoma*. 2011;52(1):108–21.
 207. Daniel D, Yang B, Lawrence DA, Totpal K, Balter I, Lee WP, et al. Cooperation of the proapoptotic receptor agonist rhApo2L/TRAIL with the CD20 antibody rituximab against non-Hodgkin lymphoma xenografts. *Blood*. 2007;110(12):4037–46.
 208. Vega MI, Huerta-Yepez S, Jazirehi AR, Garban H, Bonavida B. Rituximab (chimeric anti-CD20) sensitizes B-NHL cell lines to Fas-induced apoptosis. *Oncogene*. 2005;24(55):8114–27.
 209. Vega MI, Jazirehi AR, Huerta-Yepez S, Bonavida B. Rituximab-induced inhibition of YY1 and Bcl-xL expression in Ramos non-Hodgkin's lymphoma cell line via inhibition of NF-kappa B activity: role of YY1 and Bcl-xL in Fas resistance and chemoresistance, respectively. *J Immunol*. 2005;175(4):2174–83.
 210. Ware CF. The TNF Superfamily-2008. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2008;19(3–4):183–6.
 211. Hlavaty T, Pierik M, Henckaerts L, Ferrante M, Joossens S, van Schuerbeek N, et al. Polymorphisms in apoptosis genes predict response to infliximab therapy in luminal and fistulizing Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;22(7):613–26.
 212. Morales-Lara MJ, Cañete JD, Torres-Moreno D, Hernández MV, Pedrero F, Celis R, et al. Effects of polymorphisms in TRAILR1 and TNFR1A on the response to anti-TNF therapies in patients with rheumatoid and psoriatic arthritis. *Joint Bone Spine*. 2012;79(6):591–6.
 213. Morales-Lara MJ, Conesa-Zamora P, Santaclara V, Torres-Moreno D, Pedrero F, Corral J, et al. Role of TRAILR1 and TNFR1A polymorphisms in the susceptibility

- and pharmacogenetics of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis patients treated with infliximab. *J Transl Med.* 2010;8(Suppl 1):P50.
214. Chen B, Liu S, Wang X-L, Xu W, Li Y, Zhao W-H, et al. TRAIL-R1 polymorphisms and cancer susceptibility: an evidence-based meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2009;45(14):2598–605.
215. Heredia-Galvez B, Ruiz-Cosano J, Torres-Moreno D, Español I, Morales-Lara MJ, Pérez-Ceballos E, et al. Association of polymorphisms in TRAIL1 and TRAILR1 genes with susceptibility to lymphomas. *Ann Hematol.* 2014;93(2):243–7.
216. Qureshi A, Nan H, Dyer M, Han J. Polymorphisms of FAS and FAS ligand genes and risk of skin cancer. *J Dermatol Sci.* 2010;58(1):78–80.
217. Sun T, Zhou Y, Li H, Han X, Shi Y, Wang L, et al. FASL -844C polymorphism is associated with increased activation-induced T cell death and risk of cervical cancer. *J Exp Med.* 2005;202(7):967–74.
218. Zhang Z, Qiu L, Wang M, Tong N, Li J, Zhang Z. The FAS ligand promoter polymorphism, rs763110 (-844C>T), contributes to cancer susceptibility: evidence from 19 case-control studies. *Eur J Hum Genet.* 2009;17(10):1294–303.
219. Yang M, Sun T, Wang L, Yu D, Zhang X, Miao X, et al. Functional variants in cell death pathway genes and risk of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14(10):3230–6.
220. Farre L, Bittencourt AL, Silva-Santos G, Almeida A, Silva AC, Decanine D, et al. Fas 670 promoter polymorphism is associated to susceptibility, clinical presentation, and survival in adult T cell leukemia. *J Leukoc Biol.* 2008;83(1):220–2.
221. Xu Y, He B, Li R, Pan Y, Gao T, Deng Q, et al. Association of the polymorphisms in the Fas/FasL promoter regions with cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis of 52 studies. *PLoS ONE.* 2014;9(3):e90090.
222. Lima L, Oliveira D, Ferreira JA, Tavares A, Cruz R, Medeiros R, et al. The role of functional polymorphisms in immune response genes as biomarkers of bacille Calmette-Guérin (BCG) immunotherapy outcome in bladder cancer: establishment of a predictive profile in a Southern Europe population. *BJU Int.* 2015;116(5):753–63.
223. Conesa-Zamora P, Ruiz-Cosano J, Torres-Moreno D, Español I, Gutiérrez-Meca MD, Trujillo-Santos J, et al. Polymorphisms in xenobiotic metabolizing genes

- (EPHX1, NQO1 and PON1) in lymphoma susceptibility: a case control study. *BMC Cancer*. 2013;13:228.
224. Manual del kit QIAamp® DSP DNA Blood Mini. QIAGEN. 2012.
225. Adler MJ, Dimitrov DS. Therapeutic antibodies against cancer. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2012;26(3):447–481, vii.
226. Swenson WT, Wooldridge JE, Lynch CF, Forman-Hoffman VL, Chrischilles E, Link BK. Improved survival of follicular lymphoma patients in the United States. *J Clin Oncol*. 2005;23(22):5019–26.
227. Bachy E, Brice P, Delarue R, Brousse N, Haioun C, Le Gouill S, et al. Long-term follow-up of patients with newly diagnosed follicular lymphoma in the prirituximab era: effect of response quality on survival--A study from the groupe d'étude des lymphomes de l'adulte. *J Clin Oncol*. 2010;28(5):822–9.
228. Mini E, Nobili S. Pharmacogenetics: implementing personalized medicine. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2009;6(1):17–24.
229. Hernandez-Ilizaliturri FJ, Jupudy V, Ostberg J, Oflazoglu E, Huberman A, Repasky E, et al. Neutrophils contribute to the biological antitumor activity of rituximab in a non-Hodgkin's lymphoma severe combined immunodeficiency mouse model. *Clin Cancer Res*. 2003;9(16 Pt 1):5866–73.
230. Villa-Morales M, González-Gugel E, Shahbazi MN, Santos J, Fernández-Piqueras J. Modulation of the Fas-apoptosis-signalling pathway by functional polymorphisms at Fas, FasL and Fadd and their implication in T-cell lymphoblastic lymphoma susceptibility. *Carcinogenesis*. 2010;31(12):2165–71.
231. Cerhan JR, Liu-Mares W, Fredericksen ZS, Novak AJ, Cunningham JM, Kay NE, et al. Genetic variation in tumor necrosis factor and the nuclear factor-kappaB canonical pathway and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(11):3161–9.
232. Skibola CF, Nieters A, Bracci PM, Curry JD, Agana L, Skibola DR, et al. A functional TNFRSF5 gene variant is associated with risk of lymphoma. *Blood*. 2008;111(8):4348–54.
233. Arancia G, Malorni W, Donelli G. Cellular mechanisms of lymphocyte-mediated lysis of tumor cells. *Ann Ist Super Sanita*. 1990;26(3–4):369–84.

234. Goust JM. Cell-mediated immunity. *Immunol Ser.* 1990;50:195–215.
235. Shresta S, Pham CT, Thomas DA, Graubert TA, Ley TJ. How do cytotoxic lymphocytes kill their targets? *Curr Opin Immunol.* 1998;10(5):581–7.
236. Wilson NS, Dixit V, Ashkenazi A. Death receptor signal transducers: nodes of coordination in immune signaling networks. *Nat Immunol.* 2009;10(4):348–55.
237. Eischen CM, Schilling JD, Lynch DH, Krammer PH, Leibson PJ. Fc receptor-induced expression of Fas ligand on activated NK cells facilitates cell-mediated cytotoxicity and subsequent autocrine NK cell apoptosis. *J Immunol.* 1996;156(8):2693–9.
238. Maloney DG, Smith B, Rose A. Rituximab: Mechanism of action and resistance. *Semin Oncol.* 2002;29(1S2):2–9.
239. Jin X, Ding H, Ding N, Fu Z, Song Y, Zhu J. Homozygous A polymorphism of the complement C1qA276 correlates with prolonged overall survival in patients with diffuse large B cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Hematol Oncol.* 2012;5:51.
240. Kishore U, Gaboriaud C, Waters P, Shrive AK, Greenhough TJ, Reid KBM, et al. C1q and tumor necrosis factor superfamily: modularity and versatility. *Trends Immunol.* 2004;25(10):551–61.
241. Bonavida B. Rituximab-induced inhibition of antiapoptotic cell survival pathways: implications in chemo/immuno-resistance, rituximab unresponsiveness, prognostic and novel therapeutic interventions. *Oncogene.* 2007;26(25):3629–36.
242. Bukhari M, Abernethy R, Deighton C, Ding T, Hyrich K, Lunt M, et al. BSR and BHRP guidelines on the use of rituximab in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(12):2311–3.
243. Osman NF, Holyoake TL, Zeineldin A, Elkordy AA, McQuaker IG. Polymorphisms Independently Predict Outcome in Patients with B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *IJCP.* 2009;2(1):19–27.
244. Park H, Park SG, Kim J, Ko Y-G, Kim S. Signaling pathways for TNF production induced by human aminoacyl-tRNA synthetase-associated factor, p43. *Cytokine.* 2002;20(4):148–53.
245. Mahmood Z, Shukla Y. Death receptors: targets for cancer therapy. *Exp Cell Res.*

- 2010;316(6):887–99.
246. Maddipatla S, Hernandez-Ilizaliturri FJ, Knight J, Czuczman MS. Augmented antitumor activity against B-cell lymphoma by a combination of monoclonal antibodies targeting TRAIL-R1 and CD20. *Clin Cancer Res.* 2007;13(15 Pt 1):4556–64.
 247. Stolz C, Schuler M. Molecular mechanisms of resistance to Rituximab and pharmacologic strategies for its circumvention. *Leuk Lymphoma.* 2009;50(6):873–85.
 248. Stel AJ, Ten Cate B, Jacobs S, Kok JW, Spierings DCJ, Dondorff M, et al. Fas receptor clustering and involvement of the death receptor pathway in rituximab-mediated apoptosis with concomitant sensitization of lymphoma B cells to fas-induced apoptosis. *J Immunol.* 2007;178(4):2287–95.
 249. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* 2005;19(4):333–41.
 250. Fitzgibbon J, Grenzeliás D, Matthews J, Lister TA, Gupta RK. Tumour necrosis factor polymorphisms and susceptibility to follicular lymphoma. *Br J Haematol.* 1999;107(2):388–91.
 251. Spink CF, Keen LJ, Mensah FK, Law GR, Bidwell JL, Morgan GJ. Association between non-Hodgkin lymphoma and haplotypes in the TNF region. *Br J Haematol.* 2006;133(3):293–300.
 252. Nielsen KR, Steffensen R, Bendtsen MD, Rodrigo-Domingo M, Baech J, Haunstrup TM, et al. Inherited Inflammatory Response Genes Are Associated with B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Risk and Survival. *PLoS ONE.* 2015;10(10):e0139329.
 253. Smith SM. Dissecting follicular lymphoma: high versus low risk. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2013;2013:561–7.
 254. Legouffe E, Rodriguez C, Picot MC, Richard B, Klein B, Rossi JF, et al. C-reactive protein serum level is a valuable and simple prognostic marker in non Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 1998;31(3–4):351–7.
 255. Seymour JF, Talpaz M, Cabanillas F, Wetzler M, Kurzrock R. Serum interleukin-6 levels correlate with prognosis in diffuse large-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 1995;13(3):575–82.

256. Preti HA, Cabanillas F, Talpaz M, Tucker SL, Seymour JF, Kurzrock R. Prognostic value of serum interleukin-6 in diffuse large-cell lymphoma. *Ann Intern Med.* 1997;127(3):186–94.
257. Niitsu N, Okamoto M, Nakamine H, Yoshino T, Tamaru J, Nakamura S, et al. Simultaneous elevation of the serum concentrations of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 as independent predictors of prognosis in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol.* 2002;68(2):91–100.
258. Pedersen LM, Klausen TW, Davidsen UH, Johnsen HE. Early changes in serum IL-6 and VEGF levels predict clinical outcome following first-line therapy in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol.* 2005;84(8):510–6.
259. Luminari S, Cox MC, Montanini A, Federico M. Prognostic tools in follicular lymphomas. *Expert Rev Hematol.* 2009;2(5):549–62.
260. Rambaldi A, Lazzari M, Manzoni C, Carlotti E, Arcaini L, Baccarani M, et al. Monitoring of minimal residual disease after CHOP and rituximab in previously untreated patients with follicular lymphoma. *Blood.* 2002;99(3):856–62.
261. Müller C, Murawski N, Wiesen MHJ, Held G, Poeschel V, Zeynalova S, et al. The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL. *Blood.* 2012;119(14):3276–84.
262. Jäger U, Fridrik M, Zeitlinger M, Heintel D, Hopfinger G, Burgstaller S, et al. Rituximab serum concentrations during immuno-chemotherapy of follicular lymphoma correlate with patient gender, bone marrow infiltration and clinical response. *Haematologica.* 2012;97(9):1431–8.
263. Ngo L, Hee S-W, Lim L-C, Tao M, Quek R, Yap S-P, et al. Prognostic factors in patients with diffuse large B cell lymphoma: Before and after the introduction of rituximab. *Leuk Lymphoma.* 2008;49(3):462–9.
264. Carella AM, de Souza CA, Luminari S, Marcheselli L, Chiappella A, di Rocco A, et al. Prognostic role of gender in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab containing regimens: a Fondazione Italiana Linfomi/Grupo de Estudos em Moléstias Onco-Hematológicas retrospective study. *Leuk Lymphoma.* 2013;54(1):53–7.
265. Pfreundschuh M, Müller C, Zeynalova S, Kuhnt E, Wiesen MHJ, Held G, et al.

- Suboptimal dosing of rituximab in male and female patients with DLBCL. *Blood*. 2014;123(5):640–6.
266. Habermann TM. Is rituximab one for all ages and each sex? *Blood*. 2014;123(5):602–3.
267. Press OW, Unger JM, Rimsza LM, Friedberg JW, LeBlanc M, Czuczman MS, et al. Phase III randomized intergroup trial of CHOP plus rituximab compared with CHOP chemotherapy plus (131)iodine-tositumomab for previously untreated follicular non-Hodgkin lymphoma: SWOG S0016. *J Clin Oncol*. 2013;31(3):314–20.
268. Casulo C, Byrtek M, Dawson KL, Zhou X, Farber CM, Flowers CR, et al. Early Relapse of Follicular Lymphoma After Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone Defines Patients at High Risk for Death: An Analysis From the National LymphoCare Study. *J Clin Oncol*. 2015;33(23):2516–22.
269. Mozessohn L, Cheung MC, Crump M, Buckstein R, Berinstein N, Imrie K, et al. Chemoimmunotherapy resistant follicular lymphoma: predictors of resistance, association with transformation and prognosis. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(11):2502–7.
270. Forstpointner R, Unterhalt M, Dreyling M, Böck H-P, Repp R, Wandt H, et al. Maintenance therapy with rituximab leads to a significant prolongation of response duration after salvage therapy with a combination of rituximab, fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone (R-FCM) in patients with recurring and refractory follicular and mantle cell lymphomas: Results of a prospective randomized study of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG). *Blood*. 2006;108(13):4003–8.
271. Hochster H, Weller E, Gascoyne RD, Habermann TM, Gordon LI, Ryan T, et al. Maintenance rituximab after cyclophosphamide, vincristine, and prednisone prolongs progression-free survival in advanced indolent lymphoma: results of the randomized phase III ECOG1496 Study. *J Clin Oncol*. 2009;27(10):1607–14.
272. Van Oers MHJ, Klasa R, Marcus RE, Wolf M, Kimby E, Gascoyne RD, et al. Rituximab maintenance improves clinical outcome of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin lymphoma in patients both with and without rituximab during induction: results of a prospective randomized phase 3 intergroup trial. *Blood*.

- 2006;108(10):3295–301.
273. Taverna C, Martinelli G, Hitz F, Mingrone W, Pabst T, Cevreska L, et al. Rituximab Maintenance for a Maximum of 5 Years After Single-Agent Rituximab Induction in Follicular Lymphoma: Results of the Randomized Controlled Phase III Trial SAKK 35/03. *J Clin Oncol*. 2016;34(5):495–500.
274. Álvarez Páez AM, Nogueiras Alonso JM, Serena Puig A. 18F-FDG-PET/TC en linfoma: dos décadas de experiencia. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol*. 2012;31(6):340–9.
275. Smith MR. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. *Oncogene*. 2003;22(47):7359–68.
276. Han HS, Escalón MP, Hsiao B, Serafini A, Lossos IS. High incidence of false-positive PET scans in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma treated with rituximab-containing regimens. *Ann Oncol*. 2009;20(2):309–18.

X - ANEXOS

X - ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL DONANTE (v.3)

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

En el *Hospital General Universitario Santa Lucía*, igual que en la mayoría de hospitales, además de la asistencia a los pacientes, se realiza investigación biomédica. La finalidad de esta investigación es progresar en el conocimiento de las enfermedades y en su prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Esta investigación biomédica requiere recoger datos clínicos y muestras biológicas de pacientes y donantes sanos para analizarlos y obtener conclusiones con el objetivo de conocer mejor las enfermedades y avanzar su diagnóstico y/o tratamiento.

Las muestras y datos clínicos obtenidos para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios.

Solicitamos su autorización para incorporar al *Biobanc-Mur Nodo Área II* del hospital el material biológico sobrante de las pruebas que, como parte del actual proceso asistencial, se le han realizado o se le van a realizar en este centro, con el fin de que puedan ser utilizadas en investigación biomédica.

Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, y sus normas de desarrollo, le solicitamos que lea detenidamente este documento de información y el consentimiento informado que se le adjunta al final para su firma, si está de acuerdo en participar en esta propuesta

¿Qué es un biobanco?: Institución para favorecer la investigación y la salud.

Un biobanco es una institución, regulada por leyes específicas, que facilita la investigación biomédica, es decir, aquella dirigida a promover la salud de las personas.

Las muestras incluidas en un biobanco pueden ser cedidas para investigación en Medicina, siempre bajo la supervisión de un comité científico y otro de ética. Las muestras se cederán generalmente sin información personal asociada, aunque a veces podrá ser necesario el acceso a la historia clínica o al resultado de otras pruebas para completar la investigación.

La investigación biomédica es, hoy en día, un fenómeno global por lo que ocasionalmente estas muestras podrán ser cedidas a grupos de investigación fuera de España, siempre que se cumplan los requisitos de la legislación española y lo aprueben los correspondientes comités.

Muestras biológicas e información asociada: En ningún caso se le practicarán más pruebas de las imprescindibles para su adecuada atención médica.

Se guardará y dispondrá del material biológico sobrante que se le extraiga durante el proceso asistencial (muestras de sangre, líquidos biológicos y/o tejidos), sin que este hecho le cause molestias adicionales. La donación de muestras excedentes de este proceso asistencial no impedirá que usted o su familia puedan usarlas, cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles. Las muestras y la información asociada a las mismas se custodiarán y/o guardarán en el Biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área II* del *Hospital General Universitario Santa Lucía* hasta su extinción. Este Biobanco forma parte como nodo de la Red Temática de Investigación Cooperativa (RETIC) de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III con la referencia **RD09/0076/00065**, y está en proceso de Registro con el desarrollo de la normativa regional de Biobancos que aplica la normativa nacional.

Este biobanco acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación anteriormente referida y los códigos de conducta aprobados



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
Red Nacional de Biobancos - ISCIII



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



por los Comités de Ética. Dichas muestras y su información asociada quedan disponibles para aquellos investigadores que lo soliciten al biobanco.

Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estos datos o muestras deberá disponer siempre de la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) competente, que velará para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales. Además, el comité científico del biobanco garantizará que los proyectos sean de excelencia científica.

A partir de las muestras donadas, en los casos en que la investigación lo requiera, se realizarán estudios genéticos, y a partir de ellos se puede obtener información acerca de su salud y la de sus familiares. Siempre se actuará velando por la protección de esta información (ver apartado de protección de datos y confidencialidad).

Por este consentimiento, los responsables del Biobanco del Hospital podrán consultar su historial clínico, solamente en el caso de que ello sea imprescindible para la realización del proyecto para el que se soliciten las muestras y previa autorización por parte del Comité de Ética correspondiente.

En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, la institución sanitaria se podría poner en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración. En este caso se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento.

Protección de datos y confidencialidad: Las muestras se conservarán codificadas.

Los datos personales que se recojan serán obtenidos, tratados y almacenados cumpliendo en todo momento el deber de secreto, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos de carácter personal.

La identificación de las muestras biológicas del Biobanco será sometida a un proceso de codificación. A cada muestra se le asigna un código de identificación, que será el utilizado por los investigadores. Únicamente el personal autorizado por el biobanco podrá relacionar su identidad con los citados códigos. Mediante este proceso los investigadores que soliciten muestras al biobanco no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Asimismo, aunque los resultados obtenidos de la investigación realizada con sus muestras se publiquen en revistas científicas, su identidad no será facilitada. En aquellos estudios en los que no se prevean resultados potencialmente útiles para su salud, y de acuerdo con el correspondiente Comité de Ética, las muestras y datos podrán ser anonimizadas, es decir, no habrá ninguna posibilidad de volver a asociar la muestra con su identidad.

Sus muestras y los datos clínicos asociados a las mismas, pasarán a formar parte del fichero del Biobanco, inscrito en la Agencia de Protección de datos.

*Responsable del fichero : Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia.
Dirección Postal: Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia*

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y objeción, así como obtener información sobre el uso de sus muestras y datos asociados, dirigiéndose a:

Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia
Responsable del nodo Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia
Tel.: 968359757 E-mail: juanp.serna@carm.es

Carácter altruista de la donación. La cesión de muestras biológicas que usted realiza al Biobanco del Hospital General Universitario Santa Lucía es gratuita.

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica. Sin embargo, los conocimientos obtenidos



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
Red Nacional de Biobancos - ISCIII



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas.

Participación voluntaria. Su negativa NO repercutirá en su asistencia médica, presente o futura

Su participación es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos y esto no repercutirá negativamente en su asistencia médica, presente o futura.

Revocación del consentimiento: si usted decide firmar este consentimiento, podrá también cancelarlo libremente.

Si en un futuro usted quisiera anular su consentimiento, sus muestras biológicas serían destruidas y los datos asociados a las mismas serían retirados del biobanco. También podría solicitar la anonimización de las muestras, en cuyo caso se eliminaría la relación entre sus datos personales (que revelan su identidad) y sus muestras biológicas y datos clínicos asociados. Los efectos de esta cancelación o anonimización no se podrían extender a la investigación que ya se hubiera llevado a cabo.

Si deseara anular su consentimiento, deberá solicitarlo por escrito al Director del Biobanco, en la dirección anteriormente indicada.

Información sobre los resultados de la investigación: se le proporcionará información si usted desea recibirla

En el caso de que usted lo solicite expresamente, el Biobanco podrá proporcionarle información acerca de cuáles son las investigaciones en que se han utilizado sus muestras y de los resultados globales de dichas investigaciones, salvo en el caso de cancelación o anonimización.

Los métodos utilizados en investigación Biomédica suelen ser diferentes de los aprobados para la práctica clínica, por lo que no deben de ser considerados con valor clínico para usted. Sin embargo, en el caso que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtenerse información relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo. Si Ud. quiere que se le comunique dicha información relevante debe consignarlo en la casilla que aparece al final de este documento.

Si usted no desea recibir esta información, tenga en cuenta que la ley establece que, cuando la información obtenida sea necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares biológicos, un Comité de expertos estudiará el caso y deberá decidir si es conveniente informar a los afectados o a sus representantes legales.

Por favor, pregunte al personal sanitario que le ha comunicado esta información sobre cualquier duda que pueda tener, ahora o en el futuro, en relación con este consentimiento. Asimismo, puede comentar sus dudas con su médico, quien le pondrá en contacto con el personal sanitario autorizado.

Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina. De esta forma está usted colaborando a vencer las enfermedades y ayudar a multitud de enfermos actuales y futuros.



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
 Red Nacional de Biobancos - ISCIII



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



CONSENTIMIENTO INFORMADO

**UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL
 PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO**

Nombre y Apellidos (donante)..... Etiqueta Identificativa Paciente Edad: Sexo: DNI:.....	Persona del centro que informa DNI:.....
--	--

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área II* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área II***, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

Confirmo que:

1. Autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el ***Biobanc-Mur Nodo Área II***, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

SI NO

2. Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto.....

3. Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales
 SI NO Teléfono o E-mail de contacto:

4. He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

.....

DONANTE	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....





BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



CONSENTIMIENTO INFORMADO ANTE TESTIGOS

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

Nombre y Apellidos (donante)..... Etiqueta Identificativa Paciente Edad: Sexo: DNI:.....	Persona del centro que informa DNI:.....
--	--

Nombre y apellidos del testigo que firma..... DNI.....
 Relación con el donante:.....

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área II* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante confirma que el donante:

- Autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanc-Mur Nodo Área II**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.
 SI NO
- Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto.....
- Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales
 SI NO Teléfono o E-mail de contacto:
- He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

- Me autoriza a firmar en su nombre.

TESTIGO	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....





BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

Nombre y Apellidos (donante)..... Etiqueta Identificativa Paciente Edad: Sexo: DNI:.....	Persona del centro que informa DNI:.....
--	--

Nombre y apellidos del tutor legal que firma..... DNI.....

Relación con el donante:.....

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área II* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área II***, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

El abajo firmante confirma que:

- Se me ha informado que, llegada la mayoría de edad de mi representado, este tendrá derecho a revocar o modificar este consentimiento, para lo cual deberá estar debidamente informado. En caso de que no ejerza dicho derecho, se considerará que el actual documento de consentimiento informado sigue vigente.
 SI NO
- Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO Teléfono o E-mail de contacto.....
- Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales
 SI NO Teléfono o E-mail de contacto:
- He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

- Me autoriza a firmar en su nombre.

TUTOR	ASENTIMIENTO DEL MENOR CAPACITADO	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
 Red Nacional de Biobancos - ISCIII



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia



REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

POR EL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI anulo el consentimiento prestado en fecha..... de.....de 20..... y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área II**, que doy por finalizada al día de hoy.

- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.
 SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE MIS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

- SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....

POR EL TUTOR/REPRESENTANTE LEGAL DEL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI, Como representante legal de D/Dña....., con DNI....., anulo el consentimiento prestado en fecha.....de.....de 20.....y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área II**, que doy por finalizada al día de hoy.

- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.
 SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO LOS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

- SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....



Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia
Red Nacional de Biobancos - ISCIII

