

**IMPACTO DE LA CARACTERIZACIÓN INMUNOFENOTÍPICA DEL
LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULA GRANDE EN UN HOSPITAL DE
CUARTO NIVEL COLOMBIANO EN UN PERIODO DE 15 AÑOS
PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN**

Cárdenas Morón Damián Arturo

Izquierdo Monsalve Juanita

Paba Carrillo Juan José

Universidad El Bosque

Facultad de Medicina

Pregrado en Medicina

Bogotá

2023

**Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años**

**D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo**

**IMPACTO DE LA CARACTERIZACIÓN INMUNOFENOTÍPICA DEL
LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULA GRANDE EN UN HOSPITAL DE
CUARTO NIVEL COLOMBIANO EN UN PERIODO DE 15 AÑOS
PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN**

Cárdenas Morón Damián Arturo

Izquierdo Monsalve Juanita

Paba Carrillo Juan José

Directora de Trabajo de Grado Diana Carolina Sotelo Rodriguez

Codirector de Trabajo de Grado Nicolás David Santoyo Sarmiento

Trabajo de grado para optar al título de médico cirujano

Universidad El Bosque

Facultad de Medicina

Pregrado en Medicina

Bogotá

2023

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo



La Universidad El Bosque no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Agradecimientos

Queremos agradecer especialmente a nuestra tutora la Dra Carolina Sotelo y al Dr Cañon por habernos guiado en el desarrollo de nuestro trabajo de grado, orientándonos de la mejor manera para poder gestar este proyecto que aborda un tema desafiante. Nos enorgullece haber aprendido sobre el Linfoma No Hodgkin mientras proponemos este estudio con el fin de nutrir los datos que tenemos de esta enfermedad a nivel nacional.

De igual manera nos complace hacer entrega de nuestro trabajo de grado siendo un documento donde van depositados sueños, esperanzas y esfuerzos con el objetivo final de ser Médicos Cirujanos, egresados de la Universidad El Bosque.

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Tabla de contenido

| | |
|---|-----------|
| Introducción | 9 |
| Problema de Investigación | 11 |
| Justificación | 12 |
| Pregunta de investigación | 14 |
| Objetivos | 15 |
| Objetivo General: | 15 |
| Objetivos Específicos: | 15 |
| Estado del Arte | 16 |
| Marco Teórico | 23 |
| Definición del linfoma | 23 |
| Epidemiología del LNH | 24 |
| Factores genéticos asociados al LNH y LBDCG | 25 |
| Fisiopatología del LBDCG | 27 |
| Manifestaciones clínicas del LBDCG | 31 |
| Diagnóstico del LNH/LBDCG | 32 |
| Tratamiento del LNH/LBDCG | 36 |
| Pronóstico | 42 |
| Indicadores de desenlaces Clínicos | 44 |
| Metodología | 45 |
| Diseño del Estudio | 45 |
| Población de estudio | 45 |
| Criterios de inclusión y exclusión | 45 |
| Tamaño de la muestra | 46 |
| Fuentes de información y recolección de datos | 46 |
| Procedimiento para recolección | 46 |
| Plan de análisis de datos | 47 |
| VARIABLES | 49 |
| Consideraciones Éticas | 51 |
| Sesgos y limitaciones del estudio | 52 |
| Cronograma | 53 |
| Presupuesto | 56 |
| Productos esperados | 57 |
| Bibliografía | 59 |

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1 Clasificación Ann Arbor del Linfoma no Hodgkin | 36 |
| Tabla 2 Variables del protocolo de investigación | 51 |
| Tabla 3 Glosario de términos | 63 |

Resumen

El Linfoma No Hodgkin es un proceso proliferativo neoplásico de la porción linfopoyética del sistema reticuloendotelial, de tipo celular linfocítico o histiocítico en diversos grados de diferenciación. Este linfoma comprende varios subtipos cada uno con características epidemiológicas, etiológicas, inmunofenotípicas, genéticas, y de respuesta a tratamiento diferente.

La actualización de la clasificación de la Organización Mundial de La Salud, ha redefinido los Linfoma Difuso de Células B Grandes, que corresponden al grupo Linfoma No Hodgkin más frecuentes en población adulta y que se caracterizan por presentar diferentes variantes morfológicas, histológicas e inmunofenotípicas que repercuten en el tratamiento y pronóstico.

Actualmente en Colombia, según la cuenta de alto costo en el 2021 el Linfoma No Hodgkin ocupó el sexto lugar en términos de frecuencia entre los 11 tipos de cáncer priorizados. Dada la diversidad clínica, biológica y patológica de esta entidad, la inmunotipificación ha tenido gran importancia en la identificación de rutas patológicas para el Linfoma Difuso de Células B Grandes, lo que ha resultado en aportes con respecto al desarrollo de terapias dirigidas, impactando en variables como tiempo de progresión libre de enfermedad, supervivencia por todas las causas y mortalidad. Dado lo anterior se propone un estudio observacional descriptivo utilizando datos de una cohorte retrospectiva de pacientes diagnosticados con Linfoma B difuso de células grandes atendidos en un hospital de cuarto nivel en Colombia durante un período de 15 años con un equipo médico interdisciplinario para realizar una caracterización inmunofenotípica y su posible asociación con los desenlaces clínicos.

Palabras claves: Linfoma No Hodgkin, Linfoma Difuso de Células B Grandes, Inmunofenotipificación, Periodo libre de progresión, Supervivencia Global.

Abstract

Non-Hodgkin's lymphoma is a neoplastic proliferative process of the lymphopoietic portion of the reticuloendothelial system, characterized by lymphocytic or histiocytic cell types with varying degrees of differentiation. This lymphoma comprises several subtypes, each with different epidemiological, etiological, immunophenotypic, genetic, and treatment response characteristics.

The update of the World Health Organization classification has redefined Diffuse Large B-cell Lymphoma, which represents the most common subtype of Non-Hodgkin's lymphoma in the adult population. It is characterized by presenting different morphological, histological, and immunophenotypic variants that impact treatment and prognosis.

In Colombia, according to the high-cost account in 2021, Non-Hodgkin's lymphoma ranked sixth in terms of frequency among the 11 prioritized cancer types. Due to the clinical, biological, and pathological diversity of this condition, immunophenotyping has played a crucial role in identifying pathological pathways for Diffuse Large B-cell Lymphoma, leading to contributions in the development of targeted therapies, which have impacted variables such as disease-free progression time, overall survival, and mortality. Therefore, a descriptive observational study is proposed using data from a retrospective cohort of patients diagnosed with Diffuse Large B-cell Lymphoma treated at a fourth-level hospital in Colombia over a 15-year period. An interdisciplinary medical team will perform an immunophenotypic characterization and explore its possible association with clinical outcomes.

Keywords: Non-Hodgkin Lymphoma, Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Immunophenotyping, Clinical outcomes, Progression-free period, Overall survival.

Introducción

El Linfoma No Hodgkin (LNH) abarca una amplia variedad de trastornos caracterizados por la proliferación monoclonal maligna de células linfoides en diferentes localizaciones, como los ganglios linfáticos, la médula ósea, el bazo, el hígado y el aparato digestivo. La heterogeneidad de esta neoplasia surge de una diversidad histológica, inmunológica, inmunofenotípica y expresión genética variable, que desencadena la transformación maligna de las células linfoides. (1)

En cuanto a los aspectos epidemiológicos del LNH, a nivel mundial se reportaron 544,352 casos nuevos y 259,793 muertes por LNH en el año 2020. En Colombia, en ese mismo año se registraron 12,937 casos de LNH con una mortalidad de 892 casos. Para el año 2021, se observó un incremento del 60,9% en la mortalidad por LNH, lo cual subraya la importancia de identificar y describir este tipo de cáncer. (2,3,4)

La historia natural de la enfermedad es variable, los linfomas indolentes se pueden presentar como adenopatías durante muchos años o también se puede presentar como linfoma agresivo con síntomas B específicos como pérdida de peso, sudoración nocturna, y fiebre. (5)

El LNH engloba una amplia gama de cánceres del sistema inmunitario, donde alrededor del 85-90% de los casos se derivan de células B, mientras que el 10% restante se deriva de células T y células Natural Killer (NK). El Linfoma B Difuso de Células Grandes (LBDCG) es el tipo más común de LNH a nivel mundial, representando del 30-40% de todos los casos. Los pacientes suelen presentar una masa tumoral de crecimiento rápido en uno o varios sitios, ya sea ganglionares o extraganglionares. El LBDCG se subdivide en dos grupos: los No Especificados, que representan aproximadamente el 80-85% de los casos, y los tipos de LBDCG que muestran suficiente

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

diferenciación para ser reconocidos como entidades separadas, que corresponden al 20% restante.

(6)

El diagnóstico del LBDCG requiere pruebas especializadas, como citometría de flujo, hibridación in situ por fluorescencia y otras pruebas moleculares, además de una evaluación de características morfológicas. La inmunotipificación desempeña un papel importante en la clasificación del LBDCG, dado que es necesaria para establecer el diagnóstico de la enfermedad y proporcionar información sobre dianas terapéuticas y pronóstico (5). Por lo tanto, resulta relevante realizar una correlación entre las características inmunofenotípicas y los resultados clínicos en una población diagnosticada con LBDCG.

Problema de Investigación

Según el informe emitido en 2010 por el Instituto Nacional de Cancerología sobre tumores derivados de tejidos hematopoyéticos y linfoides a nivel mundial, se destaca que los linfomas son las neoplasias principales. El Linfoma Hodgkin (LH) representa el 12% del total, mientras que el LNH constituye el 47,9%. Dentro del LNH, el más frecuente es el LBDCG con un 16% (92 casos), y el linfoma folicular con un 5%. (7)

Colombia en el periodo comprendido entre 2015-2018 tuvo un aumento en la incidencia, prevalencia y mortalidad por LNH, ocupando la quinta posición dentro de los tumores más frecuentes en incidencia y mortalidad (8). De acuerdo con registros del año 2019, se reportaron 10,654 casos de LNH en la población adulta de los cuales 957 fueron casos nuevos, con una mortalidad de 632 casos. (8)

El LBDCG representa el 30 - 40% de los casos de LNH convirtiéndolo en el subtipo más frecuente. Dentro de las características del LBDCG los inmunofenotipos son cruciales ya que se ha visto que se relacionan de forma significativa con la evolución clínica y el pronóstico de los pacientes, como ejemplo de esto encontramos la adición secuencial de la expresión de BCL2 en el fenotipo Centro Germinal del LBDCG, que mejora la estratificación de riesgo y permite identificar de forma precoz pacientes con peor pronóstico (9). En Colombia los datos sobre LBDCG son escasos lo que no permite identificar inmunofenotipos frecuentes de la población colombiana, dificultando la implementación de estrategias de diagnóstico y la evaluación de desenlaces clínicos (Tiempo libre de progresión “TLP”, Supervivencia Global “SG” y Mortalidad “M”) para evaluar la eficacia de las terapias actuales. Por lo tanto, es necesario realizar un estudio descriptivo retrospectivo que permita una caracterización inmunofenotípica de los pacientes con LBDCG.

Justificación

El LBDCG es el subtipo más común de LNH. La clasificación principal de este linfoma se basa en la división según la célula de origen, lo cual es importante para determinar el pronóstico de la enfermedad e identificar posibles anormalidades genéticas. En la actualidad, se requiere una evaluación inmunofenotípica precisa para establecer el diagnóstico del LBDCG. (6)

Las células neoplásicas presentes en el LBDCG muestran la expresión de marcadores de superficie conocidos como "pan-B" (presentes en todos los estadios del linaje de células B), como CD19, CD20 y CD22. Asimismo, se observa la presencia de factores de transcripción específicos de células B, como PAX5, OCT2 y BOB. Además, en la mayoría de los casos se detecta la expresión de inmunoglobulinas citoplasmáticas, especialmente IgM, IgG e IgA. Estos hallazgos inmunofenotípicos permiten establecer un pronóstico de la enfermedad y determinar qué pacientes podrían responder o no a la terapia convencional. (6)

Según Anderson et al, en un estudio donde analizaron 155 pacientes con LBDCG manejados con antraciclinas se encontró que los inmunofenotipos más frecuentemente identificados fueron CD10, que estuvo presente en el 35% de los pacientes, BCL2 en el 58%, IAP-4 en el 22%, MUM-1 en el 34%, y BCL6 en el 84%, encontrándose que el marcador relacionado con peores hallazgos clínicos fue la expresión de BCL2 (11). Por otro lado, Bellas et al realizaron un estudio retrospectivo descriptivo en el periodo de 1996-2011, con el fin de evaluar el valor pronóstico de los marcadores inmunohistoquímicos para la patogénesis del LBDCG, donde se encontró que la expresión de la proteína BCL6 se relacionaba con una mayor supervivencia en el tiempo, mientras que la expresión de MYC se asociaba a un peor pronóstico de supervivencia. (12)

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Como se ha resaltado previamente, la caracterización inmunofenotípica ha adquirido importancia en la identificación de marcadores específicos en las células cancerosas, lo que permite diagnósticos precisos y establecimiento de pronósticos en pacientes con LBDCG. Sin embargo, este enfoque no se ha explorado lo suficiente en nuestro país. Esta falta de información en Colombia es lo que promueve la realización de un estudio que proporcione información acerca de inmunofenotipos específicos y desenlaces clínicos de pacientes con adultos con LBDCG y así mejorar la toma de decisiones clínicas, la identificación de posibles biomarcadores pronósticos y su desenlace clínico.

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Pregunta de investigación

Pregunta: ¿Cuál es la relación entre las características inmunofenotípicas de pacientes diagnosticados con LBDCG y sus desenlaces clínicos?

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Objetivos

Objetivo General:

- Describir la relación entre los inmunofenotipos del LBDCG y los desenlaces clínicos de pacientes diagnosticados con esta enfermedad en un periodo de 15 años en un hospital de cuarto nivel colombiano.

Objetivos Específicos:

- Identificar los inmunofenotipos encontrados con mayor frecuencia en el LBDCG en pacientes atendidos en un hospital de cuarto nivel en un periodo de 15 años.
- Describir las características sociodemográficas de los pacientes con LBDCG atendidos en un hospital de cuarto nivel en un periodo de 15 años.
- Evaluar los desenlaces clínicos en relación a los inmunofenotipos encontrados en los pacientes con LBDCG atendidos en un hospital de cuarto nivel en un periodo de 15 años.

Estado del Arte

A lo largo de los años, se ha llevado a cabo una extensa investigación en el campo de la inmunofenotipificación y las alteraciones genéticas asociadas con el LNH, con el objetivo de identificar biomarcadores y patrones moleculares que puedan ayudar en la clasificación, diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad. Además, la identificación de grupos de riesgo específicos basados en alteraciones genéticas y factores ambientales puede tener implicaciones significativas en la prevención y el diseño de estrategias terapéuticas más efectivas. En este contexto, el presente estado del arte analizará literatura científica sobre la relación entre las características inmuno fenotípicas y genéticas del LNH, así como su impacto en los desenlaces clínicos y la identificación de posibles biomarcadores pronósticos y terapéuticos. Este análisis proporcionará una base sólida para el desarrollo de la presente tesis, cuyo objetivo es investigar la relación entre los inmunofenotipos del LBDCG y los desenlaces clínicos de los pacientes diagnosticados con esta enfermedad en un hospital de cuarto nivel.

Con el fin de resaltar la importancia de obtener información precisa sobre la incidencia y características histológicas del LNH se describe el estudio realizado por Shahid y otros en Pakistán durante el periodo de 2009-2013. El objetivo de este estudio descriptivo transversal fue analizar las frecuencias de los tipos histológicos de linfoma mediante un perfil inmunohistoquímico completo, tomando en consideración factores como edad, género, morfología y tipo de linfoma. Los resultados obtenidos revelaron que dentro de los casos de LNH, el 89,95% correspondieron al subtipo B y el 10,05% al subtipo T. Además, se observó que el subtipo más común en la población adulta fue el LBDCG, con una frecuencia del 69,07%. Por otro lado, en la población de menor edad, el linfoma

más común fue el LH, específicamente el subtipo de celularidad mixta (MCHL), el cual presentó una mayor prevalencia. (14)

Por su parte, las características genéticas de los tumores también desempeñan un papel crucial en la carcinogénesis, como se demostró en un estudio de casos y controles realizado por Skibola y otros publicado en la revista italiana Hematológica en 2007. El objetivo de este estudio fue identificar grupos de riesgo para el LNH, teniendo en cuenta las alteraciones genéticas. Los resultados revelaron que los mecanismos que involucran alteraciones en la reparación del ADN, así como factores genéticos y epigenéticos, desempeñan un papel importante en la supervivencia y proliferación de los linfocitos B, lo que contribuye a la linfomagénesis.

Se identificó que el genotipo TNF-308AA estaba asociado con un aumento del 25% y 65% en el riesgo de LNH y LBDCG, respectivamente. Además, los alelos -3575A y -1082G se asociaron con un mayor riesgo de LBDCG. Es importante tener en cuenta que los resultados y asociaciones genéticas deben ser interpretados con precaución debido a la posibilidad de estratificación poblacional, error genotípico y otras posibles causas que podrían influir en los hallazgos. El uso de biomarcadores es fundamental para determinar las asociaciones genéticas relevantes en la carcinogénesis del LNH y proporcionar una mejor comprensión de los factores de riesgo asociados a esta enfermedad. (15)

El estudio previo resalta la importancia de conocer el subtipo de linfoma más común, sin embargo, la caracterización por marcadores inmunohistoquímicos, cumple un papel importante en la asociación al pronóstico. Por ejemplo, Bellas y otros realizaron un estudio retrospectivo descriptivo en el periodo de 1996-2011, con el fin de evaluar el valor pronóstico de los marcadores inmunohistoquímicos para la patogénesis del LBDCG, donde se encontró que la expresión de la

proteína BCL2 estuvo presente en el 62% de los casos, la proteína BCL6 en el 67% de los casos, la proteína MYC en el 29% de los casos, las proteínas MYC y BCL2 juntas en el 21% de los casos y la proteína FOXP1 en el 37% de los casos, en cuanto a la implicación de estos biomarcadores en el pronóstico de los pacientes se detectó que la expresión de BCL6 se relacionaba con una mayor supervivencia en el tiempo (HR: 0,56, P: 0,080). Respecto a la expresión de MYC, se obtuvo que la sobreexpresión fue más frecuente que la translocación, y que la expresión de esta proteína se asociaba a un peor pronóstico de supervivencia en el tiempo (HR: 2,45, P: 0.007).

Adicionalmente, se encontró que la coexpresión de MYC y BCL2 se ha descrito como una herramienta importante para la estratificación de riesgo de estos pacientes dado que la expresión de estas dos proteínas actúa de forma sinérgica, por un lado la expresión de MYC promueve la proliferación celular y la de BCL2 bloquea la apoptosis, por lo que la coexpresión de estas 2 proteínas se ha relacionado a un mal pronóstico respecto a la supervivencia en el tiempo (HR: 2,24, P: 0,001).

Para el caso de la disregulación de FOXP1, esta se ha asociado a translocaciones cromosómicas en el linfoma asociado a mucosas (MALT) y el LBDCG, con un peor pronóstico de supervivencia en el tiempo para estos pacientes (HR: 2,29, P: 0,011), sobre todo en el caso en que el ARNm de FOXP1 se encuentra sobreexpresado en pacientes con LBDCG que son tratados con CHOP (Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina y Prednisona) o R-CHOP (Rituximab, Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina y Prednisona).

Finalmente en este artículo se concluye que el análisis de MYC, BCL2 y BCL6, en sus dos niveles, genéticos y proteicos, pueden proveer información pronóstica de importancia que ayude a identificar grupos de alto riesgo y pacientes que no responden de forma adecuada a los tratamientos

instaurados, sin embargo, dichas clasificaciones moleculares no son factibles de realizar en la práctica clínica de rutina por su alto costo. (12)

De igual forma, en un estudio retrospectivo descriptivo realizado en 2009 por J. Anderson y otros publicado en el *International Journal Of Oncology*, donde se tomó una cohorte de 155 pacientes con LBDCG con el objetivo de ver las implicaciones de supervivencia según el subgrupo establecido de inmunofenotipificación, se encontró que la expresión de CD10 estuvo presente en el 35% de los pacientes, BCL2 en el 58%, IAP-4 en el 22%, MUM-1 en el 34%, y BCL6 en el 84%.

La expresión positiva de CD10, MUM-1 y las proteínas antiapoptóticas BCL2 y IAP-4 sirvieron como indicadores significativos de reducción de la supervivencia a largo plazo y mayor riesgo relativo. El marcador relacionado con peores hallazgos clínicos fue la expresión de BCL2. Por otro lado, la expresión del oncogén BCL6 y la de Ki-67, no se relacionaron con ningún valor predictivo. En este sentido, se concluye que es relevante la inmunofenotipificación del LBDCG, con el objetivo de distinguir a los pacientes con mayor riesgo de presentar desenlaces desfavorables e identificar aquellos con mayor mortalidad de manera oportuna. (11)

Se encontraron resultados similares en un estudio más reciente realizado por Ting y otros en el 2019, donde se llevó a cabo un estudio observacional que incluyó muestras de tejido de 120 pacientes diagnosticados con LBDCG. En este estudio, se evaluó la expresión de la proteína CD5, y se encontró una asociación significativa entre su expresión y la presencia de enfermedad refractaria en el 75% de los casos. Además, se observó que los pacientes con una alteración genética conocida como Linfoma de expresión de doble proteína (DPL), caracterizada por alteraciones en los genes MYC y BCL2, presentaron un tiempo de sobrevida más corto, independientemente del tratamiento recibido. Por otro lado, los pacientes con Linfoma de expresión de triple proteína (TPL), que

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

involucra las alteraciones en MYC, BCL2 y BCL6, mostraron un tiempo de supervivencia aún menor en comparación con aquellos pacientes que no presentaban esta combinación de alteraciones genéticas. Estos hallazgos subrayan la importancia de tener en cuenta estas alteraciones genéticas en la evaluación del pronóstico y en el manejo de los pacientes diagnosticados con LBDCG. (16)

Ma y otros en el 2019 realizaron un estudio analítico, transversal, retrospectivo, en el cual pretendían determinar la frecuencia de linfoma double hit (translocación de MYC + rearrreglo de BCL2 o BCL6) y linfoma double expression (coexpresión aumentada de MYC + BCL2 y/o BCL6) del LBDCG y su impacto pronóstico con el tratamiento actualmente empleado. Se tomaron tejidos de 98 pacientes diagnosticados con LBDCG tratados con R-CHOP o regímenes similares, estos tejidos fueron analizados mediante hibridación fluorescente in situ (FISH) e inmunohistoquímica con el fin de determinar los niveles de expresión y alteraciones en los genes MYC, BCL2 y BCL6. Se encontró que de los 98 pacientes analizados 14 tenían linfoma double hit y 34 pacientes tenían double expression. Los pacientes con double hit de MYC y BCL2 tienen más compromiso de médula ósea y el tumor generalmente provenía del centro germinal. Por otro lado los linfomas double expression comúnmente no provienen del centro germinal. Se determinó además que los linfomas double hit y los linfomas double expression' tienen mal pronóstico. Así mismo el linfoma double hit, el linfoma double expression, el compromiso de la médula ósea, y el international prognostic index (IPI), están asociados significativamente con la SG y TLP. (17)

Castro y otros publicó en el año 2021, un estudio retrospectivo descriptivo realizado en el periodo 2010-2015 en el hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins de Lima, Perú donde se analizó una cohorte de 73 pacientes diagnosticados con LBDCG y tratados previamente con terapia R-CHOP. El objetivo fue describir los factores clínicos, inflamatorios e inmunohistoquímicos de la

cohorte, además se evaluaron las variables RCT, SG y TLP. Dentro de las características inmunofenotípicas el 41% correspondían al perfil Centro No Germinal (NGC) y 36% eran “doble expresores” los cuales presentan una coexpresión de MYC con BCL2/BCL6.

Se encontró que el subtipo NGC y la coexpresión de MYC con BCL2/BCL6 estaban presentes en un porcentaje significativo de pacientes. La RCT se logró en el 63% de los casos, y las tasas de SG y TLP a 5 años fueron del 58%. El puntaje IPI y NCCN-IPI se asociaron con la SG y la TLP, siendo los pacientes con puntuaciones más altas los que presentaron peores resultados. En conclusión, el uso del puntaje IPI y los marcadores inflamatorios fue útil para establecer el pronóstico en estos pacientes, pero los modelos de riesgo basados en la inmunohistoquímica no mostraron relevancia pronóstica. Los pacientes con subtipo de doble expresión tuvieron un peor pronóstico a pesar de recibir la terapia estándar. (18)

En un estudio retrospectivo realizado por Dwivedi y otros en el 2015, se analizaron 70 pacientes diagnosticados con LBDCG que previamente habían recibido tratamiento con terapia R-CHOP. El objetivo del estudio fue evaluar la inmunotipificación del LBDCG y su posible impacto en la supervivencia de los pacientes. Se observó que el 53% de los pacientes pertenecían al subtipo de células B del centro germinal (GC), mientras que el 47% correspondía al subtipo NGC. La mayoría de los pacientes fueron diagnosticados en estadios avanzados III y IV de la enfermedad, lo cual se asoció con una peor supervivencia. Se logró una tasa de respuesta completa del 81%, mientras que el 19% de los pacientes presentaron enfermedad residual o progresiva. La media de supervivencia global fue de 24 meses y la supervivencia libre de recaídas fue de 18 meses. Al comparar los subtipos GC y NGC, se encontró que los pacientes con subtipo NGC presentaron una supervivencia libre de recaídas a 3 años del 78%, mientras que los pacientes con subtipo GC tuvieron una

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

supervivencia libre de recaídas a 3 años del 56% (19). Se concluye que el subtipo GC fue el más común en este estudio, sin embargo, los pacientes con subtipo NGC tuvieron una mejor supervivencia libre de recaídas a 3 años. Además, se observó que la expresión inmunohistoquímica de BCL6 se correlacionó con un peor pronóstico.

En resumen, los estudios revisados en este estado del arte sobre el LBDCG proporcionan información valiosa sobre la epidemiología, características clínicas, factores pronósticos y respuesta a la terapia en esta población. Se destaca la utilidad de la caracterización inmunofenotípica y su relación con los desenlaces clínicos en esta entidad. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para comprender mejor los aspectos moleculares y genéticos de estos subtipos de LBDCG, así como para desarrollar enfoques terapéuticos más personalizados que mejoren los resultados en esta población.

Marco Teórico

Definición del linfoma

El sistema linfático es una red de órganos, ganglios linfáticos, conductos y vasos linfáticos que producen y transportan linfa desde los tejidos al torrente sanguíneo, la cual se compone de dos tipos de células principales: (a) los linfocitos B, que producen anticuerpos y actúan de forma indirecta sobre los agentes patógenos; y (b) los linfocitos T, que actúan de forma directa sobre los patógenos y a su vez estimulan los linfocitos B. (20)

Además, existen dos tipos de tejido linfoide: (a) el central, formado por médula ósea y timo; y (b) el periférico, constituido por el bazo, nódulos linfáticos y el tejido linfoide asociado a mucosas. El sitio de diferenciación de las células B, implica una serie de cambios en la expresión genética del individuo que incluyen: la activación de protooncogenes, la interrupción de genes supresores de tumores y las translocaciones cromosómicas. (20)

Existen dos tipos de linfoma: El LH que comprende el 30% de los casos manifestándose sobre todo en adultos jóvenes, su localización más frecuente es en los ganglios linfáticos cervicales. Se caracteriza por la presencia de las células de Reed Sternberg y se subclasifica en el linfoma de predominio linfocítico nodular y el linfoma clásico. (21)

El segundo tipo de linfoma es el LNH, que comprende el 70% de los casos, y es un proceso proliferativo neoplásico de la porción linfopoyética del sistema reticuloendotelial. Las células implicadas pueden ser de la serie linfocítica o histiocítica en diversos grados de diferenciación, se puede presentar a cualquier edad y se puede clasificar por su predominio celular, ya sea de linfocitos B o T, siendo los de tipo B más del 90% de los casos, el más frecuente de este grupo es el

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

LBDCG, que conforma el 40% de los casos. Para clasificar el tipo de linfoma y posteriormente definir conductas, se utiliza el método de inmunohistoquímica con el objetivo de determinar el tipo de célula, su origen y predominio. (22)

La clasificación de los linfomas se basa en la localización anatómica, los tipos histológicos y la caracterización inmunofenotípica. Los inmunofenotipos mínimos obligatorios son CD45, CD20, CD3, BCL-2, BCL-6, MUM-1, CD-10, CD30 y ALK, por lo que en principio se considera que estos estudios de inmunohistoquímica serán fundamentales para el diagnóstico y clasificación de esta patología. (5)

Epidemiología del LNH

Para el periodo del 2 de enero de 2018 al 1 de enero de 2019 fueron reportados 29.151 casos nuevos de cáncer en Colombia, con una proporción de casos nuevos reportados (PCNR), de 55.42 casos por cada 100.000 habitantes. En términos de frecuencia, para este mismo periodo el LNH ocupó el sexto lugar entre los 11 tipos tumorales priorizados por la cuenta de alto costo (CAC), y el primer lugar entre las neoplasias de naturaleza hematológicas (8). Durante el 2018, las entidades territoriales con la PCNR más alta de LNH en los adultos fueron Antioquia con 4,88 casos por cada 100.000 habitantes, seguida de Bogotá D.C. y Amazonas con 4,61 y 4,16 casos por 100.000 habitantes respectivamente, mientras que la prevalencia de LNH más alta fue la de Bogotá D.C. con 49,86 casos por cada 100.000 habitantes, seguida de Antioquia y Risaralda con 45,67 y 36,77 casos por 100.000 habitantes respectivamente. Bogotá D.C, Casanare y Antioquia fueron las entidades territoriales con la mortalidad más elevada durante el periodo, siendo Bogotá D.C. la que registró la tasa más alta con 2,59 casos por cada 100.000 habitantes. (8)

Con respecto a la edad de presentación, para el 2018 los pacientes con LNH en promedio presentaron una edad de 59,1 años, concentrándose la mayor cantidad de casos entre los 50 y 70 años. Además, se observó que la población femenina presentó más casos de LNH que la masculina. Del total de casos reportados (10,675), 5,461 corresponden a mujeres y 5,241 a hombres, con una razón de ocurrencia mujer:hombre de 1,04. Esta diferencia en la presentación según el sexo se acentúa principalmente en la población mayor de 50 años. (23)

Respecto al tratamiento, en el periodo 2019 a 2020 en Colombia el más indicado fue la terapia sistémica, prescrito al 78,58% de los casos nuevos de LNH en los adultos seguido por la radioterapia en el 6,30% y finalmente la cirugía en el 5,46% de los casos. Del total de casos estadificados que recibieron terapia sistémica durante el periodo 2015 a 2020, la mayoría (33,93%), se agrupó en el estadio IV, seguido del estadio III. Por otro lado, entre los que recibieron algún procedimiento quirúrgico, el estadio II fue el de mayor frecuencia, mientras que el 41,67% de las personas sometidas a radioterapia se clasificaron en el estadio IV. El 33,03% de los casos nuevos de LNH fueron clasificados en el estadio IV, mientras que el estadio II agrupó a la menor proporción de casos. Los medicamentos más prescritos en la población adulta con diagnóstico de LNH fueron la vincristina, la ciclofosfamida y el rituximab. La mediana de tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta el inicio del tratamiento fue de 28 días en la población adulta, mientras que la mediana de tiempo entre el diagnóstico y el inicio de la primera terapia recibida fue de 20 días. (23)

Factores genéticos asociados al LNH y LBDCG

Los antecedentes familiares aumentan el riesgo de desarrollar LNH, especialmente cuando se tiene un pariente de primer grado que ha padecido la enfermedad. Además, las patologías hereditarias que debilitan el sistema inmunológico también influyen en el desarrollo del LNH. (24)

James R. y otros, realizaron un estudio de 4,667 casos y 22,639 controles en Europa, en el cual evaluaban la historia médica, estilo de vida, historia familiar y factores de riesgo ocupacionales para LBDCG, encontraron que el riesgo de para esta patología fue mayor cuando los pacientes tenían un familiar en primer grado con LNH, además, se encontró que este riesgo aumenta de forma proporcional al número de familiares con este antecedente. (25)

La mayoría de los mecanismos primarios implicados en el desarrollo del LNH son translocaciones cromosómicas. Estas translocaciones resultan en la activación de oncogenes relacionados con la proliferación, diferenciación, supervivencia y progresión tumoral. Algunos ejemplos de estas translocaciones son $t(8;14)(q24; q32)$, $t(11;14)(q13; q32)$ y $t(14;18)(q32; q21)$, las cuales causan una alteración en la expresión de *MYC*, *CCND1* y *BCL2*. Estos cambios desempeñan un papel fundamental en la patogénesis de algunos subtipos de LNH como Linfoma del Manto, linfoma de Burkitt y linfoma folicular. Se han descrito diferentes mecanismos epigenéticos que afectan la síntesis de ADN y los mecanismos de reparación en el desarrollo del LNH. Estos mecanismos incluyen la desmetilación de proto-oncogenes y la metilación de genes supresores de tumor, que pueden inhibir la síntesis de ADN o reducir su capacidad de reparación. (15, 26)

Según Sinco y otros, el tipo más común de variación genética en el genoma humano es el polimorfismo de un solo nucleótido, que implica un cambio en una base de la secuencia de ADN. Estos polimorfismos se han identificado como factores de riesgo para el desarrollo de LNH. Algunos de los genes estudiados que modifican la integridad del ADN incluyen WRN, LIG4, BRCA1, BRCA2, XRCC3 y TP53 (26). Dentro de los polimorfismos de un solo nucleótido relacionados con la transformación neoplásica de los linfocitos, se destacan los genes involucrados

en la supervivencia y el crecimiento de las células B, como kB y AP1. Estos genes pueden activarse debido a la inflamación crónica, lo que lleva a la transformación neoplásica de los linfocitos y al aumento de genes reguladores de citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina (IL-10). Por ejemplo, el genotipo TNF-308G>A incrementa la producción de TNF-alfa, lo que confiere un 25% más de riesgo para LNH y un 65% más para LBDCG. Además, los genotipos IL-10-3575T>A e IL-10-1082A>G, que reducen la producción de IL-10, se han asociado con un mayor riesgo de LBDCG. También se han encontrado polimorfismos en genes relacionados con la inmunidad innata, como TLR4 y CARD15/NORD2, que aumentan el riesgo de linfoma. Además, se han identificado polimorfismos en genes involucrados en la regulación energética, donde el aumento de leptina, TNF-alfa, IL-6 y proteína C reactiva (PCR), así como la disminución de grelina, se asocian con el desarrollo de linfoma. (26)

Fisiopatología del LBDCG

El LNH se desarrolla como resultado de la acumulación y expansión de un clon de linfocitos maduros. Entre los subtipos de LNH, el más común es el LBDCG. Este tipo de linfoma se caracteriza por una proliferación difusa de células B maduras, que son más grandes o tienen al menos el doble del tamaño de los macrófagos y los linfocitos normales. (1)

El LBDCG es biológicamente heterogéneo y agresivo, e incluye una amplia variedad de subtipos. Puede surgir de novo, es decir, de manera espontánea, o como resultado de la transformación de un linfoma indolente previo. Aunque la mayoría de los casos de LBDCG se localizan en los ganglios linfáticos, aproximadamente el 40% de los casos son extraganglionares. El

sitio más común de afectación extraganglionar es el tracto gastrointestinal, aunque el LBDCG puede presentarse en cualquier órgano, la piel o el sistema nervioso central. (1)

El LBDCG se origina a partir de células B maduras en diferentes etapas de diferenciación, y múltiples mutaciones genéticas impulsan su transformación neoplásica. Estas células B encuentran sus antígenos en los tejidos linfoides, lo que promueve la formación de folículos secundarios que incluyen un centro germinal. El centro germinal del ganglio linfático desempeña un papel fundamental en la respuesta de los linfocitos B a antígenos específicos, pero también conlleva un mayor riesgo de transformación maligna debido a los cambios genéticos que ocurren en este entorno. Durante el desarrollo inmunitario, se producen modificaciones genéticas como la hipermutación somática y el cambio de la cadena pesada de las inmunoglobulinas, que generan mutaciones, deleciones e inserciones en los genes implicados. Se pueden dar rearrreglos genéticos que se relacionan con un peor pronóstico y menor respuesta a tratamiento, entre estos se encuentra rearrreglos en MYC el cual se presenta en el 12% de los casos, este puede estar asociado a rearrreglos en BCL2 y/o BCL6 en el 4 - 8% de los casos, a estos se les denomina “Linfomas de células B de Alto Grado” y se asocian con un proceso oncogénico agresivo. (1,27)

Los linfocitos B poseen receptores de células B, que son inmunoglobulinas de membrana que se unen a antígenos. Estos antígenos se procesan internamente y se expresan como fragmentos peptídicos en la superficie de los linfocitos B a través del complejo de histocompatibilidad principal clase II (MHC-II). Los linfocitos T foliculares reconocen estos fragmentos peptídicos mediante sus receptores TCR (receptor de linfocitos T) y se produce una interacción entre el CD40 presente en los linfocitos B y el CD40L presente en los linfocitos T foliculares. Estas señales activan y producen citocinas (IL-6, TGF- β , IL-4, IL-21) por parte de los linfocitos T foliculares, lo que activa

la proliferación de los linfocitos B. Esta proliferación ocurre en el foco primario y posteriormente migran hacia el centro germinal del folículo. (28,29)

Dentro del centro germinal, hay una zona oscura donde se produce una rápida división de las células llamadas centroblastos. Los centroblastos dejan de expresar BCL2 (antiapoptótico) y las inmunoglobulinas de superficie, lo que los hace susceptibles a la apoptosis, expresando BCL6 y CD10. En esta zona, los linfocitos experimentan proliferación, cambio de isotipo e hipermutación somática. La hipermutación somática tiene como objetivo lograr una afinidad precisa del anticuerpo por el antígeno, mediante múltiples mutaciones en la región variable de los anticuerpos, lo que los hace específicos para cada antígeno en particular. Estas mutaciones constantes aumentan el riesgo de transformación maligna. Además, el cambio de isotipo implica que los linfocitos B, a medida que se diferencian y se exponen a diferentes citocinas, cambian su producción de inmunoglobulinas de IgM e IgD a IgA, IgE o IgG. (29)

Después de estos procesos, los linfocitos migran hacia la zona clara del centro germinal, donde se denominan centrocitos. Los centrocitos son positivos para BCL6, negativos para BCL2 y expresan inmunoglobulinas en su superficie con afinidades variables debido a la hipermutación somática. En esta zona, se lleva a cabo una prueba por parte de las células dendríticas foliculares, que presentan antígenos a los linfocitos B que han experimentado hipermutación somática. Los linfocitos capaces de unirse al antígeno específico son salvados, mientras que aquellos que siguen teniendo una baja afinidad a pesar de la hipermutación somática son descartados. Los centrocitos rescatados se convierten en células B de memoria o células plasmáticas. (29)

La activación inapropiada de los protooncogenes, ya sea por translocaciones cromosómicas, mutaciones genéticas o amplificaciones, puede desencadenar la transformación maligna de las

células al alterar el control sobre la proliferación celular. Por otro lado, los genes supresores de tumores desempeñan un papel en la reducción de la proliferación celular y la promoción de la diferenciación celular. En los procesos malignos, los oncogenes se activan y los genes supresores de tumores se inhiben, lo que contribuye al desarrollo del cáncer. Aunque los mecanismos para la formación de linfocitos B presentan puntos de vulnerabilidad propensos a la transformación maligna, en la mayoría de los casos, los mecanismos de protección prevalecen y la homeostasis fisiológica se mantiene, lo que resulta en células B con función inmunológica adecuada. (1)

En aproximadamente el 15-30% de los casos de LBDCG, se produce una translocación (14;18) que resulta en la yuxtaposición del oncogen BCL2, ubicado en el cromosoma 18, con la región promotora del gen que codifica la cadena pesada de inmunoglobulina en el cromosoma 14. Esto conduce a una sobreexpresión de BCL2. Por otro lado, el protooncogen BCL6, que normalmente se expresa en las células del centro germinal y bloquea genes involucrados en la progresión del ciclo celular, está ubicado en el cromosoma 3q27. En aproximadamente el 30-40% de los casos, se producen translocaciones cromosómicas en la región promotora de BCL6, lo que interfiere con la diferenciación celular y promueve una proliferación descontrolada, lo que a su vez contribuye a la inestabilidad genética. Otro ejemplo es el caso del gen P53, al darse una alteración de este se pierde la capacidad de reparar el ADN encontrándose alterado en 53% de los casos de los linfomas de células B. (1)

En el 2007 se publicó un estudio que pretendía observar la expresión de BCL2 y ciclina D2 como factores que predisponen a un peor pronóstico de LBDCG. Se encontró en este estudio que la ciclina D2 la cual se encarga de controlar la progresión del ciclo celular de la fase G1 a la S, actúa como factor de mal pronóstico con una TLP a 5 años del 5% en comparación con un 28.7% en

pacientes sin expresión de este y una SG del 8% comparado con el 39.1% en los casos en los que no había expresión. Por otro lado, BCL2 y su asociación con mal pronóstico es controvertido, sin embargo, los resultados de este estudio mostraron un SG en el caso de los pacientes con expresión de BCL2 del 10% mientras que los pacientes que no lo expresaron tuvieron un SG del 47%. (30)

Manifestaciones clínicas del LBDCG

La presentación clínica del LNH varía dependiendo del subtipo específico de linfoma que presente el paciente. Algunos subtipos de LNH se caracterizan por una linfadenopatía persistente que puede durar varios años, mientras que otros son altamente agresivos y pueden poner en peligro la vida del paciente en cuestión de semanas. (31)

Los linfomas agresivos suelen manifestarse con síntomas constitucionales, como fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso. Además, pueden presentar síndrome de lisis tumoral, que es una respuesta metabólica desencadenada por la rápida destrucción de las células tumorales, y pueden estar acompañados de una masa de crecimiento rápido. En contraste, los linfomas indolentes tienden a tener una presentación más insidiosa. Se caracterizan por una linfadenopatía de crecimiento lento, hepatomegalia, esplenomegalia y citopenias. (31)

Los pacientes con LBDCG presentan generalmente una masa de rápido crecimiento en sitios únicos o múltiples, ganglionares o extraganglionares. El LBDCG se presenta generalmente en adultos mayores (séptima década de la vida), con una masa de rápido crecimiento en uno o más ganglios linfáticos, con afectación de áreas extraganglionares en un 40% de los casos. El tracto gastrointestinal es el más comúnmente afectado, sin embargo, cualquier parte del cuerpo puede ser afectada. Alrededor de $\frac{1}{3}$ de los pacientes se presentan con síntomas B (pérdida de peso no

intencional, fiebre, sudoración nocturna) y algunos presentan síntomas específicos de los órganos involucrados. (31)

La afectación de la médula ósea se produce en aproximadamente el 10-20% de los casos de LBDCG. Puede manifestarse de dos formas: concordante o discordante. La afectación concordante se refiere a la presencia de linfoma de células B en la médula ósea, mientras que la discordante implica la presencia de linfoma de bajo grado en la médula ósea, que puede no estar directamente relacionado con el LBDCG. La afectación concordante de la médula ósea se ha asociado con un peor pronóstico y una menor supervivencia global. (6)

Diagnóstico del LNH/LBDCG

La evaluación clínica del paciente con LNH incluye una historia clínica completa y una evaluación física exhaustiva. En la historia clínica, se recopilan datos relevantes como la edad, el sexo, la presencia de fiebre (temperatura mayor de 38,3 °C), sudoración nocturna, pérdida de peso mayor al 10% en los últimos 6 meses e historia previa de malignidad. Durante el examen físico, se evalúan todos los sitios linfoides potencialmente afectados, incluyendo el anillo de Waldeyer, los ganglios linfáticos accesibles, el hígado, el bazo y los sitios linfáticos abdominales. (32)

Las imágenes diagnósticas desempeñan un papel importante en la identificación de los sitios de afectación ganglionar y de los órganos comprometidos, así como en la guía de biopsias diagnósticas. La ecografía y la tomografía computarizada se utilizan como guía para realizar biopsias de diagnóstico. La tomografía por emisión de positrones (PET-CT) se utiliza para identificar ganglios linfáticos sospechosos de afectación metabólica. (32)

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Se puede hacer la estadificación del LNH mediante la clasificación de Ann Arbor (Tabla 1), esta clasificación permite determinar la propagación de la enfermedad en el cuerpo. Se divide en 4 estadios:

| | |
|-------------|--|
| Estadio I | Compromiso en un único sitio ganglionar o se encuentra afectado solamente un órgano extra linfático sin la presencia de afectación ganglionar. |
| Estadio II | Compromiso de una o dos regiones de nódulos linfáticos en el mismo lado del diafragma, o el compromiso de un órgano extraganglionar junto con el compromiso de ganglios linfáticos regionales, ya sea con o sin afectación de otros nódulos linfáticos en el mismo lado del diafragma. |
| Estadio III | Compromiso de regiones de nódulos linfáticos de dos lados del diafragma acompañado de compromiso extra linfático en asociación con compromiso de ganglios linfáticos adyacentes o compromiso de bazo. |
| Estadio IV | Compromiso difuso o diseminado de uno o varios órganos extra linfáticos que puede estar asociado a compromiso de regiones de nódulos |

| | |
|--|---|
| | linfáticos adyacentes o asociado a compromiso de larga distancia. El estadio IV incluye compromiso del hígado, de la médula ósea, del pulmón o del líquido cefalorraquídeo. |
|--|---|

TABLA 1 CLASIFICACIÓN ANN ARBOR DEL LINFOMA NO HODGKIN

La biopsia es esencial para la identificación y clasificación del LNH. En casos sospechosos de linfoma agresivo, es crucial obtener muestras de biopsia de manera urgente. Es fundamental que estas muestras sean evaluadas por un patólogo con experiencia en linfoma, dado que esto mejora la precisión del diagnóstico y afecta el manejo clínico. (32)

Existen diferentes métodos para evaluar los ganglios linfáticos mediante biopsia, como la biopsia por escisión o incisión. Es necesario obtener tejido no fijado para realizar pruebas como citometría de flujo y cariotipo, las cuales a menudo son necesarias para llegar a un diagnóstico definitivo. Los ganglios linfáticos son los sitios más adecuados para realizar la biopsia y obtener el diagnóstico. Se debe considerar realizar biopsia de ganglio linfático en casos con las siguientes características: ganglios mayores a 1 cm, persistencia de este tamaño durante 4-6 semanas y crecimiento continuo. Los ganglios linfáticos periféricos agrandados son la opción preferida para obtener muestras, debido a su fácil acceso y alto rendimiento diagnóstico. Sin embargo, si no hay ganglios linfáticos periféricos palpables, se recomienda utilizar métodos como la tomografía, la ecografía o la laparoscopia para obtener material diagnóstico a partir de ganglios mediastinales. (32)

La inmunotipificación es requerida para establecer el diagnóstico de LBDCG y esta se puede realizar mediante inmunohistoquímica o citometría de flujo. Las células neoplásicas de este linfoma expresan marcadores de superficie pan B como CD19, CD20 y CD22, también expresan factores de

transcripción de células B como PAX5, OCT2 y BOB. La mayoría de casos expresa además inmunoglobulinas citoplasmáticas en especial IgM, IgG e IgA. La identificación de diferentes marcadores mediante inmunofenotipificación permite dar una terapia dirigida. (6)

Tratamiento del LNH/LBDCG

El tratamiento del LBDCG se basa en varios factores, como el subtipo específico del linfoma, el estadio de la enfermedad, la edad del paciente y su estado general de salud. Generalmente, el tratamiento del LBDCG puede incluir las siguientes modalidades:

1. Quimioterapia:

El esquema de quimioterapia R-CHOP (Rituximab, Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina y Prednisona) es la primera línea en el tratamiento de los pacientes con LBDCG (34). Los pacientes que se postulan a recibir la primera línea terapéutica son aquellos con buen estado general de base y que no tienen enfermedades asociadas. Sin embargo, se excluyen de recibir R-CHOP como primera línea los pacientes que presentan un mal estado físico por la edad, condiciones médicas coexistentes o disfunción cardíaca. (27)

Inicialmente, el esquema CHOP (Ciclofosfamida, Doxorrubicina, Vincristina y Prednisona) era ampliamente usado para el tratamiento de primera línea en pacientes con LBDCG (31). Se observó que al añadir rituximab (anticuerpo monoclonal anti-CD20) al esquema CHOP mejoró significativamente la supervivencia de los pacientes con estadios iniciales del LBDCG vivos a 2 años del 57% al 70% y a 5 años del 84% al 93%, esta combinación de quimioterapia e inmunoterapia se conoce como R-CHOP. En estadios más avanzados el esquema R-CHOP ha demostrado mayores beneficios en cuanto a disminución de recaídas y sobrevida a comparación de

la terapia básica con CHOP (31). Aunque la quimioterapia, incluyendo el esquema R-CHOP, ha mostrado efectividad en términos de supervivencia y recurrencia, sigue siendo un tratamiento con alta toxicidad que dificulta el mantenimiento de la terapia en el tiempo. La quimioterapia conlleva importantes efectos adversos para los pacientes, tanto a corto como a largo plazo. Los efectos a corto plazo incluyen alopecia, hiporexia y náuseas, mientras que a largo plazo pueden presentarse neuropatía periférica, cardiopatía, nefropatía, disminución de la fertilidad e hipogammaglobulinemia, especialmente en aquellos tratados con rituximab. (22)

Los nuevos avances terapéuticos han permitido la integración de fármacos nuevos al esquema CHOP, pero no han evidenciado mayor beneficio en SG, TLP y supervivencia libre de eventos (EFS) al compararlo con el esquema R-CHOP. Esquemas como R-ACVBP (Rituximab, Doxorubicina, Ciclofosfamida, Vindesina, Bleomicina y Prednisona) han sido comparados con R-CHOP sin obtener resultados estadísticos significativos (33,34). En el estudio GATHER se comparó el esquema R-CHOP vs G-CHOP que adiciona el obinutuzumab (G) anticuerpo anti-CD20 en 1418 pacientes con LBDCG, se reportó una mayor presencia de efectos adversos (neutropenia, náuseas y constipación) al recibir G-CHOP, en cuanto a TLP y SG no hay diferencias estadísticamente significativas. (33)

En busca de mejorar la eficacia y reducir los efectos adversos, se han estudiado nuevos esquemas de tratamiento en los últimos años. Los pacientes con LBDCG tratados con terapia R-CHOP pueden no responder siendo refractarios a terapia de primera línea, por lo que se han introducido nuevos esquemas que sean eficaces en estos casos. Esquemas como GDP (Gemcitabina, Dexametasona y Cisplatino) se han comparado contra el esquema GEMOX (Gemcitabina y Oxaliplatino) en 68 pacientes que previamente habían recibido R-CHOP. Se concluye que el esquema GDP presentó

mayores efectos adversos, el esquema GEMOX tuvo mejor TLP, ha sido efectivo en LNH refractario y puede prolongar el periodo libre de tumor en pacientes en estadio 3 y 4 principalmente en casos de LBDCG. (35)

2. Inmunoterapia:

El LNH se desarrolla en el sistema inmunitario, alterando receptores celulares, ligandos y señales, lo que afecta el funcionamiento celular normal, su división y apoptosis. El LNH crea una tolerancia inmunológica en las células del sistema inmunitario, impidiendo su capacidad de detectar y eliminar células malignas, lo que perpetúa el crecimiento del linfoma. Por lo tanto, es crucial innovar en el tratamiento para identificar los puntos clave a nivel inmunológico que eviten el crecimiento celular maligno, considerando los receptores expresados y las cascadas de señalización involucradas, con el objetivo de desarrollar enfoques farmacológicos efectivos para tratar la enfermedad. Aunque la quimioterapia fue el primer tratamiento efectivo para el LNH, el avance en la inmunoterapia ha permitido la incorporación de nuevos fármacos inmunomoduladores en los esquemas existentes mejorando valores de TLP, SG y RCT. (27,36)

Anticuerpos monoclonales:

El rituximab, el primer inmunomodulador desarrollado, revolucionó el tratamiento de pacientes con LBDCG al combinarse con el esquema CHOP posicionando a la quimioinmunoterapia como la terapia “gold standard”. El esquema G-CHOP no fue superior al ser comparado contra R-CHOP, además de presentar mayores efectos adversos. Sin embargo, al combinar el esquema R-CHOP con lenalidomida en diversos estudios se ha reportado ORR 92%, RCT 86%, SG 92% y TLP 80% a 2 años. (34,37)

El CD37 tiene un rol fundamental en la activación de vía de supervivencia del tumor y en la inmunidad humoral, si el paciente expresa altos niveles de CD37 tiene un peor pronóstico, por lo cual es un objetivo dentro del tratamiento. El lilotomab es un anti CD37, reduce la proliferación del LNH afectando su supervivencia e inmunidad. Se ha probado en modelos de células xenoinjerto, demostrando cierta eficacia al reducir la proliferación, inducir apoptosis, muerte mitótica y dañar la vía de ATP. El lilotomab también afecta la fosforilación de CDK1 en TYR 14-15, lo que detiene la fase G2 del ciclo celular y disminuye la proliferación tumoral en modelos in vivo. Además, el lilotomab inhibe la expresión de los protooncogenes WEE-1 y MYT-1, lo que lo hace útil en pacientes que no respondieron al tratamiento con rituximab. (36)

Receptor antígeno quimérico célula T (CD19-CAR-T) es una terapia que utiliza un anticuerpo monoclonal dirigido contra CD19 en pacientes con LBDCG refractario. El CTL019 o Tisagenlecleucel es un anticuerpo monoclonal anti-CD19 de segunda generación evaluado en estudios piloto logrando resultados prometedores ORR de 58%, RCT de 29% y respuesta parcial (PR) de 29%. Otro anticuerpo anti-CD19, el KATE-C19 o Axicabtagene-Ciloleucel fue evaluado en el estudio multicéntrico fase 1 ZUMA-1 con 7 pacientes con LBDCG refractarios y obtuvo RCT de 57%, posteriormente en la fase 2 en una cohorte de 101 paciente obtuvo ORR de 76%, RCT de 47%, PR de 29% y TLP a 1 mes de 92% y a 3 meses de 56% . Esta terapia se administra por infusión y puede generar síndrome liberador de citoquinas como interferón gamma (IFN γ), IL-6 y IL-10 que puede causar síntomas como fiebre, hipotensión, hipoxia o toxicidad orgánica. (38)

El lisocabtagene-maraleucel (liso-cel) es un anticuerpo anti-CD19 de segunda generación evaluado en el estudio TRANSCEND NHL en pacientes con LBDCG refractario a primera línea. Tuvo una cohorte de 268 pacientes y los resultados fueron ORR de 73%, RCT de 53%, TLP media

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

de 6,8 meses y SG media de 19,9 meses. Las terapias (CD19-CAR-T) pueden ser una alternativa para el tratamiento en la nueva era de inmunoterapia, específicamente en LBDCG refractario a primera línea. (39)

Drogas anticuerpos combinados:

El polatuzumab vedotin (PV) es un anticuerpo conjugado anti CD79b que inhibe la polimerización de la tubulina generando muerte celular, es usado específicamente en LBDCG en conjunto con rituximab, priorizado en pacientes con futuro requerimiento de terapia anti CD19 ya que no genera resistencia (37,39,40). El pinatuzumab vedotin (PiV) es un anti-CD22 evaluado en el estudio ROMULUS en el que se administró en conjunto con rituximab, los resultados fueron ORR 57%, RCT 24% aunque presentó efectos adversos (fatiga, neuropatía y neutropenia). (39)

Bloqueador de PD1/PDL1:

La muerte celular programada mediante la interacción del receptor PD-1 y su ligando PDL-1 promueve la disfunción de las células T y la tolerancia de las células malignas, impulsando la proliferación tumoral, pero esto ha cambiado con el desarrollo de anti-PD y anti-PDL1 que han logrado restablecer la función inmune en pacientes con LBDCG (41). Fármacos como nivolumab y pidilizimab han demostrado su eficacia en estudios clínicos, además el pembrolizumab es un nuevo fármaco con gran expectativa al combinarse con el rituximab logrando ORR de 80% y RCT de 60%. (42)

Inhibidores de PI3K:

La vía del fosfoinositol 3 quinasa (PI3K) es crucial para el crecimiento, proliferación y diferenciación celular por tal motivo se han creado fármacos que logran inhibir esta vía esencial

para los procesos carcinogénicos. El Idelalisib es un inhibidor de PI3K y han demostrado valores aceptables en sus ensayos clínicos aunque su gran presencia de efectos adversos (hepatotoxicidad, diarrea severa y colitis) la descartan como opción terapéutica. El copanlisib tuvo valores aceptables ORR de 54% y RCT de 14% aunque con la consideración de mantener al paciente en observación por el riesgo de hiperglucemia e hipertensión. (37)

Inhibidores BCL-2:

El venetoclax al inhibir BCL-2 disminuye la actividad del LNH. En el estudio MURANO se combina venetoclax con rituximab logrando ORR de 92.3%, RCT de 26% y TLP superior, contrario al uso de venetoclax en monoterapia (37).

3. Radioterapia:

La radioterapia (RT) tiene utilidad como terapia adyuvante en pacientes post R-CHOP que persisten con estadios avanzados del LBDCG según la escala Ann Arbor (Tabla 1) . Para evaluar la respuesta el LBDCG a la RT se usa la captación del marcador F-fluorodeoxyglucosa (FDG) reportado mediante la tomografía por emisión de positrones (PET) siendo positivo si hay captación. Normalmente está aumentada por parte del tejido carcinogénico por lo que si disminuye es un indicador de respuesta a la RT. En el estudio RICOVER-60 se evaluaron a 285 pacientes con LBDCG que recibieron RT, los resultados fueron TLP de 75% y SG de 78% (43). La radioterapia no tiene utilidad en estadios iniciales de la enfermedad, pero si se ha establecido como una terapia adyuvante (44).

En un estudio de British Columbia, se evaluaron 262 pacientes con LBDCG con previo manejo R-CHOP a quienes se les realizó un estudio FDG-PET, 95 pacientes fueron PET positivos de los cuales 82 recibieron radioterapia y 167 PET negativos solo fueron observados. El SG de los

pacientes PET positivo fue de 85%, los pacientes PET negativos tuvieron SG de 83% y los pacientes PET positivo que no recibieron RT tuvieron un SG de 30%, esto sugiere que pacientes con PET positivo se benefician con la radioterapia. (43). En otro estudio se evaluó a 26 pacientes con LBDCG de estadio avanzado con previo manejo con R-CHOP quienes fueron PET positivos, se concluye que FDG-PET es la mejor herramienta para evaluar la respuesta del LBDCG a l terapia de primera línea, el TLP y SG fue mayor en los pacientes que recibieron RT, además con mínima presencia de efectos adversos (45). Se puede concluir que hay utilidad de la radioterapia como tratamiento adyuvante.

Pronóstico

El pronóstico de los pacientes con LNH es dado por IPI o Red Nacional Integral de cáncer (NCCN-IPI) que han evaluado el TLP y SG en estudios multicéntricos aleatorizados que incluyeron a cerca de 2114 pacientes tratados con el esquema R-CHOP entre 1998 y 2009. (27)

Es de vital importancia clasificar a los pacientes con LNH en grupos de riesgo para poder brindar un pronóstico adecuado. El IPI se utiliza en el caso del LNH y tiene en cuenta los siguientes factores de riesgo: edad (mayor de 60 años), elevación de lactato deshidrogenasa (LDH), escala de estado funcional ECOG >1, estadio de la enfermedad según la clasificación Ann Arbor III o IV y enfermedad extranodal >1. El IPI clasifica a los pacientes en 4 subgrupos de riesgo (27) :

1. Bajo riesgo: cuando no se presentan factores de riesgo. (SG de 91% y PFS a 5 años de 81%).
2. Riesgo intermedio bajo: cuando se presenta un factor de riesgo (SG de 81% y PFS a 5 años de 67%)

3. Riesgo intermedio alto: cuando se presentan dos factores de riesgo (SG de 65% y PFS a 5 años de 58%).
4. Alto riesgo: cuando se presentan tres o más factores de riesgo (SG de 59% y PFS a 5 años de 46%)

NCCN-IPI evalúa los siguientes parámetros para definir un grupo de riesgo (27) :

- Edad, >40 a ≤ 60 años (1 punto), >60 pero ≤ 75 años (2 puntos), >75 años (3 puntos)
- Relación LDH, >1 y ≤ 3 (1 punto), >3 (2 puntos)
- Ann Arbor estadio III o IV (1 punto)
- Estado de rendimiento ECOG puntuación, ≥ 2 (1 punto)
- Enfermedad extraganglionar: linfoma, compromiso en la médula ósea, SNC, hígado o tracto gastrointestinal y pulmón (1 punto).

Categorías de riesgo de NCCN-IPI:

- Bajo (0-1 punto) PFS de 86% y SG de 92%
- Bajo-intermedio (2-3 puntos) PFS de 75% y SG de 84%
- Alto- intermedio (4-5 puntos) PFS de 54% y SG de 63%
- Alto (6-8 puntos) PFS de 43% y SG de 49%

El pronóstico del LNH suele ser favorable si se detecta tempranamente y se inicia un tratamiento adecuado. Sin embargo, si el paciente se encuentra en los grupos de riesgo intermedio o alto, aún

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

existen datos que respaldan la eficacia de un régimen terapéutico adecuado en términos de TLP y SG. (31)

Indicadores de desenlaces Clínicos

La SG hace parte de los endpoints definidos como hallazgos clínicos y biológicos medibles que se utilizan para determinar el desarrollo y la evaluación de opciones de tratamiento. La SG es considerada el endpoint clínicamente más importante en los ensayos oncológicos debido a que permite determinar el beneficio directo del tratamiento y es el punto final más relevante en los ensayos clínicos fase III. La SG se define como el tiempo desde el inicio de tratamiento hasta la muerte del paciente independientemente de la causa, en esta medida se excluyen pacientes que estén vivos o perdidos durante el seguimiento hasta la fecha final que será analizada (46).

La FSP hace parte de los criterios centrados en el tumor, estos valoran el tumor y combinan diferentes eventos como progresión local y a distancia, recurrencia local y a distancia, muerte y toxicidad grave. La FSP es el tiempo entre la asignación aleatoria del tratamiento y la progresión del tumor o la muerte por cualquier causa en una etapa metastásica (46).

Metodología

Diseño del Estudio

Se realizará un estudio observacional descriptivo utilizando datos de una cohorte retrospectiva de pacientes diagnosticados con LBDCG que hayan sido atendidos en un hospital de cuarto nivel en Colombia durante un período de 15 años. La población de estudio se identificará a través de una búsqueda en el registro de las historias clínicas (manual o digital) de la base de datos de un hospital de cuarto nivel.

Población de estudio

Se llevará a cabo un estudio observacional descriptivo de una cohorte retrospectiva utilizando datos de pacientes con diagnóstico de LBDCG atendidos en un hospital de cuarto nivel en Colombia. El periodo de estudio será de 15 años.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de Inclusión:

- Pacientes con diagnóstico de LBDCG confirmado por histología e inmuno tipificados.
- Pacientes mayores de 18 años.
- Tratamiento y seguimiento realizado en el centro de salud durante el período de estudio.

Criterios de Exclusión:

- Pacientes con historia clínica incompleta.
- Pacientes con diagnóstico de otros tipos de Linfoma.
- Pacientes con estado de inmunosupresión o infección por VIH.

Tamaño de la muestra

En este estudio se empleará un enfoque de muestreo por conveniencia, lo que implica que los participantes serán seleccionados según la disponibilidad de los datos y el flujo de pacientes que hayan sido atendidos en un periodo de 15 años en un hospital de cuarto nivel en Colombia.

Fuentes de información y recolección de datos

Los participantes serán seleccionados a partir de una base de datos obtenida de un hospital de cuarto nivel colombiano que cuente con registros de historias clínicas (manual o digital) de pacientes diagnosticados con LBDCG en un periodo de 15 años de un hospital de cuarto nivel en Colombia. Todos los datos de identificación personal serán anonimizados y codificados, de manera que la información esté desvinculada de la identidad de los individuos. Esto asegurará que la información recopilada sea utilizada de manera confidencial y solo con propósitos de investigación. Además, se mantendrá la confidencialidad de la institución de salud de origen y se evitará cualquier forma de identificación que pudiera comprometer la privacidad de los pacientes involucrados. Al tomar estas medidas de protección de datos, se busca garantizar la integridad y confidencialidad de la información recopilada, así como respetar los derechos y la privacidad de los pacientes participantes en el estudio.

Procedimiento para recolección

La recolección de información para este estudio se llevará a cabo a partir de las historias clínicas en formato manual o digital que cuenten con el diagnóstico CIE 10 del LBDCG (C833) y del LNH (C832, C834 y C836). Las historias clínicas que se identifiquen serán analizadas a detalle para la confirmación que el diagnóstico del paciente sea el LBDCG y cuente con su inmunotipificación..

Los datos serán recopilados y digitalizados por los dos investigadores de manera independiente en un documento de Microsoft Excel y después se compararán para identificar discrepancias, que serán corregidas mediante una nueva revisión de la historia clínica y la corrección del dato errado. Solo tendrán acceso al archivo de Microsoft Excel corregido los investigadores del proyecto para evitar la pérdida de confidencialidad.

Plan de análisis de datos

Se realizará un análisis descriptivo de los datos recopilados. Se calcularán medidas de tendencia central (media, mediana) y medidas de dispersión (desviación estándar, rango) para las variables continuas. Para las variables categóricas, se calcularán las frecuencias y porcentajes correspondientes.

Para evaluar la asociación entre variables cualitativas con variables cuantitativas se usará la prueba de Mann Whitney o T de student, de acuerdo con la distribución de la variable cuantitativa. Se considera posible asociación cuando las pruebas arrojen un p valor de <0.05 con un intervalo de confianza del 95%, proceso que se surtirá en el software. Se realizará un análisis descriptivo de los datos recopilados, empleando diversas medidas para resumir y presentar la información obtenida. Para las variables continuas, se calcularán medidas de tendencia central como la media y la mediana, así como medidas de dispersión como la desviación estándar y el rango.

En cuanto a las variables categóricas, se calcularán las frecuencias y los porcentajes correspondientes para cada categoría.

Para evaluar la asociación entre variables cualitativas y variables cuantitativas, se utilizarán pruebas estadísticas apropiadas según la distribución de la variable cuantitativa. En el caso de distribuciones no paramétricas, se empleará la prueba de Mann-Whitney, mientras que para

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

distribuciones paramétricas se utilizará la prueba t de Student. Se considerará una asociación significativa cuando el valor p obtenido sea inferior a 0.05, con un nivel de confianza del 95%. Estos análisis se llevarán a cabo utilizando software SPSS 22.0

Se realizará un análisis de asociación entre los datos clinicopatológicos de los sujetos de estudio y la expresión de biomarcadores por inmunohistoquímica utilizando tanto el análisis exacto de Fisher como la prueba de Chi cuadrado de Pearson.

Se evaluarán las implicaciones pronósticas, que incluyen la tasa de supervivencia a los 2 años, para las reordenaciones de los genes c-Myc, BCL2 y BCL6, la expresión de la proteína CD10 y los subtipos GC/NGC, utilizando el test exacto de Fisher o el análisis de Chi cuadrado de Pearson. La supervivencia global se medirá desde la fecha de diagnóstico hasta el fallecimiento del paciente. La mediana de supervivencia se calculará utilizando un gráfico de Kaplan-Meier.

Variables

Las variables a incluir en el análisis son las siguientes:

- Características clínicas: edad, género, antecedentes médicos relevantes.
- Características inmunofenotípicas: perfiles de expresión de marcadores inmunohistoquímicos.

| Nombre | Definición operacional | Escala de medición |
|--------------------------|--|-----------------------|
| Edad | Edad cumplida en años | Cuantitativa razón |
| Estrato socioeconómico | 1 2 3 4 5 6 | Cualitativa ordinal |
| Estadio de LBDCG | Clasificación Ann Arbor: I, II, III, IV. | Cualitativa ordinal |
| Sexo | Masculino Femenino | Cualitativa nominal |
| Inmunosupresión | Si No | Cualitativa nominal |
| Esquema de quimioterapia | Esquema descrito en la HC | Cualitativa nominal |

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

| | | |
|--------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Fecha de inicio de síntomas de LBDCG | día/mes/año | Cuantitativa intervalos |
| Fecha de diagnóstico de LBDCG | día/mes/año | Cuantitativa intervalos |
| Diagnóstico al egreso | Curación, muerte, abandono. | Cuantitativa razón |
| Supervivencia Global | Medido en meses | Cuantitativa razón |
| Supervivencia libre de progresión | Medido en meses | Cuantitativa razón |
| Inmunofenotipo CD10 | Si No | Cualitativa nominal |
| Inmunofenotipo BCL-2 | Si No | Cualitativa nominal |
| Inmunofenotipo BCL-6 | Si No | Cualitativa nominal |
| MUM-1 | Si No | Cualitativa nominal |
| MYC | Si No | Cualitativa nominal |
| BCL-2/BCL-6 | Si No | Cualitativa nominal |

TABLA 2 VARIABLES DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

Consideraciones Éticas

Teniendo en cuenta la resolución 8430 de 1993 se considera este es un estudio sin riesgo, dado que se emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada de las variables a analizar respecto a los individuos que participan en él, en contraste, se realizará un análisis de los datos de inclusión con el objetivo de encontrar los factores pronósticos de la muestra de pacientes con LBDCG.

Previo a su aplicación práctica en un hospital de cuarto nivel colombiano, el protocolo de investigación planteado será presentado en el comité de ética de la institución para obtener el aval y dar inicio a su desarrollo. Se garantizará la confidencialidad de la información obtenida en las historias clínicas de un centro de salud colombiano, no se modificará información de la base de datos, ni de las historias clínicas de los pacientes incluidos. Se realizará este estudio teniendo presente el no faltar a los principios de beneficencia, no maleficencia, justicia y autonomía para los pacientes. Al no realizarse ningún tipo de intervención en las pacientes, y por tratarse de un estudio retrospectivo de evaluación de historias clínicas, no se requiere consentimiento informado dado que el estudio no representa ningún riesgo para las pacientes.

La evaluación de las historias clínicas se realizará acorde con las normas científicas, técnicas y administrativas en la investigación en salud, considerándose un estudio sin riesgos por ser de carácter descriptivo.

Sesgos y limitaciones del estudio

Es importante tener en cuenta que este estudio transversal se basa en datos retrospectivos, lo que implica ciertas limitaciones como la imposibilidad de los investigadores de verificar la precisión del diagnóstico de los pacientes o de solo contar con la información disponible en las historias clínicas. Otra limitación es que este tipo de estudios al preguntar al tiempo por la exposición y la ocurrencia tiene un bajo poder para identificar la relación entre variables. Además, al enfocarse en un único hospital de cuarto nivel colombiano, los resultados obtenidos no se pueden generalizar a otras poblaciones.

Para disminuir los sesgos de selección se realizará una elección de datos amplia que comprenda los diagnósticos del CIE10 de LBDCG (C833), y del LNH (C82, C834, y C836), con los criterios de inclusión y exclusión descritos anteriormente. Teniendo en cuenta estos hallazgos como filtro para la selección de la información dos investigadores recolectarán los datos de forma separada y contrastarán posteriormente lo obtenido con el objetivo de verificar las inconsistencias.

Para evitar los sesgos de calidad de la información y de confusión, se realizará una estandarización de los criterios de documentación con una revisión teórica detallada. Además, se utilizarán variables relevantes en el análisis multivariado para evaluar su impacto en los resultados.

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Cronograma

| ACTIVIDADES | Meses | 1 | | | | 2 | | | | 3 | | | | 4 | | | | 5 | | | | 6 | | | |
|--|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | Semanas | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| Preparación de materiales | | █ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Entrenamiento en manejo de historias clínicas del hospital de cuarto nivel | | | █ | █ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Diseño de instrumento Excel para la recolección de datos | | | | | █ | █ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Prueba piloto para la recolección de datos | | | | | | | █ | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Corrección de instrumento Excel para la recolección de datos | | | | | | | | █ | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Extracción de datos de las historias clínicas del hospital de cuarto nivel | | | | | | | | | █ | █ | █ | █ | | | | | | | | | | | | | |
| Revisión de datos obtenidos por los investigadores y correcciones posibles | | | | | | | | | | | | | █ | | | | | | | | | | | | |
| Análisis de datos obtenidos y verificados | | | | | | | | | | | | | | █ | █ | | | | | | | | | | |
| Redacción informe final para presentar a hospital de cuarto nivel | | | | | | | | | | | | | | | █ | █ | | | | | | | | | |
| Redacción de artículo científico | | | | | | | | | | | | | | | | | | █ | █ | █ | █ | █ | █ | | |
| Creación de presentación para exponer en evento académico | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | █ | █ | |

**Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años**

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

**Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años**

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Presupuesto

El trabajo será realizado por estudiantes y docentes de la Universidad El Bosque, por lo que no implica un presupuesto distinto al tiempo invertido en el mismo por los investigadores que hagan parte del proyecto. Debe participar un grupo de al menos 3 estudiantes que se encargarán de la recolección y verificación de los datos de las historias clínicas en formato manual o digital incluidas dentro del proceso de selección de la información. Además, se requiere la participación de un epidemiólogo que realice el análisis estadístico de los datos mediante el uso de una aplicación con este fin (SPSS 28.0). Finalmente, se requiere de la participación de un docente especialista en medicina interna u oncología que se encargue de la supervisión del trabajo y brinde información teórica que ayude a la interpretación del resultado tras el análisis estadístico realizado.

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Productos esperados

El protocolo de investigación titulado: “Impacto de la caracterización inmunofenotípica del linfoma B difuso de células grandes en un hospital de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años” con su respectivo desarrollo aportará los siguientes productos académicos:

1. Informe oficial institucional sobre los datos obtenidos en el hospital de cuarto nivel colombiano con el análisis estadístico.
2. Publicación de un artículo científico en una revista Q3 o Q4.
3. Elaboración de póster científico y postulación para presentar resultados en congresos médicos nacionales e internacionales.

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

Conflictos de interés

Los investigadores no tienen conflictos de interés.

Bibliografía

1. Gouveia GR, Siqueira SA, Pereira J. Pathophysiology and molecular aspects of diffuse large B-cell lymphoma. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012;34(6):447–451.
2. Mafra A, Laversanne M, Gospodarowicz M, Klinger P, De Paula Silva N, Piñeros M, Steliarova-Foucher E, Bray F, Znaor A. Global patterns of non-Hodgkin lymphoma in 2020. *Int J Cancer.* 2022;151(9):1474–81.
3. Situación de Cáncer en la población adulta atendida en el SGSS de Colombia 2020 [Internet]. Colombia: Cuenta de alto costo; 2020 [citado el 30 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/>
4. Cuenta de alto costo. Situación del Cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia 2021 [Internet]. Colombia: Cuenta de alto costo; 2021. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/>
5. Armitage JO, Gascoyne RD, Lunning MA, Cavalli F. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet.* 2017;390(10091):298–310.
6. Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology.* 2018;50(1):74–87.
7. Instituto Nacional de Cancerología E.S.E. Anuario estadístico 2010, Vol 8. Ministerio de salud y protección social, Bogotá D.C, Colombia; 2012.
8. Cuenta de alto costo. Situación del cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia. Bogotá D.C.; 2019.
9. Barrans SL, Carter I, Owen RG, Davies FE, Patmore RD, Haynes AP, Morgan GJ, Jack AS. Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2002;99(4):1136–43.
10. Martelli M, Ferreri AJ, Agostinelli C, Di Rocco A, Pfreundschuh M, Pileri SA. Diffuse large B-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2013;87(2):146–71.
11. Anderson JJ, Fordham S, Overman L, Dignum H, Wood K, Proctor SJ, et al. Immunophenotyping of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) defines multiple sub-groups of germinal centre-like tumours displaying different survival characteristics. *Int J Oncol.* 2009;35(5):961–71.
12. Bellas C, García D, Vicente Y, Kilany L, Abaira V, Navarro B, Provencio M, Martín P. Immunohistochemical and molecular characteristics with prognostic significance in diffuse large B-cell lymphoma. *PLoS One.* 2014;9(6):e98169.
13. Sukswai N, Lyapichev K, Khoury JD, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma variants: an update. *Pathology.* 2020;52(1):53–67.
14. Shahid R, Gulzar R, Avesi L, Hassan S, Danish F, Mirza T. Immunohistochemical Profile of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2016;26(2):103–7.

15. Skibola CF, Curry JD, Nieters A. Genetic susceptibility to lymphoma. *Prog Hematol.* 2007;92(7):July 2007.
16. Ting CY, Chang KM, Kuan JW, Sathar J, Chew LP, Jacqueline Wong OL, et al. Clinical significance of BCL2, C-MYC, and bcl6 genetic abnormalities, Epstein-Barr virus infection, CD5 protein expression, germinal center B cell/non-germinal center B-cell subtypes, co-expression of MYC/BCI2 proteins and co-expression of MYC/BCI2/BCL6 proteins in diffuse large B-Cell lymphoma: A clinical and pathological correlation study of 120 patients. *Int J Med Sci.* 2019;16(4):556–66.
17. Ma Z, Niu J, Cao Y, Pang X, Cui W, Zhang W, Li X. Clinical significance of 'double-hit' and 'double-expression' lymphomas. *J Clin Pathol.* 2020;73(3):126–138.
18. Castro D, Beltrán B, Quiñones M del P, Pachas C, Huerta Y, Lalupu K, et al. Clinical, inflammatory and immunohistochemical features in a cohort of Peruvian patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Res.* 2021 Mar 1;102.
19. Dwivedi A, Mehta A, Solanki P. Evaluation of immunohistochemical subtypes in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on survival. *Indian J Pathol Microbiol.* 2015;58(4):453–458.
20. Saladin KS. *Sistemas linfático e inmunitario: Anatomía y fisiología. La unidad entre forma y función.* 9th ed. 2022.
21. Brice P, de Kerviler E, Friedberg JW. Classical Hodgkin lymphoma. *Lancet.* 2021;398(10310):1518–1527.
22. Bowzyk Al-Naeeb A, Ajithkumar T, Behan S, Hodson DJ. Non-Hodgkin lymphoma. *BMJ.* 2018;362:k3204.
23. Cuenta de Alto Costo. *Situación del cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia.* Bogotá D.C.; 2018.
24. Cerhan JR, Slager SL. Familial predisposition and genetic risk factors for lymphoma. *Blood.* 2015;126(20):2265–2273.
25. Cerhan JR, Krickler A, Paltiel O, Flowers CR, Wang SS, Monnereau A, Blair A, Dal Maso L, Kane EV, Nieters A, Foran JM, Miligi L, Clavel J, Bernstein L, Rothman N, Slager SL, Sampson JN, Morton LM, Skibola CF. Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for diffuse large B-cell lymphoma: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2014 Aug;2014(48):15-25.
26. Sinco HC, Peñafiel CR, Sánchez A, Jaloma JC, Murillo CM, Figueroa EM, et al. Linfomas no hodgkin: algunos tópicos sobre genética y patogenia molecular. *Rev Venez Oncol.* 2016;28:121-134.
27. Sehn LH, Salles G. Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2021;384(9):842–858.
28. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2018;378(15):1396–1407.

29. Anaya JM, Shoenfeld Y, Correa PA, García-Carrasco M, Cervera R. Autoinmunidad y enfermedad autoinmune. 1st ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2005.
30. Amen F, Horncastle D, Elderfield K, Banham AH, Bower M, Macdonald D, et al. Absence of cyclin-D2 and Bcl-2 expression within the germinal centre type of diffuse large B-cell lymphoma identifies a very good prognostic subgroup of patients. *Histopathology*. 2007;51(1):70–79.
31. Ansell SM. Non-Hodgkin Lymphoma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(8):1152–1163.
32. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, 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):3059–3068.
33. Mondello P, Mian M. Frontline treatment of diffuse large B-cell lymphoma: Beyond R-CHOP. *Hematol Oncol*. 2019;37(4):333–344.
34. Morrison VA. Frontline therapy with R-CHOP for diffuse large B-cell lymphoma: Where have we come (or not come)? A Perspective. *J Geriatr Oncol*. 2021;12(2):320–325.
35. Zhang X, Wang B, Tao W, et al. Comparison of the efficacy and impact of GEMOX and GDP in the treatment of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J B.U.ON*. 2020 Mar-Apr;25(2):1042-1049. PMID: 32521904.
36. Pichard A, Marcatili S, Karam J, Constanzo J, Ladjohounlou R, Courteau A, et al. The therapeutic effectiveness of 177Lu-lilotomab in B-cell non-Hodgkin lymphoma involves modulation of G2/M cell cycle arrest. *Leukemia*. 2020 May;34(5):1315-1328. doi: 10.1038/s41375-019-0677-4.
37. Narkhede M, Yazdy MS, Cheson BD. Targeting Biology in Non-Hodgkin Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019 Aug;33(4):727-738. doi: 10.1016/j.hoc.2019.03.006. Epub 2019 May 7. PMID: 31229165.
38. Makita S, Yoshimura K, Tobinai K. Clinical development of anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci*. 2017 Jun;108(6):1109-1118. doi: 10.1111/cas.13239. Epub 2017 May 25. PMID: 28301076; PMCID: PMC5480083.
39. Marofi F, Rahman HS, Achmad MH, Sergeevna KN, Suksatan W, Abdelbasset WK, et al. A Deep Insight Into CAR-T Cell Therapy in Non-Hodgkin Lymphoma: Application, Opportunities, and Future Directions. *Front Immunol*. 2021 Jun 23;12:681984. doi: 10.3389/fimmu.2021.681984. PMID: 34248965; PMCID: PMC8261235.
40. Herrera AF. Noncellular Immune Therapies for Non-Hodgkin Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019 Aug;33(4):707-725. doi: 10.1016/j.hoc.2019.03.007. Epub 2019 May 11. PMID: 31229164.
41. Gravelle P, Burrioni B, Péricart S, Rossi C, Bezombes C, Tosolini M, et al. Mechanisms of PD-1/PD-L1 expression and prognostic relevance in non-Hodgkin lymphoma: a summary of

- immunohistochemical studies. *Oncotarget*. 2017 Jul 4;8(27):44960-44975. doi: 10.18632/oncotarget.16680. PMID: 28402953; PMCID: PMC5546533.
42. Hu B, Jacobs R, Ghosh N. Checkpoint Inhibitors Hodgkin Lymphoma and Non-Hodgkin Lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep*. 2018 Dec;13(6):543-554. doi: 10.1007/s11899-018-0484-4. PMID: 30338457.
 43. Kobe C, Dietlein M, Hellwig D. PET/CT for Lymphoma Post-therapy Response Assessment in Hodgkin Lymphoma and Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Semin Nucl Med*. 2018 Jan;48(1):28-36. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2017.09.003. Epub 2017 Sep 19. PMID: 29195615.
 44. Imber BS, Yahalom J. Radiotherapy for Non-Hodgkin Lymphomas. *Cancer J*. 2020 May/Jun;26(3):217-230. doi: 10.1097/PPO.0000000000000453. PMID: 32496455; PMCID: PMC8436835.
 45. Chin V, Fulham M, Hertzberg M, Jackson M, Lindeman R, Brighton T, Kidson-Gerber G, Wegner EA, Cheung C, MacCallum S, Williams J, Thompson SR. Impact of salvage treatment modalities in patients with positive FDG-PET/CT after R-CHOP chemotherapy for aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma. *J Med Imaging Radiat Oncol*. 2018 Jun;62(3):432-439. doi: 10.1111/1754-9485.12719. Epub 2018 Mar 25. PMID: 29577608.
 46. Fiteni F, Westeel V, Pivot X, Borg C, Vernerey D, Bonnetain F. Endpoints in cancer clinical trials. *J Visc Surg*. febrero de 2014;151(1):17-22

| Término | Definición |
|-----------------------------------|--|
| LNH | Neoplasia linfoide maligna con comportamiento biológico y clínico diferente. |
| LBDCG | Es el tipo más común de LNH, se caracteriza por tener una proliferación difusa de células B maduras y un comportamiento heterogéneo y agresivo. |
| Inmunofenotipo | Expresión de marcadores de superficie los cuales permiten establecer un pronóstico de la enfermedad. |
| Inmunofenotipificación | Proceso mediante el cual se determina que tipo de marcadores de superficie específicos expresan las células. |
| Inmunohistoquímica | Procedimiento que mediante el uso de anticuerpos determina qué tipo de marcadores de superficie expresa una célula. |
| Citometría de flujo | Método analítico que permite determinar características físicas y químicas de las células que producen señales individuales al interferir con una fuente de luz. |
| Clasificación de Ann - Arbor | Clasificación mediante la cual se hace la estadificación del LBDCG de acuerdo al grado de proyección de la enfermedad en el cuerpo. |
| Terapia R-CHOP | Esquema de quimioterapia, que se establece como la primera línea de tratamiento en los pacientes con LBDCG. |
| Supervivencia libre de progresión | Es el tiempo entre la asignación aleatoria del tratamiento y la progresión del tumor o la muerte por cualquier causa en una etapa |

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

| | |
|----------------------|--|
| | metastásica. |
| Supervivencia Global | Es el tiempo desde el inicio de tratamiento hasta la muerte del paciente independientemente de la causa, en esta medida se excluyen pacientes que estén vivos o perdidos durante el seguimiento hasta la fecha final que será analizada. |

TABLA 3 GLOSARIO DE TÉRMINOS

Listado de Abreviaturas

ASCT Trasplante autólogo de células madre

BV Brentuximab Vedotin

CAC Cuenta de alto costo

CD19 CART Receptor antígeno CD19 quimérico célula T

CHOP Ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona

CI Intervalo de confianza

CMH Complejo mayor de histocompatibilidad

RCT Respuesta completa a tratamiento

EFS Supervivencia libre de eventos

FDG PET Tomografía por emisión de positrones con emisión de 18 fluorodesoxiglucosa

FISH Hibridación fluorescente in situ

TLP Tiempo de progresión libre de enfermedad

GC Centro germinal

G-CHOP Gemcitabina, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona

GDP Combinación de gemcitabina (nueva droga antitumoral), dexametasona y cisplatino

GEMOX Gemcitabina, oxaliplatino GM-SCF Factor estimulante de macrófagos y granulocitos

GST Glutación S transferasa

MHC Complejo mayor de histocompatibilidad

HHV-8 Infección por herpes virus tipo 8

HPV Herpes virus

HR Cociente de riesgo

HTLV-1 Infección por virus linfotrópico por células T tipo 1

IFN Interferón gama

Ig Inmunoglobulina

IL Interleucina

IMC Índice de masa corporal

IPI Pronóstico internacional indexado

LBDCG Linfoma difuso de célula B grande

Impacto de la caracterización inmunofenotípica
del linfoma B difuso de células grandes en un hospital
de cuarto nivel colombiano en un periodo de 15 años

D. Cárdenas Morón
J. Izquierdo Monsalve
J. Paba Carrillo

LDCG Linfoma difuso de célula grande

LDH Lactato deshidrogenasa

LH Linfoma de Hodgkin

LNH/NHL Linfoma No Hodgkin

MALT Tejido linfoide asociado a mucosas

MCHL Linfoma Hodgkin de celularidad mixta

NCCN IPI Red nacional integral de cáncer

NGC Centro no germinal

ON Óxido nítrico

ORR Tasa de respuesta objetiva

SG Supervivencia por todas las causas

PCNR Proporción de casos nuevo reportados

PCR Proteína C reactiva

PD Proteína de muerte celular programada 1

PDL1 Ligando de proteína de muerte celular programada 1

PIV Pinatuzimab Vedotin

PR Respuesta parcial

PV Polatuzumab Vedotin

R-ACVBP Rituximab, doxorubicina, ciclofosfamida, vindesina, bleomicina, prednisona

R-CHOP Rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona

RFS Supervivencia libre de recaídas

RT Radioterapia

TNF Factor de necrosis tumoral

VEB Virus de epstein Barr

VHC Hepatitis C

VIH Virus de inmunodeficiencia humana

VR-CHOP Bortezomib, rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona