

Linfoma B de células grandes: recomendaciones para el estudio de secuenciación masiva

Large B-cell lymphoma: recommendations for next-generation sequencing

Carolina Martínez-Laperche^{1*}, Miguel Alcoceba-Sánchez^{2,3}, Silvia Beà-Bobet^{3,4}, Dolors Colomer-Pujol^{3,4}, María García-Álvarez^{2,3}, M.^a Eugenia-Sarasquete^{2,3}, Alicia Serrano-Alcalá⁵, Blanca Ferrer-Lores⁵, Rosa Ayala-Díaz⁶, M.^a Carmen Chillón-Santos^{2,3}, Mónica López-Guerra^{3,4}, M.^a Teresa Gómez-Casares⁷, Eva Barragán-González⁸ y Ruth Stuckey^{7*}

¹Servicio de Hematología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid; ²Departamento de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL, Centro de Investigación del Cáncer-IBMCC (CSIC/USAL), Salamanca; ³Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC); ⁴Secció d'Hematopatologia, Servei d'Anatomia Patològica, Centre de Diagnòstic Biomèdic, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona; ⁵Servicio de Hematología, Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia; ⁶Servicio de Hematología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid; ⁷Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas; ⁸Unidad de Biología Molecular, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia. España

Resumen

Introducción: La integración de tecnologías moleculares en la práctica clínica es fundamental para el diagnóstico y la estratificación del riesgo en las neoplasias hematológicas. La secuenciación masiva (NGS, next-generation sequencing) ha permitido caracterizar el perfil genómico de los linfomas B de células grandes (LBCG), identificando mutaciones, variaciones en el número de copias y genes de fusión recurrentes. Este avance ha motivado la elaboración de recomendaciones específicas para su aplicación clínica. **Objetivo:** Desarrollar una guía de consenso que defina los genes y las alteraciones genéticas prioritarias que deben evaluarse mediante NGS en los LBCG. **Material y método:** El Grupo de Biología Molecular en Hematología (GBMH), en colaboración con un panel de expertos, revisó la bibliografía reciente y las principales clasificaciones internacionales (Organización Mundial de la Salud, International Consensus Classification y European LeukemiaNet). Mediante discusión estructurada y consenso, se seleccionaron los genes y las regiones cromosómicas de mayor relevancia clínica, clasificándolos en niveles de evidencia (obligatorios, recomendables y opcionales) en función de su utilidad en el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento. **Resultados:** Se consensuó un panel de 60 genes y diversas alteraciones estructurales relevantes para los LBCG. Se detallan las asociaciones genómicas con los subtipos moleculares descritos, así como su valor clínico. La guía proporciona recomendaciones prácticas para la implementación de paneles dirigidos de NGS en la práctica clínica donde su uso puede aportar un beneficio diagnóstico y pronóstico significativo. **Conclusiones:** Estas recomendaciones constituyen la primera guía de consenso nacional para la aplicación de paneles dirigidos de NGS en los LBCG. Su adopción favorecerá la estandarización de la práctica diagnóstica y contribuirá a una mejor clasificación y un adecuado manejo de los pacientes.

Palabras clave: Linfoma B de células grandes. Secuenciación masiva. Guías de consenso.

*Correspondencia:

Carolina Martínez-Laperche

E-mail: cmlaperchehgugm@gmail.com

Ruth Stuckey

E-mail: rstuckey@fciisc.es

Fecha de recepción: 30-01-2025

Fecha de aceptación: 01-09-2025

DOI: 10.24875/SANGRE.25000014

Disponible en internet: 15-05-2026

Sangre. 2026;45(2):71-79

www.revistasangre.com

0036-4355 / © 2025 Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. Publicado por Permanyer. Éste es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Abstract

Introduction: The integration of molecular technologies into clinical practice is essential for the diagnosis and risk stratification of hematologic neoplasms. Next-generation sequencing (NGS) has enabled the genomic characterization of large B-cell lymphomas (LBCL), identifying mutations, copy number variations, and recurrent fusion genes. This advance has motivated the development of specific recommendations for its clinical application. **Objective:** To develop a consensus guideline defining the priority genes and genetic alterations to be assessed by NGS in LBCL. **Material and method:** The Molecular Biology Group in Hematology (GBMH), in collaboration with a panel of experts, reviewed recent literature and the main international classifications (World Health Organization, International Consensus Classification y European LeukemiaNet). Through structured discussion and consensus, genes and chromosomal regions of greatest clinical relevance were selected and categorized into levels of evidence (mandatory, recommended, and optional) based on their diagnostic, prognostic, and therapeutic utility. **Results:** A panel of 60 genes and several structural alterations relevant to LBCL was agreed upon. The genomic associations with the described molecular subtypes are detailed, as well as their clinical value. The guideline provides practical recommendations for the implementation of targeted NGS panels in routine clinical practice, highlighting where their use may provide significant diagnostic and prognostic benefit. **Conclusions:** These recommendations constitute the first national consensus guideline for the application of targeted NGS panels in LBCL. Their adoption will promote the standardization of diagnostic practice and contribute to improved classification and management of patients.

Keywords: Large B-cell lymphoma. Next generation sequencing. Consensus guidelines.

Introducción

En estas recomendaciones hemos incluido todas las afecciones que se engloban principalmente dentro del linfoma B de células grandes (LBCG) y que se encuentran en la nueva clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y en la International Consensus Classification (ICC)^{1,2} (Tabla 1).

A continuación, entraremos a comentar algunas características de las más relevantes.

Linfoma B difuso de células grandes

El linfoma B difuso de células grandes (LBDCG) es el subtipo de linfoma no Hodgkin más frecuente en España; según el Registro Español de Linfomas, representa el 30-40% de los casos³. Comprende un grupo heterogéneo de afecciones biológicamente distintas que resultan de la proliferación clonal de una célula B maligna germinal o posgerminal. La enfermedad suele ser agresiva y el diagnóstico suele realizarse mediante biopsia de un ganglio linfático sospechoso o de un tumor extraganglionar en el que la arquitectura normal se ve sustituida por placas de células grandes que presentan tinción positiva para antígenos de células pan-B, como CD20 y CD79a. El tratamiento estándar del LBDCG sigue siendo la quimioinmunoterapia con R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona). Aunque esta modalidad es segura y eficaz, hasta un 45-50% de los pacientes sufren recaídas. Los estudios genómicos y transcriptómicos del LBDCG han identificado

subgrupos de pacientes con mal pronóstico con la quimioinmunoterapia.

CLASIFICACIÓN EN FUNCIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE EXPRESIÓN O GENÉTICOS

A lo largo de las dos últimas décadas, los esfuerzos multidisciplinarios de patólogos, científicos moleculares y clínicos han permitido identificar subtipos únicos de LBDCG en función de las células de origen (COO, *cell of origin*) o de las características moleculares. Estos sistemas de clasificación se utilizan ahora de manera sistemática para identificar pacientes con enfermedad de alto riesgo y peores resultados con los tratamientos iniciales, tradicionalmente R-CHOP y más recientemente Pola-R-CHP. A pesar de estos avances, en nuestro medio la tasa de recaída o refractariedad tras R-CHOP sigue situándose en torno al 40%⁴.

Célula de origen

Se evaluó el perfil de expresión génica de 96 linfocitos normales y de linfocitos de LBDCG y se identificaron tres firmas genéticas únicas con patrones distintos de mutaciones somáticas⁵. El LBDCG similar a las células B de centro germinal (GCB), que representa el 40-50% de los casos, tiene un perfil de expresión génica característico de las células B de centro germinal normales con heterogeneidad intraclonal, hipermutación somática y expresión de las proteínas CD10 y BCL6. El subtipo de células B activadas (ABC), que representa el 30-40% de los casos, tiene una

Tabla 1. Clasificaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la International Consensus Classification (ICC) de los linfomas B de células grandes

Clasificación OMS 5. ^a edición	ICC 2022
LBDCG NOS	LBDCG NOS (ABC/GCB)
Linfoma B de alto grado (LBAG) con alteraciones en 11q	LBCG con alteraciones en 11q
LBCG con reordenamiento en <i>IRF4</i>	LBCG con reordenamiento en <i>IRF4</i>
LBCG rico en células T	LBCG rico en células T
LBCG relacionado con una localización de tipo «santuario» de difícil acceso del sistema inmunitario. Incluye el SNC, de testículos y ocular	LBDCG del SNC y ocular LBDCG testicular
LBDCG primario cutáneo, de tipo pierna	LBDCG primario cutáneo, de tipo pierna
LBCG intravascular	LBCG intravascular
LBDCG asociado a sobrecarga de líquidos	Linfoma por derrame VEB y HHV8 negativos
LBCG VEB+	LBCG VEB+
LBDCG asociado a inflamación crónica	LBDCG asociado a inflamación crónica
LBCG asociado a fibrina	LBCG asociado a fibrina
Granulomatosis linfomatoide	Granulomatosis linfomatoide
LBCG ALK+	LBCG ALK+
Linfoma plasmablastico	Linfoma plasmablastico
LBDCG/LAG con <i>MYC/BCL2</i> reordenado LAG con <i>MYC/BCL2</i> reordenado	LAG con <i>MYC/BCL6</i> reordenado
LAG NOS	LAG NOS
Linfoma B primario mediastínico (PMBL)	Linfoma B primario mediastínico (PMBL)
Linfoma mediastínico de la zona gris (MGZL)	Linfoma mediastínico de la zona gris (MGZL)

HHV8: human herpes virus-8; LAG: linfoma de alto grado; LBCG: linfoma B de célula grande; LBDCG: linfoma B difuso de célula grande; MGZL: mediastinal grey zone lymphoma; NOS: not otherwise specified; PMBL: primary mediastinal B-cell lymphoma; SNC: sistema nervioso central; VEB: virus de Epstein-Barr.

expresión génica de células B posgerminales o activadas con alta expresión y actividad constitutiva del complejo del factor nuclear kappa B (NF- κ B), y expresión de las proteínas IRF4 y BCL2. El tercer subtipo es el no clasificado y representa el 10-15% de los

casos. La capacidad para realizar el perfil de expresión génica de manera sistemática en muestras frescas congeladas es limitada, y los algoritmos inmunohistoquímicos han sido el método más común para determinar la COO en la práctica clínica. El algoritmo de inmunohistoquímica desarrollado por Hans et al.⁶ y el algoritmo Tally⁷ son los más utilizados. Más recientemente, plataformas novedosas como Lymph2Cx permiten realizar el perfil de expresión génica en tejido fijado e incluido en parafina. Aunque su uso está restringido principalmente a la investigación, varios estudios han demostrado una mejor concordancia que con la inmunohistoquímica^{8,9}.

Características moleculares

En torno al 10-15% de los pacientes presentan reordenamiento del gen *MYC* (protooncogén localizado en el cromosoma 8q24)¹⁰, y aproximadamente la mitad de estos casos también presentan un reordenamiento del protooncogén antiapoptótico *BCL2* o de su represor de la transcripción *BCL6*. Estos reordenamientos genéticos se suelen identificar mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH). La presencia de *MYC* y *BCL2* concomitante se denomina doble *hit* (DH), reconocido en la clasificación más reciente de la OMS (HGBCL-DH, *high-grade B-cell lymphoma-double hit*)¹, y suele afectar al 8-10% de los casos, en general con un peor pronóstico. Además, también pueden presentar doble expresión (DEL), caracterizada por la sobreexpresión del oncogén *c-MYC* y *BCL2* detectada mediante inmunohistoquímica (≥ 40 y $> 50\%$, respectivamente). Los DEL representan aproximadamente un tercio de los casos *de novo* y tienen un pronóstico intermedio con terapia R-CHOP inicial. Los DEL también pueden detectarse hasta en el 50% de los casos de LBDCG refractarios recidivantes, que también se asocian a peores resultados con el tratamiento de rescate con quimioterapia¹¹. Cabe destacar que el GCB está enriquecido para los subtipos DH y el ABC para los DEL. Aunque históricamente se ha utilizado el concepto de «doble expresor» (o DEL), tanto la OMS como la ICC ya no lo incluyen ni recomiendan su uso en la clasificación actual. En relación con los reordenamientos de *BCL6*, existe una diferencia de criterio entre clasificaciones: la OMS no los considera dentro de la categoría de linfoma doble *hit*, mientras que la ICC los incluye de forma provisional como «HGBCL with *MYC* and *BCL6* rearrangements»^{1,2}. En resumen, estos datos ponen de manifiesto la necesidad de realizar de manera sistemática

Tabla 2. Subtipos genéticos en el linfoma B difuso de células grandes

Subtipos genéticos según Schmitz et al. ¹²	Genes incluidos	Subtipos genéticos según Chapuy et al. ¹³	Genes incluidos
EZB (relacionado con LBDCG GCB)	<i>BCL2t</i> <i>EZH2mut</i> <i>TNFRSF14mut/del</i> , <i>CREBBPmut</i> <i>EP300mut</i> <i>RELampl</i>	C3	<i>BCL2t</i> <i>BCL2mut</i> <i>EZH2mut</i> <i>CREBBPmut</i> <i>KMT2Dmut</i> <i>TNFRSF14mut/del</i>
BN2	<i>NOTCH2mut/ampl</i> <i>SPEMmut</i> <i>BCL6t</i> <i>TNFAIP3mut</i> <i>BCL10mut/ampl</i> <i>PRKCBmut/ampl</i>	C1 (relacionado con LBDCG ABC)	<i>BCL6t</i> <i>BCL10mut/ampl</i> <i>TNFAIP3mut</i> <i>UBE2Amut</i> <i>CD70mut</i> <i>B2Mmut</i> <i>NOTCH2mut</i> <i>MYD88mut</i> (no L265P)
MCD (relacionado con LBDCG ABC)	<i>MYD88</i> (L265P) mut <i>CD79A</i> o <i>B</i> mut/ampl <i>PIM1mut</i> <i>CDKN2Amut/del</i> <i>HLAmut/del</i>	C5	18q/18p ampl 3q ampl <i>CD79Bmut</i> <i>MYD88mut</i> <i>PIM1mut</i>
N1 (relacionado con LBDCG ABC)	<i>NOTCH1mut</i> <i>IRF4mut</i> <i>ID3mut</i>		
A53		C2	<i>TP53mut/del</i>
ST2		C4	<i>SGK1mut</i> <i>HIST1H1A-Emut</i> <i>NFKB1Emut</i> <i>BRAFmut</i> <i>CD83mut</i> <i>CD58mut</i>

GCB: subtipo de células B de centro germinal; ABC: subtipo de células B activadas.

estudios tanto de inmunohistoquímica como de FISH en el momento del diagnóstico y, preferentemente, también en el momento de la recidiva.

Subtipo genético

El uso de la secuenciación del exoma completo identificó además nuevos subtipos genéticos de enfermedad caracterizados por mutaciones frecuentemente recurrentes. Schmitz et al.¹² analizaron 574 muestras de biopsia de LBDCG previas al tratamiento e identificaron cuatro subtipos genéticos distintos de

enfermedad con diferentes mutaciones recurrentes de alta frecuencia. Estas categorías incluyen los subtipos MCD, BN2, N1 y EZB.

El subtipo MCD se caracteriza por la coocurrencia de mutaciones *MYD88* (L265P) y *CD79*, el subtipo BN2 por fusiones *BCL62* y mutaciones *NOTCH2*, el subtipo N1 por mutaciones *NOTCH1* frecuentes, y el subtipo EZB por la presencia de translocaciones *EZH2* y *BCL2*. Los subtipos MCD y N1 corresponden a los casos de tipo ABC, mientras que los subtipos BN2 y EZB corresponden al tipo GCB. Estos grupos presentan diferente respuesta a la terapia inicial. Los subtipos BN2 y EZB se correlacionan con buen pronóstico, mientras que los demás subtipos presentan un peor pronóstico. Por su parte, Chapuy et al.¹³ clasificaron 304 LBDCG primarios no tratados previamente en cinco grupos diferentes. Estos incluyen dos subtipos distintos: LBDCG-ABC de bajo riesgo (C1 asociado a mutaciones de *MYD88*), LBDCG-ABC de peor pronóstico (C5 que se asemeja al subtipo MCD con mutaciones de *MYD88*-L265P y *CD79*), un grupo independiente de ABC/GCB (C2 caracterizado por mutaciones y deleciones del cromosoma 17p) y, por último, un LBDCG-GCP de peor y mejor pronóstico (C3 y C4, respectivamente). Con posterioridad, el grupo del National Cancer Institute (NCI) refinó la clasificación de Schmitz et al.¹² incorporando dos nuevas categorías, ST2 y A53, que se corresponden con los grupos C4 y C2 descritos por Chapuy et al.¹³, respectivamente. Este trabajo también destacó la existencia de casos que no se ajustan de manera clara a ninguna categoría, subrayando la heterogeneidad biológica del LBDCG¹⁴.

Existen dos enfoques metodológicos principales para la clasificación de los subtipos genómicos: el análisis de clúster jerárquico (modelo Harvard), que permite clasificar la mayoría de las muestras, y el análisis probabilístico (modelo NCI), en el que aproximadamente un tercio de los casos quedan sin asignación definitiva. Para facilitar su aplicación en la práctica clínica, se ha desarrollado el algoritmo LymphGen, que permite asignar probabilísticamente casos individuales a los diferentes subtipos genéticos¹⁴:

- LBDCG primario del sistema nervioso central y primario testicular: comparten algunas características, como que suelen ser de tipo ABC y presentan con alta frecuencia alteraciones en *MYD88* y *CD79B*.
- Linfoma B de alto grado (LBAG) con alteraciones en 11q: se caracteriza por presentar características morfológicas, clínicas e inmunofenotípicas parecidas a las del linfoma de Burkitt, pero sin reordenamiento de *MYC*. Estos casos presentan alteraciones en 11q (ganancia de 11q23.2-23.3 y pérdidas de

11q24.1-qter) y, además, suelen tener mutaciones asociadas (*GNAI3*).

- LBCG con reordenamiento de *IRF4*: suele afectar a niños y adolescentes, y tiene un curso favorable. La determinación del reordenamiento se suele realizar mediante técnicas de FISH. No incluye los casos que además presentan reordenamiento de *MYC* o *BCL2*.
- LBAG: morfológicamente presenta características más blastoides y suele ser habitual que muestre reordenamientos de *MYC*, *BCL2* y *BCL6*. Los pacientes con reordenamiento de *MYC/BCL2* tienen un perfil molecular más parecido al linfoma folicular (*CREBBP*, *BCL2*, *KMT2D*, *MYC*, *EZH2* y *FOXO*). Los pacientes con reordenamiento de *MYC/BCL6* suelen presentar afectación extranodal y peor pronóstico. Por último, los LBAG NOS (*not otherwise specified*) son poco frecuentes, muestran una gran heterogeneidad molecular y aproximadamente la mitad suelen tener reordenamiento de *MYC*.
- Linfoma primario mediastínico (PMBL, *primary mediastinal B-cell lymphoma*): es un linfoma de células B poco frecuente y agresivo que surge en las células B tímicas. Representa alrededor del 2-3% de los linfomas no Hodgkin difusos de células grandes B, aunque comparte características clínicas, morfológicas y moleculares con el subtipo de esclerosis nodular del linfoma de Hodgkin clásico. Los reordenamientos de *BCL2*, *BCL6* y *MYC* son raros. Destaca la presencia de reordenamientos o mutaciones en *CIITA* hasta en el 53% de los casos. Las translocaciones que involucran a *CIITA* ocurren con *CD274* (también llamado *PDCD1LG1* o *PDL1*) y *PDCD1LG2* (también llamado *PDL2*). Las alteraciones en *CIITA* y las ganancias en el número de copias y la amplificación del locus *PDL* ocurren en un 29-70% de los casos de PMBL. El perfil genómico también contiene ganancias en el cromosoma 2p16.1 (en torno al 50% de los casos). Las ganancias que involucran a los cromosomas Xp11.4-21, Xq24-26, 7q22, 12q31 y 9q34 también se observan en aproximadamente un tercio de los casos.

Utilidad clínica de los paneles de secuenciación masiva (NGS, *next-generation sequencing*) en el linfoma B difuso de células grandes

Clasificación genética de los pacientes, basada en las publicaciones^{12,13}

Como se ha comentado en la introducción, existen dos publicaciones relevantes en las que se agrupa a

los pacientes según las alteraciones genéticas, con impacto pronóstico. En la **tabla 2** se muestran los genes más relevantes de cada uno de los grupos.

Los pacientes que pertenecen a los subgrupos C1 y C4 tienen mejor pronóstico que los pacientes que se clasifican en C2, C3 y C5. Por otro lado, los pacientes que se clasifican como N1 y MCD presentan peor pronóstico que aquellos que se clasifican como EZB o B2N.

A continuación, se muestran las características biológicas y de tratamiento de cada uno de los subgrupos.

C3/EZB

La mayoría presentan translocación o mutaciones en *BCL2*. También presentan alteraciones en modificadores de la cromatina, en factores de transcripción y de diferenciación B, y en modificadores indirectos de la señalización BCR y PI3K, por lo que podrían beneficiarse de inhibidores de *EZH2*, *BCL2*, *PI3K* y *BCR*.

BN2/C1

La alteración más frecuente es el reordenamiento *BCL6* en combinación con *NOTCH2*. Además, presentan alteraciones en la vía de señalización de NF- κ B (*BCL10*, *TNFAIP3* y *FAS*). Por otro lado, aparecen alteraciones genéticas relacionadas con la evasión inmunitaria, como son los genes *B2M*, *CD70*, *FAS* y *PD-L1* o *PD-L2*. La mayoría son clasificados como LBDCG-ABC mediante el perfil transcripcional; un 25% de los casos presentan mutaciones en *MYD88* no L265P.

Este subtipo genético, a diferencia del C5, no tiene actividad citidina desaminasa, confirmado su origen extrafolicular y una menor ratio de hipermutación somática *IGH*, por lo que podría beneficiarse de tratamientos relacionados con la alteración de la señalización de *NOTCH* y *BCL6*, además de la evasión inmunitaria.

MCD/C5

En este grupo suelen aparecer ganancias en 18q que producen aumento de la expresión de *BCL2* o *MALT1*. Además, suelen tener mutaciones en *CD79B* y *MYD88* (L265P), alteraciones asociadas a LBDCG-ABC (COO). Las características genéticas de este grupo suelen asociarse a linfoma primario del sistema nervioso central y testicular. Esto podría sugerir que este subtipo genético se asocia a tropismo extranodal. Por otro

Tabla 3. Genes más relevantes relacionados con el linfoma B difuso de células grandes que se recomiendan incluir en el panel de secuenciación masiva (NGS, *next generation sequencing*) para el estudio de variaciones de nucleótido simple y pequeñas *indel* en regiones codificantes y en zonas de *splicing*

Alteraciones	Valor clínico	Grado de evidencia
<i>B2M</i>	Diagnóstico (C1), pronóstico	Recomendable
<i>BCL2</i>	Diagnóstico (GCB), tratamiento	Recomendable
<i>BCL10</i>	Diagnóstico (C1), pronóstico	Recomendable
<i>BRAF</i>	Diagnóstico (C4), pronóstico	Recomendable
<i>CARD11</i>	Diagnóstico (ABC), pronóstico	Recomendable
<i>CD58</i>	Diagnóstico (C4), pronóstico	Recomendable
<i>CD70</i>	Diagnóstico (X1), pronóstico	Recomendable
<i>CD79A</i>	Diagnóstico (MCD/C5), pronóstico	Recomendable
<i>CD79B</i>	Diagnóstico (MCD/C5), pronóstico	Recomendable
<i>CD83</i>	Diagnóstico (C4), pronóstico	Recomendable
<i>CDNK2A</i>	Diagnóstico (MCD/C5), pronóstico	Recomendable
<i>CREBBP</i>	Diagnóstico (EZB/C3), pronóstico	Recomendable
<i>EP300</i>	Diagnóstico (C3/EZB), pronóstico	Recomendable
<i>EZH2</i>	Diagnóstico (C3/EZB), pronóstico, tratamiento	Recomendable
<i>GNA13</i>	Diagnóstico (PMBL)	Recomendable
<i>HIST1H1</i> familia (B-E)	Diagnóstico (C4), pronóstico	Recomendable
<i>ID3</i>	Diagnóstico (N1), pronóstico	Recomendable
<i>IL4R</i>	Diagnóstico	Recomendable
<i>IRF4</i>	Diagnóstico (N1), pronóstico	Recomendable
<i>ITPKB</i>	Diagnóstico (SNC)	Recomendable
<i>KMT2D</i>	Diagnóstico (EZB/C3), pronóstico	Recomendable
<i>MYD88</i> L265P	Diagnóstico (C1), pronóstico, tratamiento	Recomendable
<i>MYD88</i>	Diagnóstico (C5/MCD), pronóstico, tratamiento	Recomendable
<i>NFKBIE</i>	Diagnóstico (C4), pronóstico	Recomendable
<i>NOTCH1</i>	Diagnóstico (N1), pronóstico	Recomendable

(Continúa)

Tabla 3. Genes más relevantes relacionados con el linfoma B difuso de células grandes que se recomiendan incluir en el panel de secuenciación masiva (NGS, *next generation sequencing*) para el estudio de variaciones de nucleótido simple y pequeñas *indel* en regiones codificantes y en zonas de *splicing* (continuación)

Alteraciones	Valor clínico	Grado de evidencia
<i>DDX3X</i>	Diagnóstico	Opcional
<i>DTX1</i>	Pronóstico	Opcional
<i>DUSP2</i>	Diagnóstico	Opcional
<i>EBF1</i>	Pronóstico	Opcional
<i>ETS1</i>	Diagnóstico, pronóstico	Opcional
<i>ETV6</i>	Pronóstico	Opcional
<i>FAS</i>	Pronóstico	Opcional
<i>FOXO1</i>	Diagnóstico, pronóstico y tratamiento	Opcional
<i>GNAI2</i>	Diagnóstico (GCB), pronóstico	Opcional
<i>HVCN1</i>	Diagnóstico, pronóstico	Opcional
<i>IGLL5</i>	Diagnóstico (DH)	Opcional
<i>IRF8</i>	Diagnóstico	Opcional
<i>JUNB</i>	Diagnóstico	Opcional
<i>KLF2</i>	Diagnóstico, pronóstico	Opcional
<i>KLHL6</i>	Pronóstico	Opcional
<i>KLHL14</i>	Pronóstico	Opcional
<i>KRAS</i>	Pronóstico	Opcional
<i>MEF2B</i>	Diagnóstico, pronóstico	Opcional
<i>MYC</i>	Diagnóstico (DH)	Opcional
<i>NFKBIA</i>	Diagnóstico, pronóstico	Opcional
<i>PTEN</i>	Diagnóstico, pronóstico	Opcional
<i>STAT3</i>	Pronóstico	Opcional
<i>TBL1XR1</i>	Pronóstico	Opcional
<i>TMEM30A</i>	Pronóstico	Opcional
<i>ZNF217</i>	Diagnóstico	Opcional

ABC: subtipo de células B activadas; DH: doble *hit*; GCB: subtipo de células B de centro germinal; PMBL: *primary mediastinal B-cell lymphoma*; SNC: sistema nervioso central.

Subtipos genéticos C1-C5 según Schmitz et al.¹², y subtipos B2N, EZB, N1, ST2, A53, X1 o MCD según Chapuy et al.¹³.

lado, presentan una alta actividad de citidina desaminasa e hipermutación somática de *IGH*, lo que indica que han pasado por el centro germinal.

Tabla 4. Alteraciones estructurales más relevantes relacionadas con el linfoma B difuso de células grandes que se recomiendan incluir en el panel de secuenciación masiva (NGS, *next generation sequencing*)

Alteraciones estructurales	Valor clínico	Grado de evidencia
<i>NOTCH2</i>	Diagnóstico (BN2/C1), pronóstico	Recomendable
<i>PIM1</i>	Diagnóstico (C5/MCD), pronóstico	Recomendable
<i>PTPN1</i>	Diagnóstico (PMBL)	Recomendable
<i>PRDM1</i>	Diagnóstico (ABC), pronóstico	Recomendable
<i>PRKCB</i>	Diagnóstico (BN2), pronóstico	Recomendable
<i>RHOA</i>	Diagnóstico (GCB), pronóstico	Recomendable
<i>SGK1</i>	Diagnóstico (C4), pronóstico	Recomendable
<i>SOCS1</i>	Diagnóstico (PMBL), pronóstico	Recomendable
<i>SPEN</i>	Diagnóstico (BN2/C1), pronóstico	Recomendable
<i>STAT6</i>	Diagnóstico (PMBL), pronóstico	Recomendable
<i>TNFAIP3</i>	Diagnóstico (C1) (PMBL), pronóstico, tratamiento	Recomendable
<i>TNFRSF14</i>	Diagnóstico (C3/EZB), pronóstico	Recomendable
<i>TP53</i>	Diagnóstico (C2), pronóstico, tratamiento	Recomendable
<i>UBE2A</i>	Diagnóstico (C1), pronóstico	Recomendable
<i>XP01</i>	Diagnóstico (PMBL), pronóstico	Recomendable
<i>ARID1A</i>	Pronóstico	Opcional
<i>BCL6</i>	Diagnóstico	Opcional
<i>BCL11A</i> (ampl)	Diagnóstico (PMBL)	Opcional
<i>BCOR</i>	Pronóstico	Opcional
<i>BTG1</i>	Pronóstico	Opcional
<i>BTG2</i>	Diagnóstico, pronóstico	Opcional
<i>CCND1</i>	Diagnóstico (SNC)	Opcional
<i>CCND3</i>	Diagnóstico (DH)	Opcional
<i>CITTA</i>	Pronóstico	Opcional

(Continúa)

Tabla 4. Alteraciones estructurales más relevantes relacionadas con el linfoma B difuso de células grandes que se recomiendan incluir en el panel de secuenciación masiva (NGS, *next generation sequencing*) (continuación)

Alteraciones estructurales	Valor clínico	Grado de evidencia
Fusiones <i>BCL2t</i>	Diagnóstico (C3/EZB), pronóstico, tratamiento	Obligatorio
<i>BCL6t</i>	Diagnóstico (C1/BN2)	Obligatorio
<i>MYCt</i>	Diagnóstico, pronóstico	Obligatorio
<i>ALK</i>	Diagnóstico (PMBL)	Obligatorio
<i>CITTA</i>	Diagnóstico	Recomendable
<i>IRF4</i>	Diagnóstico	Recomendable
<i>PDL1, PDL2</i>	Diagnóstico, pronóstico	Recomendable
<i>PDCD11G2/CD274</i>	Diagnóstico	Opcional
<i>PAX5</i>	Diagnóstico	Opcional
<i>CNVs</i>		
Amplificaciones Trisomía cr3 o 3q ampl 4q22-24q (inserc <i>ALK</i>) 9p24 (<i>PDL1, PDL2</i>)	Diagnóstico (C5), pronóstico	Recomendable
11q Trisomía 18, 18q ampl 4q (ampl)	Diagnóstico (C5), pronóstico	Recomendable
Trisomía 5 Trisomía 6 12p	Pronóstico	Opcional
Trisomía 21	Pronóstico	Opcional
Deleciones 11q 6q (<i>BLIMP1</i>)	Diagnóstico	Recomendable
7q 8p 9p21.3 (<i>CDKN2A/B</i>) 13q	Diagnóstico, pronóstico	Opcional
17p (del)	Diagnóstico, pronóstico	Opcional

CNV: *copy number variation*; DH: *doble hit*; PMBL: *primary mediastinal B-cell lymphoma*.
 Subtipos genéticos C1-C5 según Schmitz et al.¹², y subtipos B2N, EZB, N1, ST2, A53, X1 o MCD según Chapuy et al.¹³.

N1

Se caracteriza por alteraciones en *NOTCH1* y en genes reguladores de la transcripción de células B (*IRF4*, *ID3* o *BCOR*) que pueden contribuir al fenotipo plasmocítico.

C2

Suele presentar inactivación de *TP53* por alteraciones bialélicas (mutaciones en *TP53* y delección 17p). Además, suele asociar pérdida de 9p21.13/*CDKN2A* y 13q14.2/*RB1*, lo que perturba la estabilidad cromosómica y el ciclo celular. Este subtipo incluye pacientes tanto ABC como GCB.

C4

Se asocia a alteraciones genéticas en genes de las histonas, modificadores de la cromatina, moléculas de evasión inmunitaria (*CD83*, *CD58* y *CD70*), señalización de BCR/PI3K (*RHOA*, *GNA13* y *SGK1*), modificadores NF- κ B (*RHOA*, *GNA13* y *SGK1*) y vía de señalización de RAS/JAK/STAT (*BRAF*, *STAT3*). La mayor parte de los pacientes son LBDCG-GCB. Al presentar mutaciones en histonas puede aumentar la ratio de mutaciones debido a la apertura de la cromatina y, por lo tanto, a una mayor exposición del ADN.

Como ejemplo reciente de la aplicación clínica del tratamiento individualizado basado en la caracterización molecular, cabe mencionar el ensayo GUIDANCE-01, en el que la asignación terapéutica se realizó en función del subtipo genético del LBDCG identificado mediante NGS, demostrando la viabilidad de este enfoque en la práctica clínica¹⁵.

Perfil genómico en función de las afecciones descritas¹⁶

En la tabla suplementaria 1 se muestran las alteraciones genómicas más frecuentes de las diferentes afecciones de los pacientes con LBDCG. La determinación de estas alteraciones genéticas puede ayudar a clasificar mejor este tipo de pacientes.

Aspectos metodológicos relevantes en el estudio genético del linfoma B difuso de células grandes

Momento de estudio

El estudio debe realizarse en el momento del diagnóstico y ante el fallo de diferentes líneas de tratamiento (recaída o refractariedad primaria o secundaria al tratamiento).

Estudios para realizar

El estudio de los reordenamientos de *MYC*, *BCL2*, *BCL6* e *IRF4* se lleva a cabo tradicionalmente mediante

FISH. Por el momento, el estudio de estos reordenamientos no está estandarizado para realizarlo mediante NGS, pues aunque existen algunas publicaciones recientes que indican que técnicamente parece ser posible¹², son necesarias nuevas validaciones para confirmar estos resultados y extenderlo a su uso clínico. El estudio de un panel de NGS en el que se incluyan los genes más relevantes puede ayudar al diagnóstico de las diferentes enfermedades y a establecer un pronóstico.

Una estrategia práctica consiste en combinar paneles de variación de nucleótido simple (SNV, *single nucleotide variant*) con estudios de FISH para la detección de reordenamientos relevantes. Alternativamente, el uso de paneles de captura permite analizar de manera simultánea SNV, traslocaciones y variaciones en el número de copias¹⁷, optimizando así el rendimiento clínico de las plataformas de NGS.

Es importante señalar que, de acuerdo con la clasificación de la OMS y la ICC, la caracterización genética mediante subtipos no es todavía un requisito diagnóstico para los LBDCG. No obstante, disponer de estudios moleculares más extensos y pormenorizados utilizando plataformas de NGS es altamente recomendable, ya que aporta información pronóstica y puede orientar estrategias terapéuticas futuras.

Estudios recomendados mediante el empleo de paneles de NGS en el linfoma B difuso de células grandes

Después de realizar una revisión de la bibliografía, el grupo de LBDCG ha consensuado una lista de 60 genes (Tabla 3) y regiones cromosómicas (Tabla 4). En la tabla suplementaria se incluyen mutaciones –SNV y pequeñas inserciones y delecciones (*indel*)– en regiones codificantes y en zonas de *splicing* en 60 genes, descritas previamente en el LBDCG.

Conclusión

El desarrollo de nuevas tecnologías genómicas, como la NGS, nos está ayudando a entender mejor la biología de los linfomas. En los últimos años se han publicado varios artículos que indican que la determinación de las alteraciones genéticas en los LBDCG está cobrando mayor importancia para el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento de los pacientes. Poco a poco, los paneles de genes para esta patología irán incorporándose a la actividad asistencial diaria. Resulta fundamental, por tanto, potenciar la implementación de

la NGS en la práctica clínica habitual, de manera que los distintos centros puedan contar con esta herramienta y contribuir a su consolidación e integración en la asistencia oncohematológica.

Agradecimientos

A la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia por su apoyo en la publicación de estas guías.

Financiamiento

Longwood Diagnostics apoyó la producción de las guías.

Conflicto de intereses

D. Colomer-Pujol ha recibido honorarios de ThermoFisher, SOPHiA Genetics y AstraZeneca. M.T. Gómez-Casares recibió honorarios por su participación como ponente, consultora o asesora de Novartis, Roche, GSK, Pfizer y BMS, así como subvenciones para investigación de Novartis, Astellas e Incyte. Los demás autores declaran no tener conflictos de intereses.

Consideraciones éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad, consentimiento informado y aprobación ética. El estudio no involucra datos personales de pacientes ni requiere aprobación ética. No se aplican las guías SAGER.

Declaración sobre el uso de inteligencia artificial. Los autores declaran que no utilizaron ningún tipo de inteligencia artificial generativa para la redacción de este manuscrito.

Material suplementario

El material suplementario se encuentra disponible en DOI: 10.24875/SANGRE.25000014. Este material es provisto por el autor de correspondencia y publicado online

para el beneficio del lector. El contenido del material suplementario es responsabilidad única de los autores.

Referencias

1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IBO, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36:1720-48.
2. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martínez L, Swerdlow SH, Anderson KC, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022;140:1229-53. Erratum in: *Blood*. 2023;141:437.
3. Bastos-Oreiro M, Muntanola A, Panizo C, González-Barca E, de Villambrosia SG, Córdoba R, et al. RELINF: prospective epidemiological registry of lymphoid neoplasms in Spain. A project from the GELTAMO group. *Ann Hematol*. 2020;99:799-808.
4. Tilly H, Morschhauser F, Sehn LH, Friedberg JW, Trnčny M, Sharman JP, et al. Polatuzumab vedotin in previously untreated diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2022;386:351-63.
5. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403:503-11.
6. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103:275-82.
7. Meyer PN, Fu K, Greiner TC, Smith LM, Delabie J, Gascoyne RD, et al. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *J Clin Oncol*. 2011;29:200-7.
8. Scott DW, Mottok A, Ennishi D, Wright GW, Farinha P, Ben-Neriah S, et al. Prognostic significance of diffuse large B-cell lymphoma cell of origin determined by digital gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue biopsies. *J Clin Oncol*. 2015;33:2848-56.
9. Gutiérrez-García G, Cardesa-Salzmann T, Climent F, González-Barca E, Mercadal S, Mate JL, et al. Grup per l'Estudi dels Limfomes de Catalunya I Balears (GELCAB). Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood*. 2011;117:4836-43.
10. Allahyar A, Pieterse M, Swennenhuis J, Losde Vries GT, Yilmaz M, Leguit R, et al. Robust detection of translocations in lymphoma FFPE samples using targeted locus capture-based sequencing. *Nat Commun*. 2021;12:3361.
11. Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S, Connors JM, Sehn LH, Farinha P, et al. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood*. 2009;114:3533-7.
12. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, Johnson CA, Phelan JD, Wang JQ, et al. Genetics and pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2018;378:1396-407.
13. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, Kim J, Kamburov A, Redd RA, et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med*. 2018;24:679-90. Erratum in: *Nat Med*. 2018;24(8):1292. Erratum in: *Nat Med*. 2018;24(8):1290-1291.
14. Wright GW, Huang DW, Phelan JD, Coulibaly ZA, Roulland S, Young RM, et al. A probabilistic classification tool for genetic subtypes of diffuse large B cell lymphoma with therapeutic implications. *Cancer Cell*. 2020;37:551-68.e14.
15. Zhang MC, Tian S, Fu D, Wang L, Cheng S, Yi HM, et al. Genetic subtype-guided immunochemotherapy in diffuse large B cell lymphoma: The randomized GUIDANCE-01 trial. *Cancer Cell*. 2023;41:1705-16.e5.
16. Onaindia A, Santiago-Quispe N, Iglesias-Martínez E, Romero-Abrio C. Molecular update and evolving classification of large B-cell lymphoma. *Cancers (Basel)*. 2021;13:3352.
17. Stewart JP, Gazdova J, Darzentas N, Wren D, Proszek P, Fazio G, et al. Validation of the EuroClonality-NGS DNA capture panel as an integrated genomic tool for lymphoproliferative disorders. *Blood Adv*. 2021;5:3188-98.