

# GRADO de MEDICINA

*Trabajo Fin de Grado*

## “LINFOMAS B AGRESIVOS: SERIE de CASOS y REVISIÓN CLÍNICO-TERAPÉUTICA”

---

“Aggressive B Lymphomas: Case Series and Clinical-  
Therapeutic Review”

Autor: ANA MARÍA GUALLAR MARQUÉS  
Director: LUIS ANTONIO LÓPEZ GÓMEZ

Universidad de Zaragoza. Facultad de Medicina.  
Curso 2017 - 2018



**Universidad**  
Zaragoza



## ÍNDICE

RESUMEN .....	5
ABSTRACT .....	7
INTRODUCCIÓN .....	9
MATERIAL y MÉTODO .....	10
GENERALIDADES.....	11
ETIOLOGÍA y FACTORES de RIESGO.....	12
HISTOPATOLOGÍA.....	13
TÉCNICAS MOLECULARES.....	14
ALTERACIONES GENÉTICAS .....	15
CLASIFICACIÓN OMS (2016) .....	18
CLÍNICA.....	20
DIAGNÓSTICO.....	20
ESTADIAJE.....	21
PRONÓSTICO .....	23
TRATAMIENTO.....	25
RESULTADOS .....	29
Datos Clínicos y Demográficos .....	29
Datos Biológicos .....	30
Datos Analíticos.....	31
Evolución .....	31
DISCUSIÓN .....	33
SEGUIMIENTO .....	37
RECAÍDA/REFRACTARIEDAD.....	37
CONCLUSIONES .....	41
BIBLIOGRAFÍA.....	43



## **RESUMEN**

**Fondo:** Desde 1997, el protocolo R-CHOP (ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, prednisona y rituximab) se ha mantenido como tratamiento estándar del linfoma B difuso de células grandes (DLBCL). Sin embargo, estudios posteriores desarrollaron el protocolo R-EPOCH (ciclofosfamida, doxorrubicina, etopósido, vincristina, prednisona y rituximab), caracterizado por ser un protocolo dinámico, basado en la terapia infusional prolongada y un sistema de escalada de dosis, con resultados prometedores, especialmente, en pacientes de alto riesgo. Se propone la evaluación de la respuesta a R-EPOCH mediante un estudio descriptivo retrospectivo de una serie casos de linfomas B de alto riesgo. Además de una revisión clínico-terapéutica breve del DLBCL.

**Método:** La serie incluyó 29 casos tratados con R-EPOCH, mayoritariamente DLBCL, no tratados previamente, con una mediana de edad de 48 años (rango 16 a 76 años), y factores de mal pronóstico: estadio  $\geq$  III (86,2%), masa bulky > 7,5 cm (44,83%) e IPI de alto/alto-intermedio (71,43%). También se valoraron la expresión de biomarcadores e índice de proliferación.

**Resultados:** La media de tiempo de seguimiento fue de 5,39 años, la supervivencia global se mantuvo en 79,40% a los 6 años, mientras la supervivencia libre de eventos se mantuvo en 78,78% a los 2 años. Las remisiones completas fueron de 89,65%, con un porcentaje de recaída del 11,54%. En algunos casos se incluyó tratamiento quimioterápico, radioterapia y TASPE complementarios a R-EPOCH. El total de defunciones supuso del 17,24%, siendo en su totalidad pacientes que recayeron o no alcanzaron remisión completa tras tratamiento de 1º línea. En ningún caso se mostraron eventos tóxicos de gravedad.

**Conclusiones:** Al igual que estudios previos, nuestros datos han demostrado una buena eficacia del protocolo R-EPOCH en linfomas B de alto riesgo, manteniendo una toxicidad tolerable. Por lo tanto, R-EPOCH podría ser una buena alternativa en este grupo de pacientes. Sin embargo, serán necesarios ensayos clínicos randomizados de gran tamaño para comparar la eficacia entre R-CHOP y R-EPOCH. La mortalidad en enfermedad refractaria o recaída es elevada, lo que muestra una escasa eficacia de los tratamientos de segunda línea. La expresión de biomarcadores y el índice de proliferación elevado no se asociaron a peor pronóstico.

**Palabras Clave:** Linfoma difuso de células B grandes, no tratados previamente, revisión, serie de casos, pacientes alto riesgo, dosis ajustada R-EPOCH (rituximab, etopósido, prednisona, vincristina, ciclofosfamida y doxorrubicina).



## **ABSTRACT**

**Background:** Since 1997, R-CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone, and rituximab) has been the standard treatment as first-line therapy for patients with diffuse large-B-cell lymphoma (DLBCL). However, later studies developed a dose-intensive regimen, R-EPOCH (cyclophosphamide, doxorubicin, etoposide, vincristine, prednisone and rituximab). This is a dynamic protocol based on continuous-infusion schedules and a dose-adjustment strategy, which showed promising results, especially, in high-risk lymphomas. We conducted a retrospective, descriptive study to evaluate the response of a case series of high-risk B-cell lymphomas treated with R-EPOCH. In addition, we included a brief clinical-therapeutic review of the DLBCL.

**Methods:** The study included 29 untreated patients previously, mostly DLBCL, with a median age of 48,72 years (range 16-76), and high risk factors: 86,2% had stage  $\geq$  III, 44,83% had bulky disease ( $>7,5$  cm), and 71,43% was high or high-intermediate IPI risk group. The expression of biomarkers (BCL2, BCL6, C-MYC) and proliferation index (ki67) were also evaluated.

**Results:** The mean follow up was 5,39 years, overall survival was 79,40% at 6 years and beyond, while event-free survival was 78,78% at 2 years and beyond. There was complete response in 89,65% of patients, with a relapse rate of 11,54%. Some cases received complementary treatment with chemotherapy, radiotherapy or autologous stem cell transplant (ASCT). The total of deaths accounted for 17,24% of patients. All of them had relapsed disease, refractory disease or partial response to first-line treatment. No patient suffered from serious toxic effects.

**Conclusions:** These results agree with previous studies. R-EPOCH is effective in high-risk lymphomas, with tolerable toxicity. Therefore, R-EPOCH could be a good alternative treatment in this group of patients. However, large randomized clinical trials will be needed to compare the efficacy between R-CHOP and R-EPOCH. Cases with relapsed or refractory disease have a high mortality, so second-line treatment is not very effective. The expression of biomarkers or high proliferation index is not associated with prognosis significance.

**Key words:** Diffuse large B-cell lymphoma, untreated, review, case series, high-risk, dose-adjusted R-EPOCH (cyclophosphamide, doxorubicin, etoposide, vincristine, prednisone and rituximab).



## **INTRODUCCIÓN**

Los linfomas no Hodgkin suponen el séptimo cáncer más frecuente a nivel mundial, y de entre ellos, el 30-58% son linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), el cual, es considerado el principal modelo de linfoma agresivo. Desde hace 21 años que apareció el Rituximab, el protocolo R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y prednisolona) se ha mantenido como el tratamiento estándar, demostrando en gran número de estudios la mejoría de los resultados respecto a CHOP (Coiffier et al, 2002)<sup>(4)</sup> (Coiffier et al, 2010)<sup>(5)</sup> (Pfreundschuh et al, 2011)<sup>(21)</sup>. Desgraciadamente, todavía un tercio de los pacientes recaen en la enfermedad o son refractarios al tratamiento. Por lo tanto, algunos estudios han demostrado que todavía hay espacio para la mejora de los tratamientos, especialmente en los grupos de riesgo alto (Zhou et al, 2013)<sup>(39)</sup>. Se han planteado nuevos protocolos más agresivos, como el ACVBP, basados en una intensificación de la dosis y la combinación de medicamentos sin resistencia cruzada. Sin embargo, la alta toxicidad a corto y largo plazo limita su uso (Tilly et al, 2003)<sup>(30)</sup>. Estudios “in vitro” mostraron que la muerte celular en tumores de rápida proliferación era mayor ante dosis bajas de citostáticos con exposición prolongada. Basándose en esta idea, tras varios estudios se desarrolló el protocolo DA-EPOCH-R, el cual, incluye el Etopósido al protocolo estándar, y se caracteriza por ser un protocolo de infusión prolongada con un sistema de ajuste de dosis en base a la neutropenia (Wilson et al, 2012)<sup>(35)</sup>. Algunos estudios posteriores han mostrado la eficacia y toxicidad asumible del protocolo R-EPOCH, especialmente en pacientes de alto riesgo (García-Suárez et al, 2007)<sup>(10)</sup> (Purroy et al, 2014)<sup>(22)</sup>. En este estudio se plantea un análisis estadístico descriptivo retrospectivo de una serie de 29 casos de linfomas B de alto riesgo tratados con R-EPOCH, cuya finalidad es valorar si los resultados del protocolo R-EPOCH en nuestra serie concuerdan con la hipótesis de estudios previos. El objeto de estudio fueron la distribución de los principales factores demográficos, clínicos, biológicos, y analíticos en linfomas B de alto riesgo; y la eficacia de R-EPOCH mediante el nivel de respuesta y supervivencia que alcanzó la serie. Considerando que el linfoma mayoritario en nuestra serie es el DLBCL y ante la gran heterogeneidad que lo caracteriza, proponemos, además, una revisión bibliográfica de sus principales características clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas y genéticas, junto con las recomendaciones actuales de manejo terapéutico.

## **MATERIAL y MÉTODO**

**Diseño:** Para la realización de este trabajo se propone la realización de una búsqueda sistemática de las principales revisiones científicas respecto al DLBCL. Además, se propone la realización de un estudio descriptivo en base a una serie de casos diagnosticados de linfomas B de mal pronóstico, tratados consecutivamente con un esquema de alta intensidad (R-EPOCH).

**Estrategia de búsqueda:** se realizaron dos búsquedas de artículos científicos publicados en las principales revistas científicas internacionales localizadas en la base de datos de Pubmed. En primer lugar, se realizó una búsqueda para la revisión del linfoma difuso de células B grandes. Dicha búsqueda se limitó a revisiones de los últimos 5 años, únicamente en inglés. La búsqueda se realizó con lenguaje controlado mediante términos MeSH y términos no controlados: ("Lymphoma, Non-Hodgkin"[Mesh]) AND "Lymphoma, Large B-Cell, Diffuse"[Mesh]) NOT "Plasmablastic Lymphoma"[Mesh] NOT "Cutaneous primary B-cell lymphomas" NOT "central nervous system" NOT "Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma". Ésta búsqueda se completó con una búsqueda de artículos de las principales revistas científicas electrónicas en español mediante el motor de búsqueda Alcorze. La búsqueda se limitó a artículos publicados en los 10 últimos años, únicamente en español. Las palabras clave utilizadas se basaron en lenguaje controlado mediante DeCS (descriptores en ciencias de la salud) y otros términos no controlados: "Linfoma de células B grandes difuso" NOT "plasmablástico" NOT "cutáneo" NOT "mediastínico" NOT "sistema nervioso central"

Posteriormente, se realizó una segunda búsqueda de artículos en Pubmed respecto al protocolo EPOCH, de nuevo únicamente en inglés, y sin límite de tiempo respecto al año de publicación, solo mediante términos no controlados: "EPOCH" AND "Lymphoma non-hodgkin". La selección de pacientes incluidos en la serie de casos fue realizada por especialistas en hematología y hemoterapia del servicio de hematología del hospital Royo Villanova.

**Criterios de inclusión y exclusión:** en la primera búsqueda en Pubmed y Alcorze se incluyeron revisiones, meta-análisis, y guías clínicas, todos ellos revisados por expertos; excluyéndose ensayos y casos clínicos. La búsqueda se limitó a documentos disponibles de manera completa en internet, en inglés y en español respectivamente, limitados a los últimos 5 años en Pubmed y a los últimos 10 años en Alcorze. De la bibliografía encontrada se excluyeron todos aquellos que no pertenecieran a la temática del trabajo, o cuyas conclusiones se basan en una muestra poblacional concreta sin posibilidad de aplicarse a la población general. En la mayoría de artículos que fueron excluidos fue debido a que se trataban de estudios descriptivos con una revisión de la literatura breve. En la segunda búsqueda en Pubmed se incluyeron todos los

tipos de artículos que dispusieran de texto completo online, sin límite de tiempo respecto al año de publicación y únicamente en inglés.

En la selección de pacientes se valoraron todos los casos con diagnóstico de linfoma de alto grado de malignidad, mayoritariamente, linfoma de célula grande difuso B, objetivado en biopsia y cuyo seguimiento se haya realizado en el hospital Royo Villanova. De todos los casos valorados se incluyeron finalmente según los criterios de inclusión: haber sido tratado con el protocolo R-EPOCH, mayor de 16 años en el momento de diagnóstico, y presencia de criterios de agresividad (estadios III-IV, presencia masa bulky > 7,5 cm de diámetro, IPI  $\geq$  2, NCCN-IPI  $\geq$  2, o afectación SNC). Los criterios de exclusión fueron: presencia de comorbilidades graves o síntomas clínicos no atribuibles al linfoma.

**Extracción de datos:** En la búsqueda inicial en Pubmed se obtuvieron 117 resultados, de ellos según el título o resumen se descargaron 51, de los cuales solo fueron utilizados en la elaboración del trabajo 13. En la búsqueda en Alcorze se obtuvieron 13 resultados, se leyó título o resumen, de los cuales solo fueron utilizados en la elaboración del trabajo 2. En la segunda búsqueda de Pubmed se obtuvieron 35 resultados, de los cuales fueron utilizados en la elaboración el trabajo 24.

Los datos médicos de los pacientes incluidos en la serie de datos fueron obtenidos manualmente con la revisión de las historias clínicas completas archivadas en el hospital Royo Villanova.

**Análisis de los datos:** el conjunto de estudios que se obtuvieron relativos al linfoma difuso de células B grandes se distribuyeron en grupos: generalidades, clasificación, pruebas diagnósticas y tratamiento. Los datos obtenidos de la revisión de historias clínicas fueron recogidos mediante una tabla Excel y se realizó el análisis estadístico mediante el programa SSPS v24.

## **GENERALIDADES**

Los linfomas son un conjunto de neoplasias hematológicas caracterizadas por la proliferación monoclonal de células linfoides: B (80-85%), T (10%) y menos común, NK <sup>(14)</sup>; en localizaciones linforreticulares (ganglios linfáticos, médula ósea, bazo, hígado y aparato digestivo).

Los linfomas se pueden agrupar en dos grandes grupos: Linfoma Hodgkin (LH) y Linfoma No Hodgkin (LNH). El LNH incluye más de 30 subtipos con características morfológicas, inmunofenotípicas, genéticas y clínicas diferentes <sup>(14)</sup>.

Actualmente, el **LNH supone el séptimo cáncer en incidencia en España** en ambos sexos, con 12,3 casos por cada 100.000 varones/año y 10,8 casos por cada 100.000 mujeres/año. Sin embargo, es el noveno en mortalidad en ambos sexos, suponiendo el 3% del total de muertes por cáncer. A pesar de que en los últimos años se ha mantenido estable la tasa de incidencia, la **mortalidad ha descendido un 3% al año desde los noventa**, manifestando la eficacia del tratamiento en los últimos años.<sup>(13)</sup>

La última clasificación de la OMS (2016) agrupa a los LNH según el origen celular (*Anexo 1*). Sin embargo, en la práctica clínica habitualmente se distribuyen según el comportamiento tumoral: indolentes, y agresivos (*Anexo 2*). Aquellos de escasa malignidad (indolentes) se caracterizan por un crecimiento lento, pero con tendencia a la diseminación extralinfática. Además, la baja mitosis de sus células contribuye a una menor sensibilidad a la quimioterapia, y paradójicamente, a una tasa de curación menor que las formas agresivas, dando lugar a un pronóstico de supervivencia prolongada pero con tendencia a sucesivas recidivas y posibilidad de transformación en formas agresivas. Mientras tanto, los tumores agresivos se caracterizan por una gran sintomatología inicial más acusada, un crecimiento rápido con presencia de visceromegalias y adenopatías de gran tamaño, y al igual que en los de escasa malignidad, tendencia a la diseminación. Sin embargo, a pesar de que su pronóstico sin tratamiento es peor que en los indolentes, posee mayor quimiosensibilidad que las formas menos agresivas, lo que aporta mayor tasa de curación.<sup>(17)</sup>

Dentro de los LNH B, se encuentra el **linfoma difuso de células B grandes (DLBCL)**. Se trata del **LNH más frecuente**, representando el **30%-58%** de los mismos, y es el principal prototipo de tumor agresivo. Su incidencia en Europa es 3,8 casos cada 100.000 personas-año, y al igual que en otros linfomas, se ha visto una aumento de su supervivencia en los últimos años gracias a las mejoras del tratamiento<sup>(31)</sup>. La incidencia es mayor en varones, y tiende a manifestarse entre la **sexta y séptima década de vida**, de forma que más de la mitad de los pacientes superan los 60 años<sup>(1)</sup>. Como consecuencia, el DLBCL es el linfoma maligno más frecuente de la edad adulta, y supone un reto terapéutico<sup>(17)</sup>

## **ETIOLOGÍA y FACTORES de RIESGO**

Anteriormente hablamos que los linfomas indolentes poseen una mayor supervivencia, pero también mayor quimioresistencia, lo que provocaba su escasez tasa de curación, y por tanto, mayores posibilidades de sucesivas recidivas o de transformación. Cuándo un linfoma indolente progres a agresivo, se denomina “secundario” y lo hace habitualmente a la forma de DLBCL, el cual, se caracteriza por una peor respuesta a la quimioterapia y por tanto, peor

pronóstico que el DLBCL “de novo o primario”. Afortunadamente las **formas primarias son más frecuentes que las secundarias.**<sup>(17)</sup>

Los principales factores de riesgo se relacionan con la producción de **mutaciones aberrantes o estados de inmunodeficiencia**, los principales son: VIH, seropositividad para el VHC, algunas enfermedades autoinmunes, antecedentes familiares de linfoma, IMC elevado, y algunas exposiciones laborales<sup>(31)</sup>.

Se ha visto que los antecedentes de tumores sólidos o hematológicos tratados con agentes alquilantes, especialmente si se acompaña de radioterapia en médula ósea o bazo, se relaciona con una mayor tasa de linfomas como segundo tumor primario. Aunque los estados de inmunodeficiencia se asocian a linfomas agresivos, éstos pueden ser debidos tanto a diferentes tipos de desórdenes inmunológicos como inmunosupresiones farmacológicas prolongadas.<sup>(1, 17)</sup>

Algunos casos estudiados de forma individual es la asociación del linfoma con el **virus Epstein Barr (EBV)**. Aparecen especialmente en pacientes con inmunodeficiencia congénita, adquirida o iatrogénica. La forma de “EBV + DLBCL en ancianos” se ha considerado como una entidad propia hasta la nueva clasificación de la OMS de 2016. Este tumor tiende a producirse en personas mayores de 50 años sin antecedentes de inmunodeficiencia ni linfoma, por lo tanto, se considera que se debe a la presencia crónica del virus y a la pérdida de capacidad del sistema inmune con la edad.<sup>(1, 17)</sup>

Dentro de la asociación con el **VHC**, se considera que la infección es capaz de promover la proliferación de un subgrupo de células B. Mientras el **VIH**, se relaciona con múltiples tipos de linfomas, los cuales se caracterizan por una manifestación muy agresiva y diseminada.<sup>(1, 17)</sup>

Otros casos se han visto relacionados con el virus herpes humano 8 (VHH 8) y con la enfermedad de castleman.<sup>(1, 17)</sup>

## **HISTOPATOLOGÍA**

Su anatomía patológica se caracteriza por células linfoides de gran tamaño, con núcleos vesiculares, nucléolos prominentes y citoplasma basófilo. Al ser un tumor agresivo tiene una alta tasa de proliferación, que le confiere un crecimiento rápido, distribuyéndose de manera difusa por todo el ganglio y haciendo desaparecer su estructura folicular habitual.

Según la **morfología** de las células linfoides tumorales podemos diferenciar 3 variantes: **centroblástica, inmunoblastica y anaplásica**. De todas las variantes, la más frecuente es la centroblástica<sup>(31)</sup>.

## **TÉCNICAS MOLECULARES**

Mediante la técnica de microarrays se puede estudiar el **perfil genético del tumor**, lo cual, se relaciona con una célula de origen diferente. Se considera que la vía oncogénica es diferente en cada uno, y por lo tanto, su clínica y pronóstico también.<sup>(1)</sup>

- **Centrogerminal (GCB):** se asocia a **células B del centro germinal ganglionar**, por lo tanto, presenta una expresión elevada de BCL6 y genes de inmunoglobulinas hipermutados mediante hipermutaciones somáticas (SHM). Éstas SHM son fisiológicas y se producen de manera “programada” en las células linfoides, específicamente en los genes encargados de la codificación de las regiones variables de las inmunoglobulinas, su finalidad es adquirir mayor variabilidad para poder adaptarse a nuevos antígenos.<sup>(18)</sup>
- **Célula B activa (ABC):** se asocia a **células B post-centro germinal** del ganglio, se produce una activación de las vías de señalización NF-kB y el receptor de linfocitos B (BCR) que lleva a la sobreexpresión de genes necesarios para la diferenciación de la células en plasmocito. A este nivel de diferenciación, las células se alejan del centro germinal y ya no expresan SHM<sup>(18)</sup>
- **Primario mediastínico (PMBL):** se asocia a **células B del timo** y presenta esclerosis nodular, lo cual, hace que pueda confundirse con el linfoma Hodgkin. Presenta una abundante infiltración de células inmunes, un perfil de citoquinas característico, y la activación de la vía NF-kB y JAK-STAT.<sup>(18)</sup>

Aunque el perfil genético se puede obtener mediante **técnicas de microarrays**, y se ha demostrado una correlación de dicho resultado con variaciones pronosticas, ésta técnica no está todavía disponible en todos los laboratorios. Por lo tanto, se ha intentado determinar los perfiles genéticos a través del análisis de los antígenos de superficie celular con **inmunohistoquímica**, la cual, es una técnica más asequible. Sin embargo, no se ha demostrado correlación entre los resultados de inmunohistoquímica y el pronóstico. En caso de usarse la inmunohistoquímica, el algoritmo de Hans (Anexo 3), que se basa en los marcadores CD10, BCL6, e IRF4 / MUM1, es el más empleado en la práctica clínica<sup>(1)</sup>. Aunque comparando varios algoritmos, el más robusto resultó ser el algoritmo de Tally, que se basa en los marcadores FOXP1, GCET1, CD10, MUM1, y LMO2.<sup>(25)</sup>

## ALTERACIONES GENÉTICAS (18, 24, 25, 26, 29)

Cada caso de DLBCL suele tener entre 50 a 100 lesiones genómicas particulares, lo que provoca una gran dificultad terapéutica, haciendo a cada paciente un caso único. Sin embargo, es esperable que el número de lesiones sea todavía mayor a medida que se mejoren las técnicas de secuenciación del genoma. Las alteraciones que se producen en los genes suelen deberse a la función anormal del sistema fisiológico de hipermutaciones somáticas (SHM), y su causa es todavía desconocida. Estas alteraciones tienen como consecuencia el inicio y el mantenimiento del tumor, por lo tanto su detección puede suponer una posible diana terapéutica en ensayos clínicos futuros.

Las principales alteraciones presentes en cualquier subtipo celular son:

- **Deleciones y mutaciones inactivantes de la histona acetiltransferasa CREBBP/EP300 y la histona metiltransferasa MLL2:** son las mutaciones más comunes.
- **Disregulación del gen BCL6:** se trata de un protooncogen y existen gran cantidad de mutaciones que provocan alteraciones del mismo, tanto de forma directa afectando a su región promotora, como indirectamente: sobreexpresando su factor regulador positivo principal MEF2B, evitando la inactivación mediante la acetilación o evitando la degradación de la proteína BCL6 que codifica. La proteína BCL6 consiste en un factor de transcripción que se encarga de regular la reacción del centro germinal y reprimir la transcripción de genes involucrados con la proliferación, crecimiento y supervivencia celular. Esta alteración se ha relacionado con la patogénesis del DLBCL, pero no se ha visto relación con una mayor resistencia al rituximab, a diferencia de la mutación MYC y BCL2. El diseño de inhibidores de un factor de transcripción es complicado, por lo tanto, se están estudiando inhibidores de moléculas pequeñas que afecten a la interacción de BCL6 con las proteínas coreguladoras necesarias para que lleve a cabo su función. Un ejemplo es el **inhibidor de moléculas pequeñas 79-6**, que se une al dominio lateral BTB del BLC6 impidiendo su unión con proteínas BCOR, NCOR1, y NCOR2.
- **Pérdida genética de gen B2M y HLA-I:** es el principal método del tumor de escapar del reconocimiento del sistema inmune, especialmente, de los linfocitos T citotóxicos y los linfocitos natural killer.
- **Pérdida genética del gen que codifica el ligando CD58:** es el principal método para evitar la muerte celular programada.
- **Alteraciones del gen CIITA (transactivador del complejo mayor de histocompatibilidad clase II) y amplificación de genes PDL1 y PDL2:** provoca alteraciones en proteínas inmunomoduladoras.
- **Mutaciones de inactivación de TP53.**

Las principales alteraciones propias del subtipo GCB son:

- **Disregulación del gen MYC**, localizado en el cromosoma 8 (8q24). Se trata de un oncogen, ya que su activación produce una amplificación de factores de transcripción de genes listos para expresarse, provocando la proliferación y desarrollo celular. Sin embargo, sorpresivamente, la proteína MYC ocasiona inestabilidad del DNA, lo que supone la inducción de genes supresores de tumores como TP53, y con ello favorece la apoptosis con la proteína BIM.
- **Disregulación del gen BCL2**, localizado en el cromosoma 18 (18q21) el mecanismo más habitual es la traslocación t(14;18). La proteína BCL2 se encarga de la inhibición de la apoptosis celular. Por esta razón, la asociación de MYC con BCL2 (“doble hit”) se relaciona con peor pronóstico que las mutaciones de forma independiente. La proteína MYC provoca inestabilidad genómica e induce la apoptosis, pero la mutación BCL2 inhibe ésta vía, favoreciendo la supervivencia de la célula tumoral.

Inhibidores de BCL2 están actualmente en estudio: **Navitoclax (ABT-263) y ABT-199**. Esta mutación también se ha visto en el subtipo ABC, producida por mutaciones activadoras de factores de transcripción o amplificación de genes, en lugar, de la traslocación t(14;18). Sin embargo, la repercusión en el pronóstico es mucho menor que en el caso de GCB. Por ello, la utilidad de estos tratamientos es mayor en el subtipo GCB.

- **Mutación activadora de la metiltransferasa EZH2** encargada de la metilación del residuo 27 de la lisina de la histona 3 (H3K27). El gen EZH2 es afectado por SHM, provocando el reemplazo de una sola tirosina de la proteína EZH2. Se trata de una mutación dominante, cuando se produce en uno de los alelos, éste aumenta su función y como resultado se produce un aumento de la proliferación linfocítica. De forma que se están estudiando **inhibidores selectivos de EZH2**.
- **Mutación del TNFRSF14** que codifica un tipo de receptor-TNF, y **mutaciones del GNA13** que codifica la proteína G involucrada en la señalización de Rho GTPasa
- **Delección del gen supresor tumoral PTEN o amplificación del microARN (miR-17-92)** que consiste en un promotor de la proliferación celular. En ambos casos, se produce una activación de la vía de señalización PI3K/AKT/MTOR. Se está estudiando la posibilidad de usar el **inhibidor LY2940002 de PI3K**.

Las principales alteraciones propias del subtipo de ABC son:

- **Activación constitutiva, es decir, permanente, de la familia de factores de transcripción NF-kB** involucrados en múltiples procesos que favorecen la progresión tumoral: supervivencia y proliferación celular, e inhibición de apoptosis. Las causas por las que se

produce esta activación puede ser por dos motivos. El primero consiste en mutaciones activadoras de la vía de señalización del receptor BCR (típicamente **mutación de CARD11 o CD79A/B**) o receptor tipo Toll (TLR) (típicamente **mutación de MYD88**), los cuales, son receptores de superficie propios de linfocitos B que responden ante múltiples estímulos, y activan la vía NFkB. El segundo consiste en **mutaciones inactivadoras del TNFAIP3/A20**, el cual, es un factor regulador negativo de la vía NF-kB. A raíz de esto las posibles dianas terapéuticas son muchas:

- Sobre a vía NFkB directamente:
  - Se están estudiando **inhibidores de proteasomas**. Por ejemplo, **Bortezomib**, disminuye la degradación de la proteína I kB $\alpha$  al bloquear una quimotripsina del proteasoma, el objetivo es aumentar la cantidad de proteína I kB $\alpha$  porque es inhibidora de NFkB. Otro ejemplo es **Carfilzomib**, que pertenece a una segunda generación de inhibidores de proteasomas, con menos efectos secundarios.
  - **Lenalidomida**, se trata de una sustancia inmunomoduladora a la que se le atribuyen muchos mecanismos anticancerosos. Específicamente, en el DLBCL de ABC, lenalidomida se caracteriza por la inhibición del factor regulador de interferón 4 (IRF4), el cual, es un estimulador de la vía NFkB dependientes de BCR; y la activación de la vía del interferón  $\beta$  que desemboca en la muerte celular.
- Sobre la vía de señalización BCR: se trata de usar inhibidores de las diferentes tirosin-quinasas que componen esta vía. Por ejemplo:
  - **Ibrutinib**, es un inhibidor de Bruton tirosin-quinasa (BTK)
  - **Enzastaurin y Sostrastaurin** es inhibidor de la proteína kinasa C  $\beta$  (PKC- $\beta$ ) perteneciente a la familia de quinasas serina/treonina.
  - **Inhibidores de MALT1**, se trata de proteasas.
- Sobre la vía de señalización JAK-STAT: JAK es un receptor tirosin-quinasa que inicia una cascada de citoquinas, que culminan en la activación de proteínas STAT, las cuales, son factores de transcripción encargadas de controlar la proliferación y supervivencia celular. En algunos casos la mutación MID88 puede activar la vía de señalización JAK-STAT3 a partir de citoquinas autocrinas como IL-6, IL-10 y IFN- $\beta$ . Por lo tanto, está en estudio el uso de inhibidores de moléculas pequeñas, principalmente existen: **Ruxolitinib**, que es un inhibidor de JAK1 y JAK2; y **Pancritinib** que es un potente inhibidor solo de JAK2.

Las principales alteraciones propias del subtipo PMBL son:

- En más del 70% de los casos, se presenta una **amplificación de la región 9p24 que codifica PD-L1 y PD-L2**. Ambos son dos ligandos que deben unirse al receptor de muerte programada (PD-1) para que lleve a cabo su función. Cuando el receptor se activa envía señales de inhibición de la proliferación de linfocitos T. Esta regulación es necesaria para detener la activación de los linfocitos tras el estímulo, y evitar de ese modo, una inflamación autoinmune crónica. Sin embargo, la mayor expresión de estos ligandos en las superficies de las células tumorales, provocan la inactivación de linfocitos T y por lo tanto, escapan de la vigilancia del sistema inmune. Por lo tanto, se ha desarrollado anticuerpos anti PD-1, como el **Pidilizumab**.
- **Mutación inactivadora del transactivador MHC-II (CIITA)**: su función es activar el factor de transcripción del MHC-II, por ello, su inhibición es un método de escape a la vigilancia del sistema inmune.
- Múltiples mutaciones se asocian con alteración de la vía de señalización JAK-STAT. Los **inhibidores de JAK-STAT** vistos anteriormente son igualmente útiles en el PMBL.

Aunque el estudio de terapias dirigidas puede ser muy prometedor, la realización de ensayos clínicos suele estar limitado a linfomas refractarios, habitualmente de alto riesgo. Esto se debe a que la tasa de curación con R-CHOP es tan efectiva que sustituirlo por un agente todavía en investigación no es apropiado en la mayoría de pacientes, excepto en aquellos donde R-CHOP ya ha fracasado.

### **CLASIFICACIÓN OMS (2016)** (<sup>28 y 29</sup>)

Como se ha visto el DLBCL se caracteriza por una gran heterogeneidad, de forma que posee múltiples formas de presentación, ante esta diversidad, la OMS reúne el criterio de hematólogos y oncólogos para determinar aquellos tumores que tienen mayor relevancia diagnóstica, pronostica y terapéutica como para formar una entidad propia. La última clasificación de la OMS se emitió en 2016.

- **Según la célula de origen se divide en centrogerminales (GCB) y célula B activa (ABC, o también llamada “non-GCB”).** Aunque estos subgrupos se definen por las características moleculares, se diferencian porque se han asociado a alteraciones cromosómicas, activación de vías de señalización y clínica diferentes. De forma que las GCB tienen mejor pronóstico que los ABC. Aunque su hallazgo puede influir en la decisión terapéutica, su uso de manera rutinaria todavía no está recomendado en las guías. La razón de ello, es que la técnica de microarrays, aunque tienen valor pronóstico, no es asequible para todos los laboratorios. Si no está disponible la técnica molecular se considera aceptable el uso de la

inmunohistoquímica, pero hay que tener en cuenta que su correlación con los resultados moleculares es todavía imperfecta, existen problemas de reproductibilidad, y por tanto, no se le da valor pronóstico, y no se pueden basar en ella decisiones terapéuticas.

- **Linfomas de células B de alto grado (HGBL) con reordenamiento de gen MYC, BCL2, y/o BCL6:** es una nueva categoría que incluye todos los linfomas de células B grandes (linfoma linfoblástico, DLBCL o burkitt) con reordenamiento MYC, asociado a BCL2 y/o a BCL6; siempre que no cumplan criterios de linfoma folicular o linfoblástico. El 80% de los casos HGBL “doble hit” poseen la traslocación MYC y BCL2, mientras el 20% restante poseen la traslocación MYC y BCL6, y tienden a expresar BCL2 aunque no tengan la traslocación. Estas mutaciones se asocian a peor pronóstico.
- Cabe destacar que, a pesar de no incluirse en la clasificación como entidad propia, existen **tumores DLBCL “doble expresadores”**. Son aquellos que expresan las proteínas MYC y BCL2, pero no existe reordenamiento de dichos genes. La presencia de estas proteínas se determina por inmunohistoquímica. Se habla de expresión de la proteína MYC, si se encuentra en al menos el 40% de las células, y expresión de la proteína BCL 2 si se encuentra en al menos el 50% de ellas. Estos casos poseen un pronóstico intermedio entre los que presentan el reordenamiento y los que no presentan reordenamiento ni expresan dichas proteínas.
- **Linfoma de células B de alto grado sin otras especificaciones (HGBL NOS).** En la clasificación de 2008 se hablaba de linfomas con características intermedias entre DLBCL y linfoma burkitt (BL), sin embargo los criterios diagnósticos estaban poco definidos y, por tanto poco útil en la práctica clínica. De forma que, en la clasificación de 2016 esta categoría desapareció y se incluyó dentro de los HGBL NOS a aquellos casos intermedios entre DLBCL y BL, o con presencia de linfoblastos que no cumplen todos los criterios de linfoma linfoblástico, y que no posean ninguno de los reordenamientos MYC, BCL2 o BCL6.
- **Linfomas de células B grandes EBV1 y úlcera mucocutánea EBV1.** Esta entidad fue incluida de manera provisional en la clasificación de la OMS del 2008 como “DLBCL con EVB positivo en el anciano”, sin embargo, en los últimos años se han detectado más casos en jóvenes, y con mejor pronóstico. Por lo tanto, la última clasificación de la OMS del 2016 habla de “**DLBCL con EBV1 sin otras especificaciones**”, para no olvidar que a pesar de ser más frecuente en el anciano, también se presenta en otros tipos de pacientes.
- **“Úlcera mucocutánea EBV1”,** se trata de un DLBCL incluido en la clasificación del 2008 en el grupo de DLBCL con EBV1. Sin embargo, por su crecimiento autolimitado y buena respuesta al tratamiento conservador, se ha valorado como una nueva entidad

“provisional”. Estos tumores se asocia a la inmunosupresión iatrogénica y la edad avanzada.

## **CLÍNICA** (1, 9, 17)

La clínica habitual se constituye por **adenopatías localizadas de rápido crecimiento y dolorosas**, junto con **síntomas B** ( fiebre > 38°C sin causa aparente, sudoración nocturna o pérdida de peso > 10% de la masa corporal en los últimos 6 meses), presentes en el 30% de los casos. Las adenopatías de gran tamaño producen **clínica por compresión** de estructuras adyacentes, que varía según su localización, algunos ejemplos son: disfagia, síndrome de vena cava superior, abdominalgias, edema de EEII. Además, una tercera parte de los afectados tienen **enfermedad extranodal** en el momento del diagnóstico, lo que convierte a la clínica todavía más heterogénea. La localización extraganglionar más habitual es el tubo digestivo, aunque puede localizarse en cualquier órgano, típicamente: anillo de Waldeyer (cavidad orofaríngea), hueso, pulmón, piel, tiroides o testículos.

El DLBCL supone el principal prototipo de linfoma agresivo. El crecimiento rápido con el que se caracterizan los tumores agresivos provoca que, a diferencia de los indolentes, la afectación medular no sea habitual y tienda a ser diagnosticado en estadios precoces. Sin embargo, se relaciona con mayor riesgo de enfermedad en el SNC.

Al ser un tumor con alta incidencia de enfermedad extraganglionar, algunas localizaciones poseen un síndrome clínico característico: DLBCL del mediastino, DLBCL de cavidades, DLBCL intravascular, DLBCL cutáneo, linfoma primario del SNC, o la granulomatosis linfomatoide.

## **DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico de la enfermedad puede basarse en la morfología, en el inmunofenotipo, y el fenotipo.

El método de diagnóstico óptimo son las **biopsias quirúrgicas o incisionales**, que permiten obtener muestras de tejido tumoral suficientemente grandes <sup>(3)</sup>. Estas muestras no deberán ser fijadas cuando se envíen al laboratorio, para permitir realizar las técnicas de citometría de flujo, ADN de alta calidad, y extraer ARN. En personas con riesgo quirúrgico alto, o cuya accesibilidad quirúrgica al tumor sea inviable, se puede utilizar como alternativa biopsias con aguja gruesa o endoscópica, aunque hay más posibilidades de que el tamaño de la muestra resulte insuficiente para un diagnóstico de confirmación. La punción de aspirado con aguja fina (PAAF) no debe ser utilizada como base diagnóstica para el DLBCL <sup>(31)</sup>

La **histología** nos aporta las características morfológicas, y puede ayudar en la clasificación del linfoma, pero no es una prueba diagnóstica por sí sola. Por lo tanto, debe ser confirmada mediante el **inmunofenotipo**, ya sea mediante **inmunohistoquímica, citometría de flujo** o combinación de ambas técnicas. En inmunohistoquímica el panel que utilicemos debe ser limitado solo a células B, pero también debe incluir todas las subentidades presentes en el DLBCL. Además debe permitir diferenciar otros tumores linfoideos que pueden poseer características morfológicas parecidas: linfoma plasmablastico, linfoma células B inclasificable con características intermedias entre Burkitt y DLBCL, mieloma con afectación de tejidos blandos, linfoma burkitt, linfoma blástico de células del manto, e incluso, algunos casos de linfoma de Hodgkin. Un panel inmunohistoquímico debería contener al menos: CD20, CD79a, BCL6, CD10, MYC, BCL-12, Ki67, IRF4, CyclinD1, CD5, y CD23. La tinción con EBER1 se puede utilizar para identificar el DLBCL asociado a Epstein-Barr en población de edad avanzada<sup>(31)</sup>

Cuando no sea posible la confirmación mediante inmunohistoquímica, ya sea por falta de muestra en la biopsia, o porque el inmunofenotipo es negativo, podemos valorar confirmar que son linfocitos B monoclonales mediante la **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**<sup>(31)</sup>

El **fenotipo** de la célula tumoral se valora mediante **técnicas moleculares** que nos den su perfil genético. Esto es importante porque las células procedentes del centro germinal se relacionan con un mejor pronóstico que las procedentes de linfocitos B activos. Esta diferenciación puede valorarse mediante inmunohistoquímica, pero los datos publicados en cuanto a su valor pronóstico son contradictorios y no influye en el tratamiento, por lo tanto, no se recomienda su uso rutinario en la práctica clínica<sup>(3)</sup>

La reorganización del gen MYC se asocia a un peor pronóstico, especialmente si se asocia a reordenamiento de los genes BCL-2 y BCL-6, pasándose a llamar "linfoma doble o triple hit". Por ello, se recomienda siempre que sea posible la **detección del gen MYC** mediante **fluorescencia in situ (técnica FISH)**, y si este, resulta positivo, extender el estudio a los genes BCL-2 y BCL-6<sup>(3)</sup>. Especialmente en pacientes recientemente diagnosticados o recaídas que vayan a ser tratados con intención de curar<sup>(31)</sup>

## **ESTADIAJE**

En un primer momento es necesario realizar un examen físico, valorar el estado funcional, y la presencia de síntomas B. También realizaremos un análisis de sangre completo, que incluya LDH, ácido úrico, y serologías de virus de inmunodeficiencia humana (VIH), virus hepatitis B

(VHB), y virus hepatitis C (VHC)<sup>(3)</sup>. También se recomienda la realización de un proteinograma mediante electroforesis, y se considera opcional el análisis de beta-2-microglobulina<sup>(31)</sup>

Los estadios se basan en la **clasificación de Lugano**, que es una modificación del antiguo sistema Ann Arbor. Los estadios I y II se considera “localizado”, mientras estadios III y IV son “avanzados”<sup>(14)</sup>

LIMITADO	I	1 ganglio/aglomerado de ganglios linfáticos o 1 zona extraganglionar sin afectación de ganglios linfáticos
	II	≥2 ganglio/aglomerado linfático en el mismo lado del diafragma o Afectación limitada de 1 zona extraganglionar por continuidad de la afectación ganglionar grado I o II (1 ganglio linfático o ≥2 ganglios al mismo lado del diafragma)
AVANZADO	III	≥2 ganglios linfáticos a ambos lados del diafragma o ≥2 ganglios por encima del diafragma con afectación del bazo
	IV	1 órgano extralinfático afectado (no por continuidad con los ganglios linfáticos afectos)
*Se consideran tejido ganglionar a las: amígdalas, anillo de Waldeyer, y bazo.		
<i>Clasificación de Lugano (2014), sistema Ann Arbor modificado</i>		

Se añade la palabra “Bulky” cuando una masa nodal ≥ 10 cm o >1/3 del diámetro torácico medido por TAC/Rx. Actualmente ya no se recomienda el uso del sufijo “X”, y la recomendación es registrar la medida más larga del tumor medido por TAC. Se añade el sufijo “E” si posee afectación extraganglionar. Además se añade el sufijo “B” si posee algún síntoma B o “A” si todos los síntoma B están ausentes.<sup>(3)</sup>

Actualmente se recomiendan como pruebas de estadiaje “gold standard” la **fluorodesoxiglucosa tomografía por emisión de positrones con tomografía computarizada (FDG PET-TC)**, ya que posee mayor sensibilidad tanto en enfermedad ganglionar como extraganglionar que el TC con contraste<sup>(31)</sup>. Si no se dispone de PET-TC, se recomienda la realización de TC cervical, tórax, abdomen y pelvis a todos los pacientes<sup>(3)</sup>. En la práctica clínica, se realiza numerosas veces un TC con contraste antes del PET-TC. Sin embargo, las recomendaciones actuales dicen que el TC con contraste se realice sólo si es necesario, en combinación PET-TC, o detrás de un escáner PET. Las situaciones en las que se considera necesario realizar un TC son: delimitar mejor adenopatías intestinales, detectar casos de trombosis o compresión de venas mediastínicas o centrales, planificación de la radioterapia, o

medición de adenopatías de forma más precisa para ensayos clínicos.<sup>(31)</sup> También es necesaria la realización de un TC o RM cerebral, de órbitas, y senos paranasales en pacientes con sospecha de infiltración de SNC o enfermedad craneofacial.<sup>(3)</sup>

La captación de FDG de forma focal en la médula ósea, con o sin actividad difusa, es un signo altamente específico de infiltración de médula ósea, y más sensible que la propia biopsia de médula ósea<sup>(3)</sup>. Sin embargo algunas situaciones se han relacionado con una mayor probabilidad de falsos negativos del PET-TC: una baja infiltración medular (<10-20%) o presencia de un linfoma discordante, es decir, aquel linfoma que presentan al menos 2 subentidades histológicas diferentes en diferentes zonas anatómicas, lo más frecuente es que se manifieste como un linfoma agresivo en las linfadenopatías y uno indolente en médula ósea. Solo < 10% de casos son falso negativo, por ello, **ante un PET-TC positivo en médula ósea ya no es necesario continuar el estudio, pero ante un PET-TC negativo se recomienda la realización de una biopsia de médula ósea** con inmunohistoquímica, siempre que su resultado vaya a suponer un cambio en el pronóstico y tratamiento del paciente, especialmente refiere importancia ante un linfoma discordante con enfermedad de bajo grado en la médula ósea<sup>(31)</sup>.

Para valorar la **infiltración de SNC se recomienda como prueba de elección la RM**. Se utilizará la punción lumbar como prueba diagnóstica en casos de alta sospecha de infiltración de SNC. En este caso, el análisis del LCR debe incluir citología y citometría de flujo, la cual, permite detectar mejor las células tumorales. Se recomienda que al mismo tiempo que se realiza la punción lumbar se administre una dosis de metrotexato intratecal<sup>(3)</sup>.

Antes de empezar el tratamiento, se recomienda en mayores de 65 años o con antecedentes cardíacos, valorar la **fracción de eyección ventricular izquierda mediante ecocardiograma o ventriculografía nuclear (también llamado gammagrafía MUGA)**<sup>(3)</sup>. Además se deberá informar a los pacientes del riesgo de infertilidad que suponen algunos tratamientos, y valorar, en caso de que así lo deseen, la realización de **métodos de preservación de la fertilidad**.<sup>(31)</sup>

## **PRONÓSTICO**

Los principales factores pronósticos son: estadio según sistema Ann Arbor, el Índice Pronóstico Internacional (IPI) y a presencia de masa Bulky (diámetro del tumor > 10 cm).

Desde 2007 se utilizó el Índice Pronóstico Internacional (IPI), y posteriormente una variante suya, el IPI ajustado a la edad (aaIPI). La escala IPI se basa en 5 criterios, cada uno de ellos que se posee en el momento de diagnóstico suma un punto y clasifica el resultado en 4 categorías.<sup>(3)</sup>

IPI	aalPI (habitualmente para pacientes ≤ 60 años)
Edad > 60 años LDH sérico elevado Estadios III-IV ECOG* ≥ 2 Afectación extranodal > 1	LDH sérico elevado Estadios III-IV ECOG* ≥ 2
<b>Bajo:</b> 0-1 puntos <b>Bajo-Intermedio:</b> 2 puntos <b>Alto-Intermedio:</b> 3 puntos <b>Alto:</b> 4-5 puntos	<b>Bajo:</b> 0 puntos <b>Bajo-Intermedio:</b> 1 punto <b>Alto-Intermedio:</b> 2 puntos <b>Alto:</b> 3 puntos

\*ECOG: escala de calidad de vida en pacientes oncológicos diseñada por el “Eastern Cooperative Oncology Group”.

La escala IPI ha demostrado buena utilidad pronostica, pero baja capacidad para detectar casos de alto riesgo. Por esa razón, a partir de 2014, se ha propuesto una **nueva escala IPI mediante los datos del “National Comprehensive Cancer Network”(NCCN)**, por lo que se denomina NCCN-IPI, la cual, tiene mayor poder de discriminación entre grupos de bajo y alto riesgo. En esta nueva escala, se incluyen los mismos 5 criterios, pero precisa más la edad, los valores normales de LDH y distingue la afectación extranodal según sea en médula ósea, SNC, hígado, intestino o pulmón.<sup>(25)</sup>

NCCN-IPI	
Edad:	
>40 y ≤ 60 años	1 punto
>60 y ≤ 75 años	2 puntos
>75 años	3 puntos
LDH:	
>1 y ≤ 3	1 punto
> 3	2 puntos
Estadio Ann-Arbor III - IV	1 punto
Enfermedad Extranodal (médula ósea, SNC, hígado/tracto gastrointestinal, o pulmón)	1 punto
ECOG* ≥ 2	1 punto
<b>Bajo:</b> 0-1 puntos <b>Bajo-Intermedio:</b> 2-3 puntos <b>Alto-Intermedio:</b> 4-5 puntos <b>Alto:</b> ≥ 6 puntos	

\*ECOG: escala de calidad de vida en pacientes oncológicos diseñada por el “Eastern Cooperative Oncology Group”.

Además de lo anterior, determinadas patrones genéticos suponen un peor pronóstico. La genética del tumor se puede estudiar mediante:

- **Técnica FISH que valora el reordenamiento de genes específicos:** en un 30% de casos BCL-6, en un 20% de casos BCL-2, y en un 5-10% casos c-MYC. A pesar de que el reordenamiento del gen c-MYC es el menos frecuente, es el que se asocia a peores

resultados del tratamiento R-CHOP y el autotrasplante. Si además del gen MYC, existen reordenamiento de los genes BCL-2 y/o BCL-6, pasa a denominarse linfomas “doble o triple hit” caracterizados por un comportamiento muy agresivo y peor pronóstico. Un linfoma doble hit posee una supervivencia media menor de 12 meses. La mutación o la sobreexpresión del gen TP53 se asocia a menor supervivencia. Otros marcadores cuyo papel está todavía cuestionado son la presencia única de BCL-2, BCL-6 o el Ki 67.<sup>(3)</sup>

- **Técnicas de microarray se valora el origen celular:** la célula tumoral puede proceder del centro germinal (subtipo GCB) o de una célula B activa (subtipo ABC). Aquellos tumores ABC poseen peores resultados cuando se administra el protocolo CHOP, aunque los resultados mejoran con la inclusión del Rituximab (40% de supervivencia libre de enfermedad a los 3 años), siguen sin igualarse a los resultados de los linfomas GCB (75% de supervivencia libre de enfermedad a los 3 años)<sup>(25)</sup>

Otros factores clínicos relacionados con peor pronóstico son: diámetro tumoral > 10 cm, hombres, infiltración de médula ósea sin ser un linfoma discordante, afectación de SNC, elevación de cadenas ligeras en sangre, bajo recuento de linfocitos, y déficit de vitamina D.

## **TRATAMIENTO**

El tratamiento de elección dependerá principalmente de la edad, IPI, y la intensidad de dosis viable en cada paciente. En los casos de alta carga tumoral, se recomienda la administración de prednisona vía oral durante unos días de manera “previa” al tratamiento, como medida para reducir la incidencia de síndrome de lisis tumoral. Un objetivo en el tratamiento es evitar tener que reducir la dosis debido a la toxicidad hematológica del mismo. Se aconseja el uso de factores de crecimiento hematopoyético en pacientes > 60 años, o tratados con intención de curar, como medida profiláctica de la neutropenia febril. La neutropenia febril consiste en una urgencia médica caracterizada por fiebre por encima de 38,5°C y neutrófilos < 500/mm<sup>3</sup>, habitualmente se trata de una infección provocada por un descenso de neutrófilos secundaria a fármacos citotóxicos de quimioterapia<sup>(31)</sup>.

Los tratamientos de primera línea son:

- **Joven con aaIPI=0 (o estadío I/II) sin enfermedad de bulky:** 6 ciclos de quimioterapia con ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y prednisona (CHOP) combinado con 6 dosis de rituximab con intervalo de 21 días (R-CHOP 21 x6). Radioterapia en los sitios habituales de la masa bulky de forma previa a su aparición no presenta beneficios, ya hayan sido tratados con rituximab o no<sup>(31)</sup>. Sin embargo, existe una excepción, aquellos pacientes en

estadio IA y que presentan el tumor en zonas de baja morbilidad para la radioterapia (ingle, cervical o axilar) se pueden tratar con solo 3-4 ciclos de R-CHOP seguida de radioterapia de consolidación de 30 Gy.<sup>(3)</sup>

- **Joven aaIPI=1 o aaIPI=0 (o estadío I/II) con masa bulky:** al igual que en el grupo anterior se realiza una pauta (R)-CHOP 21x6, pero además, se añade radioterapia de 30 Gy en los sitios habituales de la masa bulky de forma previa a su aparición. Estos sitios fueron determinados en el estudio MINT<sup>(3)</sup>. Las alternativas a esta pauta son: una intensificación de la quimioterapia R-ACVBP con rituximab, doxorrubicina, vindesina, ciclofosfamida, bleomicina y prednisolona, con intervalo de 2 semanas seguida por una consolidación secuencial.<sup>(31)</sup>
- **Joven aaIPI ≥ 2 (o estadios avanzados):** la principal recomendación en pacientes de este grupo es la introducción en ensayos clínicos, ya que, no existe actualmente un tratamiento de elección único. Lo más frecuente es utilizar una pauta de 6 u 8 ciclos de CHOP combinado con 8 dosis de rituximab administrado con un intervalo de 21 días (R-CHOP 21 x 6-8). Otra opción es la pauta 6 ciclos CHOP con 8 dosis de rituximab en intervalos de 14 días (R-CHOP 14x6 con 8R). También es frecuentemente utilizado pautas de quimioterapia intensiva como R-ACVBP (doxorrubicina, vindesina, ciclofosfamida, bleomicina y prednisolona) o R-CHOEP (rituximab, ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, etoposido, y prednisolona). La pauta de quimioterapia con rituximab seguida de altas dosis de quimioterapia con autotrasplante de células hematopoyéticas está en experimentación, y se reserva para pacientes de alto riesgo. El beneficio de la radioterapia sobre zonas de inicio de masa bulky previa a su aparición está en evaluación, recomendándose en presencia de masa bulky o enfermedad extraganglionar. Se recomienda su realización después de completar la quimioterapia<sup>(31)</sup>
- **Pacientes de edad avanzada:** de forma habitual en la práctica clínica se acepta la pauta R-CHOP estándar hasta los 80 años, y se realiza un protocolo de R-CHOP modificado cuando se supera esa edad. Sin embargo, las recomendaciones dicen que no existe una edad exacta definida, y que la decisión terapéutica debe basarse en una valoración geriátrica y las comorbilidades, y no solo en la edad<sup>(3)</sup>. Pacientes que tras esta valoración:
  - **se consideren aptos:** se utilizará un tratamiento R-CHOP estándar: 6 u 8 ciclos de quimioterapia CHOP con 8 dosis de rituximab con un intervalo de 21 días (R-CHOP 21 x 6-8); o como alternativa 6 ciclos de R-CHOP con un intervalo de 14 días, y 8 dosis de rituximab (R-CHOP 14x6 con 8 R).

- **no se consideren aptos:** se recomendará rituximab con 6 ciclos de quimioterapia atenuada con intervalo de 21 días (R-miniCHOP 21x6)<sup>(31)</sup>, aunque pueden existir modificaciones de dosis y fármacos ajustando el tratamiento a las características individuales del paciente<sup>(3)</sup>. La administración de esteroides previa a la quimioterapia, puede hacerlos susceptibles de un tratamiento estándar de R-CHOP. Determinadas comorbilidades pueden llevar a tener que sustituir algunos fármacos quimioterápicos por otros, por ejemplo, hay que evitar el uso de vincristina en casos de neuropatía periférica, prednisolona en casos de diabetes mellitus y doxorrubicina en pacientes con disfunción cardiaca.<sup>(3)</sup> En este último grupo, se recomienda la pauta estándar de 6 ciclos de quimioterapia CHOP con rituximab en intervalo de 21 días, pero se sustituye la doxorrubicina por gemcitabina, etoposido, o doxorrubicina liposomal. En algunos casos se puede llegar a omitir la doxorrubicina desde el principio o tras los primeros ciclos de quimioterapia (R-C(X)OP 21x6)<sup>(31)</sup>
- **Pacientes > 65 años con pobre estado funcional o importante comorbilidad** se recomienda la profilaxis con factores estimuladores de crecimiento de granulocitos (G-CSF), que se relaciona con menor tasa de complicaciones del tratamiento R-CHOP, especialmente, de la fiebre neutropénica.
- **No existe un protocolo estandarizado de tratamiento para los tumores “double hit”.** Se ha valorado el tratamiento con R-CHOP o R-CHOEP-14, y regímenes de quimioterapia intensificada como R-CODOX-M/R-IVAC (tiruimab, ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina, metrotexato o rituimab, etoposido, ifosfamida, citarabina) o DA-EPOCH-R (dosis ajustada de EPOCH: etopósido, prednisolona, vincristina, ciclofosfamida, doxorrubicina, con rituximab), pero la evidencia es insuficiente. Estos pacientes pueden valorarse beneficiarios de un autotransplante de consolidación en la primera remisión.

Existe **mayor riesgo de afectación del SNC** en los pacientes con IPI alto riesgo, o alto-intermedio riesgo, principalmente si tiene LDH elevada, o más de 1 afectación extraganglionar (sin tener en cuenta el bazo, o lesiones dobles de un mismo órgano, como lesiones pulmonares bilaterales). También aquellos con afectación testicular, renal o de la glándula suprarrenal. Por lo tanto, se recomienda que todos los pacientes con alguno de estos factores, se les realice profilaxis del SNC. Aunque lo más utilizado en la práctica clínica son inyecciones intratecales de metrotexato, se ha visto una mayor eficacia en el control de la enfermedad con la administración de altas dosis de metrotexato vía intravenosa.

Algunos casos especiales son:

- **Pacientes con infección de VIH:** la ausencia de tratamiento retroviral y el recuento bajo de CD4 son factores de riesgo del DLBCL. En estos casos se recomienda la misma pauta oncológica que los pacientes con VIH negativo, lo cual significa que en casos refractarios/recaída se puede emplear el autotrasplante de células hematopoyéticas<sup>(31)</sup>. En todos los pacientes se recomienda continuar con una terapia antirretroviral adecuada, si es posible, evitando usar inhibidores de proteasa. Además, se recomienda a todos los pacientes la administración profiláctica de antimicrobianos (cotrimoxazol, fluconazol y aciclovir) y factores estimulantes de colonias de granulocitos (G-CSF). Esto es debido a que se vio un aumento de infecciones con la adicción del rituximab a la quimioterapia.<sup>(3)</sup>
- **Pacientes con Ag Hbc positivo:** tienen un alto riesgo de reactivación del VHB durante el tratamiento quimioterápico, de forma que se recomienda una profilaxis antiviral o tratamiento antiviral con monitorización de ADN VHB<sup>(31)</sup>

Existe la opción de **valorar la progresión de la enfermedad durante el tratamiento quimioterápico**, para ello se utiliza de elección el PET-TC, o en su defecto el TC con contraste, tras el 3<sup>a</sup> o 4<sup>a</sup> ciclo de quimioterapia. Sin embargo, el cambio de tratamiento en base a sus resultados debe ser valorado cuidadosamente, ya que los estudios todavía no han implementado una recomendación al respecto<sup>(3)</sup>

Para **evaluar la respuesta al tratamiento** se recomienda la realización de un FDG PET-TC al final del tratamiento, ya que se trata de la técnica más completa aportando información tanto morfológica como metabólica. Se compara visualmente el nuevo FDG PET-TC con el realizado previo al inicio de tratamiento, y se valora según los **criterios de Deauville**.

1	No captación
2	Captación ≤ mediastino
3	Captación > mediastino pero ≤ hígado
4	Captación moderadamente incrementada respecto a hígado
5	Captación marcadamente incrementada respecto a hígado o aparición de lesiones nuevas
<i>Criterios de Deauville según visualización del FDG PET-TC</i>	

Según la puntuación en los criterios de Deauville se establecen 2 categorías de respuesta metabólica:

- **Respuesta metabólica completa :** no existen captación residual, o dicha captación es de menor intensidad que la actividad hepática (**Deauville 1 a 3**) sin infiltración de médula ósea en la parte de FDG-PET, pero puede o no haber presencia de masas en la parte de TC.

Aquellos con Deauville 3 se incluyen en la respuesta metabólica completa por su buen pronóstico de respuesta al tratamiento, pero requieren un seguimiento más estrecho.

- **Deauville 4 y 5** suele indicar la presencia de enfermedad residual, por lo tanto se subdivide en 3 categorías dependiendo si el nivel de captación actual es superior o inferior al que presentaba ese paciente en el FDG PET-TC previo al tratamiento:

- **Respuesta metabólica parcial:** la captación es inferior al FDG PET-TC basal
- **No respuesta metabólica:** captación igual al FDG PET-TC basal
- **Enfermedad metabólica progresiva:** la captación es superior al FDG PET-TC basal, o hay una nueva lesión no presente en el FDG PET-TC basal.

En el caso de obtener una zona de positividad en el PET-TC, se aconseja que la lesión sea biopsiada, especialmente, si se está considerando la implantación de un tratamiento de segunda línea. Si la sospecha clínica de enfermedad residual es baja se puede valorar como alternativa un seguimiento por TC consecutivos cada 3 meses. En casos donde la biopsia no sea posible o deseable se puede valorar realizar RT sobre la lesión positiva<sup>(3)</sup>.

## **RESULTADOS**

### **Datos Clínicos y Demográficos**

Nuestra serie consiste en 29 pacientes. El estudio se realizó retrospectivamente y la selección de pacientes se realizó siguiendo los criterios de inclusión, por lo que, ningún caso fue excluido del estudio. La revisión de historias clínicas se realizó en Marzo de 2018, y las fechas de diagnóstico de linfoma incluyeron desde Noviembre del 2003 hasta Septiembre del 2017. La distribución por sexos fue de 41,38% varones, y 58,62% mujeres. El promedio de edad al que fue diagnosticado el linfoma fue de 54,91 años (rango 16 a 76 años) y 44,35 años (rango 22 a 68 años) respectivamente (*Tabla 1*). La distribución según la edad al diagnóstico fue de 10,34% menores o igual a 30 años, 65,52% entre 31 y 59 años; y 24,14% mayores o igual a 60 años (*Tabla 2 y Figura 1*).

Según el sistema de Ann-Arbor, 23 pacientes (79,30%) fueron diagnosticados ya en el estadio IV, mientras tanto el resto de pacientes: 2 pacientes (6,90%) en estadio III, 3 pacientes (10,35%) en estadio II, y por último, solo 1 paciente (3,45%) en estadio I, el cual, fue incluido en la serie por presentar linfoma testicular. En la serie, el 68,97% presentaron síntomas B al diagnóstico (*Figura 2*). La distribución de síntomas B según el estadio se muestra en la *Tabla 3* (*Figura 3*). Además, 13 pacientes (44,83%) presentaron masa Bulky en el momento de diagnóstico (*Figura 4*). La distribución de masa bulky según el estadio se muestra en la *Tabla 4*

(Figura 5). Un total de 21 pacientes (72,41%) fueron diagnosticados con una funcionalidad según la escala ECOG  $\geq 2$  (Tabla 5 y Figura 6).

Para valorar el pronóstico, los pacientes fueron clasificados en diferentes grupos de riesgo según el índice estándar IPI, y el nuevo índice NCCN-IPI. Un caso de la serie fue excluido de esta valoración, debido a que se trataba de un linfoma de células del manto, al cual no es atribuible estos índices. Según el índice IPI, 20 pacientes (71,43%) de nuestra serie se encuentran en un grupo de riesgo alto o alto-intermedio (Tabla 6 y Figura 7). Mientras, según el nuevo índice NCCN-IPI, 18 pacientes (64,29%) se encuentran en un grupo de riesgo alto o alto-intermedio (Tabla 7 y Figura 8). La comparación entre ambos índices se encuentra en la Figura 9.

En el momento de diagnóstico, 23 pacientes (79,30%) tenían enfermedad extranodal presente. Dentro de los pacientes que presentaron enfermedad extranodal, 15 de ellos (51,73%) presentaron 1 sola localización, mientras 3 pacientes (10,34%) presentaron 2 localizaciones, otros 3 pacientes (10,34%) presentaron 3 localizaciones, y 2 pacientes (6,90%) presentaron más de 3 localizaciones (Tabla 8 y Figura 10). En estos casos, las localizaciones ordenadas de mayor a menor frecuencia fueron: óseo, tracto gastrointestinal, pulmón, médula ósea, hígado y otros (Tabla 9). Podríamos destacar que a pesar de que la localización ósea es la más frecuente de manera global, cuando separamos en grupos según el número de localizaciones extranodales afectadas, podemos valorar que, en pacientes con 1 sitio extranodal la distribución es más homogénea, mientras que en pacientes con 2 sitios afectados el más frecuente es el tracto gastrointestinal; y por último en pacientes con 3 o más sitios afectados la más frecuente es la localización ósea (Figura 11 y 12).

### Datos Biológicos

Todos los pacientes fueron diagnosticados de LNH. El tumor histológico predominante fue claramente el DLBCL con un total de 25 pacientes (86,21%), seguido de 2 pacientes con LNH T anaplásico (6,89%) y por último, 1 paciente (3,45%) con linfoma Burkitt y 1 paciente (3,45%) con LNH B de células del manto (Tabla 10). En nuestra serie, se valoró el Ki-67 en el momento del diagnóstico (Tabla 11 y Figura 13). Dentro del 31,03% de casos que tenían un índice mayor del 90%, solo 11,11% de ellos se presentó en pacientes fallecidos/recaída. Las pruebas de Chi-Cuadrado de Pearson y Razón de Verosimilitud, determinaron que no hay asociación entre el índice de proliferación y la aparición de recaída o refractariedad, con valor p de 0,499 y 0,415 respectivamente (Anexo 5). El análisis de C-Myc sólo se realizó en 5 pacientes, de los cuales, 3 pacientes fueron positivo y 2 pacientes fueron negativo. Mientras, CD10 se realizó en 22 pacientes,

dónde 10 fue positivo y 12 negativo. El marcador BCL 2 se realizó en 23 pacientes, dónde 17 fueron positivos y 6 negativos. Dentro del 58,62% que fue positivo en BCL2, el 23,53% de ellos se presentaron en pacientes que fallecieron/recaída. Por último, el marcador BCL 6 se realizó en 25 pacientes dónde 13 fueron positivo y 8 negativo (*Tabla 12 y Figura 14*). Dentro de los 44,83% pacientes que tuvieron BCL6 positivo, solo el 15,38% de ellos se presentaron en pacientes fallecidos/recaída. El test exacto de Fisher determinó que no hay asociación entre la expresión de BCL2 o BCL6 con la aparición de recaída o refractariedad, con valor p de 1,00 y 0,618 respectivamente (*Anexo 6*)

### Datos Analíticos

En el momento del diagnóstico se valoraron varios valores analíticos (*Tabla 13, 14 y 15*). La media de la Hb fue de 11,50 g/dl. Considerando valores de normalidad entre 13,8 g/dl a 17,2 g/dl en varones, y 12,1 g/dl a 15,1 g/dl en mujeres, sabemos que 21 pacientes (72,41%) presentaban anemia. La media de leucocitos fue de  $8,81 \times 10^9/L$ . Considerando valores de normalidad 4,5 a  $11 \times 10^9/L$ , solo 6 pacientes (20,69%) presentaban leucocitosis. La media de plaquetas fue  $314,32 \times 10^9/L$ . Considerando valores normales entre 150 a  $400 \times 10^9/L$ , 22 pacientes (75,86%) se encontraban dentro de la normalidad. La media de VSG fue de 64,70 mm/ $1^{st}$  hora. Considerando valores normales <15 mm/ $1^{st}$  h en varones, y <20 mm/ $1^{st}$  h en mujeres, 21 pacientes (72,41%) presentaban elevación de VSG. La media de LDH es 1356,8 UI/L. Considerando los valores límite superiores normales de cada laboratorio que se realizó el análisis, 22 pacientes (75,86%) presentaban elevación de LDH. La media de Beta 2 microglobulina es de 2,93 mg/dl. Considerando el límite superior normal de cada laboratorio dónde se realizó el análisis, 13 pacientes (44,82%) presentaban elevación de Beta 2 microglobulina y en 8 pacientes (27,59%) no se pudo realizar. La media de ferritina fue 688,84 ng/ml. Considerando como valores normales 12 a 300 ng/ml en hombres, y 12 a 150 ng/ml en mujeres, obtenemos que 12 pacientes (41,38%) presentaban elevación de ferritina. Por último, la media de albúmina fue 3,81 g/dl. Considerando el rango normal 3,4 a 5,4 g/dl, resultó que solo 7 pacientes (24,14%) presentaba hipoalbuminemia.

### Evolución

Durante el tratamiento con R-EPOCH se valoró la respuesta mediante sucesivas pruebas PET. La prueba PET en el momento del diagnóstico solo se realizó en 8 pacientes (27,59%). Mientras que el PET tras 3-4º ciclo y tras el 6º ciclo fueron mucho más frecuentes, 21 pacientes (72,41%) y 26 pacientes (89,65%) respectivamente (*Tabla 16 y Figura 15*). Dentro de los PET realizados tras el 3-4º ciclo fueron positivos en 10 pacientes (47,62%) sin ningún falso positivo. Mientras que dentro de los PET realizados tras el 6º ciclo solo fueron positivos 4 pacientes (15,39%), y

hubo 2 casos (7,69%) de falsos positivos (*Figura 16*). Las localizaciones que mantuvieron positividad en el PET se muestran en la *Tabla 17*. El primer falso positivo se localizó en unas adenopatías mediastínicas, que fueron biopsiadas posteriormente con el diagnóstico de linfadenitis granulomatosa necrotizante. El segundo caso de falsa positividad se localizó en una adenopatía inguinal, que posteriormente fue biopsiada con diagnóstico de adenopatía reactiva no neoplásica. En resumen, de los 10 casos positivos tras 3-4º ciclo, 8 de ellos se negativizaron tras el 6º ciclo, y 2 de ellos mantuvieron la positividad en las mismas localizaciones. Por lo tanto, de los 4 casos positivos tras el 6º ciclo, 2 de ellos se positivaron tras tener el PET del 3-4º ciclo negativo.

En nuestra serie, 27 pacientes (93,10%) completaron el tratamiento con R-EPOCH. Por lo tanto solo 2 pacientes (6,90%) no lo completaron (*Tabla 18* y *Figura 17*). En ambos casos, el PET tras el 4º ciclo de R-EPOCH mostró enfermedad residual, lo que obligó a un cambio en el tratamiento. Aquellos casos que se considerasen de muy mal pronóstico o mantuvieran una evolución lenta tras R-EPOCH, se complementó el tratamiento con QT, RT o TASPE. De forma que, a 4 pacientes (13,79%) se administró tratamiento quimioterápico tras R-EPOCH, a 10 pacientes (34,48%) se administró RT de consolidación, y a 7 pacientes (24,14%) se administró TASPE en 1º línea. Destacar que uno de los casos que requirió TASPE no fue por mala evolución, sino porque el TASPE en 1º línea forma parte del protocolo de tratamiento estándar del linfoma de células del manto.

Finalmente, tras la 1º línea de tratamiento se obtuvo 26 casos de remisión completa (89,65%), 2 casos de remisión parcial (6,90%) y solo 1 caso de enfermedad refractaria (3,45%) (*Tabla 19* y *Figura 18*). Por lo tanto, el número de respuestas totales fue de 28 casos (96,55%). Posteriormente, de los 26 pacientes con remisión completa, solo 3 de ellos (11,54%) sufrieron recaída de la enfermedad. En los 3 casos se administró tratamiento de 2º línea, pero solo en 2 de ellos (66,67%) se administró TASPE de 2º línea. El caso en el que se rechazó realizar el TASPE, fue debido a que superaba la edad recomendada para ello. De los 3 casos que recayeron, solo 1 caso obtuvo una remisión completa tras la recaída, mientras que los otros 2 casos fallecieron. Del total de la serie, 6 pacientes (20,69%) requirieron tratamiento de 2º línea: los 3 casos que recayeron y los 3 casos que no alcanzaron remisión completa tras el tratamiento de 1º línea. Además, 5 pacientes (17,24%) fallecieron. Uno de los fallecidos fue el único caso de la serie con enfermedad refractaria, 2 de los casos que recayeron y los 2 casos con remisión parcial (*Tabla 20* y *Figura 19*).

Al ser una serie con un número de pacientes reducido, valoraremos la supervivencia mediante el estimador de supervivencia de Kaplan-Meier. Las tablas de datos obtenidas para la realización de las curvas de supervivencia se muestran en el Anexo 4. Los resultados determinaron que la probabilidad de supervivencia global se mantuvo al sexto año estable en 79,40% (*Figura 20*). Mientras que la supervivencia libre de eventos se mantuvo al segundo año estable en 78,78% (*Figura 21*). Cuando comparamos ambas gráficas podemos determinar dos hechos importantes. En primer lugar, en los 2 primeros años la pendiente es mayor, siendo la supervivencia global algo más elevada (*Figura 22*). Esto supone que todas las recaídas y gran parte de las defunciones fueron precoces, en un tiempo menor de 2 años. En segundo lugar, la supervivencia global se mantiene bastante superior a la supervivencia libre de eventos durante los primeros 5 años. Esto significa que la mayoría de casos que recayeron no fallecieron de manera inmediata, pero sí lo hicieron en poco tiempo. Finalmente, tras 5 años de evolución, la supervivencia global se mantiene ligeramente superior a la supervivencia libre de eventos, esto se debe a que solo uno de los casos de recaídas alcanzó la remisión, y tras 5 años de evolución no hubo ninguna defunción o recaída tardía.

## **DISCUSIÓN**

Se trata de un estudio descriptivo, longitudinal y retrospectivo, acerca de la utilización de R-EPOCH como pauta de tratamiento en linfomas de alto grado no tratados previamente. A pesar de que los pacientes incluidos en esta serie, en su mayoría, poseían un estado de salud deteriorado (72,41% con ECOG  $\geq 2$ ); una enfermedad en estado avanzado (82,20% eran  $\geq$  III estadio) y factores de mal pronóstico (71,43% en riesgo alto o alto-intermedio según IPI), el 93,10% de los pacientes completaron el tratamiento con R-EPOCH. Aquellos que no completaron el tratamiento (6,90%) fue debido a que la progresión de la enfermedad obligó un cambio de tratamiento. Aunque la finalidad del estudio no es valorar los efectos adversos, en ningún caso de la serie se registraron cambios de tratamiento ni muertes por toxicidad. Por lo tanto, podemos destacar que **a pesar de que la toxicidad de R-EPOCH es mayor que los protocolos convencionales, es manejable y predecible, y puede ser tolerada adecuadamente.**

En 1993, se planteó que el protocolo CHOP era la mejor opción disponible para los linfomas no Hodgkin de estadio avanzado o intermedio (Fisher et al, 1993)<sup>(8)</sup>. Sin embargo, en ese mismo año algunos otros autores ya comenzaron a discutir este hecho, proponiendo la necesidad de desarrollar nuevos protocolos de tratamiento (Longo et al, 1993)<sup>(15)</sup>. Posteriormente, la adición del Rituximab demostró una clara mejoría en la supervivencia sin un incremento de la toxicidad, tanto en pacientes > 60 años (Coiffier et al, 2002)<sup>(4)</sup> (Coiffier et al, 2010)<sup>(5)</sup> como

pacientes < 60 años (Pfreundschuh et al, 2011)<sup>(21)</sup>. Aunque, tanto en edad avanzada como en jóvenes, la adicción de Rituximab suponía una mejoría en las curvas de supervivencia, la supervivencia en mayores de 60 años seguía siendo claramente inferior a la que presentaban pacientes de menor edad. Este hecho fue tan evidente, que en 2007 la edad por encima de 60 años se incluyó como factor de mal pronóstico en la escala IPI, y en 2014, se le aportó todavía más valor en la nueva escala IPI (NCCN-IPI). A raíz de esto, se plantearon estudios donde se comparó la supervivencia según el grado pronóstico. En estos estudios se corroboró que los DLBCL con grado alto o alto-intermedio obtenían una supervivencia inferior a los de mejor pronóstico, tanto con el protocolo CHOP (Wilder et al, 2002)<sup>(32)</sup> como el protocolo R-CHOP (Zhou et al, 2013)<sup>(39)</sup>, lo cual, supuso la necesidad urgente de seguir investigando nuevos protocolos de tratamiento, no solo en pacientes de edad avanzada, sino en todos los grupos de mal pronóstico.

Se plantearon diferentes posibilidades para intensificar la eficacia del protocolo estándar CHOP sin aumentar excesivamente la toxicidad. En algunos casos se planteó reducir el intervalo de administración. Sin embargo, R-CHOPx14 no demostró beneficio frente al estándar R-CHOPx21 (Cunningham et al, 2013)<sup>(6)</sup>. Otra opción fue añadir nuevos agentes quimioterápicos, como el Etopósido (EPOCH). En 1993, se desarrolló el protocolo de quimioterapia EPOCH, el cual, se caracterizaba por administrar en infusión continua durante 96 horas etopósido, vinblastina y doxorubicina, con bolos intravenosos de ciclofosfamida y prednisona oral. Este régimen obtuvo una buena tolerancia y alta efectividad en linfomas que habían sido previamente resistentes a estos mismos quimioterápicos administrados en forma de bolo. Esta mayor eficacia justifica la teoría de que las células tumorales poseen una menor resistencia a los quimioterápicos expuestos de manera prolongada a bajas dosis, en lugar, de exposiciones breves a altas dosis (Wilson et al, 1993)<sup>(33)</sup>. Sin embargo, análisis farmacocinéticos posteriores demostraron una diferencia de concentración plasmática de etopósido y doxorubicina entre los pacientes, como consecuencia, se implementó un sistema de ajuste de dosis (DA-EPOCH) basado en el recuento absoluto de neutrófilos y el recuento plaquetario, que garantizará que las concentraciones de citostáticos superaran la concentración umbral necesaria (Wilson et al, 2002)<sup>(34)</sup>. En 2004, en base a los datos del “German High Grade Non-Hodgkin’s Lymphoma Study Group” (DSHNHL), se concluyó que en linfomas agresivos existía una mejor respuesta con CHOEP en pacientes jóvenes (Pfreundschuh et al, 2004)<sup>(19)</sup>, pero no en pacientes de edad avanzada (Pfreundschuh et al, 2004)<sup>(20)</sup>.

En 2007, la adicción del rituximab al protocolo EPOCH muestra resultados favorables (García-Suárez et al, 2007)<sup>(10)</sup>. En 2012 se publica el primer estudio multiinstitucional, que determina

que el R-EPOCH alcanza una alta tasa de remisiones en el DLBCL (Wilson et al, 2012)<sup>(35)</sup>. Dos años después, el grupo español PETHEMA concluye que el protocolo R-EPOCH sería una buena opción de tratamiento, especialmente, en linfomas de alto riesgo (Purroy et al, 2014)<sup>(22)</sup>. En esa misma línea de investigación, un posterior estudio retrospectivo español objetivó que DA-EPOCH-R obtenía mejores resultados de supervivencia que el R-CHOP en pacientes con DLBCL de riesgo alto y alto-intermedio según el NCCN-IPI (Bergua et al, 2016)<sup>(2)</sup>. Sin embargo, el ensayo clínico de “Cancer and Leukemia Group B (CALGB)/Alliance 50303” realizado entre 2005 y 2017, determinó que cuando se comparaba la supervivencia de DLBCL sin tener en cuenta el grupo de riesgo, el protocolo DA-EPOCH-R alcanzaba una eficacia similar al protocolo estándar R-CHOP en cuanto a supervivencia libre de eventos y global, ocasionando mayores efectos tóxicos (Wilson et al, 2016)<sup>(36)</sup>. A pesar de que la comparación de ambos protocolos incluyendo a todos los pacientes con DLBCL indique que no hay beneficios con el protocolo DA-EPOCH-R, los datos obtenidos por grupos subclasificados según el IPI todavía no han sido publicados, siendo importante ver si refuerzan o no la hipótesis de los estudios previos de que el beneficio del protocolo DA-EPOCH-R podría encontrarse en los grupos de peor pronóstico. Otros estudios han comparado también la eficacia de R-EPOCH y R-CHOP, en este caso, los resultados sugirieron que R-EPOCH conseguía mejores resultados en supervivencia que R-CHOP en pacientes menores de 60 años, fenotipo GCB y aquellos con elevado IPI. Sin embargo, no se encontraría beneficio en tumores doble expresadores (Xu et al, 2017)<sup>(38)</sup>. Actualmente, la sociedad americana de hematología (ASH) mantiene desde el 2016 el protocolo R-CHOP como tratamiento estándar de los DLBCL no tratados previamente, pero, admite la necesidad urgente de nuevos tratamientos para los casos de alto riesgo<sup>(23)</sup>.

En nuestra serie, tras la quimioterapia y radioterapia, el porcentaje de respuesta completa fue del 89,65%, y de respuesta total fue de 96,55%. De forma que, solo hubo un caso de enfermedad refractaria (3,45%). Este tratamiento fue complementado en algunos casos con radioterapia, quimioterapia o TASPE (*Tabla 18*). **La elevada tasa de remisiones completas parece respaldar la teoría de autores predecesores de que el tratamiento R-EPOCH puede ser de gran eficacia en linfomas con IPI alto.** Consideramos que será de especial interés los datos que aporten el análisis por subgrupos del ensayo clínico “Cancer and Leukemia Group B (CALGB)/Alliance 50303”, y seguir realizando estudios dónde se compare la eficacia de R-CHOP y R-EPOCH, especialmente en pacientes con riesgo alto.

En nuestra serie, 3 casos (11,54%) recayeron, de manera exclusiva en los primeros 2 años de evolución. A pesar de que en todos los casos se administró tratamiento de segunda línea, solo 1 de los casos alcanzó una segunda remisión completa. En total, en nuestra serie fallecieron 5

pacientes (17,24%), de forma que los restantes 24 pacientes (82,76%) que siguen vivos, actualmente se encuentran en seguimiento con remisión completa de la enfermedad. De los fallecidos, 2 casos se produjeron tras la recaída de la enfermedad, y 3 no alcanzaron la remisión completa tras el tratamiento de primera línea. Por lo tanto, como cabría esperar, **podemos plantear la hipótesis de que los pacientes con recaídas, y baja respuesta al tratamiento R-EPOCH se asocian con mayor mortalidad, y que los tratamientos de segunda línea son todavía poco eficaces.**

Al ser un estudio retrospectivo, el estudio de biomarcadores (C-MYC, CD10, BCL2 y BCL4) se encontraba limitado, debido a que solo en algunos casos habían sido analizados, claramente en relación con el conocimiento que se tenía de ellos en el momento de diagnóstico de cada caso. De forma que el marcador C-myc no se ha analizado en el 82,76% de casos, por lo que, no se incluyó en el estudio estadístico. Las correspondientes pruebas estadísticas no encontraron asociación entre el índice de proliferación Ki67, y la expresión de BCL2, BCL6 con la aparición de refractariedad/recaídas. **Aunque en nuestra serie la presencia de BCL2, BCL6 o alto índice de proliferación tumoral (Ki-67) no estén relacionado con peores resultados, la pequeña muestra de la que se disponen datos hace que su valoración pueda estar limitada.**

La utilidad de BCL2 y alto índice Ki-67 como factores pronósticos de subgrupos de DLBCL de peor pronóstico fue demostrado tanto con respecto al tratamiento CHOP, como al R-CHOP (Gaudio et al, 2011)<sup>(11)</sup>. En cuanto al tratamiento R-EPOCH, se valoró que la expresión de BCL2 se asociaba a peores resultados (Purroy et al, 2014)<sup>(22)</sup>, pero el índice de proliferación tumoral no influía en los resultados a diferencia de lo que ocurría con el tratamiento R-CHOP (Wilson et al, 2002)<sup>(34)</sup>. A diferencia de los anteriores, la expresión de BCL6 se asoció como factor pronóstico favorable e independiente (Lossos et al, 2001)<sup>(16)</sup>. En contraste, en 2006, un estudio determinó que la expresión de BCL6 no influía en la supervivencia de pacientes tratados con R-CHOP, y que la mejoría de la supervivencia se debía únicamente al efecto de la adicción de rituximab (Winter et al, 2006)<sup>(37)</sup>. Los resultados del estudio de Winter fueron cuestionados en 2007, dónde se indicaba una mejor supervivencia en DLBCL BCL6 positivos (Dunleavy et al, 2007)<sup>(7)</sup> (Iqbal et al, 2007)<sup>(12)</sup>. Ante los resultados contradictorios debidos al impacto del rituximab en el pronóstico, se propuso un análisis retrospectivo antes y después de la inclusión de rituximab. Este estudio tampoco encontró un significado pronóstico en BCL6 en pacientes tratados solo con CHOP (Shustik et al, 2010)<sup>(27)</sup>. Por lo tanto, el papel pronóstico de BCL6 todavía no está claro, y requerirá todavía de nuevos estudios, que completen el valor de su influencia.

## **SEGUIMIENTO**

Tras 2 años libres de enfermedad, el riesgo de DLBCL es <10% y se iguala al de la población general<sup>(3)</sup>, por lo tanto, el seguimiento específico de la enfermedad se debe realizar durante los primeros años, y posteriormente prestar mayor atención a tumores u otros efectos secundarios a largo plazo de la quimioterapia<sup>(31)</sup>

La monitorización consiste en anamnesis y exploración física cuidadosa cada 3 meses durante el primer año y luego cada 6 meses durante 2 años más, y después sólo 1 vez al año. Se le debe realizar un análisis de sangre a los 3, 6, 12 y 24 meses, posteriormente solo en caso de aparición de síntomas o hallazgos clínicos sospechosos en pacientes que sean susceptibles de un nuevo tratamiento. Aunque en la práctica clínica se suele realizar TC a los 6, 12 y 24 meses, no se ha visto un beneficio en los resultados y supone un mayor riesgo de tumores secundarios. Tampoco el seguimiento con PET está recomendado. Aquellos pacientes de alto riesgo y susceptibles de recibir un tratamiento curativo si fuese necesario, requieren en muchos casos un seguimiento más estrecho.<sup>(31)</sup>

## **RECAÍDA/REFRACTARIEDAD**

En el **DLCBL > 30% de los casos sufrirán una recaída o serán refractarios al tratamiento**, lo cual, se debe principalmente a la variabilidad de subgrupos moleculares presentes originados por diferentes vías oncológicas y por tanto, diferente respuesta al tratamiento. La probabilidad de reincidencia depende del pronóstico inicial del tumor (IPI ajustado a la edad), los tratamientos previos, y el tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento.

Aunque poseamos imágenes susceptibles de reactivación tumoral, se debe **confirmar por biopsia antes de proceder con el tratamiento de segunda línea**. Si no es posible la biopsia quirúrgica, puede utilizarse la biopsia de aguja gruesa. Se debe re-estadiar el tumor y realizar la valoración pronostica igual que en la vez previa.

Siempre que el paciente haya recibido un tratamiento de primera línea adecuado en la vez previa, tenga < 65-70 años, buen estado funcional y no disfunción orgánica, se planteará la administración de los tratamientos de segunda línea.

Habitualmente se utiliza **tratamiento de rescate con rituximab y quimioterapia**, cuyo principal objetivo es disminuir la carga tumoral y demostrar que posee sensibilidad a la quimioterapia<sup>(3)</sup>. Otra opción es la utilización de otros protocolos de quimioterapia como R-DHAP (rituximab, cisplatino, citarabina, dexametasona), R-ICE (rituximab, ifosfamide, carboplatino, etoposido) o R-GDP (rituximab, cisplatino, gemcitabina, dexametasona), de ellos, ninguno ha demostrado

ser superior al resto<sup>(31)</sup>. Por lo tanto, la decisión terapéutica se basará en los efectos adversos, el coste, y su impacto a la hora de recoger las células madres para el autotrasplante<sup>(3)</sup>. Los pacientes con rituximab añadido a la quimioterapia poseen mejores resultados que los que no lo tienen, por lo tanto, se recomienda su inclusión en todos los regímenes de rescate<sup>(31)</sup>.

A continuación, en aquellos pacientes que respondan bien, se realizará **quimioterapia de altas dosis y autotrasplante de células hematopoyéticas (ASCT)**. En este caso el protocolo de quimioterapia más frecuente es BEAM (BCNU, etopósido, citarabina y melfalán). Aunque existen estudios que incluyen la RT local en zonas de enfermedad residual antes o después del autotrasplante, todavía está en estudio y no se recomienda su realización, excepto, casos dónde se presenten problemas locales particulares<sup>(3)</sup>. Aunque también se ha estudiado, no se recomienda el rituximab como tratamiento de mantenimiento post-trasplante<sup>(31)</sup>.

La evaluación de la respuesta al tratamiento es semejante a cuando se utiliza el tratamiento de primera línea. Aunque en este caso se recomienda la **evaluación mediante PET-TC tras 3 o 4 ciclos de quimioterapia**, antes de iniciar pautas de quimioterapia a dosis altas; **y otro al finalizar el tratamiento**. De forma que una buena respuesta a la quimioterapia a dosis alta, se relaciona con mejores resultados clínicos tras el trasplante<sup>(31)</sup>. Aunque la remisión completa de la enfermedad previa al autotrasplante se relaciona con mejores resultados, no es estrictamente necesaria; en casos de remisión parcial puede valorarse realizar el trasplante o realizar una segunda línea de quimioterapia.<sup>(3)</sup>

Aquellos que no sean susceptibles de soportar un tratamiento con altas dosis de quimioterapia pueden ser tratados con R-GEMOX (rituximab, gemcitabina, oxaliplatino). Pacientes que ya han sido tratados por varias pautas pueden ser subsidiarios de monoterapia con Pixantrona que posee una menor cardiotoxicidad, aunque se recomienda su inscripción en ensayos clínicos<sup>(31)</sup>.

Los pacientes que se mantienen refractarios tras el primer tratamiento de rescate, poseen un pronóstico muy pobre, con una supervivencia menor del 10% en los siguientes 3 años<sup>(3)</sup>. Se recomienda que estos pacientes sean incluidos dentro de ensayos clínicos.

El **trasplante alogénico de células hematopoyéticas con hermanos o donadores no relacionados** puede ser una opción en pacientes con enfermedad refractaria o recaída después de un autotrasplante de células hematopoyéticas<sup>(31)</sup>. Los principales factores pronósticos en este caso sería: el tiempo transcurrido tras el autotrasplante, y la sensibilidad mostrada a la quimioterapia de rescate previa. De forma que no se recomienda a aquellos que no tuvieron al menos una respuesta parcial en el tratamiento de rescate.

El trasplante alogénico y el autotrasplante poseen resultados de supervivencia post-trasplante semejantes, existiendo una mayor tasa de recaída en el autotrasplante, pero una mayor mortalidad sin recaída en el alotrasplante. Por lo tanto, aunque no es de elección el alotrasplante sobre el autotrasplante, podría ser una opción razonable como tratamiento de rescate de primera línea en pacientes jóvenes (< 40-50 años) con alto IPI, especialmente, cuya realización de autotrasplante no es posible por insuficiente cantidad de células madre<sup>(3)</sup>

En el caso de realizar un alotrasplante, se recomendará usar la mieloablación en pacientes menores de 40 años que no hayan recibido un autotrasplante previo; en todos los demás casos se recomendará realizar una estrategia de acondicionamiento de intensidad reducida<sup>(3)</sup>



## **CONCLUSIONES**

- I. El esquema R-EPOCH presenta una elevada eficacia antitumoral con un elevado índice de respuestas totales (96,55%) en linfomas B de riesgo alto.
- II. El esquema R-EPOCH muestra una toxicidad manejable y predecible, en ningún caso se produjeron eventos tóxicos de gravedad.
- III. Los tratamientos de 2º línea son todavía poco eficaces. La mortalidad entre los pacientes que recaen o tienen falta de respuesta a R-EPOCH es muy elevada (83,33%)
- IV. Todas las recaídas se producen de manera precoz, con una supervivencia libre de eventos mantenida de 78,78% tras dos años de seguimiento, y aquellos que fallecen tras la recaída los hacen en un breve periodo de tiempo, con una supervivencia global mantenida de 79,40% tras 6 años de seguimiento.
- V. La presencia de BCL2, BCL6 o alto índice Ki-67 no se relacionó con peores resultados, aunque su interpretación puede estar limitada por la falta de datos en la muestra.



## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Alfonso G, Ardaiz, María M, Basquiera A, Castro Rios M, De Dios Soler M, Dragosky M et al. Linfomas. In: Zerga M, Fantl D, ed. by. Sociedad Argentina de Hematología Guías de diagnóstico y tratamiento: edición 2017 [Internet]. 1st ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: SAH; 2017 [cited 2 April 2018]. p. 485-502. Available from: [http://sah.org.ar/guias\\_hematolo\\_2017.asp](http://sah.org.ar/guias_hematolo_2017.asp)
2. Bergua-Burgues J, Lopez-Gomez L, Ibañez F, Suarez-Varela S, Prieto-Fernandez J, Carnicero F et al. NCCN-IPI in Patients with Diffuse Large B CELL Lymphoma Treated with DA-R-EPOCH. Retrospective Analysis. *Blood*. 2016;128(22):5401.
3. Chaganti S, Illidge T, Barrington S, Mckay P, Linton K, Cwynarski K et al. Guidelines for the management of diffuse large B-cell lymphoma. *British Journal of Haematology*. 2016;174(1):43-56
4. Coiffier B, Lepage E, Brière J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R et al. CHOP Chemotherapy plus Rituximab Compared with CHOP Alone in Elderly Patients with Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2002;346(4):235-242.
5. Coiffier B, Thieblemont C, Van Den Neste E, Lepeu G, Plantier I, Castaigne S et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Blood*. 2010;116(12):2040-2045.
6. Cunningham D, Hawkes E, Jack A, Qian W, Smith P, Mouncey P et al. Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles. *The Lancet*. 2013;381(9880):1817-1826.
7. Dunleavy K, Davis R, Landgren O, Staudt L, Wilson W. BCL-6 and rituximab in diffuse large B-cell lymphoma: where are we?. *Blood*. 2007;109(2):843-844.
8. Fisher R, Gaynor E, Dahlberg S, Oken M, Grogan T, Mize E et al. Comparison of a Standard Regimen (CHOP) with Three Intensive Chemotherapy Regimens for Advanced Non-Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 1993;328(14):1002-1006.
9. Friedberg J, Fisher R. Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2008;22(5):941-952.
10. García-Suárez J, Bañas H, Arribas I, De Miguel D, Pascual T, Burgaleta C. Dose-adjusted EPOCH plus rituximab is an effective regimen in patients with poor-prognostic untreated diffuse large B-cell lymphoma: results from a prospective observational study. *British Journal of Haematology*. 2007;136(2):276-285.

11. Gaudio F, Giordano A, Perrone T, Pastore D, Curci P, Delia M et al. High Ki67 Index and Bulky Disease Remain Significant Adverse Prognostic Factors in Patients with Diffuse Large B Cell Lymphoma before and after the Introduction of Rituximab. *Acta Haematologica*. 2011;126(1):44-51.
12. Iqbal J, Greiner T, Patel K, Dave B, Smith L, Ji J et al. Distinctive patterns of BCL6 molecular alterations and their functional consequences in different subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2007;21(11):2332-2343.
13. Linfomas no Hodgkin [Internet]. Seom.org. 2018 [cited 2 February 2018]. Available from: <https://www.seom.org/es/info-sobre-el-cancer/linfoma-no-hodgkin?start=1#content>
14. Linfomas no Hodgkin - Hematología y oncología - Manual MSD versión para profesionales [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. 2018 [cited 1 February 2018]. Available from: <http://www.msdsmanuals.com/es-es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/linfomas/linfomas-no-hodgkin>
15. Longo D, DeVita V, Young R. CHOP versus Intensive Regimens in Non-Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 1993;329(8):580-582.
16. Lossos I, Jones C, Warnke R, Natkunam Y, Kaizer H, Zehnder J et al. Expression of a single gene, BCL-6, strongly predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2001;98(4):945-951.
17. Martelli M, Ferreri A, Agostinelli C, Di Rocco A, Pfreundschuh M, Pileri S. Diffuse large B-cell lymphoma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2013;87(2):146-171.
18. Pasqualucci L, Dalla-Favera R. SnapShot: Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Cancer Cell*. 2014;25(1):132-132.e1.
19. Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M, Schmits R, Feller A, Rudolph C et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood*. 2004;104(3):626-633.
20. Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M, Schmits R, Feller A, Rübe C et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood*. 2004;104(3):634-641.
21. Pfreundschuh M, Kuhnt E, Trümper L, Österborg A, Trneny M, Shepherd L et al. CHOP-like chemotherapy with or without rituximab in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: 6-year results of an open-label randomised study of the MabThera International Trial (MInT) Group. *The Lancet Oncology*. 2011;12(11):1013-1022.

22. Purroy N, Bergua J, Gallur L, Prieto J, Lopez L, Sancho J et al. Long-term follow-up of dose-adjusted EPOCH plus rituximab (DA-EPOCH-R) in untreated patients with poor prognosis large B-cell lymphoma. A phase II study conducted by the Spanish PETHEMA Group. British Journal of Haematology. 2014;169(2):188-198.
23. R-CHOP Remains the Standard of Care in Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma [Internet]. Theoncologist.alphamedpress.org. 2016 [cited 28 April 2018]. Available from: <http://theoncologist.alphamedpress.org/site/conference/ash/2016/r-chop.html>
24. Roschewski M, Staudt L, Wilson W. Diffuse large B-cell lymphoma—treatment approaches in the molecular era. Nature Reviews Clinical Oncology. 2013;11(1):12-23.
25. Sehn L, Gascoyne R. Diffuse large B-cell lymphoma: optimizing outcome in the context of clinical and biologic heterogeneity. Blood. 2014;125(1):22-32.
26. Sesques P, Johnson N. Approach to the diagnosis and treatment of high-grade B-cell lymphomas with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements. Blood. 2016;129(3):280-288.
27. Shustik J, Han G, Farinha P, Johnson N, Ben Neriah S, Connors J et al. Correlations between BCL6 rearrangement and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP or R-CHOP. Haematologica. 2010;95(1):96-101.
28. Sorigue M, Sancho J. La revisión de 2016 de la clasificación de la OMS de las neoplasias linfoides: la visión del clínico. Med Clin. 2017;150(2):64-66.
29. Swerdlow S, Campo E, Pileri S, Harris N, Stein H, Siebert R et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood. 2016;127(20):2375-2390.
30. Tilly H, Lepage E, Coiffier B, Blanc M, Herbrecht R, Bosly A et al. Intensive conventional chemotherapy (ACVBP regimen) compared with standard CHOP for poor-prognosis aggressive non-Hodgkin lymphoma. Blood. 2003;102(13):4284-4289.
31. Tilly H, Gomes da Silva M, Vitolo U, Jack A, Meignan M, Lopez-Guillermo A et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology. 2015;26(5):116-125
32. Wilder R, Rodriguez M, Medeiros L, Tucker S, Ha C, Romaguera J et al. International prognostic index-based outcomes for diffuse large B-cell lymphomas. Cancer. 2002;94(12):3083-3088.
33. Wilson W, Bryant G, Bates S, Fojo A, Wittes R, Steinberg S et al. EPOCH chemotherapy: toxicity and efficacy in relapsed and refractory non-Hodgkin's lymphoma. Journal of Clinical Oncology. 1993;11(8):1573-1582.

34. Wilson W, Grossbard M, Pittaluga S, Cole D, Pearson D, Drbohlav N et al. Dose-adjusted EPOCH chemotherapy for untreated large B-cell lymphomas: a pharmacodynamic approach with high efficacy. *Blood*. 2002;99(8):2685-93.
35. Wilson W, Jung S, Porcu P, Hurd D, Johnson J, Martin S et al. A Cancer and Leukemia Group B multi-center study of DA-EPOCH-rituximab in untreated diffuse large B-cell lymphoma with analysis of outcome by molecular subtype. *Haematologica*. 2012;97(5):758-765.
36. Wilson W, sin-Ho J, Pitcher B, Hsi E, Friedberg J, Cheson B et al. Phase III Randomized Study of R-CHOP Versus DA-EPOCH-R and Molecular Analysis of Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma: CALGB/Alliance 50303. *blood*. 2016;128(22):469.
37. Winter J, Weller E, Horning S, Krajewska M, Variakojis D, Habermann T et al. Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood*. 2006;107(11):4207-4213.
38. Xu W, Zhang X, Liang J, Wang L, Zhu H, Wu W et al. R-DA-EPOCH improves the outcome over that of the R-CHOP regimen for DLBCL patients below 60 years, GCB phenotype, and those with high IPI, but not for double expressor lymphoma. *Hematological Oncology*. 2017;35:336-337.
39. Zhou Z, Sehn L, Rademaker A, Gordon L, LaCasce A, Crosby-Thompson A et al. An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood*. 2013;123(6):837-842.