

## En tres historias...



## Conflictos de interés

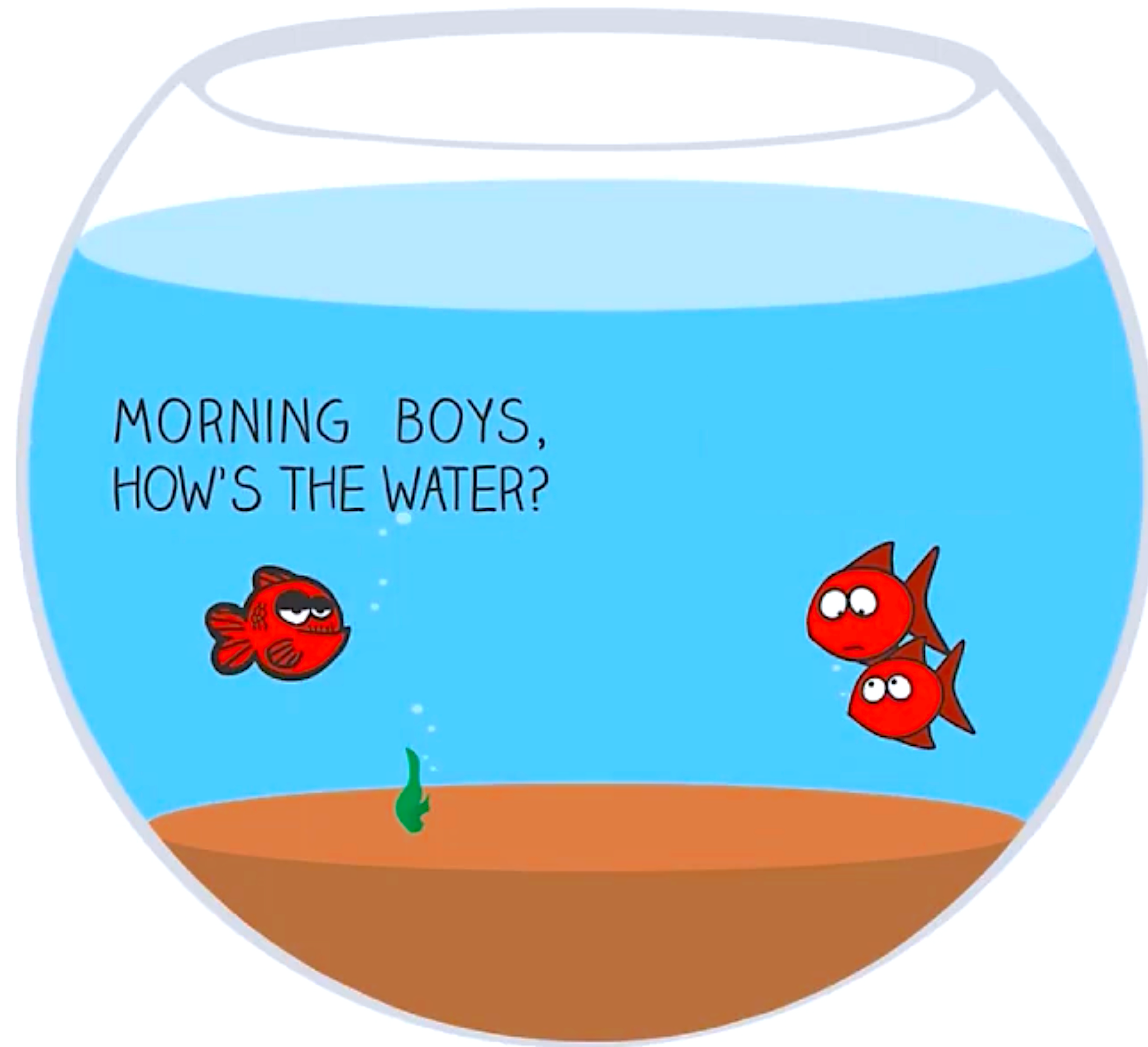
Categoría	
Lugar de Trabajo	Clínica Alemana de Santiago. Hospital Padre Hurtado.
Investigación	MSD, Regeneron, BMS.
Educación Médica Continua	Roche, AztraZeneca, Kite, Abbvie, BeiGene, Takeda, Tecnofarma, Pint Pharma, Elea, Johnson & Johnson, BMS, Miltenyi Biotec.
Comité Asesor	Takeda, Roche.
Acciones	Cytohance S.A.

## Descargos de responsabilidad (Disclaimer)

- 1) Esta es la mirada de un clínico.
- 2) Las bases del **secuenciación y perfilamiento genómico** son mucho mas complejas de lo que yo pueda explicar en 20 minutos.
- 3) Existen mas aplicaciones de la que esta presentación pueda cubrir.



**David Foster Wallace (1962 - 2008)**

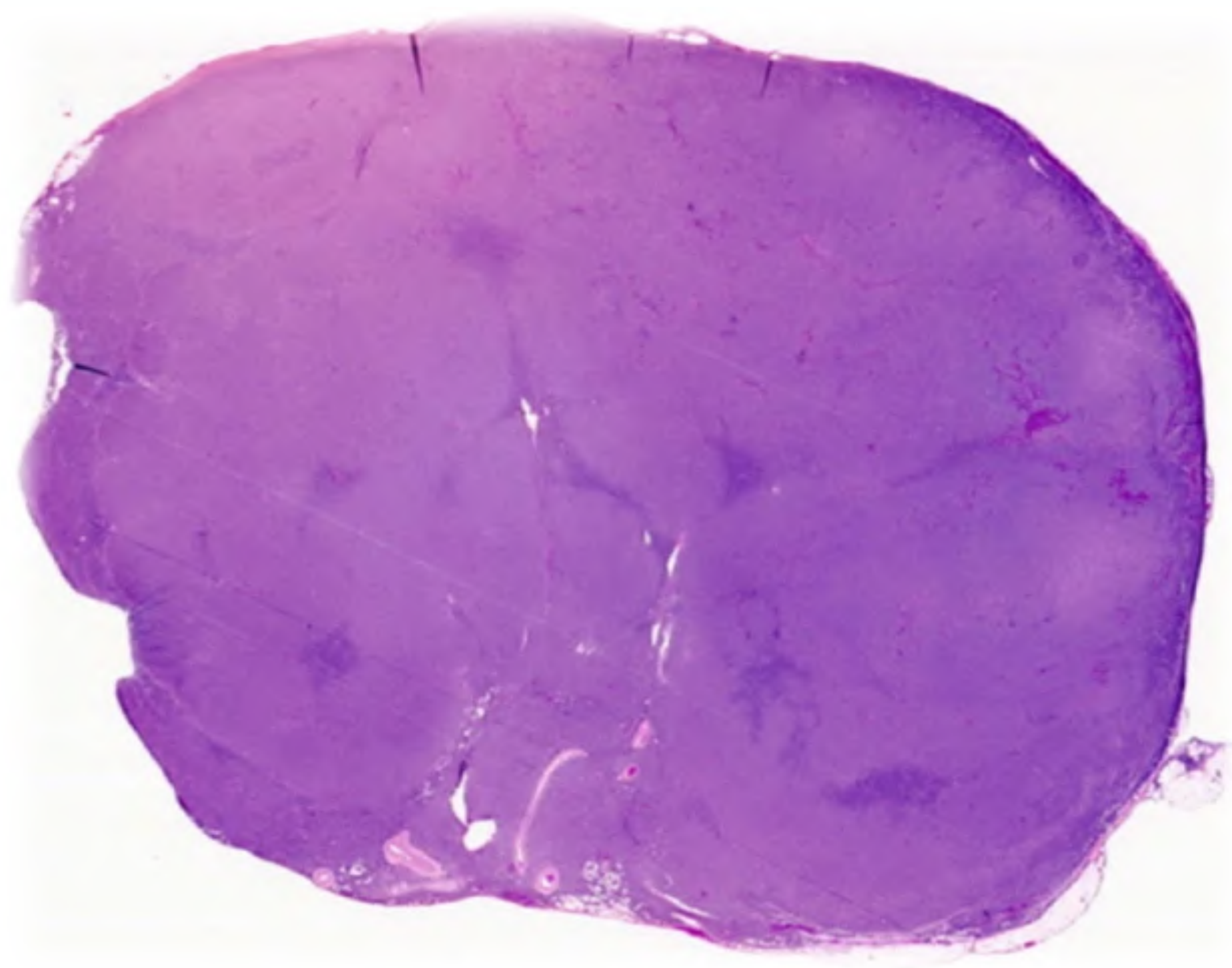


MORNING BOYS,  
HOW'S THE WATER?

**Teorías implícitas:** premisas de como funciona el mundo, sin que seamos conscientes de su existencia.

**(hasta que alguien nos desafía a observarlas)**

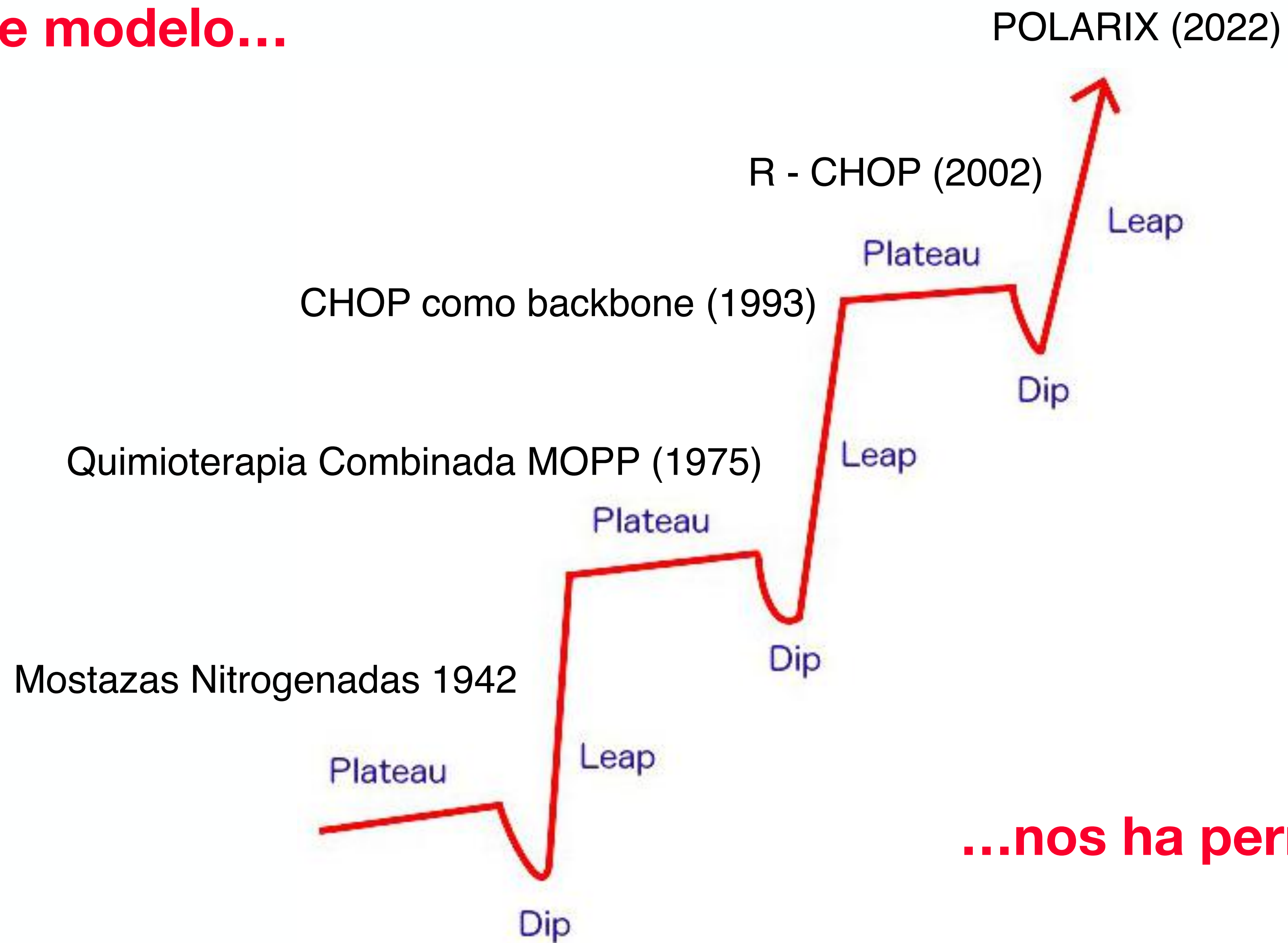
Yo creo que tenemos una teoría implícita **LNH DCGB (DLBCL)**





**“El LDCGB es una sola enfermedad”**

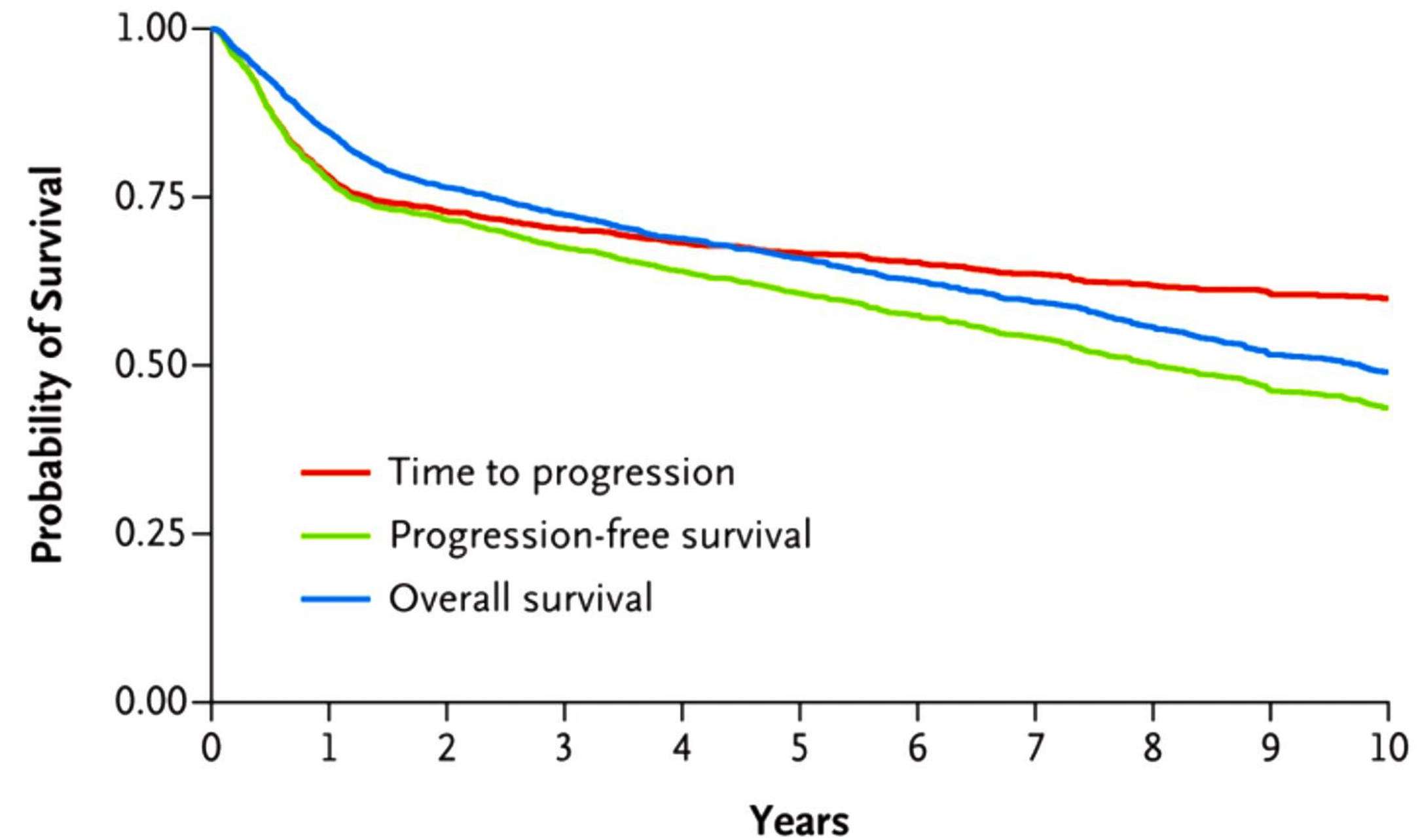
## Este modelo...



**...nos ha permitido avanzar**

# Hacia una exitosa estrategia de tratamiento “Talla única” (por más de 20 años!)

A Outcomes of Patients with DLBCL



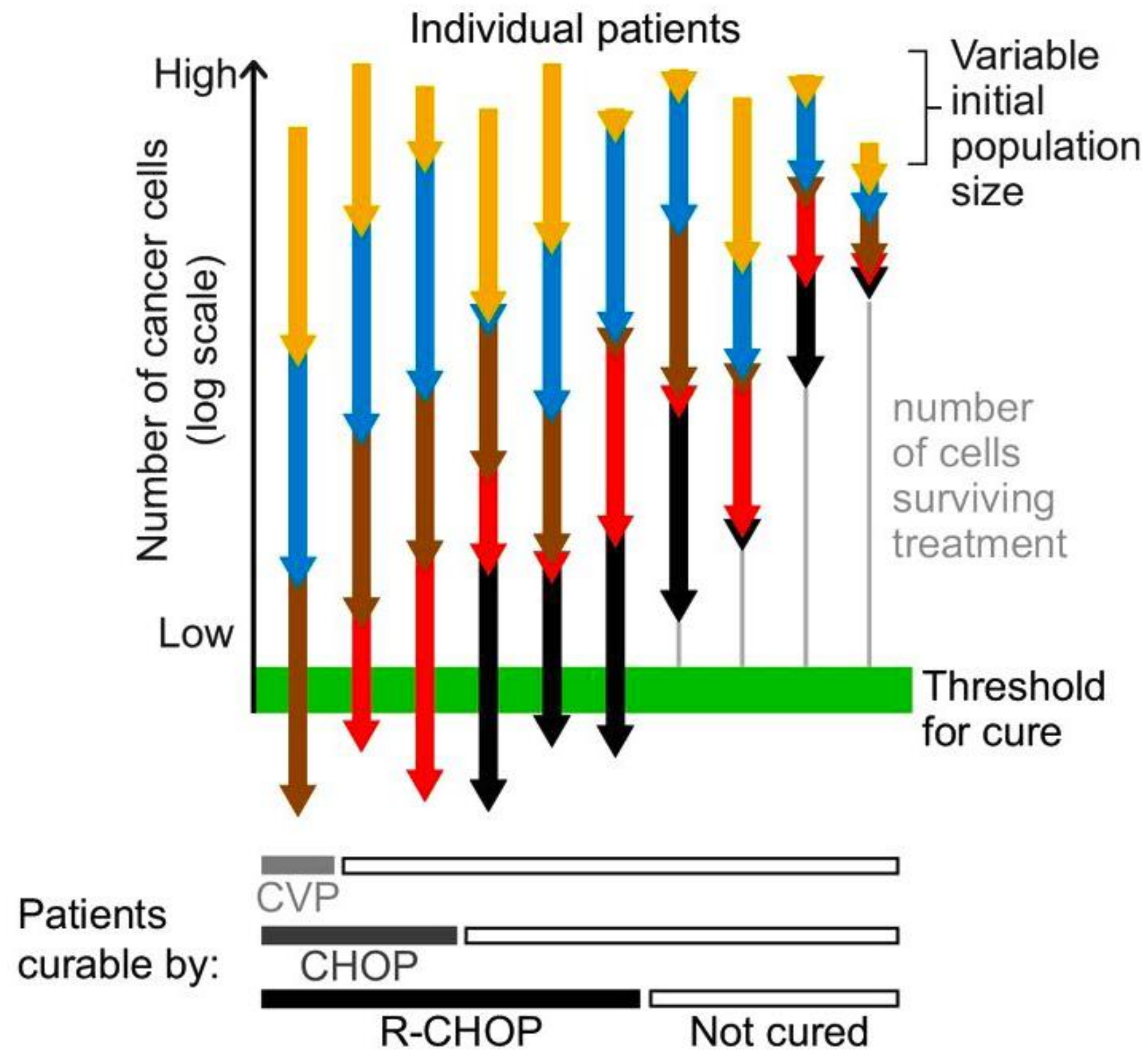
**No. at Risk**

Time to progression	3082	2133	1775	1446	1236	1048	830	700	585	468	391
Progression-free survival	3082	2132	1774	1445	1235	1047	829	699	584	467	390
Overall survival	3082	2336	1900	1558	1338	1140	911	767	647	519	437

**>60% de los pacientes SE CURAN con R-CHOP**

# Heterogeneidad en el efecto de tratamiento

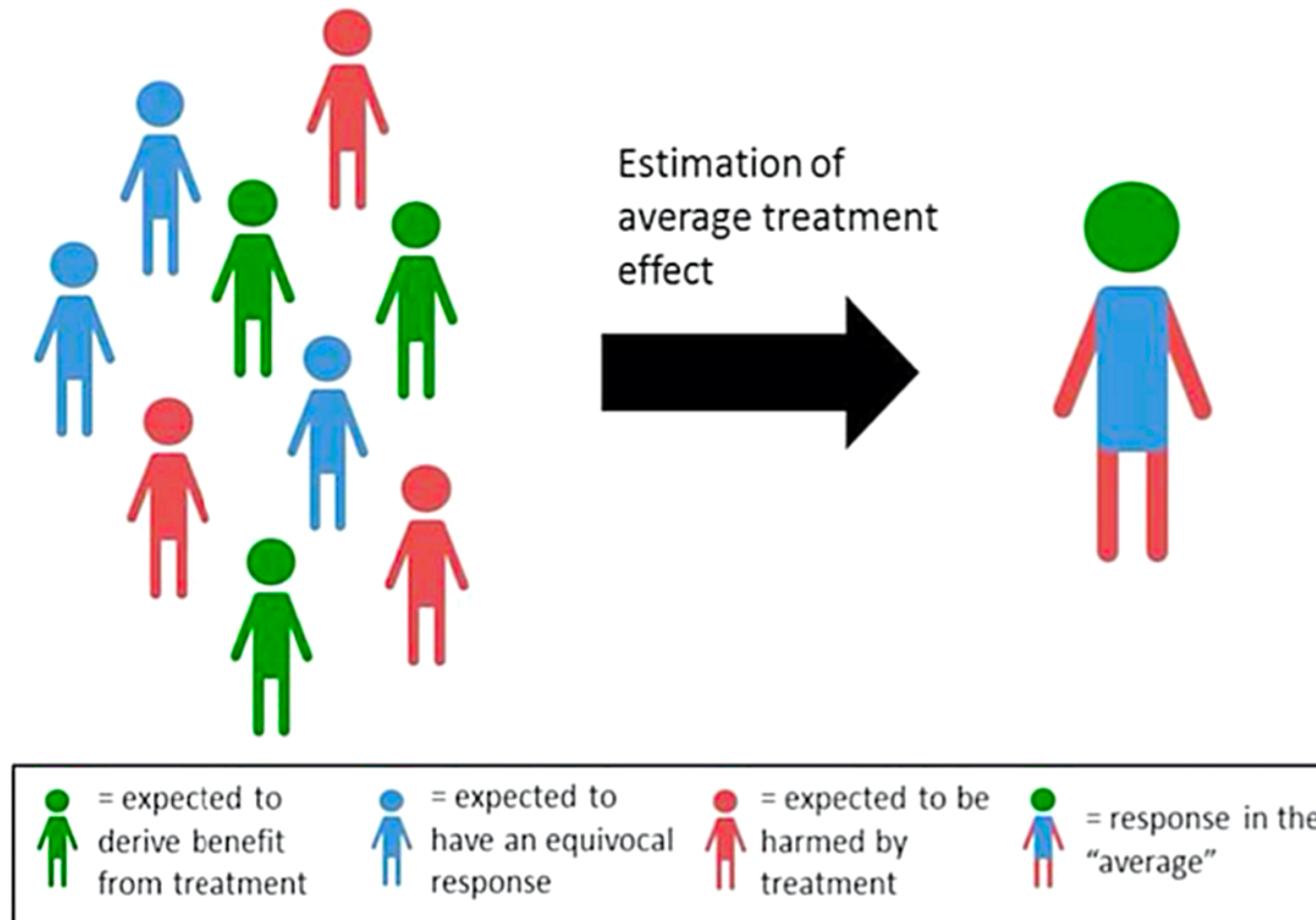
Role of patient variability in drug sensitivity



**40%** de los pacientes con LDCGB  
**NO SE CURAN**

**El problema es que esto lo sabemos después de tratar a los pacientes**

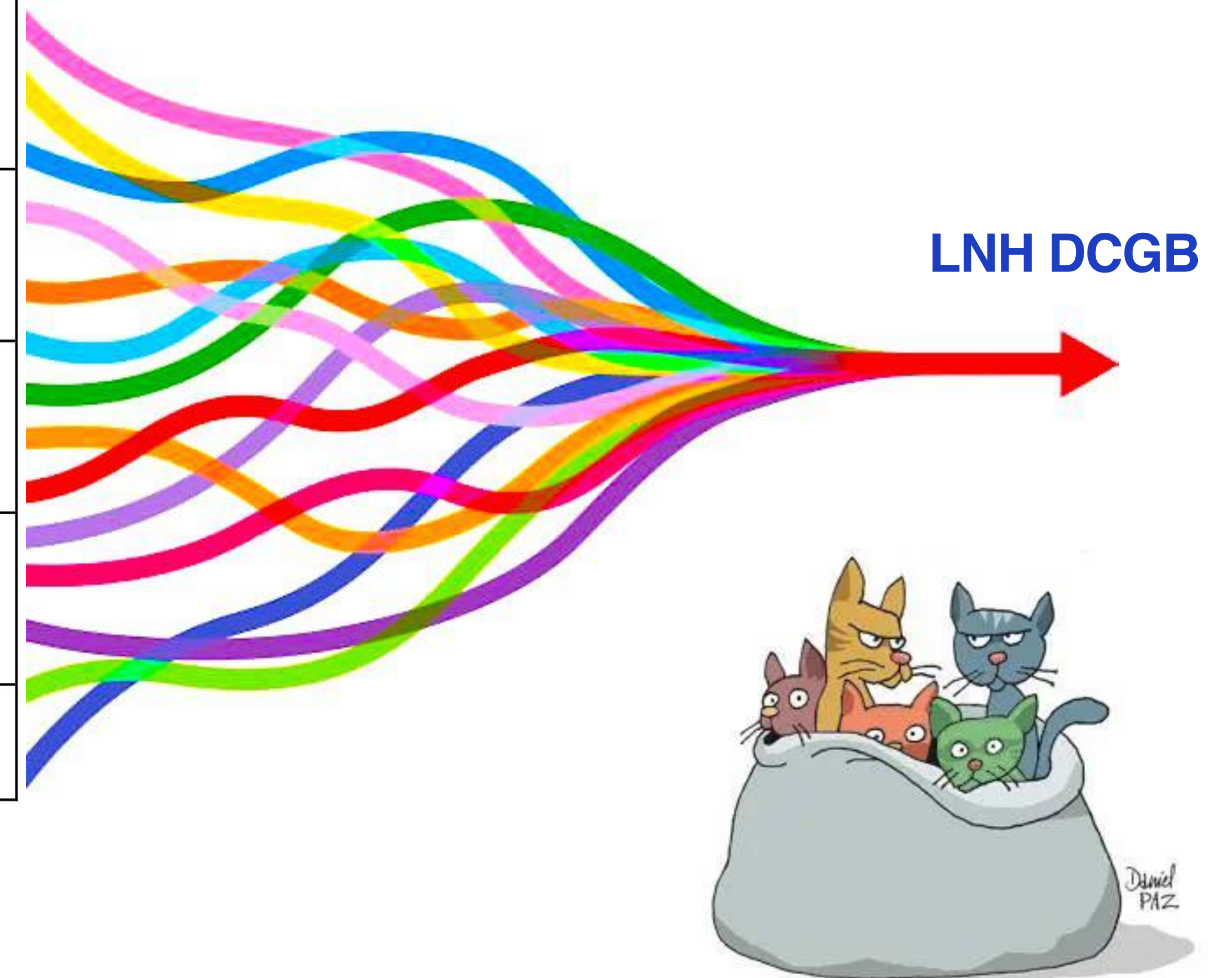
**Ese 60% = efecto promedio de tratamiento poco aplicable en poblaciones heterogéneas**



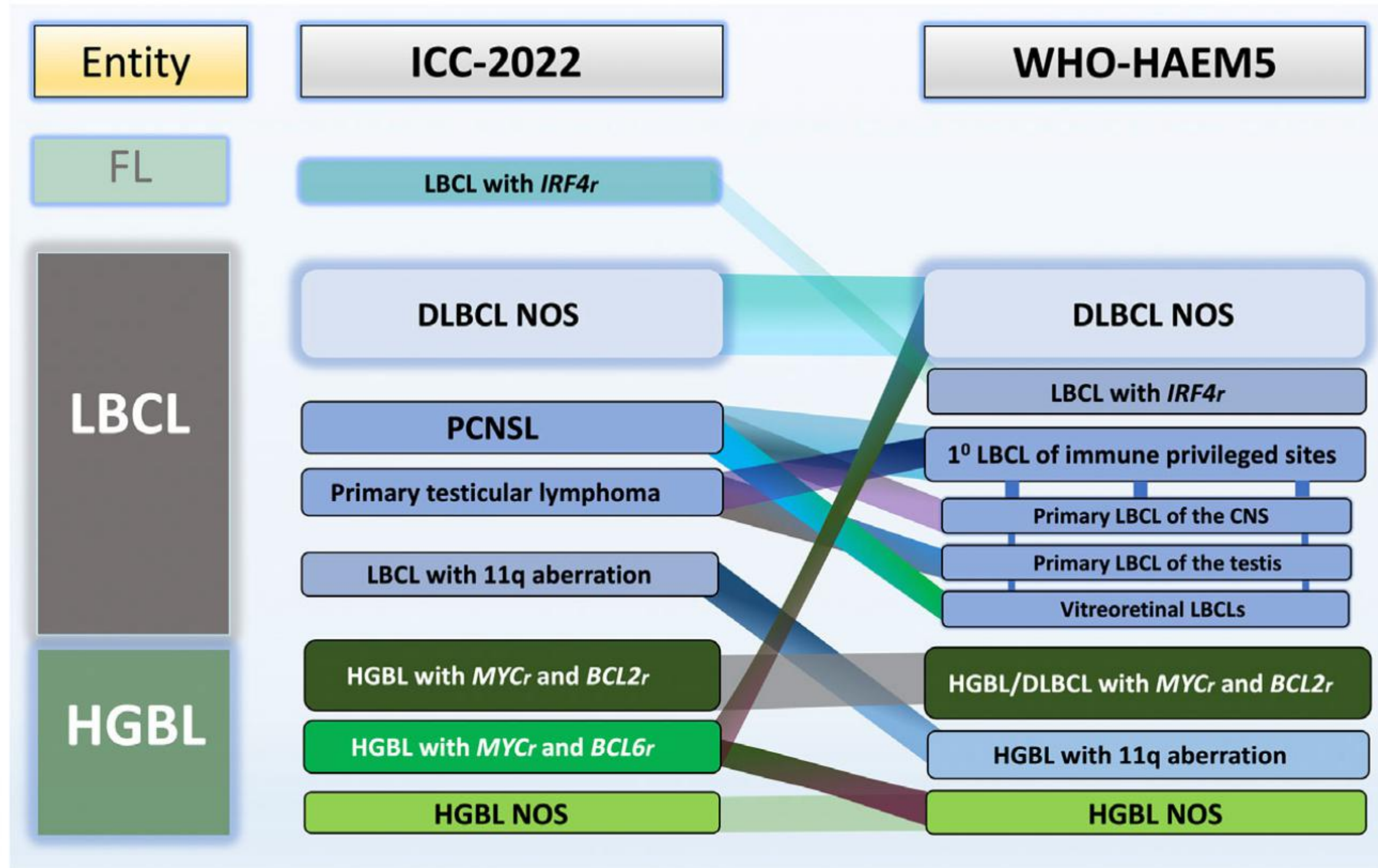
“Puedes entender de probabilidades y aún así no te dicen que va a ocurrir”

# Desde historia de la nomenclatura —> categoría heterogénea unificada

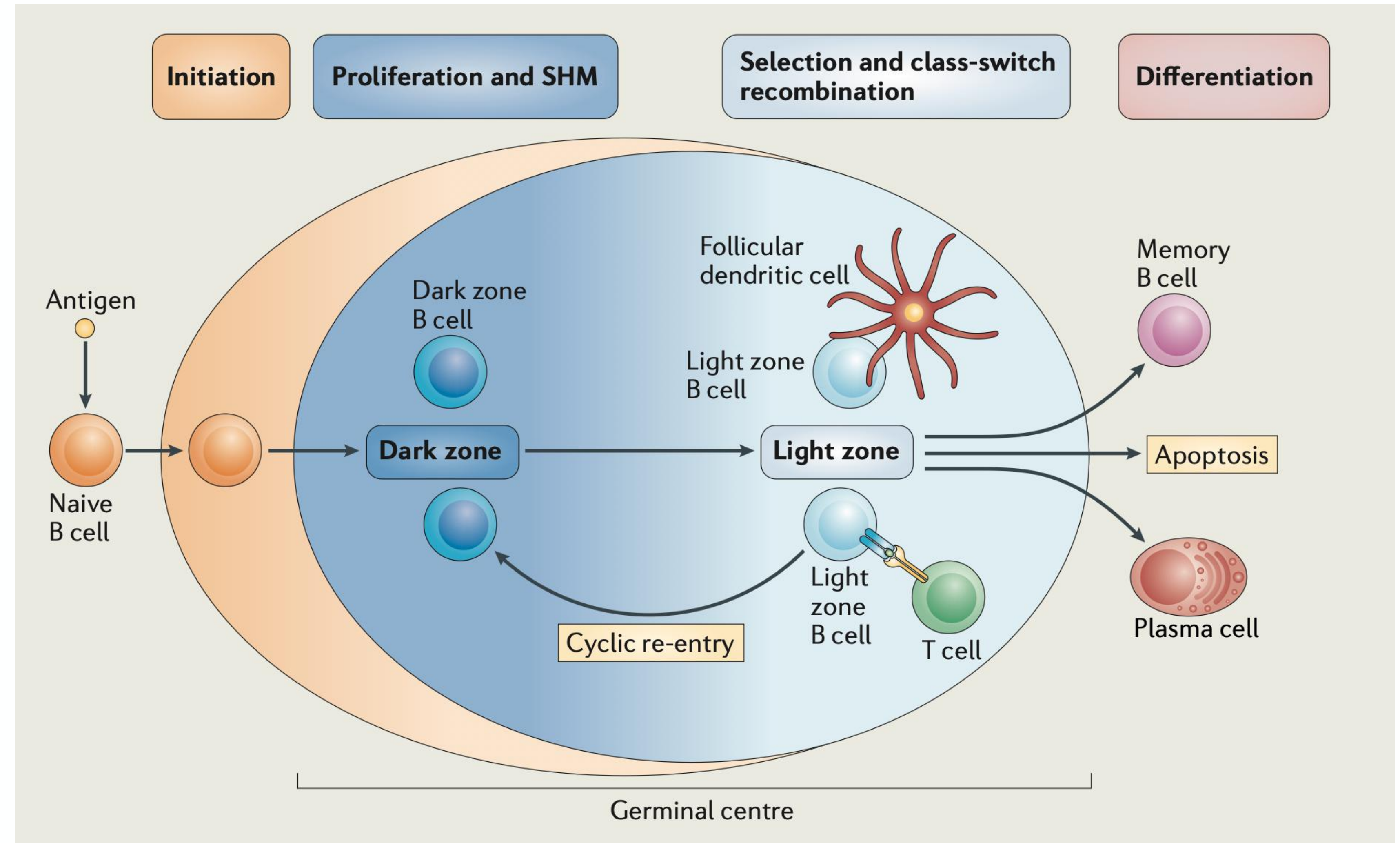
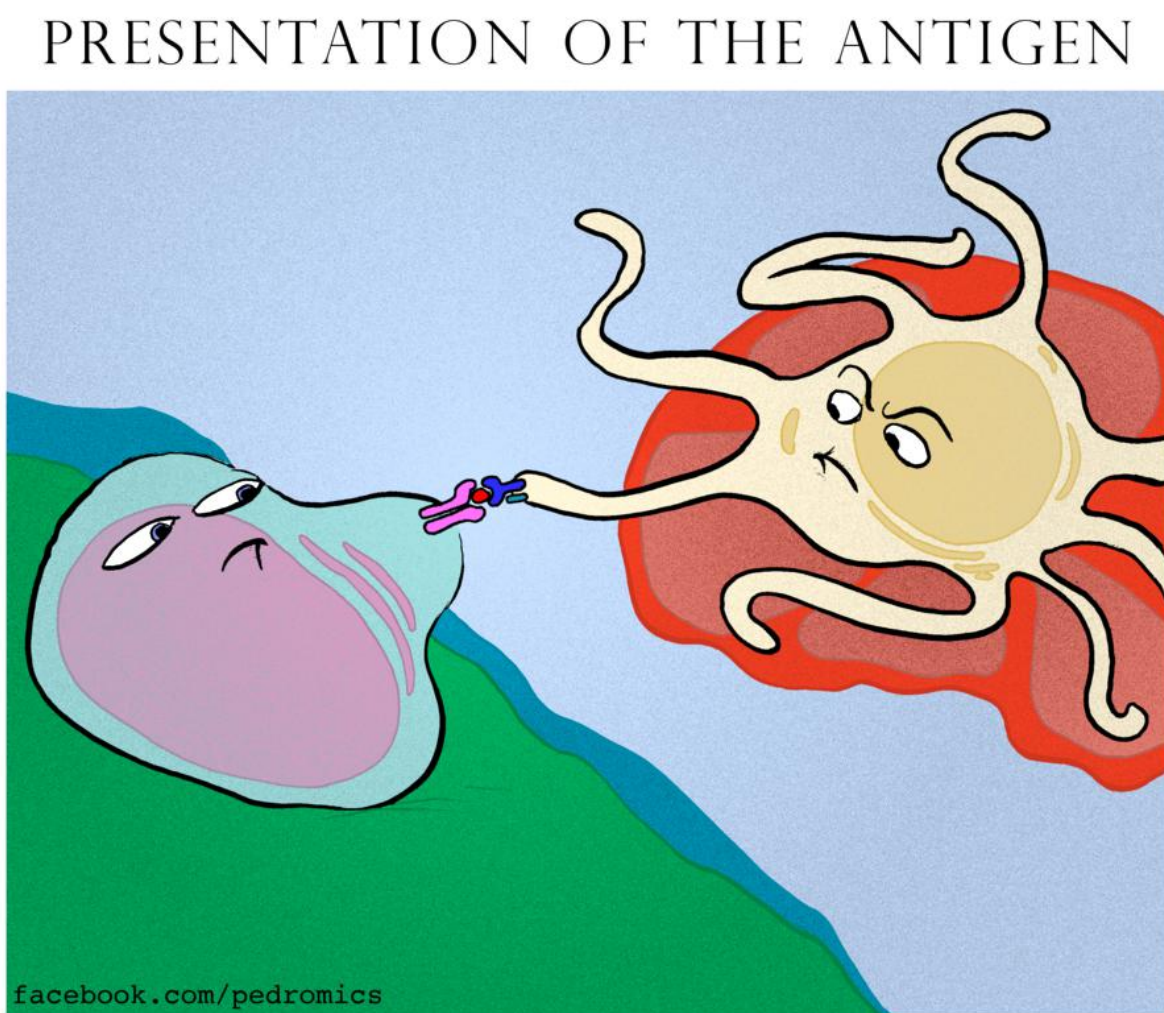
Rappaport (1966) <sup>2</sup>	Diffuse, histiocytic Diffuse, lymphocytic, poorly differentiated
Kiel (1974) <sup>3</sup>	Centroblastic Immunoblastic High grade, unclassified
Lukes-Collins (1974) <sup>3</sup>	Immunoblastic sarcoma (B-cell) Follicular center cell, large, cleaved or non-cleaved
Working Formulation (1982) <sup>4</sup>	Diffuse, mixed, small and large cell Diffuse large cell Large cell immunoblastic
REAL (1994) and WHO (2008) <sup>1</sup>	Diffuse large B-cell



# LNH DCGB : Clasificación actual → obligada a disgregar

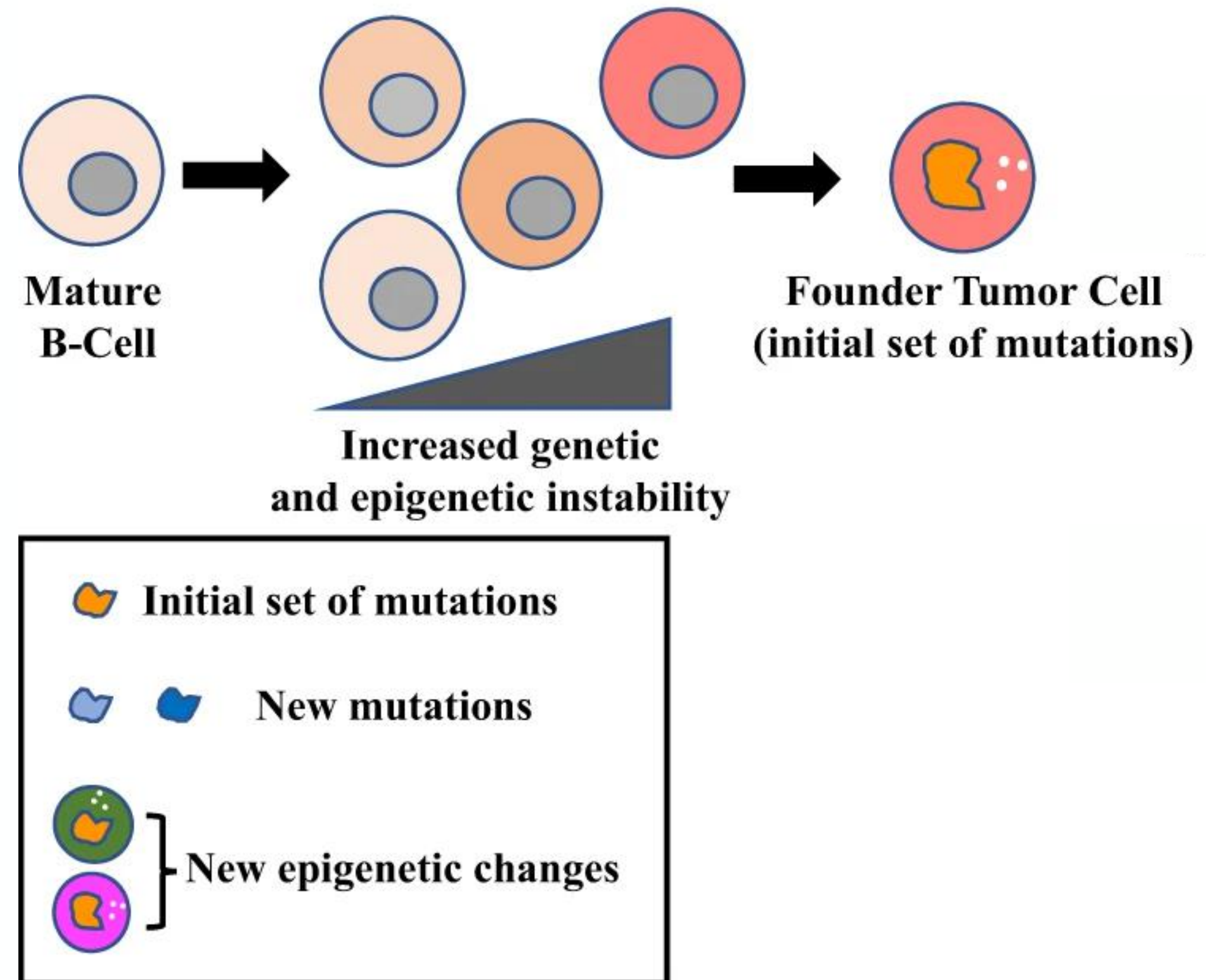


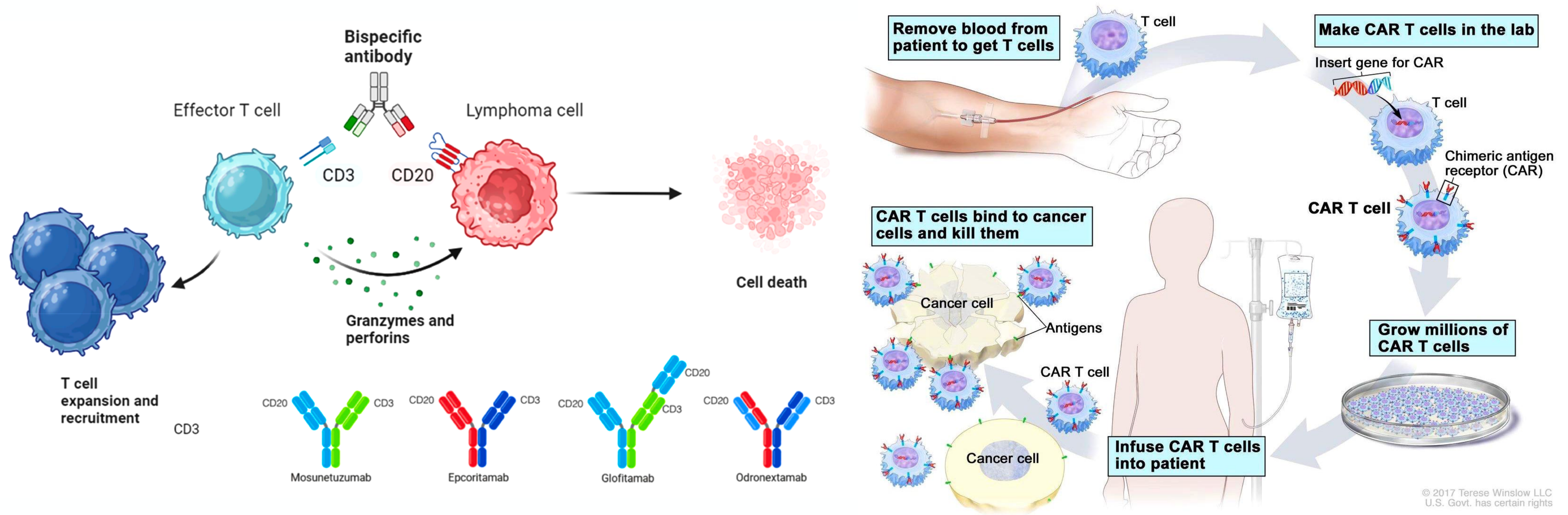
# LDCGB cáncer derivado de células y entorno centrados en la **diversidad combinatoria**



## La reacción de **centro germinal**

# La heterogeneidad es característica definitoria del **LDCGB**



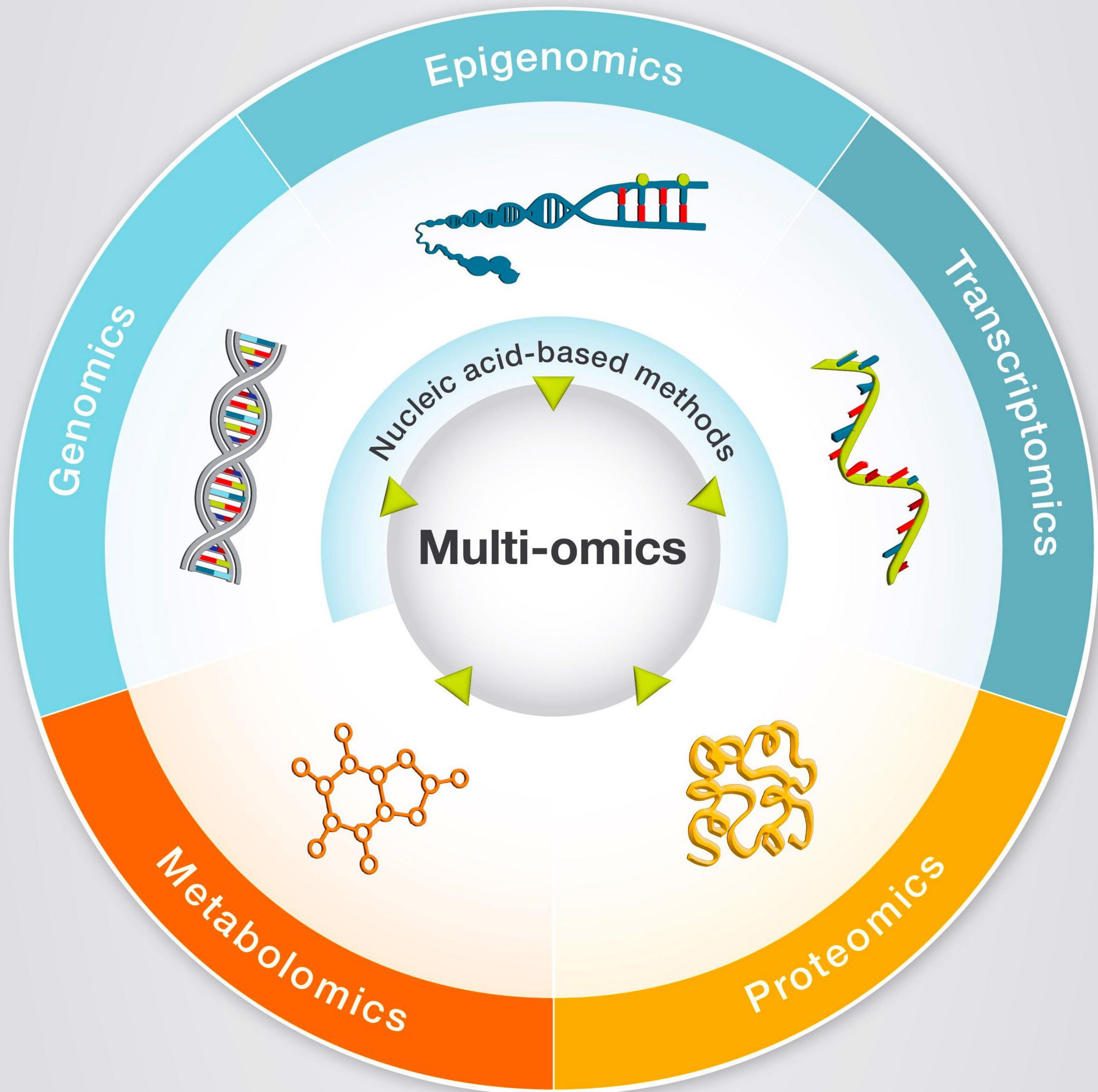


© 2017 Terese Winslow LLC  
U.S. Govt. has certain rights

**¿Cómo podemos ver más allá de lo evidente?**



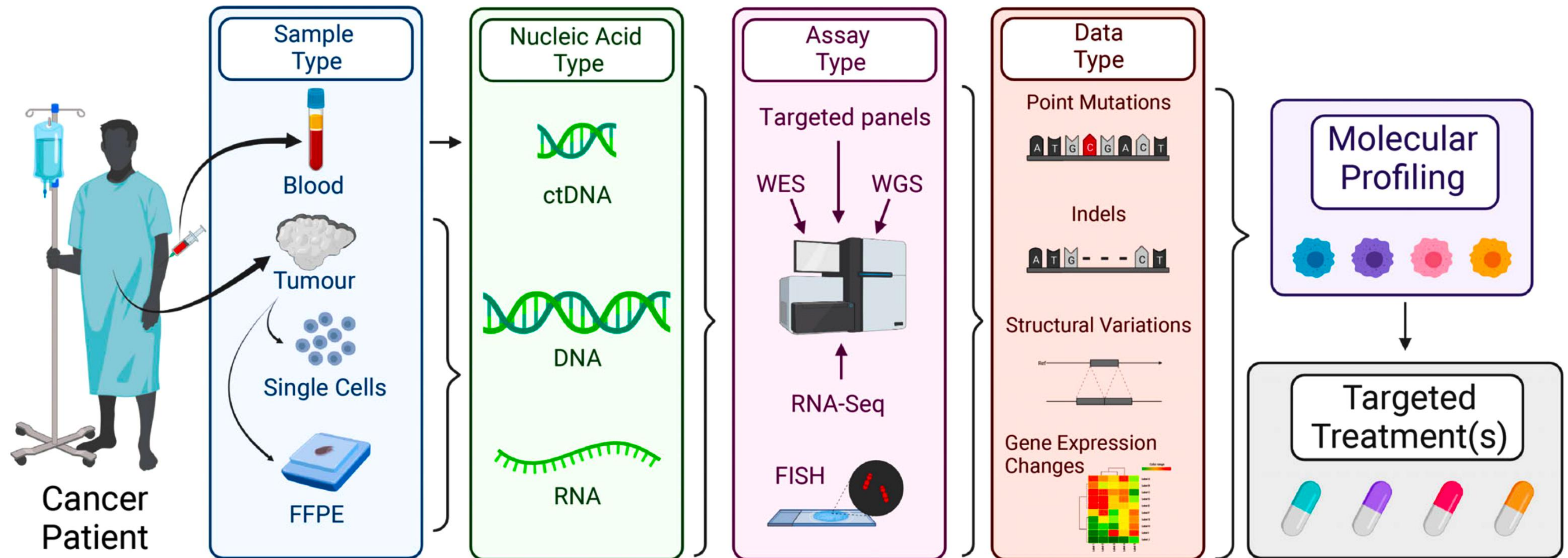
ThunderCats (1985) - Rankin/Bass Animated Entertainment

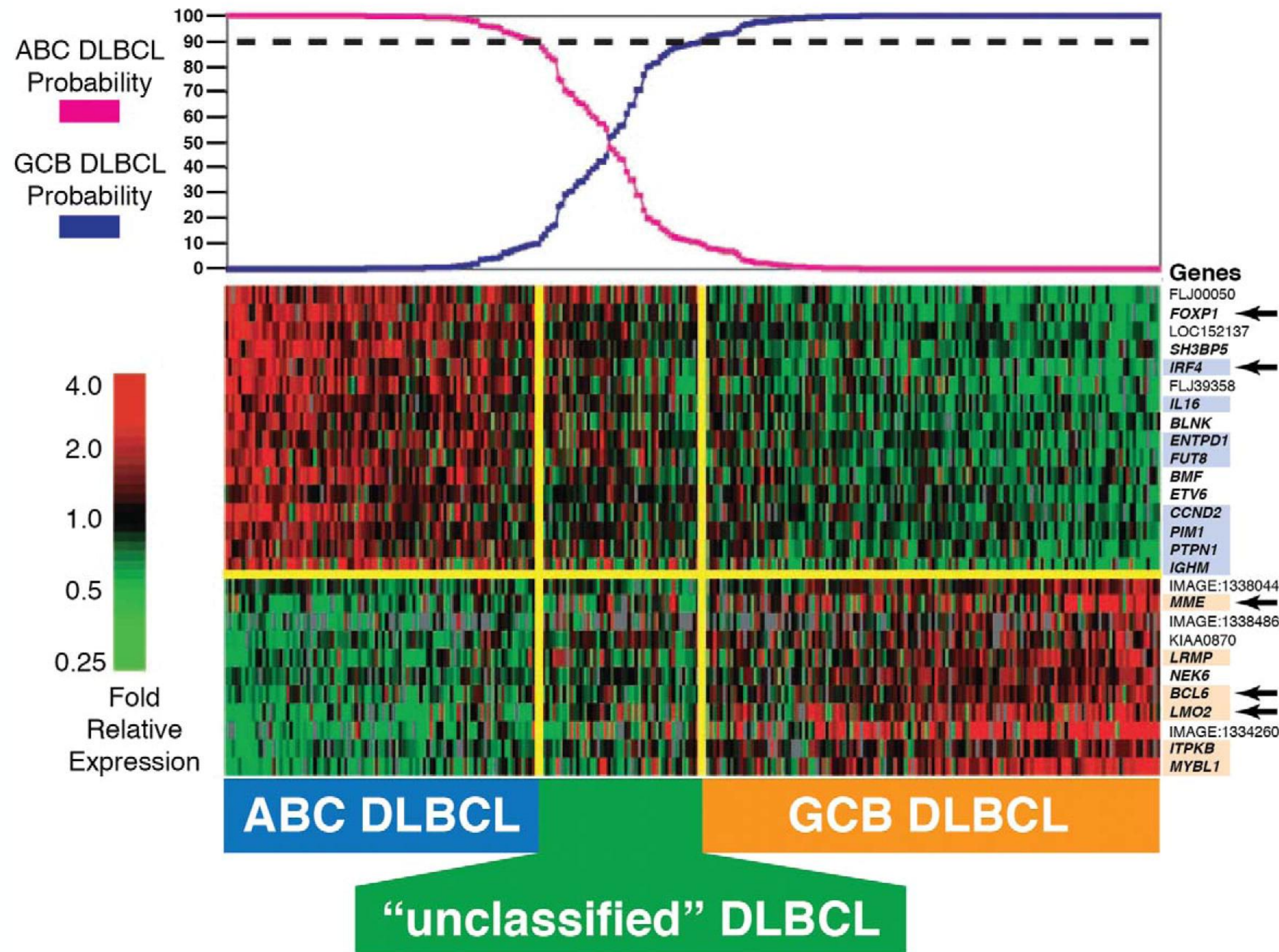


Información **“mutiómica”** del **LDCGB**

Aplicabilidad para la práctica clínica está en desarrollo

# Las técnicas basadas en ácidos nucleicos han comenzado a dar señales





1er paso fue COO (2000)  
**GCB** vs **ABC**  
 (perfiles de expresión génica - RNA)

Biología de enfermedad

**Pronóstico: GCB > ABC**

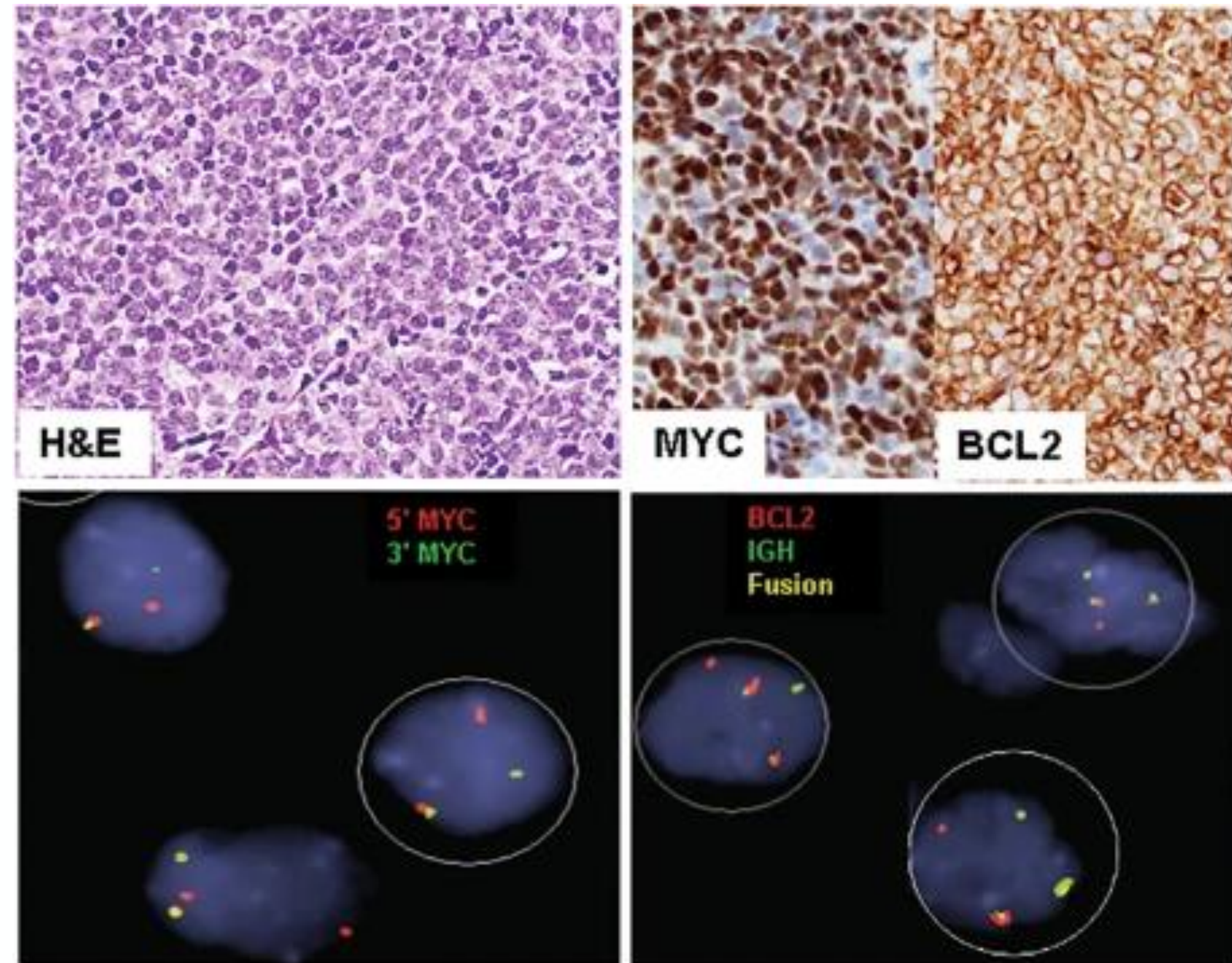
# En > 20 años **no logramos una señal contundente** guiados por esta clasificación

Table 1. Phase III randomized controlled trials of subtype-guided therapy in DLBCL.

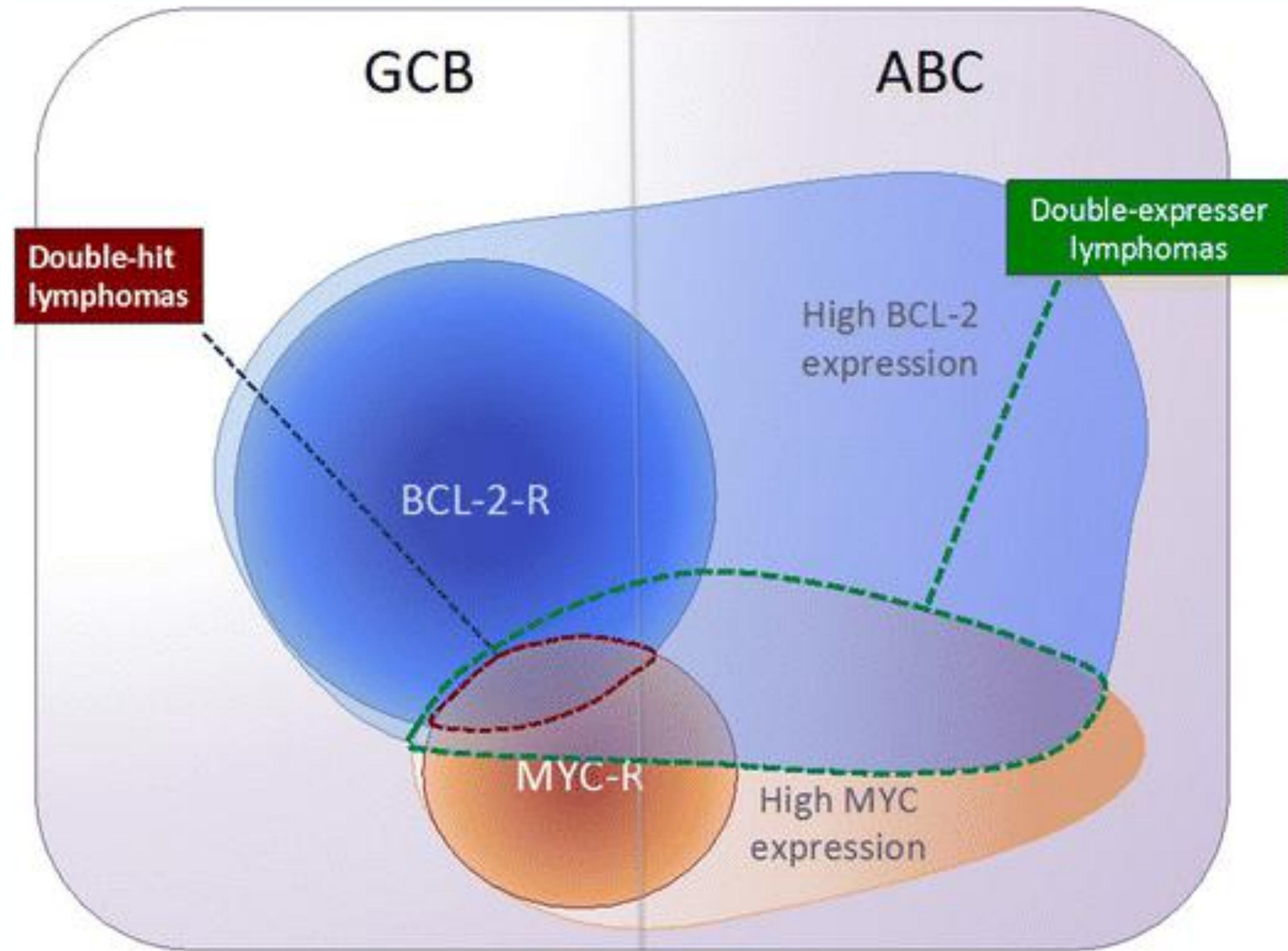
<b>Trial</b>	<b>Arms</b>	<b>Subtype enrollment</b>	<b>Bridging therapy</b>	<b>Subtyping method</b>	<b>Endpoint</b>
ROBUST [51]	R2-CHOP vs R-CHOP	ABC-DLBCL	No*	NanoString	PFS not met
REMoDL-B [41,53]	RB-CHOP vs R-CHOP	All	1 cycle R-CHOP	Illumina DASL	PFS met in ABC at 5-years
PHOENIX [54]	I+R-CHOP vs R-CHOP	Non-GCB DLBCL	No*	Hans IHC	EFS not met
ESCALADE [56]	R-CHOP-A vs R-CHOP	ABC-DLBCL	1 cycle R-CHOP	NanoString	PFS in progress

EFS = event-free survival.; IHC = immunohistochemistry; PFS = progression-free survival; R2-CHOP = R-CHOP plus lenalidomide; RB-CHOP = R-CHOP plus bortezomib; R-CHOP-A = R-CHOP plus acalabrutinib; R-CHOP-I = R-CHOP plus ibrutinib

2ndo paso fue identificar reordenamientos **MYC/BCL2** (y expresión)

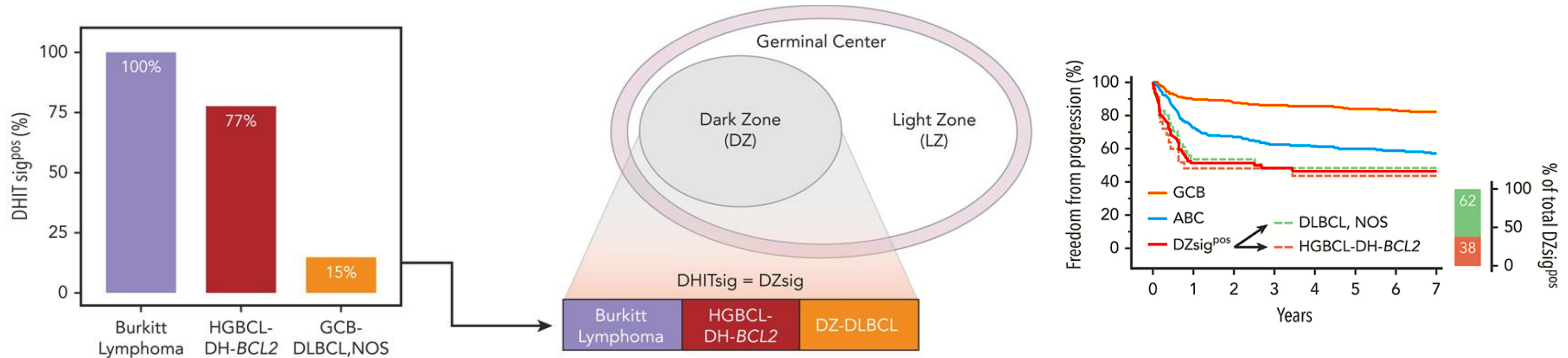


**Pronóstico**





# Perfil del doble hit se extiende mas allá del reordenamiento Myc/BCL2 = “Dark Zone Signature”



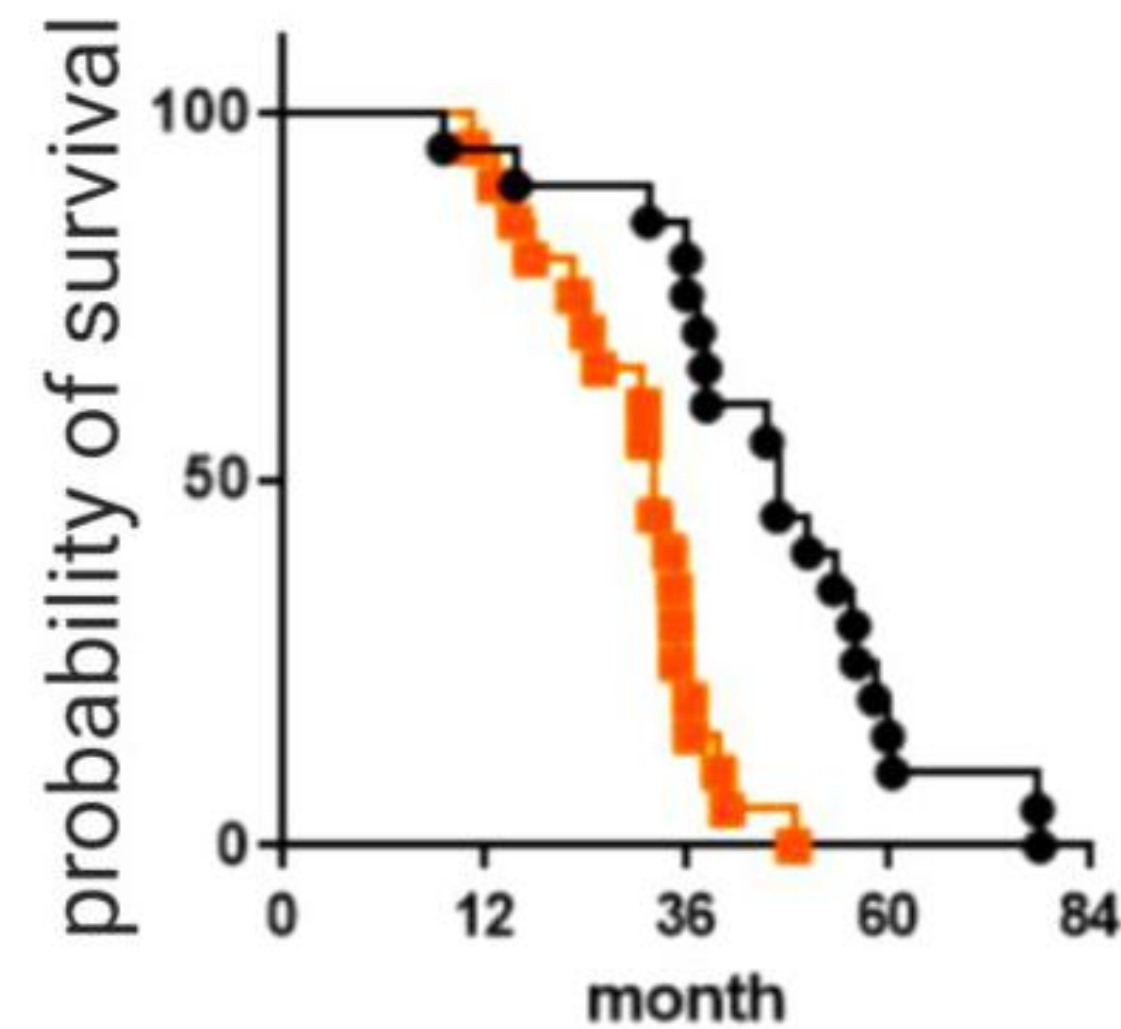
Arrastra su pronóstico —> **“Alto Grado Molecular”**

Soy un clínico, quiero intervenir → ¿necesito **biomarcadores predictivos!**

diagnostic



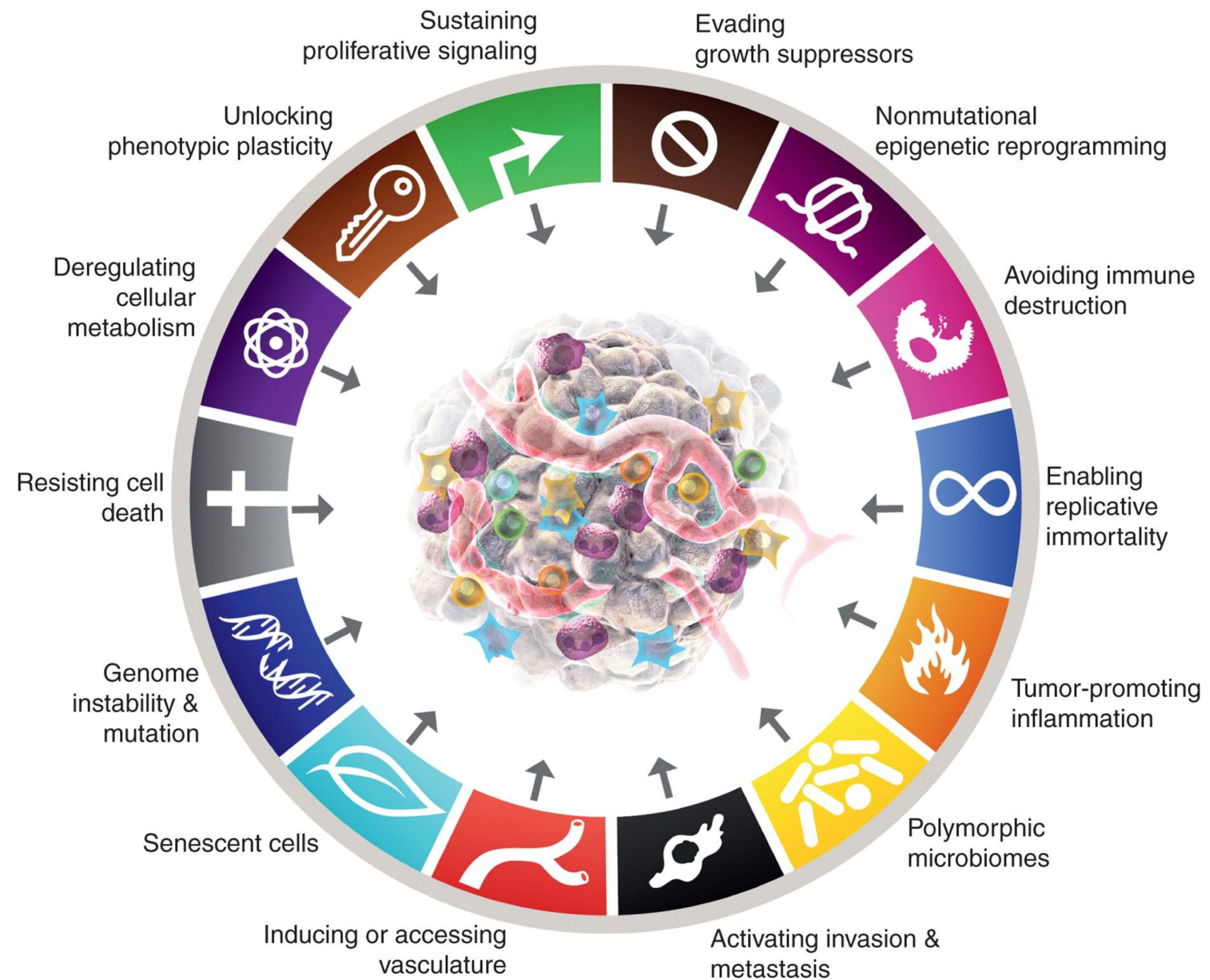
prognostic



predictive

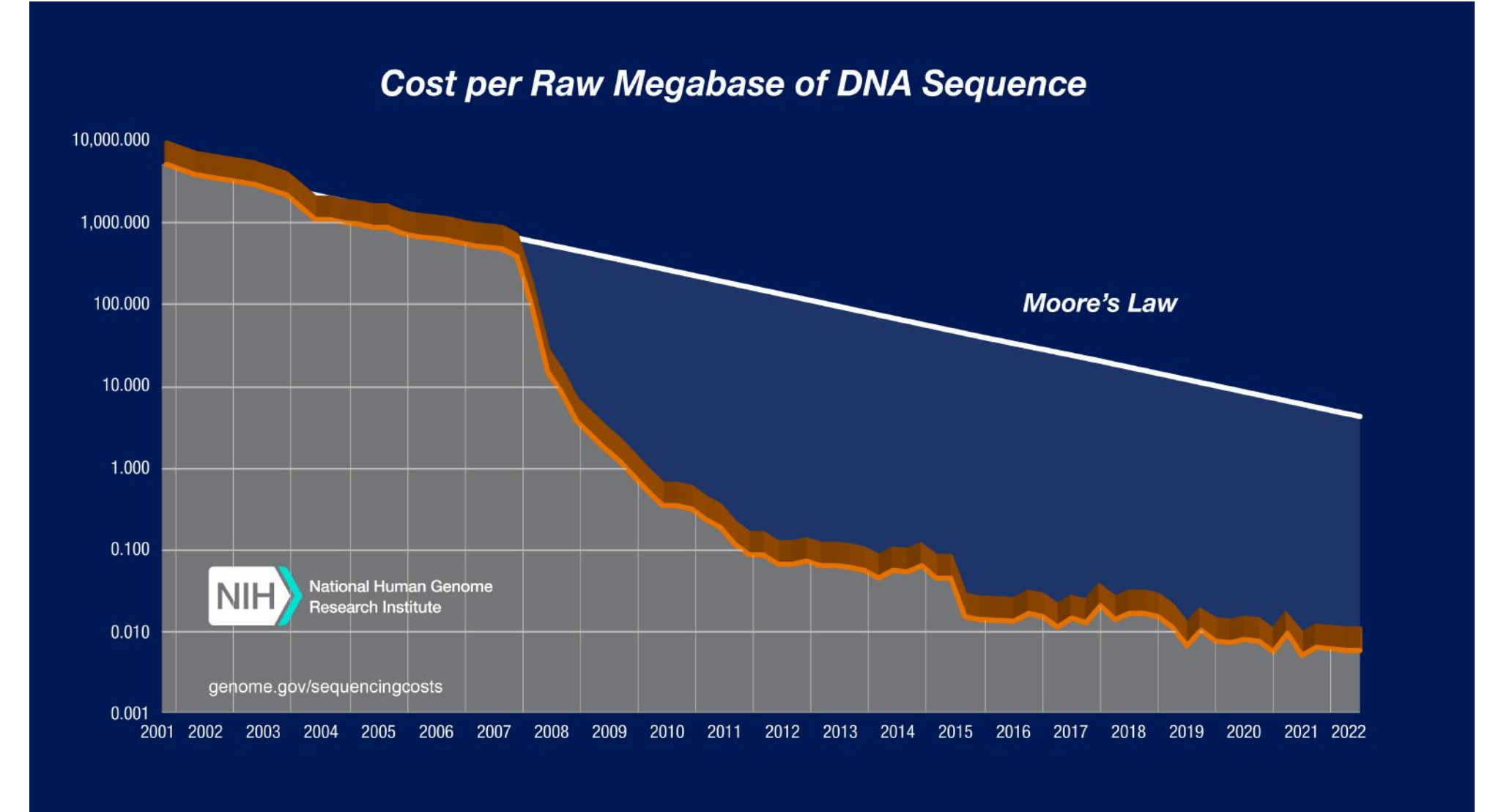
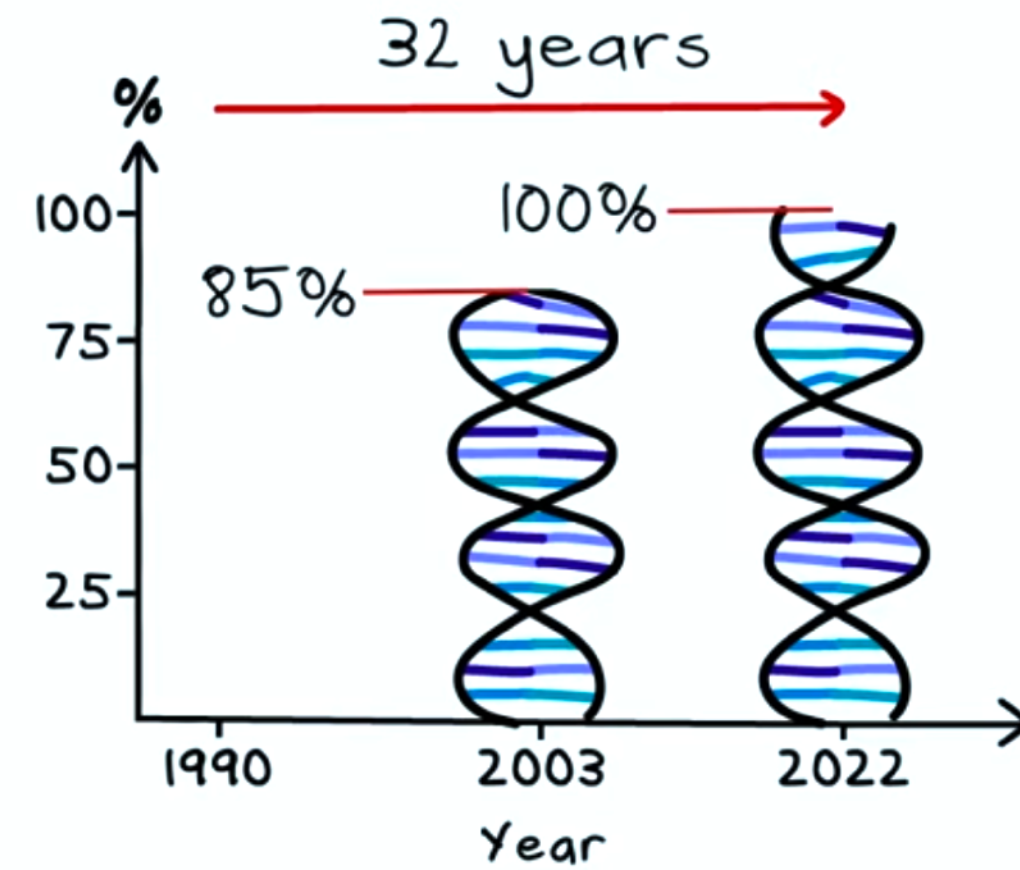
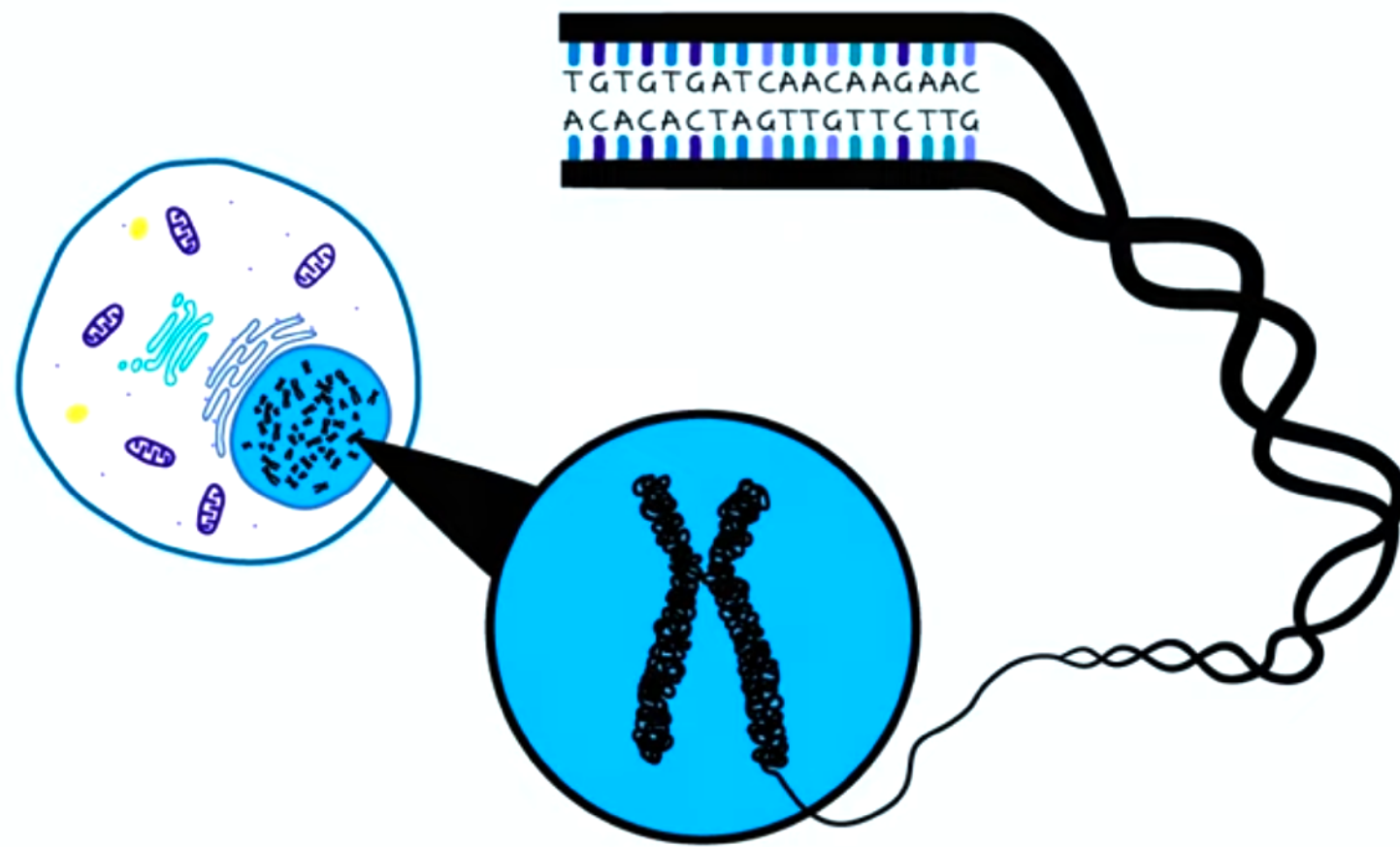


# “El cáncer es una enfermedad del genoma”

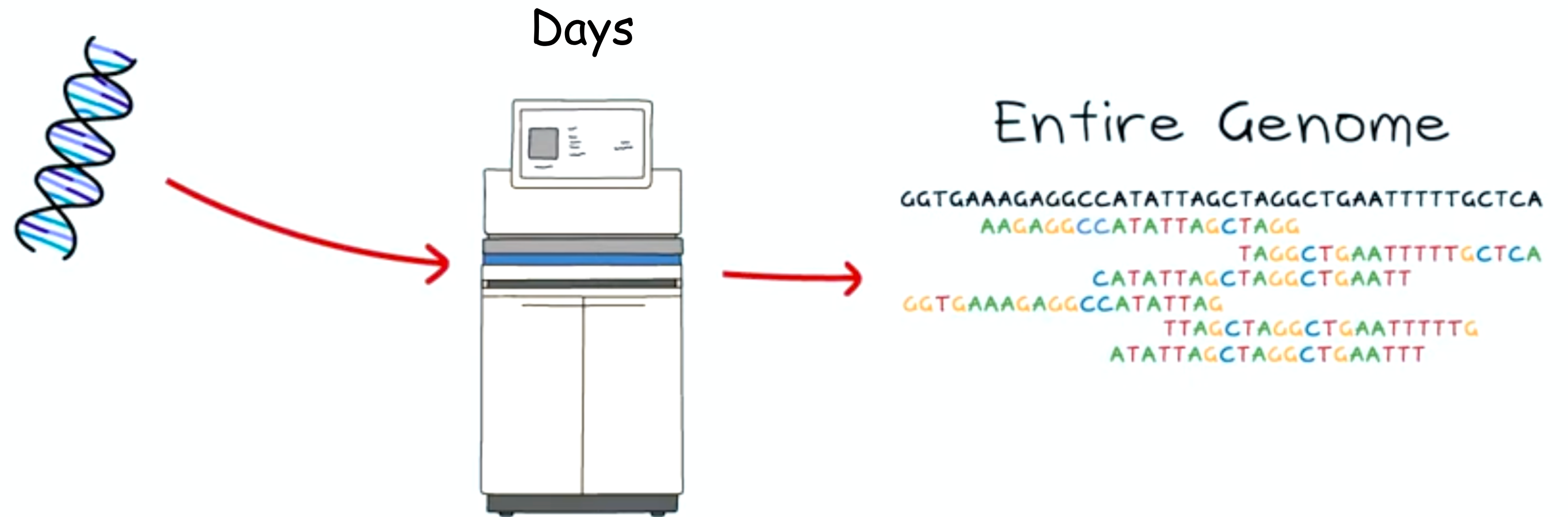


# Proyecto Genoma Humano

3.2 Billion Bases



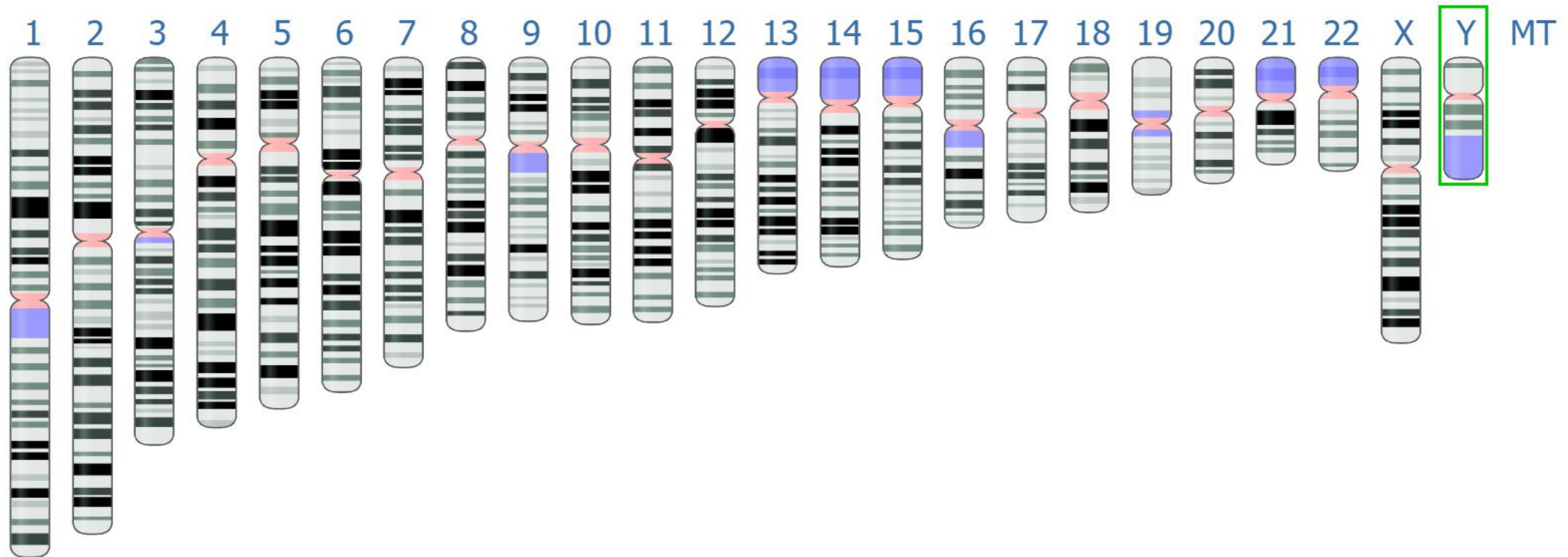
**Eficiente y menor costo**



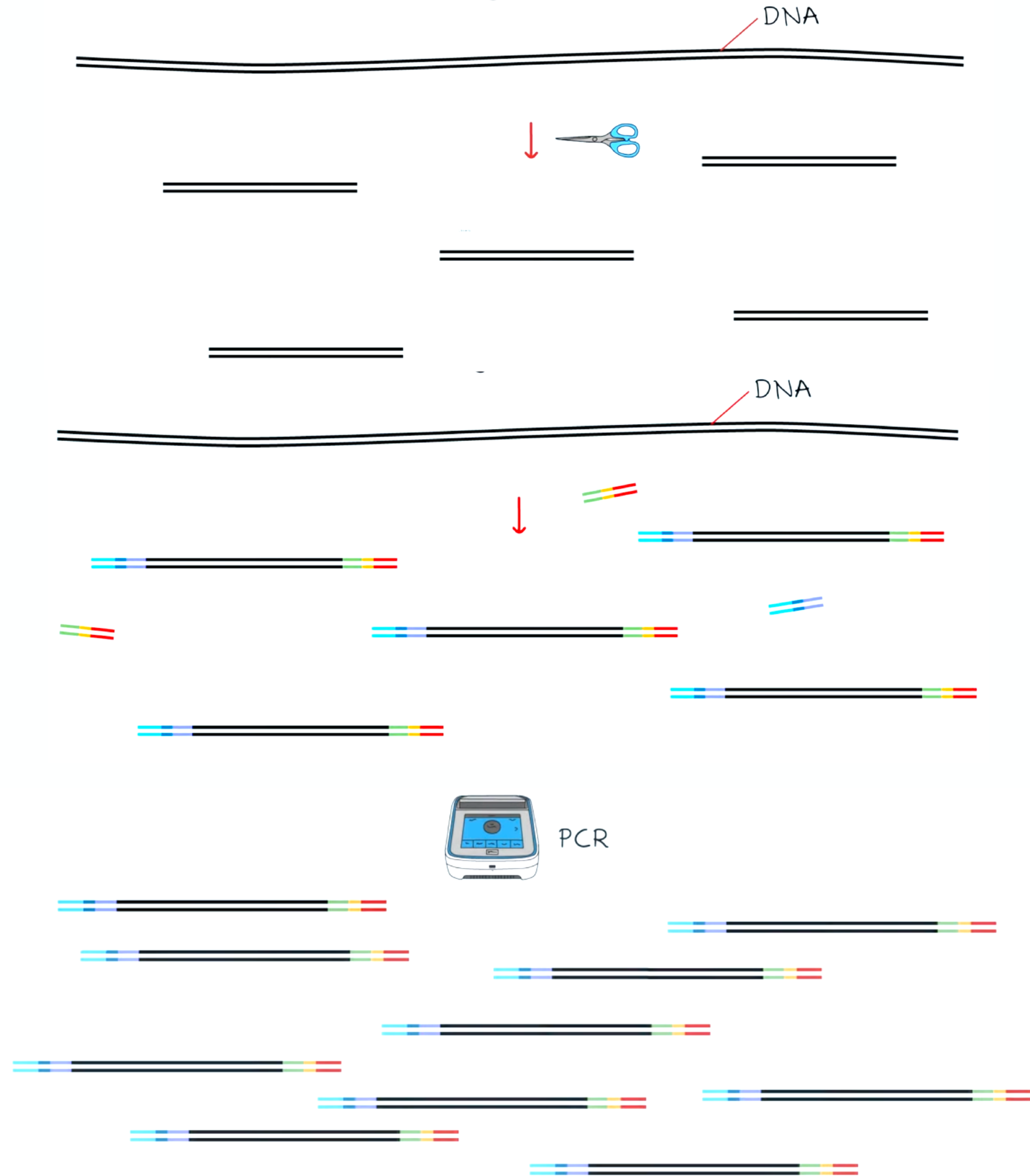
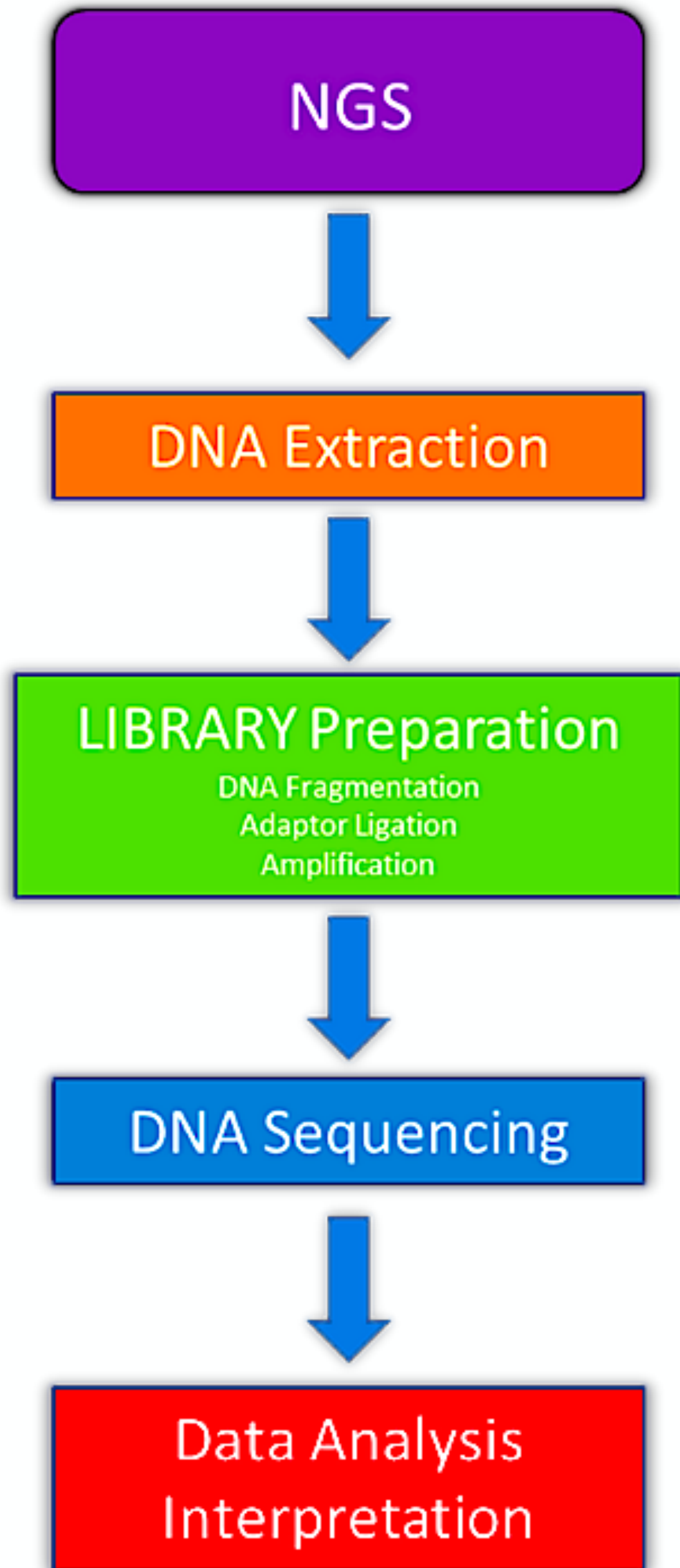


# Reference Genome Assembly

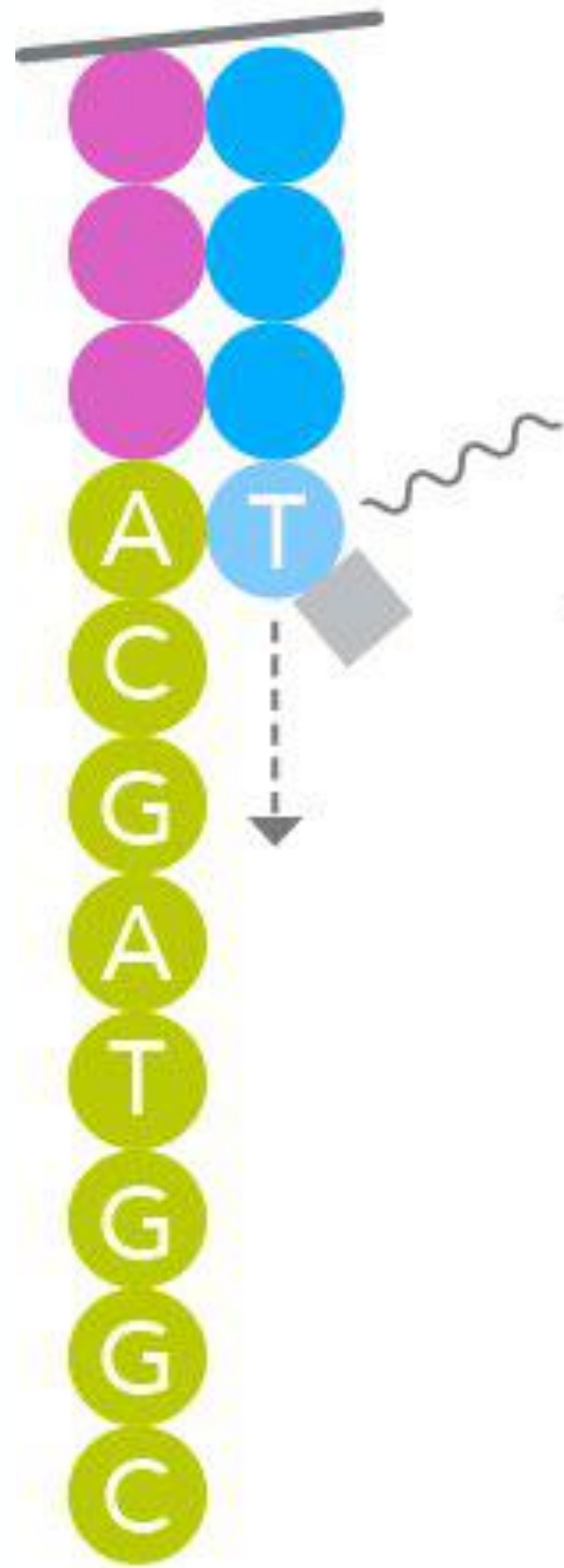
Ejemplo **representativo** del conjunto de **genes** en un individuo idealizado de una **especie**.



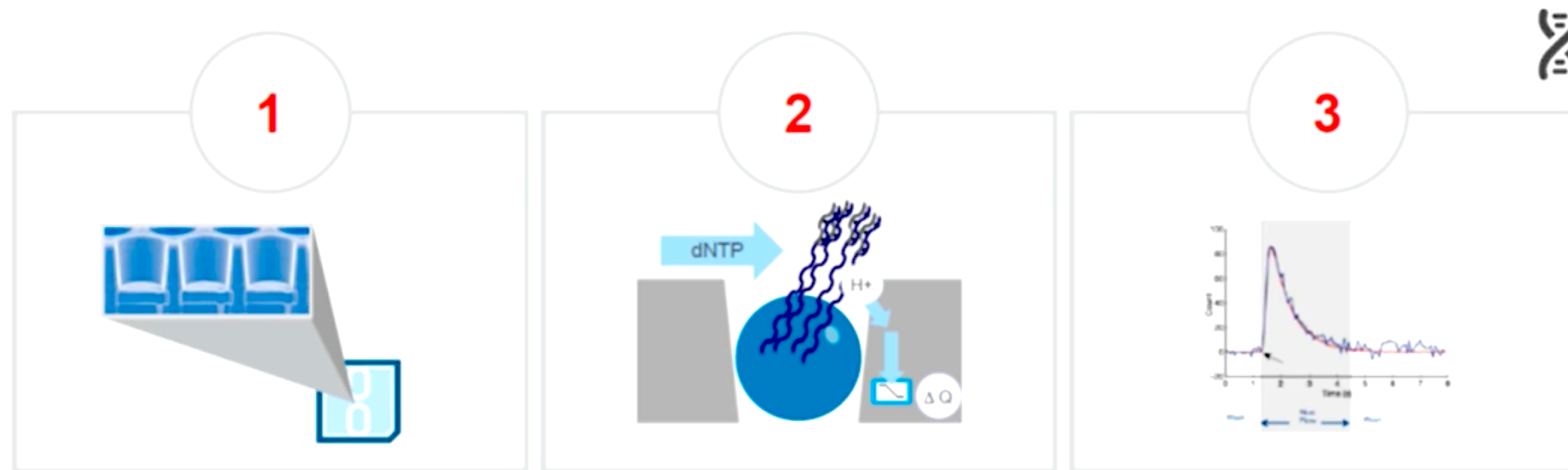
Chromosomes ideogram of the human reference genome assembly GRCh38/hg38



# Ejemplo: secuenciación **por síntesis** (Illumina)



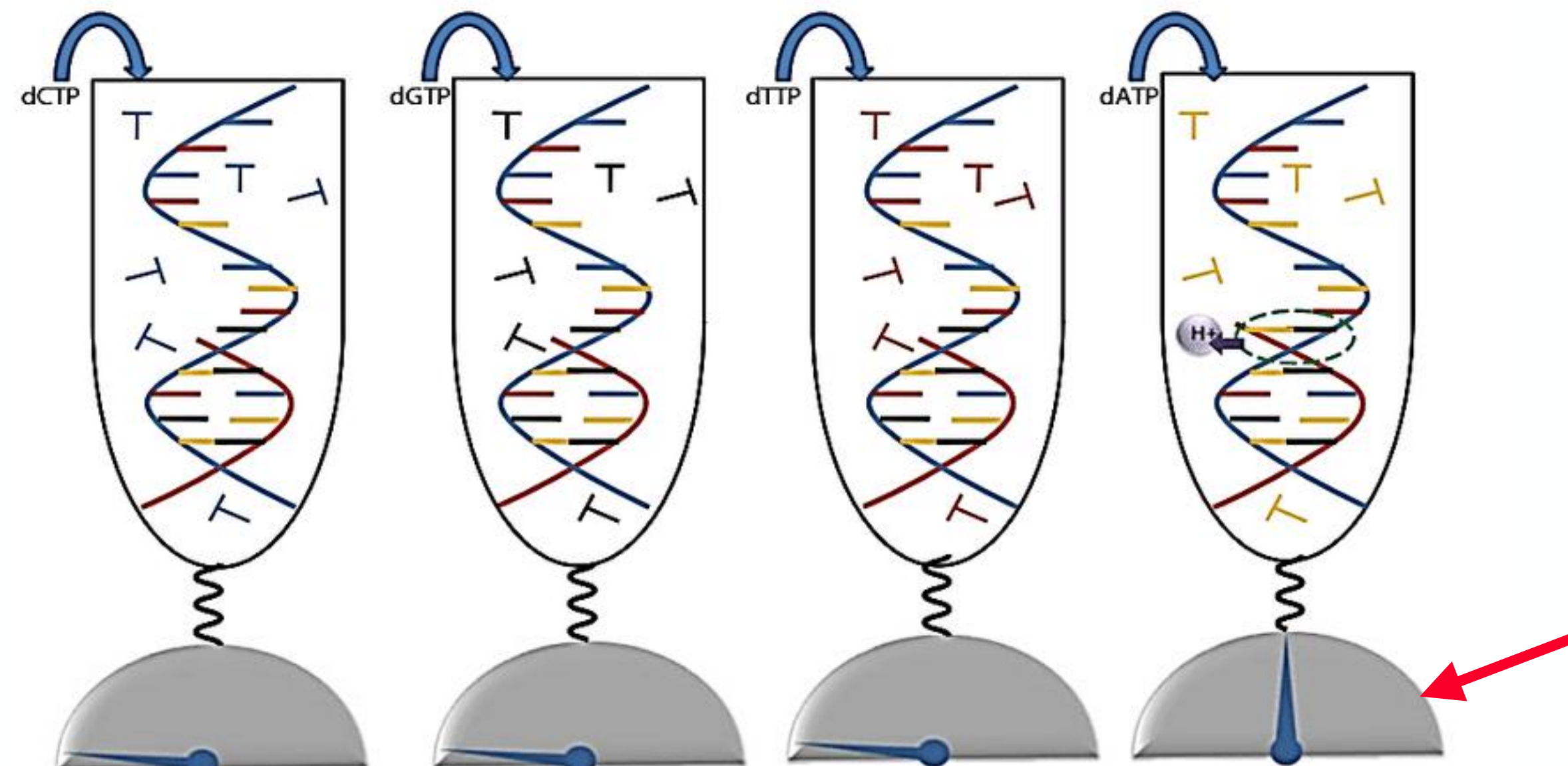
# Ejemplo: secuenciación **por semiconducción** (Ion Torrent)



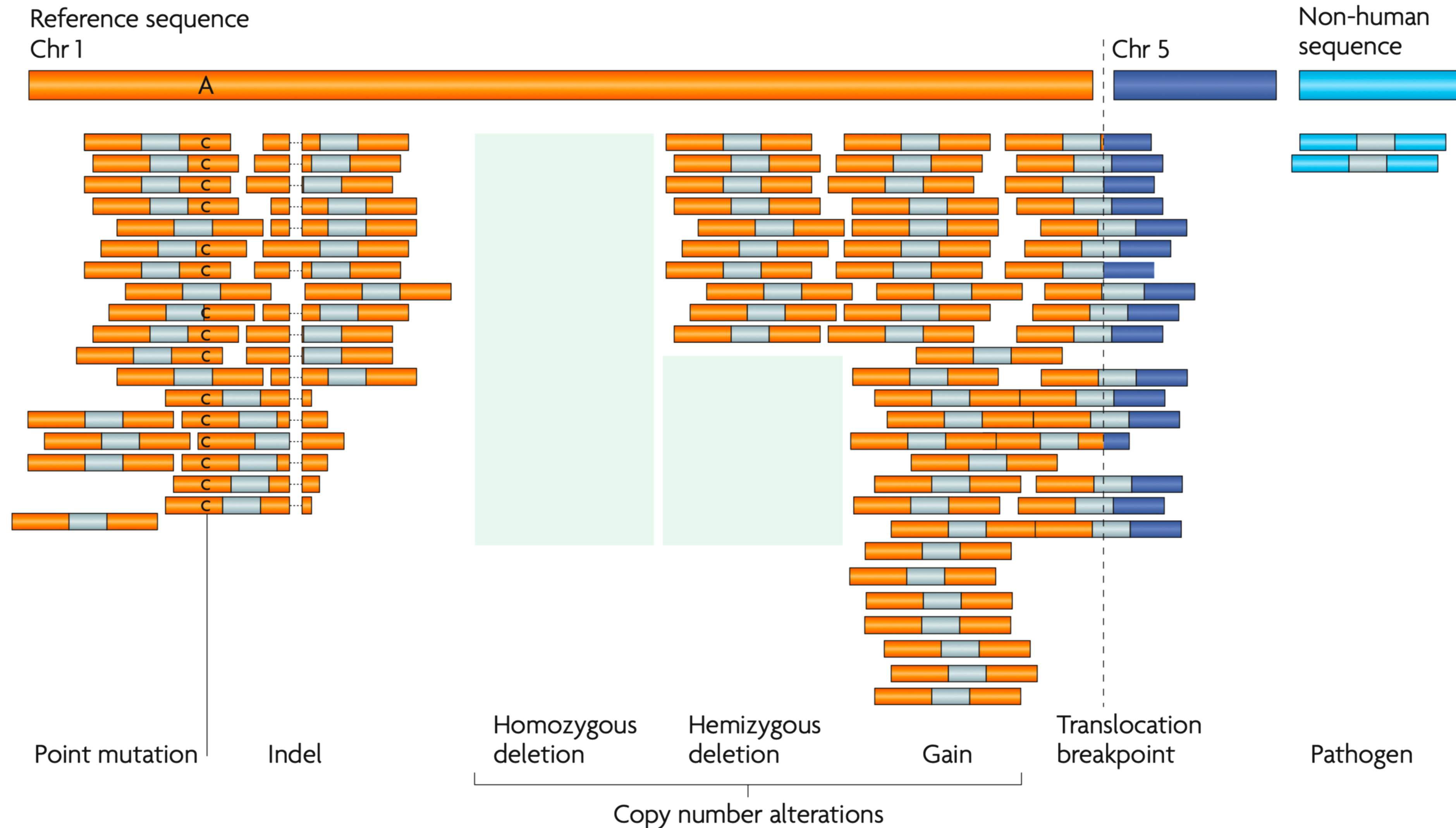
Add dNTPs that build the DNA sequence

H+ ions get released when DNA bases are matched

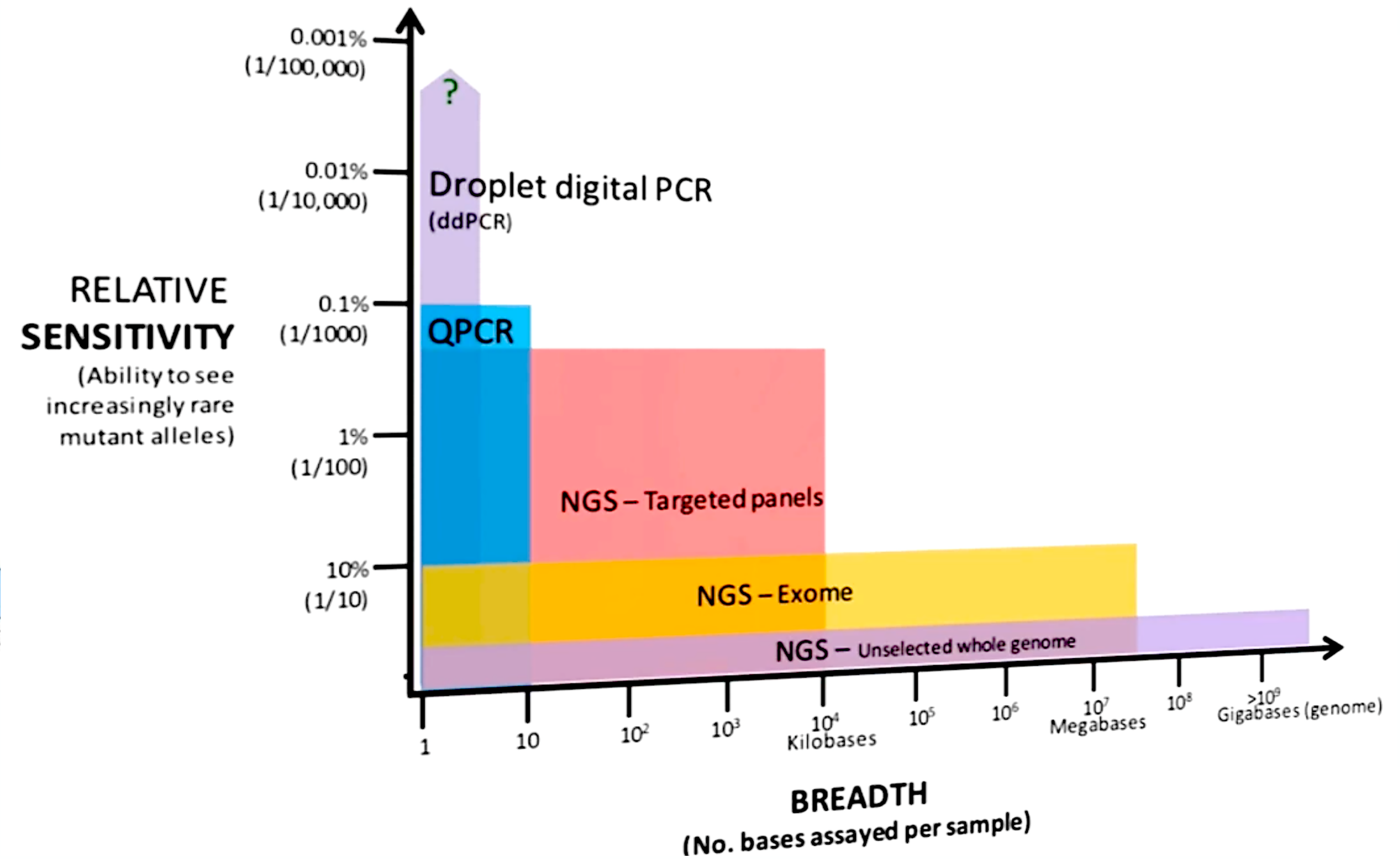
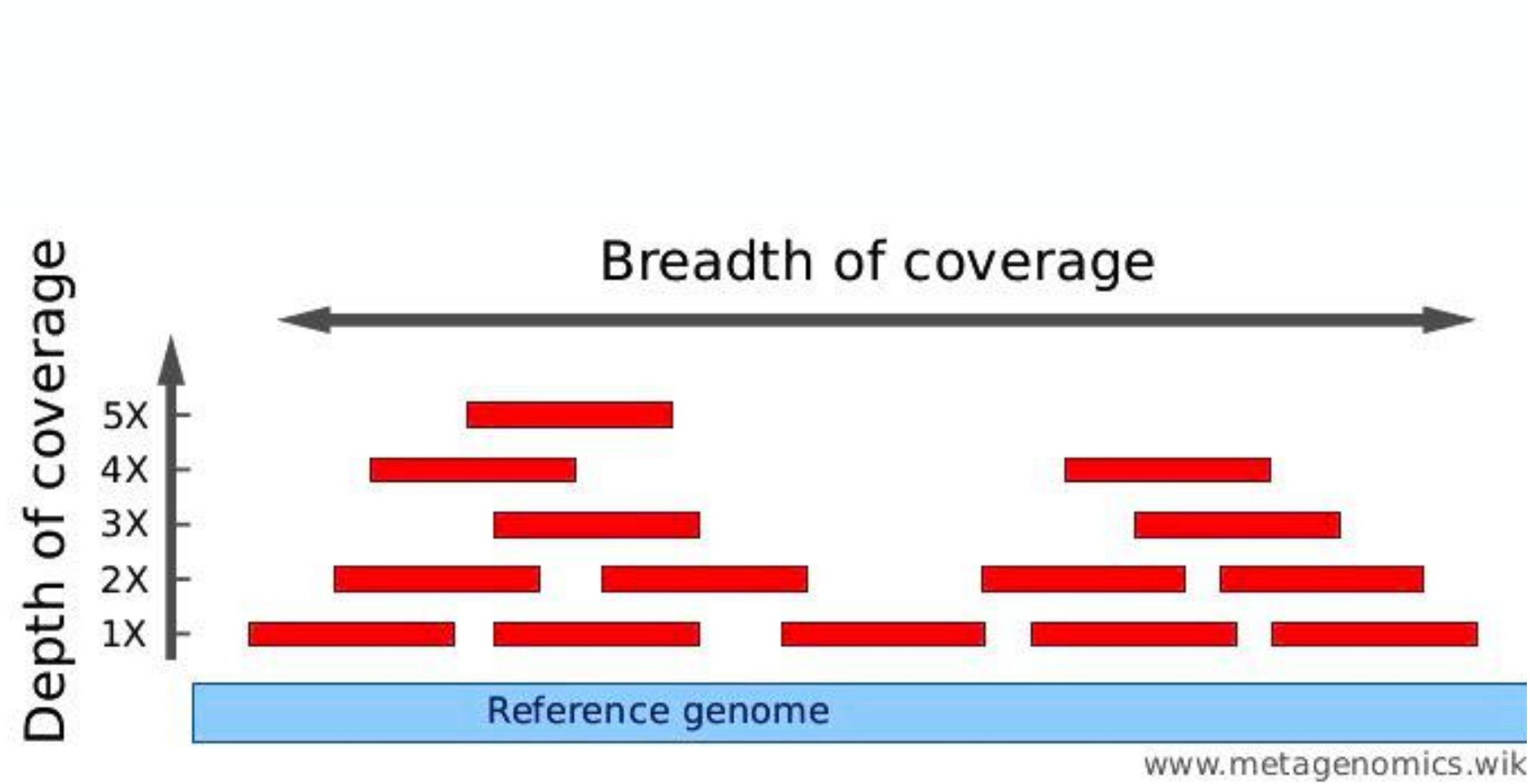
Sequence output is generated by the detection systems



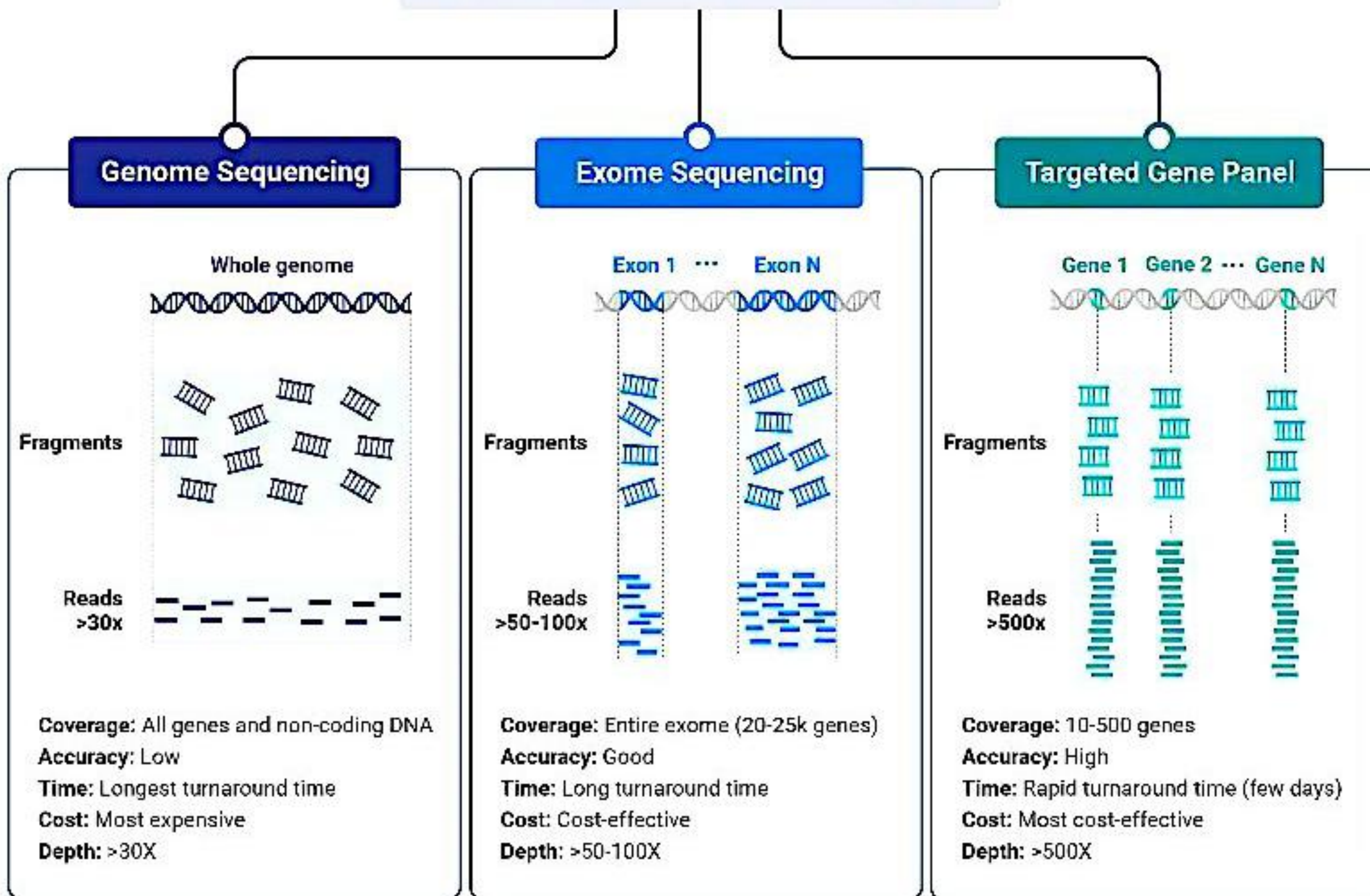
# Una vez que tenemos las “lecturas” (reads) alineamos informaticamente con la secuencia de referencia para **identificar las variantes**



# Amplitud y Profundidad

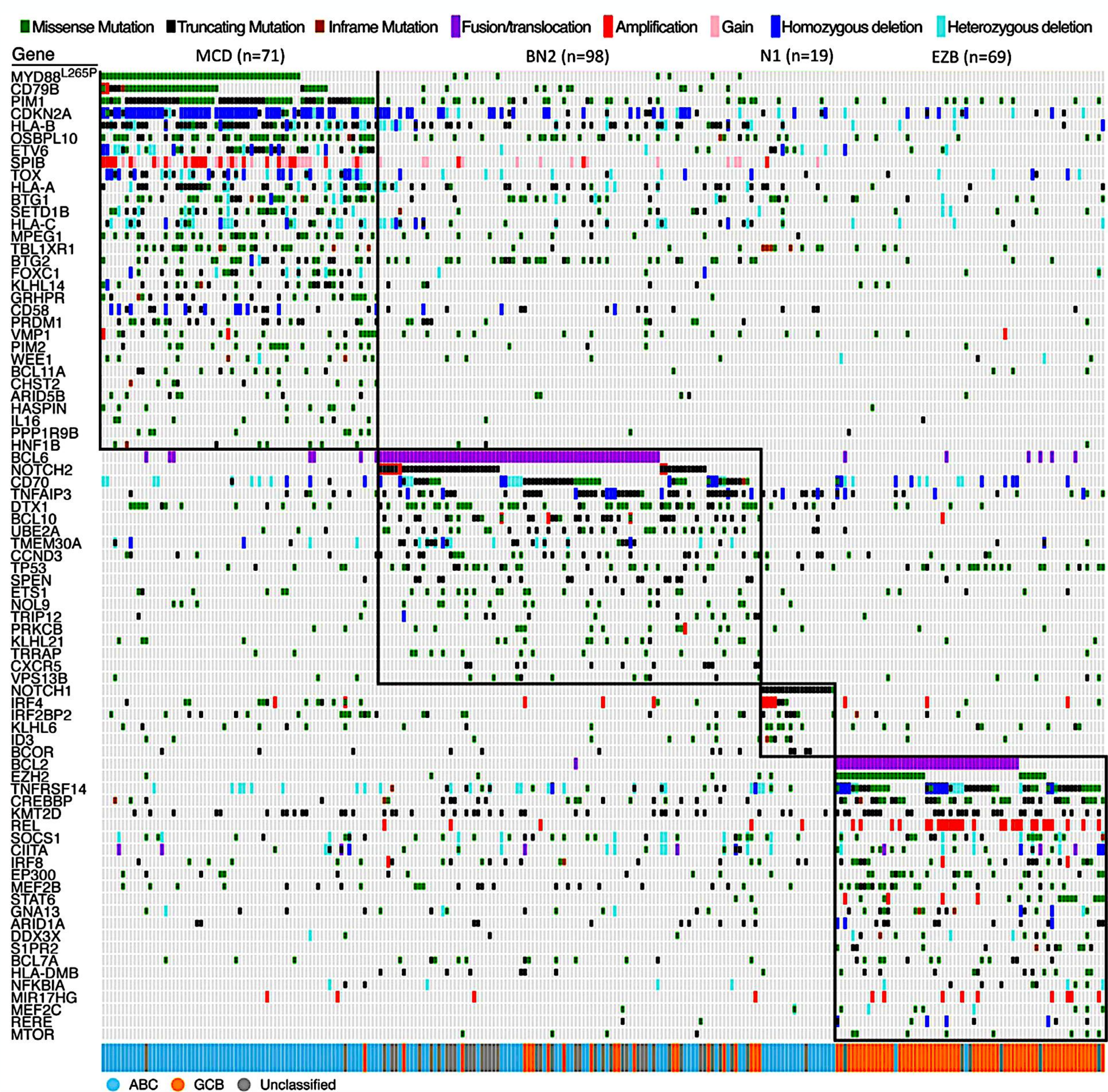


# Next Generation Sequencing



Template adapted from: Dr. Roshini Abraham  
Clinical Immunologist at Nationwide Children's Hospital





**LDCGB** es una enfermedad de alteraciones genómicas

**¡Muchas!**  
(al menos 150 “drivers”)

Shimkus G, Nonaka T. Molecular classification and therapeutics in diffuse large B-cell lymphoma. *Front Mol Biosci.* 2023 Feb 3;10:1124360.

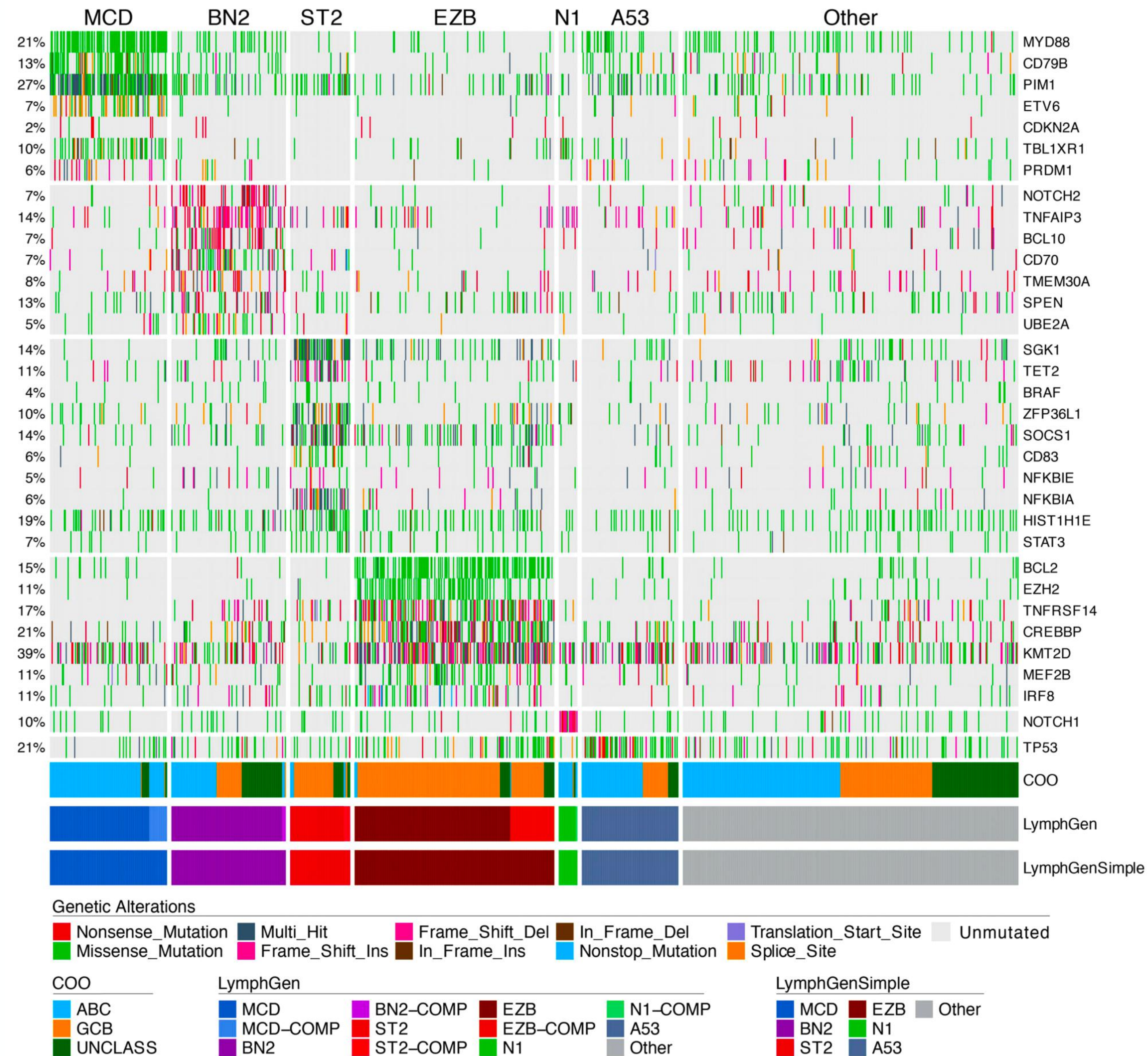
Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia.* 2022;36(7):1720–1748.

# DNA tumoral

La distribución de las **mutaciones** no es al azar sino que **se “agrupan” en clusters**

Determinan **programas oncogénicos compartidos**

Configurando **subtipos biológicos**



## 3 grupos desarrollaron casi en paralelo clasificaciones de subgrupos moleculares

National Cancer Institute  
(NCI)

UK Haematological Malignancy Research Network

Harvard

**LymphGen**

**Modified  
HMRN**

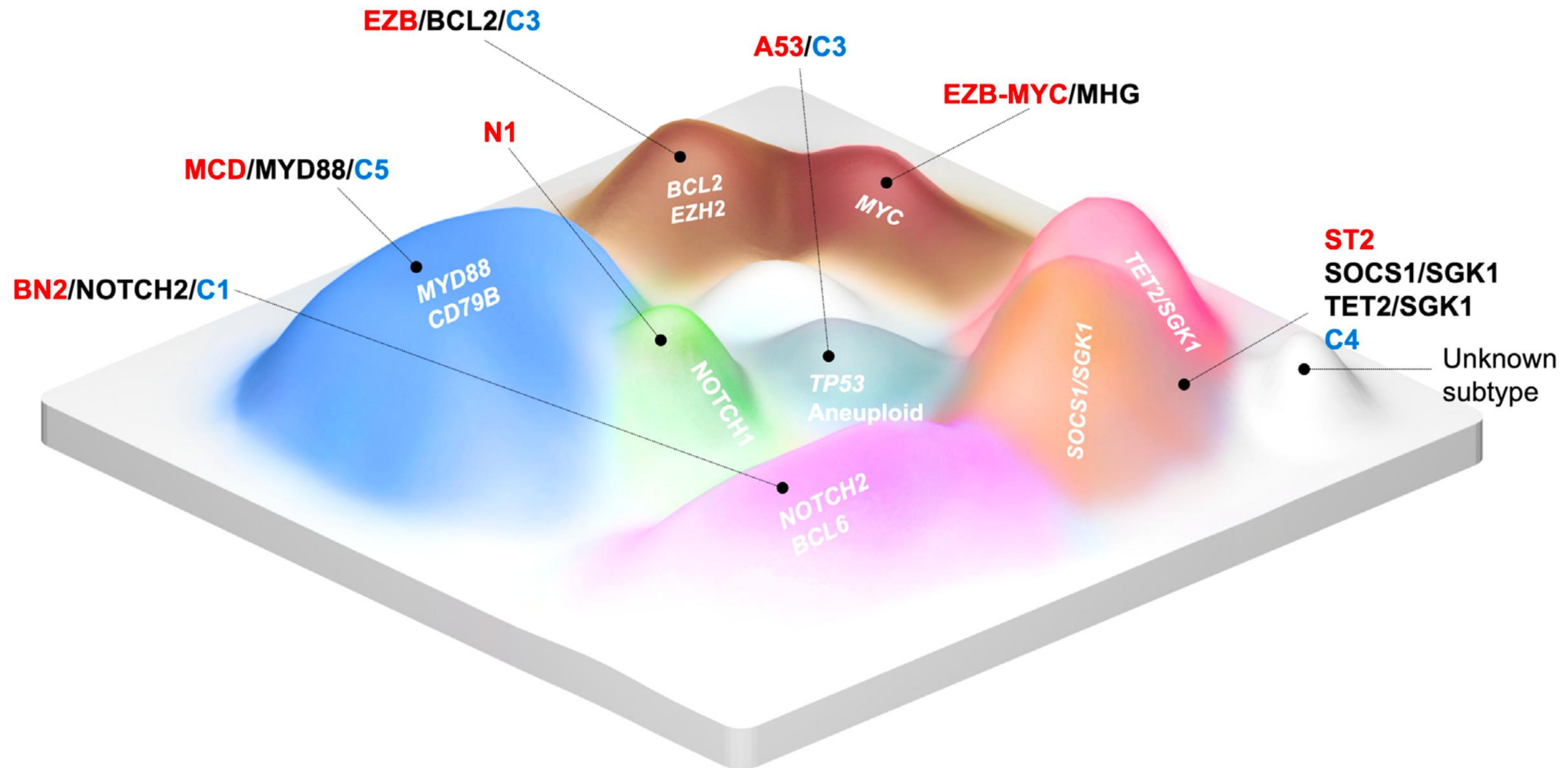
**Harvard  
(DLBclass)**

Esto robustece los subgrupos, no parecen grupos diseñados arbitrariamente,  
reflejan reales subtipos biológicos con leves diferencias

## Nomenclaturas distintas pero **agrupaciones similares**

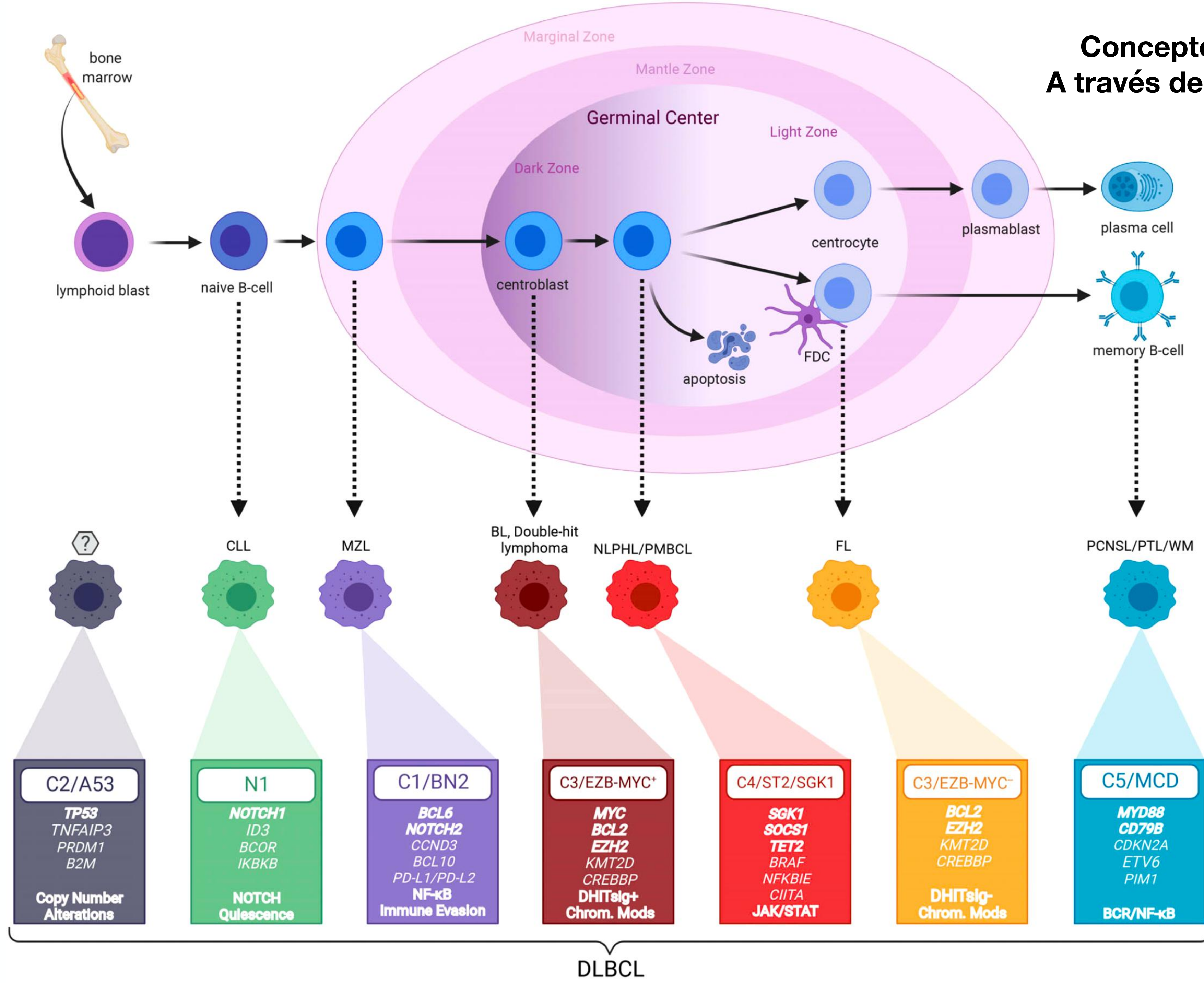
LymphGen	Modified HMRN	Harvard	Main Genetic Alterations	COO	Clinical Outcome	Related Lymphoma
<b>MCD</b>	<b>MYD88</b>	<b>C5</b>	<i>MYD88<sup>L265P</sup>, CD79B, PIM1, ETV6, CDKN2A</i>	ABC	Poor	Primary CNS lymphoma, Primary testis lymphoma
<b>EZB</b>	<b>BCL2</b>	<b>C3</b>	<i>BCL2-R, EZH2, CREBBP, KMT2D, TNFRSF14</i>	GCB	Good	Follicular lymphoma
<b>EZB-MYC+</b>	<b>BCL2-MYC</b>				Poor	Double hit lymphoma
<b>BN2</b>	<b>NOTCH2</b>	<b>C1</b>	<i>BCL6-R, NOTCH2, BCL10, SPEN, CD70, TNFAIP3</i>	ABC, GCB, UC	Intermediate	Marginal zone lymphoma
<b>ST2</b>	<b>TET2/SGK1</b>	<b>C4</b>	<i>TET2, SGK1, KLHL6, BRAF</i>	GCB	Good	Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma
	<b>SOCS1/SGK1</b>		<i>SOCS1, SGK1, CD83, NFKBIA, NFKBIE, STAT3</i>	GCB	Very good	Primary mediastinal B cell lymphoma
<b>Other</b>	NEC	<b>C0</b>				
<b>N1</b>	<b>NOTCH1</b>	NA	<i>NOTCH1, ID3</i>	ABC	Poor	Chronic lymphocytic leukaemia
<b>A53</b>	NA	<b>C2</b>	<i>TP53, aneuploidy</i>	Mixed	Intermediate	

# Sobreposición no es exacta, **pero similar**



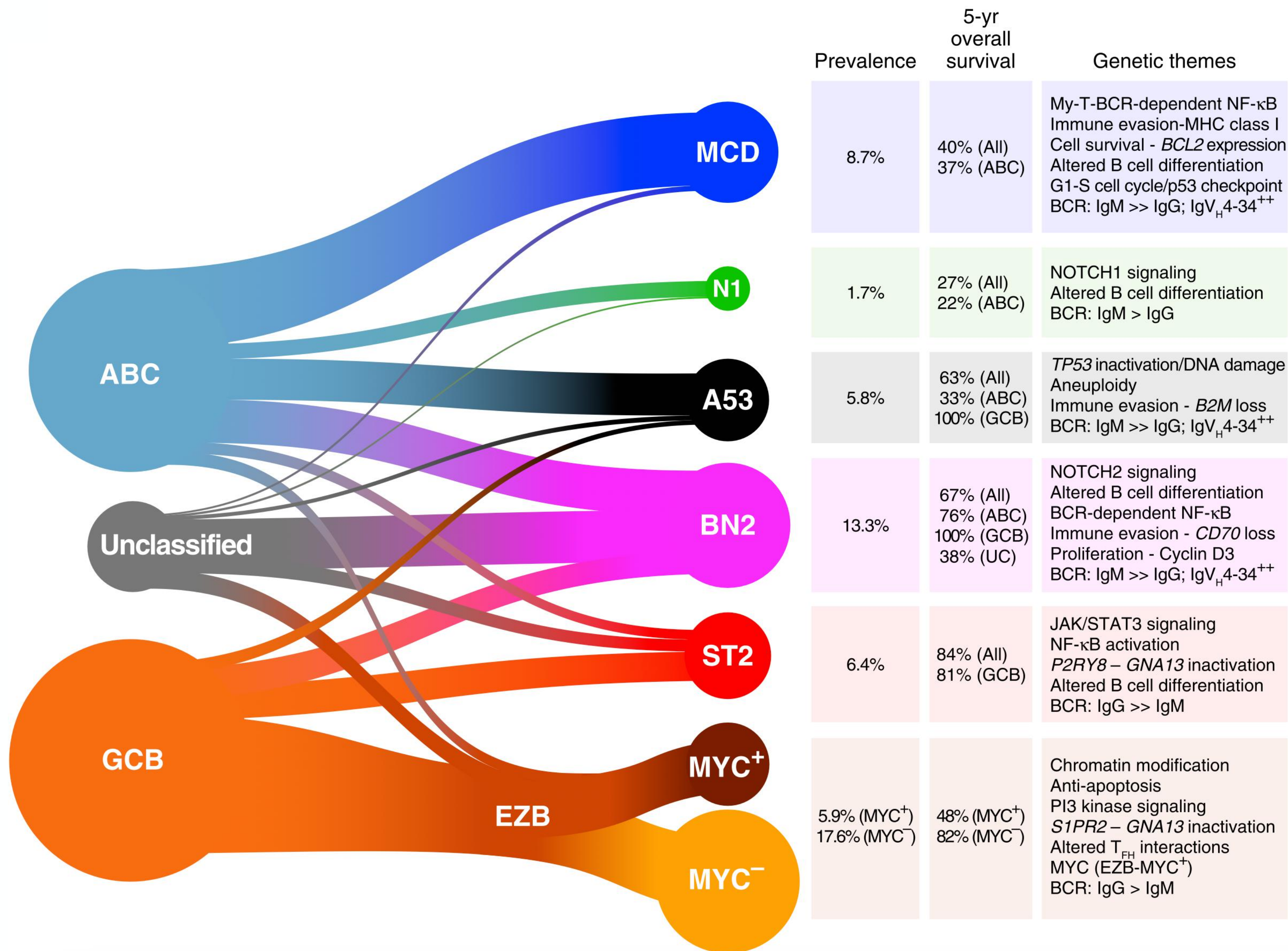
**Distinto número de casos no clasificados**

# Concepto de “linfomas relacionados” A través de estos programas oncogénicos compartidos



Morin RD, Arthur SE, Hodson DJ. Molecular profiling in diffuse large B-cell lymphoma: why so many types of subtypes? *Br J Haematol.* 2022 Feb;196(4):814-829.

# Mas comúnmente mencionada ha sido la del NCI → **Lymphgen**



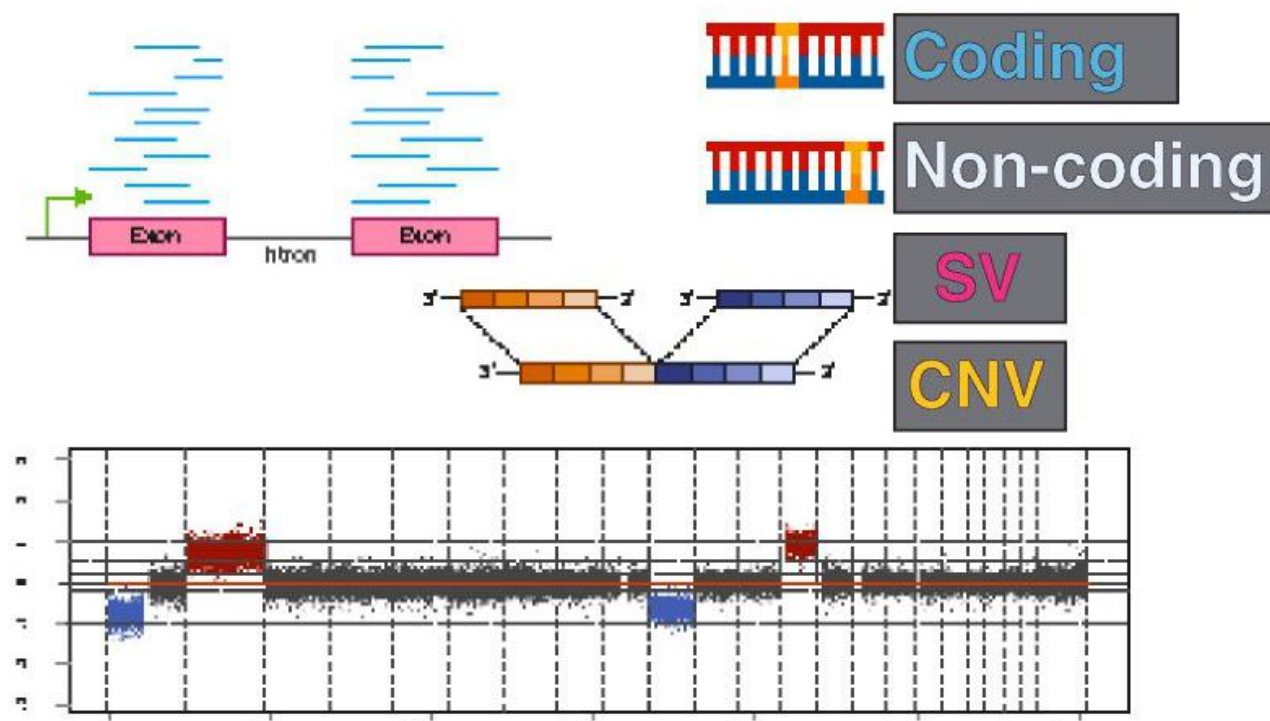
LymphGen **clasifica ~63% LDCGB**

~6% asignan mas de 1 subtipo:  
“linfomas compuestos”

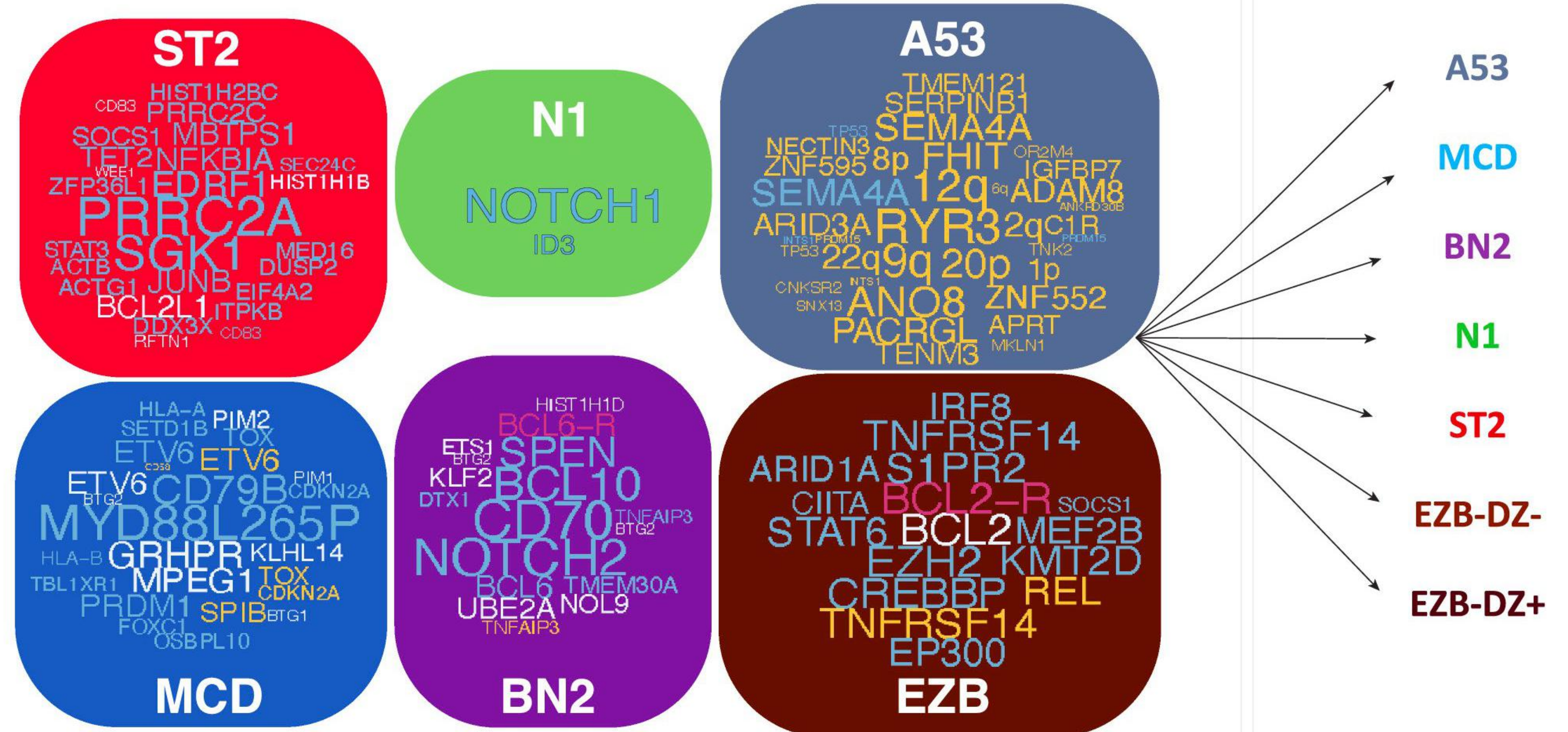
# Problema: diferentes tipos de análisis para llegar a clasificar

## Genetic Analysis

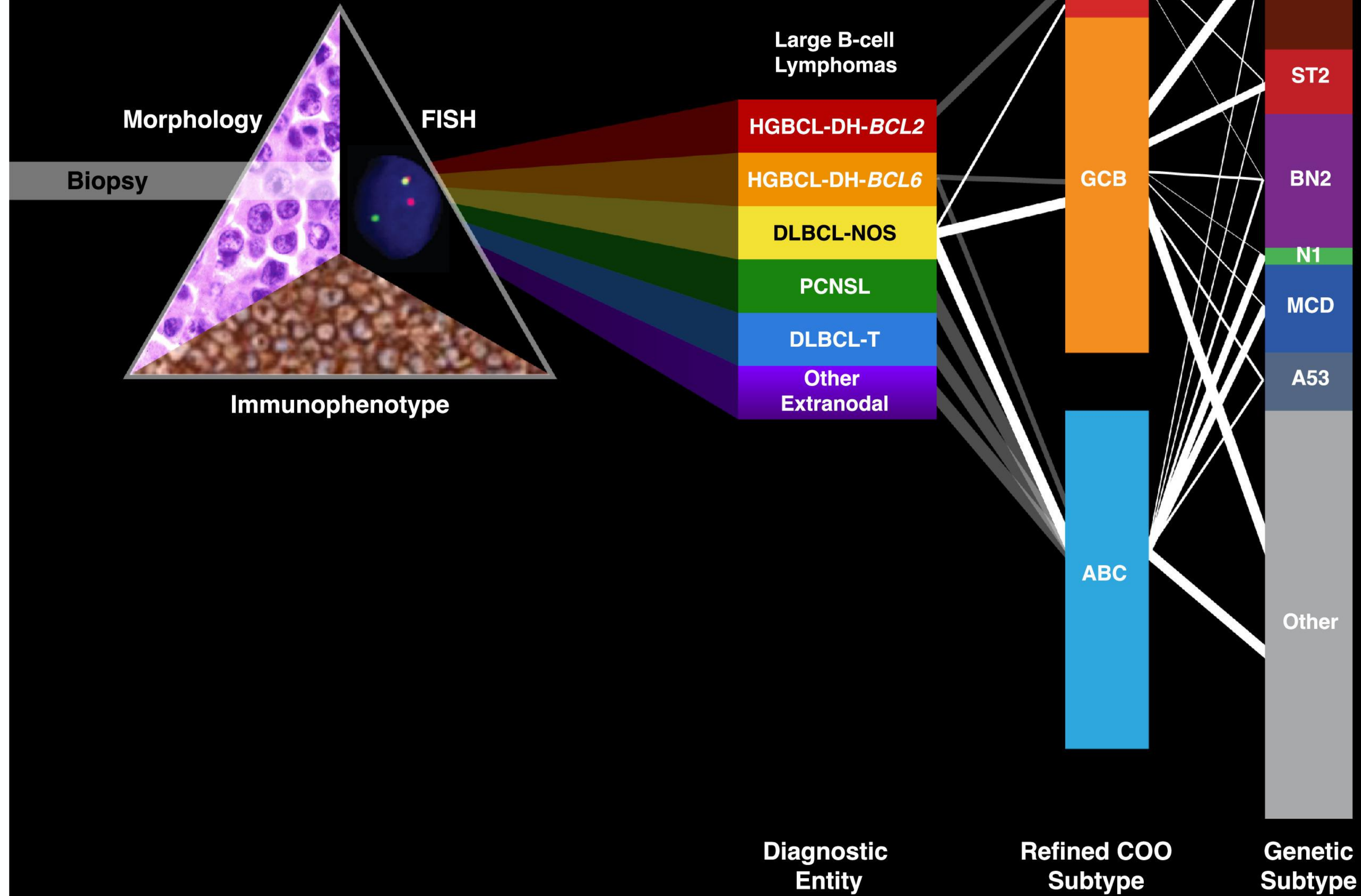
- WGS
- Exome sequencing
- Panel sequencing
- +/- Copy number
- +/- FISH (BCL2, BCL6)



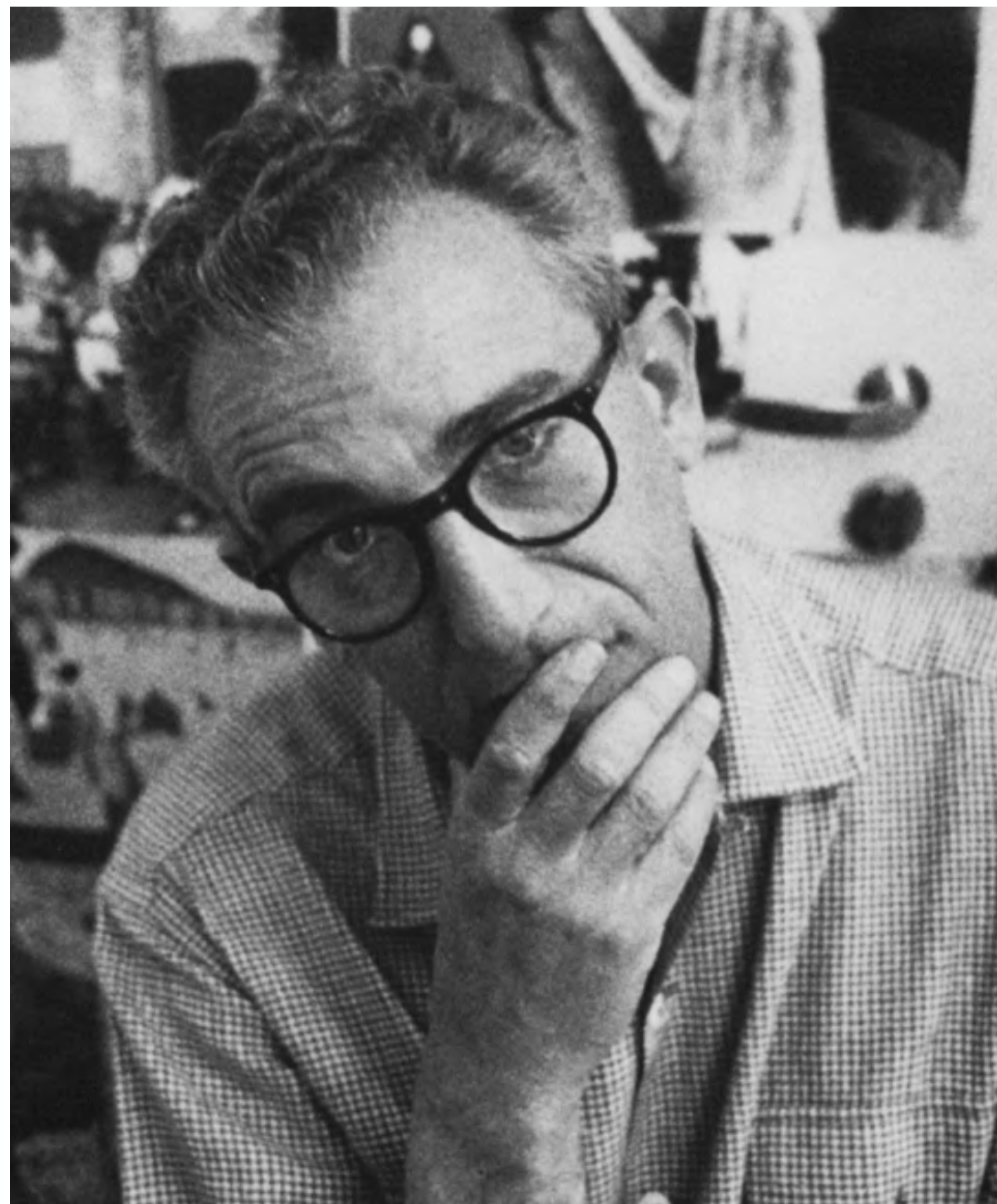
## Mutation Signature (LymphGen)



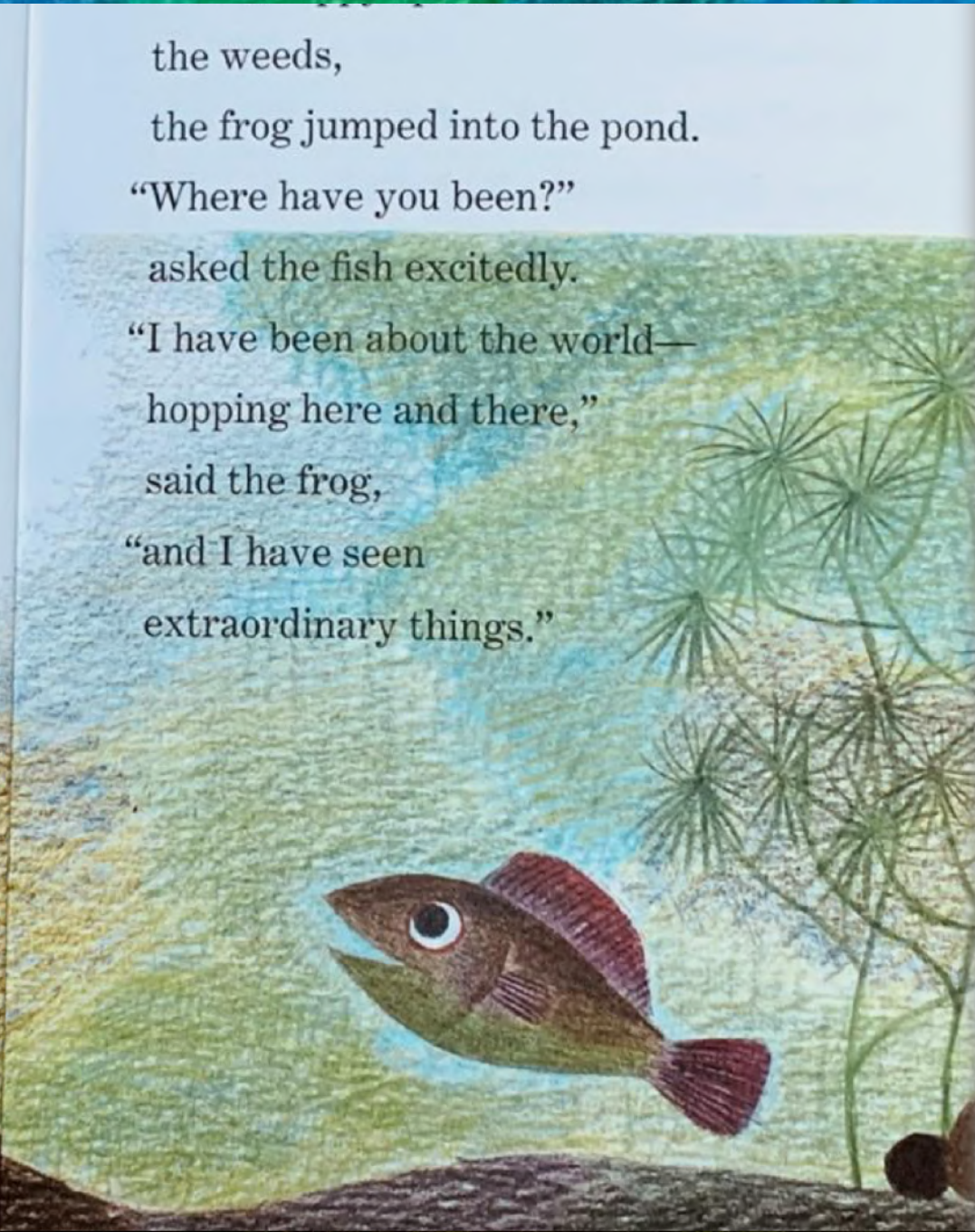
“Disecar la heterogeneidad biológica = Clasificación Molecular”



Hilton LK, Scott DW, Morin RD. Biological heterogeneity in diffuse large B-cell lymphoma. *Semin Hematol.* 2023 Nov;60(5):267-276.

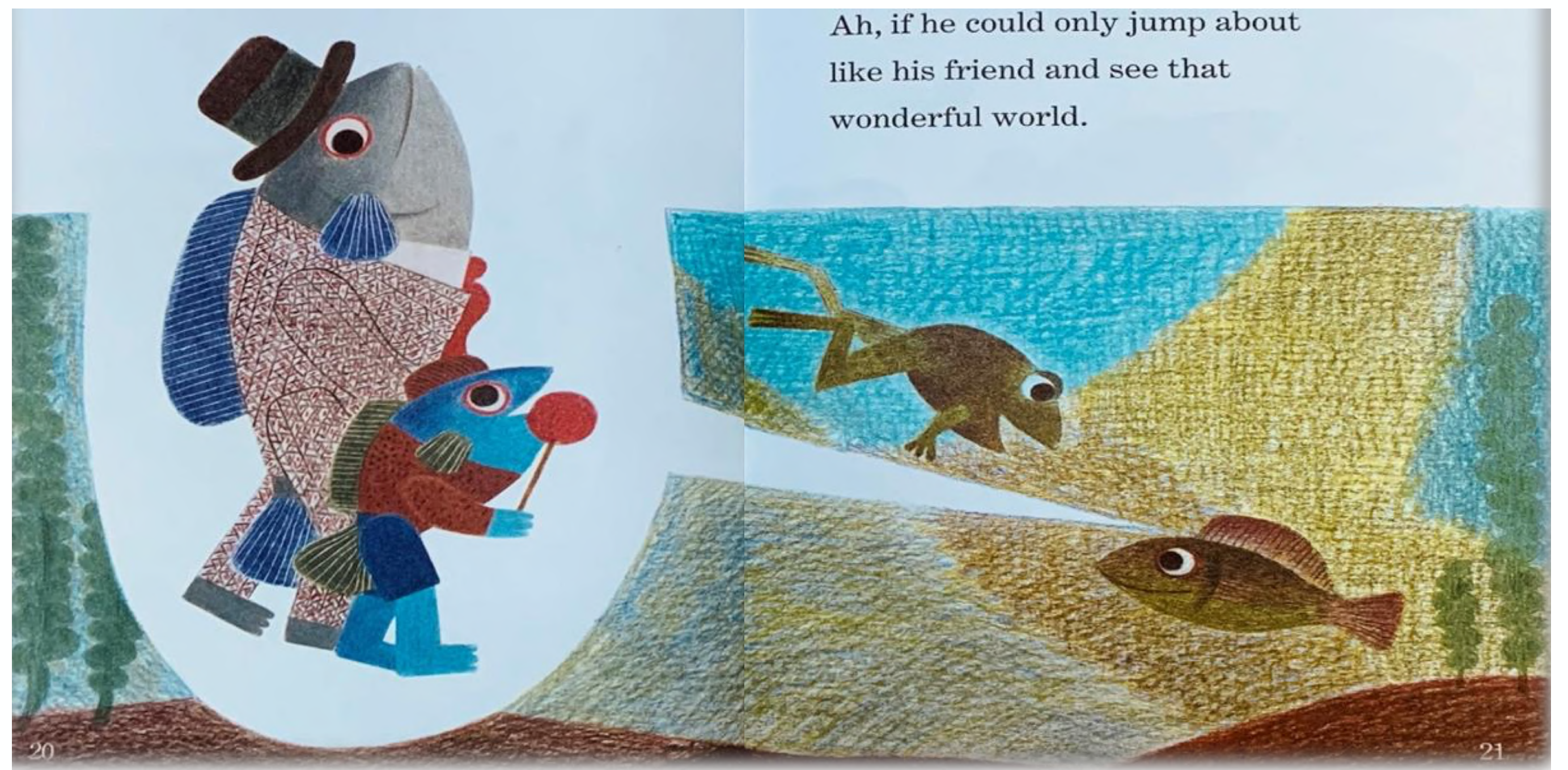


**Leo Leonni (1910 - 1999)**



the weeds,  
the frog jumped into the pond.  
“Where have you been?”  
asked the fish excitedly.  
“I have been about the world—  
hopping here and there,”  
said the frog,  
“and I have seen  
extraordinary things.”

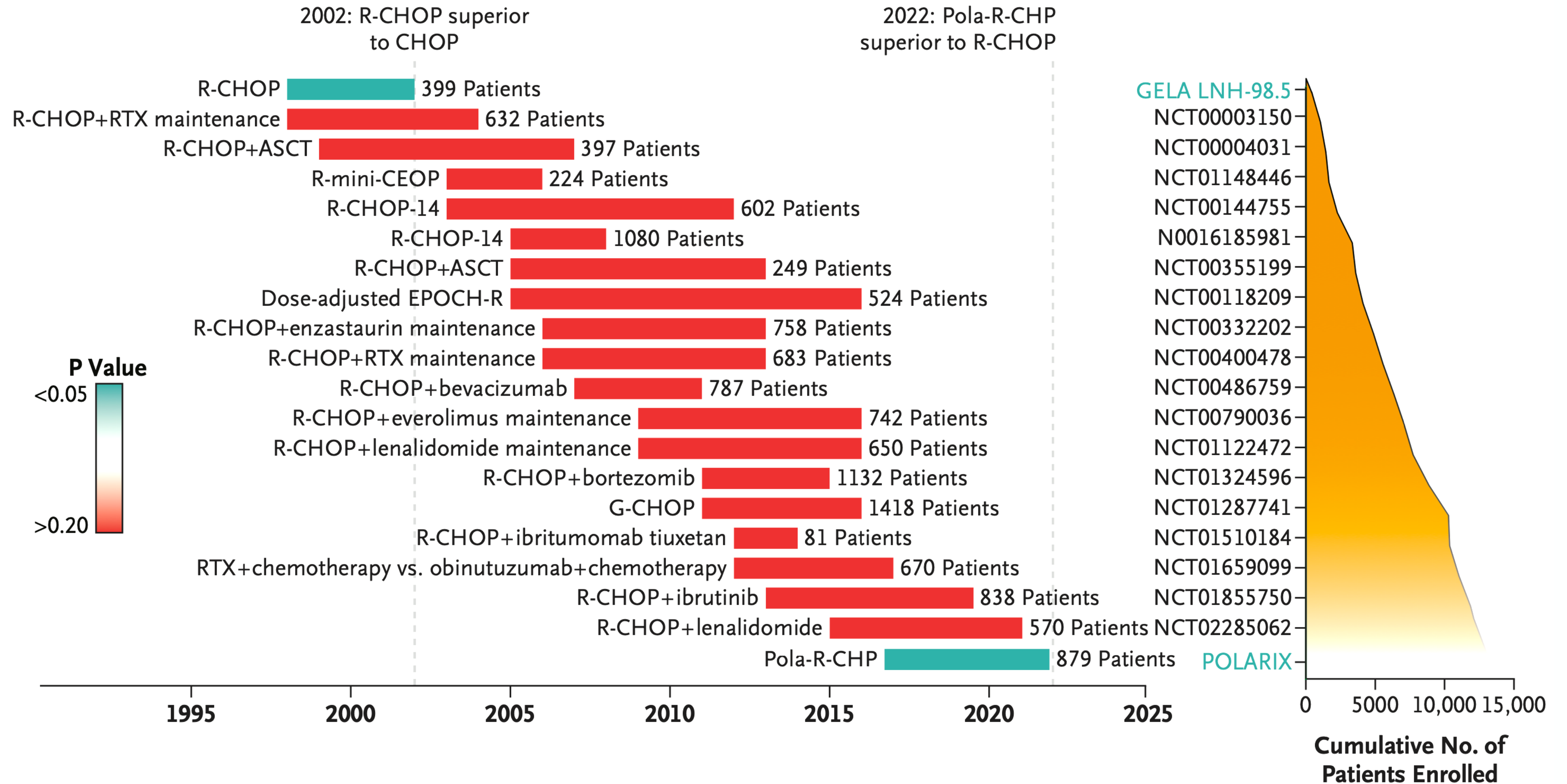
Lionni, L. (1970). Fish is Fish. Pantheon Books.



Lionni, L. (1970). Fish is Fish. Pantheon Books.

# R-CHOP se estableció hace > 20 años

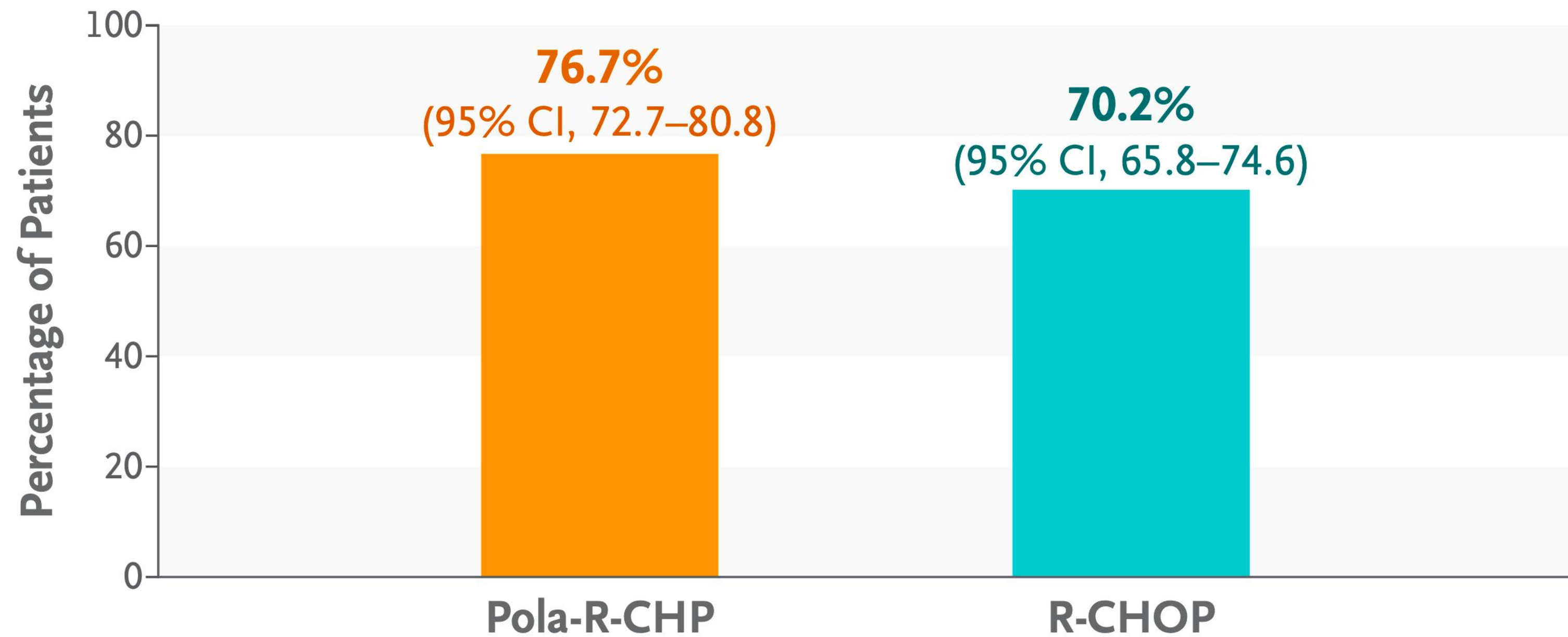
## A Randomized, Controlled Trials for Previously Untreated DLBCL



# Polatuzumab Vedotin in Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma

## Progression-free Survival (Estimate at 2 Years)

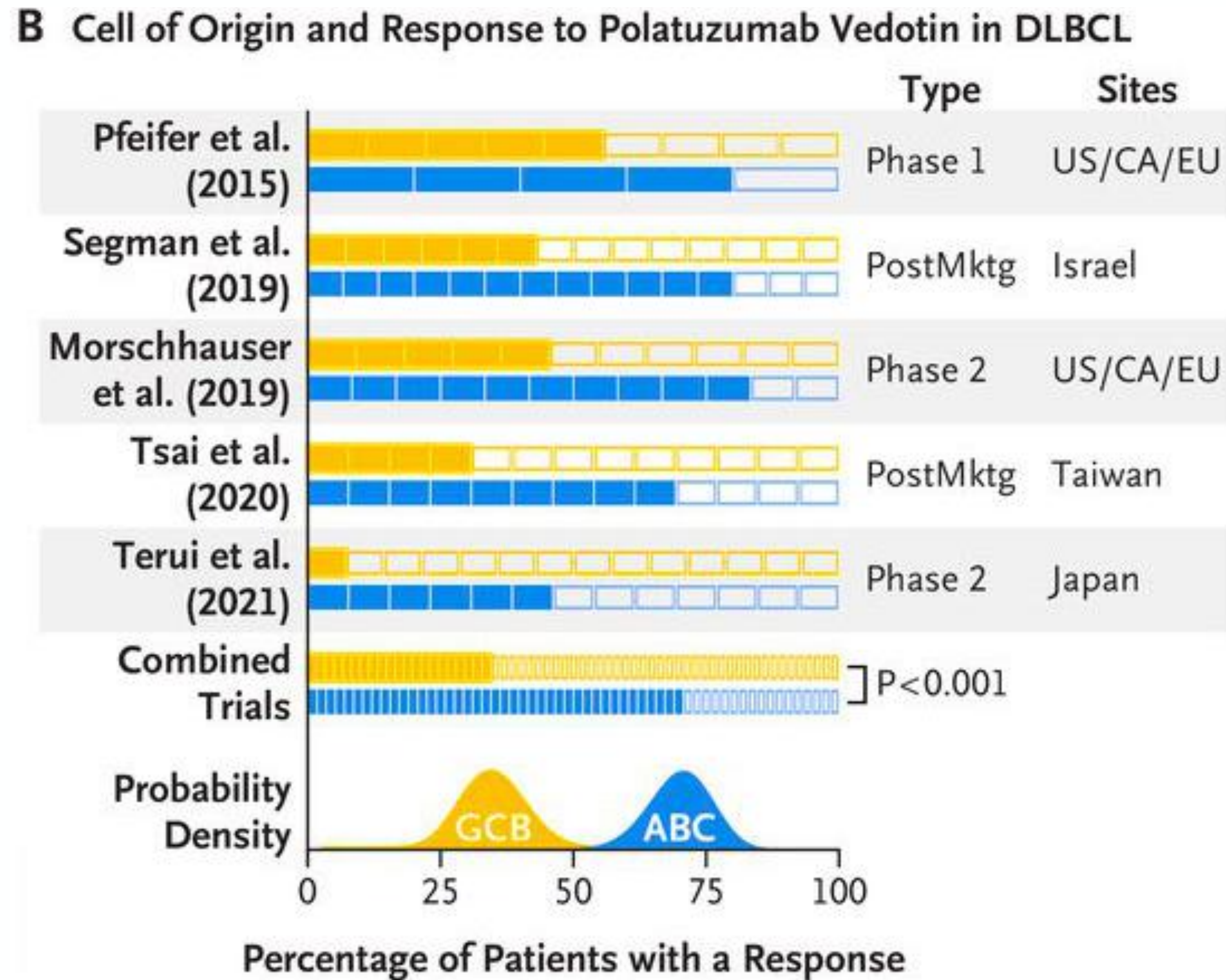
HR for progression, relapse, or death, 0.73; 95% CI, 0.57–0.95; P=0.02



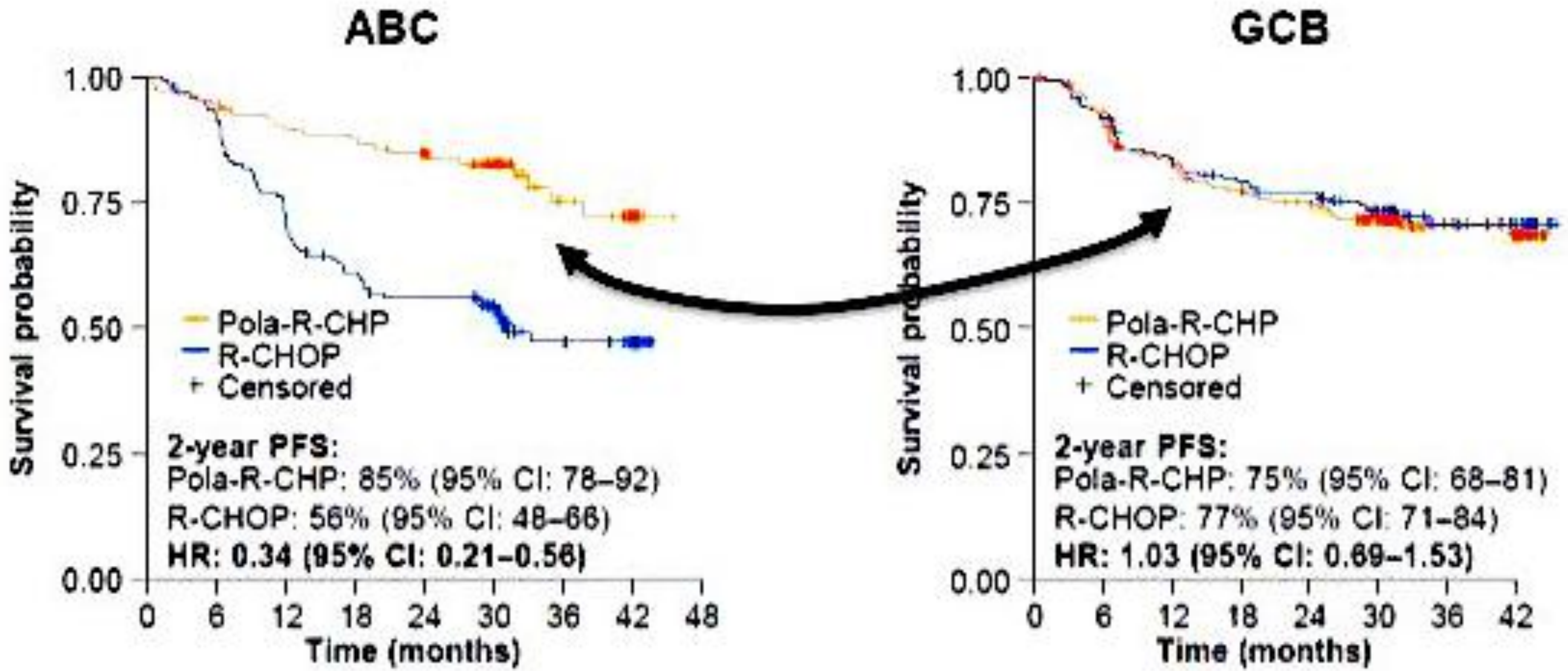
**6.5 % mayor PFS**

**Actualización 5 años:**      **64.2% (95% CI: 58.78-69.53).**      **59.1% (95% CI: 53.87-64.40)**      **5.1 % mayor PFS**

# Consistentemente había demostrado **beneficio diferencial** en el subgrupo ABC



# En forma observacional si parece ser **predictivo** para Polatuzumab vedotin



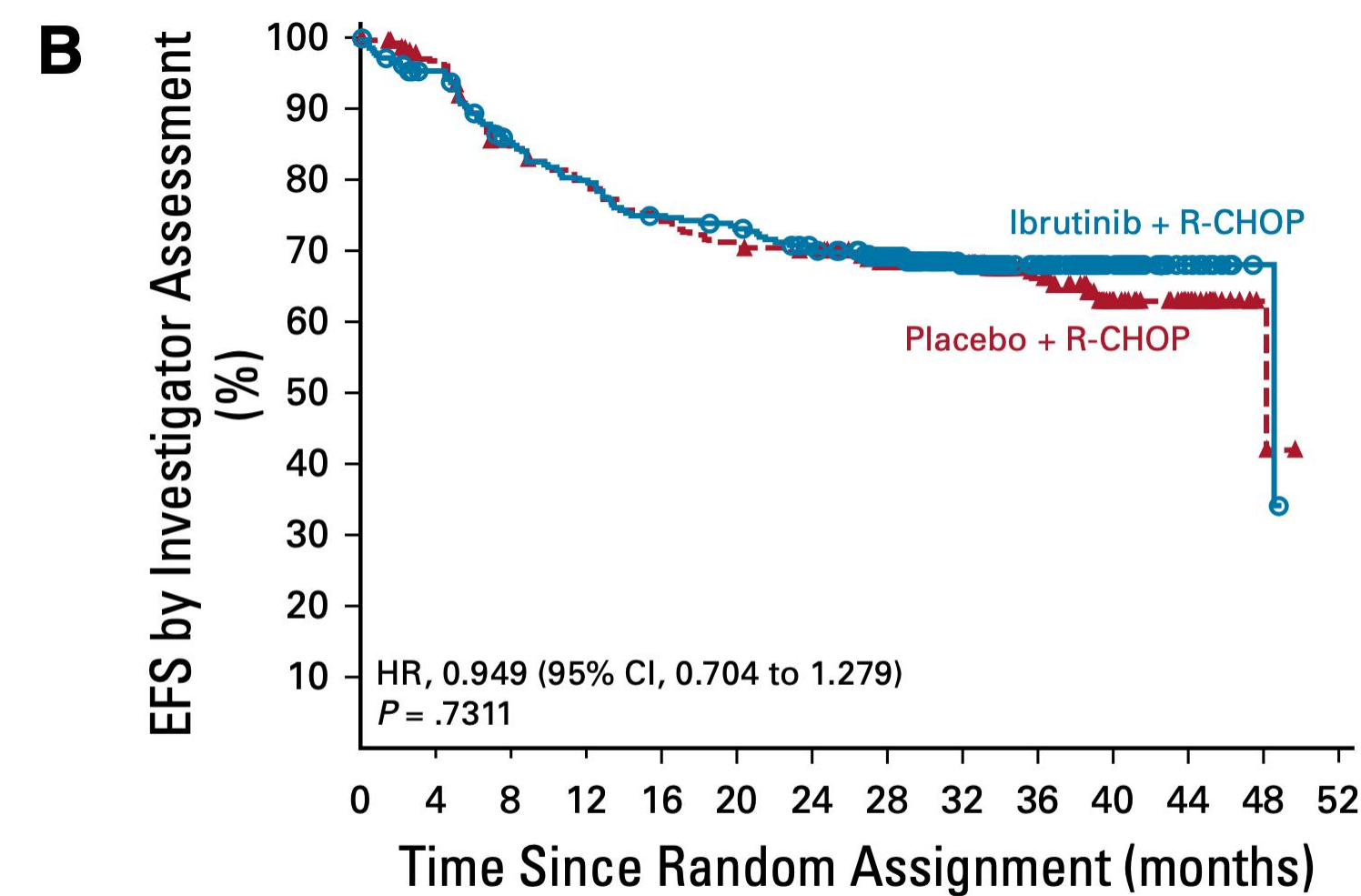
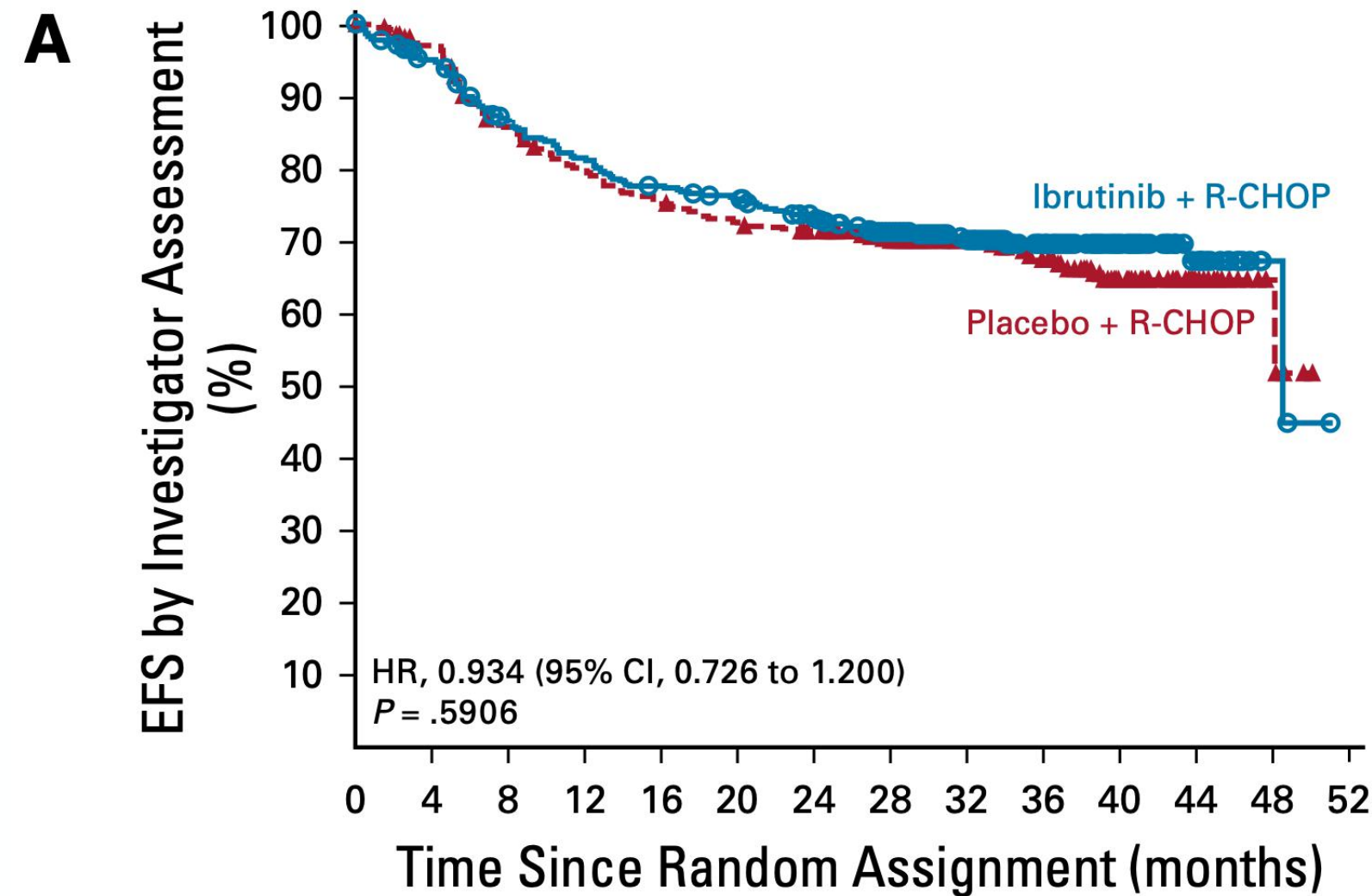
A veces nuestra **teoría implícita** “nos acomoda”

# Estudio **PHOENIX**: Ibrutinib - R-CHOP vs Placebo - R-CHOP

EFS (Todos)

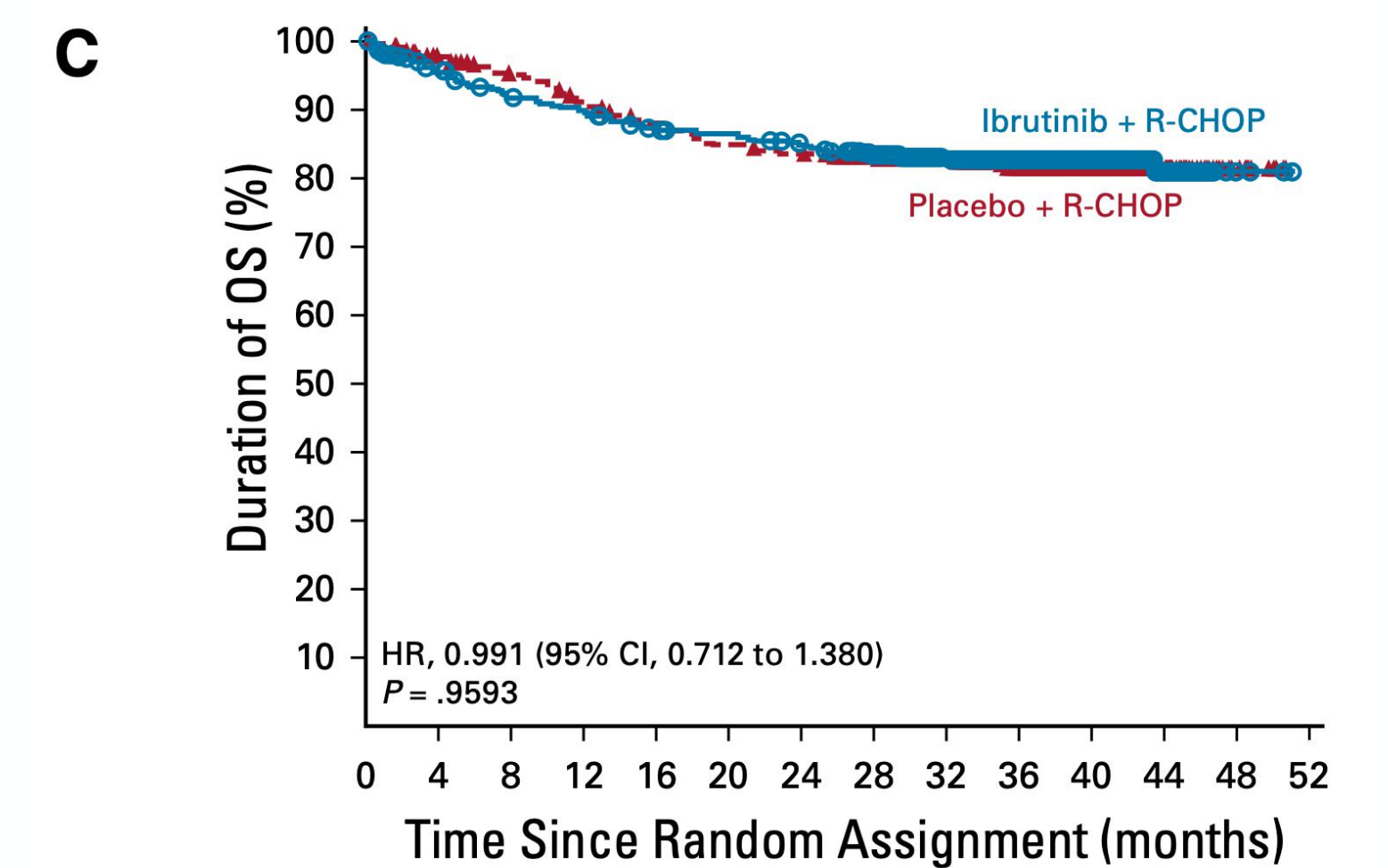
EFS (ABC)

OS (ABC)



No. at risk:

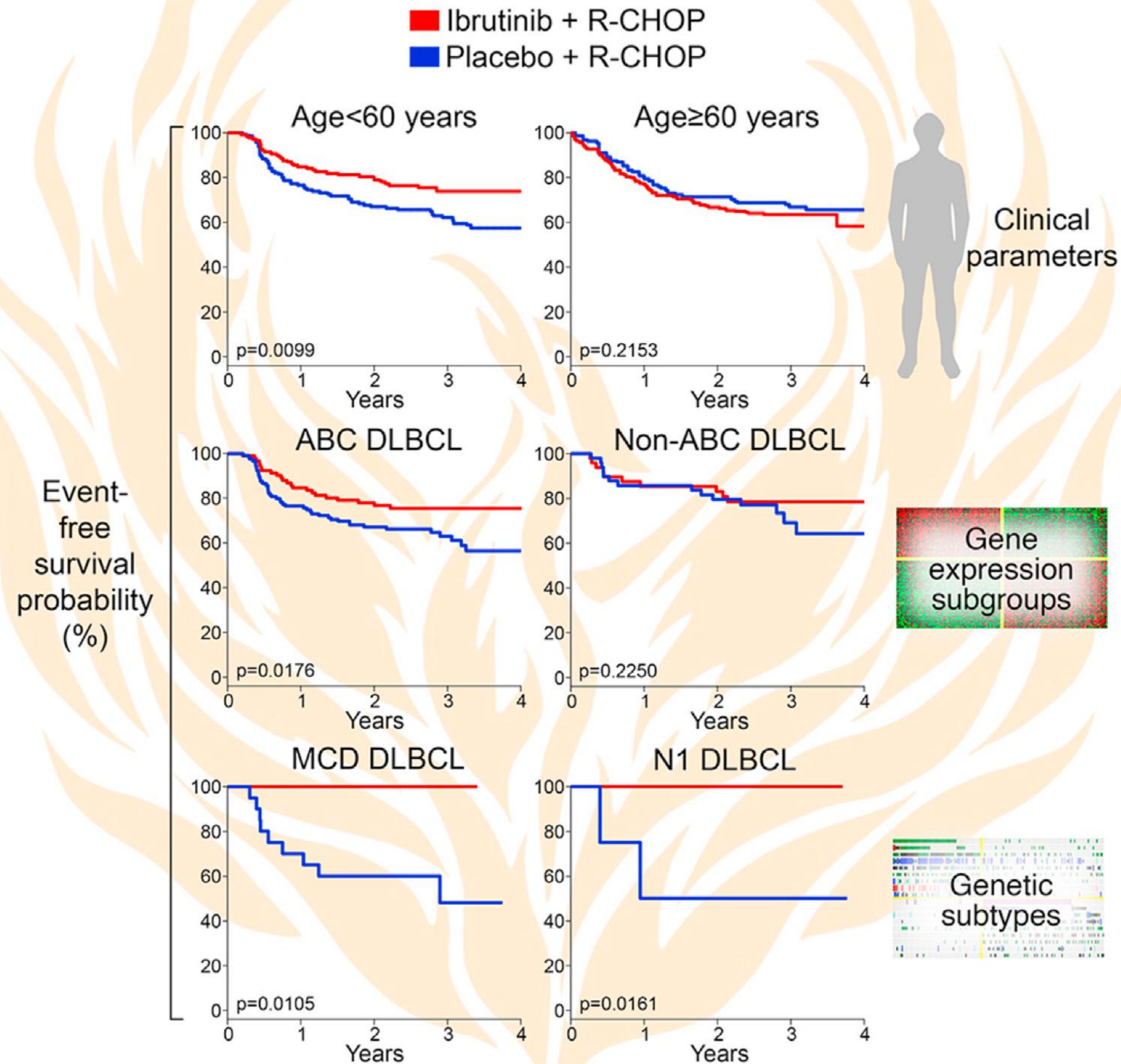
Ibrutinib + R-CHOP	285	256	225	211	197	191	181	149	111	77	39	15	2	0
Placebo + R-CHOP	282	260	225	212	196	188	183	160	125	78	41	25	3	0



No. at risk:

Ibrutinib + R-CHOP	419	384	365	356	342	337	328	309	236	159	100	38	4	0
Placebo + R-CHOP	419	400	382	363	347	335	329	301	237	157	99	51	12	0

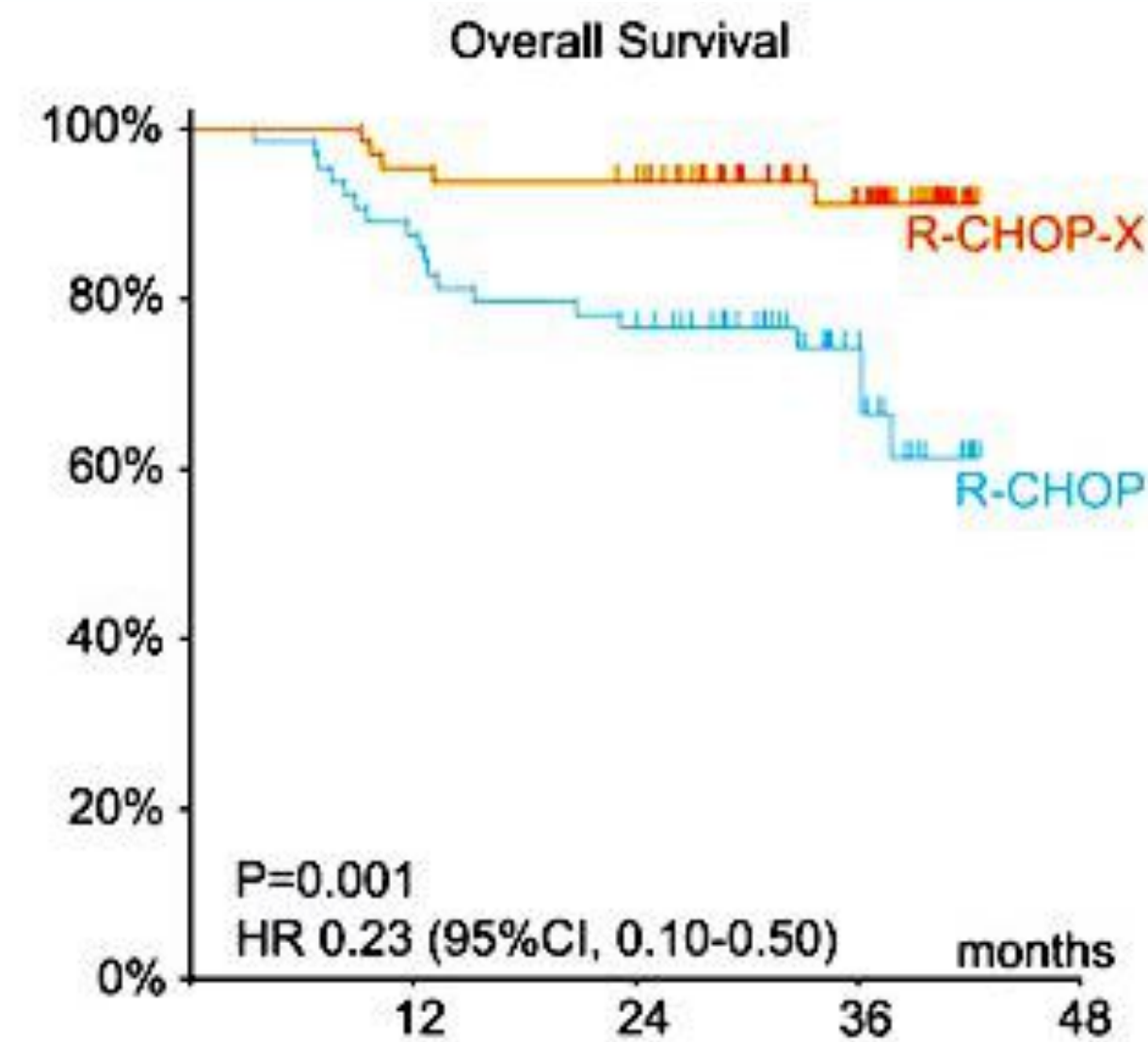
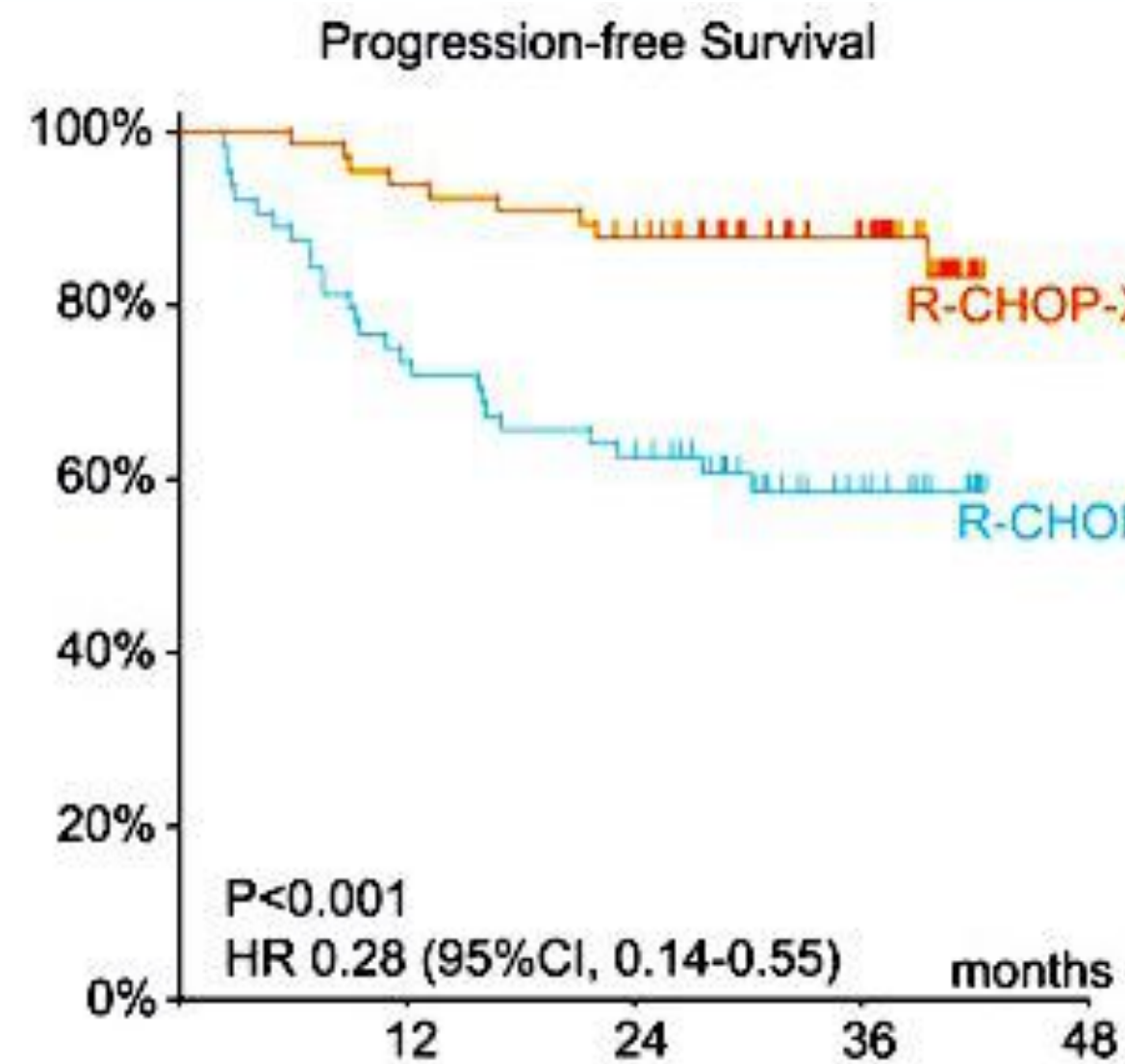
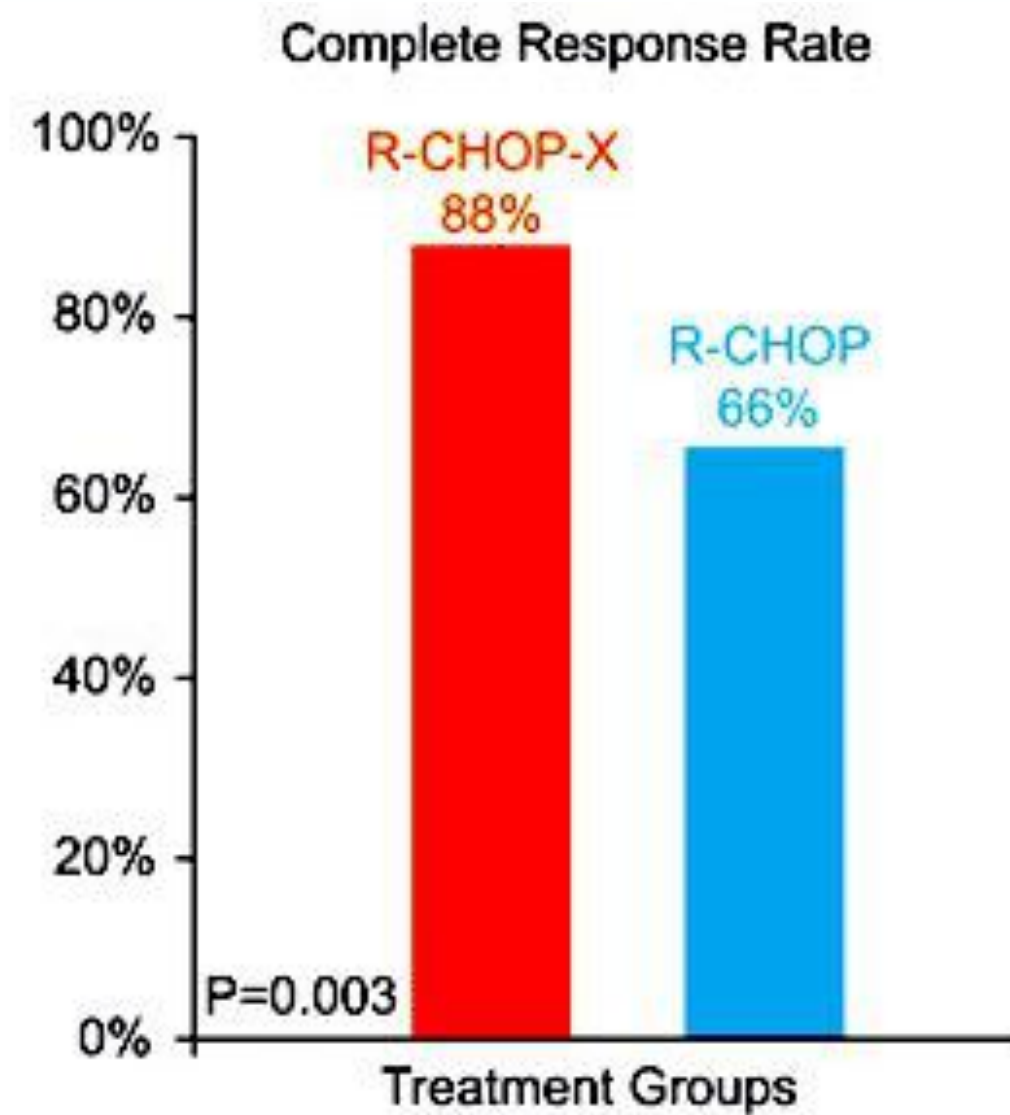
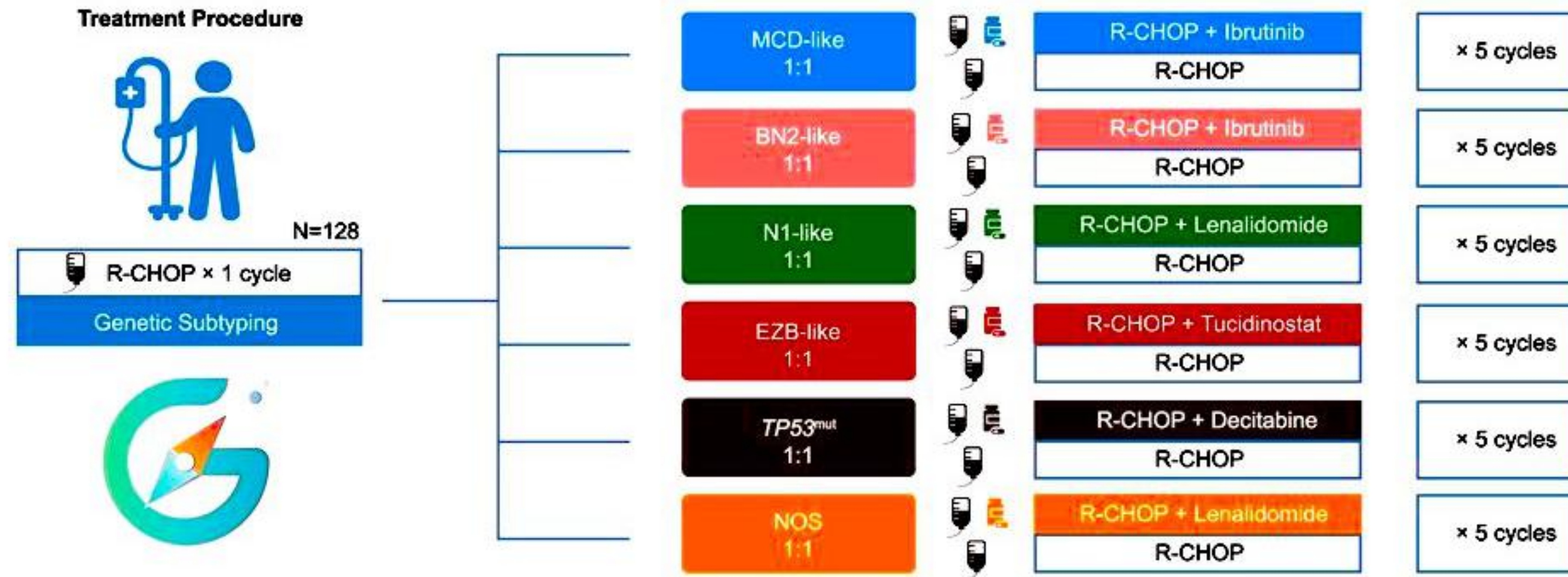
# Phoenix Phase III Clinical Trial in Previously Untreated Non-GCB Diffuse Large B Cell Lymphoma



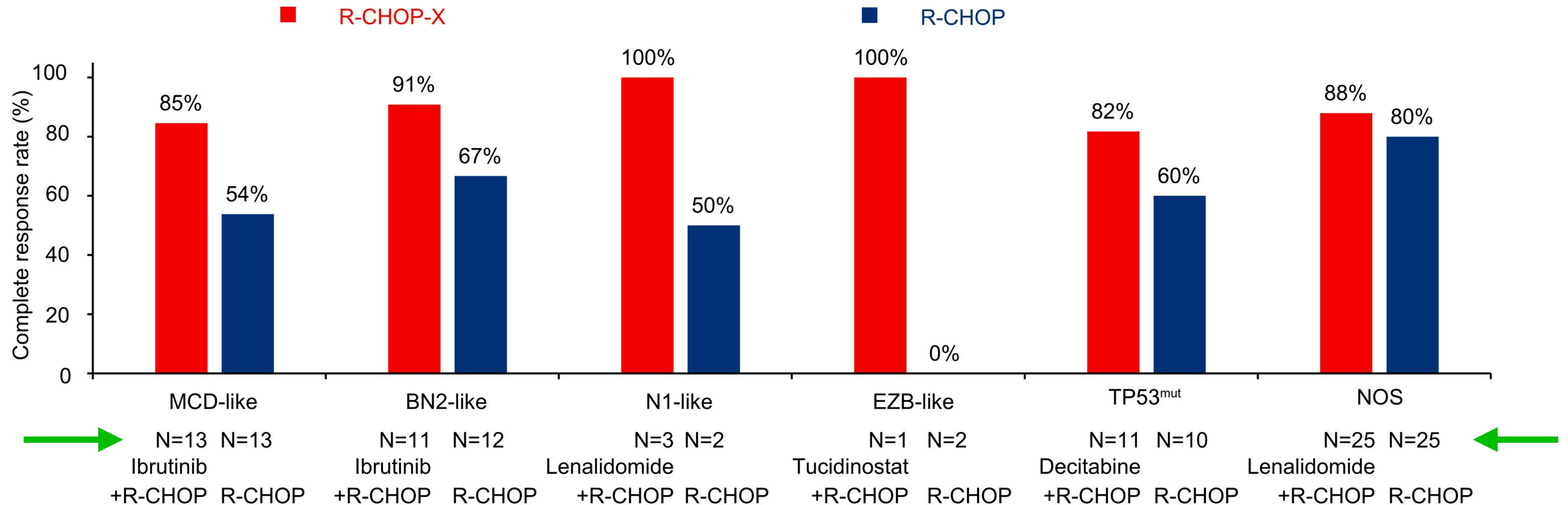
**“Phoenix rises from the ashes”**

**100% sobrevivida MCD y N1 con ibrutinib + R-CHOP vs 50% R-CHOP solo.**

# La gran promesa de clasificar es **dirigir terapia** en el futuro

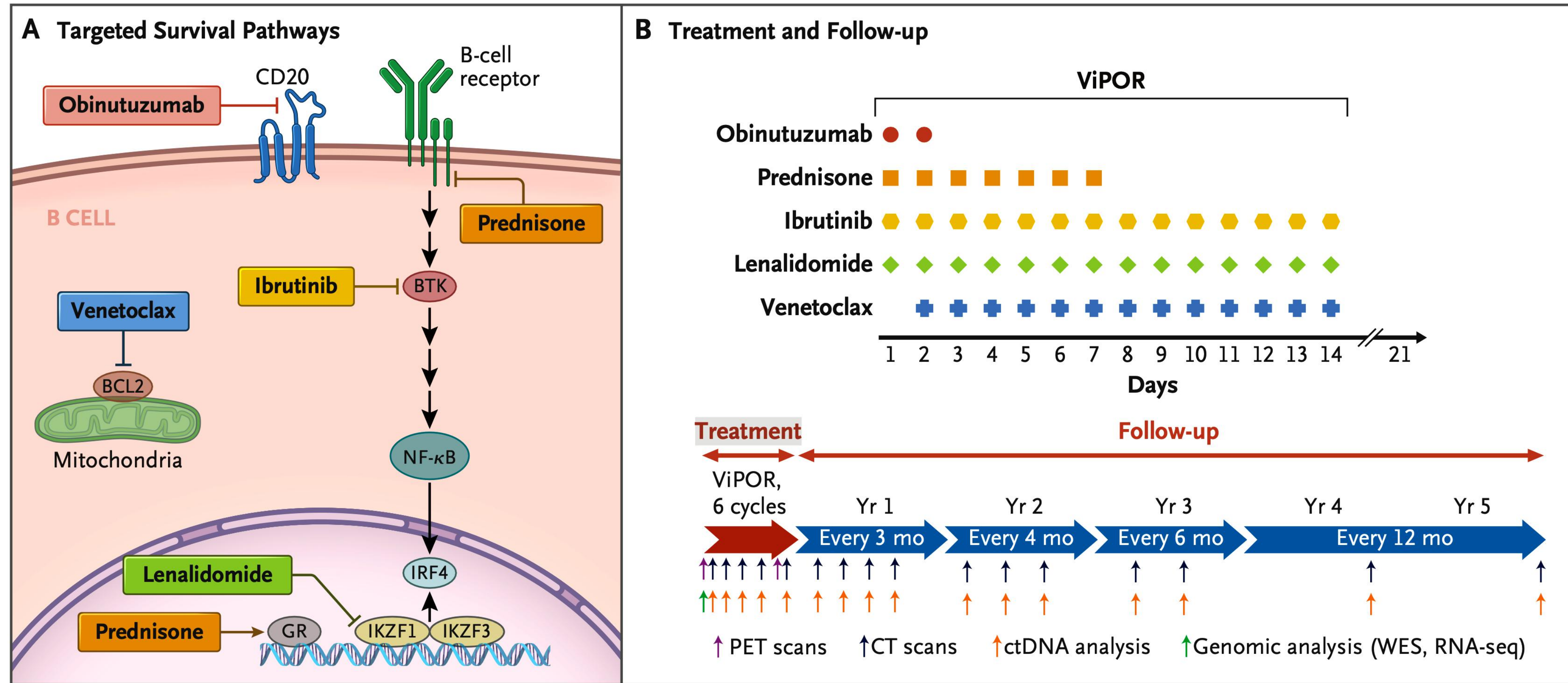


# El concepto entusiasmo pero **cautela** por el momento



**Es necesario confirmar - desarrollar**

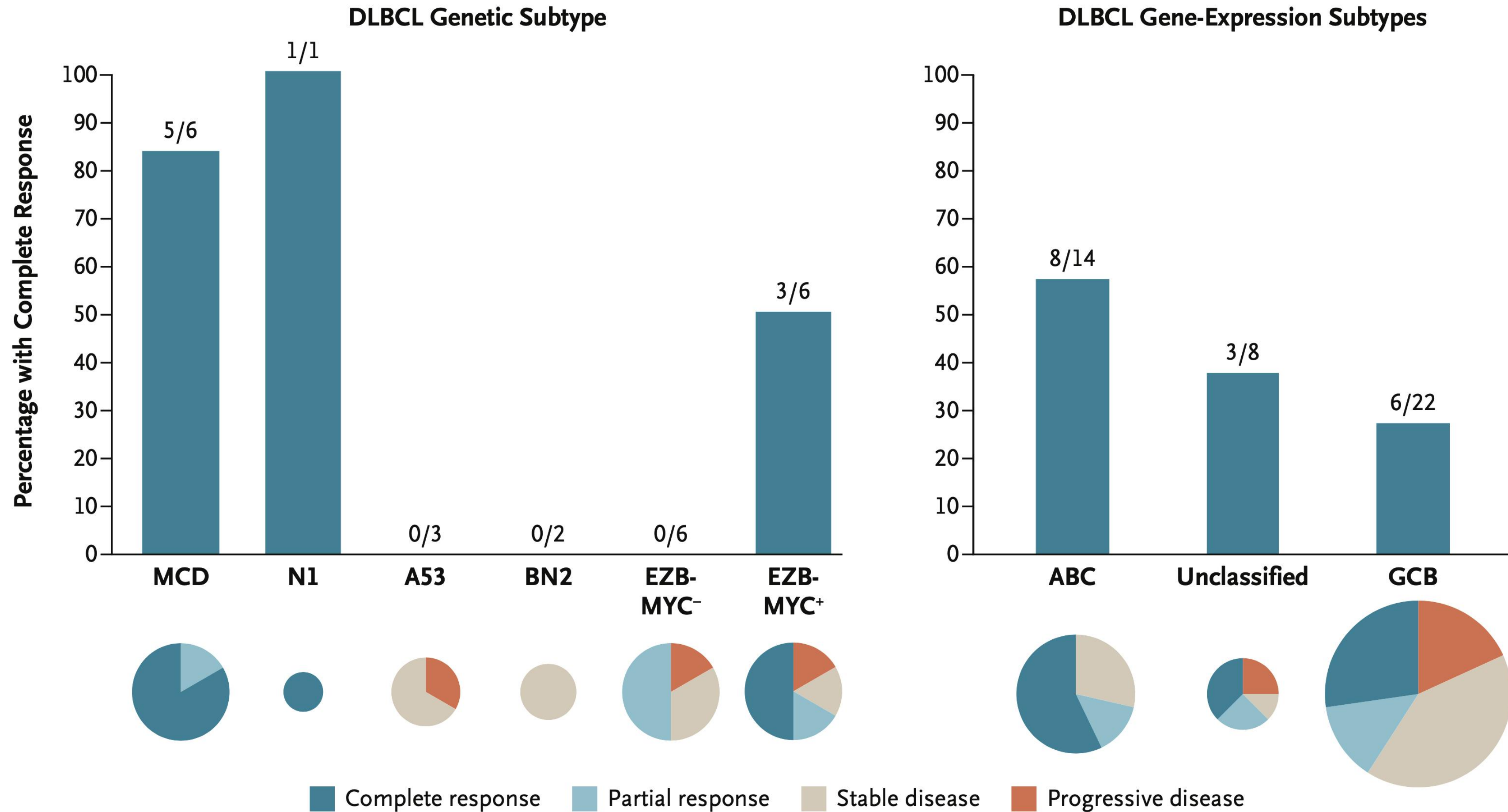
# Combination Targeted Therapy in Relapsed Diffuse Large B-Cell Lymphoma



Diseño de esquema para DLBCL R/R en base a **vías de sobrevida asociadas a las mutaciones oncogénicas**

# Combination Targeted Therapy in Relapsed Diffuse Large B-Cell Lymphoma

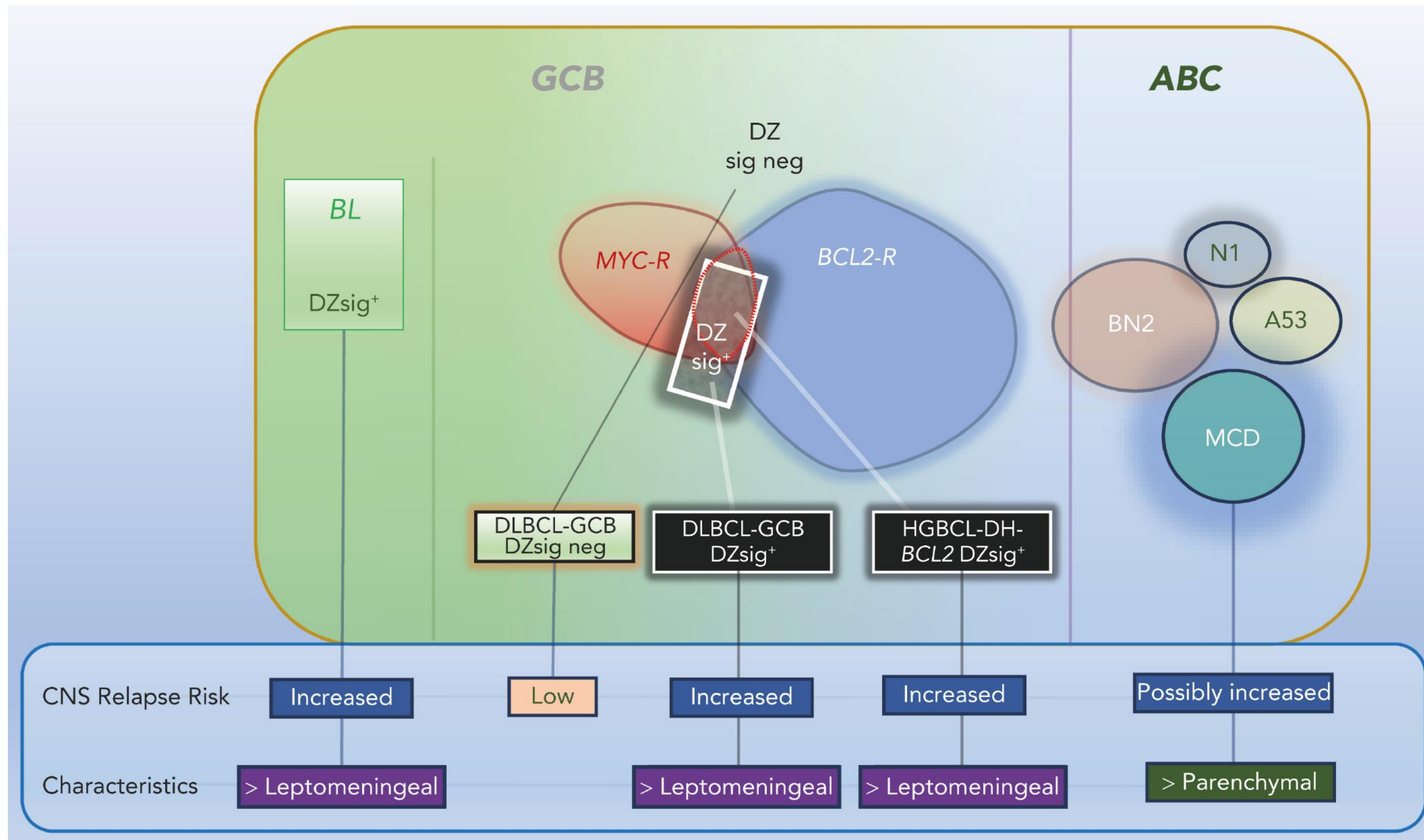
## B Response



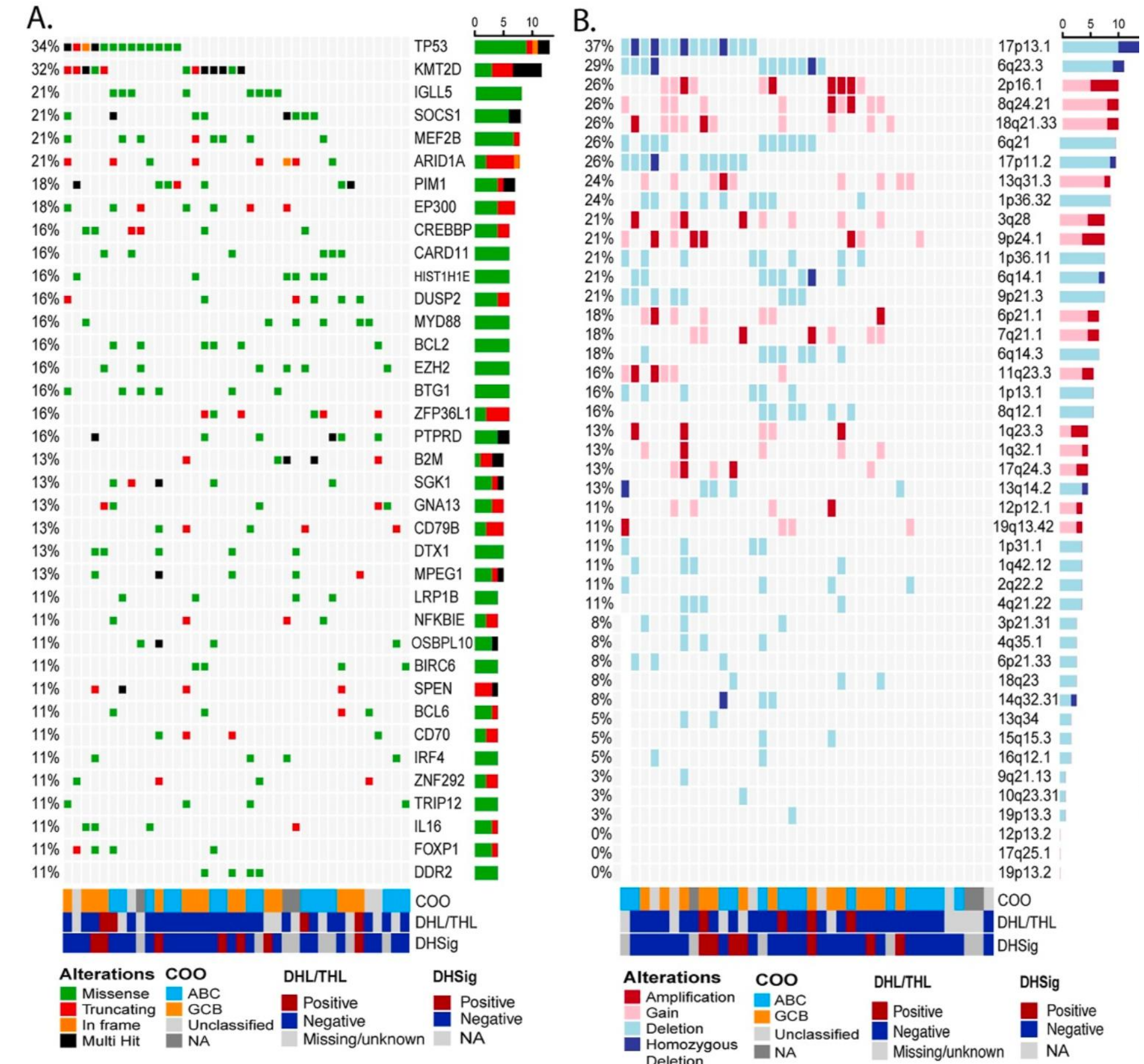
**Alto interés respuestas completas en subgrupos de peor pronóstico**

# Otras posibles aplicaciones

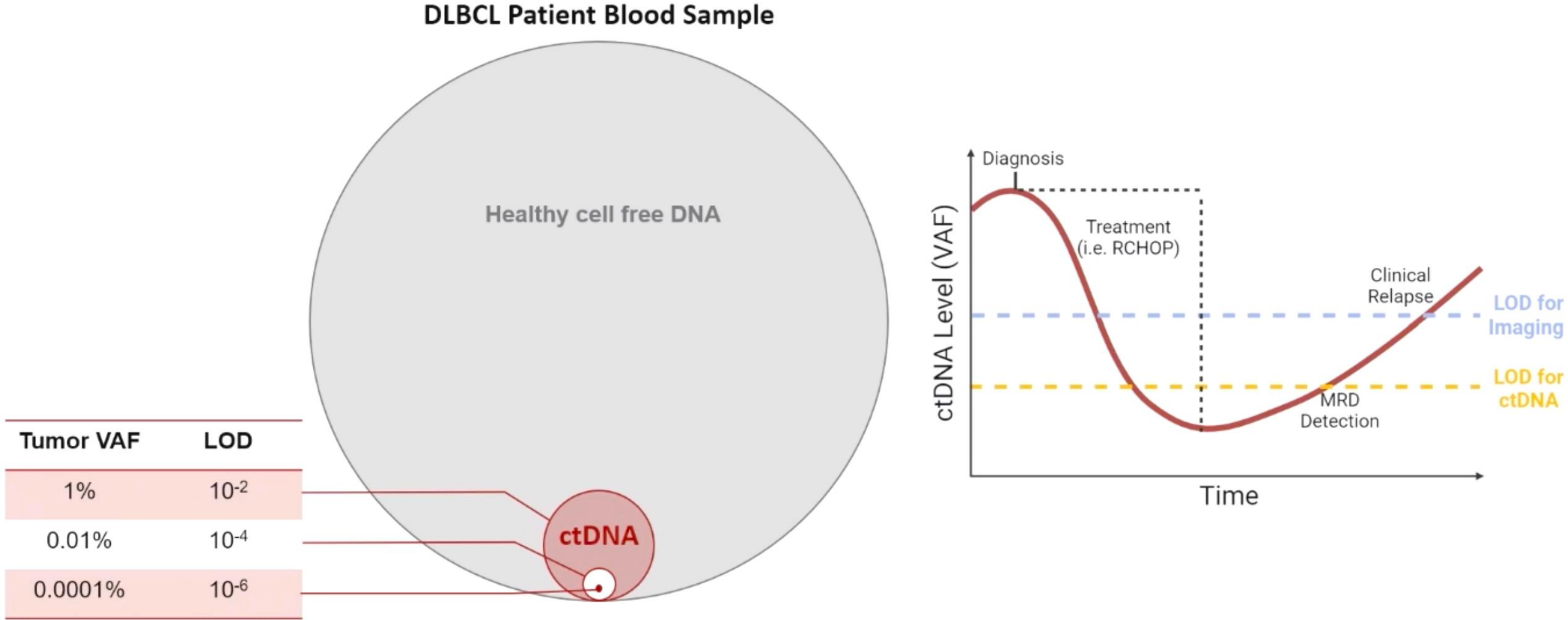
## Distintos riesgos y tipos compromiso SNC








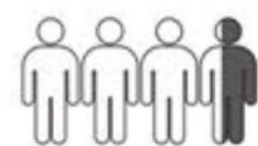
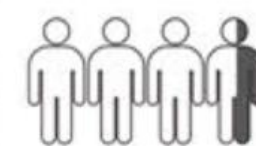


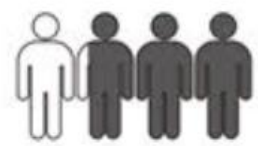
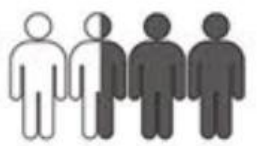
## “Genomic Signature” de paciente primarios refractarios (PTR)



# Caracterización y Enfermedad Mínima Residual por **DNA tumoral circulante**



# Se describen potenciales biomarcadores predictivos en todos los “omics”

Normal Counterpart	Germinal Center				Post Germinal Center				
	 Centroblast	 Centrocyte	 Memory B-cell	 Plasmablast					
COO	Protein	GCB				Non-GCB			
	mRNA	DZsig <sup>pos</sup>		non-DZsig <sup>pos</sup>		UNC		ABC	
	DNA	MYC <sup>+</sup> EZB	MYC <sup>-</sup> EZB	ST2	UNC	BN2	UNC	A53	N1
Prognosis									

Probablemente el enfoque sea “integrador”



**Joaquín Díaz Schmidt (1982 - )**

## Anécdota: “Una historia de precisión”

- Hombre, 47 años
- **Antecedentes**
  - Colitis Ulcerosa —> Sulfasalasina
  - Nefritis intersticial —> Enfermedad renal crónica
  - Transplante renal (2014 - madre donante) — Terapia Inmunosupresora
- **Consulta: Diplopia y adenopatías (2024)**
  - Imágenes:
    - Masa en seno cavernoso con compresión extrínseca de 3er par craneano.
    - Múltiples adenopatías supra e infra diafragmáticas

## “Una historia de precisión”

- Biopsia:
  - **Linfoma de Alto Grado Doble Expresor Myc/BCL2**
  - FISH reordenamiento Myc/BCL2 negativo
  - IFT en LCR (-) para linfoma
- Tratamiento
  - 1era línea: **Pola-R-CHP** —> Enfermedad refractaria
    - Radioterapia paliativa masa seno cavernoso
  - 2nda Línea: **Glofitamab - GemOx** —> Enfermedad Progresiva (2ndo ciclo)
  - 3era Línea:
    - Radioterapia (compromiso retrofaríngeo con compresión raíces dorsales)
    - **Venetoclax - ICE - R** —> RP\* —> RT —> Enfermedad progresiva (pre 2ndo ciclo)



### COMENTARIO

Se analizan las poblaciones viables (72% de 200.000 eventos) contenidas en la muestra y constituídas por las siguientes subpoblaciones:

Linfocitos T: 3%  
Linfocitos B: 0%  
Células NK: 0%  
Monocitos: 0%

**Linfocitos Patológicos: 97%**

### ANALISIS

En las poblaciones analizadas se observan linfocitos T con expresión de los antígenos CD45 (intenso), CD3 (intenso), CD5 (intenso) y subtipos CD4 y CD8 en relación normal (0.89) La expresión de TRBC1 es policlonal para ambas subpoblaciones. No se observan linfocitos B ni células NK.

Llama la atención una gran población de células de gran tamaño y de alta complejidad, con expresión de CD45 (intenso), CD19 (intenso), CD20 (intenso) y CD38 (muy intenso), en ausencia de expresión de CD3 CD5. Esta población expresa cadena liviana kappa exclusiva (monoclonal).

### CONCLUSIÓN

Muestra de tejido compatible con una neoplasia de células B grandes

# Biopsia Core **Lesión fémur derecho**

---

## **Diagnóstico Clínico/Antecedentes:**

Linfoma de alto grado. Lesión en fémur derecho hipercaptante al PET.

## **Muestras Enviadas:**

Partes blandas , Biopsia de partes blandas por Ag o tru-cut , 3 trucut 16G desde lesión de partes blandas que rodea fémur derecho proximal

## **Examen Macroscópico:**

En formalina 7 fragmentos cordonales de tejido blanquecino amarillento de 3 a 15 mm de longitud por 1 mm de diámetro.

## **Examen Microscópico:**

Tejido muscular esquelético infiltrado por proliferación linfoide atípica de patrón de crecimiento difuso, compuesta por células de núcleos grandes, ovoideos, vesiculosos, con uno o más nucléolos prominentes. Se reconocen numerosas figuras mitóticas, cuerpos apoptóticos y macrófagos con cuerpos tingibles que dan un aspecto de cielo estrellado. Se realizó tinción inmunohistoquímica para PD-1 y PD-L1 que muestran un 10% de tinción en células neoplásicas.

CPS: 10%

## **Diagnóstico:**

**HALLAZGOS COMPATIBLES CON LINFOMA L DE ALTO GRADO (VER NOTA).**



# Resultados **NGS**

## Diagnóstico Clínico/Antecedentes:

Linfoma de alto grado. Lesión en fémur derecho hipercaptante al PET.

## Muestras Enviadas:

Partes blandas , Panel ONCO-501 , En biopsia H24-28091. Antecedente biopsia H24-28091 (CAS): HALLAZGOS COMPATIBLES CON LINFOMA B DE ALTO GRADO (partes blandas).

## Examen Microscópico:

## ESTUDIO DE MUTACIONES PANEL CAS-ONCO501 B24-00392 DE LA MUESTRA H24-28091

## Diagnóstico:

### ALTERACIONES DETECTADAS:

- CARGA MUTACIONAL TUMORAL: 88.45 mut/Mb (ver comentario).
- INESTABILIDAD MICROSATELITAL: DETECTADA/ALTA (Ver comentario).
- MUTACIÓN T125M EN GEN TP53 (Frecuencia: 41%; c.374C>T; p.Thr125Met; rs786201057).
- MUTACIÓN R38G EN GEN PIK3CA (Frecuencia: 47%; c.112C>G; p.Arg38Gly; rs749415085).
- MUTACIÓN R441P EN GEN FBXW7 (Frecuencia: 44%; c.1322G>C; p.Arg441Pro).
- MUTACIÓN S2803Pfs\* EN GEN ZFH3 (Frecuencia: 47%; c.8407delT; p.Ser2803ProfsTer).
- MUTACIÓN W53\* EN GEN MTIF2 (Frecuencia: 45%; c.158G>A; p.Trp53Ter).
- MUTACIÓN T380Pfs\* EN GEN KCND2 (Frecuencia: 44%; c.1138delA; p.Thr380ProfsTer).
- MUTACIÓN N1263Tfs\* EN GEN CSMD3 (Frecuencia: 44%; c.3788delA; p.Asn1263ThrfsTer).
- MUTACIÓN T69Pfs\* EN GEN CTCF (Frecuencia: 44%; c.204delC; p.Thr69ProfsTer).
- MUTACIÓN T106Hfs\* EN GEN ZNF177 (Frec.: 43%; c.316delA; p.Thr106HisfsTer).
- MUTACIÓN P473Rfs\* EN GEN CNTNAP5 (Frecuencia: 42%; c.1418delC; p.Pro473ArgfsTer).
- MUTACIÓN R2653\* EN GEN CSMD3 (Frecuencia: 41%; c.7957C>T; p.Arg2653Ter).
- MUTACIÓN W586\* EN GEN FUBP1 (Frecuencia: 40%; c.1757G>A; p.Trp586Ter).

Inestabilidad genómica ¿neoantígenos?

Quimioresistencia

Accionable?

Lymphgen: "Other" —> ¿A53?

¡99 variantes!

12 patológicas

# “Caldero Mágico”

CD 38 intenso

PD1/PDL1 10%

Carga Mutacional Tumoral Alta

Inestabilidad Microsatelital



# “Caldero Mágico”



BRIEF REPORT

---

## Daratumumab Plus Atezolizumab in Previously Treated Advanced or Metastatic NSCLC: Brief Report on a Randomized, Open-Label, Phase 1b/2 Study (LUC2001 JNJ-54767414)



Rathi N. Pillai, MD,<sup>a,\*</sup> Suresh S. Ramalingam, MD,<sup>a</sup> Meena Thayu, MD,<sup>b</sup> Patricia Lorenzini, RN,<sup>c</sup> Diana A. Alvarez Arias, PhD,<sup>c</sup> Christopher Moy, MS,<sup>c</sup> Natalie Hutnick, PhD,<sup>c</sup> Roland Knoblauch, MD,<sup>d</sup> Huaibao Feng, PhD,<sup>d</sup> Colleen Kane, PhD,<sup>c</sup> Leora Horn, MD,<sup>e</sup> Martin Reck, MD,<sup>f</sup> Santiago Ponce, MD,<sup>g,h</sup> on behalf of the LUC2001 Investigators

**Seguro (NO eficaz en NSCLC)**

# “Caldero Mágico”

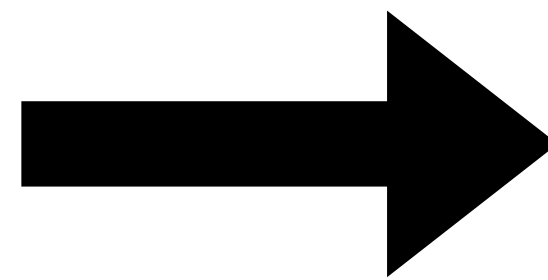
Daratumumab

Atezolizumab





2 ciclos



**Respuesta Completa  
Deauville 3 !!!**

## Reflexiones finales

- Historia que se está escribiendo.
- **Yo estoy convencido:**  
Nuevas herramientas —> mecanismos de enfermedad —> biomarcadores predictivos —> decisiones con mayor precisión —> oportunidades
- **Permitirá mayor eficacia y exponer a menos toxicidad.**
- Desafíos  
—> incentivos (indicaciones) se desalinean este desarrollo  
—> adopción
- **Esto tensiona más a nuestro países en Latinoamérica**

**¡Muchas Gracias!**



**Joaquín Díaz Schmidt**  
**Clínica Alemana de Santiago - Hospital Padre Hurtado**