



Artículo de investigación

## Utilidad de las herramientas de detección de reordenamientos para identificar alteraciones en la clonalidad, a propósito del linfoma asociado con síndrome de Sjögren

Utility of rearrangement detection tools for identifying clonality alterations in lymphoma associated with Sjögren syndrome

Juan Pablo Castañeda-González MD<sup>a</sup>  
Carlos Santiago Rivadeneira MD<sup>b</sup>  
Andrés Felipe Lamos MD<sup>b</sup>  
Rafael Parra-Medina MD PhD<sup>c</sup>  
Gabriel-Santiago Rodríguez-Vargas MD<sup>d</sup>  
Jairo Cajamarca-Barón MD<sup>e</sup>  
Adriana Rojas-Villarraga MD<sup>f</sup>

<sup>a</sup> Médico servicio Social Obligatorio. División de Investigaciones, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Bogotá DC, Colombia.

<sup>b</sup> Reumatología. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Bogotá DC, Colombia.

<sup>c</sup> Patólogo. Docente Investigador. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Bogotá DC, Colombia.

<sup>d</sup> Biomad IPS, Departamento de medicina interna, Universidad El Bosque, Bogotá DC., Colombia.

<sup>e</sup> Médico Reumatólogo. Profesor Asistente. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá DC, Colombia.

<sup>f</sup> Profesor Titular. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Bogotá DC, Colombia.

### RESUMEN

**Introducción:** el síndrome de Sjögren (SS) es una enfermedad autoinmune sistémica con activación aberrante de linfocitos, riesgo de neoplasias hematolinfoides y asociación con linfomas, como el B difuso de células grandes y el de la zona marginal. Es de gran utilidad determinar la clonalidad linfoide bajo protocolos estandarizados como la técnica BIOMED-2. **Objetivo:** revisar la implementación de la técnica BIOMED-2 para la determinación de la clonalidad linfoide en biopsias de glándula salival menor (BGSM) de pacientes con SS. **Materiales y métodos:** búsqueda y revisión narrativa de la literatura entre los periodos 2010 y 2023 a través de las bases de datos de Pubmed, Scienccdirect, Bevesalud, Scielo y LILACs. Se incluyeron los artículos buscados con los tesauros de Medial Subject Headings: "Sjögren syndrome", "Clonality", "MALT lymphoma", "BIOMED-2". **Resultados y discusión:** los protocolos basados en PCR en especial el método BIOMED-2 (EuroClonality), son útiles para el diagnóstico del linfoma. Algunos estudios coinciden en la utilidad del protocolo BIOMED-2 para el diagnóstico de linfomas asociados con el SS. **Conclusiones:** el protocolo BIOMED-2, exitoso en el diagnóstico de linfomas hematológicos, enfrenta limitaciones en reumatología. Tratamientos previos, como la terapia anti-CD20, pueden generar falsos negativos, dificultando la detección de clonalidad y translocaciones genéticas. El análisis de clonalidad en pacientes con SS sugiere que las células B monoclonales pueden propagarse en microambientes anormales más allá del tejido glandular inicial.

**Palabras clave:** síndrome Sjögren, clonalidad, linfoma MALT, BIOMED-2.

© 2025 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

**Historia del artículo:**

Fecha recibido: noviembre 25 de 2023

Fecha aceptado: noviembre 21 de 2024

**Autor para correspondencia:**

Dr. Juan Pablo Castañeda:

[jpcastaneda@fucs.salud.edu.co](mailto:jpcastaneda@fucs.salud.edu.co)

**DOI**

10.31260/RepertMedCir.01217372.1583

## ABSTRACT

**Introduction:** Sjögren syndrome (SS) is a systemic autoimmune disease characterized by aberrant lymphocyte activation, risk of hematolymphoid neoplasms and association with lymphomas, such as diffuse B-cell and marginal zone lymphomas. To determine lymphoid clonality under standardized protocols such as the BIOMED-2 technique, is very useful. **Objective:** to review the implementation of the BIOMED-2 technique for determining lymphoid clonality in minor salivary gland biopsy (MSGB) in SS patients. **Materials and methods:** search and narrative review of the literature between 2010 and 2023 through PubMed, ScienceDirect, Bevesalud, Scielo and LILACs databases. Articles searched with the Medical Subject Headings thesauri: "Sjögren syndrome", "Clonality", "MALT lymphoma", "BIOMED-2" were included. **Results and discussion:** The PCR-based protocols, especially the BIOMED-2 method (EuroClonality), are useful for diagnosing lymphoma. Some studies agree on the usefulness of the BIOMED-2 protocol for diagnosing lymphomas in SS. **Conclusions:** the BIOMED-2 protocol, which is successful for hematologic lymphomas diagnosis, features limitations in rheumatology. Previous treatments, such as anti-CD20 therapy, can generate false negatives, making it difficult to detect clonality and genetic translocations. Clonality analysis in SS patients suggests that monoclonal B cells may spread in abnormal microenvironments beyond the initial glandular tissue.

**Keywords:** Sjögren syndrome, clonality, MALT lymphoma, BIOMED-2.

© 2025 Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud - FUCS.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## INTRODUCCIÓN

El síndrome de Sjögren (SS) es una enfermedad autoinmune sistémica de etiología multifactorial, caracterizada por la infiltración y activación aberrante de linfocitos T y B, con disfunción de la unidad secretora de las glándulas exocrinas e involucra por lo general glándulas lagrimales y salivales menores.<sup>1,2</sup> Con frecuencia, los pacientes pueden presentar un compromiso inflamatorio crónico con diferentes tipos de manifestaciones clínicas desde el punto de vista extraglandular, incluyendo afecciones de tipo pulmonar, osteomuscular, cardiovascular, gastrointestinal, cutáneo, nervioso, renal y hematolinfoide.<sup>3,4</sup>

El SS es la segunda enfermedad autoinmune sistémica más frecuente.<sup>5</sup> La incidencia mundial varía entre 3 a 11 casos por cada 100000 habitantes con una prevalencia de 0.01 al 0.72%.<sup>3</sup> En Colombia se estima una prevalencia de 0.08%, con una proyección nacional de 2733 a 29884 pacientes con la enfermedad.<sup>6</sup> Es la poliautoinmunidad más común en enfermedades como el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide.<sup>3</sup> Dado su componente orgánico extenso, los pacientes con SS presentan un riesgo de 9 a 16 veces de desarrollar neoplasias sólidas o hematolinfoide.<sup>7</sup> Existen estudios que demuestran un riesgo para el desarrollo de neoplasias hematolinfoides o de otra naturaleza, entre 2 y 11 veces más.<sup>8</sup> También se ha reportado un incremento en la incidencia desde el año 2000.<sup>7</sup>

El subtipo histológico más asociado es el linfoma agregado a mucosa del tejido linfoide (MALT por sus siglas en inglés). Ocurre porque la respuesta inmunológica crónica conduce

a la activación policlonal de células B, incrementando el riesgo de generar mutaciones celulares somáticas que pueden conducir a cambios sobre la clonalidad celular, induciendo así la neoproliferación que puede evidenciarse a través de los reordenamientos genéticos.<sup>8</sup> Estos surgen por la necesidad de reconocer múltiples antígenos para inducir y diversificar la respuesta inmunológica haciéndola más efectiva.<sup>9,10</sup> Existen diversas herramientas que permiten identificar los reordenamientos, dentro de ellas se encuentra la técnica BIOMED-2, que utiliza la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para diagnosticar la clonalidad linfoide en las neoplasias hematolinfoides.<sup>11</sup>

El objetivo del estudio es revisar en detalle la implementación de la técnica BIOMED-2 para la determinación de la clonalidad linfoide, en biopsias de glándula salival menor (BGS) de pacientes con SS.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión narrativa de la literatura mediante la búsqueda en las bases de datos Pubmed, Lilacs y la Biblioteca Virtual en Salud, entre 2010 y 2023. Se incluyeron los artículos mediante los términos "Sjögren syndrome", "Clonality", "lymphoma" y "BIOMED-2", en inglés y en español. Se evaluó la utilidad diagnóstica del ensayo BIOMED-2 en patologías relacionadas con los campos de la reumatología y hematología, con énfasis en su uso en el SS y en BGS. Se excluyeron los artículos que no cumplieran con el objetivo, los duplicados y las cartas al editor.

**RESULTADOS**

**Síndrome de Sjögren y neoplasias hematolinfoides: ¿existe el riesgo?**

En diversos estudios se ha determinado que la población con SS presenta una razón de incidencia estandarizada (RIE) de 2.17 para el desarrollo de alguna neoplasia, con mayor riesgo de desarrollo de las hematolinfoides en comparación de las sólidas (RIE, 11.55 vs 1.39).<sup>7</sup> Dentro del compromiso hematolinfoide, se encontró un mayor riesgo de ocurrencia del linfoma no Hodgkin (RIE, 6.45-15.57), en comparación con los Hodgkin (RIE 8.84), y menor riesgo para el desarrollo de mieloma múltiple y leucemia.<sup>12,13</sup>

De igual forma, se ha descrito que las neoplasias hematolinfoides originadas en el contexto de una enfermedad autoinmune presentan mayor frecuencia de inmunoglobulinas monoclonales circulantes, así como niveles séricos elevados de cadenas ligeras libres y crioglobulinas (crioglobulinemia tipo II). Los linfomas que se detectan con mayor frecuencia en esta población son el B difuso de células grandes (DLBCL) y el de la zona marginal, presentándose este último de tres posibles maneras: 1) extraganglionar asociado con mucosas (MALT); 2) de la zona marginal esplénica y 3) de la zona marginal nodal.<sup>14</sup> Asimismo, se han identificado diferentes características clínicas, paraclínicas e histopatológicas para establecer el riesgo de desarrollar linfoma en los pacientes con SS, las cuales se resumen en la **tabla 1**.

**Tabla 1.** Factores de riesgo para desarrollo de linfoma en SS

<b>Características clínicas</b>
Parotidomegalia o crecimiento anormal/persistente de la glándula parótida
Vasculitis cutánea (púrpura)
Índice de actividad de la enfermedad (SS) por ESSDAI $\geq$ 5 puntos
<b>Anomalías de laboratorio</b>
Linfopenia CD4+
<b>Hallazgos inmunológicos</b>
Niveles bajos de complemento C3 o C4
Crioglobulinemia mixta
Gammapatía monoclonal de significado indeterminado
Aumento de los niveles de $\beta$ 2-microglobulina
Presencia de factor reumatoide
Aumento de los niveles de citocinas relacionadas con los linfocitos (incluido el factor activador de células B, Ligando de tirosina quinasa 3 similar a FMS, CXC-quimioquina ligando 13 y CXC-quimioquina ligando 11)
<b>Características histopatológicas</b>
Presencia de centros germinales en los ganglios linfáticos
Focus score $>$ 3
<b>Polimorfismos genéticos</b>
TNFSF13B
TNFRSF13C
TNFAIP3

Fuente: adaptado de las referencias 13 y 14 TNFAIP3: factor de necrosis tumoral, proteína 3 inducida por alfa; TNFSF13B: miembro de la superfamilia del ligando del factor de necrosis tumoral 13B; TNFRSF13C: miembro de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral 13C; SS: síndrome de Sjögren; ESSDAI: EULAR Sjögren's syndrome disease activity index.

Debido a las características histopatológicas propias de los linfomas con especial mención del DLBCL y el de la zona marginal, su correcta identificación y diagnóstico resultan dispendiosos para el equipo médico, sobre todo en el contexto de un paciente con enfermedad autoinmune con compromiso sistémico. Por esta razón, se han desarrollado nuevas técnicas que permitan identificar variables moleculares típicas de las neoplasias hematolinfoides.<sup>15,16</sup> Una de ellas es el ensayo de clonalidad BIOMED-2, considerado como el estándar de oro para la determinación y caracterización de la clonalidad linfoide. Esta técnica se fundamenta en la teoría de replicación monoclonal de linfocitos aberrantes, los cuales durante la ruta patogénica de la enfermedad producen inmunoglobulinas de manera excesiva y repetitiva.<sup>17-19</sup> Mediante esta prueba se buscan reordenamientos de genes asociados con la proliferación monoclonal de productos linfoides, como son las inmunoglobulinas (Ig) incluyendo sus cadenas ligeras Lambda ( $\lambda$ ) y Kappa ( $\kappa$ ), sus cadenas pesadas y los receptores propios de los linfocitos T.<sup>20</sup>

**Fisiología de los reordenamientos**

Como un componente esencial de la respuesta inmunológica, existen múltiples genes que dotan a la inmunidad celular de la capacidad de reaccionar ante diversos antígenos identificados como amenazas. Los linfocitos se ven obligados a llevar a cabo modificaciones genéticas cuidadosamente reguladas entre distintos genes, con el propósito de generar productos de transcripción, que a su vez permitan la creación de péptidos con una diversidad y especificidad en el reconocimiento de los antígenos que antes activaron la respuesta del sistema inmunológico.<sup>21</sup>

Los genes encargados de codificar los receptores de antígenos, como las inmunoglobulinas y el receptor de los linfocitos T (TCR), están presentes en todas las células del organismo, pero se encuentran en una disposición desordenada. Para que los linfocitos puedan emplear estos genes de manera efectiva, deben someterse a un proceso de "reordenamiento" o "rearrreglo" que les permite crear genes funcionales para sus receptores de antígenos. Este proceso, a su vez, es crucial para generar una amplia diversidad en las respuestas inmunológicas.

Cuando el proceso de reordenamiento no es perfecto, pueden presentarse graves inmunodeficiencias. Además, cuando una célula linfoide se transforma en célula cancerosa, sus células hijas tendrán el mismo reordenamiento de los genes de los receptores de antígeno de la célula madre. Los genes que codifican para las diversas cadenas de los receptores de antígenos se encuentran en diferentes cromosomas y tienen múltiples secuencias posibles para cada uno de los segmentos que conforman la región variable del gen. En cada linfocito, la recombinación somática permite crear una región variable única a partir de la selección de diferentes segmentos y la adición de nucleótidos. La recombinación alélica se regula mediante la exclusión y una vez que un alelo se ha reordenado, se envía una señal al otro para interrumpir el proceso.<sup>22,23</sup>

En los linfocitos la elaboración de un exón líder por medio de la recombinación somática, codificará para una región variable a partir de la selección de un segmento variable (V), un segmento de unión (J), una región constante (C), potenciadores (E) y un segmento de diversidad (D). Este último solo está presente en los loci de las cadenas pesadas de Ig y los loci  $\beta$  y  $\delta$  son exclusivos de las del TCR; después se adicionan nucleótidos, seguidos por la transcripción de ARNm, para finalizar con la transducción y maduración de la proteína funcional (**figura 1**), proceso que puede llegar hasta  $10^{18}$  combinaciones.<sup>22,23</sup> El reordenamiento alélico ocurre cuando se unen los fragmentos variables, de diversidad y unión, llamada recombinación V(D)J que se regula por medio de exclusión alélica.<sup>17,20</sup>

**Herramientas para el estudio de reordenamientos**

A partir de 2002, se implementó una de las primeras aplicaciones protocolizadas y estandarizadas del reordenamiento clonal utilizando la técnica de Southern Blot. Sin embargo, presentaba ciertas limitaciones, en especial en cuanto a la cantidad significativa de ADN necesaria para su ejecución.

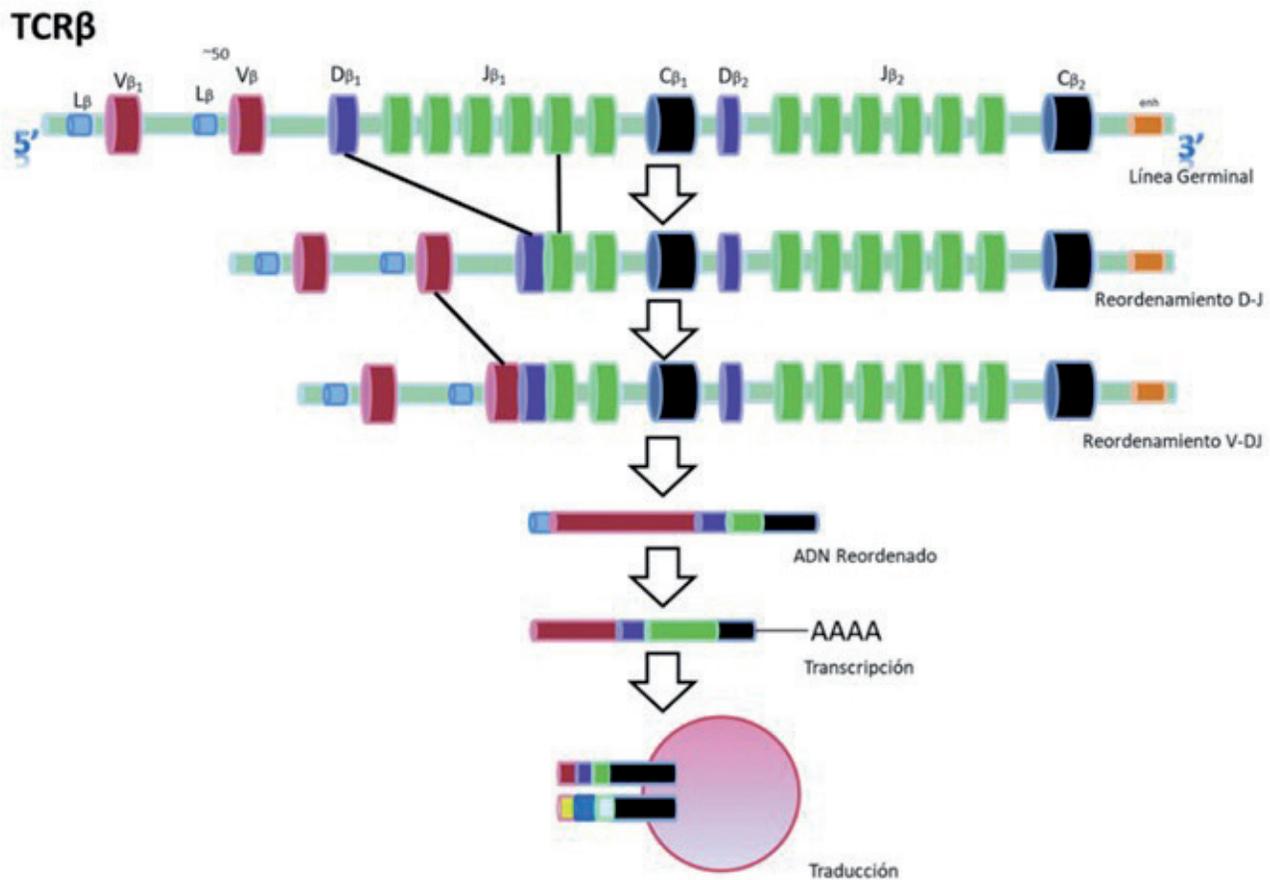
Otra técnica empleada en ese contexto era la citometría de flujo, la cual se utilizaba junto a un panel de 24 anticuerpos para evaluar el TCRV $\beta$ . Esto permitía analizar cerca de 70%

de los dominios TCRV $\beta$  y su aplicabilidad en el diagnóstico de leucemias linfoides de linaje T. No obstante, es importante destacar que esta técnica tenía sus propias limitaciones, ya que no se encontraba universalmente disponible para todas las proliferaciones celulares.<sup>9</sup>

En la actualidad se emplean protocolos basados en la técnica de la PCR para el diagnóstico del linfoma. Desde 2003, el consorcio europeo ha desempeñado un papel fundamental en la estandarización de estos protocolos mediante la utilización del método BIOMED-2 (EuroClonality). Este enfoque se aplica tanto para la detección de la clonalidad en los genes de inmunoglobulinas, como en los genes del receptor de células T (TCR). Esta estandarización ha contribuido de manera significativa a mejorar la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad en la detección de la clonalidad en neoplasias linfoides, y en la actualidad se considera el estándar de oro para el diagnóstico de dichas afecciones.<sup>17,20</sup>

**Generalidades de la técnica BIOMED-2**

En la actualidad la técnica BIOMED-2 se considera la de referencia para la determinación de la clonalidad linfóide, está diseñada para ser procesada en muestras de tejido fresco o congelado, aunque también se ha realizado en forma exitosa en tejidos parafinados; en general, para cualquier tejido con una cantidad representativa de células con la



**Figura 1.** Proceso de reordenamiento del gen del receptor de antígeno. Fuente: adaptada de Jaramillo-Rivera N, Olaya N. Determinación de la clonalidad en tejidos humanos. Iatreia. 2015;28(3):269–82; Villamizar-Rivera N, Olaya N. Estudio de la clonalidad linfóide por medio del análisis de reordenamientos del receptor de antígeno. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2015;53(1):56–65.

alteración y que contengan poblaciones policlonales.<sup>24-26</sup>

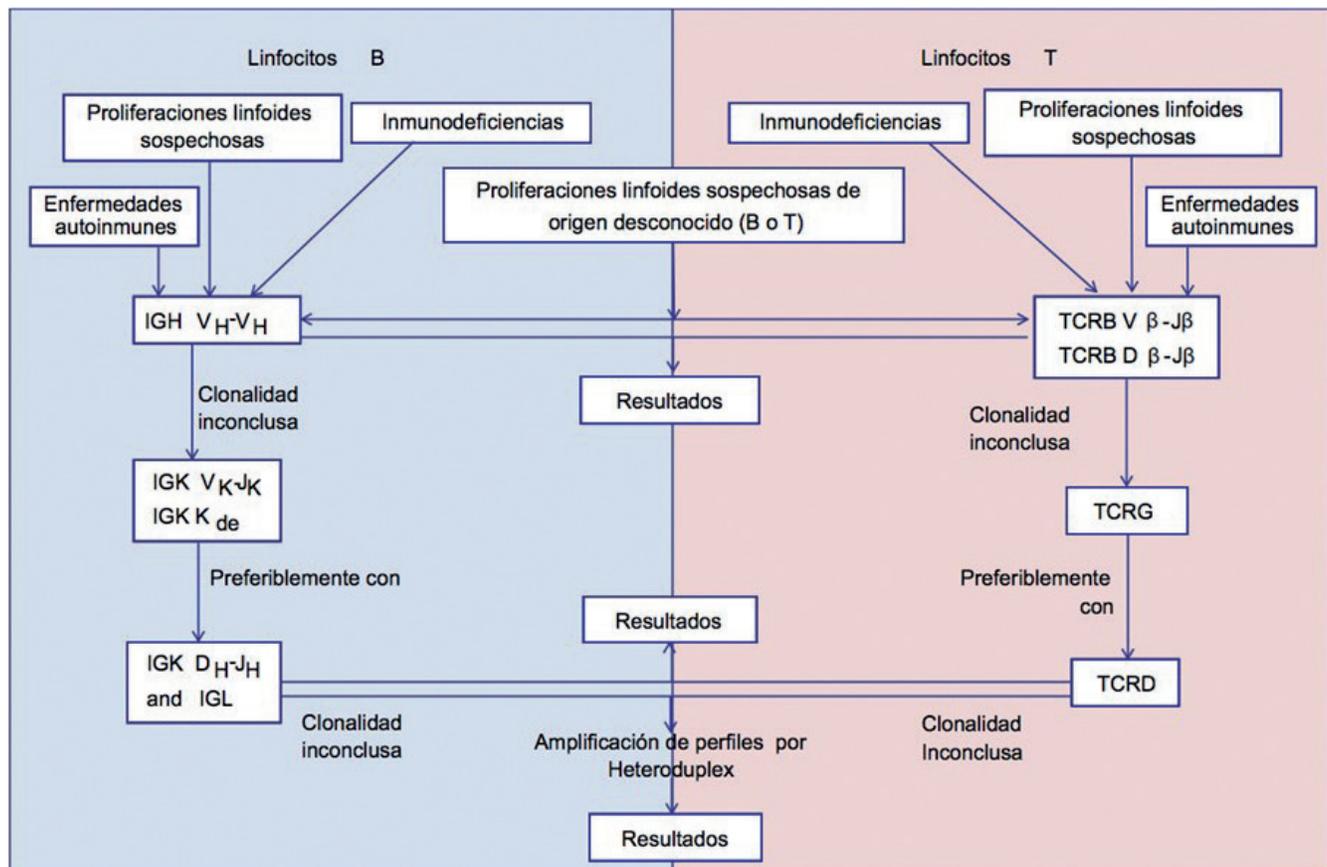
La aplicación de esta técnica está recomendada en poblaciones en las cuales se presenten proliferaciones linfoides que resulten difíciles de clasificar mediante métodos histopatológicos. Es de especial utilidad en situaciones en las que existe un diagnóstico diferencial entre una lesión reactiva y una neoplásica. Esta técnica encuentra un mayor campo de aplicación en casos de lesiones linfoides cutáneas y en linfomas MALT (de tejido linfóide asociado con mucosas).<sup>27</sup>

La elección de los objetivos o blancos para el análisis se basará en la frecuencia y distribución de los reordenamientos genéticos, las cuales pueden variar en función de la categorización taxonómica de la neoplasia (**tablas 2 y 3**). Los reordenamientos se analizan en función del tipo celular de origen de la lesión bajo evaluación, ya sea de linfocitos T o B. En el caso de obtener un resultado positivo, se clasifica como *clonal*. Si se obtiene un resultado negativo, se procede a realizar análisis adicionales de reordenamientos sucesivos (**figura 2**). Si después de estos análisis sucesivos no se detecta ningún reordenamiento se considera que la muestra es *policlonal*.<sup>20,22</sup>

**Tabla 2.** Rearreglos comunes en linfoproliferación de linfocitos T

Tipo de enfermedad		Linfoma de células T periférico, inespecífico
TCRB	No arreglado	2%
	Dβ-Jβ	13%
	Vβ-Jβ	85%
TCRG	No arreglado	6%
	Vγ9 (+Vγ10/11)	11%
	Vγ10/11	15%
	Vγ11	68%
TCRD	No arreglado	85%
	Al menos 1 rearreglado TCRD	15%
IGH	No arreglado	91%
	DH-JH	4%
	VH-JH	4%
IGK	No arreglado	98%
	Kappa	0%
	Vκ-Jκ	2%
IGL	No arreglado	100%
	Vλ-Jλ	0%

Fuente: adaptado de Villamizar-Rivera N, Olaya N. Experiencia en el uso de protocolos Biomed-2 para el estudio de reordenamientos de TCR e inmunoglobulinas en proliferaciones linfoides en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia. Biomédica. 2022;42(Sp. 1):64-78.



**Figura 2.** Algoritmo propuesto y utilizado para el estudio de clonalidad en lesiones Linfóide. Fuente: adaptada de Jaramillo-Rivera N, Olaya N. Determinación de la clonalidad en tejidos humanos. Iatreia. 2015;28(3):269-82; Villamizar-Rivera N, Olaya N. Estudio de la clonalidad linfóide por medio del análisis de reordenamientos del receptor de antígeno. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2015;53(1):56-65.

El protocolo BIOMED-2 ha acumulado una amplia experiencia en el diagnóstico de linfomas que son difíciles de caracterizar en el campo de la hematología. Sin embargo, su aplicación en reumatología ha sido menos desarrollada y puede tener limitaciones. En algunos casos la interpretación de los resultados puede verse afectada por falsos negativos, posiblemente debido a los tratamientos previos recibidos por los pacientes como la terapia anti-CD20. Estas terapias pueden dificultar la detección de la clonalidad de las células B y de ciertas translocaciones genéticas como t(11:14) y t(14:18).<sup>17</sup>

Es importante destacar que el análisis de la clonalidad del gen de Ig desempeña un papel crucial en el diagnóstico de enfermedades linfoides, ya que ayuda a discernir entre proliferaciones linfoides benignas y malignas de células B. En la actualidad, el estándar de oro para llevar a cabo este análisis de clonalidad de Ig es el protocolo de BIOMED-2, que ha sido rigurosamente estandarizado y validado. Este protocolo se complementa con el análisis de longitud de fragmentos mediante la técnica *GeneScan*.<sup>28-30</sup>

**Aplicaciones de la técnica BIOMED-2**

Zhang y col. evaluaron la capacidad diagnóstica de la detección de determinados rearrreglos genéticos usando el protocolo BIOMED-2 para el diagnóstico de linfomas tipo MALT de glándulas salivares en pacientes con SS. A partir de sus resultados, concluyeron que dicha herramienta resulta de gran utilidad diagnóstica en aquellos pacientes con SS y lesiones linfoepiteliales de apariencia benigna en los análisis histopatológicos.<sup>31</sup> En otros estudios como los de Chi y col. donde su principal objetivo fue determinar el valor combinado del análisis histopatológico e inmunohistoquímico junto con el fenotipo molecular de los pacientes con linfoma tipo MALT asociado con el SS<sup>32</sup>, se encontró que el uso de las herramientas como

BIOMED-2 permite en determinados escenarios aumentar la certeza diagnóstica, teniendo en cuenta las características subclínicas e indolentes de estos casos.

De igual forma, el protocolo BIOMED-2 ha sido utilizado y evaluado en diversos estudios adicionales para determinar su capacidad diagnóstica en numerosas patologías hematolinfoides, como el linfoma Hodgkin, incluso en ausencia de enfermedades autoinmunes.<sup>33-35</sup> En el estudio conducido por Dong y col. se llevaron a cabo análisis de la clonalidad en trastornos linfoproliferativos observados en pacientes con SS.<sup>36</sup> Para la extracción de ADN se empleó la técnica DEXPAT, la cual permite obtenerlo de tejido embebido en parafina. La PCR se llevó a cabo utilizando el ADN soluble. Este estudio se centró en seis pacientes con SS primario que presentaban trastornos linfoproliferativos o linfoma. La evaluación de la clonalidad se llevó a cabo mediante la clonación y secuenciación de los reordenamientos genéticos en la región 3 determinante de la complementariedad de la cadena pesada de inmunoglobulina (IgVH-CDR3). El análisis de clonalidad reveló que la población de células B monoclonales tenía la capacidad de propagarse de un sitio glandular a otro a lo largo de la evolución del SS. Esto sugiere que el clon maligno podría originarse en un microambiente anormal más generalizado, que no se limita solo al tejido glandular en ciertos pacientes con SS.<sup>36</sup>

En otro estudio se examinaron un total de 18 muestras de tejido, de las cuales 15 eran linfomas MALT y 3 estaban fijadas en formalina y embebidas en parafina. Estas muestras se obtuvieron de las glándulas parótidas de pacientes con SS. La presencia de una población de células B monoclonales, identificada por la presencia de picos clonales bien definidos, se confirmó en todos los pacientes mediante

**Tabla 3.** Rearreglos comunes en linfoproliferación de linfocitos B

Tipo de enfermedad		Linfoma de la zona marginal (extranodal)	Linfoma de la zona marginal (nodal)	Linfoma difuso de células grandes
IGH	No arreglado	6%	0%	15%
	V-D-J	84%	100%	79%
	Dh - Jh	58%	30%	30%
	IGH VDJ + DH	94%	100%	85%
IGK	No arreglado	16%	20%	20%
	Vk - Jk	68%	70%	61%
	Vk - Kde/intronRSS	52%	60%	58%
	Total, IGK	84%	80%	80%
IGL	No arreglado	31%	70%	72%
	Vλ-Jλ	29%	30%	28%
Rearreglos no funcionales Genes Ig combinados	DH-JH +Kde	71%	60%	72%
	VH-JH + IGK	94%	100%	96%
	IGH+ IGK	100%	100%	98%
	IGH + IGK + IGL	100%	100%	98%
TCRB	Vβ-Jβ	10%	10%	13%
	Dβ-Jβ	19%	30%	16%
	Total, TCRB	23%	10%	21%
TCRG	Total, TCRG	16%	10%	15%
TCRD	Total, TCRD	10%	20%	14%

Fuente: adaptado de Villamizar-Rivera N, Olaya N. Experiencia en el uso de protocolos Biomed-2 para el estudio de reordenamientos de TCR e inmunoglobulinas en proliferaciones linfoides en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia. *Biomédica*. 2022;42(Sp. 1):64-78.

la técnica de PCR de IgH (BIOMED-2). En ninguno de los casos se identificaron translocaciones que involucraran el gen MALT-1. Sin embargo, se detectaron un total de 18 alteraciones en el número de copias en ocho de los casos estudiados. Estos resultados respaldan la noción de que los linfomas MALT asociados con el SS se caracterizan por tener una carga mutacional baja.<sup>37</sup>

En Colombia se ha tenido experiencia en la aplicación del protocolo BIOMED-2 para el estudio de reordenamientos en los genes TCR e Ig en proliferaciones linfoides. En el estudio de Villamizar-Rivera y col. se analizaron diversas muestras, incluyendo médula ósea, sangre, tejidos frescos y los fijados en formalina y embebidos en parafina. En total se evaluaron 142 muestras y en 131 de ellas se pudo obtener adecuado ADN para el análisis. Las muestras que proporcionaron suficiente ADN con mayor frecuencia fueron los tejidos fijados en formalina y embebidos en parafina, representando 61% de las analizadas. Las demás muestras se distribuyeron de la siguiente manera: biopsias de piel en solución salina (23%), sangre periférica (8.3%), aspirado líquido de médula ósea (3.81%), ganglio en solución salina (1.52%) y biopsia de hueso (0.76%).<sup>17</sup>

#### Alternativas a BIOMED-2

Existen otras técnicas disponibles con objetivos similares, dentro de las cuales se resaltan las de secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés), que abren nuevas posibilidades para el análisis de clonalidad, lo que permite la detección de clones pequeños y una comparación clonal precisa. Hasta la fecha no se ha explorado esta técnica en muestras de tejido de BGSM.<sup>25</sup> Recientemente, el grupo de trabajo EuroClonality-NGS informó sobre un método factible en cuanto a técnica para el análisis de genes Ig basado en NGS de los genes de cadena pesada IG (IGH) y cadena ligera kappa (IGK), los cuales se están explorando en gran medida en las patologías hematolinfoides malignas.<sup>38,39</sup>

En el futuro, se espera que se generen gran cantidad de datos a través de tales métodos y técnicas. Esto abrirá la puerta a enfoques diferentes en la interpretación de los resultados del análisis de clonalidad, brindando oportunidades significativas para utilizar esta información en la predicción del pronóstico y en el desarrollo de estrategias terapéuticas personalizadas y dirigidas de manera más precisa.<sup>40</sup>

## CONCLUSIÓN

En la literatura médica se han reportado pocos estudios para determinar la utilidad diagnóstica de la herramienta y/o protocolo BIOMED-2 en patologías relacionadas con el campo de la reumatología. La experiencia más destacada en el uso de estas técnicas se concentra principalmente en el SS y su bien documentada asociación con el desarrollo de linfomas tipo MALT. Se necesitan estudios piloto o a gran escala para evaluar la utilidad de esta herramienta en la estratificación de pacientes con SS y la predicción de peores desenlaces

clínicos, como el desarrollo de linfoma. Estas investigaciones serían fundamentales para establecer con mayor precisión los factores de riesgo y ayudar en la identificación temprana de pacientes con SS que podrían estar en mayor riesgo de desarrollar linfoma. Además, podrían proporcionar información valiosa para guiar decisiones clínicas y estrategias de tratamiento personalizado.

## AGRADECIMIENTOS

Extendemos nuestra gratitud por la colaboración y apoyo incondicional de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud y del Instituto Nacional de Cancerología Bogotá D.C, por participar en la realización de este manuscrito.

## DECLARACIÓN DE CONFLICTOS

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

## REFERENCIAS

1. Cafaro G, Croia C, Argyropoulou OD, Leone MC, Orlandi M, Finamore F, et al. One year in review 2019: Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2019;37:S3–15.
2. Stergiou IE, Poulaki A, Voulgarelis M. Pathogenetic mechanisms implicated in Sjögren's syndrome lymphomagenesis: A review of the literature. *J Clin Med.* 2020;9(12):3794. doi: 10.3390/jcm9123794.
3. Thorlacius GE, Björk A, Wahren-Herlenius M. Genetics and epigenetics of primary Sjögren syndrome: implications for future therapies. *Nat Rev Rheumatol.* 2023 May;19(5):288–306. doi: 10.1038/s41584-023-00932-6.
4. Cajamarca J, Guavita D, Buitrago J, Gallego L, Cubides H, Arredondo AM, et al. Síndrome de Sjögren Y evaluación de la calidad de vida. *Rev Colomb Reumatol.* 2020;27(S2):140–51. doi: 10.1016/j.rcreu.2020.06.011.
5. Rojas-Villarraga A, Parra-Medina R, Escobar A, Nieto JFP. Síndrome de Sjögren: revisando conceptos y abordando nuevos paradigmas. *Rev Colomb Reumatol.* 2020;27(S2):1–3. doi: 10.1016/j.rcreu.2020.09.002
6. Londoño J, Peláez Ballestas I, Cuervo F, Angarita I, Giraldo R, Rueda JC, et al. Prevalencia de la enfermedad Reumática en Colombia, Según Estrategia copcord-asociación colombiana de reumatología. Estudio de prevalencia de Enfermedad Reumática en población colombiana mayor de 18 años. *Rev Colomb Reumatol.* 2018;25(4):245–56. doi: 10.1016/j.rcreu.2018.08.003
7. Manzo C, Kechida M. Is primary Sjögren's syndrome a risk factor for malignancies different from lymphomas? What does the literature highlight about it? *Reumatologia.* 2017;55(3):136–9. doi: 10.5114/reum.2017.68913.

8. Zhong H, Liu S, Wang Y, Xu D, Li M, Zhao Y, et al. Primary Sjögren's syndrome is associated with increased risk of malignancies besides lymphoma: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2022;21(5):103084. doi: 10.1016/j.autrev.2022.103084.
9. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, Baker DL, Baker A. *Inmunología Celular y Molecular*. 10th ed. Barcelona: Elsevier; 2022.
10. Villamizar-Rivera N, Olaya N. Estudio de la clonalidad linfoide por medio del análisis de reordenamientos del receptor de antígeno. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2015;53(1):56–65.
11. Tschumper RC, Hoelzinger DB, Walters DK, Davila JI, Osborne CA, Jelinek DF. Stage-specific non-coding RNA expression patterns during in vitro human B cell differentiation into antibody secreting plasma cells. *Noncoding RNA.* 2022;8(1):15. doi: 10.3390/nrna8010015.
12. Kang J, Kim H, Kim J, Choi S, Jung SY, Jang EJ, et al. Risk of malignancy in Korean patients with primary Sjögren's syndrome. *Int J Rheum Dis.* 2020;23(9):1240–7. doi: 10.1111/1756-185X.13927.
13. Goulabchand R, Malafaye N, Jacot W, Witkowski Durand Viel P, Morel J, Lukas C, et al. Cancer incidence in primary Sjögren's syndrome: Data from the French hospitalization database. *Autoimmunity Rev.* 2021;20(12):102987. doi: 10.1016/j.autrev.2021.102987.
14. Zhou Z, Liu H, Yang Y, Zhou J, Zhao L, Chen H, et al. The five major autoimmune diseases increase the risk of cancer: Epidemiological data from a large scale cohort study in China. *Cancer Commun.* 2022;42(5):435–446. doi: 10.1002/cac2.12283.
15. Zhang JJ, Xie YX, Luo LL, Yang XT, Wang YX, Cao Y, et al. A comparison of capillary electrophoresis and next-generation sequencing in the detection of immunoglobulin heavy chain H and light chain gene rearrangements in the diagnosis of classic hodgkin's lymphoma. *Bioengineered.* 2022;13(3):5868–79. doi: 10.1080/21655979.2022.2038901.
16. Di Rocco A, Petrucci L, Assanto GM, Martelli M, Pulsoni A. Extranodal marginal zone lymphoma: Pathogenesis, diagnosis and treatment. *Cancers.* 2022;14(7):1742. doi: 10.3390/cancers14071742.
17. Villamizar-Rivera N, Olaya N. Experiencia en el uso de protocolos Biomed-2 para el estudio de reordenamientos de TCR e inmunoglobulinas en proliferaciones linfoides en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia. *Biomédica.* 2022;42(Sp. 1):64–78. doi: 10.7705/biomedica.5940.
18. Han S, Masaki A, Sakamoto Y, Takino H, Murase T, Iida S, et al. Improved clonality detection in Hodgkin lymphoma using a semi nested modification of the BIOMED 2 PCR assay for IGH and IGK rearrangements: A paraffin embedded tissue study. *Pathol Int.* 2018;68(5):287–93. doi: 10.1111/pin.12660.
19. Sakamoto Y, Masaki A, Aoyama S, Han S, Saida K, Fujii K, et al. Improved clonality detection in B cell lymphoma using a semi nested modification of the BIOMED 2 PCR assay for IGH rearrangement: A paraffin embedded tissue study. *Pathol Int.* 2017;67(9):453–460. doi: 10.1111/pin.12566.
20. Villamizar-Rivera N, Olaya N. Determinación de la clonalidad en tejidos humanos. *Iatreia.* 2015;28(3):269–82. doi: 10.17533/udea.iatreia.v28n3a05.
21. Kotrova M, Darzentas N, Pott C, Baldus CD, Brüggemann M. Immune gene rearrangements: Unique signatures for tracing physiological lymphocytes and leukemic cells. *Genes.* 2021;12(7):979. doi: 10.3390/genes12070979.
22. Villamizar-Rivera N, Olaya N. Estudio de la clonalidad linfoide por medio del análisis de reordenamientos del receptor de antígeno. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2015;53(1):56–65.
23. Baizan-Edge A, Stubbs BA, Stubbington MJT, Bolland DJ, Tabbada K, Andrews S, et al. IL-7R signaling activates widespread VH and DH gene usage to drive antibody diversity in bone marrow B cells. *Cell Reports.* 2021;36(2):109349. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109349.
24. Mendoza H, Tormey CA, Rinder HM, Howe JG, Siddon AJ. The utility and limitations of B- and T-cell gene rearrangement studies in evaluating lymphoproliferative disorders. *Pathology.* 2021;53(2):157–65. doi: 10.1016/j.pathol.2020.09.024.
25. Scheijen B, Meijers RW, Rijntjes J, van der Klift MY, Möbs M, Steinhilber J, et al. Next-generation sequencing of immunoglobulin gene rearrangements for Clonality Assessment: A technical feasibility study by Euroclonality-NGS. *Leukemia.* 2019;33(9):2227–2240. doi: 10.1038/s41375-019-0508-7.
26. Villamizar-Rivera N, Olaya N. Experiencia en el uso de protocolos biomed-2 para el estudio de reordenamientos de tcr E inmunoglobulinas en proliferaciones linfoides en el Instituto Nacional de cancerología, Colombia. *Biomédica.* 2022;42(Sp. 1):64–78. doi: 10.7705/biomedica.5940.
27. van Bladel DAG, van den Brand M, Rijntjes J, Naga SP, Haacke DL, Luijckx JACW, et al. Clonality assessment and detection of clonal diversity in classic Hodgkin lymphoma by next-generation sequencing of immunoglobulin gene rearrangements. *Modern Pathology.* 2022;35(6):757–766. doi: 10.1038/s41379-021-00983-8.
28. Boone E, Heezen KC, Groenen PJ, Langerak AW. PCR GeneScan and heteroduplex analysis of rearranged immunoglobulin or T-cell receptor genes for clonality diagnostics in suspect lymphoproliferations. *Methods in Molecular Biology.* 2019;1956:77–103. doi: 10.1007/978-1-4939-9151-8\_4.
29. Liu X, He H, Li Y, Huang Y, Li G, Yu Q, et al. The application of antigen receptor gene rearrangement of BIOMED-2 in the pathologic diagnosis of 348 cases with non-Hodgkin Lymphoma in a single institution in southwest of China. *Pathol Res Pract.* 2019;215(11):152615. doi: 10.1016/j.prp.2019.152615.
30. Moczko A, Dimitriou F, Kresbach H, Amarov B, Hoetzenecker W, Pascolo S, et al. Sensitivity and specificity of T-cell receptor PCR BIOMED-2 clonality analysis for the diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma. *Eur J Dermatol.* 2020;30(1):12–5. doi: 10.1684/ejd.2020.3698.
31. Zhang Y, Yu D, Huang K, Huang C, Liu H, Sun X, et al. Evaluation of the diagnostic value of immunoglobulin clonal gene rearrangements in patients with parotid gland MALT lymphoma using BIOMED-2 protocol. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018;126(2):165–73. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.005.

32. Chi YT, Zhang YP, Zhang QL, Liu CL, Li BB. [Clinicopathological analysis of mucosa associated lymphoid tissue lymphoma secondary to Sjögren's syndrome in salivary gland]. *Beijing da xue xue bao Yi xue ban.* 2020;53(1):40–5. doi: 10.19723/j.issn.1671-167X.2021.01.007.
33. Zhang JJ, Xie YX, Luo LL, Yang XT, Wang YX, Cao Y, et al. A comparison of capillary electrophoresis and next-generation sequencing in the detection of immunoglobulin heavy chain H and light chain gene rearrangements in the diagnosis of classic hodgkin's lymphoma. *Bioengineered.* 2022;13(3):5868–79. doi: 10.1080/21655979.2022.2038901.
34. Han S, Masaki A, Sakamoto Y, Takino H, Murase T, Iida S, et al. Improved clonality detection in Hodgkin lymphoma using a semi-nested modification of the BIOMED-2 PCR assay for IGH and IGK rearrangements: A paraffin-embedded tissue study. *Pathol Int.* 2018;68(5):287–293. doi: 10.1111/pin.12660.
35. Sakamoto Y, Masaki A, Aoyama S, Han S, Saida K, Fujii K, et al. Improved clonality detection in B-cell lymphoma using a semi-nested modification of the BIOMED-2 PCR assay for IGH rearrangement: A paraffin-embedded tissue study. *Pathol Int.* 2017;67(9):453–60. doi: 10.1111/pin.12566.
36. Dong L, Masaki Y, Takegami T, Jin ZX, Huang CR, Fukushima T, et al. Clonality analysis of lymphoproliferative disorders in patients with Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2007;150(2):279–84. doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03486.x.
37. Bult JAA, Plaça JR, Haacke EA, Terpstra MM, Verstappen GM, Spijkervet FKL, et al. Low Mutational Burden of Extranodal Marginal Zone Lymphoma of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue in Patients with Primary Sjögren's Syndrome. *Cancers (Basel).* 2022;14(4):1010. doi: 10.3390/cancers14041010.
38. Brüggemann M, Kotrová M, Knecht H, Bartram J, Boudjogrha M, Bystry V, et al. Standardized next-generation sequencing of immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations for MRD marker identification in acute lymphoblastic leukaemia; a EuroClonality-NGS validation study. *Leukemia.* 2019;33(9):2241–53. doi: 10.1038/s41375-019-0496-7.
39. Knecht H, Reigl T, Kotrová M, Appelt F, Stewart P, Bystry V, et al. Quality control and quantification in IG/TR next-generation sequencing marker identification: protocols and bioinformatic functionalities by EuroClonality-NGS. *Leukemia.* 2019;33(9):2254–65. doi: 10.1038/s41375-019-0499-4.
40. van den Brand M, Rijntjes J, Möbs M, Steinhilber J, van der Klift MY, Heezen KC, et al. Next-Generation Sequencing–Based Clonality Assessment of Ig Gene Rearrangements: A Multicenter Validation Study by EuroClonality-NGS. *J Mol Diagn.* 2021;23(9):1105–15. doi: 10.1016/j.jmoldx.2021.06.005.

