



LA SECUENCIACIÓN DE ARN DE LECTURA LARGA Y SU APLICACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE SARCOMAS, LINFOMAS Y LEUCEMIAS

La medicina de precisión en oncología depende cada vez más de la capacidad para identificar alteraciones moleculares específicas que permitan clasificar correctamente los tumores y seleccionar terapias dirigidas. Sin embargo, en cánceres complejos como los sarcomas, los linfomas y las leucemias, muchas alteraciones genéticas relevantes continúan pasando desapercibidas con las técnicas convencionales de diagnóstico molecular.

GRETA CARMONA ANTOÑANZAS,
PhD, directora de I+D en Health in Code.

ALEJANDRA LARRIEUX,
PhD, coordinadora de proyectos en Health in Code.

MIREIA BOLUDA,
PhD, coordinadora de proyectos en Health in Code.

En este contexto, la secuenciación de ARN mediante lecturas largas (*long-read RNA sequencing, LR-RNASeq*) emerge como una tecnología prometedora para mejorar el diagnóstico molecular y la estratificación terapéutica de estos tumores.

A diferencia de los análisis centrados exclusivamente en el ADN, la transcriptómica permite observar qué genes están realmente activos en el tumor. Mientras que el ADN representa el conjunto de instrucciones genéticas, el ARN refleja qué mecanismos celulares están funcionando en un momento concreto. Esta diferencia resulta especialmente relevante en tumores con gran heterogeneidad molecular,

donde pequeñas variaciones pueden modificar el pronóstico y la respuesta terapéutica.

Leer moléculas completas en lugar de fragmentos

Las tecnologías tradicionales de secuenciación de ARN basadas en lecturas cortas requieren fragmentar previamente las moléculas de ARN y reconstruir posteriormente los transcritos mediante ensamblaje bioinformático. Aunque esta aproximación ha transformado la genómica clínica durante la última década, presenta limitaciones importantes para la caracterización precisa de fusiones génicas,



eventos de *splicing* alternativo e isoformas transcriptómicas complejas.

La secuenciación de ARN por lecturas largas permite analizar moléculas completas de ARN en una sola lectura, eliminando gran parte de la ambigüedad asociada al ensamblaje computacional. Esto facilita la identificación precisa de puntos de ruptura, exones implicados, variantes de *splicing* y transcritos de fusión completos.

El avance resulta especialmente relevante en sarcomas, linfomas y leucemias, enfermedades donde las fusiones génicas son determinantes diagnósticos y terapéuticos. En el sarcoma de Ewing, por ejemplo, aproximadamente el 85-90% de los casos presentan fusiones *EWSR1-FLI1*, fundamentales para confirmar el diagnóstico molecular. En leucemias, alteraciones como *BCR-ABL1*, *RUNX1-RUNX1T1* o los reordenamientos de *KMT2A* condicionan el pronóstico y la selección terapéutica (Jain & Cortes, 2025). De forma similar, fusiones como *NPM1-ALK* permiten identificar pacientes con linfoma anaplásico de células grandes candidatos a terapias dirigidas frente a *ALK*.

Más allá de detectar fusiones génicas

Uno de los principales beneficios de la transcriptómica de lectura larga es que no solo detecta la existencia de una fusión genética, sino también si esa alteración se expresa realmente y genera un transcrito funcional.

Esta capacidad aporta información clínica de gran valor. Algunas fusiones detectadas a nivel genómico pueden no traducirse en proteínas activas, mientras que otras generan isoformas aberrantes asociadas a resistencia terapéutica o

mayor agresividad tumoral.

Además, LR-RNASeq permite identificar eventos de *splicing* alternativo y cuantificar distintas isoformas transcriptómicas. En tumores como el rabdomiosarcoma, el linfoma difuso de células B grandes o determinadas leucemias agudas, diferentes isoformas de un mismo gen pueden asociarse a comportamientos biológicos distintos y respuestas terapéuticas variables.

Impacto diagnóstico y reclasificación tumoral

Diversos estudios recientes demuestran que la incorporación del análisis transcriptómico mejora significativamente el rendimiento diagnóstico respecto a las técnicas convencionales basadas exclusivamente en ADN.

La secuenciación de ARN puede aumentar hasta en un 15% la tasa diagnóstica en casos previamente negativos tras secuenciación de exoma (Peymani et al., 2022). En sarcomas pediátricos, el uso de RNA-Seq ha permitido confirmar o refinar diagnósticos complejos e identificar alteraciones relevantes en tumores inicialmente indiferenciados (Ichikawa et al., 2021).

En algunos subtipos de sarcoma, la integración del análisis transcriptómico ha permitido reclasificar hasta un 15% de los casos al identificar fusiones o alteraciones que habían pasado desapercibidas con otras metodologías (Zhang et al., 2022). Esta reclasificación tiene un impacto directo sobre el tratamiento, ya que muchos de estos tumores dependen de alteraciones moleculares concretas para definir su abordaje terapéutico.

En leucemia linfoblástica aguda de precursores B, estudios internacionales con más de 1.200 pacientes han demostrado



que el RNA-Seq mejora la clasificación molecular y la estratificación pronóstica, facilitando una medicina más personalizada (Li et al., 2018).

Importancia del tejido fresco y de los protocolos optimizados para ARN de lectura larga

Uno de los principales retos técnicos de la transcriptómica de lectura larga es preservar la integridad de moléculas de ARN de gran tamaño. A diferencia de las aproximaciones convencionales basadas en lecturas cortas, la calidad del ARN de partida resulta crítica para obtener transcritos completos y caracterizar correctamente isoformas y fusiones génicas.

Por este motivo, las estrategias más avanzadas de LR-RNASeq se están desarrollando preferentemente sobre muestras de tejido fresco o criopreservado, donde la degradación del ARN es significativamente menor que en muestras fijadas en formalina e incluidas en parafina (FFPE). Además, la generación de librerías de lectura larga requiere protocolos específicos de extracción, captura e hibridación capaces de minimizar la fragmentación del ARN y preservar transcritos completos de interés clínico.

El desarrollo de protocolos optimizados para tejido fresco representa actualmente uno de los principales desafíos para trasladar la transcriptómica de lectura larga desde el ámbito experimental hacia aplicaciones diagnósticas de alta complejidad.

De la investigación a la práctica clínica

Hasta hace pocos años, las tecnologías de lectura larga estaban prácticamente limitadas al ámbito de la investigación debido a su complejidad técnica y coste. Sin embargo, los avances recientes en la química de secuenciación y el análisis bioinformático han acelerado su transición hacia la práctica clínica.

Plataformas de tercera generación desarrolladas por compañías como Pacific Biosciences (PacBio) permiten actualmente obtener lecturas de alta fidelidad capaces de analizar transcritos completos con precisión clínica. En España, Health in Code es la única empresa de diagnóstico que cuenta con esta tecnología.

Este salto tecnológico abre nuevas posibilidades para el diagnóstico oncológico de precisión. La identificación simultánea de fusiones génicas, isoformas aberrantes y patrones de expresión puede mejorar la selección terapéutica y resolver casos clínicos complejos que permanecían sin caracterización molecular concluyente.

Aunque actualmente su aplicación clínica es todavía limitada, la transcriptómica de lectura larga representa una aproximación prometedora para complementar las estrategias convencionales de diagnóstico molecular, especialmente en patologías con elevada complejidad transcriptómica y estructural.

Referencias

- Ichikawa, D., Yamashita, K., Okuno, Y., Muramatsu, H., Murakami, N., Suzuki, K., Kojima, D., Kataoka, S., Hamada, M., Taniguchi, R., Nishikawa, E., Kawashima, N., Narita, A., Nishio, N., Hama, A., Kasai, K., Mizuno, S., Shimoyama, Y., Nakaguro, M., ... Takahashi, Y. (2021). Integrated diagnosis based on transcriptome analysis in suspected pediatric sarcomas. *NPJ Genom Med* 6(1), 49. <https://doi.org/10.1038/s41525-021-00210-y>
- Jain, A. G., & Cortes, J. E. (2025). Asciminib: the tyrosine kinase inhibitor with a unique mechanism of action. *Expert Opin Pharmacother*. <https://doi.org/10.1080/14656566.2025.2480762>
- Peymani F, Farzeen A, Prokisch H. RNA sequencing role and application in clinical diagnostic. *Pediatric Investigation*. 2022;6(1):29–35. doi:10.1002/ped4.12314.
- Zhang Y, Chen X, Liu Y, et al. Development and validation of an RNA sequencing panel for gene fusions in soft tissue sarcoma. *Cancer Science*. 2022;113(5):1843–1854. doi:10.1111/cas.15317
- Li JF, Dai YT, Lilljebjörn H, et al. Transcriptional landscape of B cell precursor acute lymphoblastic leukemia based on an international study of 1,223 cases. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2018;115(50):E11711-E11720. doi:10.1073/pnas.1814397115