

B and T/NK lymphomas: recommendations for next-generation sequencing

Linfomas B y T/NK: recomendaciones sobre el estudio de secuenciación masiva

Carolina Martínez-Laperche^{1*}, Miguel Alcoceba-Sánchez², M.^a Eugenia Sarasquete², Santiago Barrio-García³, Mariana Bastos-Oreiro¹, Silvia Beà-Bobet⁴, Cristina Bilbao-Sieyro⁵, Dolors Colomer-Pujol⁴, Concepción Fernández-Rodríguez⁶, Blanca Ferrer-Lores⁷, Carlos García-Ballesteros⁸, María García-Álvarez², Cristina Jiménez-Sánchez², Ana Jiménez-Ubieto³, Alejandro Medina-Herrera², Paula Muñoz-Sevilla¹, Alicia Serrano-Alcalá⁷, Alejandro Sanz-Rupérez⁹, Nerea Vega-García¹⁰, M.^a Teresa Gómez-Casares⁵, Ruth Stuckey^{5*}, Mónica López-Guerra⁴, M.^a Carmen Chillón-Santos², Eva Barragán-González¹¹ y Rosa Ayala-Díaz³

¹Servicio de Hematología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid;

²Departamento de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL, Centro de Investigación del Cáncer-IBMCC (CSIC/USAL), CIBERONC, Salamanca; ³Servicio de Hematología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid; ⁴Sección de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic; Centro de Investigación Biomédica en Red de Cáncer (CIBERONC), Barcelona; ⁵Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas; ⁶Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Servicio de Patología, Hospital del Mar, Barcelona; ⁷Servicio de Hematología, Hospital Clínico Universitario de Valencia; Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia; ⁸Laboratorio de Biología Molecular, Servicio de Hematología, Hospital Arnau de Vilanova, Valencia; ⁹Servicio de Hematología, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid; ¹⁰Laboratorio de Hematología, Institut de Recerca Pediàtrica, Hospital Sant Joan de Deu, Barcelona;

¹¹Unidad de Biología Molecular, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia. España

Resumen

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

*Correspondencia:

Carolina Martínez-Laperche

E-mail: cmlaperchehugm@gmail.com

0036-4355 / © 2026 Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. Publicado por Permanyer. Éste es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 29-01-2025

Fecha de aceptación: 05-05-2026

DOI: 10.24875/SANGRE.25000007

Disponible en internet: 27-10-2026

Sangre. (ahead of print)

www.revistasangre.com

Palabras clave: Linfomas B y T/NK. Secuenciación masiva (NGS). Guías de consenso.

Abstract

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

Keywords: B and T/NK lymphomas. Next generation sequencing (NGS). Consensus guidelines.

Introducción

Las neoplasias de células B y de células T/NK son tumores clonales de células B, T y NK en diferentes momentos de diferenciación. Debido a que las células NK y los linfocitos T comparten fenotipo y funciones, se suelen considerar juntos en muchos aspectos.

- Linfomas B: las neoplasias de células B tienden a mimetizar estadios normales de células B, en esto se suelen basar la clasificación y la nomenclatura¹⁻³. La diferenciación normal se inicia en la médula ósea y maduran en los tejidos periféricos linfoides.
- Linfomas de células T: los linfocitos T provienen de un precursor T de la médula ósea, maduran y adquieren sus funciones en el timo¹⁻³.

La frecuencia de los síndromes linfoproliferativos crónicos B (SLPc-B) se muestra en la [figura 1](#), siendo los más habituales el linfoma folicular, la leucemia linfática crónica, que se desarrolla en un capítulo específico, o el linfoma B difuso de células grandes (LBDCG).

Método

Existen diferentes tipos de muestras según la técnica empleada para obtenerlas: exéresis de adenopatía, biopsias con aguja gruesa (BAG), punción-aspiración con aguja fina (PAAF), sangre periférica (biopsia líquida). La variabilidad metodológica, tanto en la prefijación como en la preservación del tejido, puede afectar a la calidad del ADN/ARN que obtengamos para trabajar.

Transporte de la muestra

El periodo transcurrido entre la obtención de la muestra y el inicio de la fijación es crucial para unos resultados óptimos en las pruebas moleculares. Un tiempo de isquemia fría de 1 hora se considera adecuado y está apoyado por la bibliografía⁴. Es crucial para el análisis de ARN que este tiempo sea el menor posible, ya que este se degrada fácilmente⁵. En el caso de sangre periférica para la obtención de ADN genómico (ADNg) o biopsia líquida (ADNcf), es recomendable que el transporte se realice en tubos Streck (contienen un estabilizante que impide la liberación de ADN genómico). Este sistema permite que el ADNcf y el ADNg sean estables hasta 14 días a una temperatura de 6 a 37 °C.

Fijación

La inclusión en parafina, con una fijación previa de la muestra, es el método más común para preservar y almacenar muestras de biopsia sólida^{6,7}. El formaldehído, en forma de solución de formol tamponada neutra al 10%, es el fijador más utilizado⁵. El volumen del fijador debe ser el adecuado y depende del tamaño de la muestra. El tiempo de fijación es un aspecto crucial, ya que la subfijación puede conducir a la degradación de ácidos nucleicos o a un cambio en la expresión, mientras que la sobrefijación puede resultar en una fragmentación excesiva del ADN⁵. Se considera que el tiempo adecuado para biopsias pequeñas está entre

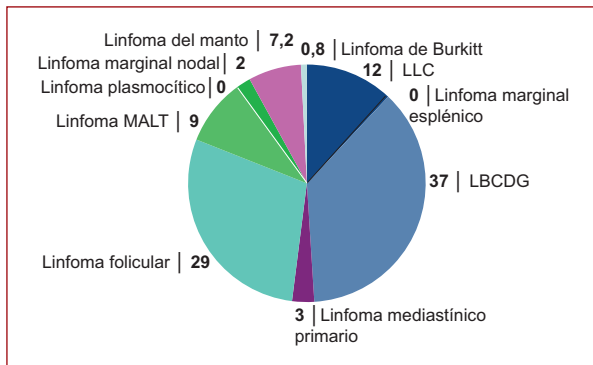


Figura 1. Frecuencia de los síndromes linfoproliferativos crónicos B (SLPc-B). LBCDG: linfoma B difuso de células grandes; LLC: leucemia linfocítica crónica; MALT: tejido linfoide asociado a mucosas.

las 6 y las 12 horas (no más de 24 horas), y 24 horas para piezas grandes con un límite de 72 horas⁸. En cuanto al efecto sobre el ARN, varios estudios coinciden en que la duración óptima de la fijación para especímenes de parafina está entre las 8 y las 48 horas (6-14). El pH es un parámetro crítico que afecta a la calidad del rendimiento de los ácidos nucleicos; el tejido fijado en formaldehído a pH bajo se caracteriza por un daño extenso del ADN en comparación con el tejido fijado en pH neutro⁴.

Almacenamiento

El almacenamiento de bloques de parafina a temperatura ambiente (18-25 °C) durante más de 3 años afecta negativamente a su uso en estudios de NGS. El ARN extraído de bloques de parafina almacenados durante más de 2 años posee menor eficiencia en la amplificación del ARNm⁹.

Extracción de ADN y ARN

El desparafinado se puede realizar con xilol, aunque el aceite mineral, el hexadecano, el pentadecano o el tetradecano, pueden dar rendimientos superiores de ADN/ARN. A continuación, se realiza una digestión con proteínasa K, en la que se eliminan las proteínas contaminantes, incluidas las ADNasas o ARNasas. Tras la digestión, podemos revertir los enlaces cruzados de formaldehído con un paso de calentamiento, después de lo cual se purifica el ADN/ARN, mediante el uso de una columna de sílice o tecnología de bolas magnéticas¹⁰. En los casos de extracción de ADN a partir de FFPE (*formalin-fixed paraffin-embedded*), se

recomienda solicitar varios cortes, ya que la eficiencia de la extracción está condicionada por el tipo de corte del que partamos. Por tanto, se recomienda realizar la extracción de ADN con un mínimo de 3-4 cortes de 10 micras para obtener la máxima cantidad de ADN.

En el paso final de elución del ADN del protocolo de extracción a partir de FFPE es muy importante saber si el *buffer* de elución contiene ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ya que si esa muestra se va a utilizar para ensayos de NGS ese componente puede afectar al paso inicial de tagmentación. En estos casos existen dos opciones para eliminar el EDTA de la muestra:

- Repurificar el ADN con bolas magnéticas (3X) y eluir en un nuevo tampón sin EDTA (Tris-HCl 10 mM, pH 8; o agua).
- Directamente eluir en agua. De esta manera, se evita la repurificación con bolas magnéticas donde se puede perder cantidad de ADN.

En los casos de sangre periférica para obtener ADNcf se recomienda extraer el plasma lo más pronto posible una vez recibida la muestra y cogerlo a -80 °C si no se va a proceder seguidamente a la extracción de cfDNA.

Otro tipo de muestra a considerar para el análisis genético de linfomas es la biopsia de tejido fresco. En estos casos, se recomienda la extracción de ADN/ARN una vez se reciba la muestra. Este tipo de muestra permite obtener concentraciones y calidad de ADN/ARN mucho mejores que las muestras de FFPE. En este tipo de muestra se deben seguir las mismas recomendaciones en cuanto al *buffer* de elución utilizado en el proceso de extracción del ADN.

Determinación de la calidad y la cantidad de los ácidos nucleicos

La cantidad de ADN requerida para NGS va a depender de la plataforma, el tamaño del panel de genes y el método de enriquecimiento. Para su uso en NGS es necesario llevar a cabo una determinación de la calidad y la cantidad de los ácidos nucleicos de partida. Los métodos de cuantificación más comunes son la espectrofotometría, la fluorometría y la prueba de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR)¹¹. También podemos usar la TapeStation® o el Bioanalyzer® (Agilent Technologies). Ambos sistemas nos permiten el cálculo del DIN/RIN (número de integridad del ADN/ARN) que va desde 1 (degradado) a 10 (intacto). En ciertos protocolos de NGS este cálculo del DIN/RIN es necesario para determinar el tiempo de tagmentación. En aquellos casos en los que tengamos

una concentración muy baja de ADN, lo que suele ser bastante común en muestras de FFPE, y no podemos determinar este parámetro, se deberá ajustar el tiempo de tagmentación al mínimo posible de acuerdo con las instrucciones del protocolo en uso.

El porcentaje tumoral requerido para la NGS depende de la sensibilidad de la plataforma. La sensibilidad analítica para las variantes de baja frecuencia es aproximadamente del 5 al 10%. Dado que la mayoría de los tumores son heterocigotos y las mutaciones somáticas suelen afectar a uno de los dos alelos de los oncogenes, la fracción tumoral mínima dentro de áreas seleccionadas debe ser, al menos, del 10 al 20%⁶.

Recomendaciones en la preparación de librerías en muestras de ADN (FFPE/tejido fresco o biopsia líquida):

- Muestras de FFPE/tejido fresco:
 - Eluir el ADN en un *buffer* sin EDTA para evitar fallos en el protocolo de tagmentación.
 - En aquellas muestras en las que la concentración inicial sea muy inferior a la indicada en el protocolo se puede concentrar la muestra mediante vacío.
- Muestras de biopsia líquida:
 - Partir del mayor volumen posible de plasma para, en el momento de extracción del ADN, poder tener una elevada representación de la heterogeneidad del tumor en función de ese cfDNA.
 - No es necesario realizar el paso de tagmentación en estas muestras, ya que de por sí son muestras muy degradadas.

Consideraciones para muestras de FFPE, tejido fresco y/o biopsia líquida:

- Realizar reparación de extremos. Teniendo en cuenta que en estas muestras el ADN está fragmentado o parcialmente degradado, este ADN suele tener extremos cohesivos. Para evitar que el ADN con estos extremos cohesivos se empareje con otro ADN se debe modificar para convertirlo en ADN con extremos romos. Esto permitirá la unión de adaptadores necesarios para el proceso de secuenciación.
- Uso de UMI (*unique molecular identifier*). Son secuencias cortas de oligonucleótidos que se añaden de forma exclusiva a cada molécula de ADN antes de la preparación de la librería con el fin de crear una identidad diferente para cada una. Tras la secuenciación, es posible identificar con precisión las copias producidas durante la PCR a partir de cada fragmento de ADN, ya que tienen idénticas coordenadas de alineación y secuencia de UMI. Dado que cada ADN del que se parte está etiquetado con un código de barras único, el análisis bioinformático es capaz de filtrar los posibles errores producidos

Tabla 1. Translocaciones más habituales en función del tipo de linfoma

Tipo de linfoma	Alteración genética	Genes de fusión
Linfoma del manto	t(11;14) (q13;q32)	<i>CCND1-IGH</i>
Linfoma folicular	t(14;18) (q32;q21)	<i>BCL2-IGH</i>
Linfoma de Burkitt	t(8;14) (q24;q32)	<i>MYC-IGH</i>
Linfoma MALT	t(11;18) (q21;q21)	<i>BIRC3-MALT1</i>
Linfoma T anaplásico ALK+	t(2;5) (p23;q35)	<i>ALK-NPM1</i>

MALT: tejido linfóide asociado a mucosas.

durante la generación de las librerías y la secuenciación con un alto nivel de precisión y analizar exclusivamente las lecturas correctas. Esto permite reducir el número de duplicados y de esta manera aumentar la sensibilidad. Es muy recomendable su uso, dado que en este tipo de muestras se suele generar mayor número de duplicados.

- Cartucho de secuenciación masiva. Antes de realizar la secuenciación, confirmar que el cartucho que se va a utilizar es la versión más reciente y que tienen los ciclos suficientes para realizar la lectura de UMI.

Estudios para realizar mediante el empleo de paneles de secuenciación masiva

Los linfomas se caracterizan por presentar translocaciones características. En la [tabla 1](#) se observan algunas de las más relevantes y diagnosticas de algunos tipos de linfoma B y T. Habitualmente, estas alteraciones se detectan mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH).

Revisión de las alteraciones genéticas para estudiar mediante secuenciación masiva

En los últimos años, gracias al avance de las tecnologías de NGS en el campo de las neoplasias hematológicas, conocemos mejor las características genómicas de los linfomas. Algunas de estas alteraciones genéticas nos ayudan en el diagnóstico, el pronóstico y la selección del tratamiento. En la [tabla 2](#) se muestran las alteraciones genéticas (variantes puntuales o inserción/deleción [*indel*]) más frecuentes y relevantes clínicamente en cada tipo de linfoma. Algunas de estas alteraciones todavía no tienen una utilidad clínica clara, por lo que en cada uno de los capítulos, en función del tipo de linfoma, hemos

Tabla 2. Alteraciones genéticas más frecuentes y relevantes clínicamente en cada tipo de linfoma

Genes	Cromosoma	ENST	LH	LCM	LB	LBDCG	LF	Lmarg	LP	LT/NK	Valor clínico		
											Diagnóstico	Pronóstico	Tratamiento
<i>ARID1A</i>	1p36.11	ENST00000324856.13	X		X	X	X	X		X	LH, LT/NK	LF, Lmarg, LBDCG	
<i>ATM</i>	11q22	ENST00000675843.1	X	X				X			LH, LCM		
<i>B2M</i>	15q21.1	ENST00000648006.3	X			X					LH, LBDCG	LH, LBDCG	
<i>BCL2</i>	18q21.33	ENST00000333681.5				X	X	X			LF, LBDCG	LF	Lmarg, LBDCG
<i>BCL6</i>	3q27.1	ENST00000406870.7				X					LBDCG		
<i>BCL10</i>	1p22.3	ENST00000648566.1				X						LBDCG	
<i>BCL11A</i>	2p16.1	ENST00000642384.2				X					PMBL		
<i>BCOR</i>	Xp11.4	ENST00000378444.9				X						LBDCG	
<i>BIRC3</i>	11q22.2	ENST00000263464.9		X				X				LCM, Lmarg	Lmarg
<i>BRAF</i>	7q34	ENST00000646891.2				X					LBDCG	LBDCG	
<i>BTG1</i>	12q21.33	ENST00000256015.5	X			X					LH, LBDCG	LBDCG	
<i>BTG2</i>	1q32.1	ENST00000290551.5				X						LBDCG	
<i>BTK</i>	Xq22.1	ENST00000308731.8		X				X	X			LCM	LCM, Lmarg, LP
<i>CARD11</i>	7p22.2	ENST00000396946.9		X		X	X	X		X	LBDCG, LT/NK	LCM, Lmarg, LBDCG (SNC)	
<i>CCND1</i>	11q13.3	ENST00000227507.3		X		X					LBDCG (SNC)	LCM	
<i>CCND3</i>	6p21.1	ENST00000372991.9			X	X		X			LB, LBDCG	LB	
<i>CD28</i>	2q33.2	ENST00000324106.9				X				X	LT/NK		
<i>CD36</i>	7q21.11	ENST00000447544.7	X			X					LH		
<i>CD58</i>	1p13.1	ENST00000369489.10				X					LBDCG	LBDCG	
<i>CD70</i>	19p13.3	ENST00000245903.4				X					LBDCG	LBDCG	
<i>CD79A</i>	19q31.2	ENST00000221972.8				X					LBDCG	LBDCG	

(Continúa)

Tabla 2. Alteraciones genéticas más frecuentes y relevantes clínicamente en cada tipo de linfoma (*continuación*)

Genes	Cromosoma	ENST	LH	LCM	LB	LBDCG	LF	Lmarg	LP	LT/NK	Valor clínico	
<i>CD79B</i>	17q23.3	ENST00000006750.8				X				LBDCG	LBDCG (SNC)	
<i>CD83</i>	6p23	ENST00000379153.4				X				LBDCG	LBDCG	
<i>CDKN2A</i>	9p21.3	ENST00000304494.10		X	X	X				X	LBDCG, LCM	
<i>CITTA</i>	16p13.13	ENST00000324288.14				X					LBDCG	
<i>CREBBP</i>	16p13.3	ENST00000262367.10	X			X	X	X		LH, LBDCG	LBDCG	LH
<i>CSF2RB</i>	22q12.3	ENST00000403662.8	X							LH, LF	LF	
<i>CTSS</i>	1q21.3	ENST00000368985.8					X				LF	
<i>CXCR4</i>	2q22.1	ENST00000241393.4							X	LP	LP	
<i>DDX3X</i>	Xp11.4	ENST00000644876.2			X	X				LT/NK, LBAG	LB	LP, LT/NK
<i>DNMT3A</i>	2p23.3	ENST00000321117.10								LT/NK		LT/NK
<i>DTX1</i>	12q24.13	ENST00000				X		X			LBDCG	Lmarg
<i>DUSP2</i>	2q11.2	ENST00000288943.5				X		X		LBCG rico T		
<i>EBF1</i>	5q33.3	ENST00000313708.11				X					LBDCG	
<i>EP300</i>	22q13.2	ENST00000263253.9				X	X	X		LBDCG	LF, Lmarg, LBDCG	
<i>ETS1</i>	11q24.3	ENST00000392668.8				X				LBDCG	LBDCG	
<i>ETV6</i>	12p13.2	ENST00000396373.9				X					LBDCG	
<i>EZH2</i>	7q36.1	ENST00000320356.7				X	X			X	LBDCG, LT/NK	LF, LBDCG, LT/NK
<i>FBXW7</i>	4q31.3	ENST00000281708.10	X							LH		
<i>FAS</i>	10q23.31	ENST00000652046.1				X	X				LF, LBDCG	
<i>FOXO1</i>	13q14.11	ENST00000379561.6			X	X	X			LBDCG	LF, LBDCG	LBDCG
<i>FYN</i>	6q21	ENST00000354650.7								LT/NK		
<i>GATA3</i>	10p14	ENST00000379328.9						X		LT/NK		
<i>GNAI2</i>	3p21.31	ENST00000313601.11				X					LBDCG	

(Continúa)

Tabla 2. Alteraciones genéticas más frecuentes y relevantes clínicamente en cada tipo de linfoma (*continuación*)

Genes	Cromosoma	ENST	LH	LCM	LB	LBDCG	LF	Lmarg	LP	LT/NK	Valor clínico	
<i>GNAI3</i>	17q24.1	ENST00000439174.7				X					LBDCG	
<i>HIST1H1</i> familia (B-E)	6p22.1		X		X	X	X				LH, LBDCG	LBDCG
<i>HNRNPH 1</i>	5q35.3	ENST00000393432.9		X								LCM
<i>HVCN1</i>	12q24.11	ENST00000242607.13				X					LBDCG	LBDCG
<i>IDH2</i>	15q26.1	ENST00000330062.8								X	LT/NK	LT/NK
<i>ID3</i>	1p36.12	ENST00000374561.6			X	X		X			LB, LBDCG	LB, LBDCG
<i>IGLL5</i>	22q11.22	ENST00000526893.6	X								LH, LBDCG	
<i>IKBKB</i>	8p11.21	ENST00000520810.6		X								LCM
<i>IL4R</i>	16p11	ENST00000395762.7				X					LBDCG	
<i>IRF4</i>	6p25.3	ENST00000380956.9				X					LBDCG	LBDCG
<i>IRF8</i>	16q24	ENST00000268638.10				X					LBDCG	
<i>ITPKB</i>	1q42.12	ENST00000429204.6	X			X					LH, LBDCG (SNC)	
<i>JAK1</i>	1p31.3	ENST00000342505.5								X	LT/NK	LT/NK
<i>JAK3</i>	17p13.11	ENST00000458235.7								X	LT/NK	LT/NK
<i>JUNB</i>	19p13.13	ENST00000302754.6				X					LBCG rico T	
<i>KLF2</i>	17p13.11	ENST00000248071.6				X		X			Lmarg, LBDCG	Lmarg, LBDCG
<i>KLHL6</i>	3q27.1	ENST00000341319.8				X					LBDCG	LBDCG
<i>KLHL14</i>	18q12.1	ENST00000359358.9				X					LBDCG	LBDCG
<i>KMT2D</i>	12q13.12	ENST00000301067.12	X	X		X	X	X		X	LH, LF, Lmarg, LBDCG, LT/NK	LCM, Lmarg, LBDCG, LT/NK
<i>KRAS</i>	12p12.1	ENST00000311936.8				X					LBDCG	LBDCG
<i>LRRN3</i>	7q31.1	ENST00000308478.10	X								LH	

(Continúa)

Tabla 2. Alteraciones genéticas más frecuentes y relevantes clínicamente en cada tipo de linfoma (*continuación*)

Genes	Cromosoma	ENST	LH	LCM	LB	LBDCG	LF	Lmarg	LP	LT/NK	Valor clínico
<i>MEF2B</i>	19p13.11	ENST00000424583.7				X	X				LF, LBDCG
<i>MYC</i>	8q24	ENST00000621592.8			X	X				LBDCG	LB
<i>MYD88</i>	3p22.2	ENST00000650905.2	X			X		X	X	LH, LP, LBDCG	Lmarg, LBDCG (SNC), LBDCG LP, LBDCG
<i>NFKBIA</i>	14q13.2	ENST00000216797.10	X			X				LH, LBDCG	LBDCG
<i>NFKBIE</i>	6p21.1	ENST00000619360.6	X			X				LH, LBDCG (PMBL)	LBDCG (PMBL), LBDCG
<i>NOTCH1</i>	9q34.3	ENST00000651671.1		X		X		X		LBDCG	LCM, Lmarg, LBDCG
<i>NOTCH2</i>	1p12	ENST00000256646.7		X		X		X		Lmarg, LBDCG	LM, Lmarg, LBDCG
<i>NSD2</i>	4p16.3	ENST00000508803.6		X						LCM	
<i>PIM1</i>	6p21.2	ENST00000373509.6				X				LBDCG (SNC)	LBDCG (SNC), LBDCG
<i>PLCG1</i>	20q12	ENST00000685551.1								X	LT/NK
<i>PLCG2</i>	16q23.3	ENST00000564138.6		X				X	X		LCM
<i>PTPN1</i>	20q13.13	ENST00000371621.5	X			X					LH, LBDCG (PMBL)
<i>PTPRD</i>	9p24.1-p23	ENST00000381196.9						X			Lmarg
<i>PRDM1</i>	6q21	ENST00000369096.9				X				LBDCG	LBDCG
<i>PRKCB</i>	16p12.2	ENST00000643927.1				X				LBDCG	LBDCG
<i>PTEN</i>	10q23.31	ENST00000371953.8			X	X				LBDCG	LBDCG
<i>RB1</i>	13q14.2	ENST00000267163.6		X							LCM
<i>RHOA</i>	3p21.31	ENST00000418115.6			X	X				LT/NK, LBDCG	LBDCG, LB

(Continúa)

Tabla 2. Alteraciones genéticas más frecuentes y relevantes clínicamente en cada tipo de linfoma (*continuación*)

Genes	Cromosoma	ENST	LH	LCM	LB	LBDCG	LF	Lmarg	LP	LT/NK	Valor clínico	
SETD2	3p21.31	ENST00000409792.4								X	LT/NK	
SGK1	6q23.2	ENST00000367858.10				X					LBDCG	LBDCG
SMARCA4	19p13.2	ENST00000344626.10		X	X						LB	LCM
SOC1	16p13.13	ENST00000332029.4	X			X	X				LH, LBDCG (PMBL)	LF, LBDCG
SP140	2q37.1	ENST00000392045.8		X								LCM
SPEN	1p36.21-p36.13	ENST00000375759.8	X			X		X			LH, Lmarg, LBDCG	LBDCG
STAT3	17q21.2	ENST00000264657.10				X				X	LT/NK	LBDCG
STAT5B	17q21.2	ENST00000293328.8								X	LT/NK	LT/NK
STAT6	12q13.3	ENST00000300134.8	X			X	X				LH, LBDCG (PMBL)	LF, LBDCG
TCF3	19p13.3	ENST00000262965.12			X						LB	
TBL1XR1	3q26.32	ENST00000457928.7				X						LBDCG
TBX21	17q21.32	ENST00000177694.2								X	LT/NK	LT/NK
TET2	4q24	ENST00000380013.9								X	LT/NK	LT/NK
TLR2	4q31.3	ENST00000642700.2		X								LCM
TMEM30A	6q14.1	ENST00000230461.11				X						LBDCG
TNFAIP3	6q23.3	ENST00000612899.5	X			X	X	X			LH, LF, LBDCG	LBDCG
TNFRSF1B	1p36.22	ENST00000376259.7								X	LT/NK	
TNFRSF14	1p36.32	ENST00000355716.5				X	X				LF, LBDCG	LF, LBDCG
TOX	8q12.1	ENST00000361421.2								X	LT/NK	
TP53	17p13.1	ENST00000269305.9	X	X	X	X	X	X		X	LH, LT/NK	LCM, LB, Lmarg, LBDCG, LT/NK

(Continúa)

Tabla 2. Alteraciones genéticas más frecuentes y relevantes clínicamente en cada tipo de linfoma (*continuación*)

Genes	Cromosoma	ENST	LH	LCM	LB	LBDCG	LF	Lmarg	LP	LT/NK	Valor clínico
<i>TRA F2</i>	9q34.3	ENST00000247668.7		X							LCM
<i>TRA F3</i>	14q32.32	ENST00000392745.8		X				X			LCM, Lmarg
<i>UBE2A</i>	Xq24	ENST00000371558.7				X			LBDCG		LBDCG
<i>VAV1</i>	19p13.3	ENST00000602142.6								X	LT/NK
<i>XP01</i>	2p15	ENST00000401558.7	X			X					LH, LBDCG (PMBL)
<i>ZNF217</i>	20q13.2	NST00000371471.7				X					LBDCG (PMBL)

LB: linfoma de Burkitt; LBDCG: linfoma B difuso de células grandes; LCM: linfoma de células del manto; LF: linfoma folicular; LH: linfoma de Hodgkin; Lmarg: linfoma de la zona marginal; LP: linfoma plasmocítico; LT/NK: linfoma T/NK; SNC: sistema nervioso central; PMBL: linfoma B de células grandes mediastínico primario.

marcado cuáles de estas alteraciones son de uso obligatorio, recomendado o simplemente son opcionales, ya que son alteraciones frecuentes. La selección de genes ha sido consensuada entre los autores sabiendo que es un campo muy activo y con altas probabilidades de modificarse en los siguientes años. Por el momento, pocos de estos genes se estudian en la rutina asistencial, pero creemos que en un futuro cercano se irán incorporando estos estudios y esta guía nos podrá ayudar a seleccionar los genes más relevantes en estas afecciones.

Por otro lado, en la tabla suplementaria 1 se muestran las alteraciones estructurales (translocaciones y alteraciones en el número de copias [CNV]) que han sido consensuadas por el grupo en cada subtipo de linfoma. En este momento, la NGS no está todavía estandarizada para el estudio de estas alteraciones, pero de alguna manera nos gustaría que quedasen reflejadas en estas guías.

Posteriormente, se encontrará un artículo dedicado a cada tipo de linfoma donde entraremos en más detalle acerca de la utilidad clínica de cada uno de los genes seleccionados.

Clasificación de los diferentes tipos de linfoma

SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS B

- Linfoma de Hodgkin.
- Linfoma no Hodgkin:
 - Linfoma marginal (linfoma esplénico de la zona marginal, linfoma MALT [de tejido linfoide asociado a mucosas], linfoma marginal nodal).
 - Linfoma folicular (linfoma testicular, linfoma folicular *in situ*, linfoma duodenal, linfoma pediátrico, linfoma con reordenamiento de *IRF4*).
 - Linfoma del manto.
 - LBDCG (en este capítulo se va a incluir el LBDCG sin especificar [NOS], el linfoma de alto grado, el linfoma primario del sistema nervioso central [SNC], el linfoma primario cutáneo, el LBDCG virus de Epstein-Barr [EBV] +, el linfoma primario mediastínico, el linfoma intravascular, el linfoma ALK+ y el linfoma plasmoblástico).
 - Linfoma de Burkitt.
 - Linfoma plasmocítico/macroglobulinemia de Waldenström.

SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS T

Linfoma T/NK.

Además, en la tabla suplementaria 2 se muestra la frecuencia y la función por orden alfabético de cada uno de los genes seleccionados.

Agradecimientos

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

Financiamiento

Longwood Diagnostics apoyó la producción de las guías.

Conflicto de intereses

MTCG recibió honorarios por su participación como ponente, consultor o asesor de Novartis, Roche, GSK, Pfizer y BMS, así como subvenciones para investigación de Novartis, Astellas e Incyte. Los demás autores no tienen conflictos de interés.

Consideraciones éticas

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

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

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

Material Suplementario

El material suplementario se encuentra disponible en 10.24875/SANGRE.25000007. Este material es provisto por el autor de correspondencia y se publica en línea para el beneficio del lector. El contenido del material suplementario es responsabilidad exclusiva de los autores.

Referencias

1. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Isaacson PG. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood*. 2008;112(12):4384-99.
2. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IBO, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720-48.
3. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC, et al. The international consensus classification of mature lymphoid neoplasms: a report from the clinical advisory committee. *Blood J Am Soc Hematol*. 2022;140:1229-53.
4. Compton CC, Robb JA, Anderson MW, Berry AB, Birdsong GG, Bloom KJ, et al. Preanalytics and precision pathology: pathology practices to ensure molecular integrity of cancer patient biospecimens for precision medicine. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(11):1346-63.
5. Ascierto PA, Bifulco C, Palmieri G, Peters S, Sidiropoulos N. Preanalytical variables and tissue stewardship for reliable next-generation sequencing (NGS) clinical analysis. *J Mol Diagn*. 2019;21(5):756-67.
6. Chen H, Luthra R, Goswami RS, Singh RR, Roy-Chowdhuri S. Analysis of pre-analytic factors affecting the success of clinical next-generation sequencing of solid organ malignancies. *Cancers (Basel)*. 2015;7(3):1699-715.
7. Srinivasan M, Sedmak D, Jewell S. Effect of fixatives and tissue processing on the content and integrity of nucleic acids. *Am J Pathol*. 2002;161(6):1961-71.
8. Arreaza G, Qiu P, Pang L, Albright A, Hong LZ, Marton MJ, et al. Pre-analytical considerations for successful next-generation sequencing (NGS): challenges and opportunities for formalin-fixed and paraffin-embedded tumor tissue (FFPE) samples. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1579.
9. Agrawal L, Engel KB, Greytak SR, Moore HM. Understanding preanalytical variables and their effects on clinical biomarkers of oncology and immunotherapy. *Semin Cancer Biol*. 2018;52(Pt 2):26-38.
10. McDonough SJ, Bhagwate A, Sun Z, Wang C, Zschunke M, Gorman JA, et al. Use of FFPE-derived DNA in next generation sequencing: DNA extraction methods. *PLoS One*. 2019;14(4):e0211400.
11. Kumar D, Panigrahi MK, Suryavanshi M, Mehta A, Saikia KK. Quantification of DNA extracted from formalin fixed paraffin-embedded tissue comparison of three techniques: effect on PCR efficiency. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(9):BC01-BC03.