



Ser Gen, Panel o Exoma, ¿esa es la cuestión?



En la era de la genómica una de las decisiones más importantes al momento de realizar un estudio genómico, buscando un diagnóstico molecular preciso, es determinar ¿qué me conviene secuenciar?. Lejos quedaron los tiempos de la genética donde el diagnóstico clínico presuntivo de una enfermedad mendeliana se traducía en la secuenciación, usualmente por Sanger, y/o la aplicación de otra técnica de biología molecular para determinar si el paciente poseía o no, la mutación más frecuente en "el gen" responsable de la patología. Si el estudio confirmaba, problema solucionado. Pero si el resultado era negativo, surgía la pregunta de ¿cómo seguir?. Muchas veces se procedía a buscar otras mutaciones posibles (menos frecuentes) y así hasta encontrar (o no) la responsable, comenzando un procedimiento de tipo prueba y error que podía demorar años.

En la era de la genómica, como su nombre lo indica, ¿por qué directamente no secuenciar el genoma entero del paciente y encontrar la mutación diagnóstica?. Si bien, esta parece una solución simple (out of the box), en la práctica la situación es más compleja, principalmente por dos motivos: i) el costo del estudio es directamente proporcional a la cantidad de material genético que se secuencia. Mientras que secuenciar "un segmento en busca de una mutación" cuesta cerca de 10 dólares, un genoma completo se acerca a los 1000 dólares. ii) La complejidad del análisis crece exponencialmente desde un gen hasta el genoma. A modo de ejemplo, mientras que de un gen se pueden obtener unas 5-10 variantes para analizar, un exoma posee unas 100 mil y un genoma más de un millón de variantes.

Esta creciente complejidad, resulta en una mayor dificultad a la hora de conseguir un proveedor capaz de realizar el estudio, y también una creciente posibilidad de "hallazgos incidentales". **Entonces, volvemos a hacernos la pregunta: frente a un diagnóstico clínico presuntivo de una enfermedad genética, ¿qué conviene secuenciar? ¿un gen, un conjunto (panel) de genes, un exoma, o un genoma completo?.**

Adelantemos en este punto que "no existe una respuesta correcta a esta pregunta", y que la misma dependerá de, además de los factores mencionados, el contexto donde se está solicitando el análisis, y lo más importante: cuál es el diagnóstico clínico presuntivo y cuáles son los posibles diagnósticos diferenciales.

Para avanzar en nuestro análisis, definamos primero **qué es lo que queremos priorizar a la hora de tomar la decisión.** En Bitgenia cuando recibimos una consulta al respecto siempre recomendamos tratar de maximizar la eficiencia diagnóstica, tanto estadística como individual (lo que en otras palabras significa llegar al diagnóstico en el mayor número de casos), minimizando el costo y la complejidad del estudio a realizar en cada caso (o sea, evitando la obtención de información en exceso).

La clave para tomar la decisión, se encuentra en conocer (o poder determinar en caso de que no se conozca de antemano) la relación entre el diagnóstico clínico presuntivo (y los diagnósticos diferenciales), de modo más general el fenotipo observado y el posible genotipo (las variantes patogénicas) que de origen a la patología.





Ser Gen, Panel o Exoma, ¿esa es la cuestión?

Entonces, para aquellas patologías, como la fibrosis quística que, en la amplia mayoría de los casos, resultan de mutaciones en un solo gen (en este caso CFTR), se recomienda secuenciar solamente ese gen. Para enfermedades donde existe una heterogeneidad de locus (varios genes que pueden dar lugar a su desarrollo), o donde la sintomatología de diversas enfermedades similares posee una amplia superposición (o dicho de otro modo hay varios diagnósticos clínicos posibles para el cuadro observado) se recomienda secuenciar un panel. Ejemplos de este grupo son las enfermedades autoinflamatorias, inmunodeficiencias y ciertos tipos de cáncer familiar.

Finalmente, si el diagnóstico clínico no es claro y se evalúan como posibles una amplia gama de diagnósticos, o el número de genes de un posible panel supera los 50 (o 100) convendrá realizar un exoma. Este suele ser el caso de diagnósticos amplios como trastornos de crecimiento o desarrollo.

Entonces, ¿cuándo conviene secuenciar el genoma?

Antes de analizar en qué casos se recomienda realizar un genoma completo, repasemos brevemente ciertos aspectos técnicos de la secuenciación de gen-panel-exoma por NGS que son importantes considerar. Para secuenciar solamente un gen-panel-exoma a partir de una muestra, primero se debe separar selectivamente las regiones de interés. Para ello se utilizan dos técnicas: amplificación selectiva (por PCR) o captura. En líneas generales, si las regiones son pocas (un gen o panel chico) se prioriza la amplificación. En cambio, para paneles grandes o exomas se utiliza la técnica de captura. La amplificación suele ser más exhaustiva que la captura, lo que resulta en una menor cantidad de regiones no leídas. Por otro lado, los paneles suelen secuenciarse con una mayor profundidad (>500X) comparado con un exoma, lo que también resulta en una mayor cobertura de las

regiones "target". Estos motivos suelen favorecer en caso de que esté técnicamente disponible la realización de un panel.

Una alternativa interesante a considerar, ya que muchas veces no se encuentra disponible un kit de amplificación o captura para el panel deseado, es realizar un exoma con buena profundidad (>100X) y luego procesar por medio de la bioinformática solo el panel de interés. Las ventajas de este abordaje son múltiples, ya que disminuyen el costo y complejidad del estudio y permite, si fuera necesario ampliar la búsqueda a otros genes en una etapa posterior.

Finalmente, veamos en qué casos se recomienda secuenciar un genoma completo. Lo primero a considerar es que **la mayor ventaja** de este tipo estudio no es una mayor cobertura, y por lo tanto la presencia de un mayor número de variantes (ya que muchas de ellas de todos modos serán intergénicas o intrónicas e imposible interpretar), sino que **éste permite mediante un análisis bioinformático específico determinar variaciones en el número de copias (duplicaciones y deleciones) con una gran resolución** (superior incluso a veces a aquella obtenida por comparación genómica por hibridación en arreglos - Microarray CGH). Por eso en casos de discapacidad intelectual (incluyendo trastornos del espectro autista y trastornos generales del desarrollo) la secuenciación genómica que combina la posibilidad de encontrar tanto variantes de nucleótido único, como variaciones del número de copias, suele ser, a pesar de su mayor costo, el método de elección.

2

