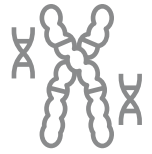


Recomendaciones del ACMG/AMP para la clasificación de variantes versión 2.0. Hacia la automatización.



El equipo de Bitgenia

Continuación de los siguientes artículos:

[-https://www.bitgenia.com/health/wp-content/uploads/2018/12/Recomendaciones-Clasificaci%C3%B3n-Variantes.pdf](https://www.bitgenia.com/health/wp-content/uploads/2018/12/Recomendaciones-Clasificaci%C3%B3n-Variantes.pdf)

[-https://www.bitgenia.com/health/es/buscando-el-significado-de-las-variantes-de-significado-incierto-vus/](https://www.bitgenia.com/health/es/buscando-el-significado-de-las-variantes-de-significado-incierto-vus/)

Como mencionamos previamente, en la genómica clínica, la **determinación precisa de la patogenicidad de una variante** es una de las tareas más complejas y relevantes. Por eso, en el año 2015, el American College of Medical genetics (ACMG) y la Asociación de Patología Molecular (AMP), **publicó lo que se conoce usualmente como “las recomendaciones de la ACMG/AMP”** (Richards, S., et. al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet. Med. 17, 405–424.), un conjunto sistemático de reglas para valorar y combinar la evidencia de cada variante, que permite clasificarla de acuerdo a su patogenicidad. Como describimos previamente, **las recomendaciones se basan en el análisis y asignación de 28 tipos de evidencia asociados a, entre otras cosas, frecuencia alélica, análisis funcionales, predicciones in-silico, análisis de segregación, relación genotipo-fenotipo**, que son valorados con un código alfanumérico, que luego son combinados para clasificar la variante en una de las **5 categorías: pathogenic (P), likely pathogenic (LP), variant of uncertain significance (VUS), likely benign (LB), o benign (B)**.

1



Dada la complejidad de la tarea, durante los últimos años se han desarrollado diversos métodos (semi) automáticos para asignar y combinar los tipos de evidencia. **En esta oportunidad les contamos los fundamentos de aquellos implementados y puestos a disposición en nuestra plataforma** (<https://www.bitgenia.com/#b-platform>), basados en los trabajos de Li et. al. The American Journal of Human Genetics 100, 267–280, February 2, 2017



Recomendaciones del ACMG/AMP para la clasificación de variantes versión 2.0. Hacia la automatización.

Frecuencia poblacional

Una vez que la misma se ha anotado con diversas bases de datos poblacionales (GenomAd, 1000G, ExAC), si la misma es superior al 5% en alguna de ellas la variante es anotada como BA1, y si es superior al 1%, en genes asociados a enfermedades recesivas, como BS1 (estamos asumiendo que las enfermedades recesivas son poco frecuentes, con prevalencias inferiores a 1/10000). Siendo que las bases de datos son de individuos sanos, la variante es asignada BS2 si existen individuos homocigotas. De manera análoga, la presencia de variantes en heterocigotas, para genes asociados a patologías de herencia dominante también resulta en una asignación de BS2. En contraposición, variantes para enfermedades recesivas con muy baja frecuencia, o ausencia de individuos que posean la variante, para variantes asociadas a enfermedades con un modelo de herencia dominante resultará en una asignación de patogenicidad moderada (PM2).

Efecto molecular

Si la variante corresponde a una variante de “**non-sense**”, o sea que produce un codón STOP prematuro, un cambio en el marco de lectura, la delección de uno (o más) exones, o la alteración de un sitio canónico de splicing, en un gen para el cual la pérdida de función es un mecanismo conocido de desarrollo patogénico, la variante se le asigna PVS1. La clave de la asignación automática en estos casos comprende más allá de la anotación molecular determinar el conjunto de genes que cumplen estas características. Para ello, los programas suelen generar una base de datos interna con un listado de los mismos, basado en la observación de variantes patogénicas conocidas. Actualmente se estima que hay unos cerca de 5000 genes intolerantes a la pérdida de función, que es como se los suele llamar.

Para el caso de variantes “**missense**”, o sea que producen un cambio del aminoácido en la proteína correspondiente, la asignación depende del conocimiento previo que se tenga de los mecanismos patogénicos en el gen, lo que se evalúa a partir de las variantes ya reportadas en el mismo. Si la variante cae en el codón de una variante patogénica verificada, y produce el mismo cambio de aminoácido, entonces la variante se le asigna PS1. Si la variante produce un cambio por un aminoácido diferente de aquel que corresponde a la variante patogénica, entonces se le asigna automáticamente PM5. Un segundo caso comprende aquellas variantes missense que caen en dominios y/o regiones que son esenciales para la función proteica. Estas regiones, se definen usualmente, a partir del cruce de información entre las bases de datos de dominios (como PFAM) o sitios activos (como CSA), que presentan exclusivamente

2

Recomendaciones del ACMG/AMP para la clasificación de variantes versión 2.0. Hacia la automatización.

variantes patogénicas, y las variantes que caen en los mismos son asignadas como PM1. Para el resto de las variantes missense, la asignación depende del análisis cuantitativo de las variantes conocidas en el gen. Para aquellos genes, donde la mayoría (más del 80-90%) de las variantes missense son patogénicas, y menos del 10% son benignas, las variantes missense serán automáticamente asignadas PP2. En contraposición, si más del 80% de las variantes patogénicas del gen son por non-sense y existe una alta proporción de variantes missense benignas, la variante será asignada automáticamente como BP1. Finalmente, las variantes sinónimas o intrónicas que no afectan los sitios de splicing canónicos, se les asigna automáticamente BP7.

Predicciones in-silico.

Para aquellas variantes donde todas las predicciones coincidan en la predicción de patogenicidad, la misma será asignada PP3, mientras que si todas las predicciones la clasifican como benigna, se le asignará puntaje BP4. Es importante destacar que éste tipo de anotación automática requiere que todos los predictores utilizados coincidan para asignar el criterio. Típicamente los diferentes programas utilizan entre 3 a 5 predictores, siendo los más comúnmente utilizados polyphen2, SIFT, mutation taster y CADD, entre otros. Más recientemente, algunos programas han implementado el uso de metapredictores (predictores que combinan la predicción de múltiples predictores con algún tipo de algoritmo de inteligencia artificial) cómo ser MetaSVM.

Para el resto de los criterios, es imposible una anotación puramente automática, ya que se requiere de la interpretación del profesional o de datos que no se encuentran sistematizados y disponibles en bases de datos.

Los criterios relacionados con estudios funcionales (PS3/BS3), por ejemplo, requerirían de la existencia de una base de datos curada que contenga la información correspondiente de manera sistematizada. A nivel proteico lo que más se acerca a esta idea es la información contenida en UniprotKB (disponible para cada variante directamente desde la B-platform), donde se reportan los resultados de ensayos funcionales in-vitro asociados a la proteína de interés. Por otro lado, existen muchas veces ensayos in-vitro de mutaciones que se realizan en cultivos celulares y/o en modelos animales, que permitirían una asignación de PS3/BS3, pero que no están sistematizados en bases de datos de acceso público, salvo para genes individuales (o pequeños paneles), usualmente asociados a una patología específica (por ejemplo Hbvar -<http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>- para hemoglobinopatías). El desarrollo de una base de datos de este tipo, es uno de los focos de desarrollo propuesto en la comunidad de genómica clínica.



3



Recomendaciones del ACMG/AMP para la clasificación de variantes versión 2.0. Hacia la automatización.

La anotación automática asociada a la segregación en el grupo familiar (PP1/PS2/PM6 o BS4) y/o a la información alélica (PM3/BP2) es directa, pero solo es posible en casos donde se haya determinado esta información, secuenciando, al menos, también a ambos padres. Como ya mencionamos en artículos anteriores, la obtención de esta información es muchas veces fundamental para en una etapa posterior, terminar de definir la patogenicidad (o no) de una variante.

Finalmente, uno de los criterios más difíciles de automatizar, pero sumamente importante, es el relacionado con la relación genotipo-fenotipo (PP4). Poder valorar el grado de coincidencia entre el fenotipo esperado en base a la casuística para mutaciones similares en el gen donde se encuentra la variante, y el fenotipo observado en el paciente, es un proceso complejo, que requiere de un ojo entrenado, y que muchas veces resulta en una asociación simple, que a partir de los síntomas del paciente y/o el diagnóstico clínico presuntivo, permite determinar una lista de genes candidatos.

En Bitgenia, trabajamos de manera continua en el desarrollo de algoritmos de inteligencia artificial que permitan valorar de manera cada más precisa la relación entre los síntomas del paciente y aquellos esperados para las variantes observadas, permitiendo que nuestra plataforma nos sugiera de manera semi automática cuáles son aquellas variantes que poseen mayores posibilidades de explicar el fenotipo observado. La clave para la mejora de estos desarrollos está en el continuo aporte de casos y devolución por parte de la comunidad de profesionales que trabaja con nosotros.

En resumen, **los métodos de valoración automática de las variantes de acuerdo a los criterios de la ACMG son una herramienta poderosa para la genómica clínica que se encuentra en pleno desarrollo.** La utilización de los mismos es un excelente punto de partida para una clasificación correcta y precisa de las variantes, y permite mejorar de manera significativa la eficiencia del análisis de datos genómicos. Conocer las bases de su funcionamiento, resulta de todos modos, fundamental para aprovechar todo su potencial y mejorar, en última instancia, la calidad del diagnóstico.

