

# **"EL PAPEL BIOQUÍMICO EN LA ERA DE LAS CIENCIAS GENÓMICAS Y GENÉTICAS: NOMENCLATURA, CALIDAD E INTERPRETACION DE RESULTADOS"**

**Dra. Angela R. Solano**

Bioquímica y Farmacéutica, Dra. de la UBA en Medicina-Bioquímica Humana

Miembro Titular de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica

Certificada en Genética, SAG-CCPM

Jefe, Genotipificación, DAC, CEMIC

Presidente, Sociedad Argentina de Genética, 2019-2021 y de la Sección Genética Humana 2022-

Consejo de Certificación de Profesionales (CCPM-Ac Nac de Medicina)

Co-Chair, Gene/Disease Specific Database Advisory Council, HUGO-International

Co-Chair Education Committee, HUGO-International

Co-Chair, Scientific Advisory Council, HUGO-International

Correspondent Member, "Committee on Molecular Diagnostics", IFCC

Emeritus member American Society of Human Genetics

[asolano@cemic.edu.ar](mailto:asolano@cemic.edu.ar)

## Utilidad clínica de los estudios genómicos y genéticos en el diagnóstico y en enfermedades hereditarias

- Definen el diagnóstico de una enfermedad
- Pueden tomarse decisiones clínicas con fundamento biológico
- Cuando se detecta la variante patogénica germinal sustenta la necesidad de controles para otras enfermedades relacionadas
- Permite aplicar medidas de detección precoz y prevención en familiares portadores de la variante patogénica
- En algunas patologías ya puede asociarse el tratamiento

*“Veinte años después de la finalización del Proyecto Genoma Humano, la genética se está integrando rápidamente en la práctica clínica diaria. Pero en esta era de revolución genómica se necesitan equipos de profesionales sanitarios con formación genética para optimizar la atención al paciente.”*

Un reciente editorial de la revista [Nature Medicine](#) señala la necesidad de la formación genética para mejorar la atención a los pacientes.

## *Why was a portion of the NHGRI budget set aside for ethical considerations?*

Since the beginning of the Human Genome Project, it has been clear that science's expanding knowledge of the genome would have a profound impact upon humanity. To maximize the potential for beneficial effects while minimizing the risk of detrimental effects, it was essential that research be conducted to investigate a wide range of issues related to the acquisition and use of genomic information.

**Five percent** of the annual budget of the NHGRI is dedicated to **examining ethical, legal and social implications (ELSI)**

related to human genome research, incorporating specific recommendations into the activities of NHGRI and providing guidance to policymakers and the public. The ELSI program at NHGRI, which is considered unprecedented in biomedical science in terms of scope and level of priority, provides an effective basis from which to assess the implications of genome research, and has resulted in several notable improvements to the HGP.

An example is the decision to sequence the DNA of several anonymous individuals, rather than a known individual, in order to protect privacy. Another example is the development of widely used genetic privacy guidelines and draft legislation. The ELSI program at NHGRI now serves as a model for large, publicly funded science efforts.

## **Genómica:**

es una disciplina científica enfocada en el mapeo genético, la secuenciación de ADN, y el análisis del genoma completo de un organismo, incluyendo organizar los resultados en bases de datos. Se calculan que los seres humanos tenemos aproximadamente 20,000 genes.

## **Genética:**

se refiere al estudio de un gen en concreto y enfocada en la herencia y la variación de los organismos. La genética es el estudio científico de los genes y la herencia (de cómo ciertas cualidades o rasgos se transmiten de padres a hijos como resultado de cambios en la secuencia de ADN).



## Genómica de Precisión

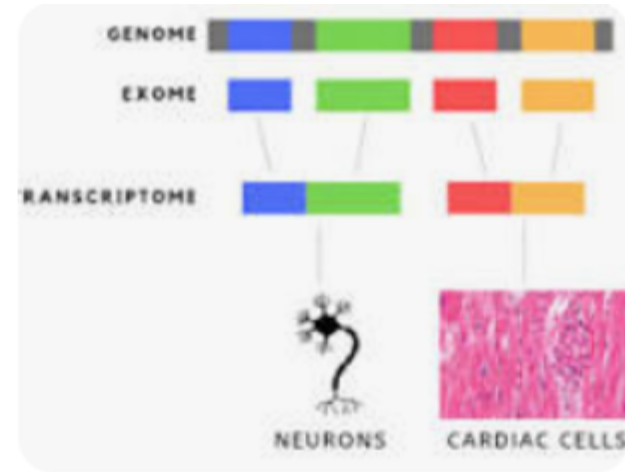


### Precision Medicine

*...the tailoring of medical treatment to the individual characteristics of each patient. It does not literally mean the creation of drugs or medical devices that are unique to a patient, but rather the ability to classify individuals into subpopulations that differ in their susceptibility to a particular disease, in the biology and/or prognosis of those diseases they may develop, or in their response to a specific treatment. Preventive or therapeutic interventions can then be concentrated on those who will benefit, sparing expense and side effects for those who will not.*

National Research Council definition

The human exome consists of roughly 233,785 exons, about 80% of which are less than 200 base pairs in length, constituting a total of about 1.1% of the total genome, or about 30 megabases of DNA.



En el exoma se presumen 85% de *las variantes de todo tipo, 98% son las zonas intergénicas*

# Detección de Variantes:

principales técnicas

- a) Next Generation Sequencing: NGS  
existen varias plataformas
- b) Gold standard de comprobación:  
Reacción de Sanger
- c) MLPA: Multiplex Ligation-dependent Probe  
Amplification Assay (grandes rearrreglos)



## Wide utilization of the NGS SEQUENCING:

Microsatellite instability

Tumor mutation burden

NTRK fusions

BRAF V600E mutations

RET fusion

- Have been linked to treatments that are approved for use regardless of tumor histologic type or site of origin
- Oncologists cited difficulty in obtaining sufficient tissue for testing, insufficient time to order or review tests, and (less often) lack of expert personnel to assist in test interpretation as reasons for not ordering NGS tests

Expertos indispensables en la indicación,  
análisis, interpretación y aplicación de los estudios  
genéticos y genómicos en la clínica:

Clínicos especialistas y sub-especialistas

Bioquímicos especialistas

Genetistas

Bioinformáticos

Medicina traslacional

## Variantes Patogénicas

### SOMÁTICA

- presente en el tumor
- responsable de la formación del tumor
- se expresa en el tumor

### GERMINAL

- presente en todas las células del organismo (50% en las gametas)
- responsable del cáncer hereditario (se heredan y se transmiten)

Selección y respuesta al tratamiento  
Pronóstico

Responsable de las enfermedades hereditarias



**50% de probabilidad EN CADA EMBARAZO de heredar la variante patogénica**

### *Los estudios genéticos con implicancias hereditarias afectan a:*

- Primera etapa:
  - Caso índice, primera persona que se estudia en la familia, afectada por la enfermedad, en la cual se analiza la totalidad del gen/es relacionado/s a la patología familiar
  - COSTO: alto
  - 30-40% o menos informativo para *BRCA1/2*
- Segunda etapa:
  - Familiares: En los parientes co-sanguíneos de cualquier grado se analiza la mutación familiar y son los grandes beneficiados de la detección tanto los portadores sanos como los no portadores.
  - COSTO: 10 veces menos
  - 100% informativo

# GENOME analysis:

27 samples (BRCA1/2 with a pathogenic variant NOT FOUND )

- Space for the info: 2Tb space each 12 genomes
- Ownership of the information
- How much time keep the data?
- Interpretation
- Report:
  - MD should specify the genes to be analyzed
  - Phenotype associated



## *Análisis de ADN: en el tercer milenio*

### *TERCIARIZACIÓN de tecnología:*

**Es el procedimiento actual para acceder a los análisis de ADN con la más alta Calidad Tecnológica actualizada, disponible en pocas empresas en el mundo.**

**El laboratorio recibe los archivos más crudos (FASTQ) de la secuenciación masiva en paralelo (NGS) de las muestras de los pacientes, lo que permite verificar la calidad de la corrida. Eventualmente, se podrá evitar que falten variantes descartadas por los filtros bioinformáticos, configurados previamente para el archivo de anotación final.**

**Todos los datos son analizados por profesionales expertos en el laboratorio receptor del paciente para preparar el informe final para el médico.**

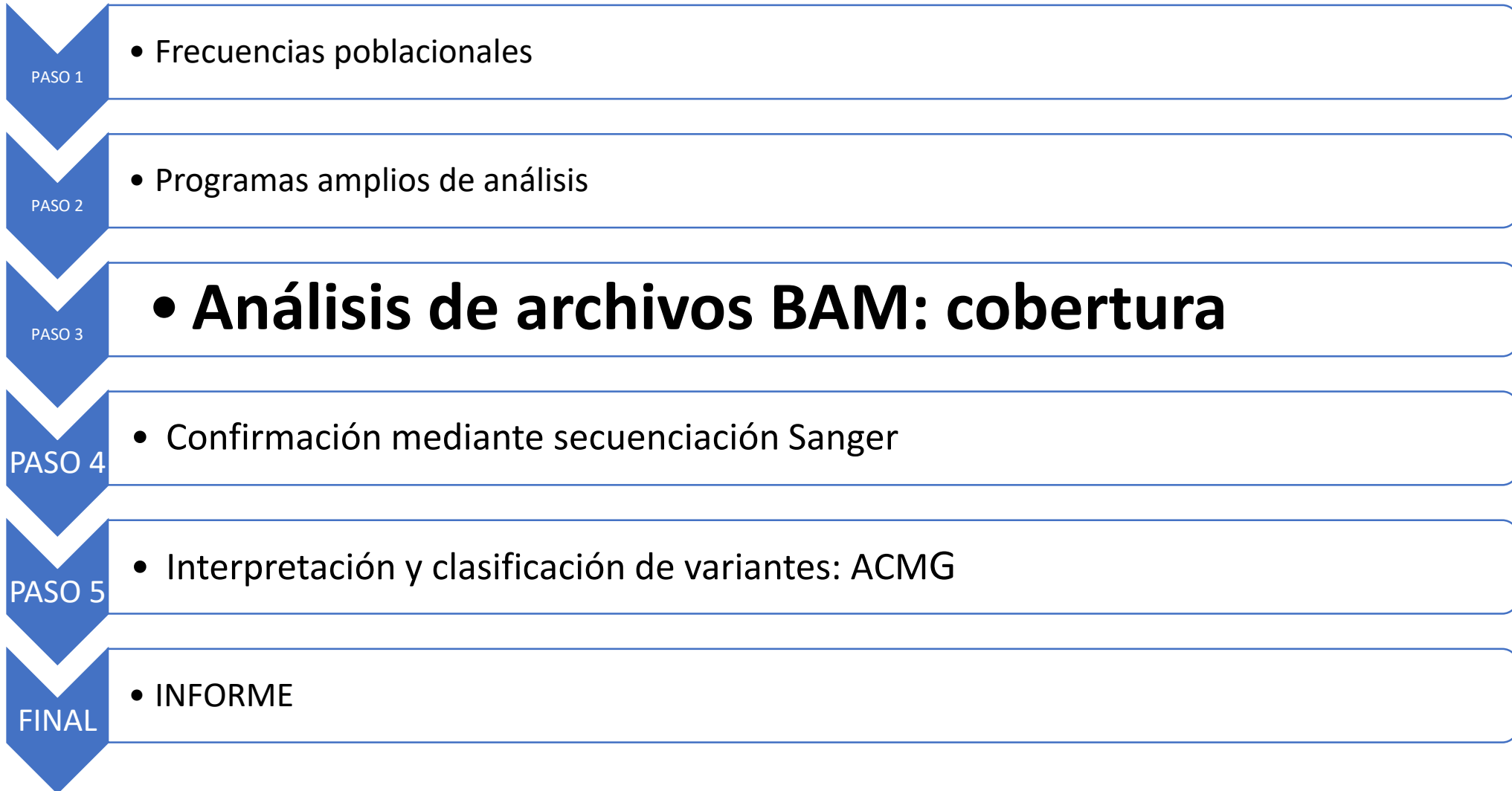
*Vs*

### *DERIVACION de muestras:*

**Copiar lo informado por el laboratorio que analizó los datos emitidos por el secuenciador.**

**Pegar el texto recibido como informe sin ninguna modificación o elaboración.**

**No hay elaboración alguna. Debe(ría) estar en nuestro idioma**



## NOMENCLATURA

HUMAN GENOME VARIATION SOCIETY (HGVS) <http://varnomen.hgvs.org/>

1- SIEMPRE nomenclar a partir de la secuencia de referencia (NCBI RefSeq)

2- Todas las variantes deben ser descritas a nivel de cDNA, la nomenclatura a nivel de proteína es una información adicional. Prefijos:

“g.” denominación a nivel de DNA genómico

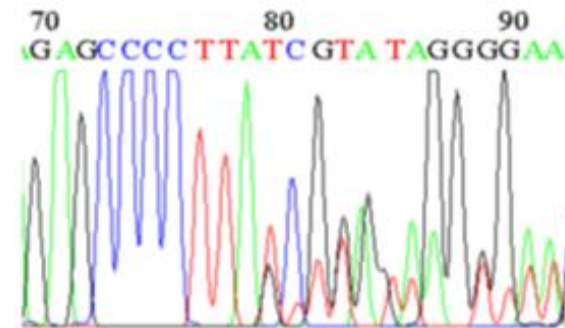
“c.” denominación a nivel de cDNA siempre con TRANSCRIPTO

“p.” denominación a nivel de proteína con 3 letras para los codones

		Segunda base del codón					
		U	C	A	G		
Primera base del codón	U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G	Tercera base del codón
	C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G	
	A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G	
	G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G	

## Atención en la nomenclatura por el annotation file del NGS: siempre confirmar por R. de Sanger

Chrom	Position	Ref	Variant	Allele Call	Filter	Frequency	Quality
chr13	32912299	T	C	Homozygous	-	100	1999,6
chr13	32913055	A	G	Homozygous	-	100	5620,81
chr13	32915005	G	C	Homozygous	-	100	5580,61
chr13	32915321	CTTAT	-	Heterozygous	-	45,9	2370,5
chr13	32929387	T	C	Homozygous	-	100	5008,76
chr13	32936853	C	T	Heterozygous	-	43,1	845,15



### SEGÚN NGS - **c.6829\_6833delCTTAT**

AGAGCCC**CTTAT**CCTTAGTGGGTAAGTGTTTC  
 AGAGCCCCTTAGTGGGTAAGTGTTTCATTTT

### NOMENCLATURA HGVS - **c.6833\_6837delTCTTA**

AGAGCCCCTTA**TCTTA**GTGGGTAAGTGTTTC  
 AGAGCCCCTTAGTGGGTAAGTGTTTCATTTT



## LABORATORIOS “**DIRECT TO COMSUMER**” y otros

Los “DTC labs” conocidos serían al menos: [23andMe](#), [MyMedLab](#) y [Positive Bioscience](#), tal vez algunos están en nuestro medio diagnóstico, es útil corroborarlo antes de utilizarlos ya que no son laboratorios de diagnóstico y sólo deberían analizar muestras directas abonadas personalmente por personas individuales sin orden médica.

Varios laboratorios de nuestro medio derivan a USA: entre otros a un laboratorio que recientemente incorporó un programa que analiza gratuitamente paneles de enfermedades poco frecuentes. Alerta: efecto dumping

**La Nación**, 8 de febrero de 2019

**De los lectores: cartas & mails**

Comentar(64)

Me gusta

Compartir

### **Privacidad y genética**

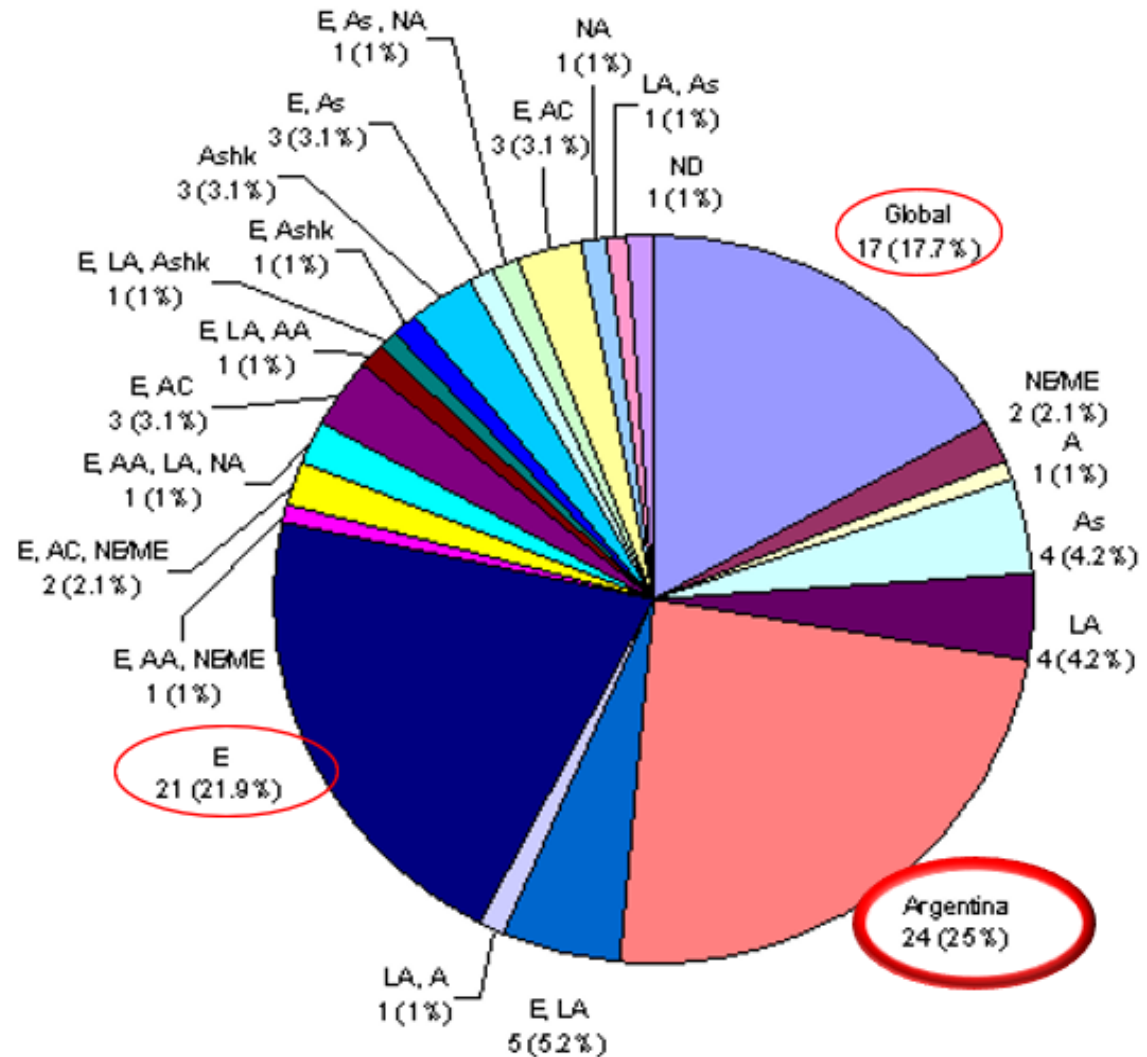
Excelente la nota en el suplemento Ideas del domingo pasado. Aldana Vales explica claramente el tema de los estudios genéticos que se han popularizado, realizados sin los controles acordes con las implicancias y riesgos que conllevan. La genética es sumamente precisa y compleja, simplificarla es bueno para darle acceso general, lo cual no significa dejar de alertar sobre las implicancias que tiene, para su aplicación correcta. Dice acertadamente: "Los clientes pueden elegir dos servicios: conocer su ascendencia o agrandar el combo y agregar la posibilidad de saber si tienen mutaciones genéticas asociadas a enfermedades". Esto último confunde a los usuarios y complica a los médicos, quienes deben solicitar un nuevo examen con calidad diagnóstica para certificar el resultado que los habilitaría a tomar decisiones clínicas. Un artículo científico dice: un mal estudio es tan peligroso como una mala droga. El procedimiento más adecuado es el que se lleva a cabo en Noruega: los exámenes genéticos deben ser hechos bajo supervisión médica, no directamente por el consumidor. Y agrega: los laboratorios de análisis que secuencian ADN deben tener control sobre la calidad analítica; los que no realizan los estudios en el país y derivan al exterior deben además exhibir los textos en español (no en inglés). A la espera de medidas regulatorias locales es adecuado seguir las guías sugeridas por las instituciones, ya disponibles, como resultado de la actividad conjunta profesional-estatal.

**Ángela Solano**

**Vicepresidente, Sociedad Argentina de Genética  
Chair, Nodo Argentino Human Variome Project  
Genotipificación, DAC, CEMIC**

**Worldwide Occurrence of 96  
BRCA1/2 variants detected  
(first 94 cases)  
in 94/134 Argentinean BOC  
patients.**

Solano AR et al, *SpringerPlus* 2012,  
1:20 doi:10.1186/2193-1801-1-20



## Informe estudio genómico germinal

**EN NUESTRA EXPERIENCIA LAS VARIANTES 18. 21. Y 22. HAN SIDO DETECTADAS CON ALTA FRECUENCIA EN OTROS PACIENTES EN FORMA HOMOCIGOTA Y COEXISTIENDO CON VARIANTE PATOGENICA, POR LO CUAL NO TIENEN SIGNIFICANCIA CLÍNICA.**

**LA VARIANTE 10. HA SIDO EVALUADA EN PROGRAMAS BIOINFORMÁTICOS DE PREDICCIÓN DEL CAMBIO EN LA FUNCION PROTEICA DANDO COMO RESULTADO QUE EL CAMBIO PARA LA PROTEÍNA TIENE RIESGO ELEVADO.**



## CNVs:

- ◆ En genética humana usado por primera vez en la década del 50 (Leujene et al., 1959) y la evolución del concepto está muy asociada al desarrollo de metodologías de análisis del genoma.
- ◆ Algunas de las enfermedades con CNVs mas conocidas son Parkinson, enf. de Alzheimer, retraso mental, enfermedades neuromusculares, hematológicas y cáncer entre otras.

## Bioinformatics

is very important for the data filtration of the sequencing files results, but still is not ready for the straight use in clinical decisions for diagnosis and treatment.

The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry  
and Laboratory Medicine

The logo for eJIFCC features a stylized lowercase 'e' in light blue with a white arrow pointing upwards and to the right, followed by the letters 'JIFCC' in a bold, dark blue, sans-serif font.

*This is a Platinum Open Access Journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.*

### *In silico* Copy Number Variation (CNVs) bioinformatics estimation: dream or nightmare?

Leandro Gutiérrez, Lara Parada-Fennen, Angela Rosaria Solano

*Laboratorio de Genotipificación, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Norberto Quirno"  
(CEMIC), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina*

## Long Range PCR de *PMS2*

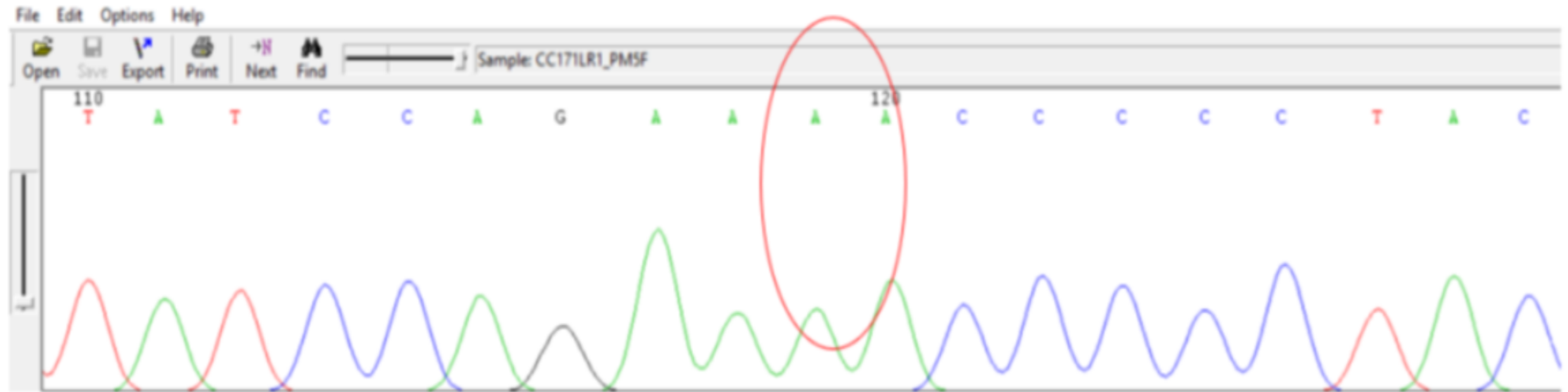
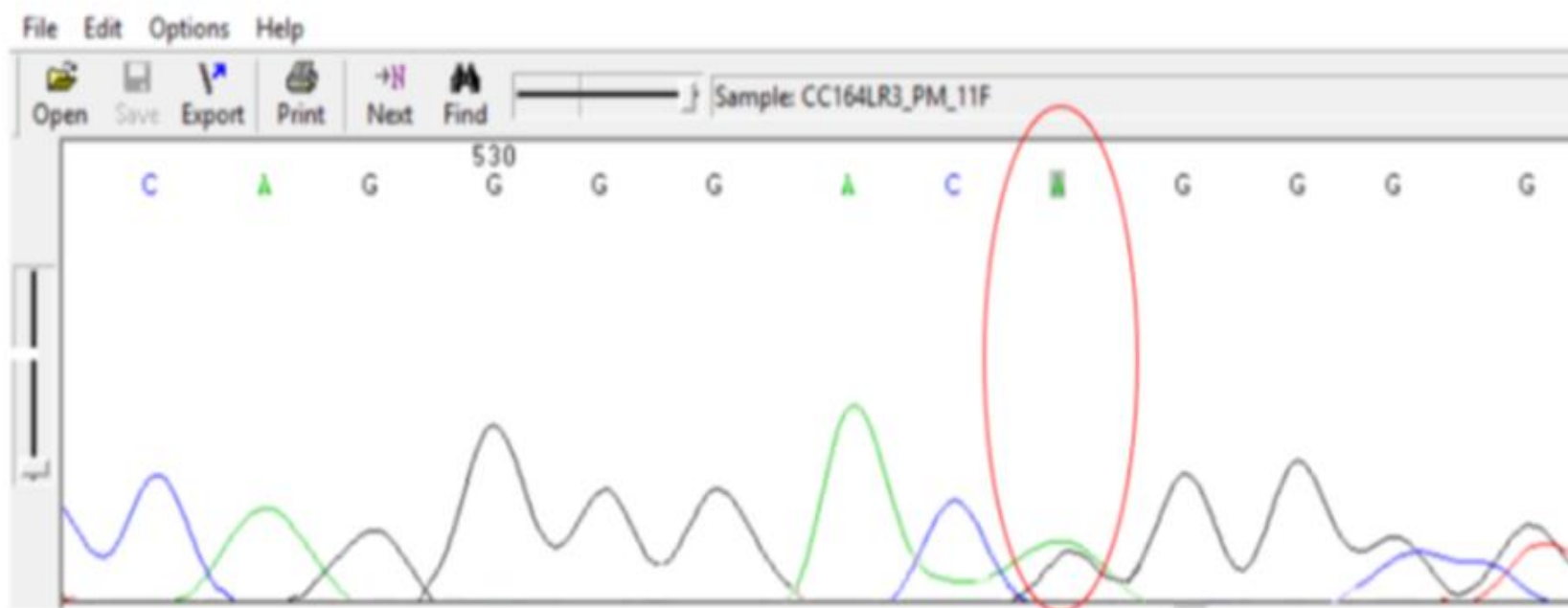


Fig. 4: Ausencia de la delección: c.439del - p.(Thr147Profs\*54) y c.1579\_1580del -p.(Arg527Glyfs\*14) en el exón 5 del gen *PMS2* por LR-PCR.

## Long Range PCR de *PMS2*



Presencia de la deleción c.1579\_1580del - p.(Arg527Glyfs\*14) en el exón 11 del gen *PMS2* mediante PCR-LR.

“We're at the point where it's regularly \$1,000 for a very high quality genome, and it's a race to the bottom when it comes to costs. It will increase accessibility, but we also need to consider **quality and interpretation**.

So right now and in the future, the limiting factor is not sequencing costs or speed. **It's about the tools to interpret the genomic data, integrate it with non-genomic data like lifestyle, social determinants of health, and then use those insights for actionable treatments and interventions.”**

**ONE HEALTH**



## SEARCHING FOR ETHICS IN AI

### Far than “normal”, robots bear human bias (and likely errors) from whom were they created

(From 7<sup>th</sup> Science week, Berlin, 2022, [La Nacion](#), Argentina November 22<sup>nd</sup>, 2022)

### Attention to “buy” their power

#### Paradigms:

1. [AI](#) it needs, as alerted by the specialists, to have a specific scientific regulations
2. [ChatGPT](#): A lawyer used A.I. to prepare a court filing. [Whoops](#). NYT May 28<sup>th</sup> 2023
3. When twitter was bought (44M million dollars) first act was to dismantle the ethics group
4. The AI needs and is the result of a big collection of data, the biggest the best, although the truth?
5. A good algorithm has information from a lot of people, although they are not involved in the decisions to take
6. Are always read the rules, so the rights are well protected of vulnerability?
7. El chat GPT CONTIENE 300 MIL millones de palabras. -Ariel Torres, Director Ciencia y Tecnología, La Nación

**ESTUDIO SOMATICO EN TUMOR/BIOPSIA.**

--

INDICACION DEL ESTUDIO: SECUENCIACION COMPLETA DE GENES: BRCA1, BRCA2, BARD1, RAD51D, TP53, CHEK2, CDH1, APC, MUTYH, PTEN, MLH1, MSH2, MSH6 Y PMS2.

MUESTRA UTILIZADA: TACO DE BIOPSIA CON IDENTIFICACIÓN

RESULTADO:

CON LA METODOLOGÍA UTILIZADA SE DETECTAN LAS VARIANTES GENÉTICAS QUE SE LISTAN EN LA TABLA A CONTINUACIÓN (CON FRECUENCIA ALELICA MAYOR A 3%). LA SIGNIFICANCIA CLÍNICA REPORTADA: PATOGENICA (CLASE 5) PROBABLEMENTE PATOGENICA (CLASE 4) Y SIGNIFICANCIA CLÍNICA INCIERTA (CLASE 3) ES LA REFERIDA EN LA BASE DE DATOS DE REFERENCIA (CLINVAR, UMD, LOVD3.0).

GEN/EXÓN	VARIANTE (NOMENCLATURA HGVS)	FRECUENCIA ALELICA	SIGNIFICANCIA
BRCA2 (NM_000059.3):			
INTRÓN 19:			
1.	c.8488-1G>A	41%	PATOGENICA
APC (NM_000038.5):			
EXÓN 16:			
2.	c.2626C>T - p.(Arg876*)	19,7%	PATOGENICA
3.	c.4348C>T - p.(Arg1450*)	18,5%	PATOGENICA
MSH6 (NM_000179.2):			
EXÓN 5:			
4.	c.3261del - p.(Phe1088Serfs*2)	3.3%	PATOGENICA

## RESUMEN:

- Las técnicas de secuenciación están difundidas y tienen diferentes plataformas
- WES: secuenciación exoma clínico o completo requiere equipos medianos a grandes
- WGS: secuenciación genoma requiere equipos de gran capacidad, tiene la ventaja que no afecta la presencia de pseudogenes
- Todas están disponibles sin comprar el equipo, la terciarización es una opción excelente

## MENSAJES PARA LLEVAR A CASA:

- Poner en práctica los estudios genómicos es una decisión para tomar desde “ayer”
- Las opciones están disponibles sin comprar el equipo, la terciarización es una opción excelente
- Son necesarios:
  - a. expertos bioinformáticos para los procedimientos *“in silico”*, filtros de archivos, etc
  - b. expertos bioquímicos para nomenciar correctamente las variantes e interpretar los resultados para reportar informes de utilidad clínica
  - c. expertos clínicos especialistas para aplicar los tratamientos, seguimientos y prevención de acuerdo a los reportes de laboratorio
  - d. expertos genetistas para asesorar a las familias y a los pacientes

## CONCLUSIONES EN LOS ANALISIS DE SECUENCIAS GENÉTICAS y GENÓMICAS:

- Es de suma importancia emitir informes detallados y claros, con la correcta interpretación de todas las variantes encontradas ya que estos resultados son imprescindibles para definir el asesoramiento y consecuente manejo clínico del paciente y sus familiares. SEGUIR Y ACTUALIZAR LA NOMENCLATURA según la HGVS, y las indicaciones del ACMG y AMP. Respetar el idioma es digno.
- Los hallazgos en tejidos como resultado de la secuenciación somática, abrió un panorama enorme conceptual y práctico. Debemos preparar al paciente educándolo antes del estudio somático acerca de la posibilidad que algunas variantes patogénicas pueden identificarse y comunicarle los riesgos y limitaciones que pueda tratarse de una variante germinal. Evaluar el consentimiento pre-test.

La interacción profesional entre el laboratorio y el médico solicitante del análisis genético/genómico es muy importante y enriquecedora para la comprensión de los resultados, y por ende para el beneficio del paciente.



GRACIAS

Angela R. SOLANO