



EDITORIAL

Comentarios al Documento de consenso sobre la implementación de la secuenciación masiva de nueva generación en el diagnóstico genético de la predisposición hereditaria al cáncer



Comments on Consensus document on the implementation of next generation sequencing in the genetic diagnosis of hereditary cancer

Con la secuenciación masiva o de nueva generación (NGS) se abrió una nueva era en todas las áreas de diagnóstico e investigación genética. La NGS aumenta de forma extraordinaria la capacidad de análisis genético con una reducción muy sustancial del tiempo de respuesta y de costes económicos, en comparación con la secuenciación capilar o de Sanger. Las nuevas metodologías NGS permiten el estudio de amplios paneles de genes, exomas e incluso genomas completos, pero plantean también nuevos retos y dilemas, tanto en los aspectos técnicos como en la gestión de los datos genéticos obtenidos, su validez e interpretación clínica, o la transmisión de información genética a los individuos estudiados.

Estos y otros aspectos se abordan en un documento recientemente publicado en *Med Clin*¹, en el que han colaborado diversos expertos de la Asociación Española de Genética Humana (AEGH), la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) y la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC-ML). Las 3 sociedades han dado su apoyo al documento y lo presentarán en sus respectivas páginas web, con el fin de que sea de utilidad para los profesionales implicados en el diagnóstico genético. El documento se circunscribe al ámbito del cáncer hereditario, aunque gran parte de las pautas o recomendaciones, basadas en su mayoría en declaraciones y guías de la Sociedad Europea de Genética Humana (ESHG)², podrían ser aplicables a muchas otras áreas del diagnóstico genético.

En el momento actual, las aportaciones de la secuenciación masiva se acompañan de unos niveles de evidencia científica muy considerables, que se acrecentarán en el futuro, pero para la correcta introducción de estas metodologías en los laboratorios de diagnóstico debe considerarse

previamente el diseño, alcance y objetivos deseados, así como conocerse las limitaciones existentes para determinadas aplicaciones, teniendo en cuenta aspectos de carácter técnico (calidad analítica, capacidad de detección, especificidad), organizativos, la gestión de datos, la interpretación de las variantes genéticas identificadas, los hallazgos incidentales o inesperados, los dilemas bioéticos y de asesoramiento, etc.

El documento se distribuye en declaraciones agrupadas en 6 apartados: 1) Utilidad clínica y diagnóstica. 2) Consentimiento informado y asesoramiento genético anterior y posterior al estudio. 3) Validación de los procedimientos analíticos. 4) Informe de resultados. 5) Gestión de la información. 6) Distinción entre ámbito de investigación y ámbito asistencial.

1-Respecto a la utilidad clínica y diagnóstica se incide en la necesidad de llevar la NGS a la práctica clínica con una validación previa de la metodología, documentada y según normativas ISO correspondientes, especificando el alcance y los objetivos de cada prueba, ya sea para confirmar o excluir una sospecha diagnóstica. Deben considerarse la selección adecuada de genes a incluir en los paneles (consensuada entre profesionales de laboratorio y clínicos y revisable en el tiempo), el rendimiento diagnóstico (la probabilidad de detectar variantes genéticas causantes de la enfermedad), las limitaciones de la técnica, que puedan afectar a la sensibilidad y especificidad de la prueba y dependen de la plataforma de secuenciación, los métodos de captura y enriquecimiento de las regiones de interés, la generación de genotecas, la cobertura (profundidad de secuenciación), las regiones génicas no cubiertas, el procesado y análisis bioinformático de los datos obtenidos,

el algoritmo de clasificación y priorización de variantes, el tipo de información incluida en el informe, etc.^{3,4}

2-En cuanto al consentimiento informado y asesoramiento genético previo y posterior a la prueba, el laboratorio debe informar al profesional clínico del alcance del estudio (genes analizados, cobertura, sensibilidad y especificidad analíticas, tipos de variantes que se van a reportar y enfermedades no relacionadas con la orientación clínica inicial que podrían estar causadas por variantes patogénicas detectadas), así como las limitaciones y los posibles resultados imprevistos que puedan derivarse del estudio.

Globalmente, los estudios genéticos pueden detectar una alteración deletérea responsable del cuadro clínico, no detectar ninguna alteración, o bien detectar variantes genéticas de significado clínico incierto. Estas 3 posibilidades deben transmitirse al paciente antes de efectuarse la prueba y tras ella deben discutirse las implicaciones resultantes según sea el resultado obtenido.

El documento ofrece también recomendaciones respecto a los hallazgos inesperados. El asesoramiento previo a la prueba debe procurar que los pacientes puedan entenderla y ser conscientes de la posibilidad de detección de mutaciones de alta penetrancia no sugeridas por sus antecedentes personales o familiares o mutaciones en heterocigosis en genes responsables de enfermedades con herencia recesiva, con implicaciones para los deseos reproductivos. En consonancia, debe existir la logística necesaria y un protocolo de actuación ante estos hallazgos incidentales, aprobado por un comité de ética, respetando los deseos del paciente a saber o no saber los resultados del estudio, explicitados en el consentimiento informado⁵.

3-En el apartado de validación de los procedimientos analíticos se recomienda que las medidas de calidad utilizadas en los procedimientos de diagnóstico (validación de la plataforma de análisis, exactitud, precisión, sensibilidad y especificidad analíticas, cobertura, etc.), se evalúen y describan con precisión y que el laboratorio debe considerar aspectos relacionados con la identificación y trazabilidad de muestras, los flujos de trabajo, las etapas de procesamiento, el análisis informático, etc.^{6,7}. Por otra parte, se recomienda que el laboratorio maneje información actualizada permanentemente sobre las variantes genéticas y genere una base de datos propia, que puede ser de gran utilidad para identificar artefactos específicos de la propia plataforma, falsos positivos, mutaciones recurrentes, variantes que cosegregan, etc., mejorando el proceso diagnóstico. Además, debe tenerse en cuenta la necesidad creciente de disponer de un almacenamiento a largo plazo de todos los datos relevantes.

4-En el apartado referente a los informes de resultados, se ofrecen recomendaciones detalladas de todos los elementos que deben incluirse en un informe de laboratorio, tanto del paciente, como de la prueba y de los resultados, así como la disposición más efectiva de los mismos, ya que los informes serán leídos por el paciente y por profesionales con distintos niveles de experiencia y conocimientos en genética⁸.

5-Una correcta gestión de la información obtenida facilita enormemente el proceso de análisis y de interpretación de los resultados dentro del contexto clínico, con criterios de evidencia y fiabilidad. Es especialmente importante el manejo y almacenamiento ordenado de la

información referente a las variantes de significado incierto con el objetivo de poder clasificarlas en el futuro. En cualquier caso, debe utilizarse fuentes de información de calidad, una nomenclatura genética estandarizada⁹, secuencias de referencia y una clasificación de variantes para enfermedades hereditarias distribuida en 5 categorías: patogénica, probablemente patogénica, variante de significado incierto, probablemente benigna y benigna, de acuerdo con las recomendaciones internacionales¹⁰⁻¹³.

6-Por último, deben distinguirse los ámbitos asistencial y de investigación, aunque el alto rendimiento de estas tecnologías, que permiten el análisis simultáneo de amplios paneles de genes, exomas o genomas, dificulta en ocasiones esta separación¹⁴. Un estudio genético diagnóstico está dirigido a responder una cuestión clínica relacionada con la condición médica de un paciente, mientras un estudio en el ámbito de la investigación pretende resolver una cuestión científica basada en una hipótesis de trabajo, que puede o no tener relevancia clínica para el paciente implicado. En cualquier caso, es muy importante definir de antemano el alcance del estudio, cuáles son los resultados esperados y su trascendencia en el manejo del paciente y su familia, así como la gestión de la información obtenida. Estos aspectos deben recogerse tanto en el procedimiento normalizado de trabajo correspondiente del laboratorio diagnóstico como en el protocolo de un proyecto de investigación si es el caso, y deben ser aceptados por el paciente participante a través del preceptivo consentimiento informado. Otro aspecto a tener en cuenta es la utilización de la información obtenida, que puede ser anonimizada y compartida en el campo científico, así como el depósito, custodia y uso de las muestras biológicas.

En conclusión, la introducción de la NGS en el diagnóstico genético de la predisposición hereditaria al cáncer, así como de otras enfermedades genéticas, requiere una planificación detallada de múltiples aspectos, técnicos, logísticos y de gestión y transmisión de información de distinto tipo, en los que intervienen distintos profesionales del laboratorio y clínicos. El documento mencionado, auspiciado por las 3 sociedades científicas (AEGH, SEOM y SEQC) constituye una guía de recomendaciones o comentarios que pueden ayudar a dicha implementación.

Bibliografía

1. Soto JL, Blanco I, Díez O, García Planells J, Lorda I, Matthijs G, Robledo M, Souche E, Lázaro C. Consensus document on the implementation of next generation sequencing in the genetic diagnosis of hereditary cancer. *Med Clin (Barc)*. 2018 Feb 10; <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2017.12.010>, pii: S0025-7753(18)30035-6. [Epub ahead of print].
2. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, Race V, Sistermans E, Sturm M, Weiss M, Yntema H, Bakker E, Scheffer H, Bauer P. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Human Genetics*. 2016;24:2-5.
3. Endrullat C, Glökler J, Franke P, Frohme M. Standardization and quality management in next-generation sequencing. *Appl Transl Genom*. 2016;10:2-9.
4. Weiss MM, Van der Zwaag B, Jongbloed JD, Vogel MJ, Brüggewirth HT, Lekan Deprez RH, Mook O, Ruivenkamp CA, van Slegtenhorst MA, van den Wijngaard A, Waisfisz Q, Nelen MR, van der Stoep N. Best practice guidelines for the use of next-generation sequencing applications in genome diagnostics: a

- national collaborative study of Dutch genome diagnostic laboratories. *Human Mutat.* 2013;34:1313–21.
5. Knoppers BM, Nguyen MT, Sénécal K, Tassé AM, Zawati MH. Next-Generation Sequencing and the Return of Results. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;3:6, <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a026724>, pii: a026724.
 6. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, Friez MJ, Funke BH, Hegde MR, Lyon E, Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med.* 2013;15:733–47.
 7. Jennings LJ, Arcila ME, Corless C, Kamel-Reid S, Lubin IM, Pfeifer J, Temple-Smolkin RL, Voelkerding KV, Nikiforova MN. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing-Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2017;19:341–65.
 8. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, Kulkarni S, Lindeman NI, Roy S, Tsimberidou AM, Vnencak-Jones CL, Wolff DJ, Younes A, Nikiforova MN. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence the variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2017;19:4–23.
 9. Human Genome Variation Society: www.hgvs.org/
 10. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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.* 2015;17:405–24.
 11. Plon SE, Eccles DM, Easton D, Foulkes WD, Genuardi M, Greenblatt MS, Hogervorst FB, Hoogerbrugge N, Spurdle AB, Tavtigian SV, IARC Unclassified Genetic Variants Working Group. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat.* 2008;29:1282–91.
 12. Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles: <https://enigmaconsortium.org/>
 13. ClinVar: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
 14. Bertier G, Cambon-Thomsen A, Joly Y. Is it research or is it clinical? Revisiting an old frontier through the lens of next-generation sequencing technologies. *Eur J Med Genet.* 2018, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2018.04.00>, pii: S1769-7212(18)30155-1.

Orland Diez Gibert*
y la Comisión de Genética de la SEQCML
Área de Genética Clínica y Molecular, Hospital
Universitario Vall d'Hebron; Grupo de Oncogenética, Vall
d'Hebron Instituto de Oncología (VHIO), Barcelona

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: Odiez@vhebron.net