

Ventajas e inconvenientes del uso de WES y WGS en el diagnóstico genético

ÉRICA MORÁN MARTÍNEZ
HEAD OF MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY &
SCIENTIFIC COMMUNICATIONS
MANAGER EN DREAMGENICS



Comparación de la eficacia de la WES y la WGS en el diagnóstico genético

genético

La aparición de las tecnologías de secuenciación masiva o NGS (del inglés Next-generation Sequencing) ha sido clave para alcanzar el conocimiento del genoma humano que en la actualidad tenemos. Además, la aplicación de la NGS en el entorno clínico ha supuesto un notable aumento del rendimiento diagnóstico comparado con las metodologías tradicionales. Sin embargo, los continuos avances en este campo y la aparición de nuevas técnicas, pueden generar un dilema a la hora de elegir la prueba que ofrezca una mayor eficacia diagnóstica para cada individuo. Es común para muchos profesionales sanitarios debatirse entre la secuenciación del exoma completo y la del genoma completo, dos de los análisis genómicos más coste-eficientes en estos momentos 1. La información obtenida con cada uno de ellos y el coste del análisis bioinformático que implican, son puntos clave a la hora de tomar una decisión, pero existen otras diferencias importantes a tener en cuenta.

Secuenciación del exoma completo

La secuenciación del exoma completo o WES (del inglés Whole Exome Sequencing) incluye exclusivamente las regiones codificantes de los más de 20.000 genes descritos hasta el momento, que corresponden aproximadamente al 2% del genoma humano. Se ha estimado que el exoma alberga alrededor del 85% de las alteraciones causantes de enfermedades, por lo que la WES ha sido la técnica estrella en muchos de los proyectos de caracterización de la variación del genoma, contribuyendo enormemente a la identificación de nuevos genes implicados en enfermedades mendelianas 2. La WES se aplicó por primera vez en 2009 en el diagnóstico clínico 3 y, desde entonces, numerosos trabajos han mostrado que tiene un rendimiento

diagnóstico de entre el 20% y el 60 %, es decir, muy por encima del de otros métodos utilizados previamente 4-6. Este rendimiento puede aumentar considerablemente mediante el estudio comparativo del exoma del paciente con el de sus padres u otros familiares 7. La WES es de especial interés en casos en los que (1) no hay test disponibles para esa patología, (2) los paneles de genes no han podido identificar la causa de la enfermedad, (3) existen varios genes implicados o (4) el fenotipo no está asociado con ninguna enfermedad previamente descrita. Esta tecnología presenta ciertas ventajas sobre el análisis del genoma completo, ya que, al analizar una pequeña parte del genoma, proporciona una mayor profundidad de lectura en la secuenciación, que se traduce en una mayor sensibilidad, precisión y rapidez. Además, supone un menor coste en análisis bioinformático y almacenamiento de datos. Sin embargo, la WES también cuenta con algunas limitaciones, siendo posiblemente la principal no incluir las regiones no codificantes del genoma, en las que encuentran importantes elementos reguladores de la expresión génica. Por otro lado, implica un enriquecimiento de las regiones codificantes previo a la secuenciación, presentando gran dificultad para cubrir las regiones ricas en contenido GC y dando lugar a una cobertura de la secuencia no uniforme. Por último, debido al pequeño tamaño de las regiones secuenciadas, no tiene capacidad para detectar variantes estructurales grandes, como es el caso de algunas CNVs (del inglés Copy Number Variations).

Secuenciación del genoma

La secuenciación del genoma completo o WGS (del inglés Whole Genome Sequencing) incluye las regiones codificantes, así como los intrones y los promotores, pero debido a las limitaciones técnicas de las plataformas utilizadas hasta ahora, estas solo suponen el 95-98% del genoma. Este método no requiere enriquecimiento previo, por lo que ofrece una cobertura de la secuencia más uniforme que la WES incluso en las regiones codificantes, generando con

ello llamadas a variantes más precisas 8. Es el método más indicado para detectar mutaciones en genes previamente no asociados a la enfermedad, especialmente cuando estas están ubicadas en regiones no codificantes 9. Son muchos los estudios que muestran un incremento en la tasa de diagnóstico de la WGS respecto a la WES 10. En los últimos años, los avances en tecnologías NGS han permitido la secuenciación de lecturas más largas (LRS del inglés Long Read Sequencing o secuenciación de tercera generación) 11. Facilitan con ello la identificación de regiones con alto contenido GC y las secuencias repetidas, así como de variaciones estructurales complejas como las CNVs 12. El análisis de CNVs tiene cada vez un papel más relevante en el diagnóstico de muchas enfermedades, con un especial interés cáncer 13. Sin embargo, aunque el precio de la secuenciación del genoma ha pasado de cientos de millones a unos 1.000 euros en la actualidad, este coste unido a la complejidad que entraña el análisis bioinformático y el almacenamiento de datos generados hace todavía difícil la incorporación de la WGS a las rutinas diagnósticas.

Conclusiones

La NGS se está convirtiendo en una herramienta indispensable en el diagnóstico clínico, proporcionando resultados cada vez más precisos, rápidos y baratos y desplazando progresivamente a otras tecnologías. En los próximos años, se prevé que la secuenciación y análisis de un genoma humano baje drásticamente de precio, convirtiendo la WGS en la prueba genómica más coste-eficiente, sin descartar la WES y los paneles de genes para casos concretos. En el futuro, cuando las tecnologías de tercera generación se integren en el diagnóstico, podría ser posible emplear métodos combinatorios que se beneficien del poder de lectura larga para el descubrimiento de variantes complejas y de la alta precisión y coste-eficiencia de la WES.

Además de comprender las ventajas e inconveniente de las distintas tecnologías, es indispensable la correcta identificación y

Glosario

Genoma: es el conjunto de todo el material genético de un organismo, que en eucariotas incluye el ADN del núcleo y el de los orgánulos celulares.

Exoma: es la parte del genoma de un organismo formado por los exones, es decir, las regiones codificantes del ADN. No incluye intrones ni regiones reguladoras.

Región codificante: es la parte del gen cuya secuencia de nucleótidos da lugar al ARN mensajero.

CNVs: son un tipo de variantes estructurales con tamaños que van desde unas decenas de nucleótidos a cromosomas completos y que implican un cambio en el número de copias de una respecto al genoma de referencia.

Cobertura: se refiere al porcentaje de bases del genoma de referencia que están siendo secuenciadas

Profundidad de lectura: es el número promedio de veces que cada base del genoma es secuenciada. Es uno de los factores determinantes para evaluar la fiabilidad del nucleó-

tido asignado a esa posición del genoma. Los valores apropiados de profundidad dependerán de la técnica de secuenciación utilizada (panel de genes, exoma o genoma) y la frecuencia alélica de las variantes que se analizarán (germinales y somáticas).

Paneles de genes: es una prueba genética en la que se analizan simultáneamente un grupo de genes asociados con una determinada patología.

Rendimiento diagnóstico: porcentaje de pacientes que han obtenido un diagnóstico respecto al total de pacientes analizados.

Secuenciación de tercera generación: la secuenciación de lectura larga tiene la capacidad de generar lecturas que van desde unas kilobases hasta varias megabases de longitud (frente a las lecturas de entre 150 y 200 pb generadas por las tecnologías NGS tradicionales). Este tipo de secuenciación no necesita amplificación previa, por lo que proporciona datos más uniformes y disminuye la tasa de error.

caracterización de variantes con significado clínico. El desarrollo de herramientas bioinformáticas es fundamental para la aplicación de la secuenciación masiva en el diagnóstico genético y, por consiguiente, para garantizar el éxito de la medicina de precisión ◀◀

Bibliografía

- Shwarze K. et al. Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature. *Genet Med.* 2018;20:1122-1130.
- Bamshad MJ. Et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet.* 2011;12:745-55
- Choi M. et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:19096-19101
- Majewski J. et al.: What can exome sequencing do for you? *J Med Gen.* 2011;48_580-9.
- Sawyer SL. Et al. Utility of WES for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. *Clin Genet.* 2016;89:275-84
- Stark et al. A prospective evaluation of whole-exome sequencing as a first-tier molecular test in infants with suspected monogenic disorders. *Genet Med.* 2016; 18(11):1090-1096
- Farwell et al. Enhanced utility of family-centered diagnostic exome sequencing with inheritance model-based analysis: results from 500 unselected families with undiagnosed genetic conditions. *Genet Med.* 2015;17(7):578-86
- Belkadi, A. et al. Whole-genome sequencing is more powerful than whole-exome sequencing for detecting exome variants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2015;112, 5473-5478
- Liu HY. et al. Diagnostic and clinical utility of WGS in a cohort of undiagnosed Chinese families with rare diseases. *Sci Rep.* 2019;18;9(1):19365
- Wright CF et al. Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children. *Nat Rev Genet.* 2018;19:253-268
- Logsdon GA. et al. Long-read human genome sequencing and its applications. *Nat Rev Genet.* 2020;21:597-614
- Chaisson MJ. Multi-platform discovery of haplotype-resolved structural variation in human genomes. *Nat Commun.* 2019;10(1):1784
- Shellen A. & Malkin D. Copy number variations and cancer. *Genome Med.* 2009; 16;1(6):62

Pura filtración

para la industria farmacéutica



DORSAN®

LIVING FILTRATION

Cartuchos, Placas, Módulos, Bolsas filtrantes, Papel de Filtro, Cartuchos de Extracción, Resmas, Membranas de Microfiltración, Filtros Jeringa...



08700 Igualada, Barcelona. Tel. +34 938 042 475

www.dorsanfiltration.com

GERMANY INDIA MEXICO SPAIN