

# APLICAÇÃO DA SEQUENCIAÇÃO DE NOVA GERAÇÃO AO DIAGNÓSTICO GENÉTICO DO CANCRO DA MAMA HEREDITÁRIO

Theisen P<sup>1</sup>, Silva C<sup>2</sup>, Pereira Caetano I<sup>1</sup>, Rodrigues P<sup>1</sup>, Isidro G<sup>3</sup>, Vieira L<sup>2</sup>, Gonçalves J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidade de Genética Molecular, Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa; <sup>2</sup>Unidade de Tecnologia e Inovação, Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa; <sup>3</sup>Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa

**Introdução:** O cancro da mama hereditário (CMH) constitui 5-10% dos casos de cancro da mama, dos quais cerca de 30% se devem a mutações germinais de elevada penetrância nos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Embora tenham sido identificadas mutações noutras genes de suscetibilidade para cancro da mama, estas são raras, pelo que a análise sequencial de múltiplos genes se torna ineficaz e dispendiosa pelos métodos convencionais<sup>(1,2)</sup>. A determinação da causa genética subjacente ao CMH permite não só identificar os indivíduos com risco aumentado de cancro da mama, como oferecer uma medicina personalizada, mais eficaz na redução da incidência de cancro da mama assim como da morbilidade e mortalidade associadas<sup>(3)</sup>. A sequenciação de nova geração (NGS) veio possibilitar a pesquisa de mutações em múltiplos genes em simultâneo, permitindo um diagnóstico molecular rápido, eficaz e com custo inferior ao da sequenciação de Sanger.

**Objetivos:** Otimizar o diagnóstico molecular do CMH através da implementação de um protocolo de NGS baseado num painel abrangente de genes de suscetibilidade para cancro da mama. A 1ª fase de concretização deste objetivo consistiu em validar a utilização da NGS na deteção de mutações nos genes *BRCA1*, *BRCA2* e *TP53*.

**Material e métodos:** Foram analisadas por NGS 12 amostras de doentes com cancro da mama, previamente sequenciadas pelo método de Sanger para os genes *BRCA1*, *BRCA2* e *TP53*. As bibliotecas de sequências-alvo foram preparadas a partir de DNA genómico pelo método de captura por hibridação, num protocolo que integrou o *Trusight Cancer Sequencing Panel* e o kit *TruSight Rapid Capture* (Illumina), e sequenciadas numa plataforma MiSeq com leituras *paired-end* de 150 bp. A análise bioinformática incluiu os *softwares MiSeq Reporter*, *VariantStudio* e *Isaac Enrichment* (Illumina).

**Resultados:** Foram detetadas por NGS um total de 97 variantes de sequência nos genes *BRCA1*, *BRCA2* e *TP53*, das quais 35 são variantes únicas (33 *single nucleotide variants* e 2 deleções), numa concordância de 100% com a sequenciação de Sanger.

**Conclusões:** Estes resultados preliminares comprovam a eficiência da NGS na deteção de variantes em 3 genes de elevada penetrância para cancro da mama e abrem caminho para a oferta de um painel de genes de suscetibilidade para cancro da mama que permitirá um diagnóstico molecular do CMH mais abrangente, rápido e com custos reduzidos relativamente à sequenciação de Sanger.

## Bibliografia

1. Tung N, Batteli C, Allen B *et al.* (2015). Frequency of mutations in individuals with breast cancer referred for *BRCA1* and *BRCA2* testing using next-generation sequencing with a 25-gene panel. *Cancer*, 121: 25-33.
2. Apostolou P, Fostira F (2013). Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *BioMed Res Int*, 2013: 747318.
3. Ellsworth R, Dececicz D, Shriver C, Ellsworth D (2010). Breast cancer in the personal genomics era. *Curr Genomics*, 11: 146-161.