

## VALIDAÇÃO e IMPLEMENTAÇÃO do DIAGNÓSTICO MOLECULAR em CANCRO COLORETAL HEREDITÁRIO (CCRH) por SEQUENCIAÇÃO DE NOVA GERAÇÃO

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

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

A análise molecular tradicional na síndrome de Lynch, associada a alterações nos genes **MLH1**, **MSH2**, **MSH6**, **PMS2** e **EPCAM**, na polipose adenomatosa familiar (FAP), causada por alterações no gene **APC** e na polipose associada a alterações no gene **MUTYH**, é baseada na PCR e na sequenciação pelo método de Sanger, tem custos elevados e é demorada, pelo que é relevante a sua substituição pela sequenciação de nova geração (NGS) permitindo esta, a análise simultânea de múltiplos genes, com custos mais reduzidos e num menor intervalo de tempo.

Tendo por objetivo disponibilizar a análise molecular por NGS para CCRH, procedeu-se à sua validação para os genes **MLH1**, **MSH2**, **APC**, **MUTYH**, **STK11**, em 26 amostras, previamente analisados pelo método de Sanger. Utilizou-se a tecnologia da Illumina que compreende o *TruSight Cancer Sequencing Panel* (que possibilita a análise de 94 genes), o kit *TruSight Rapid Capture*, o sequenciador MiSeq e a respetiva análise bioinformática com os *softwares* apropriados.

Foram detetadas por NGS 78 alterações nos genes anteriormente referidos, 32 alterações correspondem a variantes únicas [5 deleções de tamanho variável (2 a 17 nucleótidos), uma inserção-deleção e 26 alterações envolvendo um único nucleótido], tendo todas as alterações sido previamente identificadas pelo método de Sanger.

Os resultados obtidos demonstram a elevada sensibilidade e especificidade da NGS na deteção de alterações nos genes em causa permitindo, assim, disponibilizar a NGS para um painel alargado de genes de suscetibilidade para CCRH, permitindo um diagnóstico molecular mais abrangente, rápido e mais económico relativamente à sequenciação de Sanger.