

# Validação da sequenciação de nova geração (NGS) no diagnóstico molecular de formas hereditárias de cancro da mama e colorretal

Patrícia Theisen<sup>1</sup>, Catarina Silva<sup>2</sup>, Iris Pereira Caetano<sup>1</sup>, Pedro Rodrigues<sup>1</sup>, Glória Isidro<sup>1</sup>, Luís Vieira<sup>2</sup>, João Gonçalves<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

## Introdução

O cancro da mama e o cancro colorretal constituem, entre as patologias oncológicas, duas das principais causas de morte. Cinco a 10% destes casos estão associados a alterações germinais em genes reconhecidamente associados a suscetibilidade para desenvolvimento de formas hereditárias de cancro da mama e de cancro colorretal.

## Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo validar a metodologia de sequenciação de nova geração (NGS), por comparação com os resultados obtidos previamente pelo método de Sanger, para diversas variantes presentes em diferentes genes - *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *APC*, *MUTYH*, *MLH1*, *MSH2* e *STK11* - que conferem suscetibilidade para desenvolvimento de cancro da mama e/ou colorretal.

## Métodos

Foram sequenciadas por NGS 64 amostras de DNA de utentes com suspeita clínica de predisposição hereditária para cancro da mama ou colorretal, utilizando o painel de sequenciação *TruSight Cancer* (análise de 94 genes) e a plataforma *MiSeq* (Illumina). A análise bioinformática dos resultados foi realizada com recurso aos *softwares MiSeq Reporter*, *VariantStudio* e *Isaac Enrichment* (Illumina).

## Resultados

A análise por NGS demonstrou elevada sensibilidade e especificidade analíticas para a deteção de variantes pontuais e inserções/deleções nos oito genes analisados, uma vez que permitiu identificar a totalidade das 412 variantes (93 únicas, incluindo 27 variantes patogénicas) previamente detetadas pelo método de Sanger. Na abordagem por NGS não se detetaram resultados falsos negativos, identificou-se somente um resultado falso positivo, correspondendo a uma variante intrónica (provavelmente não patogénica) no gene *STK11* (c.375-49G>A). Este resultado deveu-se, presumivelmente, a uma baixa cobertura do NGS no nucleótido em causa.

## Conclusão

Os ensaios de validação realizados comprovam a eficiência da NGS na deteção de variantes de sequência em 8 genes com predisposição para cancro da mama e/ou colorretal. A disponibilização da sequenciação por NGS de painéis de genes de predisposição para estes dois tipos de cancro irá, assim, possibilitar um diagnóstico molecular mais abrangente, rápido e mais económico comparativamente às metodologias convencionais. Complementarmente, tanto os utentes afetados como os seus familiares, com o devido aconselhamento genético e sob vigilância clínica especializada, beneficiarão destas novas tecnologias que têm um elevado impacto na saúde pública.

Dado que o painel de sequenciação por NGS utilizado possibilita a análise simultânea de 94 genes associados a predisposição para cancro, evidencia-se o grande potencial de aplicação desta abordagem ao diagnóstico molecular de outros tipos de cancros hereditários.

## Referências bibliográficas

1. Apostolou P, Fostira F (2013). *BioMed Res Int*, 2013: 747318.
2. Lynch, HT, Lynch, JF, Lynch PM, Attard T (2008). *Fam Cancer*, 7: 27-39.
3. LaDuca H et al (2014). *Genet Med*, 16: 830-836.