

# A UTILIZAÇÃO DA “NEXT-GENERATION SEQUENCING” NO ESTUDO DA OBESIDADE MONOGÉNICA

Bernardo Serrasqueiro<sup>1</sup>, Luísa Veiga <sup>1</sup> José Silva Nunes <sup>1,2</sup> e Miguel Brito <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigação em Saúde e Tecnologia, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa,

<sup>2</sup>Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE (Hospital Curry Cabral)

11 Outubro 2018

# NGS

- ▶ Plataformas que permitem:
  - ▶ Sequenciar o DNA;
  - ▶ Reconhecer e identificar variantes de genes;



- ▶ Contributos:
  - ▶ Medicina de precisão;
  - ▶ Abordagem terapêutica;



Imagem 1: Equipamento NGS da *Illumina, Inc.*  
Obtido em :[www.illumina.com/systems/sequencing-platforms.html](http://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms.html)

# NGS e Obesidade

ORIGINAL ARTICLE

## Genetic obesity: next-generation sequencing results of 1230 patients with obesity

Lotte Kleinendorst,<sup>1</sup> Maarten P G Massink,<sup>2</sup> Mellody I Cooman,<sup>3</sup> Mesut Savas,<sup>4</sup> Olga H van der Baan-Slootweg,<sup>5</sup> Roosje J Roelants,<sup>6</sup> Ignace C M Janssen,<sup>3</sup> Hanne J Meijers-Heijboer,<sup>1,7</sup> Nine V A M Knoers,<sup>2</sup> Hans Kristian Ploos van Amstel,<sup>2</sup> Elisabeth F C van Rossum,<sup>4</sup> Erica L T van den Akker,<sup>8</sup> Gijs van Haafden,<sup>2</sup> Bert van der Zwaag,<sup>2</sup> Mieke M van Haelst<sup>1,7</sup>

Kleinendorst *et al*, J Med Genet [Internet]. 2018;jmedgenet-2018-105315



## Next-generation sequencing of the monogenic obesity genes *LEP*, *LEPR*, *MC4R*, *PCSK1* and *POMC* in a Norwegian cohort of patients with morbid obesity and normal weight controls

Gry B.N. Nordang<sup>a,b,c,\*</sup>, Øyvind L. Busk<sup>c</sup>, Kristian Tveten<sup>c</sup>, Hans Ivar Hanevik<sup>d</sup>, Anne Kristin M. Fell<sup>b</sup>, Jorun Hjelmseth<sup>a,e</sup>, Øystein L. Holla<sup>c</sup>, Jens K. Hertel<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Morbid Obesity Centre, Vestfold Hospital Trust, Tonsberg, Norway  
<sup>b</sup> Department of Occupational and Environmental Medicine, Telemark Hospital, Skien, Norway  
<sup>c</sup> Section of Medical Genetics, Department of Laboratory Medicine, Telemark Hospital, Skien, Norway  
<sup>d</sup> Fertiliserstvedingen Sør, Telemark Hospital, Porsgrunn, Norway  
<sup>e</sup> Department of Endocrinology, Morbid Obesity and Preventive Medicine, Institute of Clinical Medicine, University of Oslo, Oslo, Norway



Nordang, *et al*, Mol Genet Metab [Internet]. 2017 May 1,121(1):51-6

# Objectivo

- ▶ Prevalência de mutações associadas à obesidade monogénica numa amostra de 36 pacientes obesos portugueses, utilizando tecnologia de sequenciação NGS.

# Metodologia

- ▶ Critério de inclusão e Amostras:

- ▶ 36 indivíduos Obesos;

- ▶ Pacientes do Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE (Hospital Curry Cabral);
    - ▶ IMC  $\geq 30$  Kg/m<sup>2</sup>;

- ▶ Amostras:

- ▶ Células do epitélio bucal com recurso a zaragatoas;
    - ▶ Extracção de DNA recorrendo a kit *ExtractMe*®, da *BLIRT SA*®;

# Metodologia

▶ Painel de Genes:

ADRB1 ADRB2 ADRB3 BDNF FTO IGF2R LEP LEPR LRP2 MC3R MC4R NEGR1

NPY NPY1R NPY2R NTRK2 PCSK1 POMC SH2B1 SIM1 SORCS1 UCP1 UCP2 UCP3

▶ Preparação de Library - *kit TruSight One®* da *Illumina, Inc.* 2017.



Imagem 2: *kit TruSight One®* *Illumina, Inc.*

Obtido em :

[www.illumina.com/search.html?q=TruSight%20One&filter=buy&p=1](http://www.illumina.com/search.html?q=TruSight%20One&filter=buy&p=1)

▶ Sequênciação - *NextSeq550* da *Illumina, Inc.*



Imagem 3: Equipamento *NextSeq550* da *Illumina, Inc.*

Obtido em : [www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/nextseq.html](http://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms/nextseq.html)

# Resultados

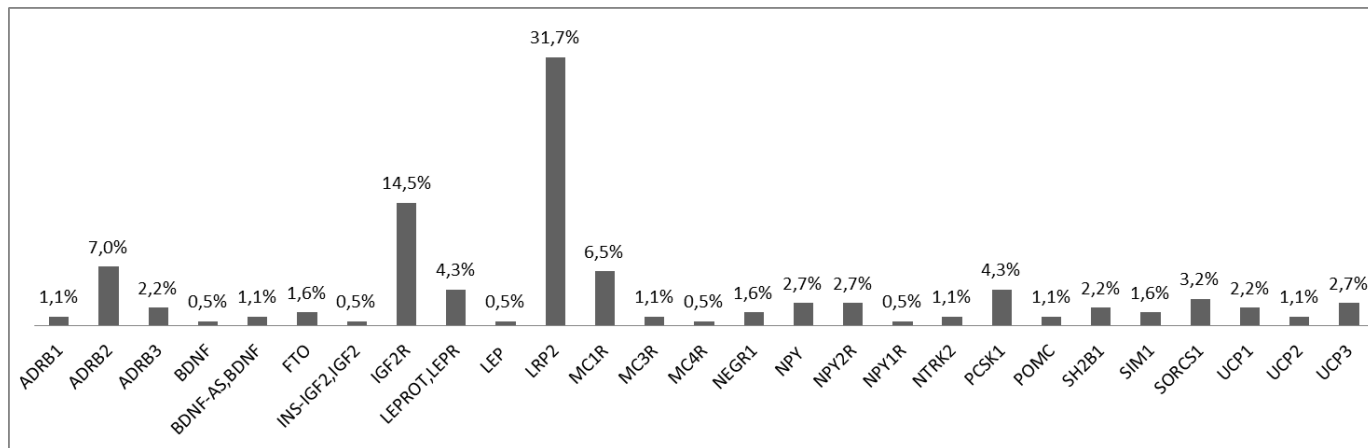


Gráfico 1- Percentagem na distribuição de variações obtidas em cada gene.

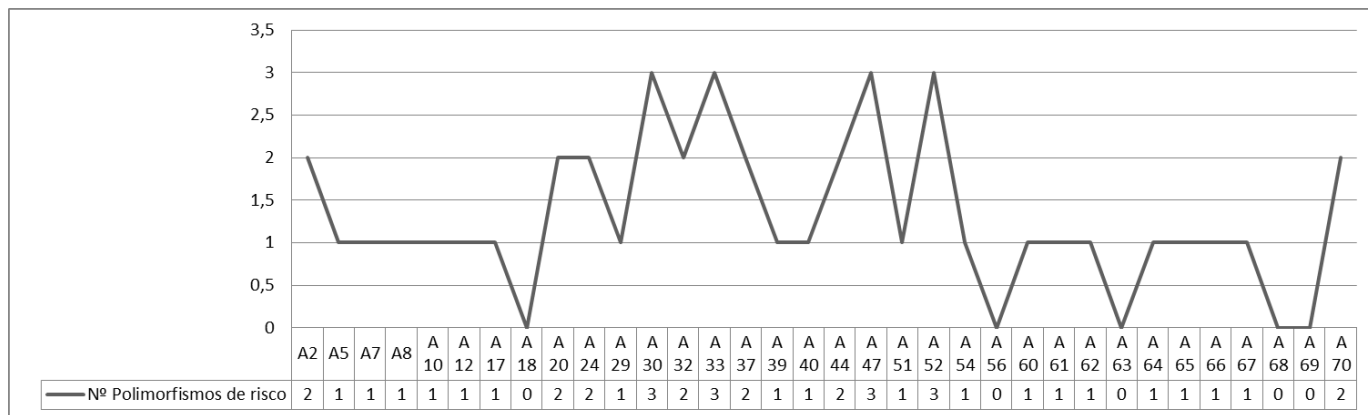


Gráfico 2- Número de polimorfismos em genes, por amostra, com risco elevado associado a previsões polyphen de possivelmente benigno e possivelmente danoso.

Nº de Amostras	Gene	Mutação	Incidência Europeia segundo 1000 Genome Project	Fenótipo	Previsão Polyphen
1	ADRB2	659C>G	0%	Hipertensão	Possivelmente Patogénico
1	ADRB3	1033A>G	0,0%	Sem Informação	Possivelmente Patogénico
		794C>T	0,0%	Sem Informação	Benigno
1	FTO	767G>A	0,4%	Sem Informação	Benigno
5	IGF2R	4094A>G	0,0%	Sem Informação	Benigno
		1063G>A	0,1%	Sem Informação	Benigno
		6857G>A	0,0%	Sem Informação	Benigno
		4511C>T	0,20%	Sem Informação	Benigno
		745C>T	0,0%	Sem Informação	Possivelmente Patogénico
		3320C>T	0,1%	Sem Informação	Possivelmente Patogénico

Tabela 1- Descrição de mutações com uma frequência Europeia ≤1% organizada por gene, com referência a frequência Europeia, fenótipo e previsão polyphen.

Nº de Amostras	Gene	Mutação	Incidência Europeia segundo 1000 Genome Project	Fenótipo	Previsão Polyphen
1	LEP	280G>A	0,0%	Deficiência ou disfunção de leptina, Obesidade monogénica não-sintomática e Diabetes monogénica	Benigno
13	LRP2	12385A>G	Sem Informação	Sem Informação	Possivelmente Patogénico
		6160G>A	0,20%	Sem relevância	Possivelmente Patogénico
		10804G>A	0,10%	Sem relevância	Possivelmente Patogénico
		3110G>A	0,10%	Sem relevância	Benigno
		9592G>A	0,0%	Sem relevância	Benigno
		11092G>A	0,60%	Sem relevância	Benigno
		9413G>A	0,10%	Sem relevância	Benigno
		13156G>A	0%	Sem relevância	Benigno
		3452C>T	0,20%	Sem relevância	Benigno

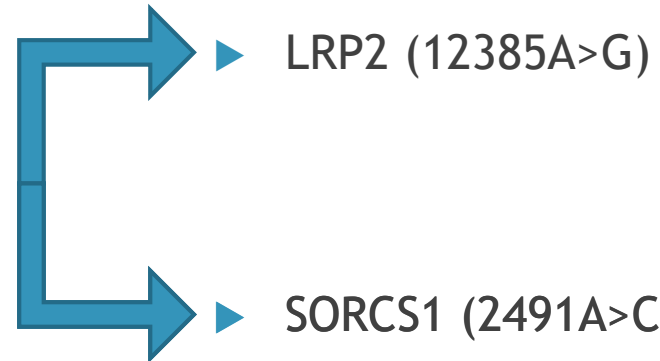
Tabela 1- Descrição de mutações com uma frequência Europeia ≤1% organizada por gene, com referência a frequência Europeia, fenótipo e previsão polyphen.

Nº de Amostras	Gene	Mutação	Incidência Europeia segundo 1000 Genome Project	Fenótipo	Previsão Polyphen
2	MC4R	307G>A	0,69%	Obesidade e Diabetes monogénica	Benigno
2	NPY1R	1121A>C	0,69%	Sem Informação	Benigno
2	POMC	706C>G	0,30%	Susceptibilidade a obesidade	Possivelmente Patogénico
1	SORCS1	2491A>C	Sem Informação	Sem Informação	Possivelmente Patogénico
1	UCP3	211A>C	0,0%	Sem Informação	Benigno

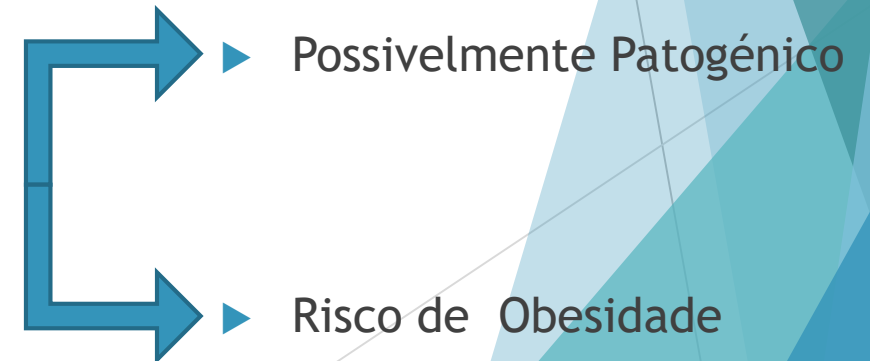
Tabela 1- Descrição de mutações com uma frequência Europeia  $\leq 1\%$  organizada por gene, com referência a frequência Europeia, fenótipo e previsão polyphen.

# Análise de Resultados

- ▶ 2 Mutações não descritas previamente e sem classificação



- ▶ 2 amostras (A2 e A33) com mutação no gene POMC 706C>G



# Conclusão

- ▶ Influência genética na obesidade;
- ▶ Vantagens da NGS:
  - ▶ Identificação de polimorfismos num painel de genes personalizável;
  - ▶ Auxílio no diagnóstico clínico;
  - ▶ Actuação de forma preventiva;
  - ▶ Terapêutica personalizável;

Obrigado Pela Atenção!

# Bibliografia

- ▶ Nordang GBN, Busk ØL, Tveten K, Hanevik HI, Fell AKM, Hjelmæsæth J, et al. Next-generation sequencing of the monogenic obesity genes LEP, LEPR, MC4R, PCSK1 and POMC in a Norwegian cohort of patients with morbid obesity and normal weight controls. Mol Genet Metab [Internet]. 2017 May 1 [cited 2017 Oct 27];121(1):51-6. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096719216308319>
- ▶ Kleinendorst L, Massink MPG, Cooiman MI, Savas M, van der Baan-Slootweg OH, Roelants RJ, et al. Genetic obesity: next-generation sequencing results of 1230 patients with obesity. J Med Genet [Internet]. 2018;jmedgenet-2018-105315. Available from: <http://jmg.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jmedgenet-2018-105315>