



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Genética e Morfologia

KARINA FIGUEIREDO HENRIQUES

**VARIANTES GÊNICAS RARAS EM PACIENTES DO SEXO FEMININO (46,XX)
QUE APRESENTAM DEFICIÊNCIA INTELECTUAL SINDRÔMICA**

Orientadora: Professora Doutora Silviene Fabiana de Oliveira
Co-orientadora: Professora Doutora Juliana Forte Mazzeu de Araújo
Brasília – Distrito Federal, Brasil

2025



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Genética e Morfologia

KARINA FIGUEIREDO HENRIQUES

**VARIANTES GÊNICAS RARAS EM PACIENTES DO SEXO FEMININO (46,XX)
QUE APRESENTAM DEFICIÊNCIA INTELECTUAL SINDRÔMICA**

Dissertação apresentada como
requisito parcial para a obtenção do
título de mestre pelo Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal da
Universidade de Brasília.

Orientadora: Prof. Dra. Silviene
Fabiana de Oliveira

Co-orientadora: Prof. Dra. Juliana
Forte Mazzeu de Araújo

Brasília – Distrito Federal, Brasil

2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Silviene de Oliveira por ter me dado a oportunidade de seguir meu sonho de trabalhar na área de genética humana, e por sempre ouvir minhas ideias de pesquisa e ajudar a colocá-las em prática. Agradeço também à minha co-orientadora, Juliana Mazzeu, por sempre corrigir meus erros e me ensinar mais sobre genética médica, permitindo que eu faça o melhor trabalho possível. Agradeço ao Georgios Pappas por ter me ajudado com Bioinformática e codificação de proteínas, isso possibilitou o aprofundamento do meu trabalho. Também sou grata aos meus colegas de laboratório, tanto do Instituto de Ciências da Saúde quanto da Faculdade de Ciências da Saúde, principalmente a Samyra e o Reyner, que me apoiaram e auxiliaram ao longo do mestrado.

Agradeço à Universidade de Brasília, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal e a todos os outros órgãos que permitiram a realização dessa pesquisa, à Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Agradeço ao Hospital Universitário de Brasília e seus funcionários, principalmente às doutoras Mara Cordoba e Beatriz Versiani. Agradeço também aos pacientes e seus pais e responsáveis.

Agradeço às minhas amigas da escola e da faculdade, que me acompanharam todos esses anos e sempre me apoiaram emocionalmente e me incentivaram, sem vocês eu não teria completado minha tese. Agradeço a toda a minha família por estar ao meu lado durante toda a minha vida e terem participado da minha criação e desenvolvimento como pessoa. Agradeço principalmente aos meus pais, Manuela e Antônio por sempre terem incentivado minha curiosidade e vontade de aprender mais, sem eles eu não teria me formado ou feito uma pós-graduação.

Agradeço a todos citados acima e todos que de alguma maneira participaram da realização dessa pesquisa, sem vocês seria impossível a escrita dessa dissertação e a exposição de seus resultados.

EPÍGRAFE

“O maior perigo que enfrentamos somos nós mesmos, um medo irracional do desconhecido. Mas não existe tal coisa como o desconhecido – somente coisas temporariamente escondidas, temporariamente não compreendidas.”

James Tiberius Kirk (Star Trek)

“Frequentemente tememos o que não entendemos. Nossa melhor defesa é o conhecimento.”

Tenente Tuvok (Star Trek)

RESUMO

A deficiência intelectual (DI) é uma desordem do desenvolvimento que gera limitações em habilidades mentais, funções intelectuais, comportamento adaptativo e habilidades motoras em pessoas afetadas pelo quadro, seja ela sindrômica ou não. A etiologia da DI é extensa e heterogênea, englobando fatores ambientais pré-natais, fatores perinatais e pós-natais, alterações cromossômicas, mutações em um único gene ou múltiplos, entre outras causas. Apesar da utilização de metodologias de citogenética clássica e molecular, e do surgimento e uso do sequenciamento de nova geração (NGS) na investigação da DI, a maioria das pessoas afetadas por essa deficiência ainda não possuem determinada a causa do seu quadro. Inserido nesse contexto, o presente projeto visou investigar e aumentar o entendimento da deficiência intelectual sindrômica em pessoas com cariótipo 46,XX. Nesse sentido, foram selecionadas 15 pacientes acompanhadas pela equipe médica do ambulatório de genética do Hospital Universitário de Brasília (HUB). A busca pela etiologia genética da DI sindrômica dessas pacientes foi feita por meio da utilização da metodologia de sequenciamento completo de exoma (WES), utilizadas de maneira promissora na pesquisa de doenças raras e de DI. No total, foi sequenciado e analisado o exoma de 15 pacientes, sendo que em somente 7/15 dos casos houve o diagnóstico molecular para a etiologia da deficiência intelectual sindrômica. Dos sete casos que tiveram diagnóstico, dois se destacam, uma vez que foram encontradas variantes patogênicas não relatadas previamente. Nos casos que se destacaram, encontrou-se a variante c.1318T>C no gene *NARS*, causadora do Transtorno de Neurodesenvolvimento com Microcefalia, Prejuízo da Linguagem, Epilepsia e Anormalidades da Marcha; e as variantes c.550G>A e c.1553C>G, encontradas no gene *PIGT*, causadoras da Síndrome de Múltiplas Anomalias Congênitas-Hipotonia-Convulsões.

Palavras-chave: Deficiência intelectual, sequenciamento de nova geração, sequenciamento completo de exoma, genética médica, doenças raras.

ABSTRACT

Intellectual disability (ID) is a developmental disorder that causes limitations in mental abilities, intellectual functions, adaptive behavior, and motor skills in affected individuals, whether the condition is syndromic or not. The causes of ID are broad and diverse, including prenatal environmental factors, perinatal and postnatal factors, chromosomal changes, mutations in one or more genes, and other reasons. Despite using traditional and molecular cytogenetic methods, as well as the emergence of next-generation sequencing (NGS) in ID research, the cause of the condition remains unknown for most individuals. In this context, this project aimed to explore and deepen the understanding of syndromic intellectual disability in women. Fifteen patients, under the care of the genetics outpatient clinic at Hospital Universitário de Brasília (HUB) were selected. The genetic causes of syndromic ID in these patients were investigated using whole exome sequencing (WES), which is a promising method for studying rare diseases and ID. The exomes of all fifteen patients were sequenced and analyzed, resulting in a molecular diagnosis for seven cases. Of these, two cases are particularly noteworthy because they involved pathogenic variants not previously reported. These included the c.1318T>C variant in the *NARS* gene, that causes the Neurodevelopmental Disorder with Microcephaly, Language Impairment, Epilepsy and Gait Abnormalities; and c.550G>A and c.1553C>G variants, found in the *PIGT* gene, linked to Multiple Congenital Anomalies-Hypotonia-Seizures Syndrome.

Keywords: Intellectual disability, next generation sequencing, whole exome sequencing, medical genetics, rare diseases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Heredograma da família da paciente 1.

Figura 2. Variante c.6881-5T>G em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *FBN2* da paciente 1. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 3. Heredograma da família da paciente 2.

Figura 4. Deleção de 1.8Mbp no cromossomo 5 da paciente 2, com perda de 44 genes e regiões. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 5. Duplicação de 12.9Mbp no cromossomo 20 da paciente 2, com perda de 44 genes e regiões. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 6. Ideograma dos cromossomos 5 e 20 da paciente 2. A. Esquematização do cromossomo não afetado (5) e do cromossomo com a deleção de 1.8Mbp [der(5)]. B. Esquematização do cromossomo não afetado (20) e do cromossomo com a duplicação de 12.0Mbp [der(20)].

Figura 7. Heredograma da família da paciente 3.

Figura 8. Heredograma da família da paciente 4.

Figura 9. Variante c.1474C>G, com alelo de referência identificado no gene *RYR1* da paciente 4. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 10. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *RYR1* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (R492) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas em preto. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

Figura 11. Heredograma da família da paciente 5.

Figura 12. Deleção dos exons 2 e 3, com alelo de referência identificado no gene *TCF7L2* da paciente 5. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 13. Representação da estrutura do gene *TCF7L2* com a localização da deleção encontrada na análise de exoma.

Figura 14. Expressão do gene *TCF7L2* pelo corpo humano, cada tecido é representado por uma cor diferente. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

Figura 15. Expressão do gene *TCF7L2* no cérebro humano A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

Figura 16. Heredograma da família da paciente 6.

Figura 17. Heredograma da família da paciente 7.

Figura 18. Variante c.550G>A em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *PIGT* da paciente 7. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 19. Variante c.1553C>G em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *PIGT* da paciente 7. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 20. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *PIGT* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (E184) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas em preto. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

Figura 21. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *PIGT* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (P510) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas em preto. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

Figura 22. Predição da mudança da estabilidade da proteína codificada pelo gene *PIGT* após a sua modificação pela variante c.550G>A (p.E184K). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 23. Conformação e interações moleculares do aminoácido 184 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *PIGT*. Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 24. Conformação e interações moleculares do aminoácido 184 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *PIGT* mutado. O gene possui a variante c.550G>A (p.E184K). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 25. Predição da mudança da estabilidade da proteína codificada pelo gene *PIGT* após a sua modificação pela variante c.1553C>G (p.P518R). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 26. Conformação e interações moleculares do aminoácido 518 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *PIGT*. Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 27. Conformação e interações moleculares do aminoácido 518 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *PIGT* mutado. O gene possui a variante c.1553C>G (p.P518R). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 28. Variante c.227T>C em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *INF2* da paciente 7. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 29. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *INF2* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (L76) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas em preto. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

Figura 30. Heredograma da família da paciente 8.

Figura 30. Variante c.1318T>C em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *NARS1* da paciente 8. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 32. Expressão do gene *NARS* pelo corpo humano, cada tecido é representado por uma cor diferente. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

Figura 33. Expressão do gene *NARS* no cérebro. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

Figura 34. Exons do gene *NARS* em todos os tecidos nos quais ele é expresso. O córtex frontal está marcado em vermelho. Imagem gerada pelo portal gtex.

Figura 35. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *NARS* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (F440) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas em preto. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

Figura 36. Predição da mudança da estabilidade da proteína codificada pelo gene *NARS* após a sua modificação pela variante c.1318T>C (p.F440L). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 37. Conformação e interações moleculares do aminoácido 440 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *NARS*. Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 38. Conformação e interações moleculares do aminoácido 440 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *NARS* mutado. O gene possui a variante c.1318T>C (p.F440L). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Figura 39. Heredograma da família da paciente 9.

Figura 40. Variante c.20_25del em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *SETD2* da paciente 9. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Figura 41. Expressão do gene *SETD2* pelo corpo humano, cada tecido é representado por uma cor diferente. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

Figura 42. Expressão do gene *SETD2* no cérebro humano. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

Figura 42. Heredograma da família da paciente 10.

Figura 43. Heredograma da família da paciente 11.

Figura 44. Heredograma da família da paciente 12.

Figura 45. Heredograma da família da paciente 13.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Tipos de variantes de gene único e seus efeitos.

Quadro 2. Filtros gerais utilizados nas análises de exoma das pacientes.

Quadro 3. Filtros específicos, de acordo com o quadro clínico apresentado, utilizados na análise de exoma de cada uma das pacientes.

Quadro 4. Pacientes que tiveram resultado de exoma, com a respectiva variante, efeito na proteína e síndrome.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACMG – Colégio Americano de Genética e Genômica Médica (do inglês, *American College of Medical Genetics and Genomics*).

ACV – Acesso Venoso Central

AD – Autossômico Dominante

ADNPM – Atraso do Desenvolvimento Psicomotor

AR – Autossômico Recessivo

CDG – Distúrbio Congênito de Glicosilação

CMA – Análise de Microarray Cromossômico

CNV – Variações no Número de Cópias

DDPYS – Deficiência de Dihidropirimidinase

DI – Deficiência Intelectual

DI-S – Deficiência Intelectual Sindrômica

DI-NS – Deficiência Intelectual Não Sindrômica

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DNM – Mutação *de novo*

EcoTF – Ecografia Transfontanelar

EEG – Eletroencefalograma

FISH – Hibridização *in situ* por Fluorescência (do inglês, *Fluorescent in situ hybridization*)

HUB – Hospital Universitário de Brasília

NGS – Sequenciamento de Nova Geração

PIG – Pequeno Para a Idade Gestacional

RNA – Ácido ribonucleico

RNM – Ressonância Nuclear Magnética

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Polimorfismos de Nucleotídeo Único

SXF – Síndrome do X Frágil

TC – Tomografia Computorizada

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TEA – Transtorno do Espectro Autista

US – Ultrassom

USG – Ultrassonografia

VUS – Variante de Significado Incerto

WES – Sequenciamento de Exoma Completo

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	15
1.1 – Genética e Clínica da DI.....	15
1.2 – Causas da DI.....	16
1.2.1 - Fatores Ambientais.....	16
1.2.2 – Fatores Genéticos.....	17
Inativação Aleatória do Cromossomo X.....	19
Síndrome do X Frágil.....	19
1.2.3 – Doenças Metabólicas.....	20
1.2.4 – Alterações Epigenéticas.....	20
1.3 – Metodologias para busca de etiologia genética de DI.....	21
Cariótipo.....	21
Hibridização Genômica Comparativa (CGH-array).....	21
Array de Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP-array).....	22
Análise Cromossômica de Microarray (CMA).....	22
Sequenciamento Completo de Exoma.....	22
1.4 – Dificuldades no diagnóstico preciso de DI.....	23
2- JUSTIFICATIVA.....	23
3- OBJETIVOS.....	24
4- MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1- Seleção das Pacientes.....	24
Critérios de Inclusão e Exclusão.....	24
4.2 – Coleta e Armazenamento das Amostras.....	24
4.3 - Cariotipagem e Bandeamento G.....	25
4.4 - Teste para Síndrome do X-frágil.....	25
4.5 – Extração e Quantificação do DNA.....	25
4.6 – Sequenciamento de Exoma Completo (WES).....	25
4.7 – Análise de Exoma.....	26
Passos da análise.....	26
4.8 – Estudo da variante após análise de exoma.....	30
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1 - Paciente 1.....	32
5.2 – Paciente 2.....	35
5.3 – Paciente 3.....	39
5.4 – Paciente 4.....	41
5.5 – Paciente 5.....	45
5.6 – Paciente 6.....	48
5.7 – Paciente 7.....	50
5.8 – Paciente 8.....	59
5.9 – Paciente 9.....	66
5.10 – Paciente 10.....	69
5.11 – Paciente 11.....	71
5.12 – Paciente 12.....	73

5.13 – Paciente 13.....	74
5.14 – Paciente 14.....	75
5.15 – Paciente 15.....	76
5.16 - Síntese dos resultados.....	76
5.17 - Possíveis razões para não ter ocorrido a identificação de variantes que expliquem o quadro clínico.....	78
6 - CONCLUSÃO.....	79
REFERÊNCIAS.....	80

1- INTRODUÇÃO

A deficiência intelectual (DI) corresponde a um desenvolvimento intelectual incompleto, o que leva a determinadas limitações em habilidades mentais, funções intelectuais, comportamento adaptativo e habilidades motoras, quando comparada às habilidades existentes em indivíduos da mesma idade, sexo e cultura [1]. A DI é caracterizada por três aspectos: déficits cognitivos, déficits em funções adaptativas e início do quadro durante os primeiros anos de desenvolvimento (infância) [2]. Esses déficits geram dificuldades no convívio social e doméstico da pessoa afetada, o que causa a necessidade de apoio físico e emocional pela família e pessoas próximas, além de ajuda profissional qualificada para melhor orientar os familiares em como lidar com a situação [2].

A pesquisa sobre as possíveis causas da deficiência intelectual, e o surgimento de novos tratamentos que facilitem a rotina das pessoas que a apresentam se mostra de grande importância sociocultural e econômica, devido à taxa da população que apresenta essa condição [3]. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que cerca de 10% da população de qualquer país em tempo de paz apresenta algum tipo de deficiência, sendo que dessa porcentagem, 5% referem-se a algum tipo de DI [3].

No Brasil, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) realizou em 2023 uma pesquisa de nome: Pessoas com deficiência, da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua (PNAD). Essa pesquisa revelou que 18,6 milhões de pessoas acima de 2 anos no Brasil têm algum tipo de deficiência, cerca de 8,9% da população [4], sendo que dessa porcentagem, 2,6% têm dificuldade para aprender, lembrar ou se concentrar [4,5]. Outra pesquisa realizada em 2021, também pelo IBGE, relatou que 8,4% da população brasileira tinha algum tipo de deficiência, cerca de 17 milhões de pessoas acima de 2 anos, sendo que destas 1,2% se caracterizavam como deficiência intelectual [6]. Quando comparadas, as pesquisas mostram o aumento no número de pessoas com necessidades especiais ao longo dos últimos anos, o que demonstra a necessidade de procurar entender melhor os fatores que têm causado essa elevação, principalmente devido ao impacto econômico e social que recai sobre a população.

1.1 – Genética e Clínica da DI

A DI pode ser dividida de duas maneiras em relação a sua clínica: ela pode aparecer de maneira isolada, como DI não sindrômica (DI-NS), ou associada com outros fenótipos, apresentando-se como DI sindrômica (DI-S) [7]. A DI quando sindrômica pode ocorrer, por exemplo, em conjunto com características faciais dismórficas, outras anomalias morfológicas, múltiplos problemas neuropsiquiátricos e/ou neurocomportamentais, como transtorno do

espectro autista (TEA) e epilepsia, e complicações na atividade neuromuscular, como Distrofia muscular [7].

Atualmente, a avaliação do quociente de inteligência (QI), não é mais usada isoladamente como uma forma de propor uma possível DI. Em vez disso, utilizam-se três critérios que devem ser atendidos de maneira a caracterizar uma provável DI. De acordo com a Associação Americana de Psiquiatria [1], os critérios são:

- “(i) déficits no funcionamento intelectual confirmados por avaliação clínica e teste de QI padrão; (ii) déficits no funcionamento adaptativo que resultam no fracasso em atender aos padrões socioculturais e de desenvolvimento para independência pessoal e responsabilidade social; e (iii) início de déficits durante o período de desenvolvimento.”

A severidade (leve, moderada, grave ou profunda) da DI é baseada no nível de déficits de funcionamento adaptativo da pessoa nos domínios conceitual, social e prático, o que estipula o nível de apoio necessário [1].

Em relação à genética, existem diversas variantes patogênicas de genes envolvidos no desenvolvimento e manutenção do sistema nervoso central (SNC) que estão associadas a DI, ao atraso na fala, à sustentação sem apoio e ao quadro de convulsões [2], por exemplo. Essas variantes podem apresentar um padrão de herança genética autossômica dominante (AD), autossômica recessiva (AR) ou ligada ao cromossomo X [8], além de mitocondrial [9]. Empresas de exames genéticos oferecem a opção de triagem por meio de painéis específicos para um determinado distúrbio, com variantes gênicas que já foram clinicamente relacionadas a esses quadros. Como exemplo de painéis voltados para a DI, existem os para Autismo (Anexo 1) e o painel Movimento (Distúrbios do Neurodesenvolvimento e Movimento – Anexo 2), da empresa Mendelics.

1.2 – Causas da DI

A etiologia da DI é extensa e heterogênea, incluindo fatores ambientais pré-natais, fatores perinatais e pós-natais, alterações cromossômicas, mutações de um único gene, entre outras causas [10], explorados de maneira detalhada abaixo.

1.2.1 - Fatores Ambientais

Os fatores ambientais supracitados fazem referência às influências não genéticas que podem interferir com o funcionamento normal e esperado de um determinado organismo, no caso, levando a um quadro de DI. Eles podem ocorrer antes e/ou após o nascimento, sendo de natureza biológica, química ou socioeconômica [11, 12, 13 e 14].

O status socioeconômico de uma família já foi caracterizado como um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças neurológicas [11]. Isso acontece não somente pelo diferencial de oportunidades e cuidados médicos que uma criança de classe alta recebe, quando comparada a uma de classe desfavorecida, como também pela maneira que essa diferença afeta a mãe durante o período gestacional. Um exemplo disso é a maneira como o estresse de uma gravidez associado a uma situação econômica desfavorável pode afetar a atividade do sistema imune da mãe, levando a anomalias neurológicas no feto durante o primeiro ano de vida [12].

Ademais, diversos fatores pré-natais, perinatais e neonatais já foram associados com uma maior chance de desenvolvimento de DI, entre eles: idade materna avançada (acima de 35 anos), uso de drogas durante a gravidez, nascimento prematuro, nascimento com baixo peso para a idade gestacional (PIG) e doenças maternas durante a gestação (asma, diabetes, hipertensão e epilepsia). [13] Como o feto é facilmente influenciado pelas condições maternas durante o período gestacional, qualquer interferência ambiental danosa pode levar a um quadro de DI [13]. Por fim, exposição ambiental a teratógenos, vírus ou radiação também são associados ao desenvolvimento de DI, assim como ferimentos de impacto na cabeça e falta de oxigênio no cérebro durante ou após o parto [14].

1.2.2 – Fatores Genéticos

Alterações Cromossômicas

As alterações cromossômicas podem ser divididas em dois tipos, as numéricas e as estruturais. As alterações cromossômicas numéricas são classificadas em euploidia, quando há alteração na ploidia, isso é, de $2n$ para $3n$, por exemplo; aneuploidia, que é a perda ou ganho de um ou mais cromossomos em um par de homólogos; e hiperdiploidia, quando a perda ou ganho ocorre em homólogos distintos em um mesmo indivíduo ou tecido (câncer) [15]. Essas mutações tendem a gerar quadros mais graves do que em mutações de ponto, isso devido à grande quantidade de genes diferentes que normalmente são alterados [15]. Exemplos de síndromes conhecidas causadas por esse tipo de alteração, cujos afetados apresentam quadro de DI, são a Síndrome de Down (OMIM #190685) e a Síndrome de Edwards (OMIM %300484).

Alterações cromossômicas estruturais são geralmente causadas devido a quebras cromossômicas, comumente ocorridas na interfase, que não são corretamente reparadas durante a replicação [15]. Elas podem afetar só um cromossomo ou mais de um cromossomo ao mesmo tempo. As que afetam somente um cromossomo podem ser divididas em três tipos:

deleção, quando ocorre a perda de um segmento cromossômico durante a reparação de duas quebras; duplicação, quando há a inserção de um segmento cromossômico que gera a presença de duas cópias de cada região afetada; inversão, que ocorre quando um segmento com dois pontos de quebra é conectado de maneira invertida [15]. As que afetam mais de um cromossomo ao mesmo tempo são as translocações, que ocorrem quando um segmento cromossômico é religado a um cromossomo de um grupo de ligação diferente e podem ser divididas em três tipos: recíproca, quando ocorre entre cromossomos não-homólogos, não-recíproca, quando um segmento de um cromossomo é inserido em outro cromossomo sem, entretanto, a troca de segmentos e Robertsonianas, quando ocorre especificamente entre cromossomos acrocêntricos [15, 16]. Exemplos de síndromes causadoras de DI com esse tipo de alteração são: Síndrome de Cri-du-Chat (deleção 5p) (OMIM #123450) e Síndrome Wolf-Hirschhorn (deleção 4p16.3) (OMIM #194190).

Alterações de Gene Único (monogênicas)

As alterações de gene único são causadas por mutações na sequência de bases que o formam. Essas alterações podem ou não levar a quadros associados com distúrbios clínicos, porém elas são importantes para a variabilidade genética da população, gerando loci polimórficos [15], isto é, quando o alelo mais comum apresentar uma frequência inferior a 99% em ao menos uma das populações que constituem a espécie. Dentre os tipos mais comuns de variantes, alguns estão mais comumente associados a patologias, como as de sentido trocado (Quadro 1).

Tipo de Variante	Efeito da Mutação
Sentido Trocado (<i>Missense</i>)	Variante pontual, não-sinônima, que altera um único nucleotídeo, levando a codificação de um aminoácido diferente do original
Sem Sentido (<i>Nonsense</i>)	Variante cuja alteração de nucleotídeo dá origem a um códons de parada
Alteração do Quadro de Leitura (<i>Frameshift</i>)	Inserção ou deleção não múltipla de três nucleotídeos que gera uma alteração no quadro de leitura, o que resulta em diferentes códons a partir da variante ou códons de parada não previamente existentes
Inserção	Inserção grande ou pequena de um segmento de nucleotídeos
Deleção	Deleção grande ou pequena de um segmento de nucleotídeos

Quadro 1. Tipos de variantes em gene único e seus efeitos.

Inativação Aleatória do Cromossomo X

As variantes patogênicas que causam quadros de DI podem estar localizadas nos cromossomos autossômicos, nos sexuais, ou estar no genoma mitocondrial, podendo afetar tanto o sexo feminino quanto o masculino [17]. No entanto, dentre os pacientes que apresentam DI com etiologia genética, o sexo mais afetado é o masculino, pois, apesar do cromossomo X conter somente por volta de 5% do genoma humano, ele é enriquecido com genes que fisiologicamente desempenham papel no desenvolvimento do sistema nervoso central [17].

Outra razão pela qual a população masculina é mais afetada pela DI é devido à inativação aleatória de um dos cromossomos X que ocorre nas células das fêmeas de mamíferos [18]. Primeiramente, é necessário explicar que em espécies heterogaméticas existe um problema de dosagem gênica nos machos, tendo em vista que, neles, um único cromossomo X exerce as mesmas funções que dois cromossomos X em fêmeas [18]. Em fêmeas de mamíferos ocorre a inativação de um dos cromossomos X nas células e, em consequência desse mecanismo, e da sua manutenção estável ao longo da vida, fêmeas adultas são um mosaico de duas populações celulares distintas, nas quais um dos cromossomos X, o materno ou o paterno, está inativado [18]. Com isso, enquanto os pacientes homens que possuem variações patogênicas ligadas ao cromossomo X são normalmente fortemente afetados, o fenótipo em fêmeas é altamente variável [18].

Síndrome do X Frágil

A Síndrome do X Frágil (SXF) (OMIM #300624) é uma doença de expansão, denominação dada a um conjunto de doenças que ocorrem devido à expansão de repetição de um conjunto de trinucleotídeos, geralmente, ou tetra- a penta-. Esse é o distúrbio monogênico que mais causa quadros de DI e autismo. Na SXF, a expansão de trinucleotídeos ocorre no cromossomo X e é a causa mais comum de deficiência intelectual de grau moderado em homens, sendo desta forma o motivo mais recorrente da DI hereditária [19]. O nome dessa síndrome remete a um marcador citogenético no lócus Xq27.3 do cromossomo X, o chamado sítio frágil, no qual ocorre uma falha na condensação da cromatina durante a mitose [19].

A SXF é causada por uma expansão instável de repetições da trinca CGG, que se localiza na região 5' não traduzida do gene *FMR1*. O número normal de repetições é de até 50, e uma repetição de trincas maior do que essa quantidade, entre 56 e 200, constitui um estado intermediário de pré-mutação. Por fim, mais de 200 repetições são vistas em indivíduos com a mutação “completa” da SXF [19]. Nesses casos, a metilação de todas essas trincas gera o silenciamento do gene *FMR1*. Isso é um problema pois o produto do gene

FMR1, a proteína FMRP, interage com os ribossomos por meio do controle da tradução de mensageiros específicos, e a sua perda leva a alterações na conectividade sináptica, levando a um quadro clínico de DI [20].

As expansões no estado intermediário são instáveis quando transmitidas de uma mãe para seus filhos e têm uma propensão a aumentar até uma mutação completa durante a gametogênese nas mulheres. Isso acontece, pois, a frequência de expansão está diretamente relacionada ao número de repetições, dessa maneira, quanto maior o tamanho da pré-mutação, maior o risco para a expansão completa [19]. Apesar da chance de mulheres terem DI por SXF ser menor do que em homens, essa ainda é uma possibilidade considerável para a presença do quadro, e deve ser levada em consideração antes de mais exames genéticos.

1.2.3 – Doenças Metabólicas

Desde 2006 já foram publicadas diversas pesquisas que realizaram testes de função metabólica de maneira a elucidar a causa da DI. Dos pacientes testados, 1%-5% possuíam quadro de DI como consequência de alguma síndrome metabólica [20]. Mais de 81 doenças metabólicas tratáveis foram identificadas como tendo DI como a principal característica clínica, sendo algumas delas: Homocistinúria (OMIM #236200), Fenilcetonúria (OMIM #261600) e Doença de Wilson (OMIM #277900) [21]. Devido ao grande número de síndromes metabólicas associadas a DI sindrômica, testes de função metabólica, ou outras possibilidades de investigação, devem ser levados em consideração em casos de quadro de DI cuja causa ainda não foi identificada [20, 21].

1.2.4–Alterações Epigenéticas

A regulação epigenética da expressão genômica desempenha um papel crucial no processamento da atividade sináptica, que é necessária para que ocorram modificações duradouras dos circuitos neurais e das propriedades neurais de um cérebro adulto [23]. Pesquisas relacionadas à genética humana e à pesquisa clínica durante as últimas décadas levaram à identificação de centenas de genes responsáveis pela DI, sendo que grande quantidade destes codifica para reguladores epigenéticos, como proteínas que realizam modificações pós-tradicionais em histonas, modificações de bases de DNA e outras alterações covalentes e não covalentes da cromatina [24]. Existem diversas síndromes causadas por mutações em reguladores da cromatina que ocasionam em um quadro DI, dentre elas podem ser citadas: Síndrome de Rett (OMIM #312750), Síndrome da Alfa-talassemia (OMIM #301040), Síndrome de Kleefstra (OMIM #610253) e variantes de ponto na Demetilase-1 Específica da Lisina (OMIM #616728).

1.3 – Metodologias para busca de etiología genética de DI

Cariótipo

Cariótipo é o conjunto de cromossomos típico de uma espécie. Em humanos, o cariótipo é composto por 22 pares de cromossomos autossômicos e um par de cromossomos sexuais (Y e X), totalizando 46 cromossomos. Para a análise do cariótipo de um indivíduo, analisa-se, geralmente, os cromossomos metafáscicos, os quais são organizados por tamanho e morfologia, e é o método mais antigo de análise citogenética, sendo utilizado com sucesso para o diagnóstico da DI causada por grandes alterações cromossômicas estruturais e numéricas [8]. O cariótipo também contribuiu para a investigação de casos de DI familiar, ajudando a identificar por volta de 161 variantes patogênicas com locus no cromossomo X [15].

A técnica consiste na análise dos cromossomos humanos em lâminas preparadas especificamente para esse fim [17]. O tipo celular mais utilizado para a realização desse exame é o linfócito do sangue periférico devido a facilidade de obtenção e cultivo. Porém, para triagem pré-natal, o cariótipo é realizado com amostras de vilosidades coriônicas, de líquido amniótico ou de sangue do cordão umbilical [25]. O tipo de preparação mais utilizado é o de bandeamento G, que produz faixas claras e escuras ao longo dos cromossomos, de acordo com a condensação da cromatina. Porém, existem outros tipos de coloração que também podem ser aplicados nesse exame, como o de Banda C, usado na análise de alterações no cromossomo Y e cromossomos dicêntricos, e o de Banda NOR, que ajuda a identificar alterações estruturais que envolvem regiões organizadoras de nucléolo [25].

Hibridização Genômica Comparativa (CGH-array)

A CGH possibilita a identificação de regiões de pequenas perdas ou ganhos de material cromossômico que não seriam visíveis no cariótipo [25, 26]. Essa técnica é baseada na co-hibridização de um DNA teste, do paciente, e um DNA de referência, marcados com fluorocromos verde e vermelho respectivamente, em lâminas que contêm cromossomos metafáscicos normais. Deleções são observadas pela prevalência da marcação vermelha no teste, e os ganhos de DNA são vistos por meio da dominância da marcação verde [25]. A CGH ainda permite a utilização de sondas que correspondem a mais de 1 milhão de marcadores de todo o genoma cuja alteração pode ser associada a um quadro clínico como polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) e variação no número de cópias (CNV) [25,26].

Array de Polimorfismo de Nucleotídeo Único (SNP-array)

A SNP-array é uma ferramenta genética ainda amplamente utilizada para detectar mudanças nas sequências de DNA, como variações no número de cópias (CNVs) maiores que 1 kb, e regiões de ausência de heterozigose (causadas por dissomia uniparental) [27]. Essa técnica depende da utilização de milhares de sondas que permitem, em uma única reação, a genotipagem de milhares de SNPs espalhados por todos os cromossomos [28]. SNP-array e CGH-array são as principais análises realizadas para casos de DI não solucionados [29], porém eles não detectam mutações de ponto [27].

Análise Cromossômica de Microarray (CMA)

A CMA pode utilizar uma de duas técnicas, CGH-array ou SNP-array, dessa maneira essa técnica possui a capacidade de detectar microdeleções e microinserções, o que a torna mais sensível e específica que o cariótipo. Caso não sejam encontradas variações no cariótipo que justifique o quadro clínico de DI, o melhor passo a seguir é a realização de uma AMC [30, 31].

Sequenciamento Completo de Exoma

O sequenciamento completo de exoma (WES) é o sequenciamento dos exons dos cerca de 20.000 genes codificadores de proteína, no caso do WES humano, via Sequenciamento de Nova Geração (NGS), também denominado sequenciamento paralelo massivo (MPS). Apesar da WES ser uma técnica restrita à análise de exons, ela é muito útil para o diagnóstico de doenças genéticas, já que, estima-se, aproximadamente 85% das variantes patogênicas são localizadas nos exons [26]. Esse tipo de análise genética se mostra especialmente promissora para a avaliação de condições que são fenotípicamente e geneticamente heterogêneas, como a DI, e é usado no diagnóstico de casos que não possuem um diagnóstico definitivo [32]. WES é amplamente utilizado para a detecção de mutações *de novo* (DNMs) e variantes de significado incerto (VUS), sendo que esses tipos de variantes possuem um papel significativo na etiologia de quadros de DI-S [32, 33].

Uma avaliação sistemática sobre a contribuição de WES para o diagnóstico de DI [33] mostrou que essa técnica contribuiu para o diagnóstico de 42% dos casos, sendo que a porcentagem de sucesso diagnóstico foi maior quando os pais do probando e os membros afetados da família também realizaram o exame. O estudo também demonstrou que a consanguinidade é um fator importante para a presença de DI, estando presente em 53,3% das famílias analisadas, levando a observação de muitos casos com expressão autossômica recessiva. Ademais, o estudo descreve a importância de reanalisar a WES a cada 1 a 3 anos, de maneira a melhorar a taxa de diagnóstico de pacientes com resultados negativos ou

incertos, por meio da reinterpretação de variantes que foram inicialmente detectadas [33]. Por fim, também é comentada a relevância de relatar VUSs e DNM, pois podem já ter sido associadas com DI em outros estudos e DNM podem ser identificadas observando variações em um mesmo gene em diversos paciente sem parentesco que apresentam DI com fenótipos similares [31, 32, 33].

1.4 – Dificuldades no diagnóstico preciso de DI

A DI é uma doença de difícil diagnóstico molecular preciso devido a vasta etiologia, a ocorrência de DNM e a falta de conhecimento ainda existente sobre a função de muitos genes, principalmente os ligados ao funcionamento do sistema nervoso. Falhas podem ocorrer até mesmo antes da realização de algum exame genético, como por exemplo a falta de caracterização de fenótipos chave durante o exame físico do paciente e a análise clínica, ou a falta de dados sobre o histórico familiar pelo consulente, que é utilizado para ajudar a identificar o tipo de herança. Ademais, dependendo da idade do paciente quando foi realizada a WES, existe a possibilidade das características fenotípicas clássicas de uma determinada síndrome ainda não tenham se manifestado, o que gera a necessidade do reexame anual do probando [33]. Por fim, pacientes adultos com DI que também sofreram com a falta dos cuidados necessários ou com condições de vida desfavoráveis ao longo da vida podem desenvolver problemas de saúde em consequência da síndrome, mas não clinicamente relacionados, o que dificulta a associação do fenótipo com o genótipo [33].

2- JUSTIFICATIVA

Apesar da extensa pesquisa genética já existente sobre deficiência intelectual, o aumento do reconhecimento dos direitos e da aceitação das pessoas com DI torna extremamente necessárias novas atualizações sobre seu diagnóstico e acompanhamento. No Brasil, cerca de 2,5 milhões de pessoas apresentam algum grau de DI, refletindo sua ampla heterogeneidade clínica. Por fim, a DI apresenta significativa heterogeneidade genética, sendo que variantes *de novo* são responsáveis por pelo menos 50% dos casos severos de DI encontrados na população [34]. Com o desenvolvimento de novas técnicas diagnósticas, a identificação de novas variantes patogênicas relacionadas à DI está cada vez maior, com descobertas de importância médica sendo constantemente descritas [31, 32, 33]. No entanto, a maior parte dos estudos na área procura entender o quadro de DI em pacientes do sexo masculino, o que gera uma falta de compreensão de como a DI ocorre em pacientes do sexo feminino e de como esse quadro as afeta. Isso mostra uma necessidade de mais pesquisas voltadas para o estudo de casos de deficiência intelectual especificamente em pacientes do sexo biológico feminino.

3- OBJETIVOS

Objetivo geral:

Melhorar o conhecimento sobre o entendimento do quadro de DI-S em mulheres (46,XX).

Objetivos específicos:

- (i) a busca de variantes nas pacientes selecionadas utilizando o método de exoma;
- (ii) a pesquisa das variantes encontradas, de maneira a observar se a variante presente naquele gene específico explica o fenótipo da paciente.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1- Seleção das Pacientes

Foram selecionadas 15 pacientes mulheres com diagnóstico clínico de DI sindrômico e com cariótipo 46,XX dentre aquelas atendidas no ambulatório de genética clínica do Hospital Universitário de Brasília (HUB-UnB). Essa escolha foi realizada após elas terem passado por avaliação clínica e, a partir da consulta, da leitura do prontuário e do encaixe no critério de inclusão, as pacientes foram convidadas a participar da pesquisa. Ao aceitar participar da pesquisa, foi necessária a autorização dos pais ou responsáveis, que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 3).

Critérios de Inclusão e Exclusão

O critério de inclusão foi de que as pacientes apresentassem clínica de deficiência intelectual sindrômica e cariótipo 46,XX. Os critérios de exclusão foram: paciente já tem identificada a etiologia molecular da patologia; paciente apresenta uma alteração cromossômica de qualquer natureza; paciente tem resultado positivo para síndrome do X-frágil; e paciente apresenta DI-S com indicativo de causa ambiental.

4.2 – Coleta e Armazenamento das Amostras

Foram coletadas duas amostras de sangue periférico de cada paciente, uma em um tubo com heparina, anticoagulante, para a realização de cultura de células e posterior análise de cariótipo, e outro tubo com EDTA, anticoagulante, para a efetuar a extração de DNA.

A coleta das amostras de sangue foi feita por profissionais, técnicos de enfermagem, no Laboratório de Emergência do Hospital Universitário de Brasília (HUB). Os dois tubos contendo o material biológico foram então encaminhados para o Laboratório de Genética da Faculdade de Medicina e Saúde, localizada no campus Darcy Ribeiro, onde ficaram

armazenadas em um freezer a uma temperatura de -20 °C até a realização dos exames de cariótipo e extração de DNA.

4.3 - Cariotipagem e Bandeamento G

Foi realizado por profissionais do Laboratório de Genética da Faculdade de Medicina e Saúde com extensa experiência nesse tipo de procedimento. O protocolo utilizado foi o que é rotineiramente usado nesse laboratório.

4.4 - Teste para Síndrome do X-frágil

Em casos de cariótipo normal, os pacientes foram testados para a Síndrome do X-frágil por meio do protocolo padrão do AmplideX mPCR FMR1 Kit (Asuragen, Austin, TX, Estados Unidos da América). Esse protocolo permite verificar e confirmar o tamanho da sequência específica e o estado de metilação do gene *FMR1*. O teste foi realizado por profissionais do Laboratório de Genética da Faculdade de Medicina e Saúde. Os pacientes que tiveram resultado negativo para a Síndrome seguiram para a análise de WES.

4.5 – Extração e Quantificação do DNA

A extração de DNA a partir de linfócitos do sangue periférico foi de acordo com protocolo adaptado do kit comercial *Gentra Purigene Blood kit* da QIAGEN (Qiagen, Valencia, CA, Estados Unidos da América), que é recomendado para a purificação de DNA de alto peso molecular (100-200 kb). De acordo com o protocolo, primeiramente foi realizada a lise celular com um detergente aniónico na presença de um estabilizador de DNA. Depois, foi feita a precipitação de proteínas e contaminantes por meio da adição de sal. Ocorreu então a precipitação do DNA em isopropanol 100% e a retirada de resíduos por meio de uma lavagem com etanol 70%. Por fim, foi feita a diluição do DNA em TE 1X ou em água mili-Q [35]. O material genético foi então avaliado qualitativamente e quantitativamente por meio do sistema de NanoDrop™ 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, Estados Unidos da América) [36].

4.6 – Sequenciamento de Exoma Completo (WES)

Para aquelas pacientes selecionadas, foi realizado o sequenciamento de exoma completo (WES). O WES é um exame que analisa o exoma, que é o conjunto de todas as regiões codificadoras de proteína do genoma humano; isso é feito com o propósito de buscar variantes que possam estar associadas ao quadro clínico do paciente [37]. As amostras de DNA que foram selecionadas para a realização do WES foram enviadas para o Laboratório Fleury, com sede em São Paulo, Brasil, para a realização do sequenciamento e para a criação das bibliotecas de genes. As bibliotecas de genes foram construídas por meio do método de

captura Twist (Twist Bioscience, São Francisco, CA, Estados Unidos da América), de acordo com as recomendações do fabricante. Essas bibliotecas foram então sequenciadas na plataforma NovaSeq 6000 (Illumina, San Diego, CA, Estados Unidos da América). Sua metodologia utiliza a química de sequenciamento por síntese (SBS), que consegue detectar os nucleotídeos conforme a fita de DNA é copiada [36].

4.7 – Análise de Exoma

A análise do exoma dos pacientes foi realizada utilizando a plataforma de *software* online Franklin, da Genoox (Genoox, Tel Aviv, Israel) (<https://franklin.genoox.com> - Franklin by Genoox). Essa plataforma foi selecionada por possuir um mecanismo de priorização e interpretação de variantes, baseado em inteligência artificial (AI), que coleta informações de diversos bancos de dados, de literatura e de artigos científicos [38]. As variantes foram classificadas de acordo com o critério estabelecido pelo *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG): patogênico, provavelmente patogênico, variante de significado incerto (VUS), provavelmente benigno, benigno [39]. A análise do padrão de herança da doença do probando foi realizada com uso de heredogramas de cada uma das famílias, de acordo com os dados relatados pelo(a) consultante durante as consultas. Os heredogramas foram gerados por meio do aplicativo *Family History Tool* da empresa de genética INVITAE (Labcorp, Burlington, CN, Estados Unidos da América).

Passos da análise

Para a realização da análise de exoma os seguintes passos foram tomados, respectivamente:

- 1) Foi realizada a verificação da qualidade das amostras dentro da plataforma Franklin:
 - a. Média do número de leituras das variantes encontradas na amostra > 20 ;
 - b. Média do número de leituras das bases codificantes do exoma (RefSeq Exome) > 20 ;
 - c. Média do número de leituras das bases nas regiões alvo > 20 ;
 - d. Proporção das variantes homozigotas para heterozigotas entre 0,45 e 0,8;
 - e. Proporção do número de substituições de transição para transversão entre 2,6 e 3,2;
 - f. Porcentagem da qualidade das variantes $> 97\%$;
 - g. Distribuição de cobertura compatível entre a amostra e o modelo controle de variações no número de cópias.
- 2) Foram adicionados os detalhes gerais de cada paciente: sexo (feminino), etnia, a existência ou ausência de consanguinidade na família, o registro da paciente, o

consentimento ou não da divulgação para a família dos achados secundários encontrados durante a realização do exame;

- 3) Foram selecionados e aplicados os filtros gerais, utilizados em todas as pacientes desta pesquisa:

Fenótipos	Fenótipo específico de cada paciente, de acordo com os achados citados no prontuário médico, após a realização do exame físico para avaliação de dismorfias
Painel	Painel de deficiência intelectual (NHS Genomic Medicine Service) (Anexo 4) + painel referente ao fenótipo da paciente (Quadro 3)
Classificação de variante (ACMG)	Patogênica; provavelmente patogênica; VUS – tendendo a patogenicidade
Região das variantes avaliados	Exônico e Região de <i>Splicing</i> (Região Doadora ou Região Receptora)
Efeito da variante	Sentido trocado, Ganho de Parada, Perda de Parada, Perda de Início, Ganho de Início, Mudança de Matriz de Leitura, Sem Mudança de Matriz de Leitura e outros
Zigose da variante	Homozigoto e Heterozigoto
Frequência da variante na população	Frequência Interna – não encontrada, muito rara e rara Frequência Agregada – não encontrada e muito rara
Confiança das amostras	Alta e Média

Quadro 2 – Filtros gerais utilizados nas análises de exoma das pacientes.

- 4) Foram acrescentados os fenótipos e painéis específicos para cada paciente (Quadro 3); o quadro clínico foi observado no exame físico realizado por um geneticista no HUB e anotados no prontuário médico.

Referência interna do paciente	Fenótipo (s)	Painel (eis) utilizado (s)
1	Anormalidade no Crescimento Alta estatura Sistema musculoesquelético Micrognatia Cabeça ou PESCOÇO	DI Distúrbio Congênito de Glicosilação (CDG).

	Base do nariz estreita	
2	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI. Rosto largo e redondo Orelhas displásicas Hipertelorismo mamilar	DI
3	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI e Microcefalia; Orelha – Perda de Audição; Sistema musculoesquelético – Baixa estatura.	DI.
4	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI; Sistema Cardiovascular – Arritmia Cardíaca.	DI.
5	Fenótipo: Sistema Nervoso – Autismo, Atraso na Fala, Distúrbio do Sono, Epilepsia e Autismo; Olho – Miopia..	DI
6	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI; Sistema Musculoesquelético – Baixa Estatura; Anomalia do Crescimento – Baixa Estatura..	DI
7	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI e Convulsão Generalizada; Sistema Geniturinário – Hidronefrose.	DI.
8	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI, Distúrbios de Comportamento, Atraso na Fala, Apraxia de Fala e Microcefalia; Sistema cardiovascular – Displasia da Valva Tricúspide e Regurgitação da Válvula Tricúspide.	DI
9	Fenótipo: Sistema Nervoso – Transtorno do Espectro Autista e Atraso na fala.	DI.
10	Fenótipo: Cabeça ou PESCOÇO - Fenda Labial e Palatina Bilateral; Sistema Nervoso – ADNPM; Sistema Muscular esquelético – Fusão Vertebral.	DI.
11	Fenótipo: Sistema Nervoso – Epilepsia, Síndrome de West, Espinha Bífida e Deficiência Intelectual Severa.	DI.

12	Fenótipo: Sistema Nervoso – Microcefalia e ADNPM.	DI.
13	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI e Convulsão; Cabeça ou PESCOÇO – Face quadrada; Anomalia de Crescimento – Baixa estatura.	DI.
14	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI; Tegumento – Mudanças de pigmentação.	DI.
15	Fenótipo: Sistema Nervoso – DI; Tegumento – Mudanças de pigmentação.	DI.

Quadro 3 – Filtros específicos, de acordo com o quadro clínico apresentado, utilizados na análise de exoma de cada uma das pacientes.

5) Após a realização dos passos acima, as variantes foram organizadas pelo Franklin de acordo com a ordem de relevância. Elas foram separadas em duas partes pela plataforma: variações de nucleotídeo único (SNVs) e outras variações únicas (podendo afetar múltiplos exons de um gene ou mais de um gene).

6) As variantes foram então analisadas individualmente começando pelas SNVs.

7) As SNVs foram analisadas e consideradas ou desconsideradas de acordo com:

- A sua porcentagem de presença na população geral (deveria ser =/ $0,01\%$);
- A taxa de cobertura do gene no sequenciamento (deveria de =/ 90%), para garantir que ele tem sua sequência conhecida e que a variante verdadeiramente existe e não foi um erro do sequenciamento;
- A confiança da variante deveria ser igual ou maior que Média, de maneira a garantir que a sua leitura não tenha sido um erro do sequenciamento;

8) As variantes que atenderam os requisitos do item 7 foram então analisadas no Franklin de acordo com:

- O nível de patogenicidade (classificação da ACMG realizada pelo Franklin);
- As condições associadas e se o fenótipo apresentado por pessoas afetadas pela síndrome era condizente com o quadro clínico da paciente;
- O padrão de herança da condição associada;
- A localização da variante, o tipo e o tamanho da mutação sofrida;
- A zigosidade da variante e a presença de possíveis variantes compostas;
- Publicações científicas sobre o gene afetado;

- A existência de relatos de caso sobre a variante encontrada, e o fenótipo descrito pelas pessoas que a apresentavam;
- Quais órgãos expressam o gene, e onde ele é mais expresso.

9) Também foram procurados artigos e relatos de caso, referentes às variantes e genes afetados, no Google Acadêmico e no PubMed, caso tenha ocorrido um erro com o filtro para publicações da plataforma Franklin.

10) Após as análises de todas as SNVs, foi realizada a análise de todas as SVs seguindo os passos 7 e 8 com uma substituição:

- Ao invés de analisar a zigosidade, foi pesquisado se na plataforma ClinGen já foram realizados estudos sobre a sensibilidade de dosagem do gene afetado; isso de maneira a ver se uma deleção poderia causar haploinsuficiência (HI) ou uma duplicação poderia causar triplossensibilidade (TS);

4.8 – Estudo da variante após análise de exoma

Nos casos em que as variantes encontradas foram classificadas como possivelmente patogênicas ou VUS, foi realizado um estudo aprofundado por meio dos programas AlphaMissense e DynaMut2, para analisar melhor o efeito que a variante teve na formação e funcionamento da proteína que ela codifica.

AlphaMissense

O AlphaMissense (DeepMind, Google, Mountain View, CA, Estados Unidos da América), é um banco de dados com um *software* que permite analisar uma sequência de aminoácidos e prever a patogenicidade de todas as possíveis alterações de aminoácidos em uma determinada posição na sequência [40, 41]. O banco de dados foi criado tendo como base o banco de dados de estrutura 3D de proteínas AlphaFold (DeepMind, Google, Mountain View, CA, Estados Unidos da América), de maneira a predizer a estrutura de uma proteína com base na sequência de aminoácidos colocada. Para predizer a classificação das variantes, o *software* foi treinado: os desenvolvedores classificaram variantes comuns em humanos e primatas como benignas e variantes ausentes nessas populações como patogênicas. Variantes ausentes, mas provavelmente benignas foram eliminadas durante a fase de teste do *software*. Por fim, o *software* foi testado no ClinVar, de maneira a avaliar a sua performance. Variantes presentes no ClinVar não foram usadas durante a fase de treinamento do software, de maneira a evitar viés de classificação de patogenicidade desse banco de dados [40, 41]. A pontuação de patogenicidade é demonstrada em cor e valor numérico como:

- azul, provavelmente benigna, 0-0.34;
- sem cor, ambígua, 0.34-0.564;
- vermelho claro, provavelmente patogênica, 0.564-0.78;
- vermelho escuro, provavelmente patogênica, 0.78-1.0.

Nessa pesquisa, as variantes do tipo sentido trocado que foram encontradas durante a análise de exoma e que poderiam ser causais do quadro da paciente, foram reanalisadas pelo AlphaMissense, que demonstrou alta performance na classificação do efeito de variantes em distúrbios do desenvolvimento [40]. Isso ocorreu principalmente nos casos em que as variantes estavam classificadas como possivelmente patogênicas ou VUS. A classificação da variante pelo software serviu como apoio para determinar a sua causalidade no quadro da paciente, tendo em consideração que os bancos de dados utilizados pela plataforma Franklin para determinar a patogenicidade de uma variante normalmente não utilizam estrutura de proteína como dado, baseando-se mais em dados clínicos e reportagem de casos.

DynaMut2

O DynaMut2 (Biosig Lab, Brisbane, Queensland, Austrália) é um *software* que utiliza modelos 3D de proteínas para predizer os efeitos de mutações de ponto na dinâmica, estabilidade e estrutura da proteína afetada [42, 43]. Variantes do tipo sentido trocado frequentemente geram desestabilidade nas proteínas [44], e a maioria das variantes que causam doenças afetam a estabilidade termodinâmica da proteína codificada, quando comparada à estabilidade da proteína não alterada [45, 46, 47]. Variantes muito desestabilizadoras geram uma perda de função da proteína, enquanto variantes menos desestabilizadoras podem modificar o enovelamento da proteína, afetando a sua capacidade de se ligar às moléculas necessárias [48]. DynaMut2 determina a alteração da estabilidade da proteína por meio do cálculo da mudança na estabilidade termodinâmica após mutação ($\Delta\Delta G$ /Delta Delta G/DDG). A $\Delta\Delta G$ é calculada comparando a perda de energia livre de Gibbs que ocorre quando uma proteína funcional se enovelá, com a perda da mesma energia quando a proteína mutada se enovelá. Valores positivos de $\Delta\Delta G$ determinam uma mutação estabilizadora, enquanto valores negativos determinam uma mutação desestabilizadora [43]. Os valores estão divididos mais detalhadamente da seguinte maneira [43]:

- altamente desestabilizadora, $\Delta\Delta G < -1.84 \text{ kcal/mol}$;
- desestabilizadora, $-1.84 \text{ kcal/mol} < \Delta\Delta G < -0.92 \text{ kcal/mol}$;
- levemente desestabilizadora, $-0.92 \text{ kcal/mol} < \Delta\Delta G < -0.46 \text{ kcal/mol}$;

- neutra, $-0.46 \text{ kcal/mol} < \Delta\Delta G < 0.46 \text{ kcal/mol}$;
- levemente estabilizadora, $0.46 \text{ kcal/mol} < \Delta\Delta G < 0.92 \text{ kcal/mol}$;
- estabilizadora, $0.92 \text{ kcal/mol} < \Delta\Delta G < 1.84 \text{ kcal/mol}$;
- altamente estabilizadora, $\Delta\Delta G_{\text{Stability}} > 1.84 \text{ kcal/mol}$.

Neste trabalho, variantes do tipo sentido trocado que foram filtradas durante a análise de exoma como possivelmente causais da síndrome da paciente foram também analisadas pelo DynaMut2, de maneira a verificar se afetariam a conformação e o enovelamento da proteína codificada, podendo com isso gerar perda de função e, como consequência, o quadro clínico observado na probanda.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exoma completo dos 15 pacientes foi analisado, sendo que foi identificada etiologia genética para cinco delas. A seguir está apresentada a descrição de cada caso.

5.1 - Paciente 1

A paciente 1 é a primeira filha de casal consanguíneo (primos em primeiro grau), com 28 anos. Encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB com um pouco mais de um mês de vida devido a um quadro de crescimento excessivo e dismorfias. A probanda possui uma irmã que também é paciente, 77340, do ambulatório de genética, sendo que foi encaminhada ao ambulatório devido à micrognatismo, infecções de repetição e alongamento dos dedos das mãos (Figura 1).

Histórico de neurodesenvolvimento: mãe relata que ela não se interessa pelos estudos e que reprovou o primeiro e sétimo ano do ensino fundamental.

Avaliação física aos 12 anos: envergadura 1,72 cm, peso 36,10 kg (50p-75p), estatura 1,65 m (>97p).

- Dismorfias Craniofaciais: crânio dolicocefalo, fronte ampla, sobrancelhas pouco povoadas, olhos amendooados, megalocórnea, raiz nasal alta, base nasal estreita, ponta arrebitada, columelas visíveis, palato alto, boca pequena, micrognatia;
- Outras Dismorfias: mãos compridas, com dedos longos e afetados, retração externa, pernas longas, escoliose, *habitus marfanóide*.

Exame oftalmológico: ausência de luxação do cristalino.

Exame de imagem: eletroencefalograma normal (2006). Raio x da coluna (2008), normal com idade óssea compatível com a idade cronológica. Ecocardiograma (2008), normal. Ecocardiograma (2015), antenas pulmonares sem alterações, ausência de derrame pericárdico e antenas coronárias normoposicionadas.

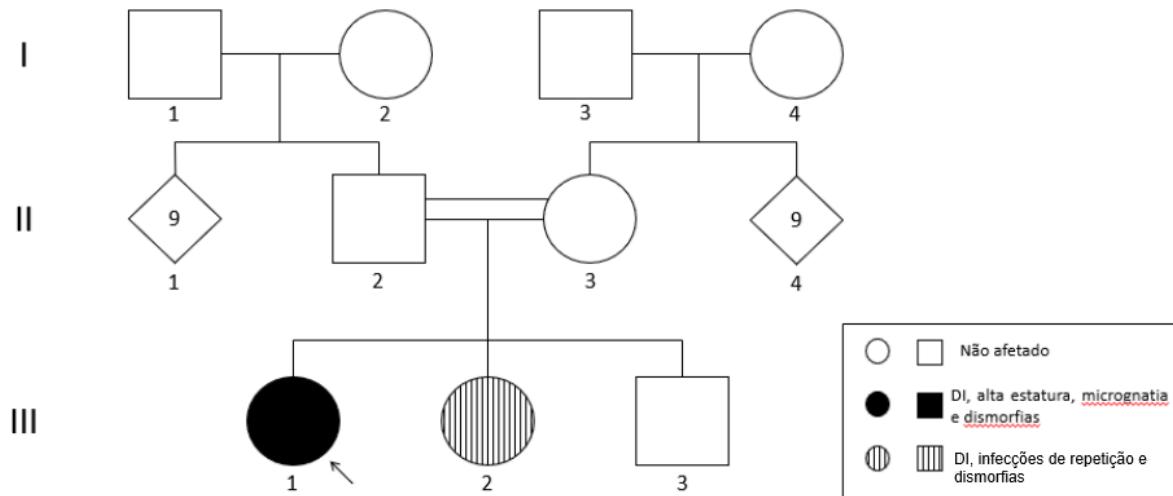


Figura 1. Heredograma da família da paciente 1.

Análise de Exoma:

Durante a análise de WES foi identificada a variante c.6881-5T>G (rs772186151), em relação ao alelo de referência, na região de splicing do exón 54 do gene *FBN2* (OMIM *612570) (Figura 2). Variantes no gene *FBN2* já foram extensivamente descritas em pacientes com Aracnodactilia Contratual Congênita (OMIM #121050). A variante foi classificada como VUS de acordo com os critérios do ACMG (PM2 – Provavelmente patogênico: frequência extremamente baixa em bancos de dados populacionais e BP4 – Provavelmente benigno: para uma variante de sentido trocado ou na região de *splicing*, as ferramentas de previsão computacional apoiam unanimemente um efeito benigno no gene). A cobertura da variante foi de 25 vezes, A: 10 (40%), C: 15 (60%).

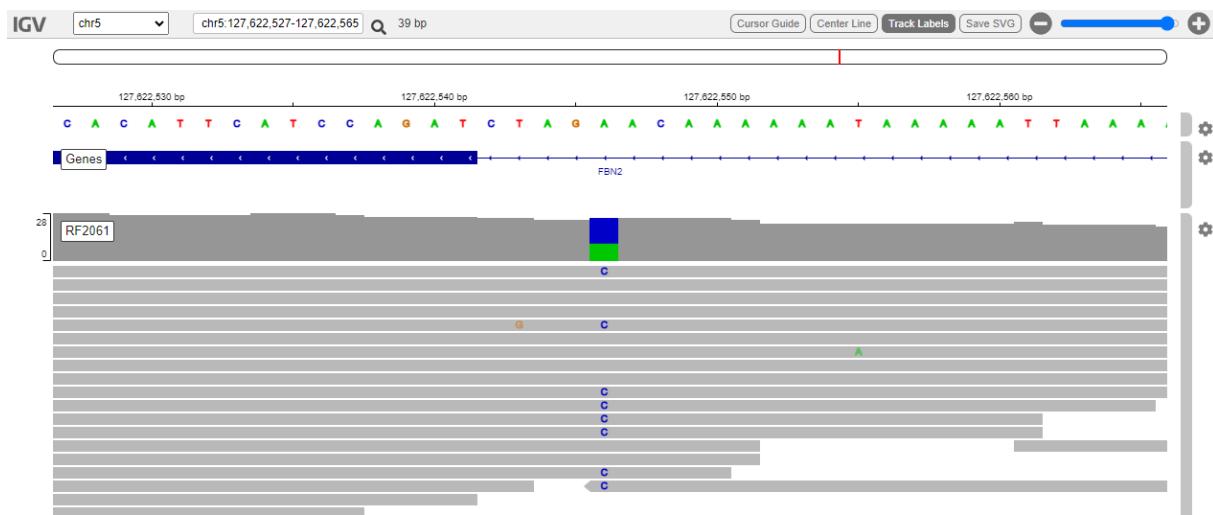


Figura 2. Variante c.6881-5T>G em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *FBN2* da paciente 1. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

A Aracnodactilia Contratual Congênita é causada por variantes patogênicas em heterozigose no gene *FBN2*, que codifica a fibrilina-2, localizado no cromossomo 5q23. Ela afeta o desenvolvimento do tecido conjuntivo e é caracterizada por contratura articular, aracnodactilia, cfoescoliose (combinação de cifose e escoliose) e orelhas constrictas. Ademais, a doença apresenta um quadro fenotípico parecido com o da síndrome de Marfan, que é causada por variantes patogênicas no gene *FBN1* e afeta o funcionamento cardiovascular [49].

A fibrilina-2 é uma grande proteína da matriz extracelular que se multimeriza em microfibrilas, e é expressa principalmente durante as fases iniciais do desenvolvimento embrionário. As microfibrilas são estruturas que se ligam ao cálcio, elas possuem elasticidade intrínseca e podem se associar à elastina para formar fibras elásticas. Elas são importantes para o funcionamento do corpo, promovendo sustentação para tecidos conectivos, elásticos ou não, auxiliando na comunicação de célula e matriz, e contribuindo para o sequestro e regulação do fator de crescimento extracelular [50].

Apesar da variante ser classificada como uma VUS (PM2), a Aracnodactilia Contratual Congênita condiz com o quadro de crescimento excessivo e dismorfias apresentado pela paciente. Ademais, ao realizar uma pesquisa aprofundada no DECIPHER sobre o gene *FBN2* foi observado relatos de pacientes com algum nível de atraso no desenvolvimento global. Levando em consideração os achados da análise de WES e o quadro fenotípico relatado em pacientes com Aracnodactilia Contratual Congênita, a variante c.6881-5T>G é a provável causa do quadro de DI-S da paciente. Se faz necessária a

realização do WES da irmã da paciente 1 de maneira a verificar se ela também possui a variante e se ela explica o quadro de DI e dismorfias dela.

5.2 – Paciente 2

Trata-se da primeira filha de casal jovem, não consanguíneo. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 4 anos devido a quadro de atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (ADNPM) e dismorfias e incluída no projeto em 2024, aos 28 anos. Diversos membros da família materna da paciente apresentam distúrbios de neurodesenvolvimento, tendo ela, um tio e um primo com DI e outro primo com TEA (Figura 3).

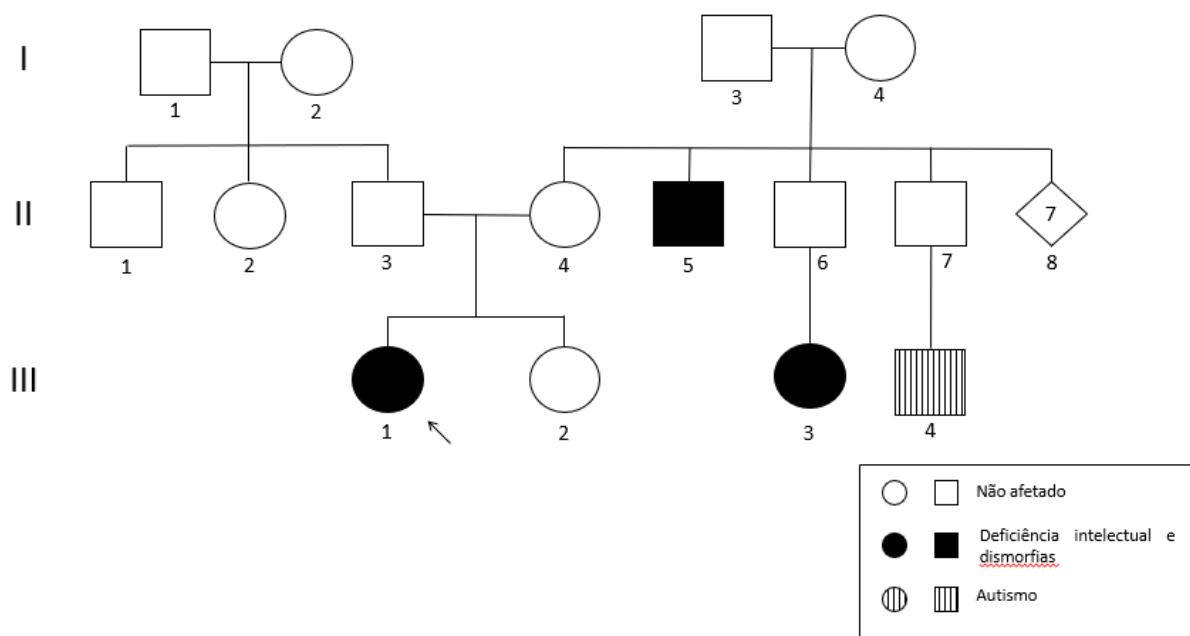


Figura 3. Heredograma da família da paciente 2.

Histórico de neurodesenvolvimento: a paciente não gosta de sair de casa, cursou ensino especial, não aprendeu a ler ou escrever e não tem outros problemas de saúde. A menarca dela foi aos 23 anos, e ela é capaz de fazer a própria higiene. Não utiliza nenhuma medicação.

Exame físico aos 26 anos: peso 85 kg, estatura 1,65 m, mão 19cm, dedo médio 8,5.

- Dismorfias Craniofaciais: rosto largo e redondo, sobrancelhas finas e arqueadas, queixo pequeno, orelhas displásicas;
- Outras Dismorfias: hipertelorismo mamilar, mamas hipodesenvolvidas.

Exames genéticos: Cariótipo Normal, 46, XX; Triagem para a síndrome do cromossomo X frágil inconclusiva.

Análise de Exoma:

Durante a análise de WES não foram encontradas variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas em genes que expliquem o quadro de DI sindrômica da paciente. Porém, foi identificada a deleção (Figura 4) em heterozigose de 1.79Mbp no braço curto do cromossomo 5 (5p15.33) (chr5:92.337-1.882.184), englobando 42 genes (Figura 6A), sendo que 25 deles são genes codificadores: *TRIP13*, *TPPP*, *SLC6A3*, *LOC100996325*, *SDHAP3*, *MIR4635*, *ZDHHC11*, *CCDC127*, *LINC01511*, *PDCD6-AHRR*, *MIR4277*, *HRAT5*, *ZDHHC11B*, *EXOC3*, *NDUFS6*, *CLPTM1L*, *SLC6A19*, *LINC02116*, *LPCAT1*, *PLEKHG4B*, *BRD9*, *AHRR*, *CTD-3080P12.3*, *IRX4*, *LOC728613*, *MIR4456*, *SLC9A3-ASI*, *NKD2*, *PP7080*, *SDHA*, *LRRC14B*, *SLC9A3*, *CEP72*, *EXOC3-ASI*, *PDCD6*, *SLC6A18*, *MIR4457*, *SLC12A7*, *MIR6075*, *LOC100506688*, *TERT*, *MRPL36*.

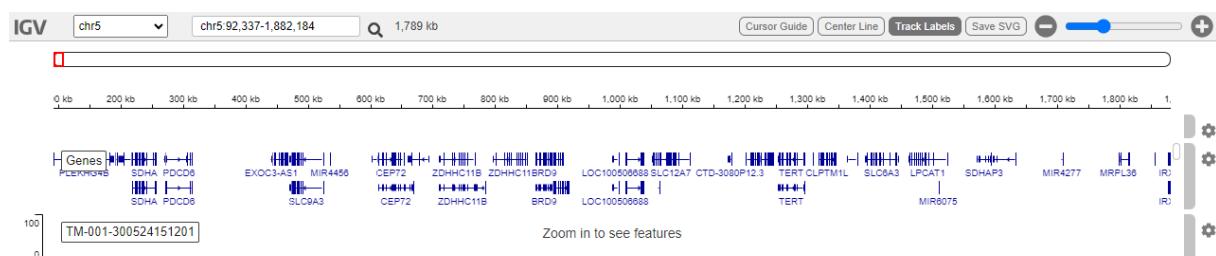


Figura 4. Deleção de 1.8Mbp no cromossomo 5 da paciente 2, com perda de 44 genes e regiões. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

Ademais, também foi encontrada a duplicação (Figura 5) em heterozigose de 12.92Mbp no braço curto do cromossomo 20 (20p13-p12.1) (chr 20:68341-12990043) da paciente (Figura 6B). Essa duplicação engloba 155 genes, sendo 106 deles codificantes: *PRNP*, *TMX4*, *DDRGK1*, *MIR8062*, *ANKEF1*, *VPS16*, *FKBP1A-SDCBP2*, *MIR1292*, *LINC00658*, *DEFB125*, *ADRA1D*, *RNU105B*, *CASC20*, *MIR6870*, *TGM6*, *FERMT1*, *SDCBP2-ASI*, *ZNF343*, *GFRA4*, *LINC01428*, *SNPH*, *UBOX5-ASI*, *PDYN*, *GNRH2*, *C20ORF194*, *RASSF2*, *MCM8*, *C20ORF141*, *PTPRA*, *C20ORF27*, *SLC4A11*, *LZTS3*, *MIR103A2*, *TMC2*, *NSFL1C*, *HAO1*, *ADAM33*, *BTBD3*, *LINC01730*, *PAK5*, *SNORD56*, *PLCB4*, *LOC105372493*, *ZCCHC3*, *DEFB128*, *LINC01722*, *C20ORF187*, *LOC100289473*, *SDCBP2*, *OXT*, *PROKR2*, *SPEF1*, *SRXN1*, *SLC23A2*, *EBF4*, *SNORA51*, *SLC52A3*, *SLX4IP*, *CSNK2A1*, *PARAL1*, *AVP*, *SIRPB3P*, *RNF24*, *RSPO4*, *LINC01751*, *HSPA12B*, *SPTLC3*, *RAD21L1*, *TMEM230*, *LAMP5*, *SNAP25*, *SNORD57*, *CENPB*, *CRLS1*, *DEFB129*, *TGM3*, *PSMF1*, *SIRPD*, *LOC643406*, *IDH3B*, *SNORD86*, *SOX12*, *PLCB1*, *LINC01706*, *SNORD119*, *RBCK1*, *PRNT*, *SIGLEC1*, *PANK2*, *FKBP1A*, *CHGB*, *LINC01433*, *FAM110A*, *SNAP25-ASI*, *SNRPB*, *NRSN2*, *LOC388780*, *MAVS*, *BMP2*, *LINC00687*, *SIRPB2*, *UBOX5*, *SIRPG*, *PCNA*, *ATRN*, *MCM8-ASI*, *TCF15*, *C20ORF96*, *SHLD1*, *FASTKD5*, *CDC25B*, *SCRT2*, *DEFB132*, *LINC01713*, *PCED1A*, *MKKS*, *PLCB1-IT1*, *LOC101929413*, *LRRN4*, *TMEM74B*, *SNORD110*, *ANGPT4*, *CPXMI*, *LINC01723*, *DEFB126*, *PDYN-ASI*, *NOP56*, *TRIB3*, *ITPA*,

LINC01752, LINC00654, C20ORF202, LINC01729, TBC1D20, PRND, TMEM239, MRPS26, PCNA-ASI, JAG1, LOC102606466, LOC339593, GPCPD1, STK35, NRSN2-ASI, MIR103B2, LAMP5-ASI, DEFB127, AP5S1, SIRPA, SIRPG-ASI, TRMT6, MIR6869, SMOX, SIRPB1, CDS2.



Figura 5. Duplicação de 12.9Mbp no cromossomo 20 da paciente 2, com perda de 44 genes e regiões. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

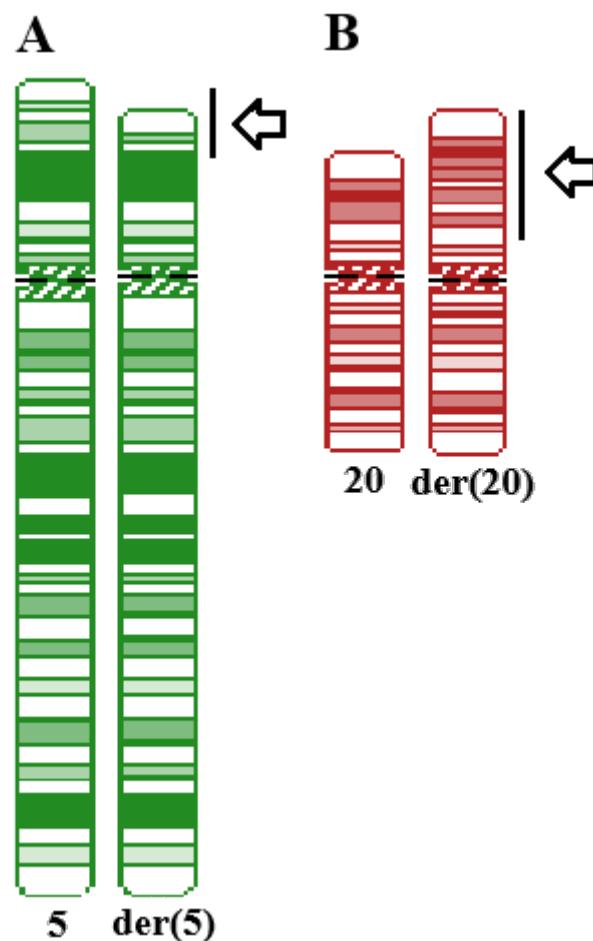


Figura 6. Imagem meramente ilustrativa dos cromossomos 5 e 20 da paciente 2. A. Esquematização do cromossomo não afetado (5) e do cromossomo com a deleção de 1.8Mbp [der(5)]. B. Esquematização do cromossomo não afetado (20) e do cromossomo com a duplicação de 12.0Mbp [der(20)].

Dos genes citados acima, diversos apresentaram valores de pLI (*Probability of Loss-of-function Intolerance*), Calculated LOF Score (*Calculated Loss of Function*) e/ou LOF (*Loss-of-function Observed / Expected Upper bound Fraction*) considerados patogênicos, porém, devido ao grande número de genes afetados, avaliá-los individualmente seria ineficaz. Com isso, foram avaliadas as regiões afetadas como um todo. Existem relatos de casos de pacientes com monossomia parcial do cromossomo 5p, relatos de pacientes com trissomia parcial do 20p, e alguns poucos relatos de pacientes com ambos. Todas as três variações foram levadas em consideração para avaliar o caso da paciente 2.

A monossomia do cromossomo 5p (OMIM #123450) é uma síndrome extensamente caracterizada clinicamente e é associada a choro alto e agudo, dismorfias faciais, microcefalia, ADNPM e DI. Fenótipos adicionais podem incluir baixo peso corporal ao nascimento, hipotonia, hipertelorismo, pregas epicânticas, dificuldade de alimentação e problemas de comportamento [51]. A maioria dos pacientes apresenta uma deleção *de novo*. A região 5p15.2 é crítica para dismorfias e DI, e a região 5p15.3 é crítica para um choro parecido com de gato. A gravidade do quadro é proporcional ao tamanho da deleção. As manifestações clínicas da trissomia do 20p são variadas, já que a síndrome é normalmente causada por translocação recíproca dos cromossomos parentais [52, 53, 54]. Normalmente, casos de perdas parciais do 5p13.3 são acompanhados de ganhos no cromossomo 15 [55, 56].

A trissomia do cromossomo 20p é normalmente observada associada à uma monossomia do mesmo cromossomo ou de outro [57, 58]. Em geral, a trissomia do 20p é resultado de uma translocação recíproca parental, sendo a ocorrência de casos *de novo* raros [57, 59, 60, 61, 62]. A trissomia parcial do 20p é associada à: DI, atraso na fala, anomalias cardíacas, anomalias das digitais, dismorfias faciais, anomalias oral-facial, anomalias capilares e anomalias vertebrais [63, 64].

Relatos de monossomia parcial do 5p associada a trissomia parcial do 20p são raros, e ainda não foi descrito na literatura um caso com a mesma alteração da paciente 2. Em 2005, houve um relato de um bebê natimorto com diversas malformações que possuía alterações em regiões próximas à da paciente [65]. O exame físico do feto revelou dismorfias, como rosto arredondado com bochechas proeminentes, assimetria facial, hipertelorismo, raiz nasal alta, lábio leporino, fenda palatina, excesso de pele na nuca, camptodactilia e micropênis.

Pelo que foi encontrado na literatura, a alteração cromossômica encontrada na análise de WES explica o seu quadro de DI-S da paciente. A paciente 2 aparenta possuir um quadro fenotípico mais brando do que outros pacientes com as mesmas alterações cromossômicas,

visto que ela não aparenta ter anomalias em outros sistemas além do nervoso. Seria importante a realização do sequenciamento genético dos outros membros da família que possuem o mesmo quadro clínico, de maneira a averiguar se eles possuem a mesma alteração da paciente 2 ou se a causa da DI-S deles é outra.

5.3 – Paciente 3

Trata-se da primeira filha de casal jovem, não consanguíneo. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB com 1 mês de vida devido a microcefalia de início pós-natal, ADNPM e surdez bilateral profunda (Figura 7) e incluída no projeto em 2024 aos 19 anos.

O pai possui um perímetro céfálico inferior ao menor percentil populacional e discreta redundância de couro cabeludo. O irmão apresenta quadro de dificuldade de aprendizagem. Houve dispneia materna ao longo do sexto mês gestacional, tendo utilizado medicamentos não especificados para o tratamento. Em ultrassonografia obstétrica realizada em idade gestacional de 36 semanas e 03 dias, há descrição de crescimento intrauterino retardado assimétrico e oligodramnio acentuada.

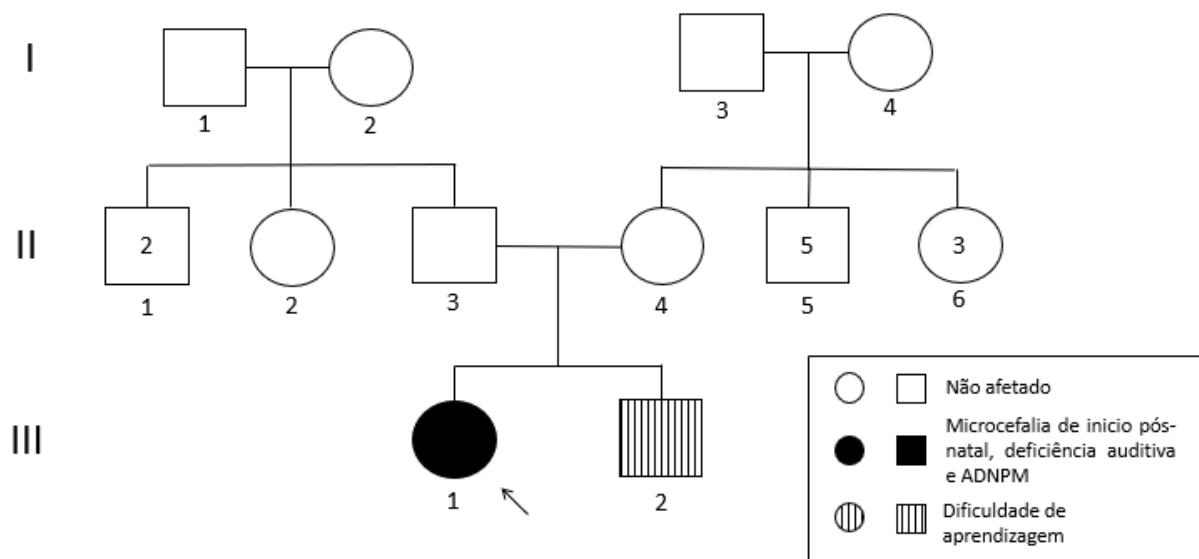


Figura 7. Heredograma da família da paciente 3.

Histórico de neurodesenvolvimento: nasceu por parto cesáreo (indicado devido ao crescimento intrauterino retardado assimétrico associado a oligodrâmnio), idade gestacional de 32 semanas e 04 dias, peso 1,330 g e com perímetro encefálico de 27 cm. Permaneceu internada na Unidade de Neonatologia do Hospital Regional da Asa Sul. Houve necessidade de suporte ventilatório e hemodinâmico durante a internação, sorologias para toxoplasmose

negativa e para citomegalovírus IgG positiva e IgM negativa. Adquiriu sustento cervical após 12 meses de vida e equilíbrio parcial do tronco com um ano e seis meses, falava palavras ocasionalmente aos dois anos. Frequentou um centro de estimulação do desenvolvimento desde os seis meses. Apresentou um episódio de pneumonia. Nunca teve crises convulsivas. Dorme pouco, acorda várias vezes durante a noite. A paciente se comunica por meio de gestos.

Exame físico com 16 anos: peso 22,75 kg (<3p), estatura 1,37 m (<3p), perímetro cefálico 47 cm (<3p). Auscultas cardíaca e respiratória normais, abdome sem visceromegalias

- Dismorfias Craniofaciais: microcefalia acentuada, fronte curta, sobrancelhas esparsas e arqueadas, fendas palpebrais curtas, sinofres proeminentes. Nariz com ponte alta, base proeminente e alargada, com narinas grandes e ponta nasal grande. Columela proeminente. Filtro bem-marcado, com ausência do formato do cupido do lábio superior. Dentição apinhada e palato bastante alto. Orelhas baixo implantadas.
- Outras Dismorfias: clinodactilia de quintos quirodáctilos, hipotonia axial e certo grau de hipertonia dos membros, sobretudo inferiores, reflexos profundos algo exacerbados, cutâneo plantar em flexão bilateralmente, estrabismo convergente bilateral, estigma cutâneo sacral, frouxidão ligamentar, postura de eversão dos pés, hirsutismo em tronco e membros superiores, tórax estreito, longo e afunilado, escoliose, membros longos, ausência de pronação na mão esquerda. Mão com musculatura bastante atrofiada, polegares curtos, pregas palmares bem-marcadas, mas irregulares.

Exames de imagem: Radiografia simples de coluna (2007), agenesia das peças inferiores do sacrocóccix. CT de crânio (2008), imagem sugestiva de cisto aracnóide na fossa média esquerda; aumento volumétrico do plexo coroíde e leve hidrocefalia. Radiografia simples de esqueleto (2011), evidenciando microcefalia, sinais de agenesia nas peças inferiores do sacrocóccix, encurtamento bilateral do quinto quirodáctilo na dependência de encurtamento das falanges, sobretudo das médias, ossos do corpo com padrão de ossificação anárquico e idade óssea compatível com seis anos e três meses. Raio X de membros inferiores, superiores, coluna total e arcos costais (2022), sem alterações ósseas significativas. Ultrassonografia pélvica (2024), útero e ovários com dimensões reduzidas para faixa etária – volume ovariano do dentro do esperado para pacientes entre 8 e 9 anos de idade, volume uterino dentro do esperado para pacientes entre 11 e 12 anos de idade.

Exames de audição: Avaliação audiológica infantil (2013), a criança não apresentou comportamento de localização, mesmo na intensidade máxima do equipamento. Pesquisa de potencial evocado auditivo do tronco encefálico – PEATE (2013), resultados compatíveis com alteração coclear, no entanto, não se descarta alteração retroocular mediante ausência de respostas na orelha direita.

Exames genéticos: Cariótipo (2015), normal, 46, XX. Microarray (2015), não detectou ganhos ou perdas de segmentos cromossômicos.

Análise de Exoma:

Inicialmente, era suspeito que a paciente 3 apresentava a Síndrome de Cornélia de Lange (OMIM #122470) devido ao quadro extremamente compatível: DI, deficiência auditiva, microcefalia e baixa estatura. Porém, na análise de WES, não foram encontradas variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas nos genes causais da síndrome, como o gene *NIPBL* (OMIM *608667). No entanto, estudos que investigaram diversas famílias afetadas pela Síndrome de Cornélia de Lange observaram a ocorrência de pacientes com mosaicismo, cujas células afetadas não estavam presentes na amostra de sangue periférico, mas foram observadas em amostras de DNA coletadas com swabs bucais [66, 67]. Com isso, uma nova coleta de amostra de DNA da paciente é necessária para uma outra análise de exoma, dessa vez com células da boca.

Não foram encontradas outras variantes patogênicas em genes que expliquem o quadro da paciente 3.

5.4 – Paciente 4

Trata-se de filha única de casal jovem, não consanguíneo, com 27 anos. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 10 anos devido a um quadro de DI de severidade moderada associado a dismorfias. A paciente também apresenta um quadro de arritmia cardíaca.

A família possui membros da família materna com distúrbios. A mãe da paciente tem uma irmã com distúrbio do comportamento; a avó da paciente tinha um sobrinho com DI e outro com paralisia cerebral; a avó também tinha um meio-irmão que teve uma filha com DI (Figura 8).

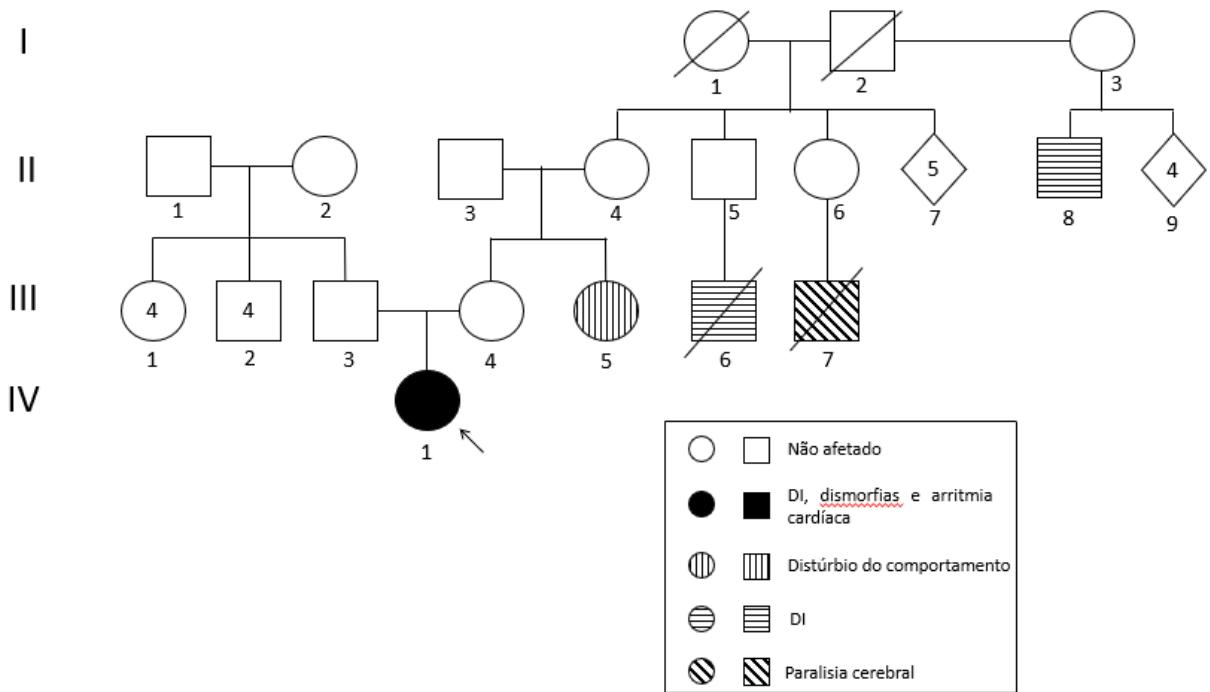


Figura 8. Heredograma da família da paciente 4.

Histórico de neurodesenvolvimento: nasceu de cesárea em boas condições, recomendada por distocia motora e hipertensão materna. Sentou aos seis meses, engatinhou aos oito e andou com um ano e oito meses. Terminou o ensino médio e recebeu alta da Psicologia da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais. Não foi alfabetizada, escreve apenas o seu nome. Conhece números, mas não faz contas, tem certa noção de quantidade. É independente dentro de casa e ajuda nas tarefas domésticas. Pratica exercício físico. Não apresenta agressividade.

Exame físico aos 25 anos: peso 86,8 kg (p95-p97), estatura 1,61 m (p25-p50), perímetrocefálico 54,5 cm (p2-p50). Palato sem dismorfias, sem anomalias dentárias. ACV sem sopro, abdome sem visceromegalias, membros sem anormalidades, orelhas normo-implantadas, ausência de clinodactilia e ausência de estigma sacral.

- Dismorfias Craniofaciais: olhos profundamente situados, fendas palpebrais oblíquas para cima, com eversão discreta da pálpebra inferior, raiz nasal média, dorso alto e afilado.
- Outras Dismorfias: mamilos hipoplásicos (familiar, de acordo com a mãe).

Exames cardíacos: Holter 24 horas (2018), extrassistolia ventricular monomórfica, isolada, muito frequente e presente durante todo o exame, com distribuição homogênea.

Exames de imagem: Ecocardiograma (2018), regurgitação valvar aórtica discreta a leve e regurgitação valvar mitral discreta. Eletrocardiograma (2018), extrassístoles ventriculares.

MLPA – síndromes clinicamente reconhecíveis (2018), negativo. RM de crânio (2019), pequena lesão cística na glândula pineal. Ultrassom renal (2018), normal.

Exames genéticos: Cariótipo (2008), normal, 46, XX. Pesquisa de microdeleções e microduplicações por MLPA (2018), não foram identificadas deleções ou duplicações dos segmentos investigados. Síndrome do X Frágil (2019), inconclusivo.

Análise de Exoma:

Na análise de WES foi identificada a variante c.1474C>G (p.R492G), do tipo sentido trocado, em heterozigose com alelo de referência no gene *RYR1* (OMIM *180901) (Figura 9). Variantes no gene *RYR1* são associadas à Suscetibilidade à Hipertermia Maligna-1 (OMIM #145600). A variante foi classificada como VUS de acordo com os critérios da ACMG (PM2 - Provavelmente patogênico: frequência extremamente baixa em bancos de dados populacionais; PM5 – Provavelmente patogênico: mudança para um aminoácido diferente gera uma variante patogênica conhecida; e PP3 – Provavelmente patogênico: para uma variante sentido trocado ou na região de splicing, as ferramentas de previsão computacional apoiam unanimemente um efeito deletério no gene). A cobertura da variante foi de: 121 vezes, C: 65 (54%), G: 56 (46%).



Figura 9. Variante c.1474C>G, com alelo de referência identificado no gene *RYR1* da paciente 4. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

O gene *RYR1* codifica para o receptor de rianodina presente na musculatura esquelética; esse receptor atua como o canal de liberação de íons de cálcio do retículo sarcoplasmático (retículo endoplasmático liso), ativando a contração muscular, além de agir como uma ponte entre o retículo e o túbulo transverso (túbulo-T). Os túbulos-T são invaginações profundas do sarcolema que facilitam a propagação homogênea da ordem de despolarização e, com isso, a abertura dos canais de cálcio da membrana e do retículo, visando a contração coordenada das células.

Na análise feita no AlphaMissense, a substituição da arginina no resíduo de aminoácido 492 por uma glicina (p.R492G) foi classificada como patogênica (mean 0.825) (Figura 10). Isso mostra que a variante encontrada na paciente 4 provavelmente afeta a atividade da proteína codificada por *RYR1*, podendo ter efeitos negativos no funcionamento do organismo.

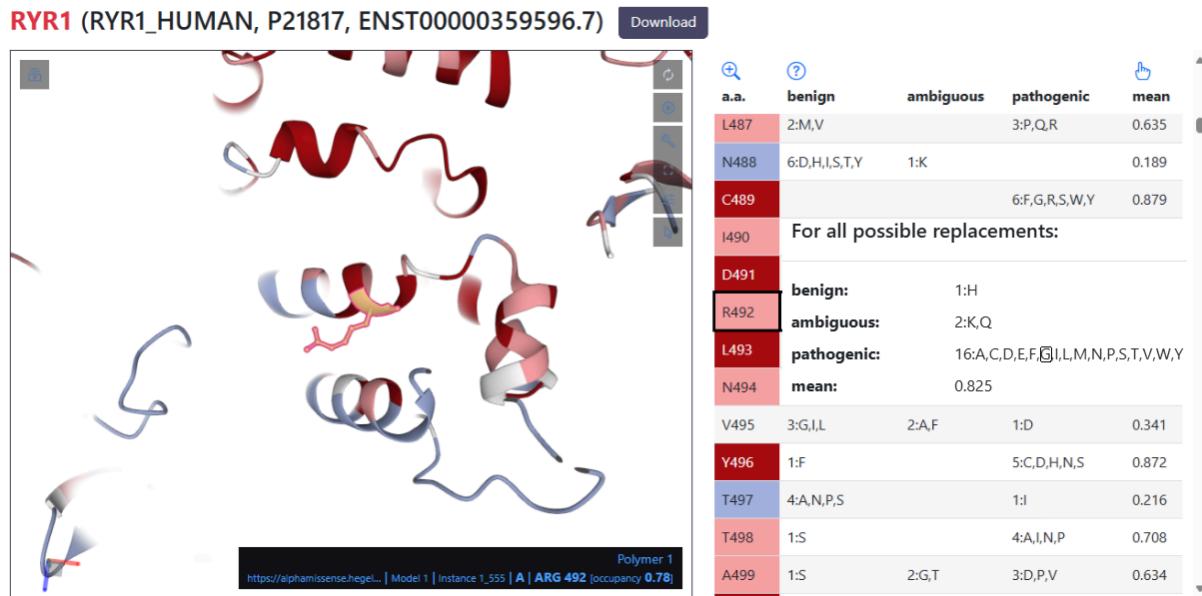


Figura 10. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *RYR1* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (R492) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

A Suscetibilidade à Hipertermia Maligna-1 é causada por variantes patogênicas em heterozigose, no gene *RYR1*, localizado no cromossomo 19q13. Trata-se de uma desordem musculoesquelética, normalmente com padrão de herança autossômico dominante, e leva ao óbito do paciente devido a reação do corpo à anestesia. O gene *RYR1* codifica para o receptor de rianodina, um dos canais de cálcio que atua nas células musculares e neurais.

A variante é uma possível origem das alterações cardíacas da paciente 4, porém a maioria dos estudos de caso associam problemas cardíacos e neuronais a variantes no receptor *RYR2* [68, 69, 70]. Porém, ao realizar uma pesquisa aprofundada no DECIPHER sobre o gene *RYR1*, foi observado relatos de pacientes com um quadro clínico parecido com o da paciente 4, incluindo dismorfias craniofaciais, atraso no desenvolvimento global e DI. Com isso, apesar do gene afetado não possuir estudos relacionando sua alteração com problemas neuronais, ele parece ser de importância para o desenvolvimento cerebral e/ou para o seu funcionamento. Levando em consideração os achados do WES e o quadro clínico de outras pessoas com alteração no gene *RYR1*, a variante c.1474C>G é a provável causa da DI-S da paciente 4.

5.5 – Paciente 5

Trata-se de filha única de casal jovem, não consanguíneo. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 5 anos devido TEA, epilepsia, dismorfias, atraso na fala e miopia de alto grau (+10 e +8) (Figura 11) e incluída no projeto em 2024 aos 11 anos. Nasceu prematura de 36 semanas e não conseguiu ser amamentada pela mãe.

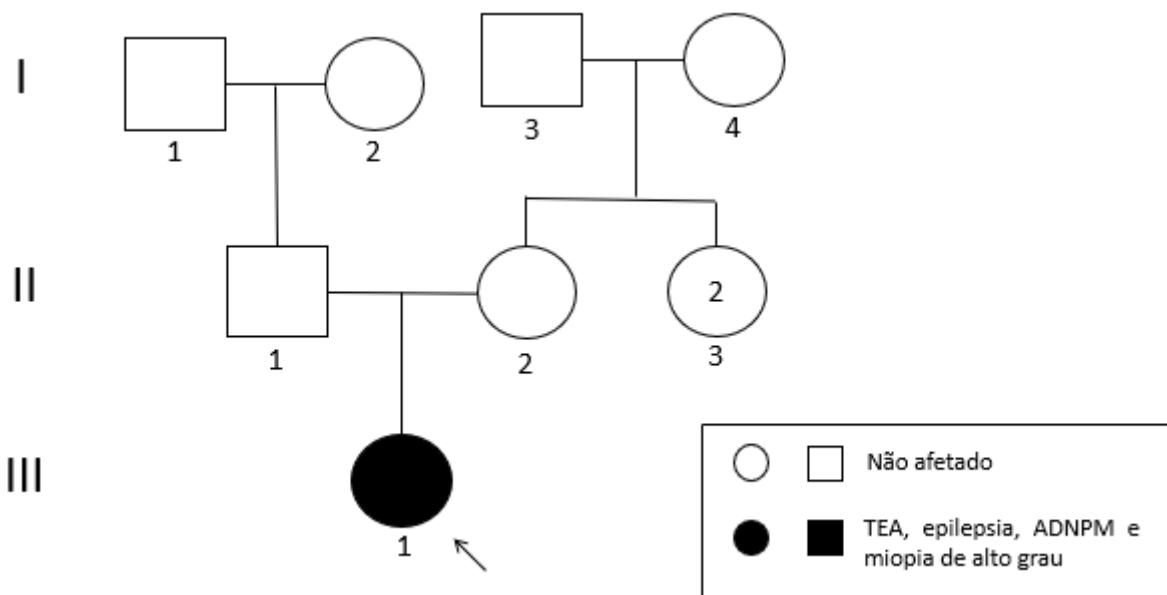


Figura 11. Heredograma da família da paciente 5.

Histórico de neurodesenvolvimento: desenvolvimento motor normal, demorou a falar e consegue falar poucas palavras. Desde bebê dorme pouco, sem horário regular. O padrão do sono melhorou com o uso de melatonina. As crises convulsivas se iniciaram com três anos, e são bem controladas com o uso de ácido valpróico. Está no quinto ano do ensino regular, não sabe ler nem escrever.

Exame físico aos 9 anos: peso 40,60 kg (p90-p95), estatura 1,37 m (p75-p90). Postura hipotônica, membros proporcionados e bem alinhados.

- Dismorfias Craniofaciais: face alargada, testa média, braquicefalia, fendas palpebrais curtas e discretamente oblíquas para cima, nariz curto com columelas visíveis, micro e retrognatia, palato largo, dentes espaçados, cabelos abundantes. Orelhas de abano;
- Outras Dismorfias: prega de flexão palmar única bilateralmente, nádegas hipotrofiadas, sulco interglúteo mal alinhado, pelos pubianos finos, postura hipotônica, pés invertidos.

Exames de imagem: TC de crânio (2018) normal. EEG (2018) normal. USG pélvico (2022) normal. Ecocardiograma (2022) normal. US de abdome total (2022) normal. EEG (2023) normal.

Exame de audição: BERA (2018) alteração coclear e/ou retrococlear à direita, com limiares eletrofísicos dentro da normalidade. Na orelha esquerda os resultados obtidos são sugestivos de alteração de caráter condutivo. BERA (2019) normal. Ultrassom Pélvico (2022), útero de forma, contornos e dimensões normais, textura homogênea pela via abordada. Radiografia da idade óssea (2022), idade óssea de 10 anos e 10 meses, idade cronológica de 8 anos e 8 meses. EEG (2023), normal.

Exames genéticos: cariótipo normal, 46, XX. Microarray (2022), não detectou ganhos ou perdas de segmentos cromossômicos na amostra. Sequenciamento do genoma completo pela Gene One, não foram detectados nem ganhos nem perdas de segmentos cromossômicos considerados patogênicos, provavelmente patogênicos ou de significado incerto.

Análise de exoma:

Durante a análise de WES foi observada a deleção de 87 bp dos exons 2 e 3 do gene *TCF7L2* (OMIM *602228), em heterozigose com o alelo de referência (Figura 12). Essa deleção foi confirmada por meio da reanálise do Microarray. Alterações nesse gene foram recentemente descritas como causais do Transtorno Complexo do Neurodesenvolvimento [71]. A variante foi classificada como de acordo com os critérios do ACMG (2A-2E: +0.90 - Sobreposição com genes ou regiões genômicas sensíveis a HI/LOF estabelecidos [ambos os pontos de quebra estão dentro da região de codificação do mesmo gene].

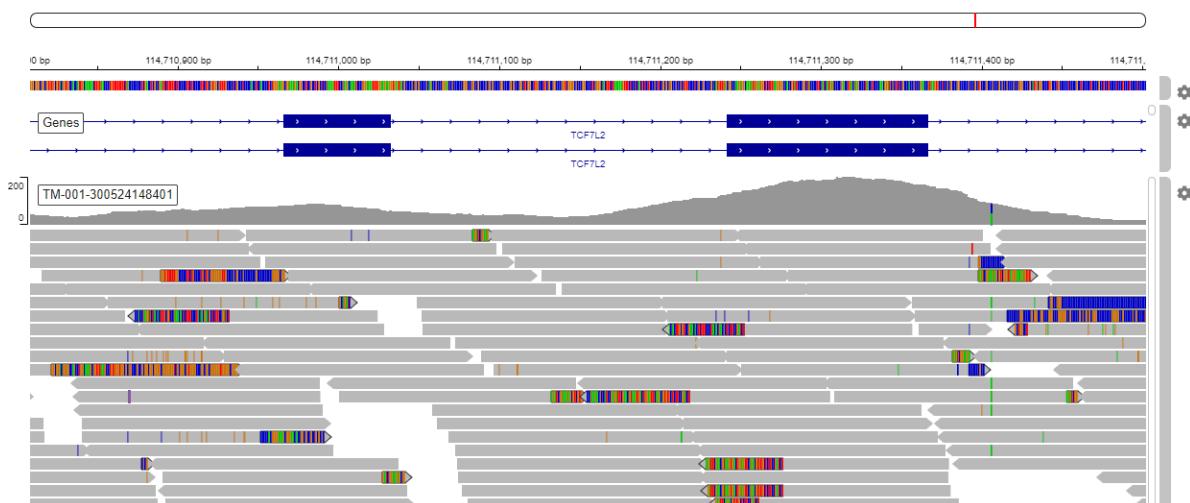


Figura 12. Deleção dos exons 2 e 3, com alelo de referência identificado no gene *TCF7L2* da paciente 5. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

O gene *TCF7L2* (OMIM *602228) codifica um fator de transcrição que contém uma caixa de grupo de alta mobilidade (um fator de transcrição estrutural), que atua na homeostase da glicose no sangue, e está localizado no cromossomo 10q25.2-q25.3. Variantes patogênicas neste gene já foram associadas a diversas doenças [72], e sabe-se que esse gene possui um papel chave no desenvolvimento do sistema nervoso [73, 74].

O gene *TCF7L2* (Figura 13) é expresso por todo o corpo (Figura 14), mas a área de interesse para essa pesquisa é o cérebro, nesse órgão ele é mais expresso no córtex frontal (Figura 15). O córtex frontal é o maior lobo do cérebro e está associado a funções cognitivas superiores, como: tomada de decisões, motivação, resolução de problemas, planejamento, regulação emocional e atenção, desempenhado pelo córtex pré-frontal; planejamento, orientação espacial e coordenação de movimentos voluntários, desempenhado pelo córtex motor; e desenvolvimento e manutenção da fala, desempenhado pela área da Broca [75].

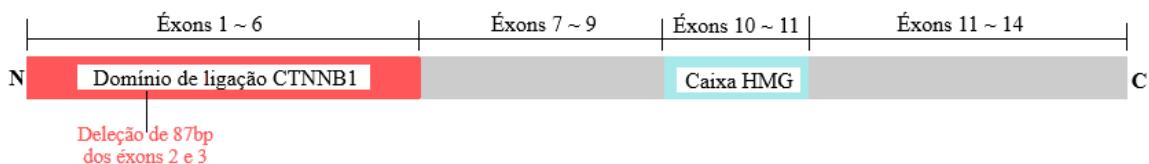


Figura 13. Representação da estrutura do gene *TCF7L2* com a localização da deleção encontrada na análise de exoma.

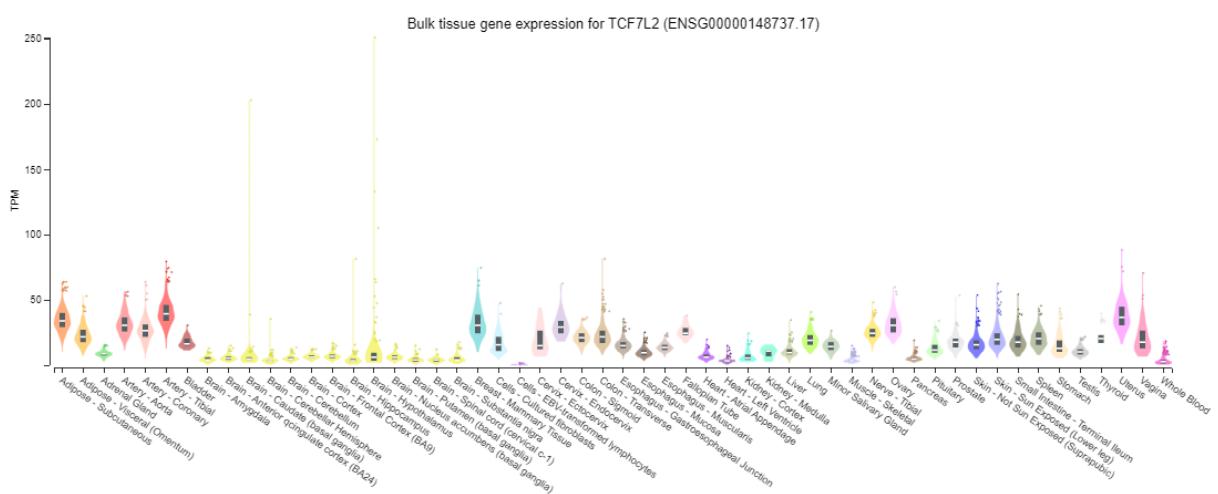


Figura 14. Expressão do gene *TCF7L2* pelo corpo humano, cada tecido é representado por uma cor diferente. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

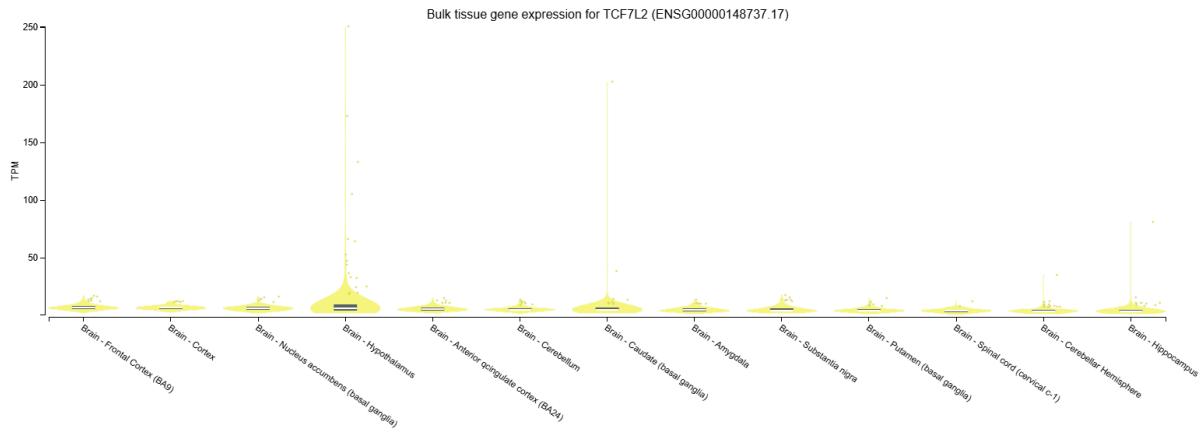


Figura 15. Expressão do gene *TCF7L2* no cérebro humano. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

A deleção no gene *TCF7L2* ocorreu no domínio de ligação CTNNB1 (Figura 13). Nesse domínio ocorre a ligação da proteína codificada pelo gene com a beta-catenina, responsável pela via de sinalização Wnt e pela homeostase celular. Com a deleção é provável que a ligação entre no domínio não ocorra da maneira apropriada. Variantes nos genes *TCF7L2* e *CTNNB1* já foram extensamente relacionadas ao câncer [76], porém, atualmente (2025), já existem pesquisas descrevendo o papel desses genes no neurodesenvolvimento e como a falta do seu funcionamento correto pode estar relacionado com DI e outros distúrbios do neurodesenvolvimento [77 e 78].

Um estudo realizado em 2024 por *Dias et al.* [79] avaliou 11 pacientes com pré-diagnóstico de DI que apresentavam mutações *de novo* em heterozigose no gene *TCF7L2*. Esse estudo contribuiu para o estabelecimento de um fenótipo esperado para pessoas afetadas pelo Transtorno Complexo do Neurodesenvolvimento. Dos 11 pacientes analisados: todos apresentaram DI e ADNPM em diferentes níveis (de baixo a médio); TEA foi frequentemente observado, assim como déficit de atenção com hiperatividade; miopia também foi identificada em metade dos pacientes, sendo severa em dois deles. Diversos pacientes apresentaram dismorfias craniofaciais, sendo elas variadas.

Levando em consideração os achados da análise de WES e do quadro clínico relatado por *Dias et al.* em sua pesquisa [79], a alteração dos exons 2 e 3 do gene *TCF7L2* é a provável causa do quadro de DI-S da paciente 5.

5.6 – Paciente 6

Trata-se da primeira filha de casal jovem, cuja mãe não sabe informar sobre consanguinidade. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 13 anos devido a DI e baixa estatura e incluída no projeto aos 18 anos. O pai da paciente apresenta um quadro de DI e o avô materno apresenta dislipidemia e DI (Figura 16).

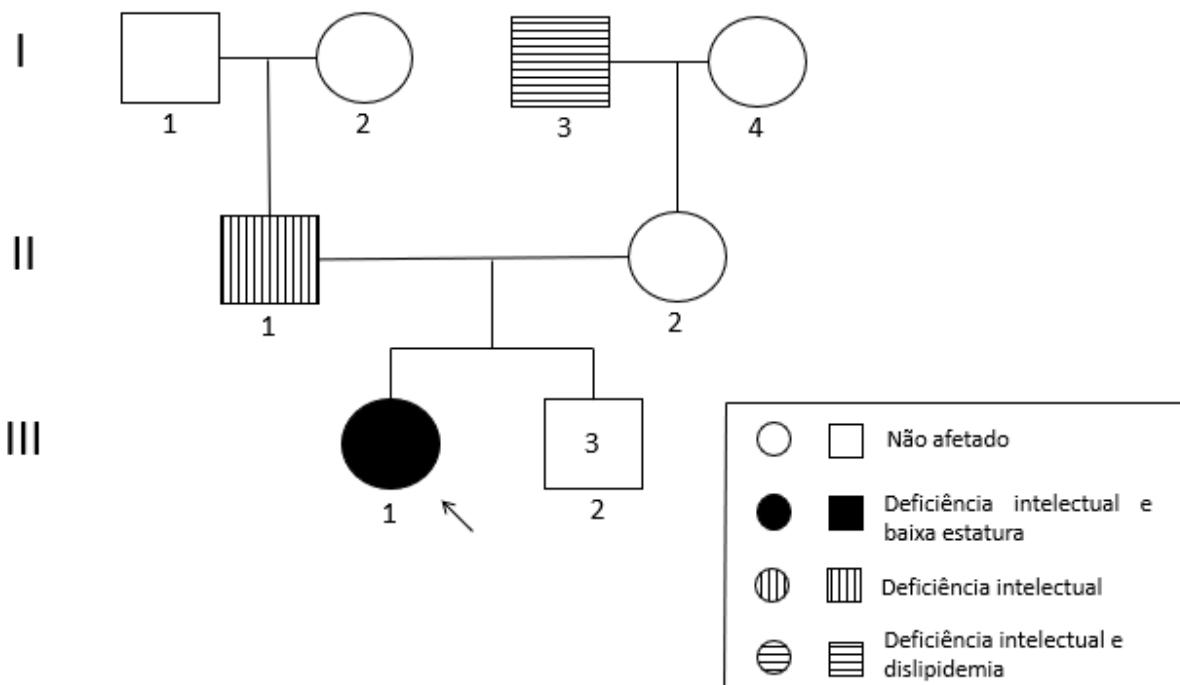


Figura 16. Heredograma da família da paciente 6.

Histórico de neurodesenvolvimento: foi prematura de 30 semanas, nasceu de parto normal e ficou 45 dias internada na UTI, após esse período recebeu alta. Teve sepse bacteriana e fúngica, apneia, doença da membrana hialina e convulsões. Engatinhou com nove meses, andou com um ano e dois meses, começou a falar com um ano e três meses. Fez estimulação precoce até os três anos. Tem dificuldade de aprendizado, porém consegue ler e escrever. É independente quanto a higiene. Queixa-se frequentemente de dor no estômago.

Exame físico aos 17 anos: peso 43,45 kg (p3-p5), estatura 1,43 m (<p3), perímetro encefálico 52,5 cm (p2-p50). Orelhas normais e normoimplantadas, membros proporcionais, pregas palmares normais.

- Dismorfias Craniofaciais: aparente microcefalia, testa estreita e curta, aparente hipertelorismo ocular, base nasal alargada com columelas visíveis, filtro curto e bem marcado, palato alto, dentição mista.

Exames de imagem: RM (2022), focos esparsos de hipersinal T2/Flair na substância branca dos lobos frontais e centros semiovais indeterminados, espessamento mucoso maxiloesfenoetmoidal e cisto de retenção/pólipo no seio maxilar direito.

Exames de genética: Cariótipo (2020), normal, 46, XX.

Análise de Exoma:

Durante a análise de WES não foram encontradas variantes patogênicas, provavelmente patogênicas ou VUS em genes que expliquem o quadro da paciente 6. Com o surgimento de outras características pode ocorrer a correlação de alguma variante com uma síndrome que explique a DI sindrômica. Com a reanálise do exoma a cada 3 anos e as visitas anuais ao HUB, é possível que em alguns anos, com o avanço do conhecimento sobre a função de genes ligados ao neurodesenvolvimento, seja possível a realização do diagnóstico.

5.7 – Paciente 7

Trata-se de filha única de casal jovem, não consanguíneo, com 3 anos. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 8 dias de vida devido a ADNPM, convulsões e malformação do trato urinário.

A história familiar revelou membros da família do avô materno da paciente afetados. O irmão do avô tem problema renal e aguarda transplante e um sobrinho de 42 anos tem perda de proteína na urina, sequela de meningite ocorrida durante a infância (Figura 17).

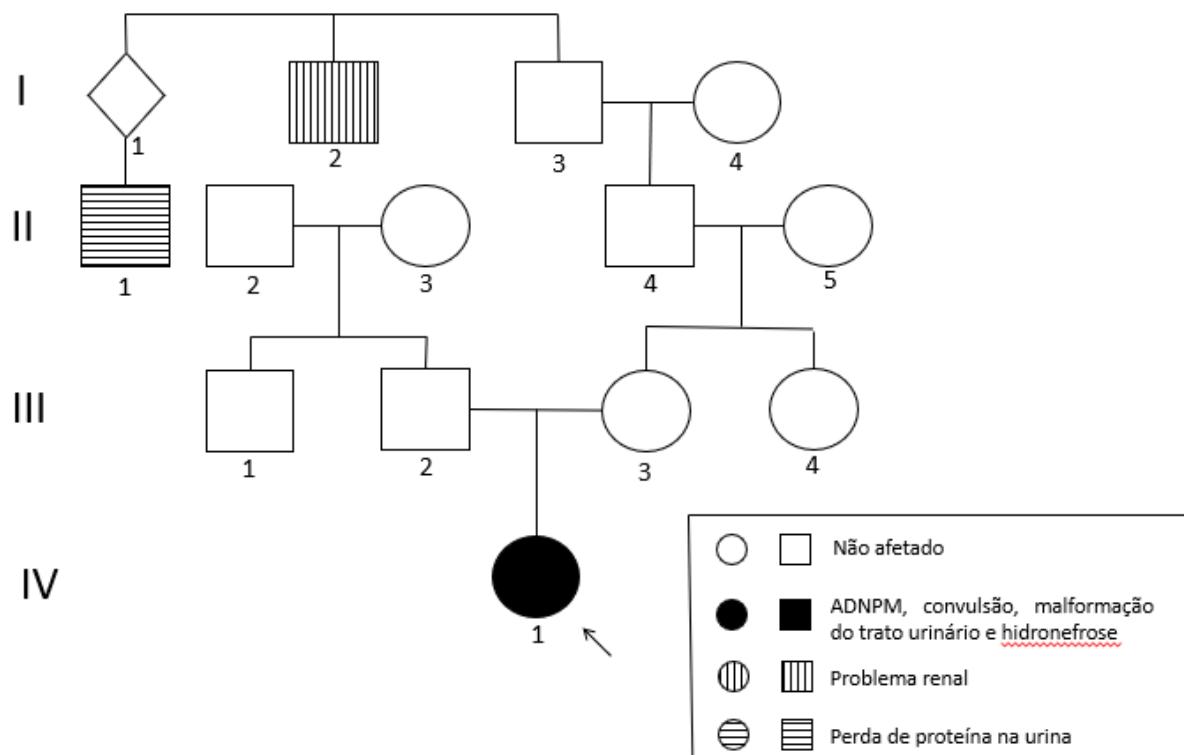


Figura 17. Heredograma da família da paciente 7.

Histórico de neurodesenvolvimento: gestação sem intercorrências, com pré-natal desde o início. Usou vitaminas e não fumou durante a gestação. Na ecografia realizada com 35

semanas foi identificado hidronefrose e que o bebê estava em posição pélvica. A ecografia foi repetida com 38 semanas e o bebê continuava pélvico e então, com 39 semanas, foi realizado o parto por cesárea. Foi avaliado olhar conjugado para cima na paciente. Recebeu alta com 24 dias. Usou cefalexina como profilaxia para a hidronefrose.

Exame físico aos 2 anos: peso 9.830 g (p5-p10), estatura 82 cm (p10-p25). Membros proporcionados, pregas palmares normais, genitália feminina normal.

- Dismorfias Craniofaciais: fontanela anterior aberta, testa curta, abaulada, hipertricose frontal e no dorso, fendas palpebrais retas, sem epicanto, nariz curto, globoso, ponte nasal larga, narinas antevertidas, palato estreito, exterioriza a língua, as orelhas são rodadas para trás, com hipoplasia da hélice com borda anti-hélice.
- Outras Dismorfias: abdome volumoso, flácido. Dedos algo afilados com unhas estreitas. Criança hipoativa.

Exames de imagem: Ecografia de abdome total (2021) leve aumento difuso da ecogenicidade do parênquima renal bilateralmente, sinais de duplicação pielocalicinal esquerda, hidroureteronefrose bilateral. Ultrassonografia dos rins e vias urinárias (2021) moderada e acentuada hidronefrose bilateral, bexiga de aspecto normal. Uretrocistografia miccional (2021) refluxo vesico-ureteral grau V à esquerda. TC de crânio (2022) plagiocefalia posicional posterior direita. EEG (2022) sem anomalias. Cintilografia renal estática (2022) rins com aspecto hidronefrótico, com função tubular preservada, sem evidências de cicatrizes corticais.

Exame oftalmológico: sem alterações.

Exame de triagem auditiva (EOA): normal.

Exames genéticos: Painel Movimento (Distúrbios do Neurodesenvolvimento e do Movimento): ausência de variantes isoladas que justifiquem o quadro clínico.

Análise de Exoma:

Durante a análise de WES foi encontrada uma variante provavelmente patogênica no gene *PIGT* da paciente 7 (PM2 – Provavelmente patogênico: frequência extremamente baixa em bancos de dados populacionais; PP3 – Provavelmente patogênico: para uma variante na região de splicing ou do tipo sentido trocado, as ferramentas de previsão computacional apoiaram unanimemente um efeito deletério no gene e PP5 – Patogênico: fonte confiável relata recentemente a variante como patogênica, mas a evidência não está disponível para o

laboratório realizar uma avaliação independente) e outra variante classificada como VUS no mesmo gene (PM2 – Provavelmente patogênico: frequência extremamente baixa em bancos de dados populacionais e PP3 – Provavelmente patogênico: PP3 – Provavelmente patogênico: para uma variante na região de splicing ou do tipo sentido trocado, as ferramentas de previsão computacional apoiaram unanimemente um efeito deletério no gene). A variante c.550G>A (p.E184K) (Provavelmente patogênica) foi identificada no exon 4 do gene *PIGT* (Figura 18) e a variante c.1553C>G (VUS) (p.P518R) (rs774753616) foi identificada no exon 12 do mesmo gene (Figura 19). Ambas são do tipo sentido trocado e se encontram em heterozigose com o alelo de referência. Variantes no gene *PIGT* já foram descritas pacientes com a Síndrome de Múltiplas Anomalias Congênitas-Hipotonia-Convulsões (OMIM #615398). A cobertura da variante c.550G>A foi de 140 vezes, A: 64 (48%), G: 73 (52%) e da variante c.1553C>G foi de 58 vezes, C: 36 (62%), G: 22 (38%).



Figura 18. Variante c.550G>A em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *PIGT* da paciente 7. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.



Figura 19. Variante c.1553C>G em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *PIGT* da 7. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

O gene *PIGT* (OMIM *610272) é expresso no corpo todo, tendo como principal função a codificação de uma subunidade (classe T de biossíntese de fosfatidilinositol-glicano) que faz parte de um complexo (complexo transamidase heteropentamérico) que catalisa a ligação de proteínas ao glicosilfosfatidilinositol (GPI) (um glicolipídio complexo), uma das modificações pós-traducionais mais comuns em células eucarióticas [80]. Proteínas ancoradas ao GPI possuem papéis vitais em processos biológicos, sendo os mais relevantes para esse trabalho a diferenciação de neurônios e o processo da apoptose neural.

Na análise realizada pelo software AlphaMissense, a substituição de ácido glutâmico por lisina no aminoácido de número 184 (Figura 20) e a substituição de prolina por arginina do aminoácido de número 518 (Figura 21) foram ambas classificadas como patogênicas (p.E184K, mean 0.999 e p.P518R, mean 0.922). Isso indica que uma mudança na conformação da proteína e na diminuição da sua estabilidade, confirmadas pela análise feita no DynaMut2 (p.E184K, DDG= -0,69 kcal/mol e p.P518R, DDG= -0,55 kcal/mol) (Figura 22 a Figura 27).

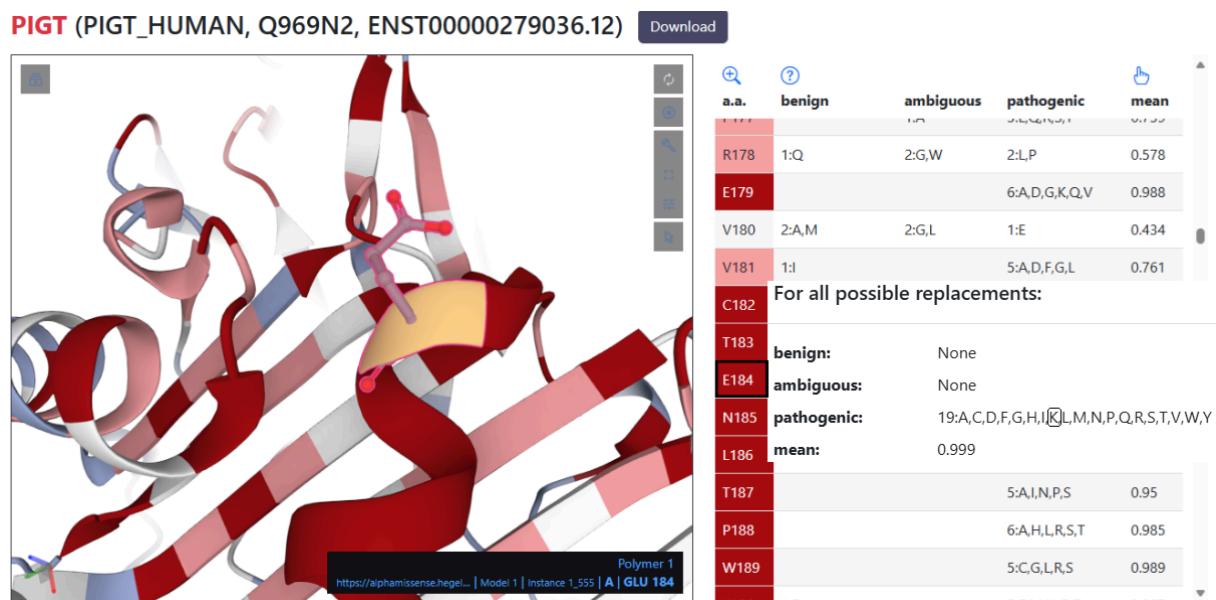


Figura 20. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *PIGT* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (E184) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

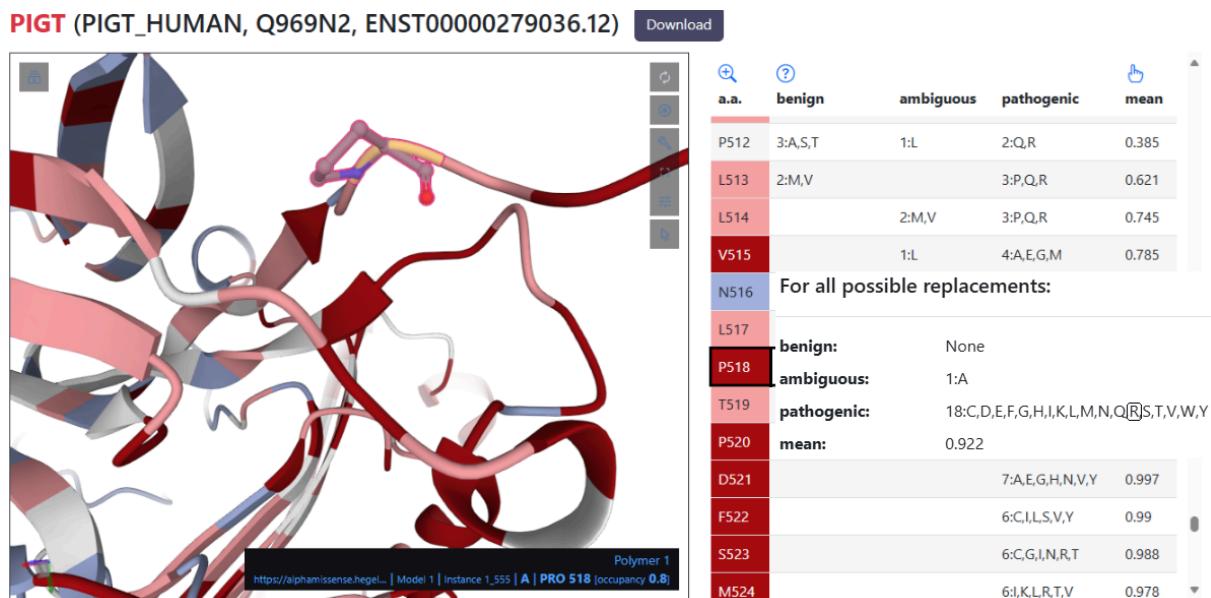


Figura 21. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *PIGT* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (P510) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

Results



Figura 22. Predição da mudança da estabilidade da proteína codificada pelo gene *PIGT* após a sua modificação pela variante c.550G>A (p.E184K). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

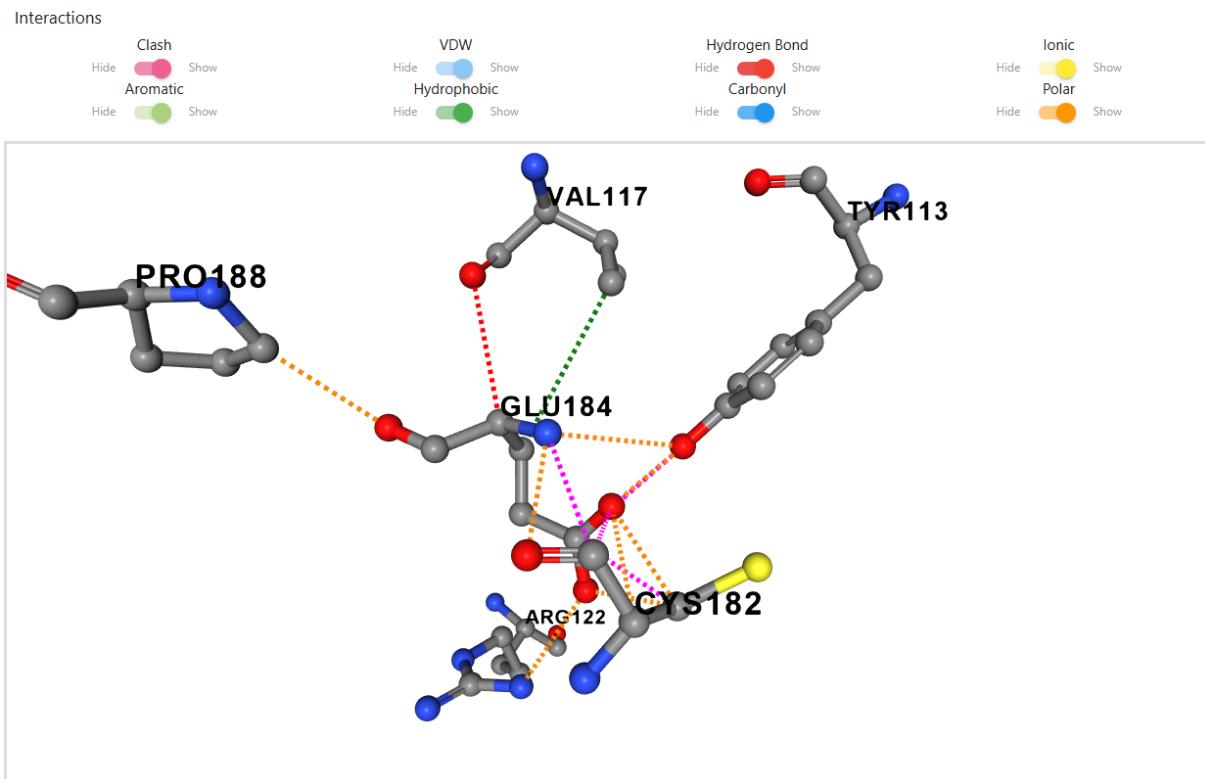


Figura 23. Conformação e interações moleculares do aminoácido 184 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *PIGT*. Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

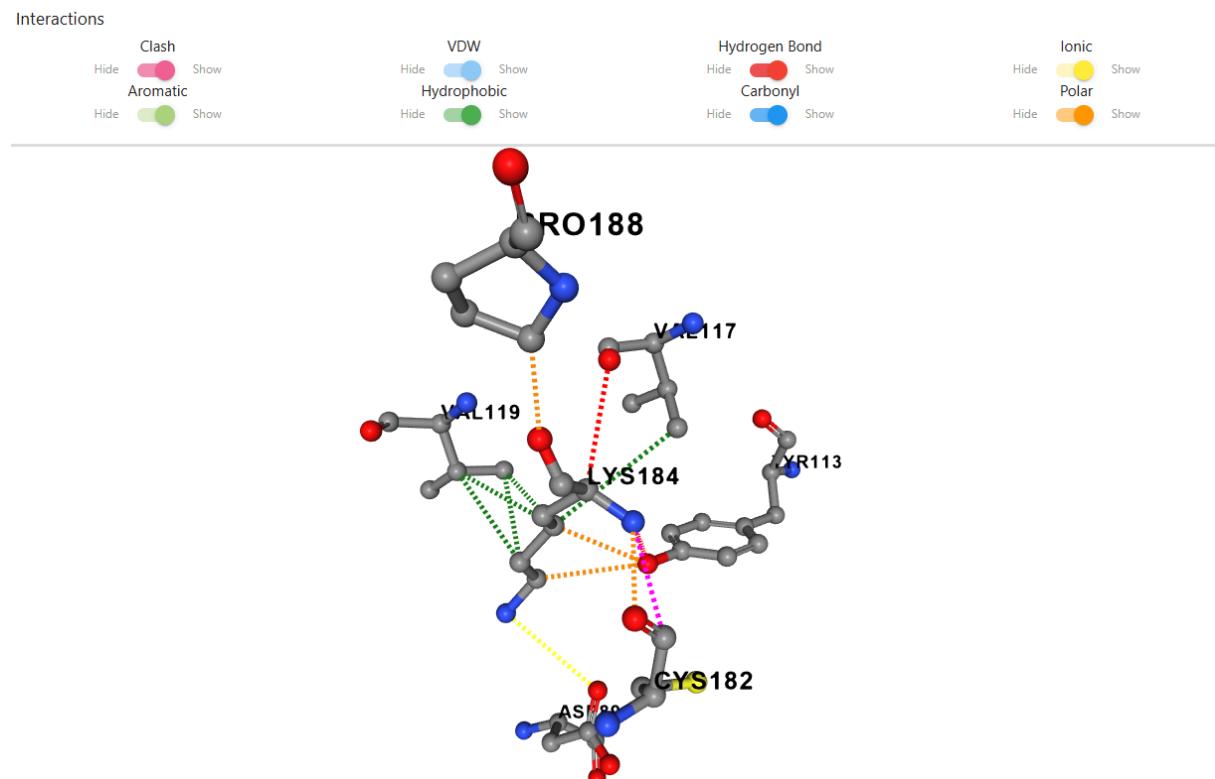


Figura 24. Conformação e interações moleculares do aminoácido 184 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *PIGT* mutado. O gene possui a variante c.550G>A (p.E184K). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

Results



Figura 25. Predição da mudança da estabilidade da proteína codificada pelo gene *PIGT* após a sua modificação pela variante c.1553C>G (p.P518R). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

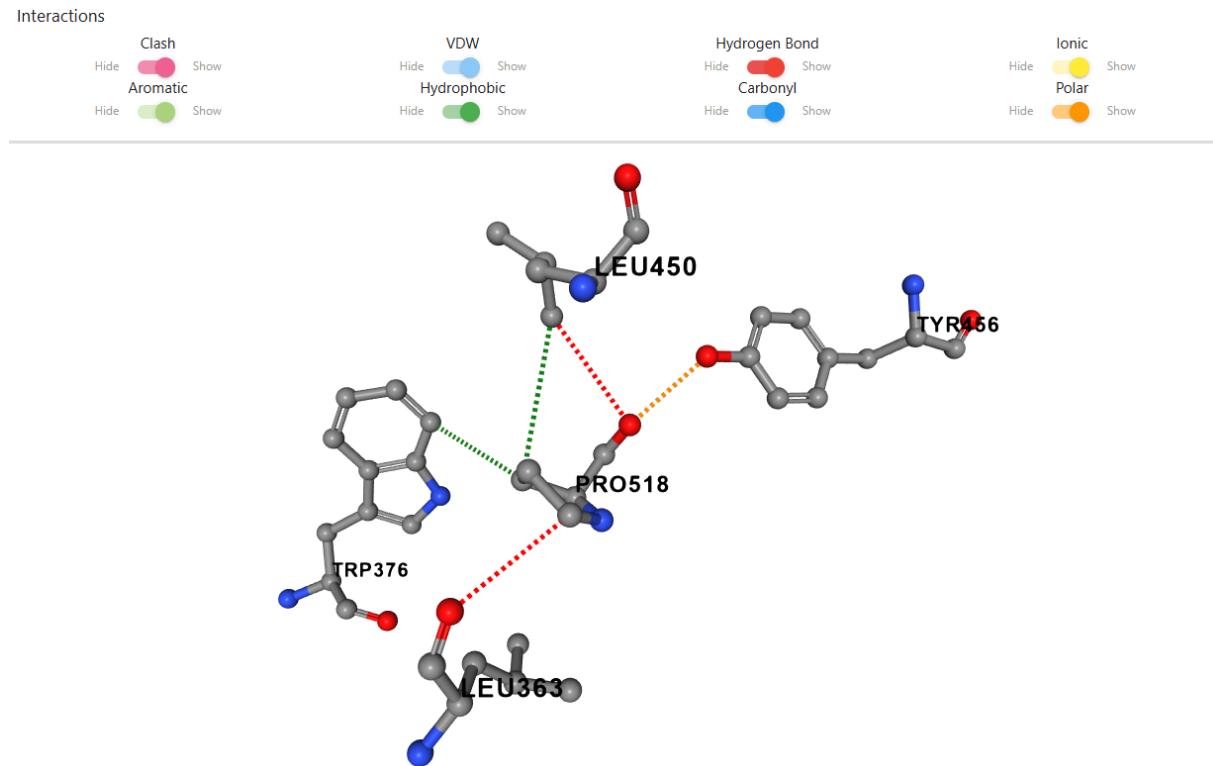


Figura 26. Conformação e interações moleculares do aminoácido 518 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *PIGT*. Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

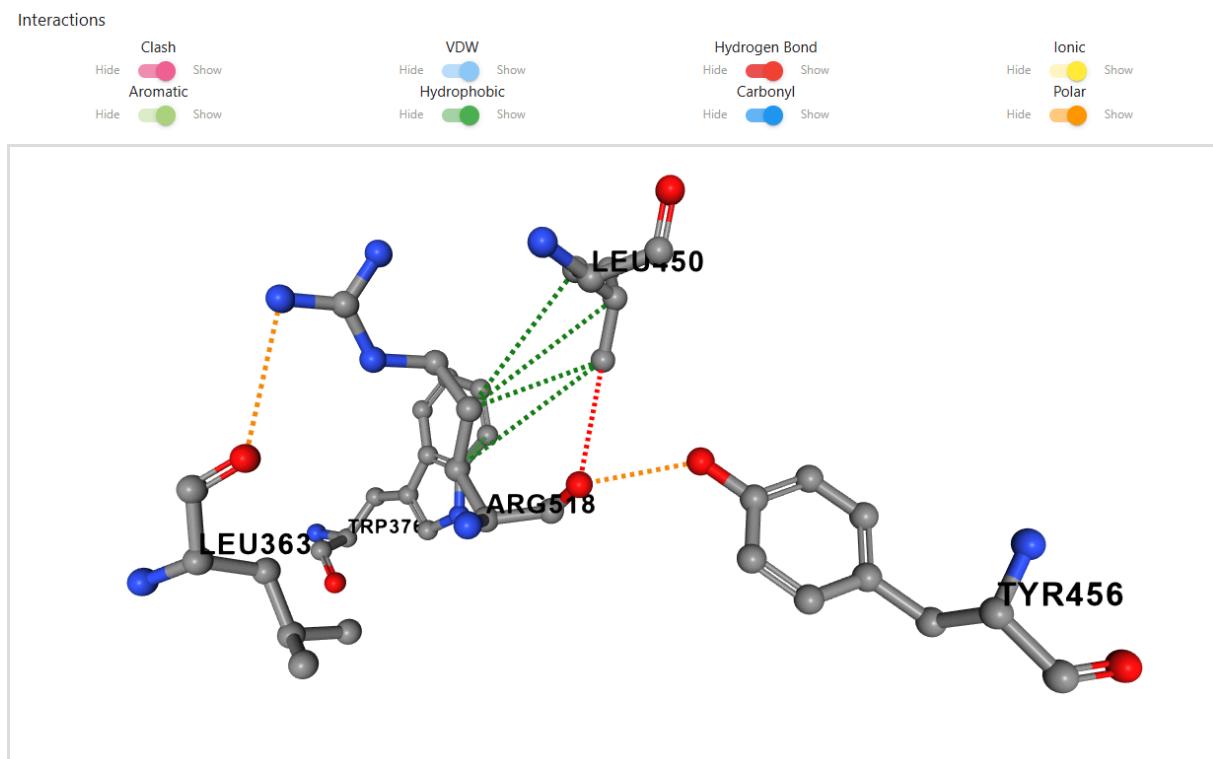


Figura 27. Conformação e interações moleculares do aminoácido 518 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *PIGT* mutado. O gene possui a variante c.1553C>G (p.P518R). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

A simulação realizada pelo *software* DynaMut2 (Figura 22 a Figura 27) demonstrou a modificação da conformação da proteína codificada pelo gene *PIGT* quando ele possui as variantes encontradas durante a análise de exoma. Em ambos os casos ocorreu a modificação das ligações moleculares entre o aminoácido alterado e os aminoácidos normais próximos (Figura 23 e 24, Figura 26 e 27). Essa reorganização gerou a desestabilização da proteína (Figura 22 e Figura 25), mudando, com isso, o seu enovelamento e provavelmente causando perda de função, isso devido a incapacidade de se ligar com as moléculas necessárias para a realização da sua função.

A Síndrome de Múltiplas Anomalias Congênitas-Hipotonia-Convulsões é causada por variantes patogênicas em homozigose ou em heterozigose composta no gene *PIGT* localizado no cromossomo 20q13. A síndrome com padrão de herança autossômico recessivo é caracterizada por hipotonia neonatal, ADNPM, convulsões, dismorfias faciais e anomalias congênitas envolvendo os sistemas cardíaco, urinário e gastrointestinal. A maioria dos indivíduos afetados faleceu antes dos 3 anos de idade devido ao defeito na biossíntese de glicosilfosfatidilinositol [80]. O quadro apresentado pela paciente 7 é compatível com o diagnóstico para a síndrome, porém as duas variantes encontradas são somente sugestivas de heterozigose composta, sendo necessária a realização de exames adicionais, como

sequenciamento de Sanger ou WES dos pais, para a confirmação da fase das variantes e do diagnóstico.

Ademais, durante a análise de WES foi encontrada a variante c.227T>C (p.L76P), do tipo sentido trocado, em heterozigose com o alelo de referência no exon 2 do gene *INF2* (OMIM *610982) (Figura 28). Essa variante foi descrita em dois artigos [81, 82] em pacientes com Glomerulosclerose Segmentar Focal (OMIM #613237). A variante foi classificada como VUS de acordo com os critérios do ACMG (PM1 – Provavelmente patogênico: a variante não-truncada e não-sinônima está localizada em um hot spot mutacional e/ou domínio funcional crítico e bem estabelecido, PM2 – Provavelmente patogênico: frequência extremamente baixa em bancos de dados populacionais e PP3 – Provavelmente patogênico: PP3 – Provavelmente patogênico: para uma variante na região de splicing ou do tipo sentido trocado, as ferramentas de previsão computacional apoiaram unanimemente um efeito deletério no gene). A cobertura da variante foi de 147 vezes, C: 68 (46%), T: 79 (54%).



Figura 28. Variante c.227T>C em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *INF2* da paciente 7. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

O gene *INF2* (OMIM *610982) atua na formação geométrica dos filamentos de actina, por meio da cisão da actina e da aceleração de polimerização e despolimerização dela. Ademais, o gene também é necessário para realização efetiva da fissão mitocondrial [83]. A análise realizada pelo software AlphaMissense (Figura 29) classificou a modificação do aminoácido de número 76 da cadeia polipeptídica de leucina para prolina como patogênica (p.L76P, mean 0.446). Essa classificação está relacionada à desestabilização da proteína causada por essa alteração. A Glomeruloesclerose Segmentar Focal é uma doença renal hereditária e é causada por variantes patogênicas em heterozigose no gene *INF2*, localizado no cromossomo 14q32.33. Ela é associada a proteinúria, a Síndrome Nefrótica e a perda progressiva da função renal [83].

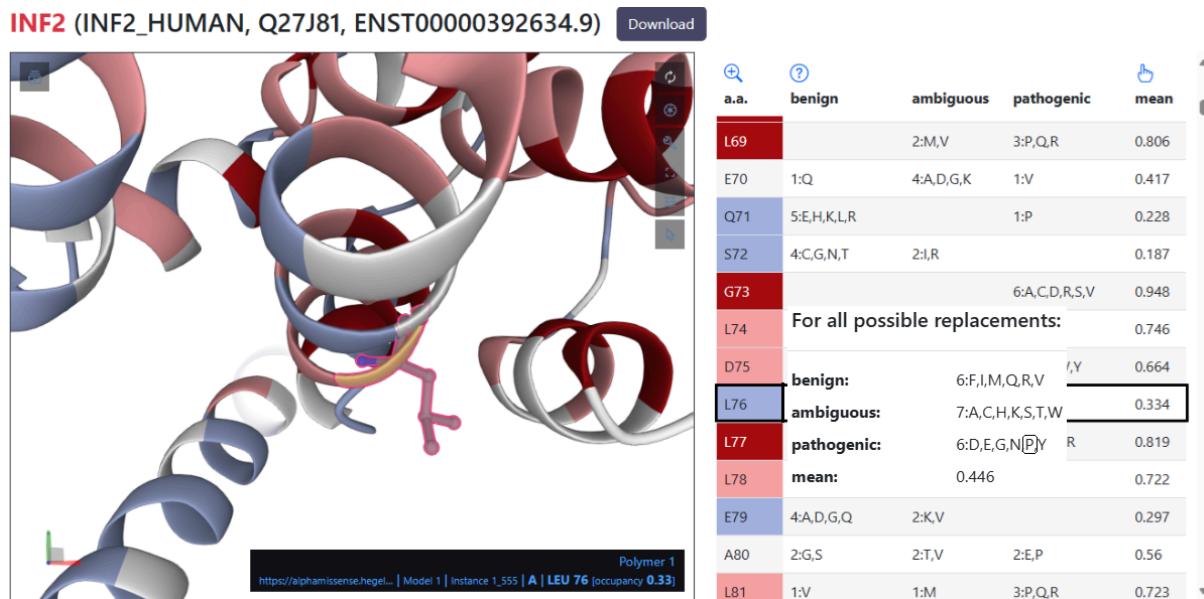


Figura 29. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *INF2* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (L76) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

A paciente 7 possui uma variante VUS no gene *INF2*, que é um dos 13 genes cuja alteração é associada à proteinúria e à glomerulosclerose. Como previamente mencionado, a variante p.Leu76Pro encontrada no WES da paciente já foi descrita na literatura em pacientes com a Glomerulosclerose Segmentar Focal [84, 85]. Dessa forma, essa variante pode ser a causa do quadro de hidronefrose da paciente.

5.8 – Paciente 8

Trata-se de filha única de casal jovem, não consanguíneo, com 9 anos. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 6 anos devido a ADNPM, microcefalia, distúrbio comportamental e dismorfias. A mãe fez uso de Nimesulida e álcool com frequência durante a gestação (Figura 30).

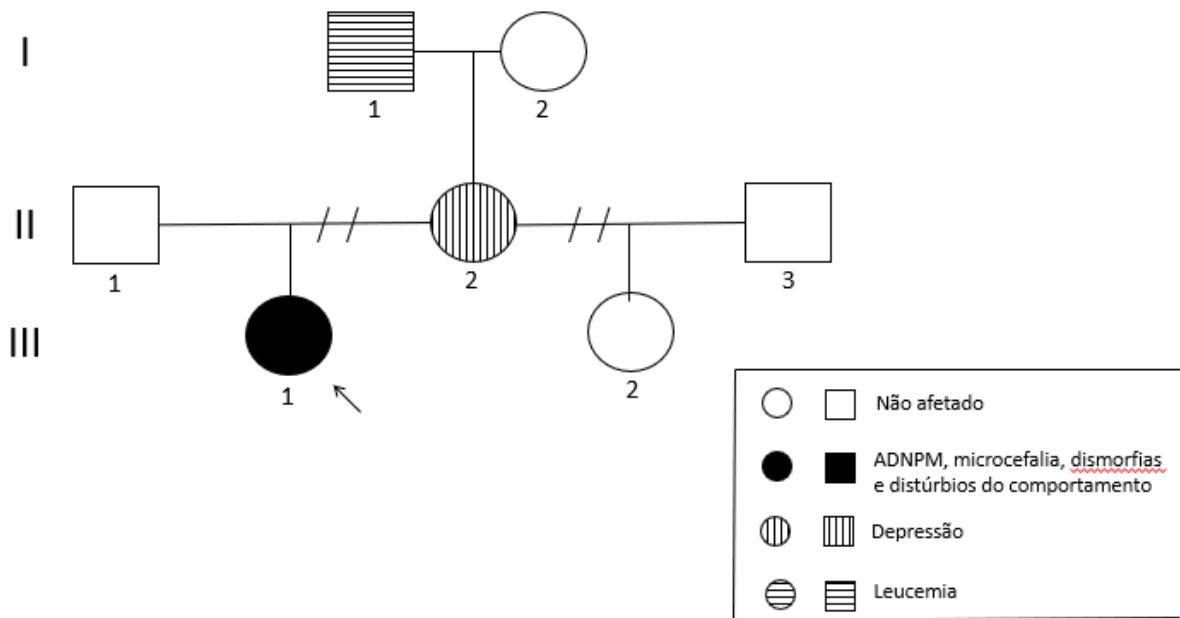


Figura 29. Heredograma da família da paciente 8.

Histórico de neurodesenvolvimento: nasceu de parto cesárea. Criança hipotônica, firmou o pescoço após os dois anos, após acompanhamento no SARAH. Sentou com dois anos e começou a andar com quase três anos. Começou a falar com três anos. Avó materna refere que é uma criança muito agressiva, tanto hetero quanto auto-agressiva. Possui atraso no desenvolvimento, fala somente algumas palavras. Teve 2 episódios de convulsão com cerca de 1 ano de idade. Possui estereotipias de bater palmas, bater punhos no peito, roer as unhas, tricofagia. Não conhece letras, cores e números, porém comprehende comandos básicos.

Exame físico com 9 anos: peso 20,3 kg (<p3), estatura 1,20 m (<p3), perímetro encefálico 49,7 cm (p2-p50). Membros sem anomalias, mãos com pregas palmares bem marcadas, sem clinodactilias, orelhas normoimplantadas.

- Dismorfias Craniofaciais: microcefalia, pinçamento biparietal importante, face alongada, fendas palpebrais retas, raiz e ponte nasal médias.

Exames de imagem: Ecocardiograma (2022), displasia discreta da valva tricúspide, com regurgitação discreta.

Outros exames: Audiometria de onda V (2017), elevação do limiar da onda V, bilateralmente. Glicina (2017), 426.8 (VR: 83 a 207.2) [às vezes acontece um nível elevado no teste do pezinho, na primeira realização do exame, pode abaixar com o tempo]. MS/MS (2021), normal, sem aumento de glicina.

Exames genéticos: Síndrome do X Frágil (2018), negativo (cerca de 28 repetições de CGG). Rett-MECP2 (2018), sem mutações nos exons 2, 3 e 4 do gene *MECP2*. MLPA para Rett (2018), sem alterações. Painel Movimento (2022), ausência de variantes que isoladamente justifiquem o quadro clínico. Cariótipo (2022), normal, 46, XX.

Análise de Exoma:

Durante a análise de WES foi identificada a variante c.1318T>C (p.F440L), do tipo sentido trocado, em heterozigose com o alelo de referência, no exon 12 do gene *NARS1* (OMIM *108410) (Figura 31). Variantes no gene *NARS1* já foram descritas em pacientes com o Transtorno de Neurodesenvolvimento com Microcefalia, Prejuízo da Linguagem, Epilepsia e Anormalidades da Marcha (OMIM #619092). A variante foi classificada como VUS de acordo com os critérios do ACMG (PM2 – Provavelmente patogênico: frequência extremamente baixa em bancos de dados populacionais, PP3 – Provavelmente patogênico: para uma variante sentido trocado ou na região de splicing, as ferramentas de previsão computacional apoiam unanimemente um efeito deletério no gene e PP2 – Provavelmente patogênico: Variante sentido trocado em um gene com baixa taxa de variantes sentido trocado benignas e para o qual mutações sentido trocado são um mecanismo comum de doenças). A cobertura da variante foi de 181 vezes, A: 104 (57%), G: 77 (43%).

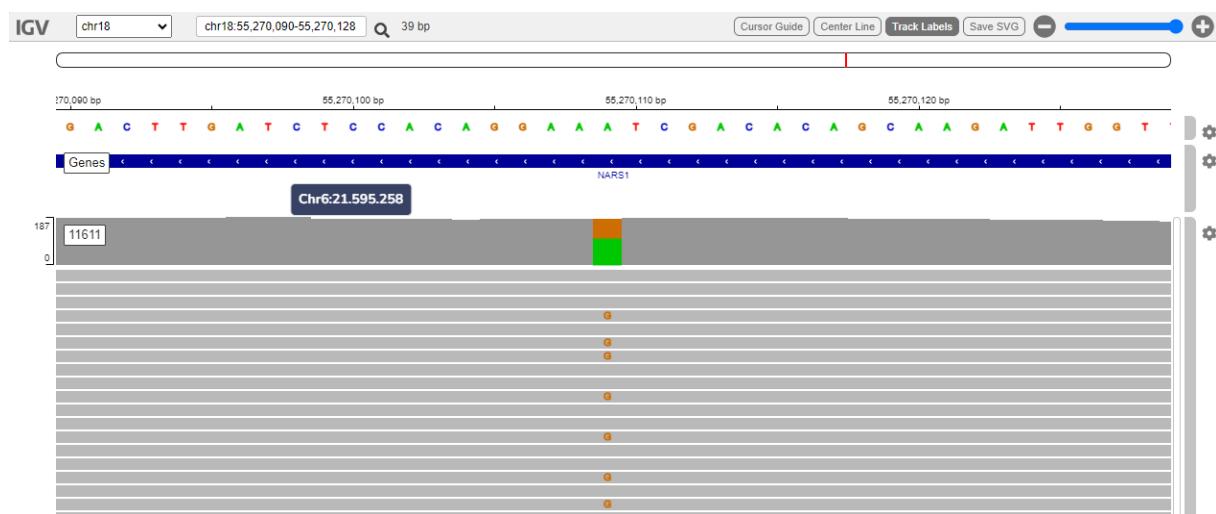


Figura 31. Variante c.1318T>C em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *NARS1* da paciente 8. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

O gene *NARS1* (asparaginil-tRNA sintetase citoplasmática) é parte de uma família de enzimas altamente especializadas que mediam a transferência de aminoácidos para o tRNA tanto no citoplasma quanto na mitocôndria, reação necessária para a tradução de proteínas. O gene *NARS1* realiza essa função no citoplasma, enquanto o gene *NARS2* realiza seu papel na mitocôndria [86].

O *NARS1* é expresso por todo o corpo (Figura 32), sendo de principal interesse a sua expressão em diversas partes do cérebro (Figura 33). No cérebro, o *NARS* é expresso em maior quantidade nos hemisférios cerebelares e no córtex frontal (Figura 33), e já foi descrito na literatura que a perda de função de *NARS1* afeta a proliferação dos organoides cerebrais no córtex, levando ao tamanho reduzido deles, característico de microcefalia [86]. Os hemisférios cerebelares são a maior parte do cerebelo, região do cérebro responsável pela coordenação motora, controle dos movimentos voluntários e balanço [93]. Menos conhecida é a função dessa região do cérebro em ações não motoras, sendo elas: funções sensoriais, cognitivas, afetivas e de função social [93, 94]; expectativa de receber recompensa ao realizar uma tarefa [93, 95]; e controle de funções autônomas e excitação [93, 96].

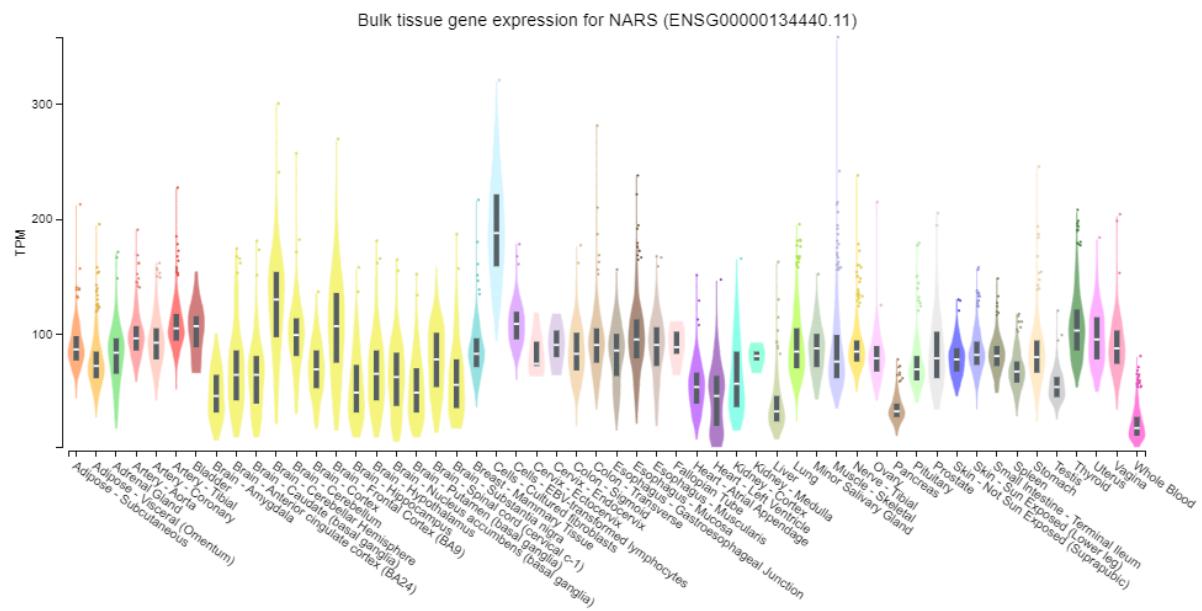


Figura 32. Expressão do gene *NARS* pelo corpo humano, cada tecido é representado por uma cor diferente. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

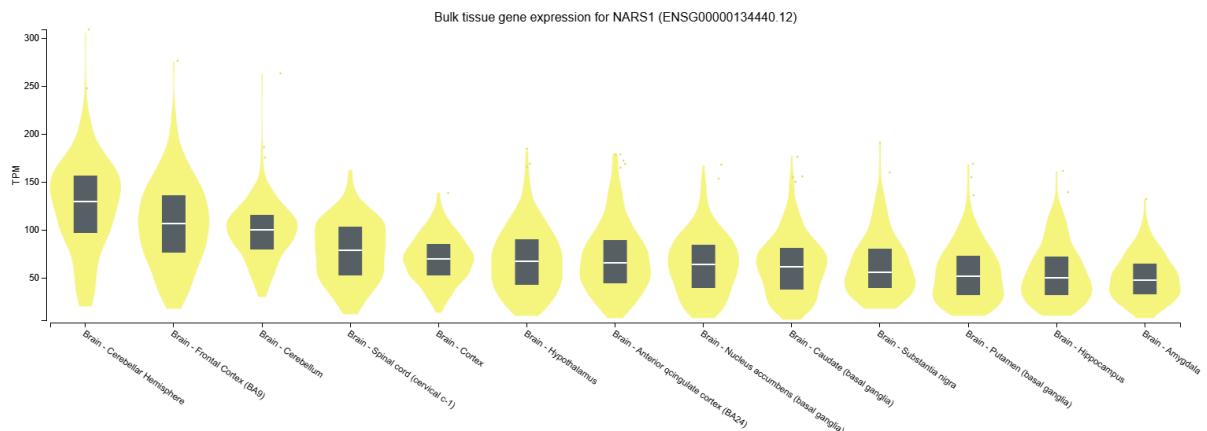


Figura 33. Expressão do gene *NARS* no cérebro. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

O gene *NARS1* é mais expresso nos exons 14 – 11 (Figura 34). Esse fato é relevante, pois a variante foi localizada no exão 12 do gene *NARS* da paciente.

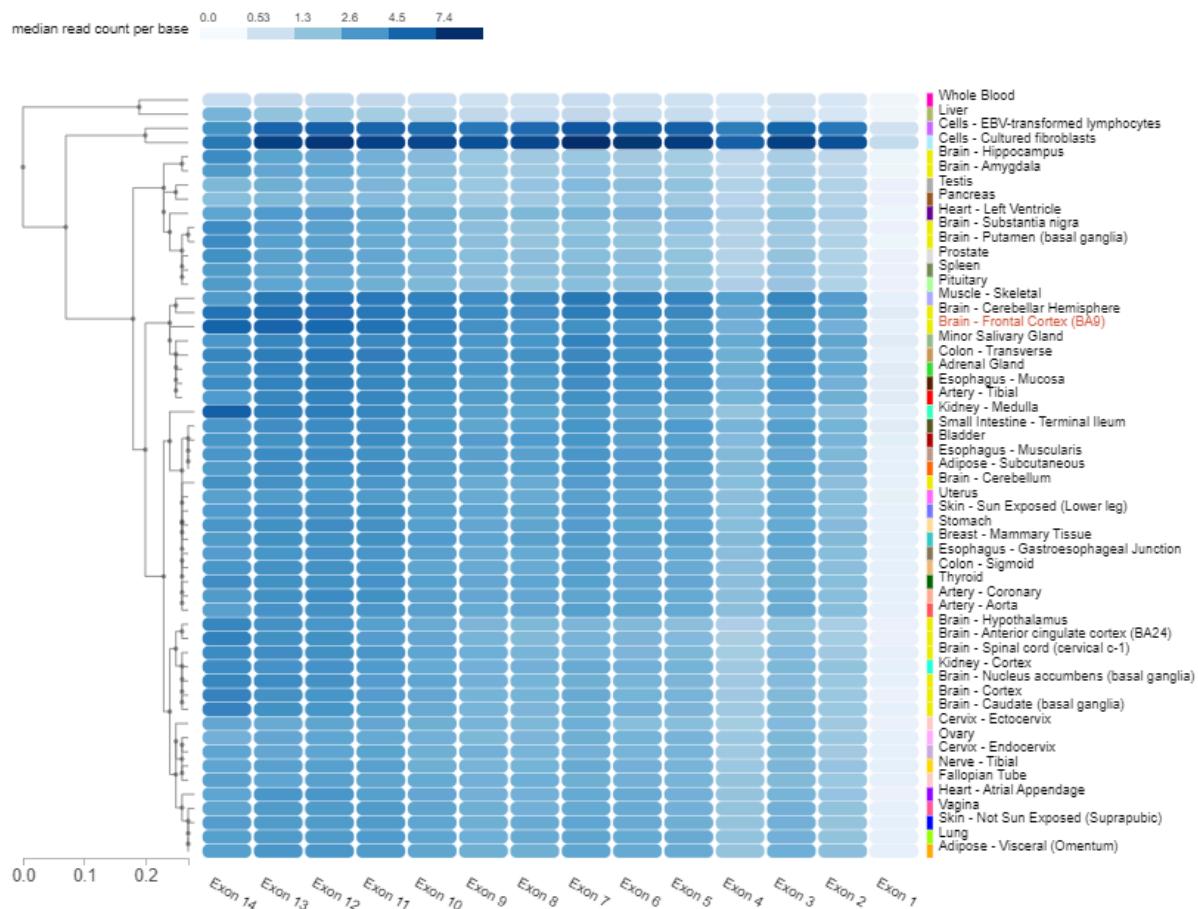


Figura 34. Exons do gene *NARS* em todos os tecidos nos quais ele é expresso. O córtex frontal está marcado em vermelho. Imagem gerada pelo portal gtex.

A análise realizada pelo software AlphaMissense (Figura 35) classificou a mudança de fenilalanina para leucina no resíduo de aminoácido de número 440 como patogênica (p.F440L, mean 0.987). Isso sugere que a alteração afetaria a estabilidade da proteína, o que foi confirmado pelo DynaMut2 (Figura 36 a 38).

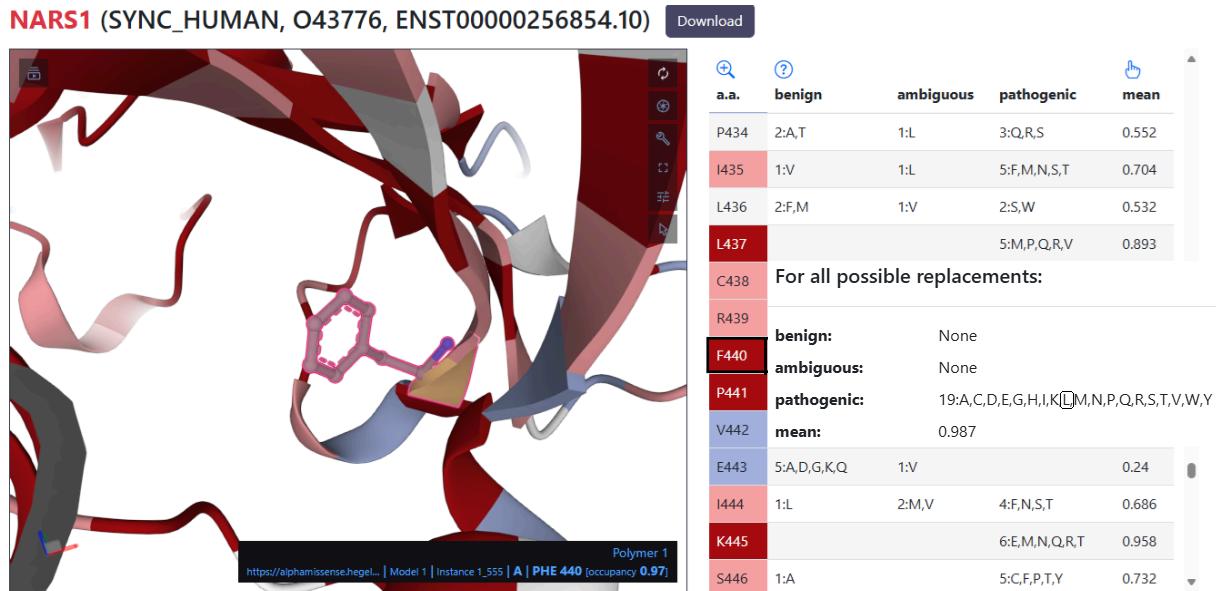


Figura 35. Esquematização 3D da proteína codificada pelo gene *NARS* (esquerda) e tabela de resíduos de aminoácido que formam a proteína (direita), com suas possíveis variantes e a classificação da ACMG delas. O resíduo afetado (F440) está destacado em vermelho à esquerda. À direita, as possíveis variantes para o resíduo estão evidenciadas. Imagem retirada do servidor da web do software AlphaMissense.

A análise realizada pelo DynaMut2 sugere que a alteração do aminoácido 440 de fenilalanina para leucina causa a desestabilização (p.F440L, DDG= -1.44 kcal/mol) (Figura 36) da conformação da proteína devido a alteração de diversas interações moleculares entre os aminoácidos que formam a cadeia polipeptídica, observável ao se comparar as Figuras 37 e 38.

Results



Figura 36. Predição da mudança da estabilidade da proteína codificada pelo gene *NARS* após a sua modificação pela variante c.1318T>C (p.F440L). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

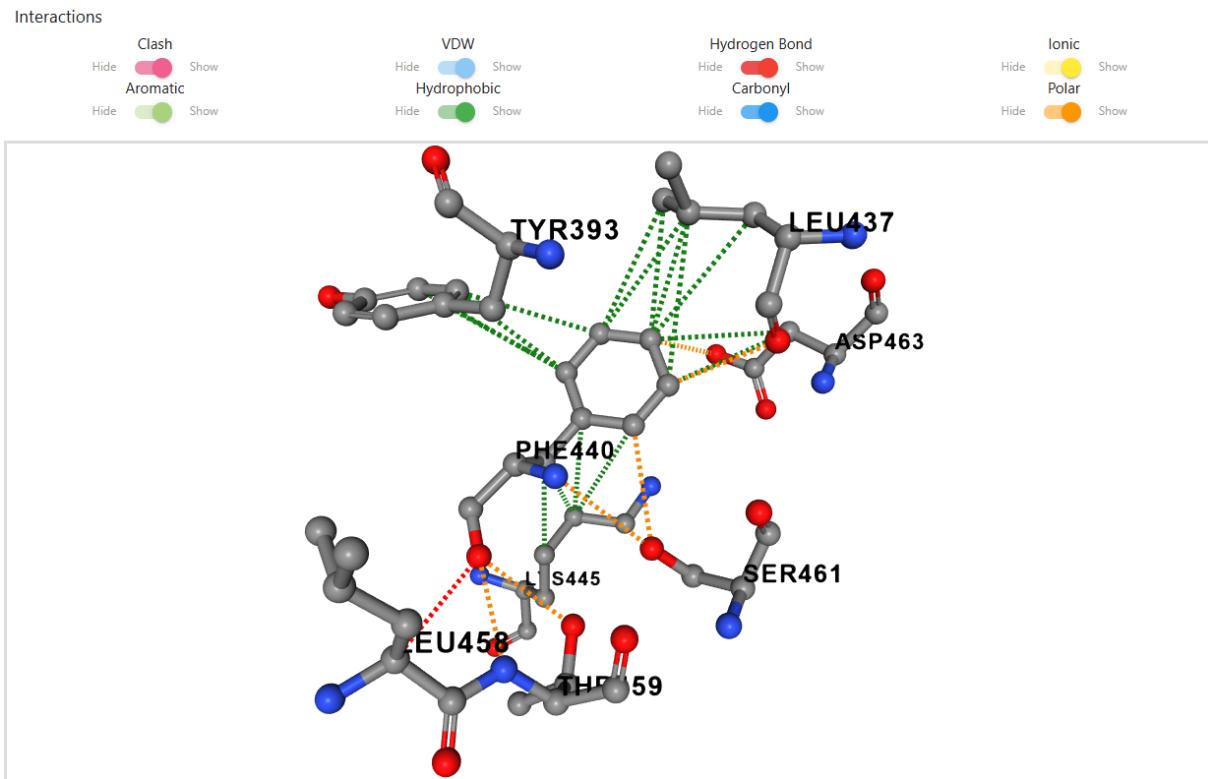


Figura 37. Conformação e interações moleculares do aminoácido 440 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *NARS*. Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

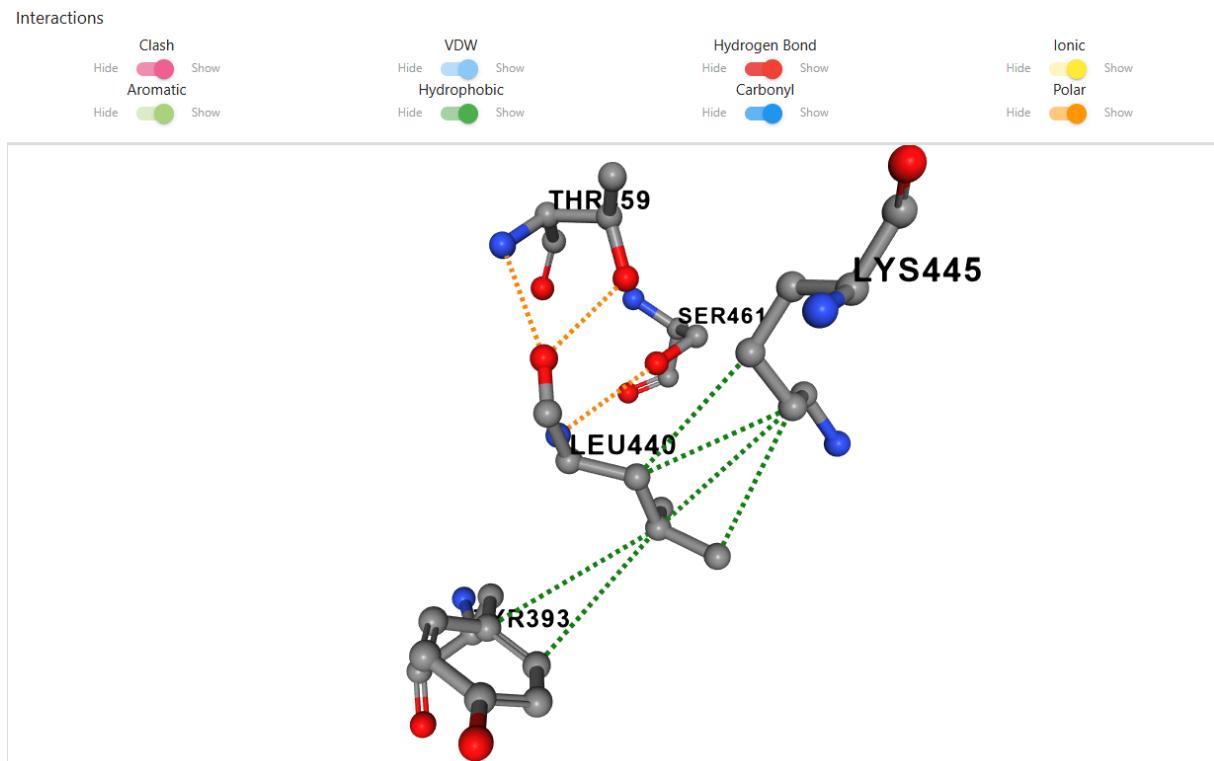


Figura 38. Conformação e interações moleculares do aminoácido 440 e aminoácidos próximos. Esses aminoácidos fazem parte da cadeia polipeptídica codificada pelo gene *NARS* mutado. O gene possui a variante c.1318T>C (p.F440L). Imagem retirada do servidor da web do DynaMut2.

O Transtorno de Neurodesenvolvimento com Microcefalia, Prejuízo da Linguagem, Epilepsia e Anormalidades da Marcha é causado por variantes patogênicas em heterozigose

no gene *NARS1*, localizado no cromossomo 18q21. Ele é caracterizado por microcefalia, dificuldade de se comunicar verbalmente, epilepsia e anomalias ao caminhar. Indivíduos afetados normalmente começam a caminhar mais tarde do que o normal e andam de maneira anormal, com ataxia ou espasticidade. O distúrbio também é acompanhado de DI, dismorfias faciais e microcefalia progressiva. A maioria dos pacientes sofre convulsões durante a infância [97].

O quadro apresentado pela paciente 8, de DI, dificuldade de fala e ADNPM, condiz com o transtorno, tornando a variante encontrada durante a análise de WES a provável causa do quadro de DI-S dela. Esse transtorno pode até mesmo explicar as duas crises convulsivas que a paciente sofreu com 1 ano de idade.

5.9 – Paciente 9

Trata-se da primeira filha de casal jovem e não consanguíneo. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 3 anos devido a quadro de TEA sindrômico e irmão com dislexia. O pai da paciente apresenta um quadro de DI e baixa estatura e foi incluída no projeto aos 6 anos. Ademais, a mãe da paciente tem um sobrinho com TEA e o pai tem um tio com epilepsia (Figura 39).

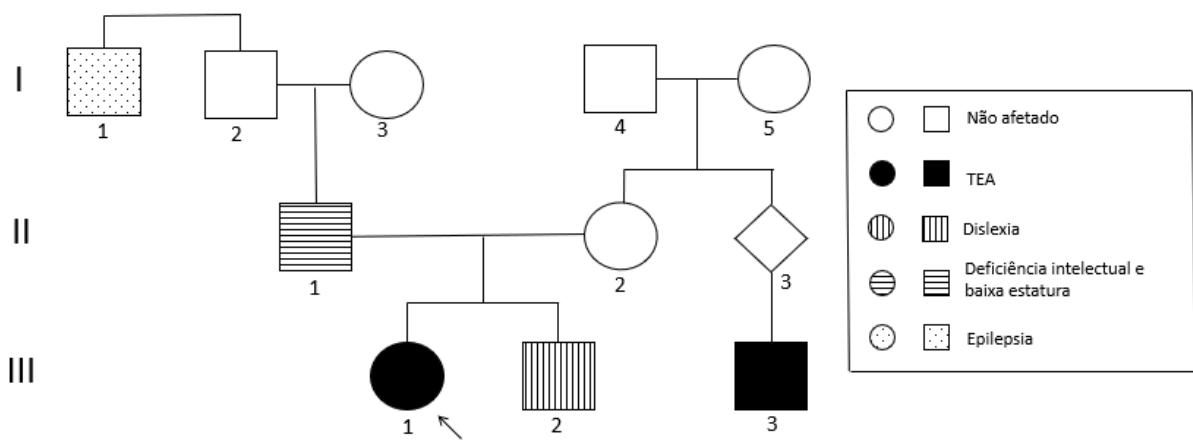


Figura 39. Heredograma da família da paciente 9.

Histórico de neurodesenvolvimento: não forma frases e apresenta dificuldade na formação de palavras. Está na escola, mas não socializa com as outras crianças. Apresenta hetero e autoagressividade. Demonstra irritabilidade com barulhos e apresenta estereotipias. Costuma enfileirar os brinquedos. Só aceita ver um desenho animado específico. Apresentou um episódio de convulsão com 1 ano e 10 dias. Teve episódios febris associados à cefaléia.

Exame físico aos 3 anos e 10 meses: peso 15,3 kg (p75-p90), estatura 1,01 m (p90-p95), perímetro cefálico 51 cm (p50-p98). Pregas palmares regulares, genitália feminina típica, normocefalia, orelhas normoimplantadas.

- Dismorfias Craniofaciais: hirsutismo em frente, pinçamento bifrontal, sinofre discreta, desorganização das sobrancelhas no terço médio, epicanto bilateral, hipertelorismo ocular, fendas palpebrais oblíquas para baixo, sobredobramento de hélices, lobos proeminentes, raiz nasal média, ponte nasal alargada, base bulbosa, filtro nasolabial apagado.
- Outras Dismorfias: clinodactilia de quartos e quintos pododáctilos bilateralmente, pectus carinatum.

Exames de imagem: Ultrassonografia do abdome total (2022), normal.

Exame de audição: Audiometria (Avaliação Audiológica Infantil) (2022), audição normal.

Exames genéticos: Cariótipo (2022), normal, 46, XX. Síndrome do X Frágil (2022), negativo.

Análise de Exoma:

Na análise de WES foi encontrada a variante c.20_25del (p.Q7_P8del) (rs779757186), do tipo não-mudança de matriz de leitura, em heterozigose com o alelo de referência, no exón 1 do gene *SETD2* (OMIM *612778)(Figura 40). Variantes nesse gene já foram descritas na literatura como causais da Síndrome de Luscan-Lumish (OMIM #616831). A variante foi classificada como VUS de acordo com os critérios do ACMG (PM2- Provavelmente patogênico: frequência extremamente baixa em bancos de dados populacionais e PM4 - Provavelmente patogênico: Alterações no comprimento da proteína resultante de exclusões/inserções no quadro de leitura em uma região não repetida ou uma variante de parada). A cobertura da variante foi de 82 vezes, C: 82 (100%).

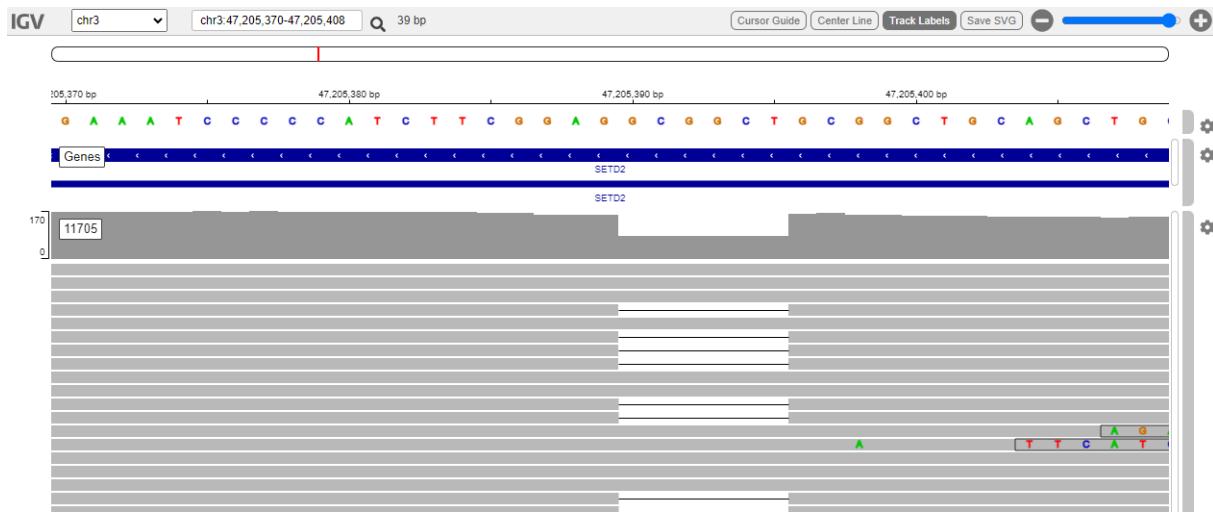


Figura 40. Variante c.20_25del em heterozigose com o alelo de referência identificado no gene *SETD2* da paciente 9. Imagem criada pelo programa IGV – Integrative Genome Viewers.

O gene *SETD2* (OMIM *612778) codifica uma proteína que pertence à família das metiltransferase, que atuam na regulação das histonas, tendo com isso um importante papel da regulação de genes [98]. Ademais, o gene está envolvido em outros processos fisiológicos, como o reparo e replicação de DNA e a manutenção da estabilidade genômica [99, 100].

SETD2 é expresso em todo o corpo (Figura 41), sendo o cérebro o principal órgão de interesse para o quadro da paciente. Nesse órgão, a taxa mais alta de expressão de *SETD2* é no cerebelo (Figura 42). Durante muitos anos se acreditou que o principal papel do cerebelo era no planejamento e na execução de movimentos, porém atualmente já se sabe que a maior parte do cerebelo está associado à redes cerebrais envolvidas na cognição [101], assim como no controle de emoções e no desenvolvimento da fala e das interações sociais [102].

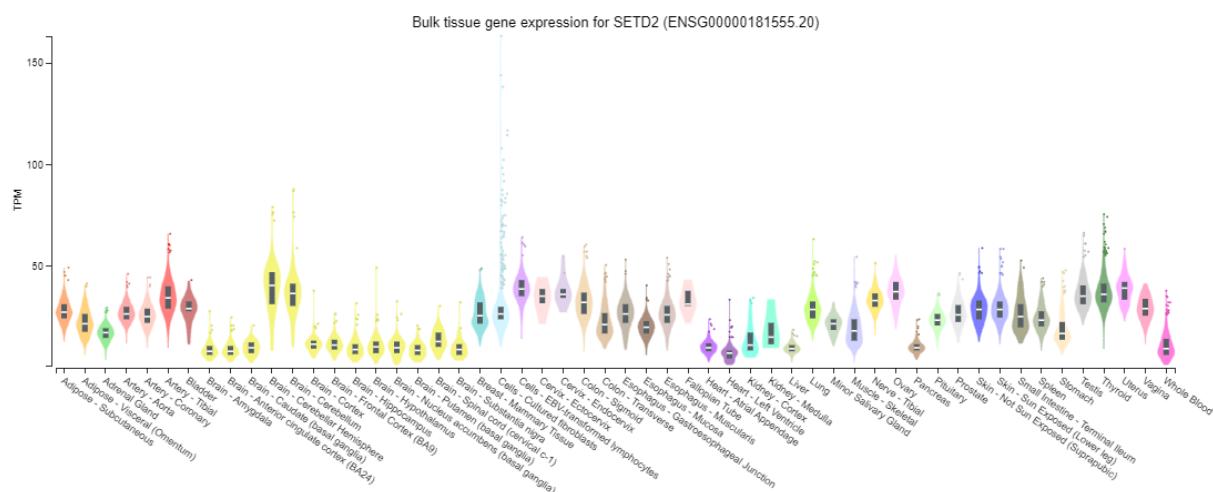


Figura 41. Expressão do gene *SETD2* pelo corpo humano, cada tecido é representado por uma cor diferente. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

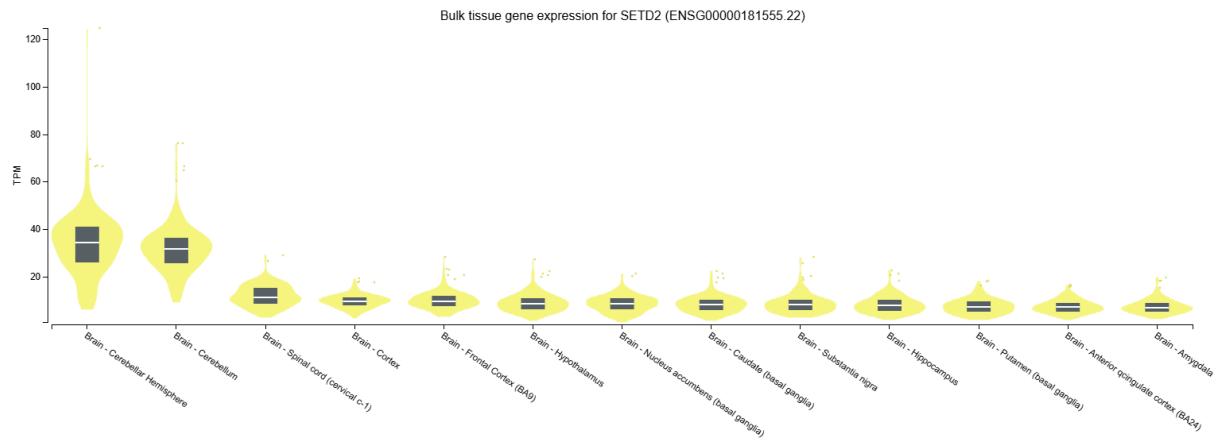


Figura 42. Expressão do gene *SETD2* no cérebro humano. A informação foi compilada em transcritos por milhão (TPM). A imagem foi gerada pelo portal gtex.

A Síndrome de Luscan-Lumish é causada por variantes patogênicas em heterozigose com o alelo de referência no gene *SETD2*, localizado no cromossomo 3p21. Trata-se de um distúrbio de crescimento caracterizado por macrocefalia, alta estatura, DI, atraso na fala, TEA e ADNPM [103]. Um estudo realizado em 2023 por *Parra et al.* [103] investigou 18 pacientes com variantes no gene *SETD2*, nem todas causais da Síndrome de Luscan-Lumish. Dos pacientes afetados por essa síndrome, um possuía uma variante no mesmo resíduo (de número 7) de glutamina da paciente 10039, demonstrando que alterações no primeiro exón podem causar a doença. As principais características apresentadas por pacientes afetados por essa síndrome foram: macrocefalia, crescimento excessivo, TEA, DI, atraso na fala e ADNPM. Devido à semelhança do quadro clínico da paciente 9 com o que foi relatado por *Parra et al.*, a variante c.20_25del, encontrada na análise de WES, é a provável causa da DI-S da paciente.

5.10 – Paciente 10

Trata-se de filha única de casal jovem e não consanguíneo. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 3 anos devido a fenda labial e palatina bilateral, defeito na vértebra sacra e ADNPM (Figura 42) e incluída no projeto aos 6 anos. O pai da paciente apresenta macrocefalia.

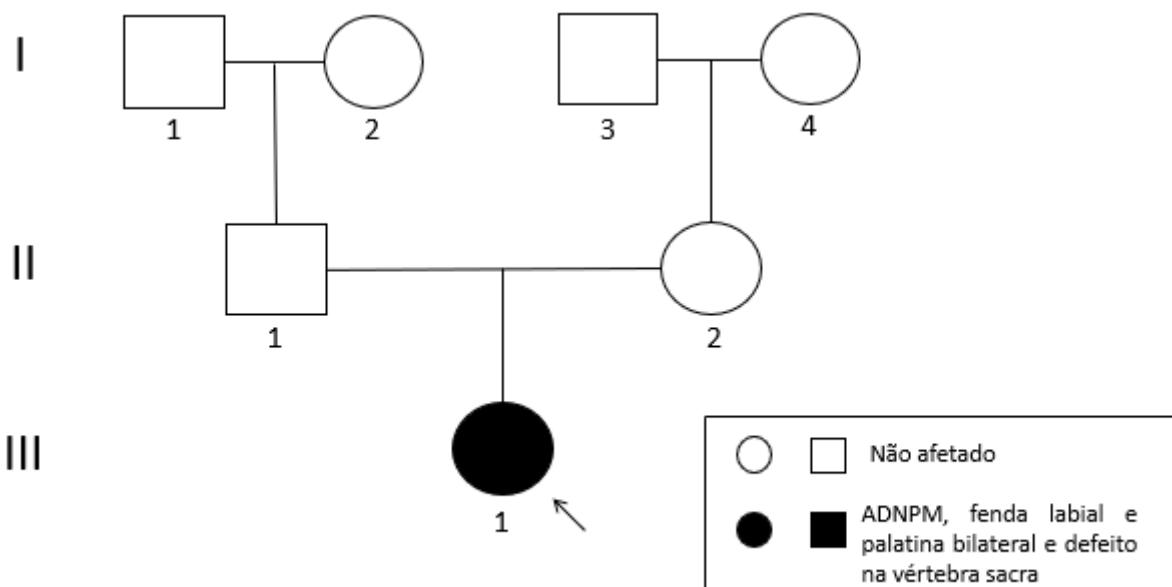


Figura 42. Heredograma da família da paciente 10.

Histórico de neurodesenvolvimento: ao nascimento apresentava fissura labial bilateral associada à fenda palatina, com correção das fissuras labiais feita aos 4 anos. A mãe relata atraso no desenvolvimento da paciente notado aos 8 meses de vida; ela ainda não se sentava. A probanda não fica em pé sozinha, mas consegue andar sem apoio. Não possui controle esfíncteriano nem desenvolvimento da fala. De acordo com a mãe, a probanda consegue se comunicar apontando para o que quer e entende e atende a comandos. Os marcos do desenvolvimento apresentados são compatíveis com uma criança de 1 ano de idade. Frequentava estimulação precoce, em 2023 iniciou educação infantil em escola especial.

Exame físico aos 4 anos e 3 meses: peso 13,7 kg (p5-p10), estatura 96 cm (p10-p25), PC 53 cm (>p98). Não apresenta estigma sacral. Mão com palmas fofas, sem alteração de pregas. ACV sem sopro, abdome sem visceromegalia, genitália feminina sem anormalidades, orelhas normoimplantadas.

- Dismorfias Craniofaciais: assimetria facial, macrocefalia, hemiface direita menor que a esquerda, fronte ampla, bossas parietais, maior a direita, raiz nasal média, fendas palpebrais oblíquas para cima, telecanto aparente, dorso alargado, ponta nasal desabada, cicatriz de fenda labial bilateral, hipoplasia de lobo, fenda palatina completa de palato duro e mole, mordida aberta;
- Outras Dismorfias: pés com metatarso valgo, mancha hipocrômica de 3 cm x 1,5 cm na nádega esquerda.

Exames de imagem: Ecografia renal e das vias urinárias (2019) sem evidências de alterações. Ecocardiograma Transesofágico (2019) sinais de hemorragia subependimária à esquerda com grau 1 de palpite. Ecocardiograma (2019) sem alterações. Ecografia da região lombar (2019), canal vertebral com diâmetros normais em toda a sua extensão torácica, lombar e sacral. Medula anatômica com canal central de diâmetro normal. Cone medular bem posicionado. Raízes da cauda equina livres e com movimentação. Ausência de continuidade do saco dural para a pele. Falha de fusão do arco posterior de vértebras sacrais.

Exames genéticos: cariótipo normal, 46, XX.

Análise de Exoma:

Durante a análise de WES não foram encontradas variantes patogênicas, provavelmente patogênicas ou VUS em genes que expliquem o quadro da paciente 10. Com o surgimento de outras características pode ocorrer a correlação de alguma variante com uma síndrome que explique a DI sindrômica. Com a reanálise do exoma a cada 3 anos e as visitas anuais ao HUB, é possível que sejam descobertos novos fenótipos que auxiliem no diagnóstico do quadro clínico.

5.11 – Paciente 11

Trata-se da primeira filha de casal jovem e não consanguíneo. Foi encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 2 anos devido a quadro de Síndrome de West, ADNPM severo, espinha bífida oculta em S1, microcefalia, baixo peso e estatura e dificuldade de alimentação (Figura 43) e incluída no projeto aos 3 anos.

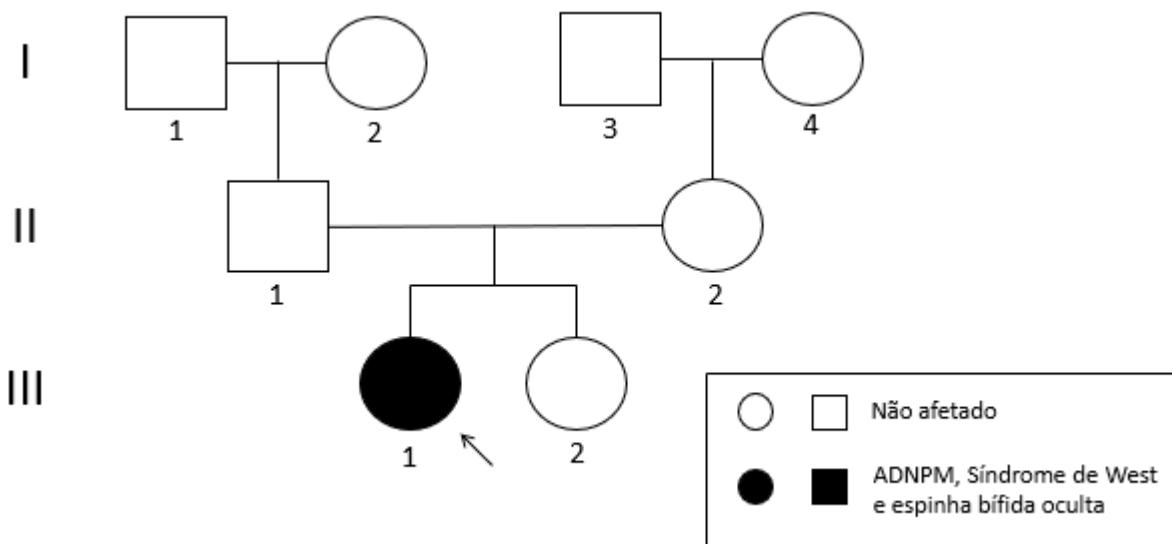


Figura 43. Heredograma da família da paciente 11.

Histórico de neurodesenvolvimento: nasceu de parto cesáreo com 40 semanas, e teve alta conjunta com a mãe em 2 dias. A mãe fez uso de álcool nos 3 primeiros meses da gestação. Sustentou a cabeça aos 4 meses, mas iniciou crises convulsivas com regressão do sustento cefálico. Engatinha com apoio dos joelhos e da cabeça no chão. Não fala, apresentou primeiras palavras aos 9 meses, com regressão da fala. Não come direito, apresenta disfagia. Acompanhamento na Neurologia (HUB), Gastro (Hospital Regional da Asa Norte), Fonoaudiologia (Faculdade de Fonoaudiologia da UnB – Ceilândia), Fisioterapia (Faculdade Uniceplac – Gama) e Pediatria (Sarah).

Exame físico aos 3 anos e 5 meses: peso 8,01 kg (<p3), estatura 86 cm (p10-p25), perímetro encefálico 43,7 cm (<p3). ACV sem sopro, abdome sem visceromegalias. Cabelos normoimplantados, orelhas normoimplantadas. Baixo peso e estatura.

- Dismorfias Craniofaciais: microcefalia, testa estreita e abaulada, olhos fundos, sobrancelhas arqueadas, nariz curto, com ponta globosa e voltada para baixo, filtro nasolabial curto, permanece com a boca aberta, palato ogival.
- Outras Dismorfias: estigma sacral de 1,5mm, mancha café com leite em parte interna da coxa direita, presença de mancha mongólica.

Exames de imagem: EEG (2022), anormal, mas não se observa mais o padrão característico da Síndrome de West. RM da coluna (2021), espinha bífida oculta. EEG (2023), normal.

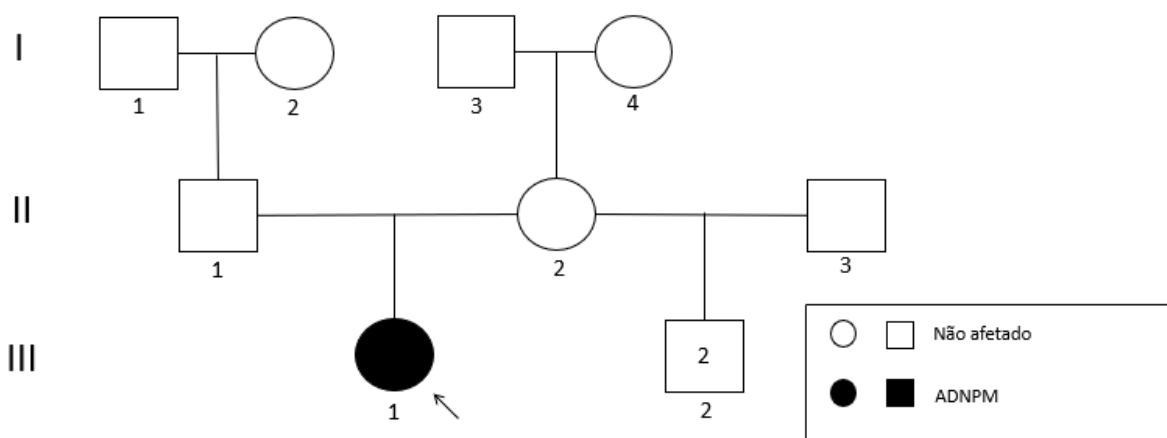
Exames genéticos: Microarray (2020) deleção intragênerica de aproximadamente 345 kb no braço longo do cromossomo 14, em 14q23.3, deleção envolvendo o gene *GPHN*, de interpretação incerta.

Análise de Exoma:

Na análise de WES, não foram encontradas variantes patogênicas para os genes relacionados à Síndrome de West, portanto o diagnóstico clínico de Síndrome de West do paciente não foi confirmado. Ademais, na análise de WES não foram encontradas variantes patogênicas, provavelmente patogênicas ou VUS em genes que expliquem o quadro da paciente. Como a paciente 11 tem somente 3 anos, pode ser que ela comece a apresentar mais fenótipos conforme ela for crescendo. Com o aparecimento de outras características, pode ocorrer a alteração da proposta de diagnóstico clínico. Com a reanálise do exoma a cada três anos e as visitas anuais ao HUB, é possível que aconteça o diagnóstico da paciente.

5.12 – Paciente 12

Trata-se de filha única de casal jovem e não consanguíneo. Encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 1 ano e 11 meses devido a ADNPM e incluída no projeto aos 3 anos. Pai e mãe são hígidos e negam pessoas na família com quadro semelhante ao da paciente; nega quadros de TEA ou DI na família (Figura 44).



Histórico de neurodesenvolvimento: apresenta atraso no desenvolvimento da fala e do movimento motor. Começou recentemente a estimulação precoce. A mãe relata que a criança tinha mais marcos do desenvolvimento, falava mais palavras, mas houve regressão do quadro. A mãe nega a ocorrência de crises convulsivas. Sustento cefálico aos 3 meses, sentou sem apoio aos 7 meses, engatinhou com 1 ano e 2 meses. Mãe refere que criança entende o que falam para ela, aponta quando quer alguma coisa.

Exame físico aos 1 ano e 11 meses: peso 10,65 kg (p3-p5), estatura 85,5 cm (p50-p75), perímetro encefálico 43 cm (<p3). Não apresenta dismorfias. Microcefálica, com cabelos normoimplantados, sobrancelhas retas, raiz nasal de implantação média, ponte nasal alargada

e base nasal finas, orelhas normoimplantadas, com simplificação de hélice, filtro nasolabial discretamente marcado, membros proporcionados e pregas palmares presentes.

Exames de imagem: Ultrassom Transfontanelar (2021), normal.

Exames genéticos: Cariótipo (2023), normal, 46, XX.

Análise de WES:

Durante a análise de WES não foram encontradas variantes patogênicas, provavelmente patogênicas ou VUS em genes que expliquem o quadro da paciente 12. Como a paciente é a única afetada da família e tem somente 3 anos, pode ser que não tenha sido identificado algum fenótipo que possa contribuir para o diagnóstico. Será necessário o acompanhamento do desenvolvimento da paciente para analisar mudanças no quadro dela.

5.13 – Paciente 13

Trata-se da primeira filha de casal jovem e consanguíneo. Encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 10 anos devido a quadro de DI sindrômica (Figura 45) e incluída no projeto aos 17 anos. A paciente faz acompanhamento na cardiologia, na endocrinologia, na reumatologia, na neurologia e na dermatologia no HUB.

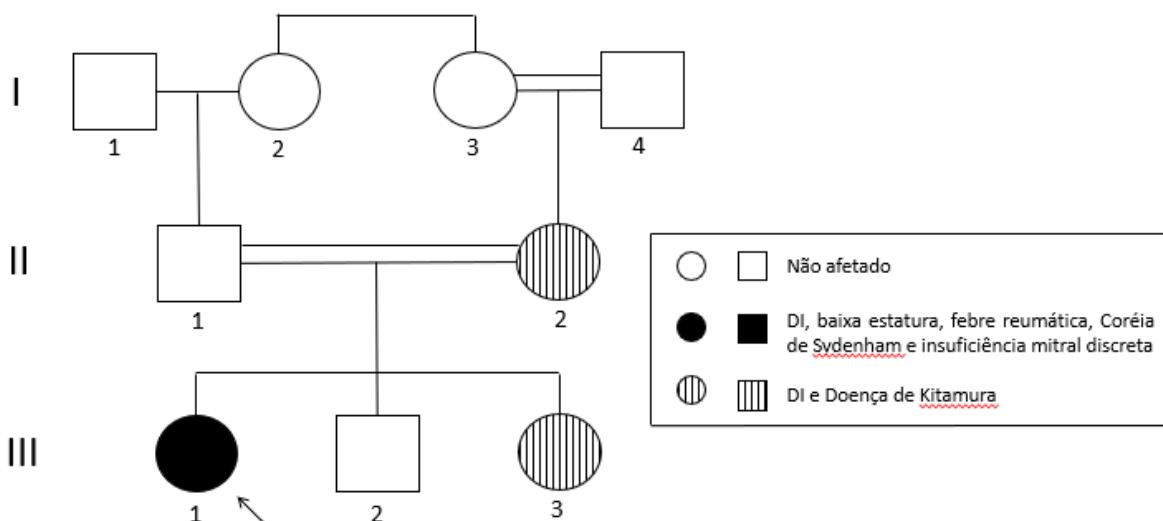


Figura 45. Heredograma da família da paciente 13.

Histórico de neurodesenvolvimento: só sabe ler e escrever o próprio nome. Conta até 30, às vezes com dificuldade. Tem bom comportamento na escola, mas não consegue se desenvolver bem. Brinca com os amigos, tem boa interação social. Gosta de brincar com bonecas, inventa

histórias para elas. Mãe relata que ficou internada por 14 dias no HUB por um quadro de Febre Reumática com Coréia de Sydenham após faringite, crise convulsiva e febre. Não aprende e esquece o pouco que aprende. Não sai de casa desacompanhada. Teve menarca aos 14 anos. Tem temperamento calmo.

Exame físico aos 16 anos: peso 45,75 kg (p10-p25), estatura 1,45 m (<p3), perímetro encefálico 53,5 cm (p2-p50). Presença de mancha acrômica em região epigástrica de aproximadamente 2 cm no maior diâmetro. Oclusão dentária normal, membros proporcionados, pregas palmares normais.

- Dismorfias Craniofaciais: face larga, hipertelorismo ocular, rima bucal reta, palato alto e largo. Boca entreaberta.
- Outras Dismorfias: clinodactilia do quinto dedo bilateralmente.

Exames de imagem: Raio X Ionizante (2017), idade óssea de 8 anos e 4 meses (Esperado de 8 anos e 11 meses). TC de crânio (2018), sem alterações. EEG (2018), sem alterações. Ecocardiograma (2018), insuficiência mitral mínima (valva espessada, com abertura e mobilidade preservadas e regurgitação de grau leve).

Exames genéticos: Síndrome do X Frágil (2017), inconclusivo.

Análise de Exoma:

Durante a análise de WES não foram encontradas variantes patogênicas, provavelmente patogênicas ou VUS em genes que expliquem o quadro da paciente 13. Como a paciente possui irmã e mãe também afetadas, será necessário o acompanhamento das três pacientes ao longo dos próximos anos. Com o surgimento de novas pesquisas e descobertas sobre DI pode ser que dentro de alguns anos ocorra a publicação de algum artigo ou relato de caso que permita a realização do diagnóstico da paciente.

5.14 – Paciente 14

Trata-se da irmã A3 da paciente 13 (Figura 43). Encaminhada ao ambulatório de genética clínica do HUB aos 16 anos devido a quadro de DI não sindrômico e Doença de Kitamura e incluída no projeto em 2024 aos 22 anos. Teve alta da Genética em 2019.

Histórico de neurodesenvolvimento: tem pouca dificuldade de aprendizado. Nega atividade física. Possui bons hábitos alimentares. Dorme 12h seguidas. Nega crises convulsivas e internações.

Exame físico aos 16 anos: peso 48,10 kg (p10-p25), estatura 1,49 m (<p3). Não tem dismorfias.

Exames complementares: Biópsia de 3 fragmentos de pele do pé esquerdo (2017): apresenta pequenos focos de hiperpigmentação descontínuas na camada basal da epiderme. Não há alterações de trofia ou de inflamação. Ausência de depósitos/proliferação melanocítica nas amostras. Conclusão: alterações de pigmentação não inflamatória. Considerando aspectos clínicos referidos, trata-se de Doença de Kitamura.

Exames genéticos: Síndrome do X Frágil (2016), cariótipo normal, 46, XX, característico de pessoa do sexo feminino.

Análise de Exoma:

Na análise de WES não foi encontrada nenhuma variante patogênica no gene *ADAM10* (OMIM *602192), causal da Doença de Kitamura (OMIM #615537). Com isso, o diagnóstico clínico anterior não foi confirmado pelo WES.

Durante a análise de WES não foram encontradas variantes patogênicas, provavelmente patogênicas ou VUS em genes que expliquem o quadro da paciente 14. Como dito anteriormente, não foi possível a realização de um diagnóstico para a paciente, sua irmã ou sua mãe, será necessário retornar à análise de exoma em alguns anos, após a realização de mais pesquisas sobre a etiologia da DI pela comunidade científica.

5.15 – Paciente 15

Trata-se da mãe (C1) das pacientes 13 (A1) e 14 (A3) (Figura 43). Possui um quadro parecido com a filha A3, de DI não sindrômica e Doença de Kitamura.

Na análise de WES não foi encontrada nenhuma variante patogênica no gene *ADAM10* (OMIM *602192), causal da Doença de Kitamura (OMIM #615537). Com isso, o diagnóstico clínico prévio dessa doença para a paciente e sua filha, paciente 14, não foi confirmado pelo WES. Durante a análise de WES não foram encontradas variantes patogênicas, provavelmente patogênicas ou VUS em que expliquem o quadro da paciente 15. Com isso, será necessário um retorno posterior, após alguns anos, ao exoma da paciente e das suas duas filhas.

5.16 - Síntese dos resultados

Das 15 pacientes aqui analisadas (Quadro 4), foi proposto diagnóstico molecular para sete delas, sendo que uma delas apresentou uma condição concomitante, não relacionada com o quadro de DI-S, e três pacientes tiveram o questionamento do diagnóstico prévio, devido a falta de variantes patogênicas em genes causais das doenças.

Paciente	Gene	Variante	Alteração na proteína	Síndrome
1	<i>FBN2</i>	c.6881-5T>G	X	Aracnodactilia Contratual Congênita
2	42 genes deletados e 155 genes duplicados	X	X	Monossomia parcial do cromossomo 5q e trissomia parcial do cromossomo 20p
4	<i>RYR1</i>	c.1474C>G	p.R492G	Suscetibilidade à Hipertermia Maligna-1
5	<i>TCF7L2</i>	deleção de 87 bp dos exons 2 e 3 do gene	X	Transtorno Complexo do Neurodesenvolvimento
7	<i>PIGT</i>	c.550G>A e c.1553C>G	p.E184K e p.P518R	Síndrome de Múltiplas Anomalias Congênitas-Hipotonia -Convulsões
	<i>INF2</i>	c.227T>C	p.L76P	Glomerulosclerose Segmentar Focal
8	<i>NARS</i>	c.1318T>C	p.F440L	Transtorno de Neurodesenvolvimento com Microcefalia, Prejuízo da Linguagem, Epilepsia e Anormalidades da Marcha

9	SETD2	c.20_25del	p.Q7_P8del	Síndrome de Luscan-Lumish
---	-------	------------	------------	---------------------------

Quadro 4. Pacientes que tiveram resultado de exoma, com a respectiva variante, efeito na proteína e síndrome.

A maioria das variantes encontradas foi classificada como VUS a partir da análise usando a plataforma Franklin, mas preditas como patogênicas em outros softwares de análise de dados, mostrando que é necessário investigar a fundo os genes afetados, como e onde eles são expressos, relatos e estudos de casos sobre eles e os efeitos que as variantes encontradas têm sobre o funcionamento e estabilidade da proteína codificada. Quanto mais pesquisas sobre o assunto forem realizadas, maior será a possibilidade de diagnóstico.

O histórico familiar fornecido durante as consultas e o exame físico realizados em cada retorno se mostraram indispensáveis para o fornecimento de informações para a busca do diagnóstico. O acompanhamento médico de parentes afetados pelo mesmo quadro e a realização do exoma por eles também é de extrema importância para a investigação da DI-S, mesmo que isso não seja possível na maioria dos casos, devido à questões pessoais do familiar ou à falta de financiamento para a realização do sequenciamento de exoma.

5.17 - Possíveis razões para não ter ocorrido a identificação de variantes que expliquem o quadro clínico

A identificação da etiologia genética de uma doença rara usualmente representa uma longa jornada diagnóstica, podendo levar anos ou mesmo décadas até a obtenção de um diagnóstico molecular ou clínico. Apesar dos avanços nas técnicas moleculares utilizadas para a investigação de doenças raras, ainda há muito a ser desvendado sobre o genoma humano. O WES é uma técnica com excelente taxa diagnóstica para doenças raras, mas mesmo ele possui suas limitações, uma delas sendo relacionada diretamente com o conhecimento existente sobre a função dos genes. Ainda que hoje em dia se saiba mais sobre o desenvolvimento do cérebro e sua manutenção do que nunca antes, muito há de se desvendar sobre a funcionalidade de genes envolvidos no neurodesenvolvimento e sobre as síndromes causadas pelas suas alterações.

Outro ponto importante é a existência de pacientes com mosaicismo para síndromes causais de DI, cujas células afetadas não estão presentes na amostra de sangue periférico, a mais utilizada no laboratório de genética médica. Nesses casos, é necessária a retirada de outro tipo celular para a realização de um novo WES, mas há a possibilidade das células da nova amostra também não possuírem a alteração. Caso haja uma sugestão diagnóstica com base na clínica, a busca por relatos de caso de outros pacientes com o mesmo quadro é

indispensável para a análise de casos de mosaicismo, com essas pesquisas podendo sugerir tecidos onde as células alteradas podem estar presentes, facilitando assim a realização do WES.

Por fim, existe a possibilidade da variante não estar presente nas áreas cobertas pelo WES, nesses casos, deve-se prosseguir para outras metodologias de análise molecular que analisam essas regiões, podendo recorrer ao sequenciamento de genoma, sequenciamento de RNA ou sequenciamento de epigenoma para tentativa diagnóstica.

6 - CONCLUSÃO

O principal objetivo do presente trabalho foi aumentar o conhecimento e o entendimento do quadro de deficiência intelectual sindrômica em mulheres. Essa pesquisa demonstrou a dificuldade presente na busca da etiologia genética da DI-S, sendo que a causa do quadro foi identificada em 46,7% das pacientes (7/15).

Por fim, essa pesquisa mostrou que a busca da etiologia genética de uma síndrome rara causadora de DI é um processo longo e complicado, tanto para os pacientes que muitas vezes esperam anos por um diagnóstico, quanto para os médicos e pesquisadores que devem sempre estudar e acompanhar novos descobrimentos do meio científico sobre o assunto. A pesquisa acadêmica só é possível devido ao trabalho conjunto de diversos membros da academia e da área médica, que juntos tentam ajudar os pacientes da melhor maneira possível.

REFERÊNCIAS

- [1] Association AP. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5th ed. Arlington: **The American Psychiatric Association**; 2013.
- [2] MARRUS, Natasha; HALL, Lacey. Intellectual disability and language disorder. **Child and Adolescent Psychiatric Clinics**, v. 26, n. 3, p. 539-554, 2017.
- [3] POLITICA NACIONAL DE SAÚDE DA PESSOA COM DEFICIÊNCIA. Biblioteca Virtual em Saúde MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017. Disponível em:<<https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/MatricesConsolidacao/comum/37518.html#:~:text=A%20OMS%20estima%20que%20cerca,e%201%25%20com%20defici%C3%AAn%20m%C3%BAltipla>>. Acesso em: 08 junho de 2025.
- [4] O Brasil tem cerca de 18,9 milhões de pessoas com deficiência. **Gov**, 15 set. 2023. Estatísticas. Disponível em: <https://www.gov.br/mdh/pt-br/navegue-por-temas/pessoa-com-deficiencia/estatisticas>. Acesso em: 20 fev. 2025.
- [5] MIATO, Bruna. Brasil tem 18,6 milhões de pessoas com deficiência, cerca de 8,9% da população, segundo IBGE. **G1**, 7 julho 2023. Economia. Disponível em: <http://g1.globo.com/economia/noticia/2023/07/07/brasil-tem-186-milhoes-de-pessoas-com-deficiencia-cerca-de-89percent-da-populacao-segundo-ibge.ghtml>. Acesso em: 20 fev. 2025.
- [6] JANONE, Lucas; ALMEIDA, Pauline. Brasil tem mais de 17 milhões de pessoas com deficiência, segundo IBGE. **CNN Brasil**, 26 agosto 2021. Disponível em: <http://www.cnnbrasil.com.br/nacional/brasil-tem-mais-de-17-milhoes-de-pessoas-com-deficiencia-segundo-ibgr/>. Acesso em: 20 fev. 2025
- [7] MAIA, Nuno et al. Intellectual disability genomics: current state, pitfalls and future challenges. **BMC genomics**, v. 22, n. 1, p. 1-17, 2021.
- [8] JANSEN, Sandra; VISSERS, Lisenka ELM; DE VRIES, Bert BA. The Genetics of Intellectual Disability. **Brain Sciences**, v. 13, n. 2, p. 231, 2023.
- [9] VALIENTE-PALLEJA, Alba et al. Genetic and clinical evidence of mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder and intellectual disability. **Human molecular genetics**, v. 27, n. 5, p. 891-900, 2018.

- [10] KRAMER, Jamie M.; VAN BOKHOVEN, Hans. Genetic and epigenetic defects in mental retardation. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 41, n. 1, p. 96-107, 2009.
- [11] DURKIN, Maureen S.; YEARGIN-ALLSOPP, Marshalyn. Socioeconomic status and pediatric neurologic disorders: current evidence. In: **seminars in pediatric neurology**. WB Saunders, 2018. p. 16-25.
- [12] GILMAN, Stephen E. et al. Socioeconomic disadvantage, gestational immune activity, and neurodevelopment in early childhood. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 26, p. 6728-6733, 2017.
- [13] HUANG, Jichong et al. Prenatal, perinatal and neonatal risk factors for intellectual disability: a systemic review and meta-analysis. **PloS one**, v. 11, n. 4, p. e0153655, 2016.
- [14] KAUFMAN, Liana; AYUB, Muhammad; VINCENT, John B. The genetic basis of non-syndromic intellectual disability: a review. **Journal of neurodevelopmental disorders**, v. 2, n. 4, p. 182-209, 2010.
- [15] SCHAEFER, G. Bradley; THOMPSON, James. **Genética Médica: Uma Abordagem Integrada**. 1. ed. Porto Alegre: AMGH, 2015. 105-110 p.
- [16] SCHAEFER, G. Bradley; THOMPSON, James. **Genética Médica: Uma Abordagem Integrada**. 1. ed. Porto Alegre: AMGH, 2015. 139-145 p.
- [17] NERI, Giovanni et al. X-linked intellectual disability update 2017. **American journal of medical genetics Part A**, v. 176, n. 6, p. 1375-1388, 2018.
- [18] GRIBNAU, Joost; BARAKAT, Tahsin Stefan. X-chromosome inactivation and its implications for human disease. **bioRxiv**, p. 076950, 2017.
- [19] MCINNES, Roderick R.; WILLARD, Huntington F.; NUSSBAUM, Robert. **Thompson & Thompson genética médica**. Elsevier Brasil, 2016. 180-182p.
- [20] SALCEDO-ARELLANO, Ma Jimena; HAGERMAN, Randi J.; MARTÍNEZ-CERDEÑO, Verónica. Fragile X syndrome: clinical presentation, pathology and treatment. **Gac Med Mex**, v. 156, n. 1, p. 60-66, 2020.
- [21] MOESCHLER, John B. et al. Comprehensive evaluation of the child with intellectual disability or global developmental delays. **Pediatrics**, v. 134, n. 3, p. e903-e918, 2014.

- [22] VAN KARNEBEEK, Clara DM et al. The metabolic evaluation of the child with an intellectual developmental disorder: diagnostic algorithm for identification of treatable causes and new digital resource. **Molecular genetics and metabolism**, v. 111, n. 4, p. 428-438, 2014.
- [23] GUPTA, Swati et al. Histone methylation regulates memory formation. **Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 10, p. 3589-3599, 2010.
- [24] IWASE, Shigeki et al. Epigenetic etiology of intellectual disability. **Journal of Neuroscience**, v. 37, n. 45, p. 10773-10782, 2017.
- [25] BRUNONI, Decio; ALVAREZ PEREZ, Ana Beatriz. **Genética Médica: Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar da EPM-UNIFESP**. 1. ed. São Paulo: Manole Ltda., 2013. 853-856 p. v. 1.
- [26] AWUAH, Wireko Andrew et al. Advances in Chromosomal Microarray Analysis: Transforming Neurology and Neurosurgery. **Brain and Spine**, p. 104197, 2025.
- [27] KAMATH, Vandana et al. Single nucleotide polymorphism array versus karyotype for prenatal diagnosis in fetuses with abnormal ultrasound: A systematic review and meta-analysis. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 271, p. 235-244, 2022.
- [28] DE RYCKE, Martine; BERCKMOES, Veerle. Preimplantation genetic testing for monogenic disorders. **Genes**, v. 11, n. 8, p. 871, 2020.
- [29] LIANG, Bin et al. Single nucleotide polymorphism array analysis of 102 patients with developmental delay and/or intellectual disability from Fujian, China. **Clinica Chimica Acta**, v. 510, p. 638-643, 2020.
- [30] KREPISCHI, Ana CV et al. Chromosomal microarray analyses from 5778 patients with neurodevelopmental disorders and congenital anomalies in Brazil. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 15184, 2022.
- [31] JOHNSON, Michael R. et al. Systems genetics identifies a convergent gene network for cognition and neurodevelopmental disease. **Nature neuroscience**, v. 19, n. 2, p. 223-232, 2016.
- [32] IGLESIAS, Alejandro et al. The usefulness of whole-exome sequencing in routine clinical practice. **Genetics in Medicine**, v. 16, n. 12, p. 922-931, 2014.

[33] SANCHEZ-LUQUEZ, Karen Y. et al. The contribution of whole-exome sequencing to intellectual disability diagnosis and knowledge of underlying molecular mechanisms: A systematic review and meta-analysis. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, p. 108428, 2022.

[34] ANAZI, Shams et al. Expanding the genetic heterogeneity of intellectual disability. **Human Genetics**, v. 136, n. 11, p. 1419-1429, 2017.

[35] GENTRA PUREGENE KITS. QIAGEN, 2022. Disponível em: <<https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rnapurification/dna-purification/genomic-dna/gentra-puregene-kits/>>. Acesso em: 14 de agosto de 2022.

[36] LIMA, Samyra Espíndola. Busca da etiologia genética de casos de deficiência auditiva sindrômicos e não sindrômicos em pacientes do Distrito Federal. 2022. 101 f., il. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) — Universidade de Brasília, Brasília, 2022.

[37] EXOMA COMPLETO: SOBRE O EXAME E AS DOENÇAS GENÉTICAS ASSOCIADAS. GeneOne, 2020. Disponível em: <<https://geneone.com.br/blog/exomacompleto/#:~:text=O%20sequenciamento%20do%20exoma%20completo%20%C3%A9%20um%20teste%20gen%C3%A9tico%20de,de%20doen%C3%A7as%20raras%20e%20gen%C3%A9ticas.>>. Acesso em: 14 de agosto de 2022.

[38] SHEFFER, Assaf. The Genoxx AI-based variant prioritization engine. Franklin, 2022. Disponível em: <<https://help.genoox.com/en/articles/4444301-the-genoox-ai-based-variant-prioritization-engine>>. Acesso em: 14 de agosto de 2022.

[39] RICHARDS, Sue et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in medicine**, v. 17, n. 5, p. 405-423, 2015.

[40] HENG, Jun et al. Accurate proteome-wide missense variant effect prediction with AlphaMissense. **Science**, v. 381, n. 6664, p. eadg7492, 2023. e TORDAI, Hedvig et al. Analysis of AlphaMissense data in different protein groups and structural context. **Scientific Data**, v. 11, n. 1, p. 495, 2024.

[41] TORDAI, Hedvig et al. Analysis of AlphaMissense data in different protein groups and structural context. **Scientific Data**, v. 11, n. 1, p. 495, 2024.

- [42] RODRIGUES, Carlos HM; PIRES, Douglas EV; ASCHER, David B. DynaMut2: Assessing changes in stability and flexibility upon single and multiple point missense mutations. **Protein Science**, v. 30, n. 1, p. 60-69, 2021.
- [43] LEE, Beomki et al. Interpretation of SLC3A1 and SLC7A9 variants in cystinuria patients: The significance of the PM3 criterion and protein stability. **Urolithiasis**, v. 51, n. 1, p. 94, 2023.
- [44] WANG, Zhen; MOULT, John. SNPs, protein structure, and disease. **Human mutation**, v. 17, n. 4, p. 263-270, 2001.
- [45] KHAN, Sofia; VIHINEN, Mauno. Performance of protein stability predictors. **Human mutation**, v. 31, n. 6, p. 675-684, 2010.
- [46] GROTHE, Heather L. et al. Altered protein conformation and lower stability of the dystrophic transforming growth factor beta-induced protein mutants. **Molecular vision**, v. 19, p. 593, 2013.
- [47] PASQUO, Alessandra et al. Structural stability of human protein tyrosine phosphatase β catalytic domain: effect of point mutations. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e32555, 2012.
- [48] PETROSINO, Maria et al. Analysis and interpretation of the impact of missense variants in cancer. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 11, p. 5416, 2021.
- [49] HECHT, Frederick; BEALS, Rodney K. "New" syndrome of congenital contractual arachnodactyly originally described by Marfan in 1896. **Pediatrics**, v. 49, n. 4, p. 574-579, 1972.
- [50] NAKAMA, Mina et al. Novel variant of FBN2 in a patient with congenital contractual arachnodactyly. **Human Genome Variation**, v. 11, n. 1, p. 7, 2024.
- [51] MAINARDI, Paola Cerruti et al. The natural history of Cri du Chat Syndrome. A report from the Italian Register. **European Journal of medical genetics**, v. 49, n. 5, p. 363-383, 2006.
- [52] CHURCH, Deanna M. et al. A high-resolution physical and transcript map of the Cri du Chat region of human chromosome 5p. **Genome research**, v. 7, n. 8, p. 787-801, 1997.
- [53] OVERHAUSER, Joan et al. Molecular and phenotypic mapping of the short arm of chromosome 5: sublocalization of the critical region for the cri-du-chat syndrome. **Human molecular genetics**, v. 3, n. 2, p. 247-252, 1994.

- [54] ZHANG, Xiaoxiao et al. High-resolution mapping of genotype-phenotype relationships in cri du chat syndrome using array comparative genomic hybridization. **The American Journal of Human Genetics**, v. 76, n. 2, p. 312-326, 2005.
- [55] BELLUCCO, Fernanda T. et al. Partial 5p gain and 15q loss in three patients from a family with at (5; 15)(p13. 3; q26. 3) translocation. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 160, n. 10, p. 589-596, 2021.
- [56] DE CARVALHO, Acácia Fernandes Lacerda et al. Partial 5p monosomy or trisomy in 11 patients from a family with at (5; 15)(p13. 3; p12) translocation. **Human genetics**, v. 124, p. 387-392, 2008.
- [57] CHAABOUNI, Myriam et al. De novo trisomy 20p of paternal origin. **American Journal of Medical Genetics Part A**, v. 143, n. 10, p. 1100-1103, 2007.
- [58] DE RAVEL, T. J. L.; VERMEESCH, J. R.; FRYNS, J.-P. De novo interstitial tandem duplication of chromosome 20p12. 1p13. **American Journal of Medical Genetics Part A**, v. 117, n. 1, p. 76-79, 2003.
- [59] BARTOLINI, Luca et al. De novo trisomy 20p characterized by array comparative genomic hybridization: report of a novel case and review of the literature. **Gene**, v. 524, n. 2, p. 368-372, 2013.
- [60] CHOI, Jungim et al. De novo pure trisomy 20p: report of a novel case of a marker chromosome and literature review. **Annals of laboratory medicine**, v. 40, n. 3, p. 277-280, 2020.
- [61] KHATTAK, Shahzaib et al. Chromosome 20p partial de novo duplication identified in a female Paediatric patient with characteristic facial dysmorphism and Behavioural anomalies. **Case Reports in Genetics**, v. 2020, n. 1, p. 7093409, 2020.
- [62] SIDWELL, R. U. et al. Pure trisomy 20p resulting from isochromosome formation and whole arm translocation. **Journal of medical genetics**, v. 37, n. 6, p. 454-458, 2000.
- [63] KENNEDY, Benjamin J.; SAVAGE, Sarah K.; KALER, Stephen G. Twins with 20p13 duplication. Case report and comprehensive literature review. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 12, n. 5, p. e2436, 2024.
- [64] RIZEA, Radu Eugen et al. Rare Case of a 20p13 Duplication Trisomy With Craniostenosis. **Cureus**, v. 16, n. 6, 2024.

- [65] OKADA, Michiko et al. Stillborn baby with partial monosomy of the short arm of chromosome 5 and partial trisomy of the short arm of chromosome 20. **Congenital anomalies**, v. 45, n. 4, p. 161-164, 2005.
- [66] AOI, Hiromi et al. Comprehensive genetic analysis of 57 families with clinically suspected Cornelia de Lange syndrome. **Journal of Human Genetics**, v. 64, n. 10, p. 967-978, 2019.
- [67] SEYAMA, Rie et al. Pathogenic variants detected by RNA sequencing in Cornelia de Lange syndrome. **Genomics**, v. 114, n. 5, p. 110468, 2022.
- [68] LIEVE, Krystien VV et al. Linking the heart and the brain: neurodevelopmental disorders in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. **Heart Rhythm**, v. 16, n. 2, p. 220-228, 2019.
- [69] HIESS, Florian et al. Subcellular localization of hippocampal ryanodine receptor 2 and its role in neuronal excitability and memory. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 183, 2022.
- [70] ROSTON, Thomas M.; SANATANI, Shubhayan. Beyond the exercise stress test: Does the cardiac ryanodine receptor affect intellectual function?. **Heart Rhythm**, v. 16, n. 2, p. 229-230, 2019.
- [71] DIAS, Caroline et al. De novo variants in TCF7L2 are associated with a syndromic neurodevelopmental disorder. **American journal of medical genetics Part A**, v. 185, n. 8, p. 2384-2390, 2021.
- [72] ALKELAI, Anna et al. Association of the type 2 diabetes mellitus susceptibility gene, TCF7L2, with schizophrenia in an Arab-Israeli family sample. **PloS one**, v. 7, n. 1, p. e29228, 2012.
- [73] CHODELKOVA, Olga et al. Tcf7L2 is essential for neurogenesis in the developing mouse neocortex. **Neural development**, v. 13, p. 1-10, 2018.
- [74] NAGALSKI, Andrzej et al. Postnatal isoform switch and protein localization of LEF1 and TCF7L2 transcription factors in cortical, thalamic, and mesencephalic regions of the adult mouse brain. **Brain Structure and Function**, v. 218, p. 1531-1549, 2013.
- [75] HOFFMANN, Michael. The human frontal lobes and frontal network systems: an evolutionary, clinical, and treatment perspective. **International Scholarly Research Notices**, v. 2013, n. 1, p. 892459, 2013.

- [76] TANABE, Shihori et al. Gene expression and pathway analysis of CTNNB1 in cancer and stem cells. **World journal of stem cells**, v. 8, n. 11, p. 384, 2016
- [77] DIAS, Caroline et al. De novo variants in TCF7L2 are associated with a syndromic neurodevelopmental disorder. **American journal of medical genetics Part A**, v. 185, n. 8, p. 2384-2390, 2021.
- [78] ZHUANG, Wenting et al. CTNNB1 in neurodevelopmental disorders. **Frontiers in Psychiatry**, v. 14, p. 1143328, 2023.
- [79] DIAS, Caroline et al. De novo variants in TCF7L2 are associated with a syndromic neurodevelopmental disorder. **American journal of medical genetics Part A**, v. 185, n. 8, p. 2384-2390, 2021.
- [80] MAYDAN, Gal et al. Multiple congenital anomalies-hypotonia-seizures syndrome is caused by a mutation in PIGN. **Journal of medical genetics**, 2011.
- [81] CARIDI, Gianluca et al. Novel INF2 mutations in an Italian cohort of patients with focal segmental glomerulosclerosis, renal failure and Charcot-Marie-Tooth neuropathy. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 29, n. suppl_4, p. iv80-iv86, 2014.
- [82] BOYER, Olivia et al. Mutations in INF2 are a major cause of autosomal dominant focal segmental glomerulosclerosis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 2, p. 239-245, 2011.
- [83] MEYRIER, Alain. Mechanisms of disease: focal segmental glomerulosclerosis. **Nature clinical practice Nephrology**, v. 1, n. 1, p. 44-54, 2005.
- [84] BOYER, Olivia et al. Mutations in INF2 are a major cause of autosomal dominant focal segmental glomerulosclerosis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 2, p. 239-245, 2011.
- [85] CARIDI, Gianluca et al. Novel INF2 mutations in an Italian cohort of patients with focal segmental glomerulosclerosis, renal failure and Charcot-Marie-Tooth neuropathy. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 29, n. suppl_4, p. iv80-iv86, 2014.
- [86] WANG, Lu et al. Loss of NARS1 impairs progenitor proliferation in cortical brain organoids and leads to microcephaly. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 4038, 2020.
- [93] RUDOLPH, Stephanie et al. Cognitive-affective functions of the cerebellum. **Journal of Neuroscience**, v. 43, n. 45, p. 7554-7564, 2023.

- [94] JACOBI, Heike et al. Update cerebellum and cognition. **Journal of neurology**, p. 1-5, 2021.
- [95] WAGNER, Mark J. et al. Cerebellar granule cells encode the expectation of reward. **Nature**, v. 544, n. 7648, p. 96-100, 2017.
- [96] RUDOLPH, Stephanie et al. Cerebellum-specific deletion of the GABA_A receptor δ subunit leads to sex-specific disruption of behavior. **Cell Reports**, v. 33, n. 5, 2020.
- [97] MANOLE, Andreea et al. De novo and bi-allelic pathogenic variants in NARS1 cause neurodevelopmental delay due to toxic gain-of-function and partial loss-of-function effects. **The American Journal of Human Genetics**, v. 107, n. 2, p. 311-324, 2020.
- [98] SUN, Xiao-Jian et al. Identification and characterization of a novel human histone H3 lysine 36-specific methyltransferase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 42, p. 35261-35271, 2005.
- [99] CARVALHO, Sílvia et al. SETD2 is required for DNA double-strand break repair and activation of the p53-mediated checkpoint. **elife**, v. 3, p. e02482, 2014.
- [100] PARK, In Young et al. Dual chromatin and cytoskeletal remodeling by SETD2. **Cell**, v. 166, n. 4, p. 950-962, 2016.
- [101] BUCKNER, Randy L. The cerebellum and cognitive function: 25 years of insight from anatomy and neuroimaging. **Neuron**, v. 80, n. 3, p. 807-815, 2013.
- [102] SCHMAHMANN, Jeremy D. The cerebellum and cognition. **Neuroscience letters**, v. 688, p. 62-75, 2019.
- [103] CHEN, Meilin et al. Mutation pattern and genotype-phenotype correlations of SETD2 in neurodevelopmental disorders. **European Journal of Medical Genetics**, v. 64, n. 5, p. 104200, 2021.

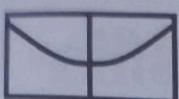
ANEXO 1 – GENES AVALIADOS NO PAINEL DE AUTISMO

ADNP ANKRD11 ARID1B ASH1L AUTS2 CAMK2A CHD2 CHD8 DDX3X DYRK1A EHMT1 FOXP1 GRIA1 GRIN2B HNRNPH2 KMT2A KMT2C KMT5B MBD5 MECP2 MED12 NAA15 NEXMIF NLGN3 NLGN4X PACS1 POGZ PPM1D PTCHD1 PTEN RPL10 SCN2A SETD2 SHANK1 SHANK2 SHANK3 STXBP1 SYN1 SYNGAP1 TBL1XR1 TBR1 TRIO TRIP12 UBE3A.

ANEXO 2 – GENES AVALIADOS NO PAINEL MOVIMENTE

AARS2 ABAT ACAD9 ACTL6B ADCY5 ALDH5A1 ALDH7A1 ALG13 AMACR AP3B2 ARHGEF9 ARX ATP1A2 ATP1A3 ATP7A ATP7B ATP8A2 BCAP31 CACNA1A CACNA1B CDKL5 COQ4 COQ7 COQ9 COX20 COX6B1 CPT1A CTDPI DDC DDX3X DEAF1 DGUOK DHDDS DHX30 DMD DNAJC12 FBXL4 FOLR1 FOXG1 FRRS1L GABRA1 GABRA2 GABRB3 GABRG2 GAMT GATM GBA1 GCDH GCH1 GNAO1 GNB2 GRIA4 GRIN1 GRIN2B GRIN2D HADHB HMBS HPRT1 IQSEC2 IREB2 IRF2BPL KCNA2 KCNMA1 KCNT1 KCNT2 MAN2B1 MCOLN1 MECP2 MEF2C MGME1 MPV17 NACCI NGLY1 NKKX2-1 NPC1 NPC2 PCBD1 PDE10A PDE2A PGMI PLPBP PNKD PNPO POLG POLG2 PRRT2 PTS PURA QDPR RRM2B SDHA SLC13A5 SLC16A2 SLC18A2 SLC1A2 SLC25A3 SLC25A4 SLC25A42 SLC2A1 SLC30A10 SLC6A1 SLC6A3 SPR SPTAN1 SUCLA2 SUCLG1 SYT1 TBC1D24 TBL1XR1 TELO2 TH TPP1 TWNK TYMP UBA5 VAMP2 WARS2 WDR45 WWOX ZNF142 ZSWIM6

ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE PAIS/RESPONSÁVEIS



Universidade de Brasília

Investigação da etiologia da deficiência intelectual sindrômica

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

O seu dependente legal está sendo convidado a participar do projeto: **“Investigação da etiologia da deficiência intelectual sindrômica”**.

O objetivo desta pesquisa é estudar os aspectos clínicos e genéticos da deficiência intelectual sindrômica, ou seja, a dificuldade de aprender associada a outras manifestações clínicas.

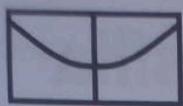
O (A) Senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome ou de seu dependente não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a).

A sua participação ocorrerá por meio da realização de exames laboratoriais.

Os exames serão realizados a partir da coleta de sangue para extração de DNA. O procedimento de coleta de sangue por punção venosa (introdução de agulha na veia para retirada de sangue) será realizado com material estéril descartável de boa qualidade por profissional habilitado, podendo ocasionar um pouco de dor e formação de hematoma no local. É possível que o senhor (a) venha a se beneficiar dos resultados deste projeto, a partir dos resultados dos exames laboratoriais de forma a identificar os genes relacionados a sua condição, permitindo precisão no seu acompanhamento e de seus familiares, desde que consentido pelo senhor(a).

Informamos que o Senhor (a) poderá se recusar a responder qualquer questão (ou participar de qualquer procedimento) que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o (a) senhor(a) ou seu dependente e nenhum comprometimento em seu acompanhamento médico. Sua participação é voluntária, isto é, não há qualquer tipo de pagamento por sua colaboração. Caso solicite e mediante comprovação, o senhor(a) poderá ser resarcido(a) pelos gastos com deslocamento e alimentação devido à participação nessa pesquisa. Além disso, será garantido atendimento imediato e /ou indenização diante de eventuais danos **comprovadamente** decorrentes dessa pesquisa, vistas as medidas administrativas e judiciais cabíveis.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília, podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador.



Universidade de Brasília

Solicitamos também sua autorização para armazenamento de sua amostra biológica de sangue para possíveis outros estudos futuros em biorrepositório no Laboratório de Genética da Universidade de Brasília. A amostra apresentará uma codificação alfanumérica e só poderá ser manuseada pelos indivíduos diretamente relacionados com o projeto.

Caso tenham sido tiradas fotografias:

- Concordo que seja utilizadas em publicações científicas
 Não concordo que sejam utilizadas em publicações científicas.

Se o (a) Senhor (a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Dra. Juliana Forte Mazzeu de Araújo, na Universidade de Brasília, telefone: (61) 3107-1744, em horário comercial.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1918.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Nome do dependente

Se você estiver de acordo, por favor, assine esta folha.

Nome / assinatura do voluntário ou responsável legal

Profa. Dra. Juliana Forte Mazzeu de Araújo

Profa. Dra. Juliana Mazzeu
Bióloga
Aconselhamento Genético
CRBio 43071

_____ de _____ de _____

ANEXO 4 – GENES AVALIADOS NO PAINEL DE DI

AARS ABAT ABCA2 ABCB11 ABCB7 ABCC6 ABCC8 ABCC9 ABCD1 ABCD4 ACADM ACADS ACADSB ACADVL ACAT1 SLC33A1 CNNM2 ACO2 ACOX1 ACOX2 ACP5 ACTA2 ACTB ACTG1 ACTL6B ACVRI ACY1 ADA ADAM22 ADAR ADARBI ADCY5 ADD1 ADD3 ADK PARP1 ADRA2B ADSL AFG3L2 AFP AGA ACAN AGL AGPAT2 AGPS AGT AGTR2 AGXT AHCY AIPL1 AIRE AK1 AK2 AKAP4 AKAP6 AKR1C2 AKR1D1 AKT1 AKT3 ALAD ALDH3A2 ALDH4A1 ALDH5A1 ALDH1A3 ALDOA ALDOB ALMS1 ALPL ALS2 SETX ALX3 ALX4 AMPD2 AMT ANK2 ANK3 RIPK4 AP1B1 AP1G1 AP1S1 AP1S2 AP2M1 P2S1 AP3B1 AP3B2 AP4B1 AP4E1 AP4M1 AP4S1 XIAP SHROOM2 AQP7 AR ARCN1 ARF1 ARF3 ARG1 ARHGAP6 ARHGEF2 ARHGEF4 ARHGEF6 ARIH1 ARSA ARSB ARSE ARSF ASAHI ASCL1 ASL ASMT ASMTL ASNS ASPA ASPH ASS1 ASTN1 ATCAY ATIC ATMATP1A1 ATP1A2 ATP1A3 ATP2A2 ATP2B1 ATP2B3 ATP6V1A ATP6V1B1 ATP6V1B2 TP6V0C A TP6V0A1 ATP6API ATP7A ATP7B ALDH7A1 ATR ATRX KIF1A AUH AVP AVPR2 B4GALT1 B4GALT7 BAPI NKX3-2 BBS1 BBS2 BBS4 BBS5 BCKDHA BCKDHB BCS1L BFSP2 BGN BIN1 BLM BMP15 BMP4 BMPR1B DST BRAF BRCA1 BRCA2 NCAPH BTD BTK BUB1 BUB1B CEP55 VPS51 C12orf4 MRAP SLC30A9 KDM3B SAMD9 SAMD9L ERLIN2 FRRS1L CA2 CA5A CA8 CACNA1A CACNA1B CACNA1C CACNA1D CACNA1E CACNA1F CACNA1G CACNA1H CACNA1I CACNA1S CACNA2D1 CACNA2D2 CACNB4 CACNG2 SLC25A20 CAD CAMK2A CAMK2B CAMK2G CAMK4 CAPN10 CAPZA2 CARS CASK CASP2 CASR MICU1 CBL CBS KRIT1 CCNA2 CCND2 CCT5 SCARB2 CDK13 CDC42 CDC42BPB CDC45 CDC6 CDH15 CDH2 CDH3 CDK10 CDK5R1 CDK8 CDK9 CDKN1C CENPF CHD1 CHD2 CHD3 CHD4 CHKA CHKB CHL1 CHM CHRM1 CHRNA2 CHRNA4 CHRNBB2 CHRNG LYST CHST3 CHUK VSX2 CIT CLCN2 CLCN3 CLCN4 CLCN5 CLCN7 CLCNKA CLCNKB CLDN19 CLIC2 TPP1 CLN3 CLN5 CLN6 CLN8 CLPP CLTC SBF2 CNTN3 CNTN4 VPS13B COL10A1 COL11A1 COL11A2 COL18A1 COL1A1 COL1A2 COL2A1 COL4A1 COL4A2 COL4A3 COL4A3BP COL4A4 COL4A6 COL6A1 COL6A3 COL9A1 COL9A2 COL9A3 COLEC10 COMP COPB1 COPB2 ENOX2 COX10 COX15 COX6B1 COX7B CP CPD CPE CPS1 CPSF3 CPXCR1 CRADD CRB1 CREBBP MED23 MED17 MED27 CRX CRYAA CRYBA1 CRYBA4 CRYBB1 CRYBB2 CRYBB3 CRYGC CRYGD CSF1R CSF2RA CSNK1G1 CSNK2A1 CSNK2B SMC3 CSTB CSTF2 NKX2-5 CTBP1 CTDP1 CCN2 CTNNA2 CTNNB1 CTNND1 CTNND2 CTNS CTPS2 CTSD CTSF CTSK CELF2 CUL3 CUL4B CUX1 OFD1 CYC1 CYP1B1 CYP27A1 CYP7B1 DAB1 DAG1 DARS DBT DCC DCTN1 DCX DDB1 DDB2 DDC DDOST DDR2 DDX11 DDX3X DDX6 DECR1 DGKH DHCR24 DHCR7 DHFR DHODH DHPS CYB5R3 DIAPH1 DIAPH2 DKC1 DLAT DLD DLG1 DLG2 DLG3 DLG4 DLGAP1 DLGAP2 DLL1 DLL3 DLL4 DMD DMP1

DMPK DMXL2 DNA2 DNAH14 DYNC1H1 DYNC2H1 DYNC1I2 DNMI DNM1L DNM2 DNMT1 DNMT3A DNMT3B DOCK3 DONSON DPAGT1 DPH1 DPH2 DPM1 DPM2 DPM3 DPP6 DPYD DPYS DRD2 ATN1 DSCAM VPS26C PIGP TSC22D3 DSPP DTYMK DVL1 DVL3 DYRK1A TOR1A EBP ECE1 EDA EDNRA EDNRB PHC1 EED EEF1A2 EEF1B2 EFNB1 MEGF8 EGR2 EIF2A EIF2AK3 AGO1 AGO2 EIF2S3 EIF3F EIF4G1 EIF5A ELK1 ELN EML1 EMX2 EN2 ENPP1 ENTPD1 EOMES EP300 EPB41L1 EPHA7 EPM2A ERBB4 ERCC1 ERCC2 ERCC3 ERCC4 ERCC5 ERCC6 ERCC8 ERF ETFA ETFB ETFDH EVC EXT1 EXT2 EXTL3 EYA1 EZH2 F5 ACSL4 FAH BPTF FANCA FANCB FANCC FANCD2 FANCE FANCF FANCG FARSA FASN FBLN5 FBN1 FBN2 FBP1 FKTN FDFT1 FDXR FEM1B FGD1 FGF10 FGF12 FGF13 FGF14 FGF3 FGFR1 FGFR2 FGFR3 FH FHL1 FIBP ATP8B1 FKBP6 FLNA FLNB FLT4 FMR1 AFF2 FOLR1 FOXC1 FOXC2 FOXE1 FOXE3 FOXF1 FOXG1 FOXP1 MTOR FXN FTCD FTL FUCA1 FUT8 FZD3 FZD6 GAA GABRA1 GABRA2 GABRA5 GABRB2 GABRB3 GABRD GABRG2 GABRG3 GAD1 GALC GALE B4GALNT1 GALK1 GALNS GALNT2 GALT GAMT GAN LRRC32 GAS8 GATA2 GATA4 GATA6 GATM GBA GBE1 GCDH GCH1 GCK BLOC1S1 GCSH GDF5 GDF6 GDI1 GFAP GFER GHR GJA1 GJA3 GJA8 GJB1 GJB2 GJB3 GK GLB1 GLDC GLE1 GLI2 GLI3 GLRA1 GLRA2 GLS BICRA GLUD1 GLUL GM2A GNAI1 GNAI2 GNAI3 GNAL GNAO1 GNAS GNB1 GNB2 GNB5 GNPAT GNS GOSR2 GOT2 GPAA1 GPC3 GPC4 GABBR2 ADGRG1 TECR GRB14 RAPGEF1 GRIA1 GRIA2 GRIA3 GRIA4 GRID2 GRIK2 GRIN1 GRIN2A GRIN2B GRIN2D ARHGAP35 GRM1 GRM6 GRN GSPT2 GSS GTF2E2 GTF3C3 GTPBP2 GUCY2C GUSB GYS2 HIST1H1E H3F3A H3F3B HIST3H3 HIST1H4D HIST1H4F HIST1H4J HIST1H4C HIST1H4B HIST1H4E HIST1H4I HADH HSD17B10 HADHA HADHB HARS HARS2 HCCS HCFC1 HCN1 HTT HERC1 HERC2 HESX1 HEXA HEXB HIBCH HINT1 HIRA HIVEP2 HK1 HLCS MNX1 HMGB1 HMGB3 HMGCL HMGCS2 HNF4A HNMT HNRNPD HNRNPH1 HNRNPH2 HNRNPK HNRNPR HNRNPU HOXA1 HOXA13 HOXC13 HOXD10 HOXD13 HPD HPGD HPRT1 HPS1 HR HRAS HS2ST1 HSD17B4 HSF4 HSPD1 HSPG2 KAT5 HYAL1 IARS IDH2 IDS IDUA IFNAR2 IGBP1 IGF1 IGF1R IGF2 IGHMBP2 RBPJ IGSF1 IHH IKBKG IL11RA IL1RAPL1 IL1RAPL2 IL3RA ILF2 IMPDH2 INPP4A INPPL1 INSR FOXP3 IRAK1 IREB2 IRF6 ITGA3 ITGA4 ITGA7 ITGB6 STT3A ITPA ITPR1 IVD JAG1 JAK3 JARID2 KARS KATNB1 KCNA1 KCNA2 KCNB1 KCNC1 KCNC3 KCND1 KCND2 KCND3 KCNE1 KCNH1 KCNH5 KCNJ10 KCNJ11 KCNJ6 KCNK12 KCNK4 KCNK9 KCNMA1 KCNN2 KCNN3 KCNQ1 KCNQ2 KCNQ3 KCNQ5 KIF1C KIF2A KIF5A KIF5C KIT KLF1 KLF7 KLF8 KLHL4 KIF11 KIF22 KPTN KRAS MAFB LICAM AFF3 LAMA1 LAMA2 LAMB1 LAMB2 LAMC3 LAMP2 LARGE1 LARS LBR COG1 LFNG LGI1 LHFPL3 LIG4 LIMK1 LMNA LMNB1 LMNB2

PRICKLE3 LMX1B LRAT LRP1 LRP2 LRP4 LRP5 LSS LTBP2 LTBP3 LZTFL1 LZTR1 CAPRINI MAB21L1 MAB21L2 MADD SMAD3 SMAD4 MAF MAGEA11 MAGEB1 MAGEB2 MAGEC1 MAGED1 MAGEL2 MAL MAN1B1 MAN2B1 AN2C1 MANBA MAOA MAOB MAP1B MAP2K1 MAP2K2 MAP3K1 MAP3K7 MAPK1 MAPK10 MAPK8IP3 MAPKAPK5 MAPRE2 MAPT MASP1 MAT1A MATN3 MC2R MCCC1 MCCC2 MCM3AP MCPH1 MDH2 MECP2 MEF2C MEIS2 MET MGAT2 MGP CD99 MID1 MINPP1 MITF ATXN3 MKKS MKS1 MLH1 KMT2A KMT2D TRPM1 MLYCD MMP13 MN1 MOCS1 MOCS2 MPDU1 MPDZ MPI MPVI7 MPZ MRE11 MSL3 MSX1 MSX2 MT-ATP6 MTF1 MTHFR MTHFS MTM1 MTMR1 MTMR2 MT-ND1 MT-ND4 MTTP MTR MTRR MT-TK MT-TP TRIM37 MMUT MVK MXRA5 MYBPC1 MYCN MYH10 MYH3 MYH6 MYH8 MYH9 MYO1D MYO5A MYO5B MYO7A PPP1R12A MYT1 MYT1L NAGA NAGLU NARS NBEA NBN NCKAP1 NDN NDP NDRG1 NDST1 NDUFA1 NDUFA10 NDUFA2 NDUFA9 NDUFS1 NDUFS2 NDUFS3 NDUFS4 NDUFS7 NDUFS8 NDUFV1 NEB NEDD4L NEFL NEK1 NEU1 NEUROD2 NF1 NFIA NFIB NFIX NGF NHS NODAL NOG NONO CNOT1 CNOT2 CNOT3 NOTCH2 NOVA2 PNP NPC1 NPHP1 NPHP3 NPHS1 NPR2 NPR3 NR1I3 NR2F1 NR2F2 NR4A2 NR5A1 NRAS NRCAM NRXN1 NRXN2 NRXN3 CNTNAPI NSF NT5C2 NTRK1 NTRK2 NUDT2 NUP214 NUP62 NXF4 NXF5 FRMD7 NYX OCLN OCRL ODC1 TENM1 OGT OPA3 OPHN1 SIGMAR1 OR5M1 ORC1 ORC4 OTC OTX2 OXCT1 P2RY4 P4HB PABPC1 PAFAH1B1 PAH PAK1 PAK3 PAPSS2 PRKN PARN PAX1 PAX2 PAX3 PAX6 PAX7 PAX8 PAX9 PBX1 PC PCBD1 PCCA PCCB PCDH12 PCDHGC4 NUP85 CHMP1A CDK16 PCYT1A PCYT2 PDCD10 PDCD6IP AIFM1 PDE10A PDE4D PDE6D PDE6G PDGFB PDGFRB PDHA1 PDHB PDYN PEPD PEX1 PEX10 PEX11B PEX12 PEX13 PEX14 PEX16 PEX3 PEX6 PEX7 CFP PGK1 PGM1 PGM3 PHGDH PHKA1 PHKA2 PHKG2 PIGA PIGB PIGC PIGF PIGH PIGK PIGL PIGN PIK3C2A PIK3C3 PIK3CA PIK3R1 PIK3R2 PI4KA PIN4 PISD PITX2 PITX3 PKHD1 PLA2G6 PLAA PLEC PLK1 PLOD1 PLOD2 PLOD3 PLP1 PLXNA1 PLXNA2 PLXNB3 PMM2 PMP22 PMPCB PMS2 GIGYF1 PHOX2B PNKD PNKP POLA1 POLD1 POLG POLR2A POLRMT POMT1 POU1F1 POU3F3 PPFIBP1 CTSA PPIL1 PPM1D PDP1 PPOX PPP1CB PPP1R1B PPP2CA PPP2R1A PPP2R2B PTPA PPP2R5D PPP3CA PPT1 PQBP1 PRKACB PRKAR1A PRKAR1B ZMYND8 PRKCG PRKDI EIF2AK2 PRKRA DNAJC3 PRODH PROP1 PLPBP PRPS1 PRRG1 PRSS12 LONP1 PSAP PSEN1 PSMA7 PSMB8 PSMC5 PSMD10 PSMD12 PSPH PTCH1 PTDSS1 PTEN PTHLH PTH1R PTPN11 PTPN21 PTPN4 PTS PURA NECTIN1 PEX19 PEX2 PEX5 PYCR1 ALDH18A1 PYGL QARS QDPR RAB11A RAB11B RAB27A RAC1 RAC3 RAD21 RAD50 RAD51 RAD51C RAF1 RAI1 RALA RALGDS RANBP2 RAP1B RAP1GDS1 RAPSN RARB RARS RASA1 KDM5A RBBP8 RBL2 RBM10 RBM8A

RECQL4 RELN RENBP UPF1 DPF2 RERE RET RFX3 RFX4 RGN RGS7 RHEB RING1 RIT1 RMRP RNF13 ROBO1 ROR2 RORA RORB RPE65 RPGR RPIA RPL10 RPS19 RPS23 RPS6KA3 RRAS RTN2 RUNX2 RYR1 RYR2 RYR3 SACS SALL1 SARS SATB1 SBF1 MSMO1 SC5D ATXN1 ATXN10 ATXN2 ATXN7 SCN11A SCN1A SCN1B SCN2A SCN3A SCN4A SCN8A SCN9A SCO1 SCO2 AIMPI NEMF CWC27 UTP14A SDCCAG8 SDHA SEC23B SEMA3E SET SF3B4 SGCA SGCE SGPL1 SGSH FBXW4 SHH SHMT2 SHOX SIAH1 ST3GAL3 ST3GAL5 STIL SIX1 SIX3 SIX5 SKI SKIV2L SLC12A2 SLC12A6 SLC16A2 SLC17A5 SLC1A1 SLC1A2 SLC1A4 SLC20A2 SLC22A5 SLC25A1 SLC25A12 SLC25A13 SLC25A15 SLC25A6 SLC26A2 SLC27A4 SLC2A1 SLC2A2 SLC31A1 SLC35A1 SLC35A2 SLC35A3 SLC4A1 SLC4A4 SLC5A2 SLC5A5 SLC5A6 SLC6A1 SLC6A3 SLC6A4 SLC6A5 SLC6A8 SLC6A9 SLC7A7 SLC9A6 SMARCA1 SMARCA2 SMARCA4 SMARCA5 SMARCA1 SMARCB1 SMARCC1 SMARCC2 SMARCD1 SMARCD2 SMARCD3 SMARCE1 ARID1A SMC1A KDM5C SMO SMPD1 SMS SNAP25 SNAP29 SNCA SIK1 SNRPB SNX3 CAPN15 SON SOS1 SOS2 SOX10 SOX11 SOX2 SOX3 SOX4 SOX5 SOX9 SPAG1 SPG11 ATL1 SPAST SPG7 SPOP SPR SPRY3 SPTAN1 SPTBN1 SPTBN2 SPTLC1 SPTLC2 SREBF2 SRP54 SRY SSR4 STAG1 STAG2 STAR STAT1 STAT5B PLK4 BRSK2 CDKL5 STS STUB1 STX11 STX3 STXBP1 SUCLA2 SUCLG1 SUOX SUPT16H SURF1 VAMP7 SYN1 SYNGAP1 SYNJ1 SYP SYT1 TAF1C TAF1 TAF2 TAF4 TAF6 TAF13 TAF7L BRF1 TARDBP TAT TAZ TBCD TBCE TBP TBR1 TBX1 TBX15 TBX20 TBX22 TBX3 TBX4 TBX5 TBXAS1 TCF12 HNF1B TCF20 TCF4 TCF7L2 TCN2 TCOF1 TEK TERT TFAP2A TFAP2B TFE3 TFG TGFB1 TGFB2 TGFB3 TGFB1 TGFB2 TGIF1 TH THRA THRB TIAM1 TIMM8A TINF2 NKX2-1 TK2 TKT TKTL1 TLK2 TSPAN7 TSPAN8 TRAPPC10 TNR MED12 GIGYF2 CNPY3 TOMM70 TP73 TPP2 TREXI TREX2 TRHR TRIO TRIP11 TRIP12 TRIP13 JMJD1C TRPS1 TRRAP TSC1 TSC2 TSFM CEP41 RSPHI TSHB TSHR TTN TTPA TTR TUBA8 TUBB2A TUBG1 TUFM TWIST1 TYR TYRP1 UBE2A UBE3A UBE4A UBTF UGDH UGP2 UGT1A1 UMPS UQCRB UROS USP18 USP7 USP9X KDM6A VAMP1 VAMP2 VARS VDR VIP VLDLR VPS33B VPS41 VRK1 WARS2 WASF1 WDR4 WFS1 FOXN1 NSD2 WNT1 WNT10B WNT3 WNT4 WNT5A WNT7A WRN WT1 WWOX XIST XK XPA XPC XRCC4 YARS YWHAG YY1 ZFX ZIC1 ZIC2 ZIC3 ZMPSTE24 ZNF142 PCGF2 ZBTB16 ZNF148 RNF113A ZMYM2 KAT6A ZBTB18 ZMYM6 ZMYM3 SCAPER ZNF41 ZNF711 ZNF81 ADAMTS10 ARL6 BCL11A BCL11B FTSJ1 HDAC8 KIF4A MCOLN1 NPHS2 NSDHL PCDH10 PCLO PRUNE1 RLIM ROBO3 RPGRIP1 SLC2A10 UBE3B USP27X VPS35 VPS4A ZBTB20 RXYLT1 ATP8A2 ATP9A ATP11A IFT122 ACE2 BRD4 FBXO7 FBXO8 FBXO11 FBXO25 FBXL3 FBXL4 FBXW11 PABPC5 BDPI MACF1 AAAS DCHS1 DEGS1 CTCF KMT2C CDH23 SNTG1 CYFIP2 GFM1 PRX SLC12A5 CNTNAP2 WDR11 ADGRG6 FOXP2

MYO1H *MYO1G* *ABCG5* *ITCH* *ABHD16A* *FKBPL* *PRDM12* *PRDM13* *ANO3* *SLC5A7* *HDAC4* *HDAC6* *FMN2* *PIGQ* *CCDC78* *ELAC2* *JPH3* *CIC* *NSD1* *RAB18* *BRPF1* *AUTS2* *RAB23* *PCDH19* *CRLF2* *IRF2BPL* *NLGN4X* *NTNG2* *NLGN3* *SHANK3* *SHANK2* *BCAS3* *HTRA2* *WDR13* *MMP21* *IRX5* *SCYL1* *GLMN* *NHP2* *PTPN23* *SLC25A19* *ELOVL4* *RANBP17* *TMEM237* *GABRQ* *SLC26A9* *MRPS22* *NPC2* *WNK3* *ARHGEF9* *PINK1* *VPS11* *FYCO1* *DEAF1* *COG5* *ESX1* *INTS6* *GTPBP3* *ZEB2* *SPTBN4* *PIGS* *PIGT* *PPP1R15B* *PUM1* *SNX14* *SHOC2* *MBTPS2* *CACNA2D3* *GPHN* *SHANK1* *ANKH* *MBOAT7* *TSEN34* *PUS1* *XYLT1* *P2RY8* *JAM3* *SETBP1* *EPPK1* *TRIM8* *SYTL4* *SYTL5* *NBAS* *TLR8* *KLHL7* *ALG9* *PHIP* *TNKS2* *CTTNBP2* *LDB3* *LRPPRC* *GEMIN4* *HID1* *NAPB* *ADNP* *ARFGEF1* *METAP1* *PIGU* *ZNF335* *OXR1* *BSCL2* *KMT2B* *ARFGEF2* *TASP1* *ABHD12* *RTEL1* *PANK2* *NDUFAF5* *NAA20* *NOP56* *PLCB1* *SALL4* *SAMHD1* *ERGIC3* *TOE1* *GDAP1* *TP63* *APTX* *MPLKIP* *MED12L* *ACER3* *PCNT* *SFXN4* *PGRMC1* *TBC1D20* *RSPO4* *SLC52A3* *TGM6* *YAP1* *SLC19A3* *PNPLA6* *NFU1* *UPB1* *PARK7* *TRIM32* *NLRP3* *EFHC1* *SOX6* *LIAS* *SLC4A11* *SUFU* *PIDD1* *ZMIZ1* *RAB39B* *BPIFB6* *FBXO31* *BSND* *TMPRSS6* *RAB14* *MRPS34* *KIF1B* *SRRM2* *IFITM5* *PJA1* *TUBGCP4* *BCAP31* *FBXW7* *DHX30* *DHX32* *LRRC6* *MCEE* *ZBTB11* *EDEM3* *TSEN15* *UBR1* *COQ8A* *CHD5* *PUDP* *MTMR8* *LITAF* *CTR9* *SLC35B2* *FIG4* *CD96* *SPEG* *BCKDK* *EMG1* *HAX1* *SYNCRIP* *AGAP1* *ATG7* *FAM120C* *STAMBP* *ZMYND11* *SRCAP* *CLP1* *PRICKLE1* *EXOSC8* *PUF60* *NIPA1* *SEC31A* *RAB3GAP1* *ACIN1* *TAB2* *SYNE2* *SYNE1* *LARS2* *SUZ12* *CDON* *SLC9A7* *ORC6* *ACOT9* *RAB3GAP2* *PRDX4* *PLCE1* *CHSY1* *BICD2* *DHX37* *COLEC11* *CPA6* *CENPJ* *RIMSI* *RRM2B* *TAF8* *WAC* *PRPF8* *TRNT1* *BRWD3* *DDX23* *CDC40* *TPK1* *AASS* *ADGRV1* *DPF3* *GMNN* *GJC2* *GAB3* *SPEN* *KAT6B* *NCDN* *NDE1* *ZNF674* *NGLY1* *PORCN* *PITRM1* *RIC1* *SARS2* *SPRED2* *DACT1* *PDSS1* *TDP2* *RALGAPA1* *FARSB* *NT5C3A* *NUP188* *AFF4* *NMNAT1* *PGAP2* *DROSHA* *KAT8* *SLC45A1* *NTM* *EXOSC3* *CEP83* *REEP2* *B3GALT6* *TRPM3* *NAGS* *FKRP* *OSGEP* *ARID2* *KDM5B* *ARID1B* *SLC38A3* *PKD1L1* *ARX* *GPT2* *ZBTB7A* *TRPV4* *SPATA5* *MFRP* *SOX17* *TUBGCP6* *PHF6* *TMC01* *RBFOX1* *ELP2* *KCTD1* *PHF10* *PECR* *ALG1* *ATP6AP2* *TMLHE* *ASXL1* *HSD3B7* *WDR19* *HPSE2* *DHRSX* *ZNF292* *FICD* *SETD2* *DEPDC5* *ZDHHC9* *ATP6V0A2* *SPART* *RNASEH2A* *STX1B* *KMT2E* *IER3IP1* *TFB2M* *CCNO* *TUBGCP2* *COL25A1* *LRRK1* *LRRK2* *COG4* *COG6* *COG7* *COG8* *FKBP14* *IFT27* *STAB2* *RTN4IP1* *RTTN* *RAX* *RNPC3* *PMPCA* *MPP5* *CDK5RAP2* *EIF4A3* *CRB2* *ASCC3* *NAA10* *GRIP1* *CCNB3* *LGI4* *RHOBTB2* *BBS7* *AKAP17A* *FAM50A* *ZFP57* *POGZ* *CAMTA1* *NDUFAF1* *KCNT1* *KCNT2* *MMAA* *IFIH1* *MAGI2* *GBA2* *ADGRG4* *MAST1* *ASPM* *THOC2* *NALCN* *EBF3* *ASH1L* *DDX58* *NPHP4* *FGD4* *PSAT1* *HS6ST2* *POMGNT1* *TTBK2* *STARD8* *KIF14* *FRAS1* *DOCK6* *DOCK7* *DOCK8* *NANS* *MTO1* *LMAN2L* *TTC5* *SCAF4* *KANK1* *P3H1* *MMAB* *CDK19* *DENND5A* *CUX2* *KIF21A* *SIN3A* *SIN3B* *ALG12* *HYDIN* *SBDS* *MECR* *COQ4* *CNKS1* *CNKS2* *DDHD1* *CANT1* *POMT2*

SRGAP3 EVC2 TTC7A ASB12 ISCA2 SCARF2 ZNF407 TRAPPC4 SLC25A22 TECPR2 KIAA0586 CCDC88C TNPO2 CAPI GEMIN5 SNX27 PAN2 DDX53 TTC8 FLVCR2 CHD8 TMEM260 POLRIC SLC35C1 B3GLCT DPF1 SPRED1 SETDB2 NUBPL TRIT1 CHAMP1 SMOC1 TGDS PRICKLE2 ZDHHC15 UBR7 VIPAS39 FRY NDUFA11 SPG21 SUMF1 POLRID UPF3B MBD5 TRAF7 BRIP1 COA8 L2HGDH ZC3H14 MBNL3 CYP2U1 UFM1 DHDDS AIMP2 CHD7 DPYSL5 SLC9A9 SLC25A26 SLC25A24 TWIST2 PHF8 PASD1 ZNF425 TPH2 OTUD7A ARMC9 WDFY3 ZFYVE26 TUBA1A TUBB3 TUBB4A TUBB SLC35D1 FOXP4 THAP1 SLC39A14 SLC39A13 SLC39A8 BCOR PGM2L1 NACC1 PHACTR1 ZMYND15 ANTXR1 CUL7 HACE1 NUS1 RSPH3 ERMARD SERAC1 FARS2 TBC1D7 MIB1 QKI ZBTB24 RNF125 GTF2H5 RNF135 RMND1 ZMYND12 FA2H LINGO1 WDR26 TCP10L2 ADPRHL2 KCTD3 ELOVL5 ANKRD11 DYM PDHX ABHD5 RARS2 INPP5E RFX6 SLC35F1 MCM9 DNAAF4 ACAD9 AHI1 NHLRC1 LNPK SATB2 CEP85L VARS2 ZNF462 RNASET2 RNF216 BRAT1 LHX4 WDR60 RBM28 AGK NCAPG2 KCTD7 ZNF713 FAM20C AP5Z1 PHF14 TMEM106B MED13 GMPPA GMPPB POGLUT1 MED13L PEX26 FAM20A GNPTG LMBRD1 PDSS2 ALG3 TRAPPC6B TRAPPC2 TRAPPC6A SLC13A5 FAT4 DCHS2 SYT14 PLCXD1 UNC13A U2AF2 ALG6 ALG2 ALG8 PNPT1 KIRREL3 PIGW EXOC7 PIGO UBA5 AWAT2 ETHE1 NTNG1 A2ML1 ACBD6 PIBF1 FREM1 DOLK KIF1BP DOCK11 MORC4 TUBAL3 DHTKD1 MIR17HG MORC2 ANKRD17 RUSC2 TTC37 TIMM50 GNE PGAP3 PTF1A NECAB2 TMEM63C INF2 PACS2 MAGEC3 ASXL2 THUMPD1 SLX4 NDUFA12 APC2 KNL1 RNASEH2C B9D1 ACTL6A MGAT5B RSRC1 BMPER PHF21A BEAN1 ATXN3L FAM111B CISD2 GLYCTK PTRH2 DPH5 OTUD6B KMT5B TRAPPC12 NCAPD2 TACO1 CCDC186 BOLA3 CHST14 DLGAP4 POC1A WDR62 TCTN3 MMACHC NECAP1 TKFC INTS1 C2CD3 KANSL1 CDT1 CIB2 FAM126A NRROS SIL1 VPS35L EHMT1 FLAD1 FTO FLVCR1 RABL6 QRICH1 TBC1D8B FAM111A ZNF699 GPRASP1 CCDC47 MFF G6PC3 MOGS CEP104 YIPF5 LARP7 EIF2AK1 ZC4H2 MAGEE2 GSX2 EXOC2 COA3 METTL5 GTPBP8 TMEM216 WDR45B MTSS2 PRMT9 OTULIN MARS2 ADAT3 TMEM240 ALKBH8 MMADHC COQ2 AHDC1 CCDC39 ZCCHC8 LMBRD2 COQ9 NSRP1 SPRTN DDX59 TMEM222 CCDC8 MAGEB10 KATNAL2 NRK FREM2 OTUD5 RAB40AL ARL13B TANGO2 C19orf12 PUS3 KIF26B ANO10 WRAP53 CCDC88A MTPAP DALRD3 DARS2 MSL2 SMG8 RNF220 PRMT7 SETD5 ATAD3A FANCI ARMC4 OGDHL VPS53 CWF19L1 TBC1D23 UFSP2 BCORL1 RNASEH2B GORAB CARS2 PGAPI LASIL NHEJ1 MAP7D3 TRAPPC11 SMG9 TCTN2 RFX7 DCAF17 REEP1 USB1 CPLANE1 FAM161A SRD5A3 CEP63 ZNF668 GRHL3 MFSD2A POMGNT2 ATAD1 WDR73 VPS50 RETREG1 GON4L TRMT1 PIGG NSUN2 TTC19 IMPAD1 PIGV PUS7 INTS8 TMEM70 SLC25A38 HEATR3 CCDC40 TCTN1 PALB2

TMEM135 CTC1 MTMR14 CSPP1 FAR1 TM4SF20 CXorf56 TTI2 POMK PIEZO2 CCDC82 BBS10 ODAPH CXorf58 HEPACAM ARHGAP36 PTCHD1 NADK2 ZNF599 FAAH2 UROC1 TEPSIN JAKMIP1 LOXHD1 HGSNAT HYLS1 CCDC114 UNC80 WDR81 KLHL34 BBS12 FAM47B RNF168 CEP120 CFAP47 PROX2 C12orf65 ARL14EP AMER1 CKAP2L TMTC3 OTOGL PARP6 ERCC6L2 JAGNI FOXRED1 UFC1 KIAA1109 PDZD8 METTL23 TMEM132E ESCO2 C8orf37 ZCCHC12 ACSF3 IBA57 INTS6L ANO5 TSEN54 EMC10 SLC6A19 CTU2 WDPCP CCDC174 XPNPEP3 LYRM7 NDUFAF2 MMTG1 CCDC115 PIGY COX14 HPDL TCEAL3 TBCK ALG14 CCDC32 WDR34 TET3 C9orf72 D2HGHD THOC6 TMEM67 TRMT10A TSEN2 CCNQ MFSD8 DIPK2A GLI3 EOGT UBE2U B3GALNT2 B9D2 DIS3L2 DOHH COQ5 SPATA5L1 MED25 P4HTM NIPBL MAGT1 PPA2 ITIH6 DNAJC12 CCDC22 WDR45 EMC1 TMEM94 WASHC5 ZNF592 RUBCN FRMPD4 SETD1A KDM6B CEP290 SPECC1L SZT2 KLHL21 DSTYK ZBTB40 FBXO28 IQSEC2 IFT140 KDM1A CEP135 SMCHD1 OBSL1 TELO2 ATP2C2 DDHD2 IQSEC1 KDM4B RPGRIP1L WASHC4 TBC1D2B SETD1B TNRC6B IQSEC3 TBC1D24 SVBP SHROOM4 ARHGAP31 PRR12 ODF2L WWC3 SH3PXD2B RTL9 WDR35 CC2D2A SOBP TAOK1 IFT80 HEATR5B DIP2B CEP152 UVSSA FBRSL1 ZSWIM6 FAM160B1 EPG5 KLHL15 ASXL3 SELENOI ZNF526 EARS2 RSPRY1 CCBE1 SH3TC2 NEXMIF KIF21B ROGDI FCSK GPSM2 KIDINS220 PLEKHG2 C12orf57 TBL1XR1 ARV1 LIPT1 UQCRQ MEGF10 MESP2 MTFMT IFT43 GNPTAB PAM16 IARS2 DCPS XKRX HECW2 CHRDL1 NFASC NKAP UBAP2L CSDE1 NUP107 NDUFAF3 COASY CCDC65 TENM3 TRAK1 FOXR1 BBS9 MAGIX PACS1 PBRM1 POLR3A TMPRSS9 STRADA CRBN WDR83OS TANC2 ATP13A2 MACC1 RFT1 PREPL CC2D1A TUSC3 PNPO PYCR2 UBR4 POLR3B DLGAP3 KLHL40 SCRIB SCAMP5 IFT172 DNAAF3 KIF7 PRRT2 YIF1B SLC46A1 DNAJC19 TXNL4A SNIP1 PPP1R21 SEPSECS STT3B STRA6 CLPB SRPX2 TMX2 TMEM165 TRAIP TNIK GATAD2B NAA15 CEP57 PRRG3 TUBB2B TRAPPC9 POC1B EFTUD2 ITFG2 ALG13 TMEM126B TRAPPC2L HUWE1 LINS1 ZFHX4 ATXN2L GPR179 SLC6A17 WDR37 MAP3K15 LINGO4 SLC25A53 WIPI2 ALG11 CCDC103 SMPD4 SNORD118 HAUS7 PTRHD1 AGMO COA5 SDHAF1 INPP5K RNU4ATAC RNU7-1 PCARE BHLHA9 CMC4 LIPT2 KBTBD13 TMEM231 CRPPA PRSS56 PET100