



De

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

REYNER SANTOS DE OLIVEIRA

**ETIOLOGIA GENÉTICA DA DEFICIÊNCIA INTELECTUAL SINDRÔMICA EM
INDIVÍDUOS 46,XY EMPREGANDO SEQUENCIAMENTO DE EXOMA**

ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a JULIANA FORTE MAZZEU DE ARAÚJO

BRASÍLIA – DF, BRASIL

Julho de 2025



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

REYNER SANTOS DE OLIVEIRA

**ETIOLOGIA GENÉTICA DA DEFICIÊNCIA INTELECTUAL SINDRÔMICA EM
INDIVÍDUOS 46,XY EMPREGANDO SEQUENCIAMENTO DE EXOMA**

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliana Forte Mazzeu
de Araújo

BRASÍLIA – DF, BRASIL

Julho de 2025

AGRADECIMENTOS

Sou grato àqueles que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, dentre os quais, eu cito:

À Universidade de Brasília (UnB), ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, à Fundação de Apoio à Pesquisa do DF (FAP-DF), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

À minha orientadora, professora Juliana Mazzeu, por me conferir a oportunidade de participar de um projeto de tamanha importância e relevância e por compartilhar sua riqueza de conhecimento sempre com extrema paciência e com a mais fina didática.

À minha co-orientadora, professora Silviene Oliveira. Tenho-na como um exemplo a ser seguido não só na ciência, mas também na vida. Aos professores André e Aline pelo suporte e disposição.

Aos integrantes do Laboratório de Genética do Departamento de Genética e Morfologia do Instituto de Biologia (IB - UnB), em especial à Karina e à Samyra pela ajuda e pelo compartilhamento de ideias que certamente enriqueceram este trabalho. Aos integrantes do Laboratório de Genética Humana da Faculdade de Ciências da Saúde (FS - UnB).

Às médicas e demais profissionais da saúde do Ambulatório de Genética Clínica do Hospital Universitário de Brasília, dos quais destaco: Dra. Mara Cordoba, Dra. Beatriz Versiani e, em especial, à médica residente Dra. Fernanda, pelo incentivo.

Aos pacientes e seus pais por participarem deste projeto.

Às minhas amadas amigas, Bianca e Tamara, que desde o ensino médio, sempre acreditaram e me influenciaram a seguir meus sonhos.

Aos meus familiares, em destaque à minha mãe, Rosângela e ao meu pai, Jader, pela paciência e pela confiança.

EPIGRAFE

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.”

(Carl Jung)

RESUMO

Acometendo aproximadamente 1%-3% da população humana de modo independente quanto à etnia ou classe social, a deficiência intelectual (DI) se qualifica como um importante problema de saúde pública. Trata-se de uma condição extremamente diversa em termos etiológicos e clínicos, que se caracteriza pelo estado de diminuição significativa do funcionamento do intelecto e do comportamento adaptativo. O crescente melhoramento tecnológico nos âmbitos da saúde, saneamento básico e nutrição reacenderam a necessidade de se conhecer com mais detalhes a etiologia genética da DI, responsável por uma parcela considerável dos casos. No entanto, observa-se que, em contrapartida aos recentes avanços no tocante à identificação e análise de variantes, a maioria dos pacientes com DI não recebe diagnóstico molecular.

Inserido neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar a etiologia genética de uma amostra de 16 indivíduos 46,XY acometidos por DI sindrômica selecionada do Hospital Universitário de Brasília (HUB), atendidos pelo Ambulatório de Genética Clínica, empregando a metodologia de sequenciamento completo de exoma (WES). Como resultado, foi obtida uma taxa de diagnóstico de 62,5% (10/16), sendo que em 80% (8/10), o padrão de herança foi autossômico dominante. As seguintes variantes causais para DI foram identificadas: *ST3GAL3*:c.1060C>T, *POGZ*:c.3022C>T, *PHF6*:c.835-5T>G, *CLTC*:c.1226_1229del, *ARID1B*:c.4378C>T, *MAX*:c.179G>A, *ACTB*:c.127G>T, uma deleção de 3,9 Mb na posição 7q36.2-q36.3, *MAP2KI*:c.199G>A e *CDK8*:c.88G>A. Adicionalmente, achados secundários foram observados nos genes *CRYAA* e *G6PD*.

Este trabalho corrobora com uma iniciativa mundial de emprego de sequenciamento de nova geração como ferramenta para o diagnóstico de condições genéticas, visto que se trata de um conjunto de técnicas que não só vem ganhando robustez conforme o passar dos anos, mas também que permitem uma re-análise de resultados tidos inicialmente como inconclusivos.

Palavras-Chave: Deficiência intelectual, sequenciamento completo de exoma, diagnóstico molecular, genética médica.

ABSTRACT

Intellectual disability (ID) affects approximately 1%-3% of the global population, regardless of ethnicity or socioeconomic status, and represents a significant public health challenge. It is a highly heterogeneous condition, both in terms of etiology and clinical presentation, characterized by substantial impairments in intellectual functioning and adaptive behavior. Advances in health care, sanitation, and nutrition have heightened interest in understanding the genetic basis of ID, which is responsible for a considerable proportion of cases. However, despite recent progress in variant identification and analysis, the majority of individuals with ID still lack a definitive molecular diagnosis.

In this context, the aim of this study was to investigate the genetic etiology of a sample of 16 46,XY individuals with syndromic ID selected from the Genetics Unit of Hospital Universitário de Brasília (HUB), using whole exome sequencing (WES) methodology. As a result, a diagnostic rate of 62.5% (10/16) was obtained, and in 80% (8/10) the inheritance pattern was autosomal dominant. The following causal variants for DI have been reported in this study: *ST3GAL3*:c.1060C>T, *POGZ*:c.3022C>T, *PHF6*:c.835-5T>G, *CLTC*:c.1226 _1229del, *ARID1B*:c.4378C>T, *MAX*:c.179G>A, *ACTB*:c.127G>T, a 3.9 Mb deletion at position 7q36.2-q36.3, *MAP2K1*:c.199G>A and *CDK8*:c.88G>A. Additionally, secondary findings were observed in the *CRYAA* and *G6PD* genes.

This study aligns with global efforts to employ next-generation sequencing as a diagnostic tool for genetic conditions. Over the years, this set of techniques has become increasingly robust, not only enhancing diagnostic accuracy but also enabling the re-analysis of previously inconclusive results.

Keywords: Intellectual disability, whole-exome sequencing, molecular diagnosis, medical genetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Descrição de genes associados à DI com o passar do tempo.

Figura 2. Recombinação homóloga não-alélica como mecanismo primário para formação de CNVs recorrentes.

Figura 3. Fluxograma de análise.

Figura 4. Heredograma do paciente 1.

Figura 5. Variante c.1060C>T identificada em homozigose em comparação ao alelo de referência no gene *ST3GAL3* do paciente 1.

Figura 6. Heredograma do paciente 2.

Figura 7. Variante c.3022C>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *POGZ* do paciente 2.

Figura 8. Padrão de expressão do gene *POGZ* em diferentes tecidos.

Figura 9. Heredograma do paciente 3.

Figura 10. Variante c.835T>G identificada em hemizigose em comparação ao alelo de referência no gene *PHF6* do paciente 3.

Figura 11. Heredograma do paciente 4.

Figura 12. Variante c.1258C>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *FOXC2* do paciente 4.

Figura 13. Padrão de expressão do gene *FOXC2* em diferentes tecidos.

Figura 14. Heredograma do paciente 5 e do paciente 6.

Figura 15. Variante c.347G>A identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *CRYAA* do paciente 5.

Figura 16. Deleção de 173,9 kb identificada em heterozigose em relação ao alelo de referência na posição 17q24.2 do paciente 6.

Figura 17. Heredograma do paciente 7.

Figura 18. Variante c.1226_1229del identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *CLTC* do paciente 7.

Figura 19. Padrão de expressão do gene *CLTC* em diferentes tecidos.

Figura 20. Heredograma do paciente 8.

Figura 21. Variante c.4387C>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *ARID1B* do paciente 8.

Figura 22. Heredograma do paciente 9.

Figura 23. Variante c.179G>A identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *MAX* do paciente 9.

Figura 24. Variante c.202G>A identificada em hemizigose em comparação ao alelo de referência no gene *G6PD* do paciente 9.

Figura 25. Heredograma do paciente 10.

Figura 26. Variante c.760C>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *PAX6* do paciente 10.

Figura 27. Heredograma do paciente 11.

Figura 28. Variante c.127G>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *ACTB* do paciente 11.

Figura 29. Heredograma do paciente 12.

Figura 30. Deleção de 3,9 Mb identificada em heterozigose em relação ao alelo de referência na posição 7q36.2-q36.3 do paciente 12.

Figura 31. Mapeamento por CMA da deleção de 3.9 Mb na posição 7q36.2-q36.3 observada na amostra do paciente 12.

Figura 32. Heredograma do paciente 13.

Figura 33. Variante c.199G>A identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *MAP2K1* do paciente 13.

Figura 34. Padrão de expressão do gene *MAP2K1* em diferentes tecidos.

Figura 35. Heredograma do paciente 14.

Figura 36. Variante c.88G>A identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *CDK8* do paciente 14.

Figura 37. Heredograma do paciente 15.

Figura 38. Heredograma do paciente 16.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Filtros e parâmetros empregados para análise do exoma.

Quadro 2. Sumário dos resultados obtidos para deficiência intelectual.

Quadro 3. Sumário dos achados secundários reportados.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACMG – Colégio Americano de Genética Médica e Genômica

AD – Autossômico Dominante

ADNPM – Atraso do Desenvolvimento Neuropsicomotor

AGD – Atraso Global de Desenvolvimento

AR – Autossômico Recessivo

BE – Benigno

CMA – Análise Cromossômica por Microarranjo

CNV – Variação no Número de Cópias

CVG – *Cutis Vertice Girata*

DI – Deficiência Intelectual

DI-NS – Deficiência Intelectual Não-Sindrômica

DI-S – Deficiência Intelectual Sindrômica

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ECG – Eletrocardiograma

EEG – Eletroencefalograma

ExAC – *Exome Aggregation Consortium*

FISH – Hibridização *in situ* por Fluorescência

Hem – Hemizigoto/Hemizigose

Het – Heterozigoto/Heterozigose

Hom – Homozigoto/Homozigose

HUB – Hospital Universitário de Brasília

IA – Inteligência Artificial

IRE – Idade de Realização de Exoma
ITU – Infecção no Trato Urinário
LX – Ligado ao X
LXD – Ligado ao X Dominante
LXR – Ligado ao X Recessivo
Mi – Mitocondrial
NGS – Sequenciamento de Nova Geração
PA – Patogênico
pb – Par de Base
PB – Provavelmente benigno
PC – Perímetro Cefálico
PIG – Pequeno Para a Idade Gestacional
PP – Provavelmente Patogênico
QI – Quociente de inteligência
RNA – Ácido Ribonucleico
RNM – Ressonância Magnética Nuclear
SNV – Variante de Nucleotídeo Único
SRO – *Smallest Region of Overlap*, menor região de sobreposição
TC – Tomografia Computorizada
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEA – Transtorno do Espectro Autista
TDAH – Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
UBS – Unidade Básica de Saúde
UN – *Unknown*, desconhecido
USG – Ultrassonografia
VUS – Variante de Significado Incerto
WES – Sequenciamento de Exoma Completo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Deficiência intelectual e a sociedade.....	11
1.2 A complexa etiologia genética do déficit cognitivo.....	12
1.2.1 A natureza das variantes.....	13
1.3 O uso de sequenciamento de exoma para o diagnóstico molecular de DI.....	16
1.3.1 Classificação de variantes.....	17
1.3.2 Achados secundários.....	17
1.3.3 Condições concomitantes.....	18
1.3.4 A importância do diagnóstico molecular.....	18
1.4 Objetivos.....	20
1.4.1 Geral.....	20
1.4.2 Específicos.....	20
2. METODOLOGIA.....	21
2.1 Aspectos éticos.....	21
2.2 Seleção de pacientes.....	21
2.3 Extração e quantificação de DNA.....	22
2.4 Sequenciamento completo de exoma.....	23
2.4.1 Análise dos exomas.....	23
2.5 Busca por alterações cromossômicas por microarranjo.....	25
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
3.1 Resultados gerais.....	26
3.2 Resultados individuais.....	30
3.2.1 Paciente 1.....	30
3.2.2 Paciente 2.....	33
3.2.3 Paciente 3.....	36
3.2.4 Paciente 4.....	40
3.2.5 Paciente 5.....	44
3.2.6 Paciente 6.....	47
3.2.7 Paciente 7.....	49
3.2.8 Paciente 8.....	53
3.2.9 Paciente 9.....	56
3.2.10 Paciente 10.....	61
3.2.11 Paciente 11.....	64
3.2.12 Paciente 12.....	67
3.2.13 Paciente 13.....	71
3.2.14 Paciente 14.....	74
3.2.15 Paciente 15.....	78
3.2.16 Paciente 16.....	79

3.3 Discussão geral.....	81
4. CONCLUSÃO.....	83
5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	84
ANEXOS.....	92
ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	92
ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	95
ANEXO 3 – COMPROVANTE DE PUBLICAÇÃO.....	98

1. INTRODUÇÃO

1.1 Deficiência intelectual e a sociedade

A deficiência intelectual é caracterizada por uma ampla heterogeneidade, tanto em termos clínicos quanto etiológicos, sendo definida como o estado de limitação notável do funcionamento do intelecto e do comportamento adaptativo, que possui origem no período de desenvolvimento e que se manifesta antes dos 18 anos de idade (Tomac et al., 2017; Ellison et al., 2013). Antes dos cinco anos de idade, para indivíduos com atraso cognitivo, o termo atraso global de desenvolvimento é utilizado (AGD). Vale destacar, no entanto, que nem todas as crianças com AGD evoluem para um quadro de DI na vida adulta (Maia et al., 2021).

Com finalidade de mensurar e categorizar as capacidades cognitivas de um indivíduo, uma ferramenta frequentemente utilizada é o quociente de inteligência (QI). Nesse contexto, a DI é definida como $QI < 70$, com uma delimitação adicional consistindo em agrupar os quadros em leve ($QI = 50-69$), moderado ($QI = 35-49$), severo ($QI = 20-34$) e profundo ($QI < 20$) (Tomac et al., 2017; Maia et al., 2021). Por nota, a avaliação do QI não pode ser empregada isoladamente para o diagnóstico de DI.

Com base na presença de sintomas e sinais, a DI pode ser subdividida em dois grupos: (1) não-sindrômica (DI-NS), no qual o déficit cognitivo se apresenta de modo isolado e (2) sindrômica (DI-S), a qual cursa com manifestações clínicas adicionais, e.g., dismorfias craniofaciais, episódios convulsivos e malformações congênitas (Tomac et al., 2017; Maia et al., 2021).

Quanto à distribuição global, a DI acomete 1%-3% da população, sem distinção étnica ou de classe social (Curry et al., 1997; Maulik et al., 2011). Observa-se, no entanto, uma frequência aumentada de casos em países em desenvolvimento, que se dá, majoritariamente, devido a um controle diminuído de fatores ambientais potencialmente causadores, como anoxia perinatal, bem como infecções e/ou traumas no cérebro de recém-nascidos (Tomac et al., 2017). Trata-se de uma condição que afeta uma parcela expressiva de indivíduos, associada a alta carga de anos vividos com incapacidade, múltiplas comorbidades, expectativa de vida diminuída em relação à população e acesso restrito a serviços de saúde (Hosking et al., 2016; Landes; Turk, 2024). Esses fatores, em conjunto,

caracterizam a DI como um importante problema de saúde pública, exigindo políticas intersetoriais de prevenção, diagnóstico precoce e cuidado contínuo (Pham et al., 2024).

No Brasil, a crescente melhora nas condições sanitárias e de saúde, assim como a diminuição dos fatores ambientais que estão condicionados ao atraso de desenvolvimento cognitivo, reacenderam a necessidade de se conhecer com mais detalhes as causas genéticas da DI.

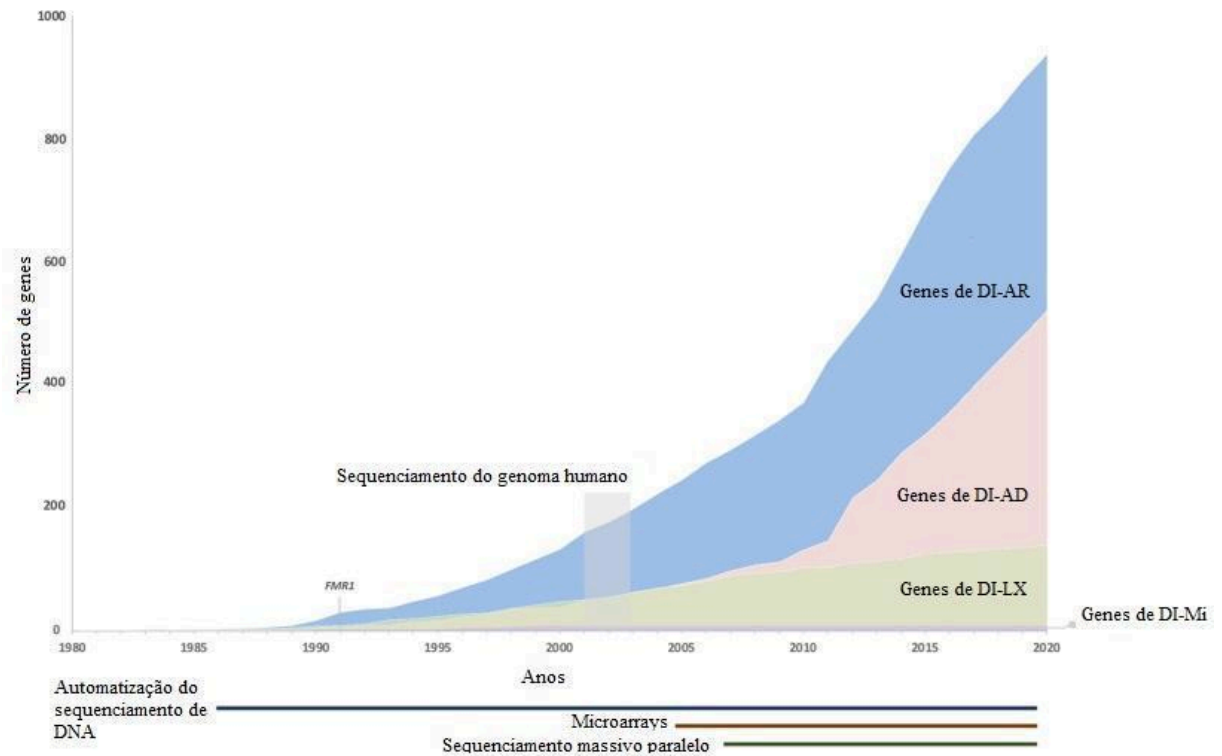
Os fatores de risco associados à DI se estendem do período pré- até o pós-natal, sendo que causas genéticas compreendem uma parcela significativa dos casos (Patel et al., 2018; Maia et al., 2021). Apesar da previamente antecipada associação genótipo/fenótipo, a identificação de variantes que possam explicar as manifestações clínicas tem se mostrado laboriosa devido à alta heterogeneidade genética dos casos de DI. Ademais, mesmo ao considerar os recentes avanços tecnológicos no que tange à identificação e classificação de variantes, a etiologia genética de aproximadamente 60% dos casos permanece desconhecida (Patel et al., 2018; Maia et al., 2021). Ainda assim, testes baseados em sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês, *next generation sequencing*) têm um potencial de uso no diagnóstico molecular da DI (de Ligt et al., 2012; Tomac et al., 2017).

1.2 A complexa etiologia genética do déficit cognitivo

O caráter genético da DI é um reflexo do número expressivo de genes que codificam produtos funcionais que participam direta ou indiretamente da estruturação e/ou funcionamento dos neurônios, principalmente em processos de sinapse nervosa (Humeau et al., 2009). Afora a função na sinaptogênese, os genes DI-relacionados estão envolvidos em processos de transporte, de metabolismo de RNA, de desenvolvimento do sistema nervoso e de transcrição (Kochinke et al., 2016).

De acordo com o banco de dados SysNDD (<https://sysndd.dbmr.unibe.ch> - consultado em janeiro de 2024), existem cerca de 1.500 genes primários de DI, cujas variantes estão associadas com em torno de 1.800 fenótipos relacionados. Além disso, cerca de 1.250 genes estão atualmente classificados como candidatos (Maia et al., 2021). O crescente avanço tecnológico vis-à-vis à identificação de genes, notoriamente a técnica de sequenciamento massivo paralelo, causou um aumento exponencial na descrição de genes associados à DI, como ilustrado na figura 1.

Figura 1. Descrição de genes associados à DI ao longo do tempo



Fonte: Adaptado e traduzido de Maia et al., 2021. DI-AR - deficiência intelectual autossômica recessiva; DI-AD - deficiência intelectual autossômica dominante; DI-LX - deficiência intelectual ligada ao X; DI-Mi - deficiência intelectual mitocondrial.

O padrão de herança da DI é também altamente diversificado: autossômico recessivo e dominante, mitocondrial, não-mendeliano (por ex., poli/oligogênico, epigenético), assim como ligado ao X, sendo essa uma das causas principais, associada de 10% a 20% dos casos (Ellison et al., 2013; Harripaul et al., 2017). Essa tendência pode ser utilizada para explicar, ao menos parcialmente, o viés observado de incidência de DI entre homens e mulheres, cuja razão de casos é de 2:1 (Polyak et al., 2015). Não obstante, este quociente decresce proporcionalmente à medida em que o QI diminui, i.e., casos mais severos de DI se distribuem de maneira mais homogênea na população humana (McLaren e Bryson, 1987; Harripaul et al., 2017).

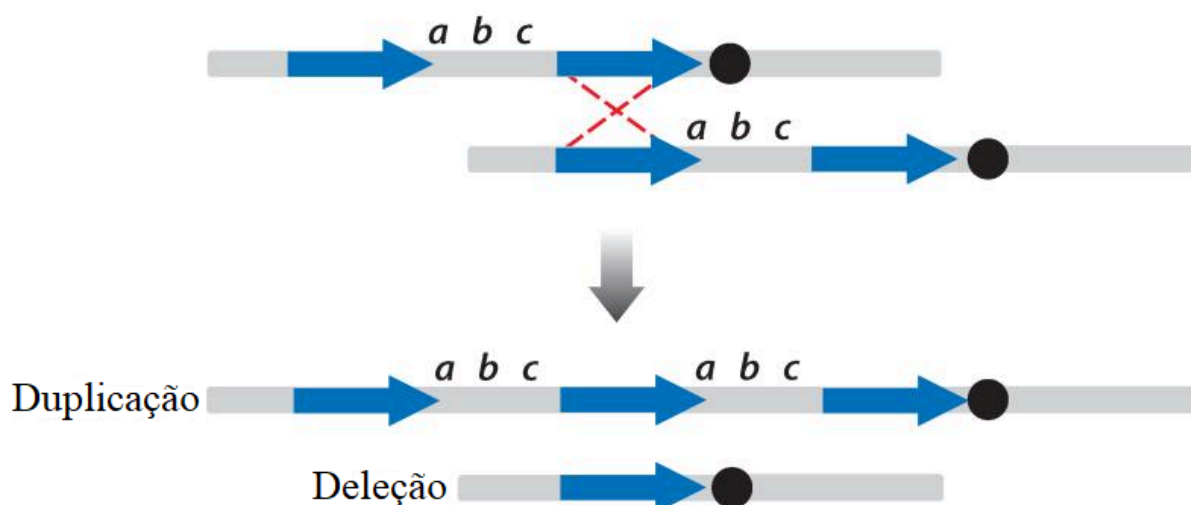
1.2.1 A natureza das variantes

As anomalias cromossômicas visíveis ao microscópio, maiores em uma resolução de 5-10Mb, correspondem a aproximadamente 15% dos casos de DI, sendo que destes, cerca de dois terços estão relacionados à trissomia do cromossomo 21, a aneuploidia mais comum em seres humanos, associada à síndrome de Down (Ellison et al., 2013).

Destacam-se, entretanto, as variantes submicroscópicas, em especial aquelas que se manifestam como variações no número de cópias (CNVs, do inglês, *copy number variations*). As CNVs podem ser definidas como ganho ou perda de uma sequência de DNA quando comparado ao genoma de referência, de tamanho variável, podendo contemplar de 1kb até cromossomos inteiros (trissomias e monossomias), por vezes em um locus onde a presença de genes é numerosa ou ausente (Watson et al., 2014). Essas variantes podem ser classificadas como recorrentes e não-recorrentes:

- O mecanismo primário de formação de CNVs recorrentes consiste em recombinação homóloga não-alélica durante a meiose (fig. 2), havendo quebra em regiões de alta repetição vicinais à sequência alvo. Como consequência, tem-se que variantes de CNVs recorrentes são essencialmente idênticas, mesmo em indivíduos não aparentados (Watson et al., 2014);
- Em contrapartida, CNVs não-recorrentes têm pontos de quebra integrados em uma sequência única e não são resultado de predisposição estrutural genômica (Watson et al., 2014).

Figura 2. Recombinação homóloga não-alélica como mecanismo primário para formação de CNVs recorrentes.



Fonte: Adaptado e traduzido de Watson et al., 2014. Nessa ilustração esquemática, duas regiões com alta similaridade de sequência (representadas por setas azuis) flanqueiam um locus contendo os genes *a*, *b* e *c*. Um subsequente erro de alinhamento gera um homólogo com duplicação e outro com deleção da região.

Estimativas estipulam que as CNVs estejam relacionadas a cerca de 15%-20% dos casos de DI (Ellison et al., 2013; Harripaul et al., 2017). Cita-se como exemplo clássico a microdeleção da região 15q11-q13, a qual é causal para as síndromes de Prader-Willi (OMIM# 176270) e de Angelman (OMIM# 105830) (Watson et al., 2014).

À luz desta problemática, muito se tem feito nos últimos anos em prol do aprimoramento não só de tecnologias de sequenciamento, mas também de ferramentas do âmbito da bioinformática, que sejam capazes de detectar e interpretar CNVs. Como exemplo, cita-se a técnica de análise cromossômica por microarranjo (CMA, do inglês, *chromosomal microarray analysis*) que, devido a robustez, confiabilidade e relativo baixo custo, era tida como consenso para primeira abordagem a ser utilizada para teste diagnóstico de DI (Miller et al., 2010). Graças ao melhoramento constante de métodos computacionais utilizados em NGS, que agora permitem a identificação e análise de CNVs (Singh et al., 2021), essa tendência foi descontinuada.

Em comparação ao clássico cariótipo com bandeamento G, que apresenta uma taxa de sucesso de diagnóstico de 3% para quadros de DI, o teste de CMA aumenta significativamente as chances de se atestar a causa genética, chegando a ser efetiva em 20% das situações (Harripaul et al., 2017). Ressalta-se, todavia, a incapacidade da técnica em detectar rearranjos cromossômicos aparentemente balanceados, mosaicismos, alterações epigenéticas e algumas dissomias uniparentais (Giorgio et al., 2016; Harripaul et al., 2017).

No que tange às causas monogênicas de DI, a maioria dos casos é oriundo de variantes de nucleotídeo único (SNV, do inglês, *single nucleotide variant*) e pequenas inserções/deleções, denominadas indels (Maia et al., 2021). Não obstante, a detecção de variantes desta natureza exige tecnologias de sequenciamento de alta resolução, assim como o emprego extensivo de instrumentação bioinformática, fora do escopo das técnicas de CMA ou de cariótipo. Ademais, por conta do grande número de dados gerados nesse tipo de ensaio, frequentemente obtém-se como resultado variantes de significado clínico incerto (as denominadas VUS, do inglês, *variant of unknown significance*), bem como variantes *de novo* ou ainda não reportadas na literatura, o que torna a interpretação desafiadora (Tomic et al., 2017).

Devido a fenômenos de pleiotropia, i.e., a capacidade que um único gene pode ter de influenciar uma miríade de características (Solovieff et al, 2013), os fenótipos que estão associados a variantes em um único gene podem se manifestar de modo multissistêmico. Um exemplo são os fenótipos causados por variantes nos genes que compõem a via de sinalização RAS/MAPK (via importante para processos de diferenciação celular, proliferação e sobrevivência), as denominadas RASopatias (Aoki et al., 2016). Trata-se de um grupo de síndromes que são individualmente únicas, mas que têm como características comuns a DI, baixa estatura, dismorfias faciais, defeitos cardíacos congênitos e disfunção linfática (Hebron et al., 2022).

Os episódios de DI cujos modos de transmissão são não-mendelianos se mostram particularmente laboriosos para a determinação do diagnóstico, prognóstico, aconselhamento genético e estimativa de risco de recorrência. Neste contexto, se sobressai o grupo de fenótipos que são causados por mutações dinâmicas de regiões repetitivas de tri-, tetra- ou penta-nucleotídeos (Paulson, 2021).

A síndrome do X-frágil (OMIM# 300624), a causa mais comum de DI hereditária (Maia et al, 2021) é um fenótipo que é resultado, na maioria dos casos, de uma expansão repetitiva de uma trinca de nucleotídeos (> 200), CGG, na região reguladora 5' UTR (região não-traduzida, do inglês, *untranslated region*) do gene *FMRI* (OMIM* 309550) (Verkerk et al., 1991; Protic et al., 2022). Embora o fenótipo seja conhecido há mais de três décadas, os tratamentos existentes são meramente paliativos e a compreensão do mecanismo de patogênese é escassa (Maia et al., 2021; Protic et al., 2022).

1.3 O uso de sequenciamento de exoma para o diagnóstico molecular de DI

O sequenciamento de nova geração, devido ao constante melhoramento e barateamento, vem se tornando uma alternativa viável para a determinação da etiologia genética de diversas condições, mesmo fora do escopo acadêmico (Harripaul et al., 2017). Destaca-se o uso do sequenciamento completo de exoma (WES, do inglês, *whole exome sequencing*), que, apesar de contemplar uma região que equivale a apenas 2% do genoma humano, cobre aproximadamente 95% das regiões codantes (Alfares et al., 2018). Estimativas estipulam que 85% das variantes causais para doenças estejam inseridas nos éxons (Majewski et al., 2011; Petersen et al., 2017). Ademais, sabe-se que variantes exônicas são causa majoritária de fenótipos monogênicos (Kuhlenbäumer et al., 2010; Petersen et al., 2017).

Wright e colaboradores (2015) demonstraram que o WES em trio (genitores e o probando) reduziu em um fator de 10 a quantidade de genes candidatos, além de permitir uma taxa de diagnóstico de 27%, ao focar somente em variantes segregadas e *de novo* (Wright et al., 2015). Este estudo reforça que a complexa etiologia de DI exige, em algumas instâncias, o teste não só do probando, mas também de seus familiares, principalmente se houver outros casos semelhantes na mesma família (Ellison et al., 2013; Karam et al., 2015).

Desta forma, em adição ao teste de WES em trio e a análise do histórico familiar, a interpretação de diferentes padrões de herança, bem como de variantes *de novo* esporádicas nos casos de DI se torna mais exequível (de Ligt et al., 2012; Giorgio et al., 2016; Harripaul et al., 2017).

1.3.1 Classificação de variantes

Os importantes avanços em tecnologias de sequenciamento de nova geração possibilitaram um arsenal maior de ferramentas à disposição de geneticistas e profissionais afins para o diagnóstico molecular da DI. Todavia, devido a grande quantidade de dados gerados, um entrave frequentemente observado consiste na interpretação e classificação de variantes. Nesse contexto, emergiu-se a necessidade de um sistema de classificação internacional e unificado que, fundamentado em critérios rigorosos, pudesse colaborar com a interpretação da relevância clínica de variantes (Richards et al., 2015).

O sistema vigente, proposto por Richards e colaboradores (2015), classifica as variantes como benígnas (BE), provavelmente benígnas (PB), de significado incerto (VUS), provavelmente patogênicas (PP) e patogênicas (P). Esta classificação, baseada em uma pontuação que varia de 0 a 1, em que o valor mínimo indica benignidade enquanto o valor máximo indica patogenicidade, fundamenta-se na qualidade dos dados gerados, na frequência populacional da variante, em sua localização e tipo, na função do gene envolvido, no padrão de herança e na correspondência fenotípica com o quadro clínico do probando (Richards et al., 2015).

1.3.2 Achados secundários

A profusão de dados obtidos em ensaios de NGS destacou, em adjunto, a urgência de se determinar com clareza os limites de análise e interpretação, visto que, frequentemente, um número expressivo de variantes que não estão diretamente relacionadas com o quadro clínico do indivíduo analisado é retornado como resultado. A malgrado de que a maioria destas variantes não possuem significado clínico, uma parte não negligenciável destas variantes podem impor implicações médicas importantes tanto para o probando quanto para seus familiares. Variantes desta natureza são intituladas “achados secundários” (Watson, 2015).

Desta forma, o Colégio Americano de Genética Médica e Genômica (ACMG) destacou, em um primeiro momento (Green et al., 2013), 57 genes cujas variantes estão associadas a um risco aumentado de desenvolvimento de patologias ditas como acionáveis (i. e., passíveis de intervenção precoce de fenótipos que representam grande risco para o futuro, mas que ainda não se manifestaram). Trata-se de uma lista que é atualizada anualmente, sendo que a versão mais recente contempla 84 genes (Lee et al., 2025).

Atualmente, a recomendação é de que seja comunicado aos pacientes, durante processo de consentimento informado, sobre a análise deste conjunto de genes, havendo a possibilidade de recusa parcial ou total de análise (Roche e Berg, 2015).

1.3.3 Condições concomitantes

O crescente uso de tecnologias de NGS, especialmente o sequenciamento de exoma em contexto clínico, revelou que indivíduos com duas ou mais condições genéticas concomitantes são mais comuns do que se antecipava, com uma prevalência reportada, em estudos empregando WES, em uma taxa que varia de 1% a 15% (Farwell et al., 2015; Posey et al., 2016, 2017; Balci et al., 2017; Trujillano et al., 2017). A co-ocorrência de duas ou mais condições monogênicas, por exemplo, pode resultar em um fenótipo "misto" ou dar origem a manifestações completamente novas de condições que, se apresentadas isoladamente, seriam relativamente fáceis de reconhecer. Esse cenário, portanto, representa mais um fator que pode levar a diagnósticos errôneos, já que o fenótipo pode ser incorretamente interpretado como decorrente de uma única condição.

1.3.4 A importância do diagnóstico molecular

Existe uma forte correlação entre a gravidade da deficiência intelectual e a taxa de mortalidade em indivíduos afetados (Bittles et al., 2002). Assim, é crucial enfatizar que a identificação de variantes genéticas associadas ao déficit cognitivo pode ter um impacto positivo considerável no diagnóstico. Esse conhecimento pode levar a um melhor entendimento das condições e necessidades específicas de cada paciente, à detecção de possíveis complicações, à aplicação de cuidados e tratamentos personalizados, ao aumento da qualidade e expectativa de vida, além de oferecer aconselhamento genético apropriado e possibilitar o planejamento familiar (Tomic et al., 2017; Harripaul et al., 2017).

1.4 Objetivos

1.4.1 Geral

Investigar, empregando análise de exoma, a etiologia da deficiência intelectual sindrômica em indivíduos 46,XY.

1.4.2 Específicos

- 1) Realizar o sequenciamento completo de exoma em pacientes com cariótipo 46,XY acometidos com DI-sindrômica;
- 2) Realizar uma descrição detalhada do fenótipo dos probandos;
- 3) Analisar e interpretar os dados adquiridos em busca de variantes de potencial patogênico.

2. METODOLOGIA

2.1 Aspectos éticos

Este trabalho está integrado ao projeto de nome “Investigação da etiologia genética da deficiência intelectual síndrome”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, número CAAE 84001517.8.0000.5558 (anexo 1). Sob informação dos objetivos e metodologias do projeto de pesquisa assim como manutenção do sigilo de identidade, os pacientes recrutados (ou seus responsáveis, para aqueles menores de idade ou incapacitados) foram convidados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE.

2.2 Seleção de pacientes

Neste trabalho foram avaliados, via sequenciamento de exoma completo, um total de 16 pacientes acometidos com DI-sindrômica atendidos no Ambulatório de Genética Clínica do Hospital Universitário de Brasília (HUB) que aceitaram participar por meio da assinatura de TCLE (anexo 2).

Critérios de inclusão:

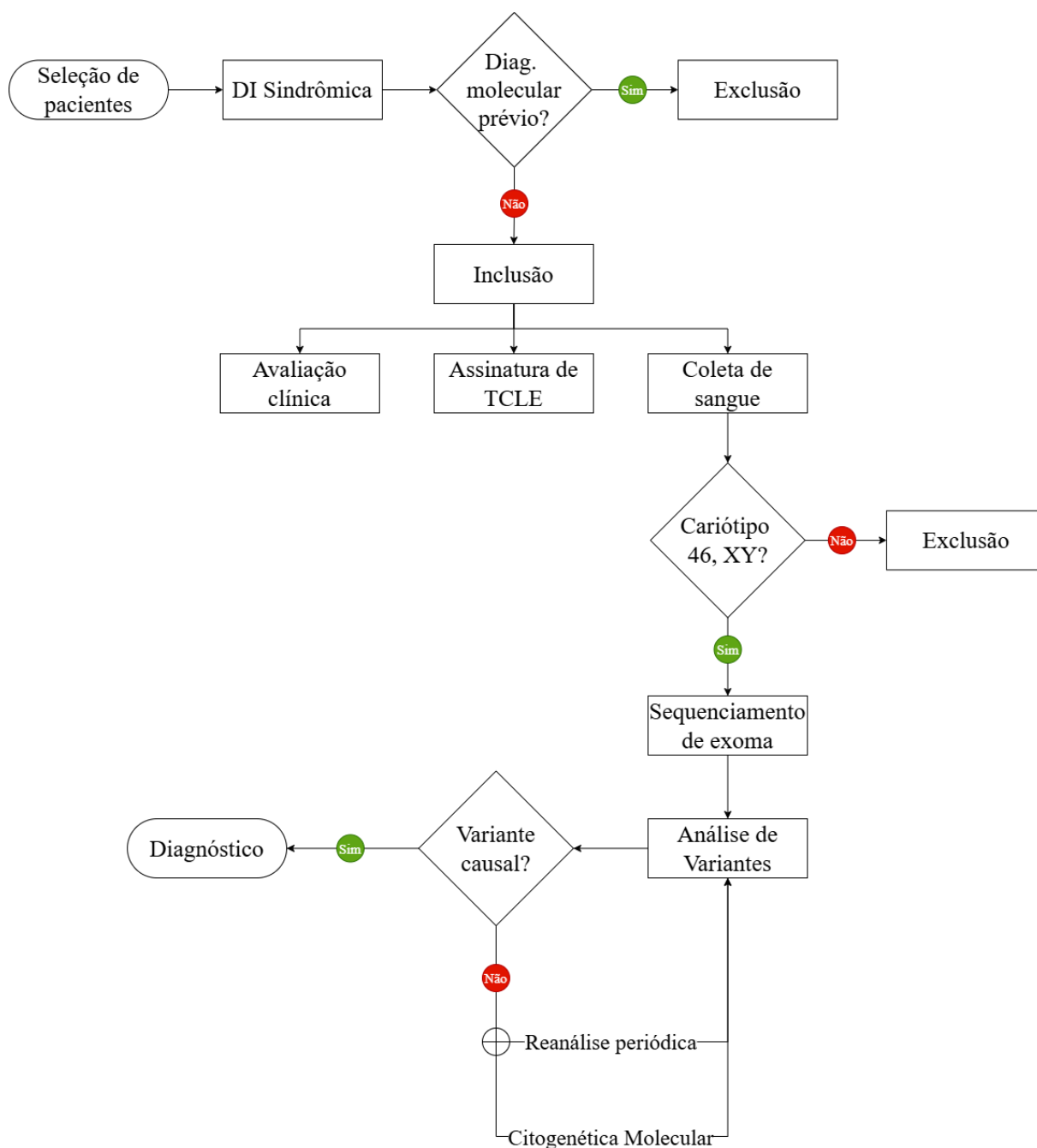
Indivíduos com cariótipo 46,XY, sem alterações numéricas e/ou estruturais, apresentando deficiência intelectual síndrome sem diagnóstico genético estabelecido.

Critérios de exclusão:

Pacientes com DI não-sindrômica ou aqueles com DI-sindrômica com etiologia definida por exames citogenéticos e/ou moleculares prévios, ou ainda aqueles que se suspeita que a etiologia possua natureza ambiental.

A figura 3 ilustra o fluxograma de análise utilizado neste trabalho.

Figura 3. Fluxograma de análise.



Fonte: Feito pelo autor empregando o *software* draw.io.

2.3 Extração e quantificação de DNA

Após a assinatura do TCLE, realizou-se a coleta de sangue periférico. As amostras ficaram armazenadas em freezer a uma temperatura de -20°C até o momento da extração de DNA, realizada segundo protocolo adaptado do kit comercial *Gentra Purigene Blood kit* (<https://www.qiagen.com>). O procedimento consistiu na lise celular com detergente à

presença de um estabilizador de DNA, precipitação de proteínas e contaminantes, seguida precipitação de DNA em isopropanol 100%, remoção dos resíduos com etanol 70% e diluição do DNA em TE 1X (ou água milli-Q). Uma vez extraído, o DNA passou por uma análise quanti- e qualitativa, empregando o sistema *NanoDrop*TM 2000, espectrofotômetro da marca Thermo Scientific.

2.4 Sequenciamento completo de exoma

As amostras de DNA selecionadas para o exame de sequenciamento completo de exoma (WES) foram enviadas para a empresa *Genesis Genomics*, com sede em São Paulo, Brasil. De antemão ao processamento, as amostras passaram por um teste de qualidade interno da empresa e as amostras qualificadas seguiram para a etapa de construção da biblioteca. A metodologia de sequenciamento empregada foi a Illumina NGS. Esta tecnologia utiliza o método “baseado em terminador reversível” (traduzido de *reversible terminator-based*), que consiste em detectar bases únicas ao passo que são incorporadas às fitas-molde de DNA. Finalizada esta etapa de sequenciamento, o sequenciador Illumina utiliza um *software* de controle em tempo real (RTA - *real time analysis*), gerando o arquivo binário BCL (*base call* - chamada de base). Estes arquivos, por sua vez, foram convertidos para o formato FASTQ empregando o pacote Illumina bc12fastq e enviados pela empresa.

2.4.1 Análise dos exomas

A análise dos dados foi realizada na plataforma *online* Franklin da Genoox (<https://franklin.genoox.com> - Franklin by Genoox). O *software* conta com um mecanismo de filtragem e interpretação de variantes baseado em inteligência artificial (IA), o qual fundamenta sua análise em uma miríade de fontes robustas e atualizadas com a literatura, tais como bancos de dados públicos e internos. Ademais, fazendo uso de informações como classificação da variante, segregação familiar, modelo de herança e associação do genótipo com o quadro clínico, a plataforma é capaz de indicar variantes possivelmente causais. Desta maneira, a análise dos dados foi subdividida em três etapas:

- I. Análise das variantes destacadas automaticamente pela plataforma;

- II. Adição de painel de DI concomitantemente a aplicação de filtros a fim de restringir o rol de variantes candidatas;
- III. Emprego de parâmetros de menor restrição com a finalidade de aumentar o número de variantes potencialmente causais, mantendo o painel de DI.

O quadro 1 contém detalhamento suplementar referente às 2ª e 3ª etapas.

Quadro 1. Filtros e parâmetros empregados para análise do exoma.

Filtros	2ª Etapa	3ª Etapa
	Parâmetros	Parâmetros
Fenótipos	DI, específico à clínica	DI
Classificação	PA, PP, VUS	PA, PP, VUS
Painel	DI ¹ , específico à clínica	DI
Região	Exônica, doador de splicing (+2), receptor de splicing (-2), região de splicing ($\pm 3 > 10$)	Exônica, doador de splicing (+2), receptor de splicing (-2), região de splicing ($\pm 3 > 10$)
Efeito	De sentido trocado, ganho de parada, perda de parada, perda de início, ganho de início, mudança de quadro de leitura, sem mudança de quadro de leitura, outro	De sentido trocado, ganho de parada, perda de parada, perda de início, ganho de início, mudança de quadro de leitura, sem mudança de quadro de leitura, outro
Frequência	Frequência agregada: N / A, Muito Raro, ExAC ² (Todos): N / A, Muito Raro	Frequência agregada: N / A, Muito Raro, ExAC (Todos): N / A, Muito Raro
	Frequência Interna: N / A, Muito Raro, Raro	
Confiança	Média, alta	Baixa, média, alta
Zigossidade	-	Homozigoto, heterozigoto

Fonte: Adaptado de LIMA, 2022.

¹ Lista de genes do painel de DI está disponível em <<https://panelapp.genomicsengland.co.uk/panels/285/>>.

² ExAC - *Exome Aggregation Consortium*, disponível em <<https://gnomad.broadinstitute.org>>.

2.5 Busca por alterações cromossômicas por microarranjo

A análise cromossômica por microarranjo foi utilizada como método confirmatório para o paciente 12. Trata-se de uma técnica molecular utilizada para a triagem do genoma e investigação de alterações cromossômicas estruturais submicroscópicas (microdeleções e microduplicações). Com o emprego da técnica é possível também identificar a perda de heterozigose e elevado grau de mosaicismo. A plataforma CytoScan™ 750k (Affymetrix) foi utilizada.

A metodologia consiste na utilização de sondas (oligonucleotídeos) de sequência previamente conhecida dispostas em um *microchip*. Os chips CytoScan™ 750k apresentam cerca de 750 mil sondas: 550 mil não *polimórficas*, que permitem uma análise em alta resolução de CNVs; e 200 mil sondas *polimórficas*, o que proporciona a análise de SNPs.

O DNA extraído foi normalizado para uma concentração de 50 ng/μL, para isso foi diluído em *Low EDTA TE buffer*. O DNA diluído passou uma etapa de digestão, com a enzima de restrição *Nsp I*, seguido da ligação de adaptadores pela enzima *T4 DNA Ligase*. Os primers universais se anelam aos adaptadores durante a etapa posterior de amplificação (PCR) dos fragmentos obtidos. Após a etapa de PCR, o produto amplificado foi capturado com o uso de esferas magnéticas e purificado com tampão de purificação. Em seguida as amostras amplificadas foram quantificadas no espectrofotômetro *Nanodrop® 2000* (*Thermo Scientific*, EUA), fragmentadas e marcadas com biotina. Posteriormente, para a etapa de hibridação, 200 μL de cada amostra foram depositados no *GeneChip®*, e estes incubados a 50° C por 16-18h à 60 rpm. Após a hibridização, os chips foram lavados na estação automatizada *Fluidics Station 450* (Affymetrix, EUA) e marcados com fluoróforo. Os chips foram analisados utilizando o scanner *GeneChip® Scanner 3000 7G* (Affymetrix) e os dados obtidos foram analisados utilizando o *Chromosome Analysis Suite* (ChAS) *Software* (Affymetrix).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seguindo os critérios de inclusão, todos os 16 pacientes contemplados neste estudo são indivíduos 46,XY com DI-S, os quais não obtiveram diagnóstico molecular/citogenético à priori da realização do sequenciamento completo de exoma.

3.1 Resultados gerais

A taxa de sucesso diagnóstico para DI obtida neste estudo foi de 62,5% (10/16). O padrão de herança predominante foi AD (8/10; 80,0%) com o tipo de variante prevalente sendo as de sentido trocado (4/10; 40,0%). O quadro 2 resume os resultados individuais de cada caso índice e o quadro 3 ilustra os achados secundários reportados.

Quadro 2. Sumário dos resultados obtidos para deficiência intelectual.

Nº do paciente	Gene/região	Zigose	Variante	Consequência	Class.	Herança	Cob.	Fenótipo associado
1	<i>ST3GAL3</i> (OMIM* 176270)	Hom	c.1060C>T	Ganho de parada	PP	AR	108 (1,00)	1. Encefalopatia epilética e do desenvolvimento 15 (OMIM# 615006); 2. Distúrbio de desenvolvimento intelectual, AR 12 (OMIM# 611090).
2	<i>POGZ</i> (OMIM* 614787)	Het	c.3022C>T	Ganho de parada	PP	AD	107 (0,43)	1. Síndrome de White-Sutton (OMIM# 616364).
3	<i>PHF6</i> (OMIM* 300414)	Hem	c.835-5T>G	Região de splicing	VUS	LX LXR	73 (1,00)	1. Síndrome de Borjerson-Forssman-Lehmann (OMIM# 301900).

4	<i>FOXC2</i> (OMIM* 602402)	Het	c.1258C>T	Ganho de parada	PP	AD	500 (0,46)	1. Síndrome de linfedema com distiquíase (OMIM# 153400); 2. Síndrome de linfedema-distiquíase com doença renal e diabetes mellitus (OMIM# 153400).
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	<i>CLTC</i> (OMIM* 118955)	Het	c.1226_1229del	Frameshift	PP	AD	261 (0,45)	1. Distúrbio de desenvolvimento intelectual, AD, 56 (OMIM# 617854).
8	<i>ARID1B</i> (OMIM* 614556)	Het	c.4378C>T	Ganho de parada	PA	AD	108 (0,46)	1. Síndrome de Coffin-Siris, 1 (OMIM# 135900).
9	<i>MAX</i> (OMIM* 154950)	Het	c.179G>A	Sentido trocado	PA	AD	83 (0,61)	1. Susceptibilidade a feocromocitoma, 1 (OMIM# 171300); 2. Síndrome de polidactilia-macrocefalia (OMIM# 620712).
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	<i>ACTB</i> (OMIM* 102630)	Het	c.127G>T	Sentido trocado	PP	AD UN	159 (0,38)	1. Síndrome de Baraitser-Winter, 1 (OMIM# 243310); 2. Síndrome de surdez-distonia, 1 (OMIM# 607371); 3. Trombocitopenia com dismorfias e AD, 8 (OMIM#

								620475).
12	7q36.2-q36.3	Het	3,85Mb_del	-	PA	AD AR	-	1. Síndrome de microdeleção 7q36.2.
13	<i>MAP2K1</i> (OMIM* 176272)	Het	c.199G>A	Sentido trocado	PA	AD UN	204 (0,49)	1. Síndrome cardio-facio-cutânea (OMIM# 615279); 2. Melorreostose isolada em mosaico somática (OMIM# 155950).
14	<i>CDK8</i> (OMIM* 603184)	Het	c.88G>A	Sentido trocado	PP	AD	152 (0,47)	1. Distúrbio de desenvolvimento intelectual com hipotonia e anomalias comportamentais (OMIM# 618748).
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: feito pelo autor. O fenótipo que possui maior sobreposição com o quadro clínico do probando em destaque está marcado em negrito. Class. - classificação; Cob. - cobertura (abaixo do valor da cobertura, encontra-se o balanço alélico entre parêntesis).

Quadro 3. Sumário dos achados secundários reportados.

Nº do paciente	Gene/região	Zigose	Variante	Consequência	Class.	Herança	Cob.	Fenótipo associado
5	<i>CRYAA</i> (OMIM* 123580)	Het	c.347G>A	Sentido trocado	PA	AR AD	178 (0,48)	1. Catarata, múltiplos tipos, 9 (OMIM# 604219).
9	<i>G6PD</i> (OMIM* 305900)	Hem	c.202G>A	Sentido trocado	PP	LX UN	65 (1,00)	1. Deficiência de G6PD (OMIM# 300908).

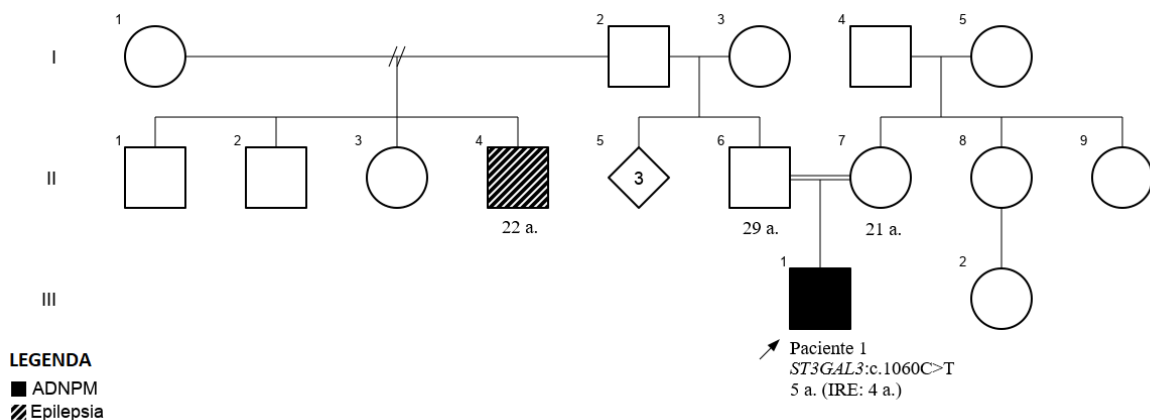
Fonte: feito pelo autor. O fenótipo que possui maior sobreposição com o quadro clínico do probando em destaque está marcado em negrito. Class. - classificação; Cob. - cobertura (abaixo do valor da cobertura, encontra-se o balanço alélico entre parêntesis).

3.2 Resultados individuais

3.2.1 Paciente 1

Trata-se de filho único de casal consanguíneo (primos de terceiro grau; heredograma 1 - fig. 4), mãe com 19 anos e pai com 26 à época do parto, nascido de parto cesárea indicado por deslocamento de placenta com 39 semanas e 2 dias de gestação, com peso de 3505 g (p15-p50), estatura de 47 cm (p3-p15) e com um perímetro cefálico (PC) de 35 cm (p50) (Apgar 9-10). Encaminhado para avaliação genética inicialmente aos 3 anos de idade para avaliação de quadro de hipotonia, atraso no desenvolvimento e convulsões.

Figura 4. Heredograma do paciente 1.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invtiae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e história clínica: evolução aparentemente normal no primeiro ano de vida, sentou-se sem apoio aos 9 meses, levantou-se com apoio aos 12 meses. À mesma época, falava monossílabos para chamar o pai e o avô. À idade de 1 ano e 3 meses, após vacinação (hepatite A e tríplice viral) teve febre e entrou em quadro convulsivo, onde apresentou rigidez muscular e palidez por alguns minutos. Deste momento em diante, o probando apresentou um quadro de crises convulsivas resistentes a medicação, havendo a

necessidade, por várias ocasiões, de mudanças e reajustes de doses de medicamentos. À época da última consulta (3 anos de idade), as crises estavam controladas.

Quanto ao exame físico à idade de 3 anos e 1 mês: antropometria - peso 19,800 kg (>p97), estatura 96cm (p50) e PC 49cm (p25-p50). Postura hipotônica com certa rigidez de extremidades. Testa curta, aparente hipertelorismo ocular, sobrancelhas arqueadas com pilificação extra acima e abaixo da delimitação das sobrancelhas, sinofre. Raiz nasal alta, nariz pequeno, sem ponta, boca entreaberta, rima bucal reta, eversão discreta do lábio inferior, queixo pequeno, dentes espaçados. Pescoço curto, tórax largo, abdome flácido, sem visceromegalias, genitália masculina, testículos na bolsa escrotal, que é levemente hipoplásica. Membros proporcionados e bem alinhados, pregas palmares normais, dedos afilados. Movimentação normal das grandes articulações, mãos com camptodactilia, clinodactilia do 2° e 5° quirodáctilos bilateralmente. Pés pequenos e estendidos.

Exames realizados:

Teste do pezinho (2020): normal;

Triagem auditiva com emissão otoacústica evocada (2020): normal;

Tomografia de crânio (TC - 2021): sem alterações;

Eletroencefalograma (EEG) digital (repetido 2 vezes em 2021): em vigília, normal para a idade;

Exames laboratoriais (hemograma, CPK, glicemia, creatinina, ureia, potássio, sódio, TGP, TGO, DLH - 2021): dentro dos limites da normalidade;

Cariótipo com bandeamento G (2023): 46,XY;

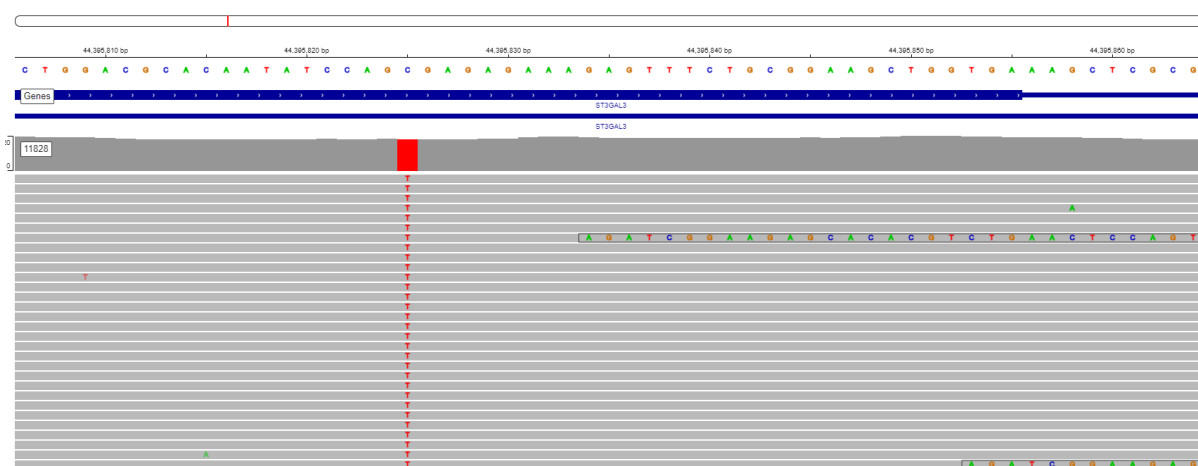
Teste molecular para X frágil (2023): negativo.

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em homozigose no gene *ST3GAL3* (c.1060C>T, p.R354*, rs758301958 - fig. 5), localizado no cromossomo 1p34.1, classificada como provavelmente patogênica, segundo os critérios do ACMG (PVS1 - patogênico forte, variante nula em um gene cuja perda de função é um mecanismo conhecido

de doença e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 108 vezes, com um balanço alélico igual a 1,0.

Figura 5. Variante c.1060C>T identificada em homozigose em comparação ao alelo de referência no gene *ST3GAL3* do paciente 1.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *ST3GAL3* (OMIM* 606494) codifica uma proteína de membrana do tipo 2, a qual catalisa a transferência de ácido siálico de citidina 5' monofosfatase (CPM)-ácido siálico para substratos contendo galactose.

Variantes no gene *ST3GAL3* causam duas condições: 1. Encefalopatia epilética e do desenvolvimento 15 (OMIM# 615006) e 2. Distúrbio de desenvolvimento intelectual 12 (OMIM# 611009), ambas com padrão de herança AR.

O fenótipo 1, dentre outros achados observados em menor frequência, é caracterizado por convulsões de início precoce, acompanhadas de hipotonia, DI, atraso motor e de linguagem, assim como estereotipias (Whitney et al, 2023). Em termos moleculares, Edvardson e colaboradores (2013) relataram que, variantes que ocorram fora do motivo sialil serina altamente conservado e funcionalmente importante no gene, podem resultar em um fenótipo mais brando (fenótipo 2), caracterizado por DI-NS de severidade leve a moderada associada a outros achados menores (Edvardson et al., 2013).

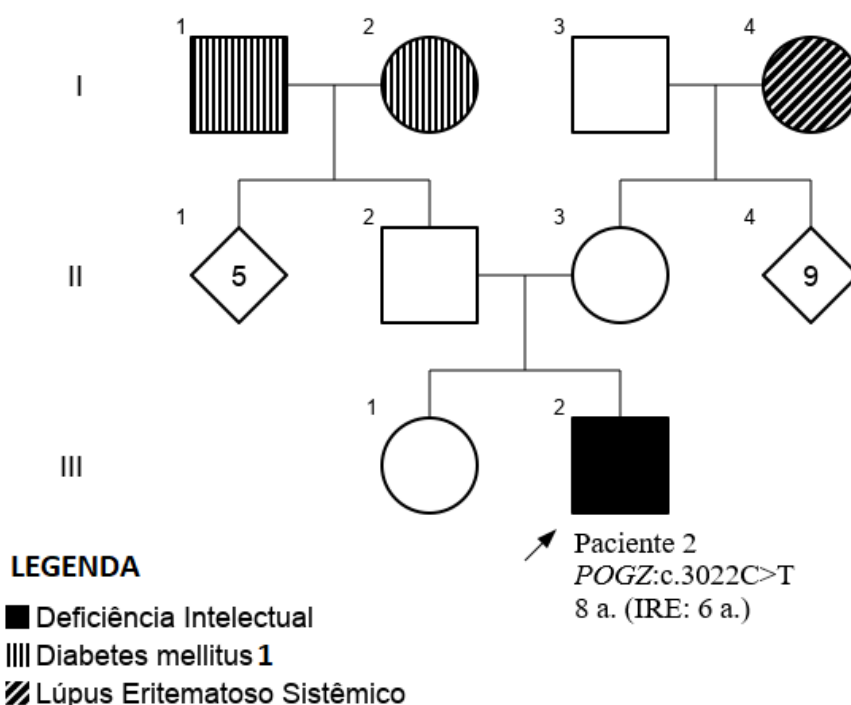
O domínio sialiltransferase na proteína codificada pelo gene *ST3GAL3* se estende da posição 152 à posição 404 (Interpro - EMBL-EBI), desta maneira, ao considerar a classificação da variante, a modificação na proteína resultante (p.354), bem como o quadro

apresentado, pode-se considerar o diagnóstico de encefalopatia epiléptica e do desenvolvimento 15.

3.2.2 Paciente 2

Trata-se do segundo filho de casal não-consanguíneo (heredograma 2 - fig. 6), mãe com 19 anos e pai com 22 à época do parto, nascido de parto normal à idade gestacional de 39 semanas e 4 dias, com peso de 3120 g (p15-p50), estatura de 48,05 cm (p3-p15) e com PC de 23,5 cm (<p3) (Apgar 9-10). A mãe relatou infecção no trato urinário (ITU) no terceiro trimestre de gestação. Encaminhado para avaliação genética aos 5 anos de idade por apresentar quadro de atraso cognitivo, hipotonia, microcefalia e ataques paroxísticos.

Figura 6. Heredograma do paciente 2.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e história clínica: andou aos 17 meses e apresentou linguagem discernível aos 24 meses. Em consultas periódicas no serviço de Unidade Básica de Saúde (UBS), o médico constatou PC persistentemente abaixo dos valores de referência para idade - solicitou TC de crânio. A mãe relata que o filho é agitado e agressivo. Fala atrasada, forma frases, mas quase não se entende o que diz; apresentava crises de ausência uma a duas vezes por dia, com duração de segundos, iniciadas desde o nascimento. Com o crescimento da criança, observou-se melhora: as crises passaram a acontecer uma vez a cada 2 dias. Agitação e dificuldade para iniciar o sono, com despertares noturnos - houve melhora com administração de medicação fitoterápica. Eliminações fisiológicas e preservadas, se alimenta com certa restrição. À idade escolar, frequenta escola regular com dificuldade, reconhece letras e números, mas não sabe escrevê-los, conta até três.

Quanto ao exame físico (à idade de 5 anos): antropometria - peso 16,7 kg (p15-p50), estatura de 103,5 cm (p15-p50) e PC de 47 cm (<p3). Cabelos lisos e abundantes, perfil facial algo aplanado, órbitas oculares rasas, glabella achatada, sobrancelhas arqueadas, nariz curto, lábios grossos, mordida cruzada, orelhas de aspecto e implantação normais. Membros proporcionados e bem alinhados, mãos pequenas com encurtamento bilateral do 5º quirodáctilo, sem alterações nas pregas palmares. Coluna alinhada, ausência de cova sacral. Mancha café-com-leite no dorso, com 2,5 cm no maior diâmetro. Genitália masculina típica, com testículos na bolsa escrotal, a qual apresenta discreta hipoplasia, hálux alargado.

Exames realizados:

Tomografia computadorizada de crânio (TC - 2019): normal;

Raio-X de mãos e punhos (à idade de 3 anos e 3 meses - 2021): idade óssea compatível com 3 anos;

Eletroencefalograma (EEG) digital (2022): presença de elementos fisiológicos do sono em distribuição normal durante todo o traçado, não se evidenciam paroxísticos anormais durante o exame;

Ressonância magnética de encéfalo (2022): desproporção crânio-facial, com discreto predomínio de face, área de hipersinal em T2 e FLAIR, localizadas na substância branca peritrigonal bilateral, que podem estar relacionadas a áreas de mielinização terminal;

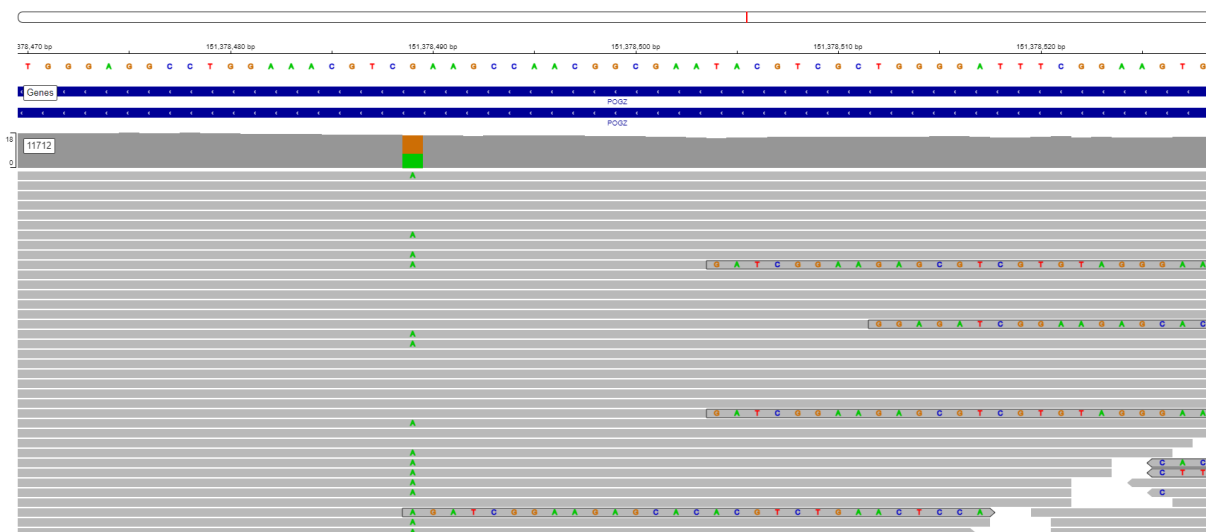
Cariótipo com bandeamento G (2022): 46,XY;

Teste molecular para síndrome de X-frágil (2022): negativo.

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *POGZ* (c.3022C>T, p.R1008*, rs1085307702 - fig. 7), localizado na posição 1q21.3, classificada como provavelmente patogênica segundo os critérios do ACMG (PS4 - patogênico moderado, para fenótipos dominantes raros, os quais se manifestam em indivíduos afetados, enquanto são extremamente raros na população ou a prevalência da variante é significativamente maior em indivíduos afetados quando em comparação a indivíduos controle; PVS1 - patogênico muito forte, variante nula em um gene cuja perda de função é mecanismo conhecido de doença e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 107 vezes, com balanço alélico igual a 0,43.

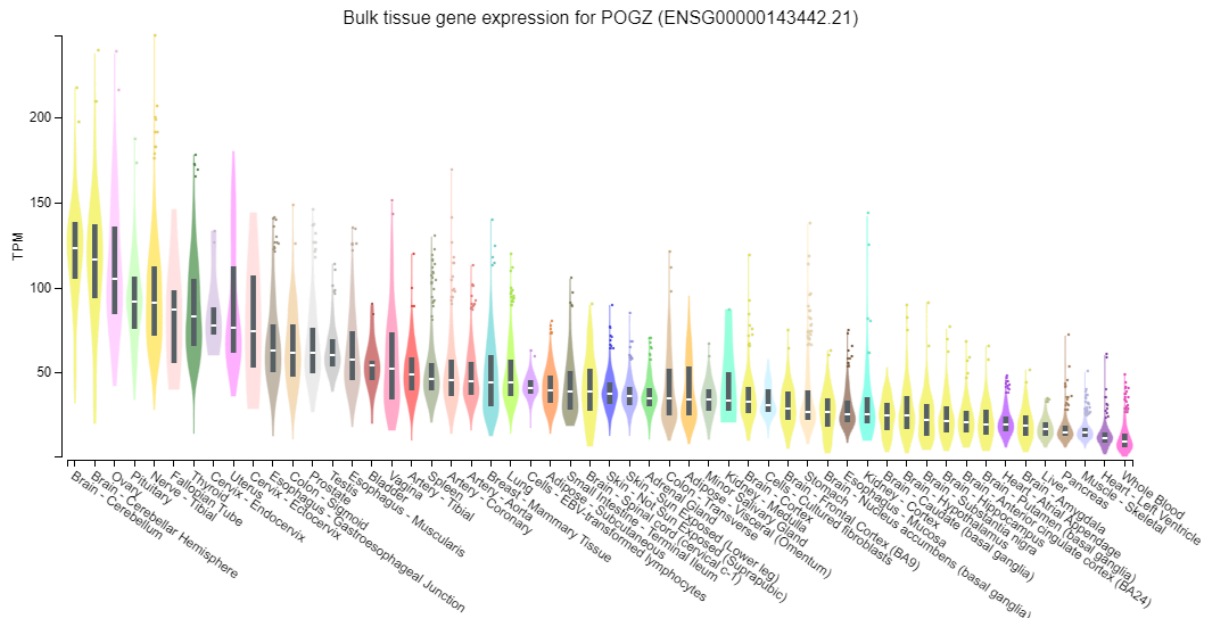
Figura 7. Variante c.3022C>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *POGZ* do paciente 2.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

A função do gene *POGZ* (OMIM* 616364) não é bem estabelecida, mas a proteína que lhe é codificada aparenta ser do tipo dedo de zinco, contendo um domínio transposase na porção C-terminal. O gene apresenta uma expressão elevada no cérebro (em especial no cerebelo e no hemisfério cerebelar), como ilustrado pela figura 8.

Figura 8. Padrão de expressão do gene *POGZ* em diferentes tecidos.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* GTEx Analysis Release, V8. TPM - transcritos por milhão.

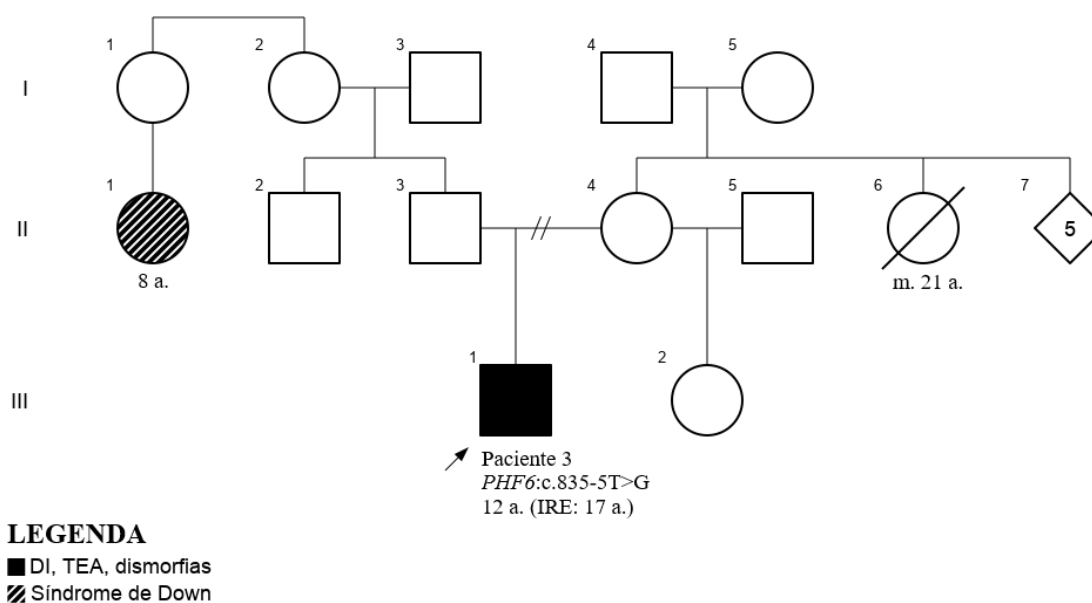
Variantes no gene *POGZ* causam uma condição: 1. Síndrome de White-Sutton (OMIM# 616364), cujo padrão de herança é AD.

A síndrome de White-Sutton (também denominada como Síndrome de deficiência intelectual, microcefalia, estrabismo e distúrbios de comportamento) é caracterizada por atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, hipotonia, dismorfias faciais, surdez neurossensorial, deficiência visual, frouxidão ligamentar e dificuldade de alimentação. Além disso, um número significativo de indivíduos afetados apresenta transtorno do espectro autista (TEA), crises convulsivas e distúrbios de sono (Batzir et al., 2021). Quanto à natureza das variantes, destacam-se aquelas que resultam na formação de proteínas truncadas (como o ganho de parada observado na amostra do probando: p.R1008*), fomentando patogênese por um mecanismo de perda de função (Batzir et al., 2021). Dessa forma, ao considerar a sobreposição fenotípica significativa com o quadro do caso índice, é razoável assumir que essa variante seja a causa do quadro clínico do paciente.

3.2.3 Paciente 3

Trata-se de filho único de casal não-consanguíneo (heredograma 3 - fig. 9), mãe com 18 anos e pai com 26 à época do parto, nascido de parto normal à idade gestacional de 37 semanas, com peso de 2,380 g (<p3), estatura de 46 cm (p3-p15) e PC de 34 cm (p15-p50), Apgar 6-8 (PIG - pequeno para idade gestacional), permanecendo na maternidade por 4 dias. Mãe referiu hiperêmese durante toda a gestação, assim como ITU no primeiro trimestre. Ademais, a mãe também relatou que, após aproximadamente 10 dias depois da alta, retornou ao hospital, pois o probando não estava conseguindo sugar o leite materno adequadamente e não estava ganhando peso, ficando internado por cerca de um mês. Encaminhado para o serviço de genética aos 8 anos de idade por apresentar DI, comportamento autista, dismorfias faciais e crises convulsivas.

Figura 9. Heredograma do paciente 3.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora: sentou-se sem apoio aos 2 anos, andou aos 3 anos, falou as primeiras palavras com 5 anos e formou frases aos 8 anos. Começou a frequentar escola com 6 anos, à priori, em sala normal, sendo posteriormente integrado em sala reduzida com monitoria. À época da primeira consulta (8 anos e 8 meses), se confunde com as cores, conhece apenas as letras de seu próprio nome, não escreve, não conhece os números, mas

possui certa noção de quantidade (com números baixos). É agitado (faz uso de Risperidona) e auto-agressivo quando contrariado; é hetero-agressivo somente com a irmã. Brinca funcionalmente, mas prefere fazê-lo sozinho, eventualmente com a irmã. Não tem noção de perigo, não tem apego a rotinas, mas é ansioso. Tem movimentos estereotipados de mãos. Tem crises convulsivas desde os 5 anos, parcialmente controladas com medicação (Carbamazepina e Depakene), cerca de uma crise por mês.

Quanto ao exame físico (à idade de 8 anos e 8 meses): antropometria - peso 27,6 kg (p25-p50), estatura 134 cm (p50-p75) e PC de 51,6 cm (p2-p50). Implantação de cabelos discretamente mais baixa na fronte. Assimetria facial (direita>esquerda), sinofre, fendas palpebrais retas, epicanto bilateral, aparente telecanto, raiz nasal alta, ponta facial achatada e narinas antevertidas, filtro nasolabial liso, lábios finos, palato alto, mordida cruzada, prognatismo, orelhas grandes e de implantação normal. *Pectus excavatum* discreto, abdome sem visceromegalias. Bolsa testicular enrugada e pigmentada, porém hipoplásica. Escroto em cachecol, testículos diminuídos de tamanho (aproximadamente 0,5 cm), pênis de 4,5 cm (p10). Sem alteração nas pregas palmares, 5º quirodáctilo encurtado e com clinodactilia bilateralmente, 5º pododáctilo com hipoplasia ungueal bilateralmente.

Exames realizados:

EEG (2x - 2017 e 2021): em vigília normal para a idade;

Doppler transcraniano (2020): normal;

Avaliação neuropsicológica (2021): impressão diagnóstica de DI moderada;

Ultrassonografia (USG) renal (2022): normal;

USG de bolsa testicular (2022): criptorquidia bilateral, testículos de tamanho normal, localizados no canal inguinal;

Cariótipo com bandeamento G (2022): 46,XY;

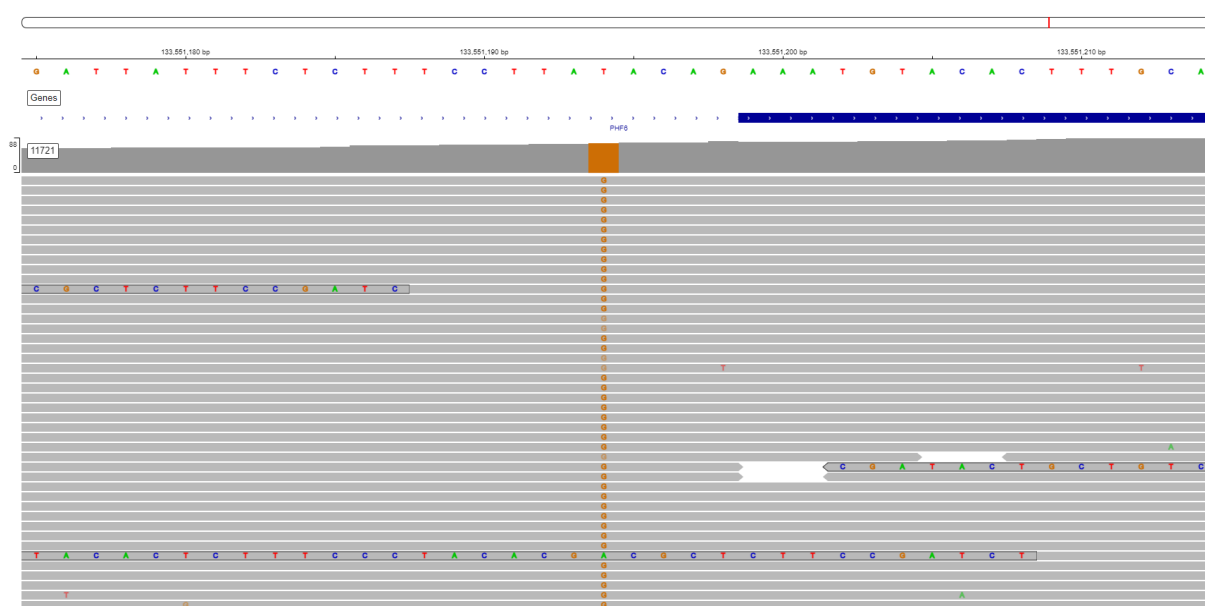
Teste molecular para síndrome de X-frágil (2022): negativo.

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em hemizigose no gene *PHF6* (c.835-5T>G - fig. 10), localizado na posição Xq26.2, classificada como de significado

incerto segundo os critérios da ACMG (PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados e PP3 - patogênico moderado, para uma variante de sentido trocado ou em região de *splicing*, ferramentas de predição computacional unanimemente suportam efeito deletério no gene). A variante foi lida 73 vezes, com balanço alélico igual a 1,0.

Figura 10. Variante c.835T>G identificada em hemizigose em comparação ao alelo de referência no gene *PHF6* do paciente 3.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *PHF6* (OMIM* 300414) pertence à família dedo PHD-like (*plant homeodomain*) do tipo zinco, indicando, desta forma, que sua função provavelmente reside na regulação transcricional.

Variantes no gene *PHF6* causam uma condição: 1. Síndrome de Borjeson-Forssman-Lehmann (OMIM# 301900), cujo padrão de herança é LXR.

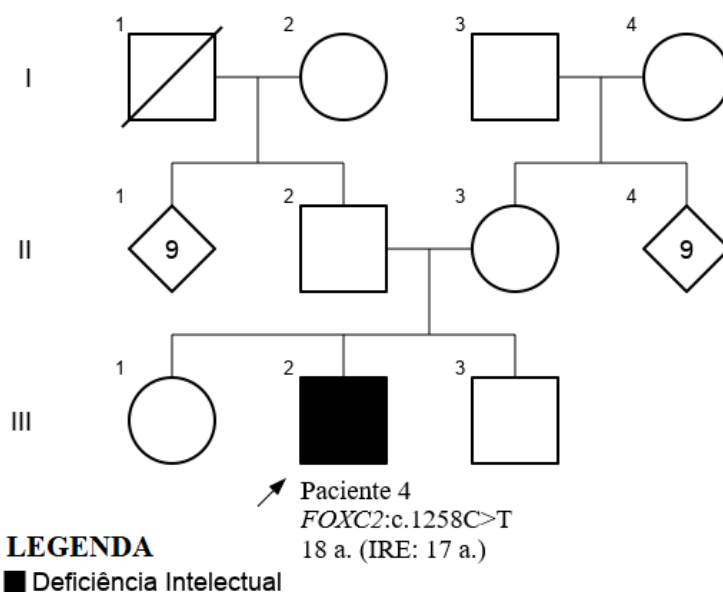
A síndrome de Borjeson-Forssman-Lehmann é caracterizada por manifestações clínicas variáveis, sendo que as mais frequentes consistem em hipotonia, DI de severidade leve a moderada, orelhas grandes e volumosas, genitália subdesenvolvida, ginecomastia, obesidade truncal, dedos afilados e encurtamento de quarto e quinto pododáctilos (Hammed et al., 2023). O mecanismo de patogênese proposto resulta de variantes as quais levam ou a uma redução na expressão do gene correspondente ou a uma diminuição estabilidade da proteína, o

que fomenta, posteriormente, em uma desregulação transcricional de genes envolvidos em processos de neurodesenvolvimento e hematopoiese (Turner et al., 1989). Diversos tipos de variantes foram reportados, mas se destacam aquelas de sentido trocado ou que gerem proteínas truncadas (Hammed et al., 2023). Apesar da classificação inicial da variante (VUS), a concordância com os achados clínicos permite reclassificar a variante como patogênica e, dessa forma, considerá-la como causal.

3.2.4 Paciente 4

Trata-se do segundo filho de casal não-consanguíneo (heredograma 4 - fig. 11), mãe com 32 anos e pai com 31 anos à época do parto, nascido de parto normal à idade gestacional de 9 meses em apresentação cefálica com assistência médica, com peso de 4300 g (>p97) e estatura de 52 cm (p85). Encaminhado ao serviço de genética aos 24 dias de vida por apresentar malformação congênita no couro cabeludo - *cutis vertice girata*.

Figura 11. Heredograma do paciente 4.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e história clínica: marcha aos 18 meses, falou as primeiras palavras pouco antes de começar a andar. Aos 11 anos de idade, passou por cirurgia plástica para correção do quadro de *cutis vertice girata*. Já à idade escolar, a mãe relatou que o probando apresentou dificuldade de aprendizado e que era agitado - neuropediatra que o acompanhava prescreveu Ritalina.

Quanto ao exame físico (24 dias de vida): perfil facial achatado, fendas palpebrais oblíquas para cima, raiz e ponte nasal baixas, nariz sem ponta, filtro nasolabial longo. Rima bucal reta, palato sem alterações. Apresentou extensa área (8,5 cm por 7,0 cm) de excesso de pele na região parietal esquerda, protrusão de sulcos, sem pilificação. Apresentou excesso de pele na região do pescoço e hirsutismo no dorso. Membros bem proporcionados e alinhados, pregas palmares sem alterações, pés normais, genitália masculina típica, testículos tópicos. Diástase de retos abdominais, orelhas com cristas salientes. Em novo exame dismorfológico (aos 17 anos), notou-se: macrocefalia (PC: 62,8 cm (>p97)), implantação baixa dos cabelos na fronte, epicanto inverso e sobrepeso, pescoço largo com pterígio, *pectus excavatum* e macrosomia.

Exames realizados:

TC de crânio (2x - 2007 e 2012): normal, achado incidental - sinusopatia maxilar esquerda;

Ecografia transfontanelar (2007): normal;

Avaliação da função da tireoide (T3, T4 e TSH - 2007): dentro dos limites da normalidade;

EEG (2007): comprometimento cortical e subcortical difuso;

USG de abdome (2007): normal;

Ecocardiografia (2007): persistência do canal arterial (PCA);

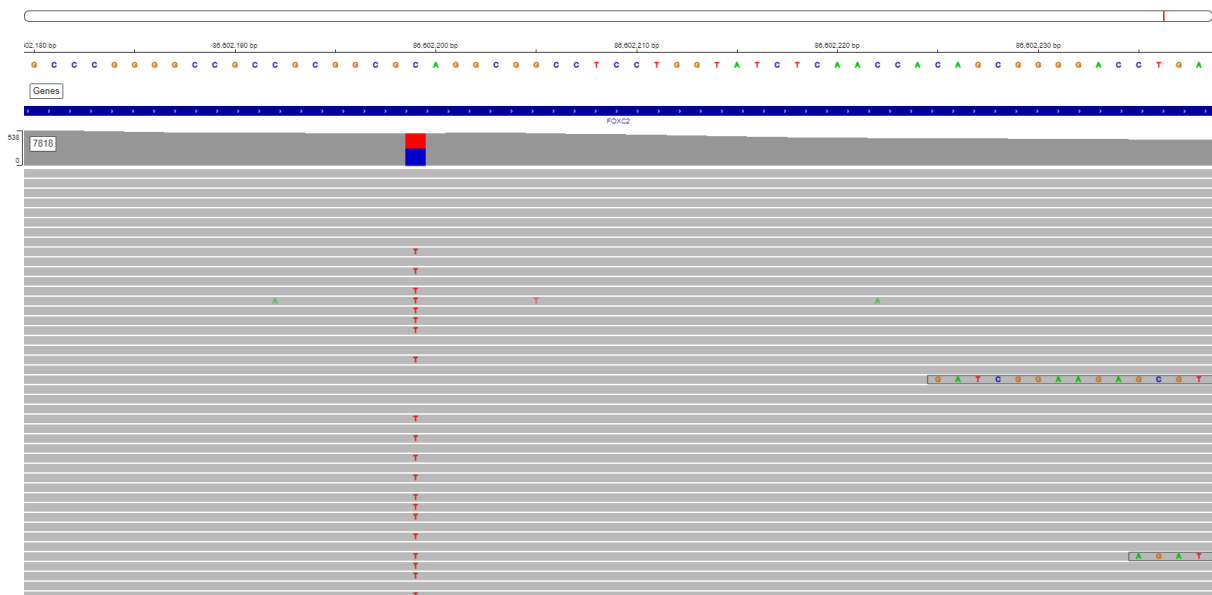
Biópsia de lesão cutânea em couro cabeludo (2012): epiderme sem particularidades, derme papilar apresentando ectasia vascular, ausência de folículos pilosos ou de glândulas sebáceas na amostra, presença de glândulas écrinas de aspecto histológico habitual, não se observam infiltrado inflamatório ou área de fibrose cicatricial na amostra;

Cariótipo com bandeamento G (2007): 46,XY.

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *FOXC2* (c.1258C>T, p.Q420*, rs1567571863 - fig. 12), localizado na posição 16q24.1, classificada como provavelmente patogênica segundo os critérios de ACMG (PVS1 - patogênico muito forte, variante nula em um gene cuja perda de função é mecanismo conhecido de doença; PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados e PP5 - patogênico suporte, fontes confiáveis reportaram recentemente a variante como patogênica mas as evidências não estão disponíveis para avaliação laboratorial independente). A variante foi lida 500 vezes com um balanço alélico igual a 0,46.

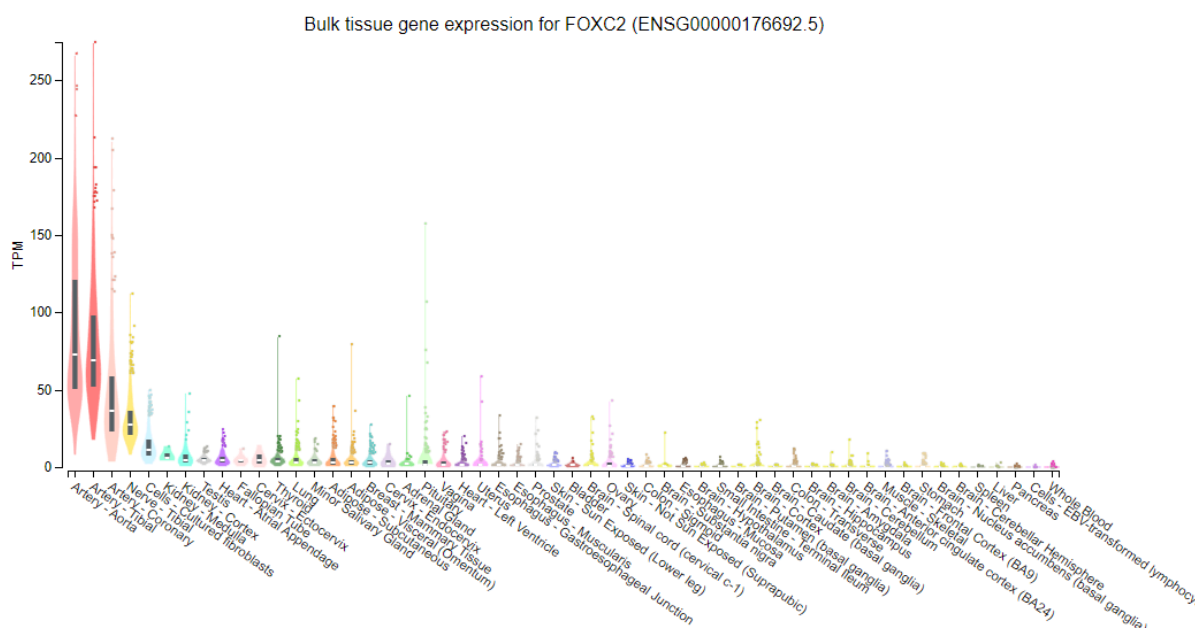
Figura 12. Variante c.1258C>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *FOXC2* do paciente 4.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *FOXC2* (OMIM* 602402) possui função como fator de transcrição, desempenhando um papel crítico no desenvolvimento e funcionamento de tecido mesenquimal. Desta forma, o gene possui expressão aumentada no tecido de válvulas venosas e linfáticas, como ilustrado pela figura 13.

Figura 13. Padrão de expressão do gene *FOXC2* em diferentes tecidos.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* GTEx Analysis Release, V8. TPM - transcritos por milhão.

Variantes no gene *FOXC2* causam duas condições, ambas se manifestando em um padrão de herança AD: 1. Síndrome de linfedema-distiquiase (OMIM# 153400) e 2. Síndrome de linfedema-distiquiase com insuficiência renal e diabetes mellitus (OMIM# 153400).

Os fenótipos 1 e 2 são caracterizados por linfedema (de gravidade variada, que tipicamente se manifesta no final da infância, começo da puberdade, sendo confinada aos membros inferiores, frequentemente assimétrica) e distiquiase, havendo comprimento adicional na função dos rins e desenvolvimento de diabetes no caso do fenótipo 2 (Mansour et al., 2005). Em termos moleculares, estudos funcionais demonstraram que, mutações do tipo sentido trocado que ocorram fora do domínio *forkhead* de ligação ao DNA da proteína correspondente levam a um aumento na atividade transcricional, já mutações inseridas nesta região altamente conservada induzem uma redução na atividade transcricional, o que sugere um mecanismo de patogênese tanto por perda de função quanto por ganho de função (Tavian et al., 2016). A variante *FOXC2*:c.1258C>T foi descrita como causal para o fenótipo 1 (Michellini et al., 2012).

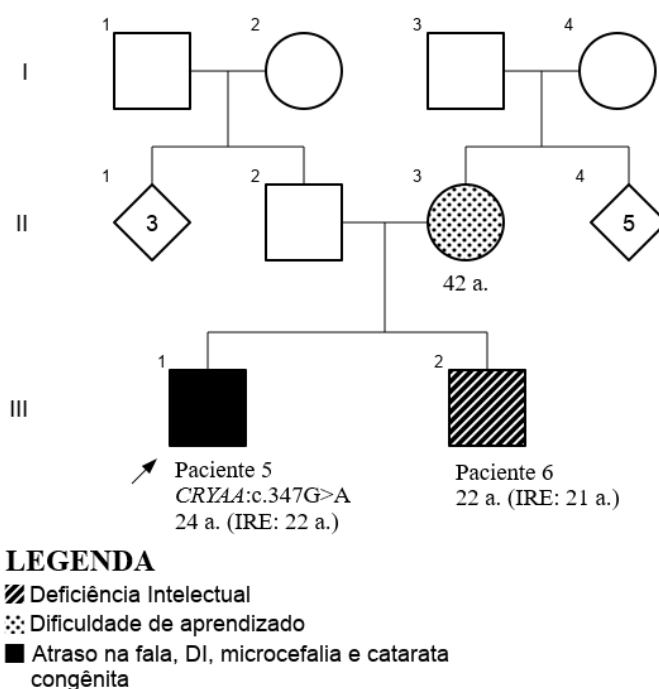
Este achado pode contribuir para compreensão do quadro de *cutis vertice girata* (CVG) congênita, condição caracterizada por espessamento e formação de pregas convolutas no couro cabeludo, o que lhe confere uma aparência similar a circunvoluções cerebrais (Shareef, Horowitz e Kaliyadan, 2019). A CVG pode ocorrer de forma primária ou secundária

e tem sido associada a diversas condições neurológicas, incluindo DI (Shareef, Horowitz e Kaliyadan, 2019). Dessa forma, haja vista a sobreposição fenotípica, bem como a classificação da variante, é razoável assumir que se trata de um achado de significado clínico para o quadro de CVG, o qual pode ser usado, embora de modo indireto, para explicar o quadro de DI.

3.2.5 Paciente 5

Trata-se do primeiro filho de casal não-consanguíneo (heredograma 5 - fig. 14; indivíduo III-1), mãe com 18 anos e pai com 25 à época do parto, nascido a termo de parto normal com peso de 3100 g (p15-p50), estatura de 48 cm (p3-p15) e PC de 34 cm (p15-p50). Encaminhado para o serviço de genética a idade de 10 anos por apresentar quadro de DI e dismorfias. O irmão mais novo (paciente 6 - indivíduo III-2) apresenta quadro de DI, porém com características clínicas distintas.

Figura 14. Heredograma do paciente 5 e do paciente 6.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e histórico clínico: com um mês de idade, foi percebido que o probando não enxergava - foi diagnosticado com catarata bilateral, passando, à idade de 1 ano, por cirurgia. Logo após, outra cirurgia para correção de catarata foi necessária. Atraso de desenvolvimento perceptível, começou a andar aos 3 anos e, à época da consulta (aos 10 anos) não falava, apenas gritava - passou por avaliação auditiva, que foi tida como normal. Apresenta estereotipias de pés, de mãos (*flapping*), de tronco e de cabeça (giro incessante para direita e para esquerda).

Quanto ao exame físico (à idade de 10 anos): antropometria - peso de 28,8 kg (p25-p50), estatura de 1,40 m (p50) e microcefalia com PC de 48,5 cm (<p3). Devido a agitação do probando, não foi possível realizar o exame dismorfológico adequadamente, mas foi possível notar sobrancelhas retas e povoadas, fendas palpebrais longas e levemente oblíquas para cima, raiz nasal plana, ponte nasal baixa, nariz largo, sem ponta, narinas antevertidas, filtro nasolabial pouco marcado, lábios grossos, bochechas cheias, orelhas de implantação normal, mas levemente protusas.

Exames realizados:

Cariótipo com bandeamento G (2011): 46,XY;

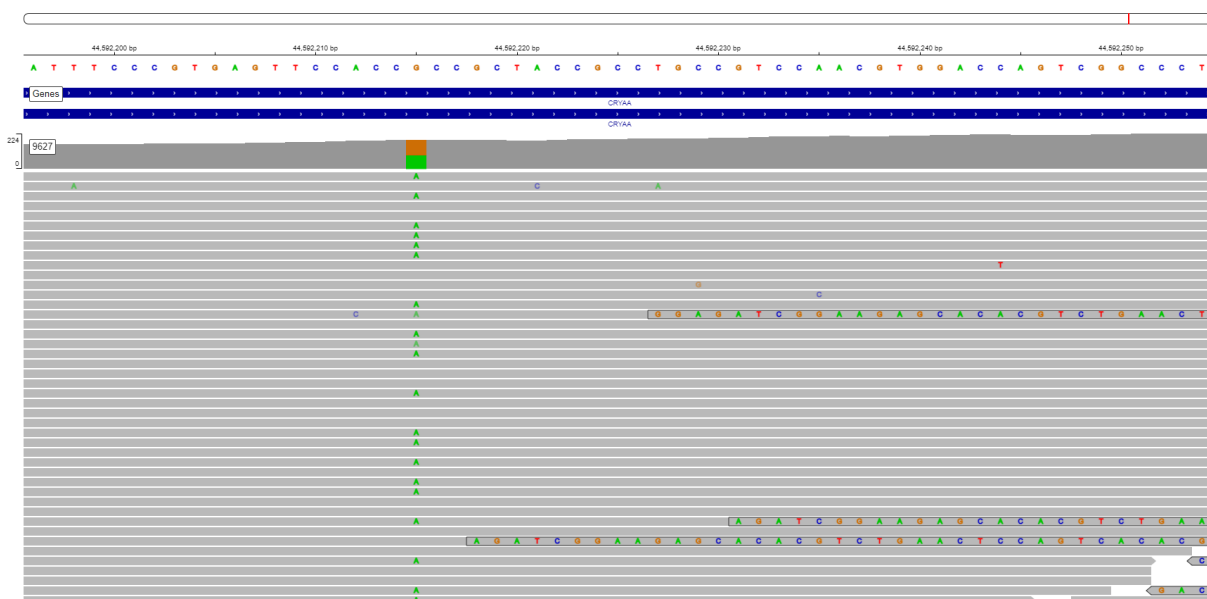
Teste molecular para síndrome de X-frágil (2011): negativo.

Sequenciamento de exoma:

Não foram identificadas variantes patogênicas/provavelmente patogênicas na amostra do probando que, isoladamente, expliquem seu quadro de DI. No entanto, como achado secundário, a análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *CRYAA* (c.347G>A, p.R116H, rs121912973 - fig. 16) localizada na posição 21q22.3, classificada como patogênica (PS4 - patogênico moderado, para fenótipos dominantes raros, os quais se manifestam em indivíduos afetados enquanto são extremamente raros na população ou a prevalência da variante é significativamente maior em indivíduos afetados quando em comparação a indivíduos controle; PP1 - patogênico suporte, co-segregação de

fenótipo em diversos familiares afetados em um gene com nível de evidência definitivo como causa de doença; PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados; PS3 - patogênico forte, estudos funcionais bem estabelecidos demonstram efeito deletério no gene ou no produto gênico; PP3 - patogênico forte, para uma variante de sentido trocado ou em região de splicing, ferramentas de predição computacional unanimemente suportam efeito deletério no gene; PM5 - patogênico moderado - patogênico suporte, mudança para aminoácido diferente como uma variante patogênica conhecida e PP2 - patogênico suporte, variante de sentido trocado em um gene com uma baixa frequência de mutações *missense* benignas e para qual mutações *missense* são um mecanismo comum de doença). A variante foi lida 178 vezes com um balanço alélico igual a 0,48.

Figura 15. Variante c.347G>A identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *CRYAA* do paciente 5.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

Variantes no gene *CRYAA* (OMIM* 123580) causam uma condição: 1. Catarata, múltiplos tipos, 9 (OMIM# 604219), a qual pode se manifestar em padrão de herança AD ou AR.

A variante demonstrada no caso índice foi reportada inicialmente por Richter e colaboradores em uma coorte de 14 indivíduos aparentados com quadro de catarata, onde foi observada segregação de modo AD de uma variante de sentido trocado no gene *CRYAA* (c.347G>A, Arg116His) levando a um desbalanço de cargas em uma região altamente

conservada da proteína correspondente (Richter et al., 2008). Desta maneira, a variante *CRYAA:c.347G>A* explica o quadro de catarata do paciente 5, mas a etiologia genética da DI permanece indeterminada.

3.2.6 Paciente 6

Trata-se do segundo filho de casal não-consanguíneo (irmão do paciente 5; heredograma 5 - fig. 14; indivíduo III-2), mãe com 24 anos e pai com 34 à época do parto, nascido a termo de parto normal com peso de 3100 g (p15-p50) e estatura de 48 cm (p3-p15). Apresentou icterícia e foi tratado com fototerapia, permanecendo na maternidade por 15 dias. Encaminhado para genética pelo serviço de neuropediatria aos 11 anos de idade por apresentar quadro de DI e microcefalia semelhante ao irmão.

Quanto à evolução neuromotora e histórico clínico: andou com idade de 9 meses, primeiras palavras aos 12 meses, controle vesical diurno aos 2 anos, mas limitado. À idade escolar, a mãe relatou que teve dificuldades de aprendizado e que era agitado, aos 11 anos ainda não havia sido alfabetizado. Nos anos seguintes, apresentou melhora no aprendizado, reconhecendo letras, mas não formando sílabas. Houve também uma melhora no comportamento: durante o atendimento, mostrou-se amigável e sociável, interagia bem e mantinha contato visual. Sono e eliminações preservadas, sem restrição alimentar. Durante as consultas, a mãe mostrou certa dificuldade em entender o que lhe era explicado.

Quanto ao exame físico (à idade de 11 anos): antropometria - peso de 34,7 kg (p25-p50), estatura de 141,7 cm (p25-p50) e PC de 50 cm (<p2). Microcefalia, lóbulos anteriorizados, base nasal larga, narinas antevertidas, palato e úvula íntegros, pescoço curto, *pectus excavatum*. Abdome sem visceromegalias, encurtamento bilateral do quinto quirodáctilo, clinodactilia à esquerda do quinto quirodáctilo, genitália masculina, testículos na bolsa escrotal.

Exames realizados:

Cariótipo com bandeamento G (2015): 46,XY;

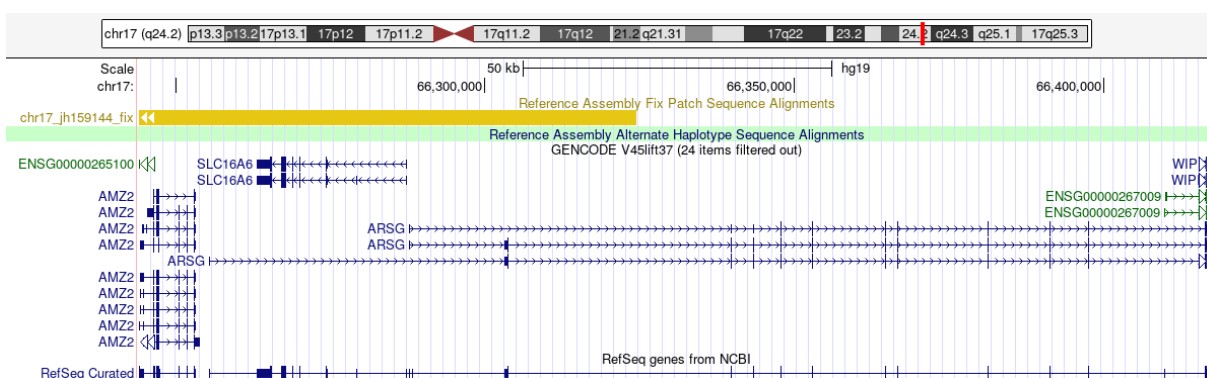
Teste molecular para síndrome de X-frágil (2015): negativo.

RM de encéfalo (2016): normal;

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante estrutural em heterozigose: trata-se de uma deleção de 173,9 kb na posição 17q24.2 (chr 17: 66.244.073-66.417.972 - fig. 16) contemplando 5 genes (*ARSG*, *PRKARIA*, *WIP1*, *AMZ2*, e *SLX16A6* - todos codantes), classificada como patogênica segundo os critérios da ACMG (2A - sobreposição completa de uma região genômica sensível a haploinsuficiência/perda de função).

Figura 16. Deleção de 173,9 kb identificada em heterozigose em relação ao alelo de referência na posição 17q24.2 do paciente 6.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* UCSC Genome Browser on Human (GRCh37/hg19).

Em humanos, é característico do cromossomo 17 uma presença relativamente alta de regiões de duplicação segmentar bem como sequências repetitivas dispersas, o que o torna particularmente suscetível a rearranjos genômicos (Zody et al., 2006). Desta forma, diversas síndromes de microdeleção e microduplicação envolvendo o cromossomo 17 já foram reportadas na literatura.

Apesar da abundância de casos reportados de microduplicação e microdeleção envolvendo o cromossomo 17, cenários específicos envolvendo deleções na banda 17q24.2 são escassos.

Em 2011, Vergult e colaboradores reportaram quatro pacientes nos quais foram identificadas deleções na região 17q24.2. Os casos índices compartilhavam características fenotípicas em comum, como DI, atraso de fala, obesidade truncal, quadro convulsivo, perda auditiva e um gestalt facial particular. Ademais, em dois de quatro pacientes, notou-se

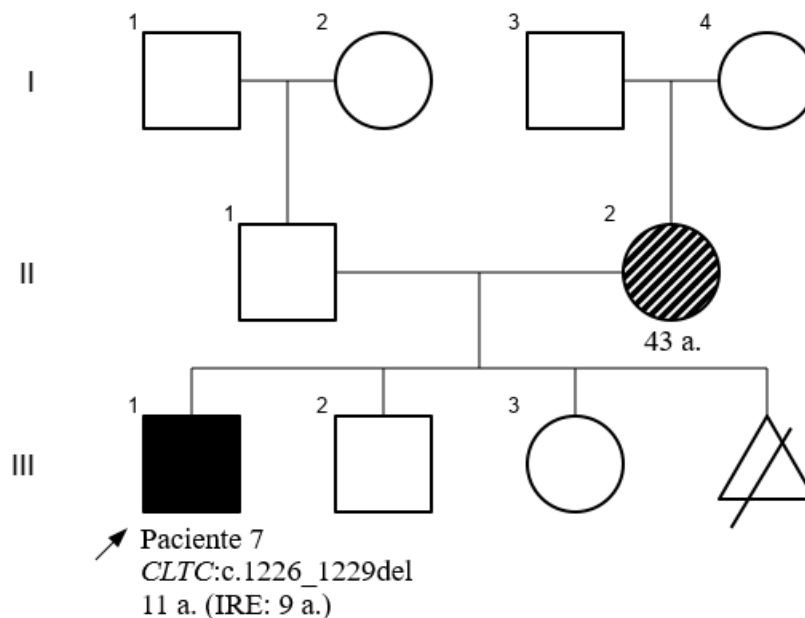
mudanças de humor e alucinações (Vergult et al., 2011). As deleções relatadas variaram quanto a posição e tamanho, sendo a menor de 1,76 Mb e a maior de 4 Mb. A menor região de sobreposição (SRO, do inglês *smallest region of overlap*) foi de 713 kb, contendo 1 microRNA e 5 genes RefSeq: *PRKCA*, *HELZ* e um *cluster* de três genes da família *CACNG*. Os autores postularam que a deleção no gene *PRKCA* poderia ser responsável por várias das características observadas, tais como DI, obesidade truncal, mudança de humor e alucinações.

Apesar de haver sobreposição fenotípica parcial com os casos descritos na literatura, observa-se que o quadro do caso índice é, em comparação, mais leve. Uma divergência no tamanho das variantes também é notável, o que torna a interpretação dificultosa. Dessa forma, não é possível confirmar se a variante é causal para o quadro do paciente. Por nota, o irmão (paciente 5) não apresenta a deleção.

3.2.7 Paciente 7

Trata-se do primeiro filho de casal não-consanguíneo (heredograma 7 - fig. 17), mãe com 32 anos e pai com 35 à época do parto, nascido em apresentação cefálica de parto cesárea (devido a quadro de amniorrexe) à idade gestacional de 39 semanas, com peso de 3545 g (p50-p85), estatura de 52 cm (p50-p85), permaneceu na maternidade por três dias. Encaminhado para avaliação genética aos 5 anos de idade por apresentar quadro de DI, atraso na fala e TEA.

Figura 17. Heredograma do paciente 7.



LEGENDA

- Deficiência Intelectual
- ▨ Dificuldade de aprendizado

Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora: sustentação cefálica aos 3 meses, sentou-se sem apoio aos 8 meses, começou a andar depois dos 2 anos, à mesma época, falou as primeiras palavras, controle vesical e anal tanto diurno quanto noturno ocorreram após os 4 anos de idade. Permaneceu em aleitamento materno até 1 ano de idade, mas com sucção fraca - mãe relatou que a criança era muito calma, se mexia pouco e parecia não ter tônus. À época da primeira consulta, com idade de 5 anos e 7 meses, frequentava escola, mas com dificuldade - não retém o que lhe é ensinado, sabe as cores, não conhece os números, comportamento amigável, até mesmo com estranhos, não apresenta noção de perigo, não se queixa quando se machuca, possui sono agitado, alta seletividade alimentar. É agitado e se irrita com facilidade.

Quanto ao exame físico (à idade de 5 anos e 7 meses): antropometria - peso 24 kg (p90), PC de 55 cm (>p98), distância intercantal interna (DII) = 3,2 cm (p75-p97) e distância intercantal externa (DIE) = 9,5 cm (>p97). Macrocefalia, fronte ampla, aparente

hipertelorismo ocular, fendas palpebrais longas e retas, discreta eversão do terço lateral da pálpebra inferior, epicanto bilateral, raiz nasal alta, nariz curto, sem ponta com base longa, filtro nasolabial curto, bem marcado, boca larga, lábios grossos, evertidos, palato alto, sobremordida, membros proporcionados, pregas palmares normais, hiperextensibilidade articular, pés evertidos, abdome plano, sem visceromegalias, genitália masculina, testículos nas bolsa escrotal.

Exames realizados:

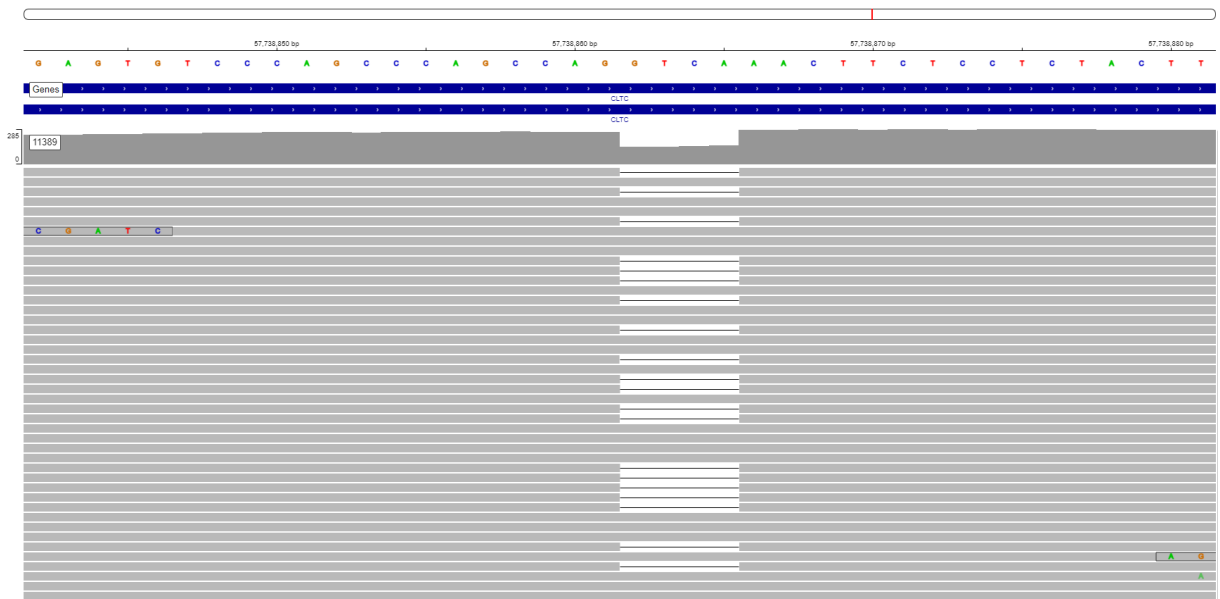
Cariótipo com bandeamento G (2019): 46,XY.

Análise cromossômica por microarranjo (CMA - 2021): não foram detectadas alterações cromossômicas;

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *CLTC* (c.1226_1229del, p.G409Efs*24 - fig. 18), localizado na posição 17q23.1, classificada como provavelmente patogênica segundo os critérios da ACMG (PVS1 - patogênico muito forte, variante nula em um gene cuja perda de função é mecanismo conhecido de doença e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 261 vezes com um balanço alélico igual a 0,45.

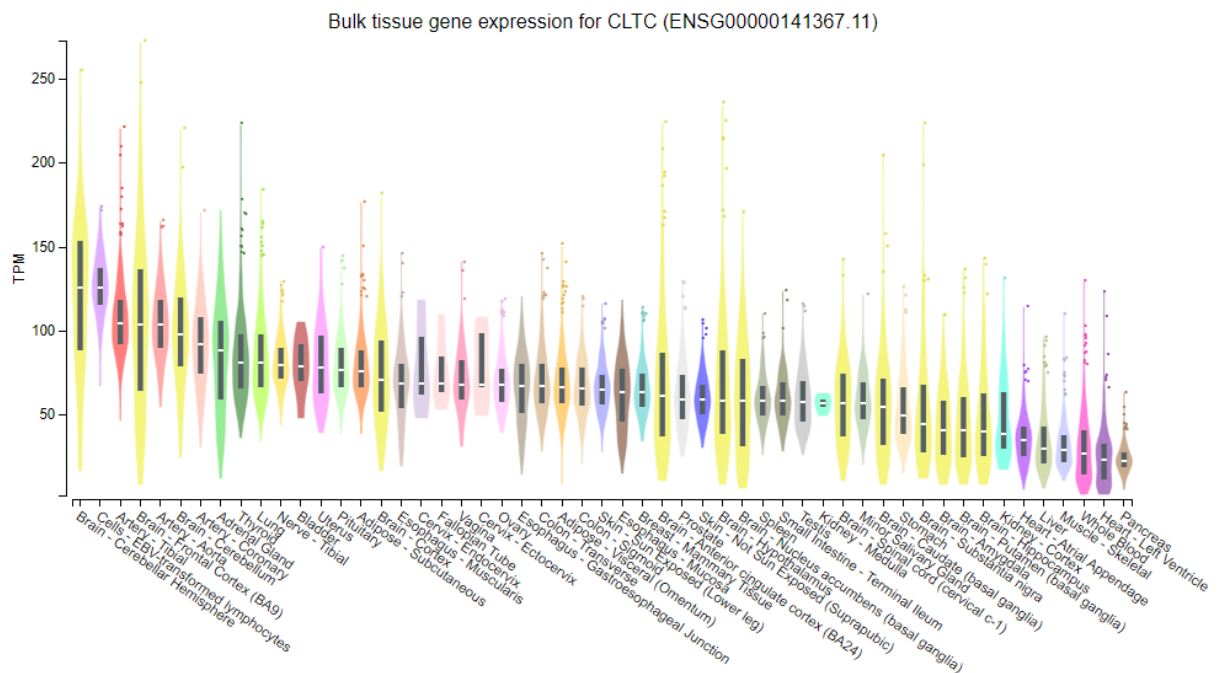
Figura 18. Variante c.1226_1229del identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *CLTC* do paciente 7.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *CLTC* (OMIM*118955) codifica um componente importante na formação de organelas intracelulares. A figura 19 ilustra o padrão de expressão do gene em diferentes tecidos, onde se destaca a expressão no tecido cerebral (em amarelo).

Figura 19. Padrão de expressão do gene *CLTC* em diferentes tecidos.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* GTEx Analysis Release, V8. TPM - transcritos por milhão.

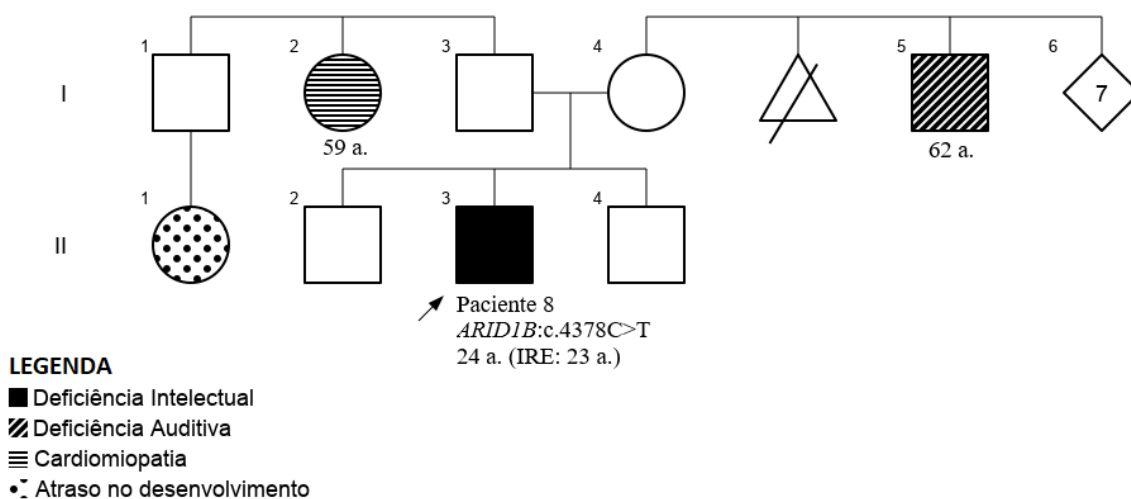
Variantes no gene *CLTC* causam uma condição: 1. Distúrbio de desenvolvimento intelectual, tipo 56 (OMIM# 617854), cujo padrão de herança é AD.

O fenótipo é caracterizado por atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, fala ausente ou severamente limitada, hipotonia e DI. Ademais, alguns indivíduos afetados também manifestam ausência ou limitação de marcha (DeMarie et al., 2016). Em um estudo conduzido por Hamdan e colaboradores (2017) em uma coorte de 12 indivíduos com variantes no gene *CLTC*, notou-se que, aqueles apresentavam crises convulsivas refratárias eram portadores variantes na primeira porção do domínio de ligação à cadeia leve de clatrina do gene, enquanto variantes truncantes afetando a porção C-terminal estavam associadas com hipotonia, AGD e DI (Hamdan et al., 2017). Desta forma, ao considerar a classificação da variante bem como a sobreposição fenotípica com o quadro do probando, é razoável assumir que se trata de uma variante de significado clínico.

3.2.8 Paciente 8

Trata-se do segundo filho de casal não-consanguíneo (heredograma 8 - fig. 20), mãe com 24 anos e pai com 27 à época do parto, nascido de parto normal à idade gestacional de 9 meses em apresentação cefálica, com peso de 3200 g (p15-p50), estatura de 48 cm (p15-p50) e PC de 34 cm (p15-p50). Permaneceu na maternidade por um dia. Encaminhado ao serviço de genética com 1 ano e 6 meses de idade por atraso no desenvolvimento neuropsicomotor.

Figura 20. Heredograma do paciente 8.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora: sustento cefálico aos 5 meses de idade, sentou-se sem apoio aos 10 meses, engatinhou aos 11 meses, ficou de pé sem apoio aos 12 meses, andou aos 24 meses. À época da última consulta, aos 22 anos, falava algumas palavras, mas não formava frases, alimentava-se sem restrições, mas com ingestão hídrica reduzida, comportamento tranquilo, sono agitado.

Quanto ao exame físico à idade de 22 anos: braquicefalia, implantação anterior dos cabelos em bico de viúva, sobrancelhas grossas e arqueadas, fendas palpebrais longas e retas, cílios longos, estrabismo convergente, olhos profundos, raiz nasal alta, dorso nasal médio, nariz curto, orelhas de implantação normal com simplificação das hélices, filtro nasolabial curto, macroglossia, palato em V, lábios grossos e evertidos, acantose *nigricans*, pregas palmares bem marcadas, encurtamento bilateral do 5º quirodáctilo, hiperextensão do 2º quirodáctilo com flexão da falange distal, pés com distância entre o 1º e o 2º pododáctilos aumentada, camptodactilia de háluces, mancha hiperocrômica em dorso à esquerda (~5 cm em maior diâmetro), genitália masculina, testículos na bolsa escrotal, frouxidão ligamentar.

Exames realizados:

Raio-X de coluna (2003): sem alterações;

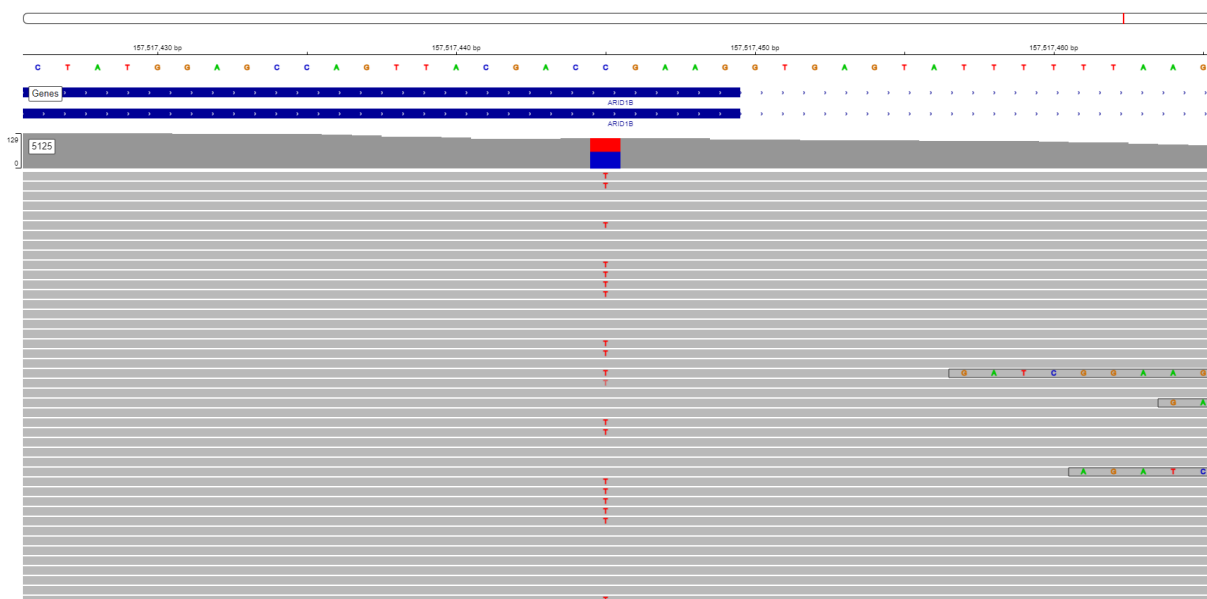
Radiografia coluna tóraco-lombar (2005): sem alterações;

Cariótipo com bandeamento G (2003): 46,XY.

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma evidenciou uma variante em heterozigose no gene *ARID1B* (c.4378C>T, p.R1460*, rs773740590 - fig. 21), localizado na posição 6q25.3, classificada como patogênica segundo os critérios da ACMG (PVS1 - patogênico muito forte, variante nula em um gene cuja perda de função é mecanismo conhecido de doença e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 108 vezes com um balanço alélico igual a 0,46.

Figura 21. Variante c.4378C>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *ARID1B* do paciente 8.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *ARID1B* (OMIM* 614556) codifica uma proteína que compõe o complexo de remodelação ATP-dependente da cromatina SWI/SNF (do inglês, *switch/sucrose non-fermentable*), desta maneira, existe a possibilidade de possuir função na ativação do ciclo celular (Sim et al., 2015).

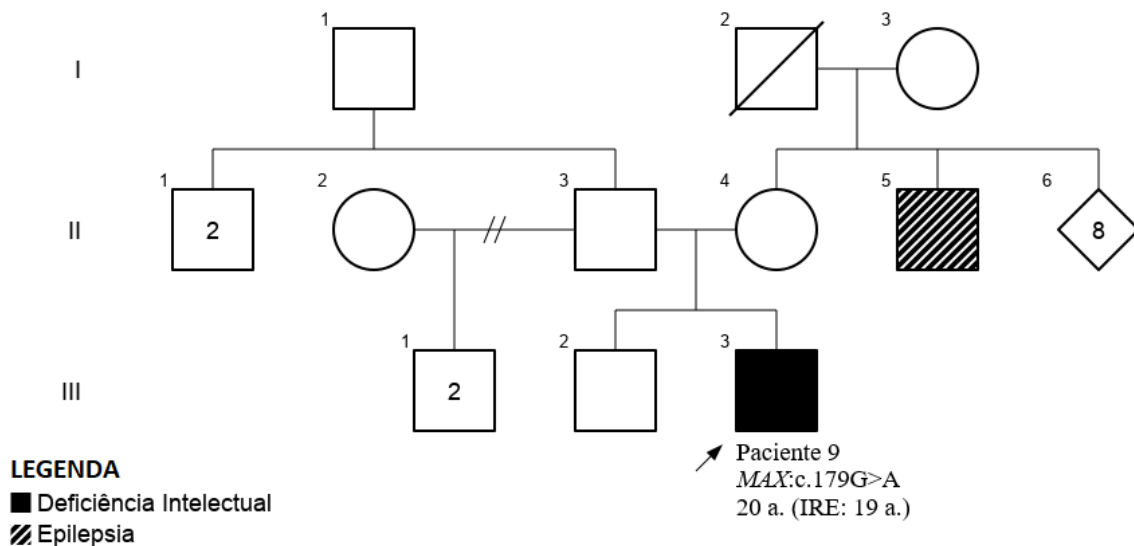
Variantes no gene *ARID1B* causam uma condição: 1. Síndrome de Coffin-Siris, tipo 1 (OMIM# 135900), cujo padrão de herança é AD.

A síndrome de Coffin-Siris é caracterizada por atraso cognitivo e de desenvolvimento de grau variado, aplasia ou hipoplasia da falange distal do 5º quirodáctilo, dismorfias faciais distintas, hipotonia, hirsutismo/hipertricrose, anomalias congênitas que incluem malformações cardíacas, gastrintestinais, geniturinárias e/ou do sistema nervoso central. Outros achados incluem dificuldade em alimentação, atraso de crescimento, anomalias oftalmológicas e deficiência auditiva (Vergano et al. 2013). A variante *ARID1B*: c.4378C>T já foi descrita como causal para o fenótipo 1 (Santen et al., 2013). Desta forma, ao considerar a classificação da variante bem como a sobreposição fenotípica com o quadro do propósito, é razoável assumir que se trata de uma variante de significado clínico.

3.2.9 Paciente 9

Trata-se do segundo filho de casal não-consanguíneo (heredograma 9 - fig. 22), mãe com 36 anos e pai com 34 à época do parto, nascido de parto normal em apresentação cefálica, com peso de 3450 g (p50-p85), estatura de 49,5 cm (p50) e PC de 36 cm (p85-p97). A mãe teve hipertensão gestacional no 8º mês, ademais apresentou pré-eclâmpsia grave no final da gestação. O neonato teve icterícia e passou por fototerapia. Foi internado logo após a primeira semana de vida por apresentar apatia e palidez, permanecendo sob cuidados durante 14 dias. Encaminhado para genética à idade de 1 mês por apresentar dismorfias faciais, assimetria de crânio e polidactilia.

Figura 22. Heredograma do paciente 9.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora: desenvolvimento motor normal. À idade escolar, os pais notaram dificuldade de aprendizado e de reter o que foi aprendido, apresenta comportamento anti-social, preferindo brincar sozinho, repetindo o mesmo desenho várias vezes, apresenta crueldade com animais e se diverte com cenas de agressão, não localiza dor e não se queixa, diagnóstico formal de TEA aos 18 anos de idade, onde passou a fazer uso de neuleptil e fluoxetina. Em consulta (à idade de 16 anos), apresentou comportamento infantilizado, deitou-se no chão, pôs a mão na boca - mãe relatou pouca independência por parte do caso índice, não faz contas, não sabe lidar com dinheiro, come muito.

Quanto ao exame físico (à idade de 1 mês): antropometria - peso de 4330 g (p85-p97), estatura de 55,5 cm (p50-p85) e PC de 40 cm (p97). Notou-se fâcies atípicas, orelhas rotacionadas para trás, sobrancelhas com rarefação de pilificação, polidactilia axial bilateral das mãos - os dedos extras possuem unhas, dedos longos, inclusive os pododáctilos. Genitália masculina, testículos na bolsa escrotal, membros proporcionados e bem alinhados, aparente hipertelorismo mamário. Em novo exame dismorfológico (16 anos), notou-se fendas palpebrais longas e oblíquas para baixo, ponte nasal baixa, orelha em abano, pregas palmares normais, sobrancelhas grossas, abdome flácido, sem visceromegalias.

Exames realizados:

Potencial evocado do tipo p300 (2005): o exame sugere déficit de condução das vias cognitivas vinculadas a atenção;

CT de crânio (2011): normal;

CMA (2019): não foram detectadas alterações cromossômicas;

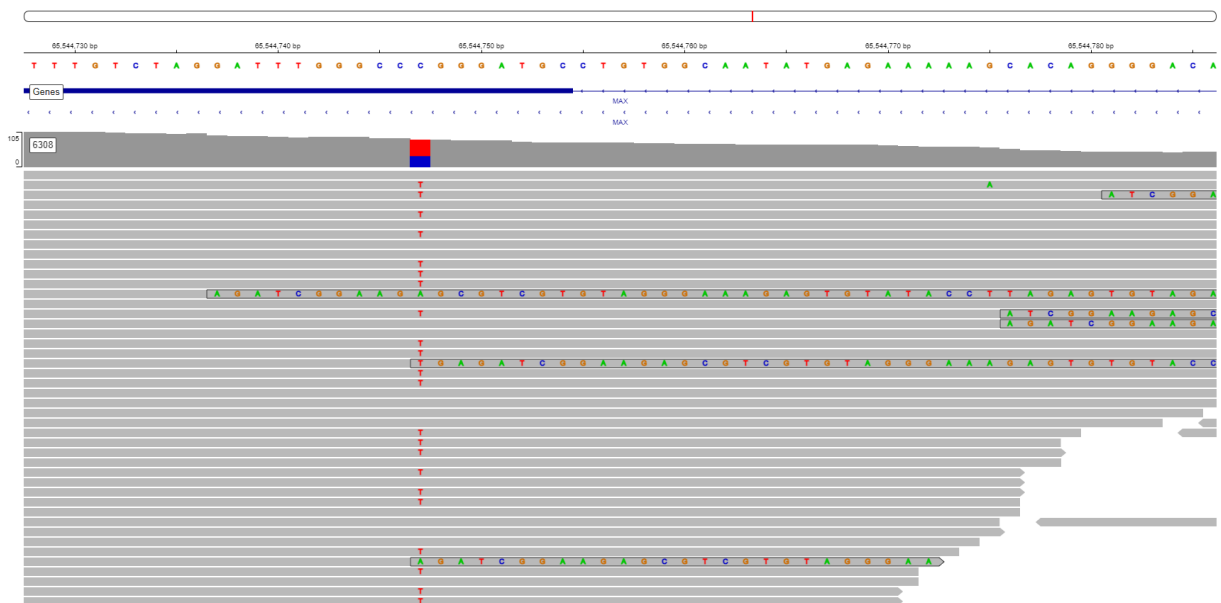
Cariótipo com bandeamento G (2011): 46,XY;

Teste molecular para síndrome de X- frágil (2013): negativo.

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *MAX* (c.179G>A, p.R60Q, rs2063106020 - fig. 23), localizado na posição 14q23.3, classificada como patogênica segundo os critérios do ACMG (PM1 - patogênico moderado, variante não-sinônima, não-truncada, localizada em *hotspot* mutacional e/ou em um domínio funcional bem estabelecido; PP2 - patogênico suporte, variante de sentido trocado em um gene com uma baixa frequência de mutações *missense* benignas e para qual mutações *missense* são um mecanismo comum de doença; PM5 - patogênico suporte, mudança para aminoácido diferente como uma variante patogênica conhecida e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 83 vezes com um balanço alélico igual a 0,61.

Figura 23. Variante c.179G>A identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *MAX* do paciente 9.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *MAX* (OMIM* 154950) codifica uma proteína pertencente à família de fatores de transcrição bHLHZ (do inglês, *basic helix-loop-helix leucine zipper*), o qual é capaz de formar homodímeros e heterodímeros com outros membros da família, que incluem Mad, Mx1 e Myc.

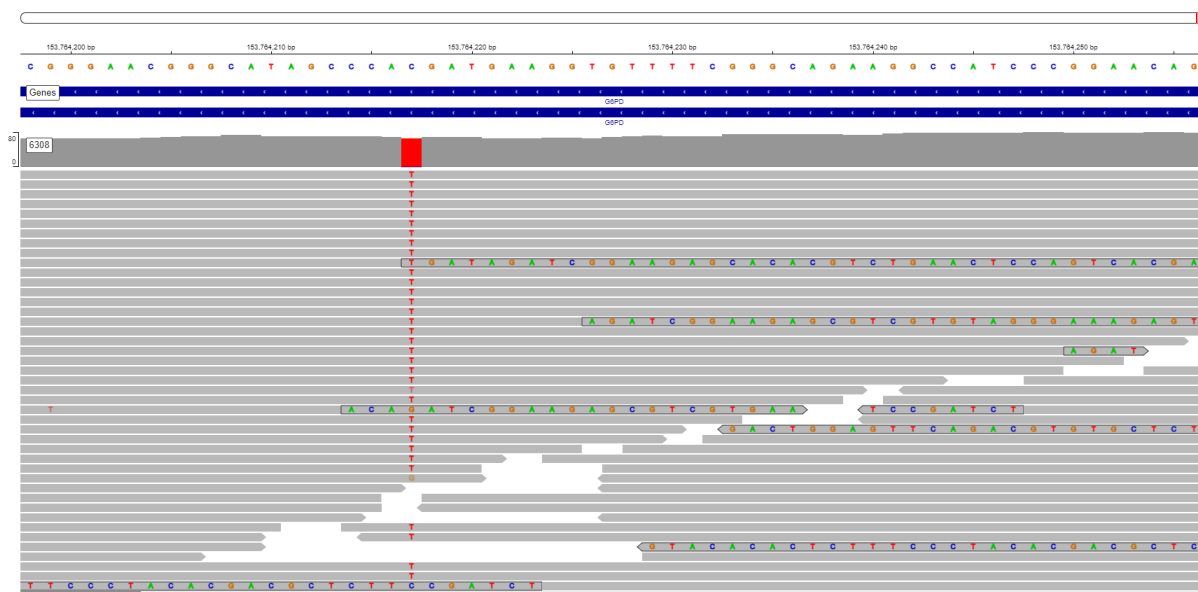
Variantes no gene *MAX* causam duas condições: 1. Suscetibilidade a feocromocitoma (OMIM# 171300) e 2. Síndrome de polidactilia-macrocefalia (OMIM# 620712), ambas com um padrão de herança AD.

A síndrome de polidactilia-macrocefalia é caracterizada por polidactilia pós-axial e macrocefalia progressiva. Anomalias oculares e de neurodesenvolvimento (TEA, em especial) também foram reportadas (Harris et al., 2024). Em termos moleculares, Harris e colaboradores (2024) demonstraram que a forma mutada R60Q da proteína MAX (tal qual observada na amostra do propósito), forma com mais facilidade, em comparação à proteína selvagem, um complexo ativador com c-Myc, o que provavelmente resulta em um aumento de atividade transcricional (Harris et al., 2024). Desta forma, ao considerar a sobreposição clínica com o quadro do paciente, bem como a classificação da variante, é razoável assumir que se trata de um achado de significado clínico.

Ademais, como achado secundário, a análise do exoma do probando evidenciou uma variante em hemizigose no gene *G6PD* (c.202G>A, p.V68M, rs1050828 - fig. 24) localizada na posição Xq28, classificada como patogênica segundo os critérios da ACMG (PM1 -

patogênico moderado, variante não-sinônima, não-truncada localizada em *hotspot* mutacional e/ou em um domínio funcional bem estabelecido; PP2 - patogênico suporte, variante de sentido trocado em um gene com uma baixa frequência de mutações *missense* benignas e para qual mutações *missense* são um mecanismo comum de doença; PP3 - patogênico suporte, para uma variante de sentido trocado ou em região de splicing, ferramentas de predição computacional unanimemente suportam efeito deletério no gene; PP5 - patogênico suporte, fontes confiáveis reportaram recentemente a variante como patogênica mas as evidências não estão disponíveis para avaliação laboratorial independente e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 65 vezes e possui um balanço alélico igual a 1,0.

Figura 24. Variante c.202G>A identificada em hemizigose em comparação ao alelo de referência no gene *G6PD* do paciente 9.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *G6PD* (OMIM* 305900) codifica uma proteína de manutenção (denominadas ‘housekeeping’, em inglês) que se encontra no citoplasma de todas as células do corpo, possuindo função na prevenção de danos celulares por espécies reativas de oxigênio (ROS) (Richardson; O’Malley, 2022).

Variantes no gene *G6PD* causam duas condições: 1. Resistência à malária por deficiência de G6PD (OMIM# 611162) e 2. Anemia congênita não-esferocítica hemolítica por deficiência de G6PD, ou simplesmente, deficiência de G6PD (OMIM# 300908) (LX).

O fenótipo 2 pode resultar em episódios agudos de anemia hemolítica desencadeados por estresse ou consumo de certos alimentos (por ex., feijão de fava) ou medicamentos (em especial, agentes anti-malária) (Richardson; O'Malley, 2022).

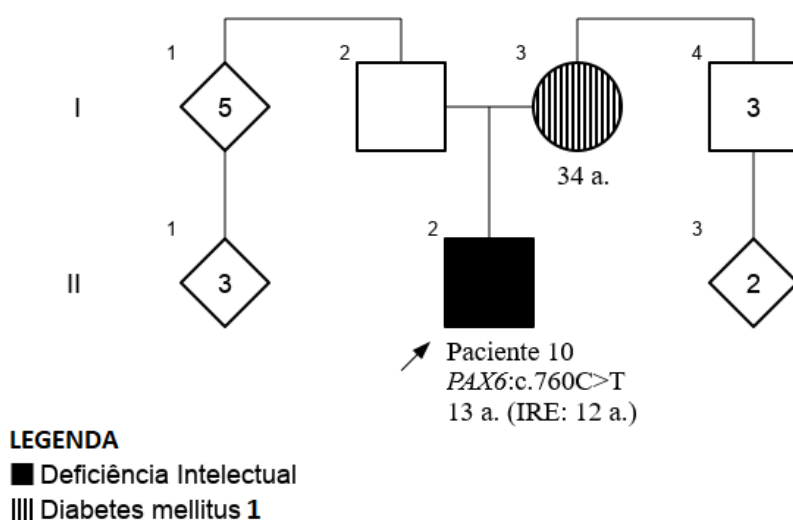
Dessa maneira, visto que houve indicativo de manifestação do fenótipo (quadro de icterícia neonatal seguida de internação por palidez e apatia), trata-se de um achado secundário que deve ser reportado para fins de prevenção e correta orientação médica.

A descrição deste caso clínico foi publicada no *American Journal of Medical Genetics* (anexo 3).

3.2.10 Paciente 10

Trata-se de filho único de casal não-consanguíneo (heredograma 10 - fig. 25), mãe com 21 anos e pai com 29 à época do parto, nascido em apresentação cefálica por parto cesárea indicado por deslocamento de placenta à idade gestacional de 38 semanas, com peso de 3280 g (p50-p85), estatura de 48 cm (p15-p50), PC de 35 cm (p50) (Apgar 9-10). Teve episódios de arritmia e extrassístoles, permanecendo na maternidade por 4 dias. Encaminhado para a genética à idade de 2 meses e 27 dias pelo serviço de oftalmologia por suspeita de Síndrome de Goldenhar.

Figura 25. Heredograma do paciente 10.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora: atraso no desenvolvimento neuropsicomotor e na fala, mãe referiu que é agitado. À idade escolar, os pais referiram dificuldade de aprendizado, mas atribuíram a deficiência visual, lê pouco, faz contas simples, se comunica bem, mas é infantilizado em relação às crianças na mesma faixa etária, dorme bem, alimentação sem restrições, eliminações fisiológicas e preservadas.

Quanto ao exame físico (2 meses e 27 dias de vida): antropometria - peso de 6425 g (p90), estatura de 57,5 cm (p50) e PC de 39 cm (p2-p50). Crânio sem deformidades, fontanela pérvia, epicanto bilateral, fendas palpebrais ligeiramente oblíquas para cima, dermoide pré-auricular à direita, dermoide bulbar lateral em olho esquerdo, tórax e abdome sem alterações, hérnia umbilical, genitália masculina, testículos na bolsa, mãos e pés sem alterações. Em novo exame dismorfológico (aos 11 anos) notou-se turricefalia assimétrica, fronte curta, sobrancelhas grossas, sinofre, fendas palpebrais oblíquas para cima, nistagmo, presença de coloboma e dermoide epibulbar em olho esquerdo, aniridia bilateral, raiz nasal alta, desvio de rima bucal para cima, orelhas grandes de implantação normal, apêndice pré-auricular discreto, abdome sem visceromegalias.

Exames realizados:

ECG (2012): forame oval prévio, discreta estenose supraválvula pulmonar e de ramos pulmonares;

RM de crânio (2012): normal.

Cariótipo com bandeamento G (2013): 46,XY;

Avaliação oftalmológica (2013): olho direito - aniridia, cristalino tóxico, transparente, sem alterações; olho esquerdo - aniridia, catarata polar anterior, dermoide bulbar temporal; fenda óptica - hipoplasia de nervo óptico principal no olho esquerdo, implantação da papila óptica normal;

USG de abdome total (2014): normal;

CMA (2015): não foram detectadas alterações cromossômicas;

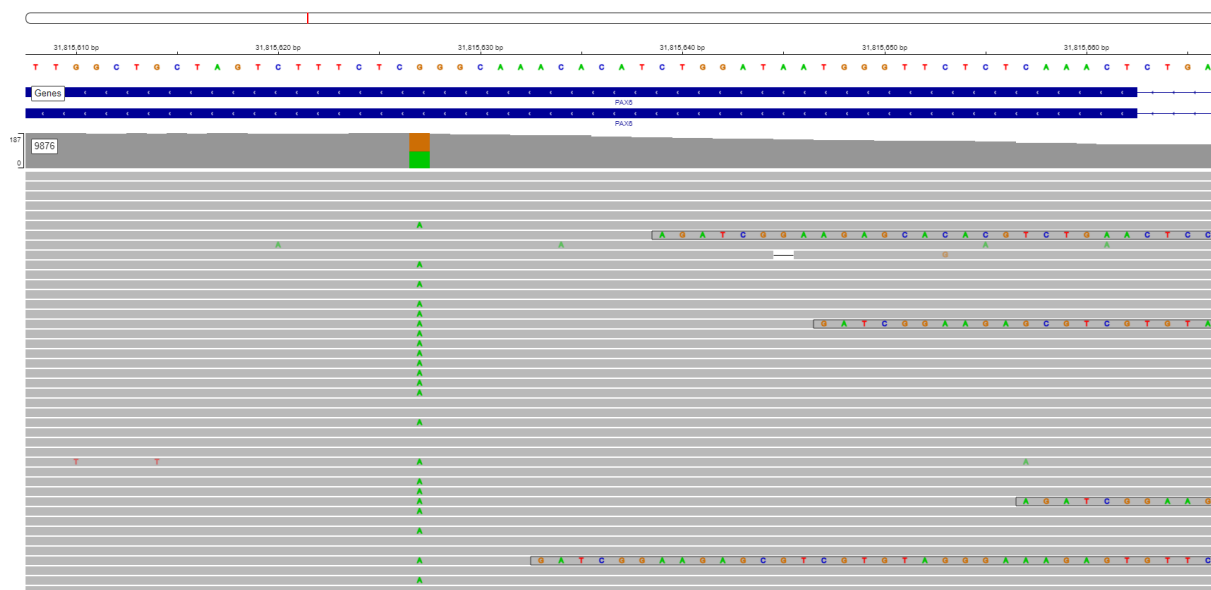
Ecografia renal e de vias urinárias (2018): normal;

Audiometria (2024): limiares auditivos normais à direita; perda auditiva tipo neurosensorial profunda à esquerda - curva tipo A com reflexos acústicos presentes à direita e ausentes à esquerda;

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *PAX6* (c.760C>T, p.R254*, rs121907917 - fig. 26), localizado na posição 11p13, classificada como patogênica segundo os critérios do ACMG (PVS1 - patogênico muito forte, variante nula em um gene cuja perda de função é mecanismo conhecido de doença e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 182 vezes com um balanço alélico igual a 0,49.

Figura 26. Variante c.760C>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *PAX6* do paciente 10.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *PAX6* (OMIM* 607108), membro da família de genes *paired box*, os quais codificam fatores de transcrição tecido-específicos, possui função essencial no desenvolvimento de tecidos neuronais, particularmente nos olhos.

Variantes no gene *PAX6* causam diversas condições: 1. Coloboma de nervo óptico, 2 (OMIM# 120430); Síndrome de *Morning Glory*, 3 (OMIM# 230430); Aniridia, 4 (OMIM#

106210); Disgenesia de segmento anterior, tipo 5, diversos subtipos (OMIM# 604229); 5. Catarata com distrofia de córnea de início tardio, 6 (OMIM# 106210); Hipoplasia foveal, tipo 1 (OMIM# 136520); 7. Queratite (OMIM# 148190); 8. Microftalmia/coloboma, tipo 12 (OMIM# 120200); 9. Hipoplasia de nervo óptico (OMIM# 165550) e 10. Síndrome de tumor de Wilms, aniridia, anomalias genitais e deficiência intelectual (OMIM# 194072).

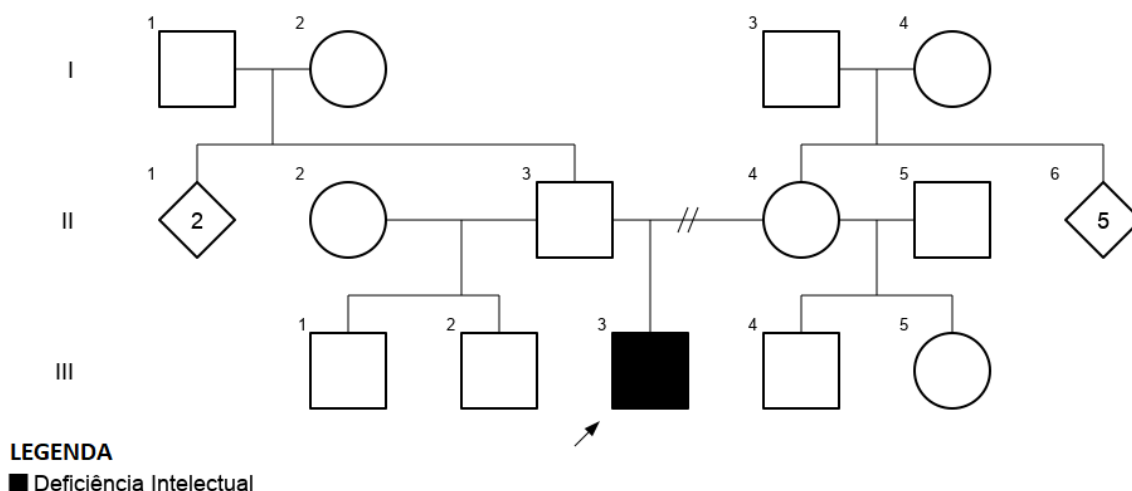
Todos os fenótipos listados possuem um padrão de herança AD e, dentre outros achados, possuem as anomalias oculares como característica comum (Moosajee et al., 2003). A variante observada na amostra do caso índice já foi reportada como de significado clínico, sendo causal para aniridia isolada (Prosser e Van Heyningen, 1998). Entretanto, a sintomatologia do fenótipo não contempla DI.

A patogênese do fenótipo 10, que poderia explicar o quadro de DI observado no probando, é bastante específica: deleção contígua do gene *PAX6* e do gene vicinal à jusante, *WT1* (Moosajee et al., 2003), o que não foi observado na amostra do caso índice. Desta maneira, o quadro de aniridia do paciente pôde ser explicado pela variante *PAX6*:c.760C>T, no entanto, a etiologia do déficit cognitivo do probando permanece desconhecida.

3.2.11 Paciente 11

Trata-se de filho único de casal não-consanguíneo (heredograma 11 - fig. 27), mãe com 20 anos à época do parto, nascido de parto cesárea. Foi relatado etilismo por parte da mãe, havendo a possibilidade de consumo de álcool durante a gravidez. Encaminhado à genética aos 10 anos pelo serviço de neurologia por apresentar deficiência auditiva, polidactilia, dismorfias faciais e DI.

Figura 27. Heredograma do paciente 11.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora: atraso motor importante, sentou-se sem apoio aos 10 meses de vida e andou aos 36 meses. A deficiência auditiva foi diagnosticada aos 10 meses, aprendeu LIBRAS, mas não sabe escrever. Teve episódio de convulsão febril, fez cirurgia de adenoide aos 3 anos, dorme bem e se alimenta sem restrições.

Quanto ao exame físico (à idade de 10 anos e 4 meses): turricefalia, aparente hipertelorismo ocular, epicanto bilateral, filtro nasolabial curto e pouco marcado, palato ogival, assimetria facial à direita, fendas palpebrais retas, raiz nasal média, narinas antevertidas, ponta bulbosa, abdome sem visceromegalias, cicatriz de polidactilia pós-axial, acne de grau III/IV. Em novo exame dismorfológico (aos 12 anos) notou-se dolicocefalia, fronte ampla, sobrancelhas rarefeitas no terço distal, orelhas com simplificação das hélices, leve retrognatismo, palato alto, pés planos com aumento bilateral da distância entre o 1º e 2º pododáctilos.

Exames realizados:

USG de abdome total (2016): normal;

USG de região inguinal (2016): normal;

EEG (2016): em vigília normal para a idade;

Cariótipo com bandeamento G (2016): 46,XY.

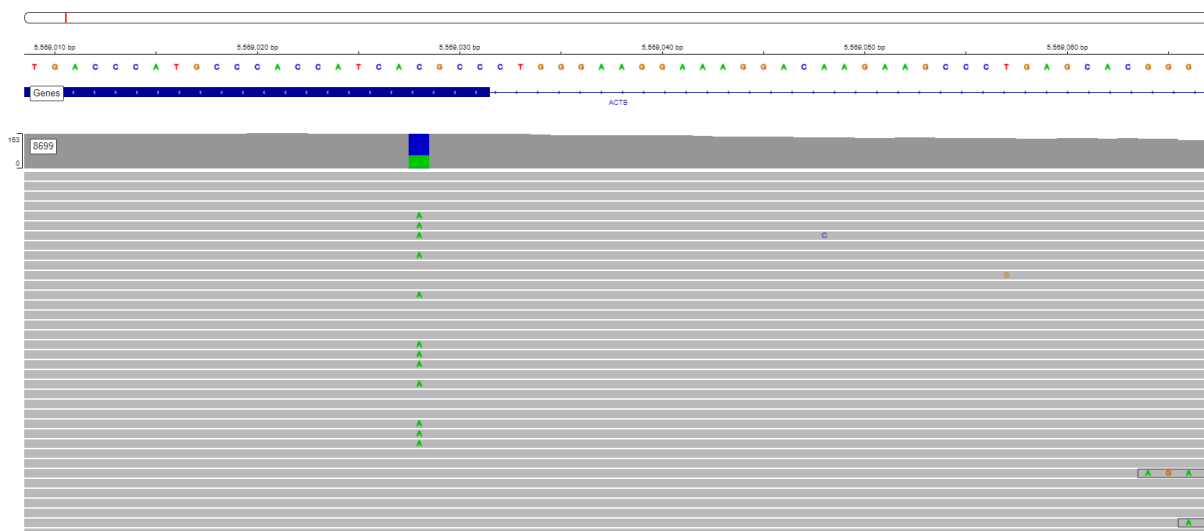
CMA (2017): não foram detectadas alterações cromossômicas;

Painel de surdez sindrômica (2019): não foram encontradas variantes que isoladamente expliquem o quadro do paciente;

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *ACTB* (c.127G>T, p.V43L - fig. 28), localizado na posição 4q22.1, classificada como provavelmente patogênica segundo os critérios do ACMG (PM1 - patogênico suporte, variante não-sinônima, não-truncada localizada em *hotspot* mutacional e/ou em um domínio funcional bem estabelecido; PP2 - variante de sentido trocado em um gene com uma baixa frequência de mutações *missense* benignas e para qual mutações *missense* são um mecanismo comum de doença e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 159 vezes com um balanço alélico igual a 0,38.

Figura 28. Variante c.127G>T identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *ACTB* do paciente 11.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *ACTB* (OMIM* 102630) codifica a beta-actina, proteína envolvida em processos de motilidade, estruturação e integridade celular, bem como sinalização intracelular.

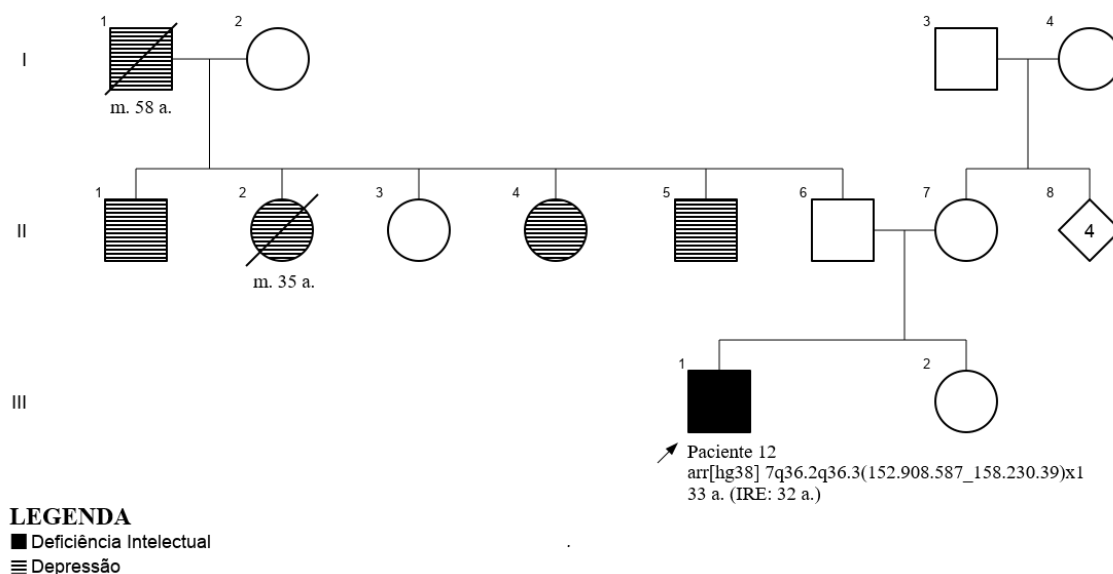
Variantes no gene *ACTB* causam diversas condições: 1. Síndrome de Baraitser-Winter, tipo 1 (OMIM# 243310); 2. Síndrome de distonia-surdez, tipo 1 (OMIM# 607371); 3. Trombocitopenia, com dismorfias e atraso de desenvolvimento, tipo 8 (OMIM# 620475); 4. Síndrome de nevo de Becker, sindrômico ou isolado, somático em mosaicismo (OMIM# 604919) e 5. Hamartoma congênito de músculo liso com ou sem hemihipertrofia, somático em mosaicismo (OMIM# 620470). As três primeiras condições listadas se manifestam em um padrão de herança AD.

Com a clínica que apresenta a maior sobreposição fenotípica com o quadro do probando, a síndrome de Baraitser-Winter é caracterizada por dismorfias faciais distintas, que incluem hipertelorismo, ptose congênita não-miopática, crista metópica, sobrancelhas arqueadas, coloboma de retina ou de íris e outros achados como surdez neurosensorial, rigidez de juntas e anomalias cerebrais (Verloes et al., 2015). A patogênese do fenótipo se dá, majoritariamente, por um mecanismo de ganho de função, no entanto, mecanismos de perda de função e dominância negativa já foram sugeridos (Cuvertino et al., 2017). Quanto à natureza das variantes, se destacam as de sentido trocado, assim como observado na amostra do probando (p.Val43Leu). Desta maneira, ao considerar a classificação da variante bem como a sobreposição fenotípica com o quadro do propósito, é razoável assumir que se trata de uma variante de significado clínico.

3.2.12 Paciente 12

Trata-se do primeiro filho de casal não-consanguíneo (heredograma 12 - fig. 29), mãe com 25 anos e pai com 27 à época do parto, nascido de parto cesárea (indicado por iteratividade), com peso de 3100 g (p15-p50) e estatura de 53 cm (p50-p85). Encaminhado para genética aos 29 anos de idade pelo serviço privado com solicitação de exame de exoma e CMA.

Figura 29. Heredograma do paciente 12.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e história clínica: atraso de desenvolvimento importante, sustento cefálico aos 8 meses, andou sem apoio aos 30 meses de idade, mesma idade em que falou as primeiras palavras, controle vesical e anal diurno aos 4 anos. A partir dos 21 dias de vida, apresentou vômitos após aleitamento materno. À mesma época, foi diagnosticado com estenose hipertrófica do piloro, havendo intervenção cirúrgica para correção. Apresentou escoliose congênita e *pectus excavatum* que se evidenciaram e se acentuaram conforme o crescimento. Teve dois neurofibromas: um na região lombossacra (operado aos 14 anos) e outro no dorso (ressecado aos 18 anos). Usa lentes refrativas desde os 2 anos devido miopia, astigmatismo e estrabismo. À idade escolar, apresentou dificuldades, principalmente nas disciplinas de ciências exatas - lê, escreve, faz contas simples. A irmã refere comportamento anti-social e comportamento autístico - usa sempre mesma roupa, não deixa lavá-las, mesmo quando estão com mau cheiro. Enurese até os 27 anos.

Quanto ao exame físico (à idade de 31 anos): antropometria - peso de 52 kg (<p3), estatura de 162 cm (<p3) e PC de 53 cm (<p3). Microcefalia, face alongada, raiz nasal alta, dorso longo e fino, filtro nasolabial médio e bem marcado, sinofre, estrabismo, orelhas de implantação normal. Presença de escoliose acentuada e *pectus excavatum*. Prega palmar única bilateralmente, hiperextensibilidade de quirodáticos, ausência de visceromegalias.

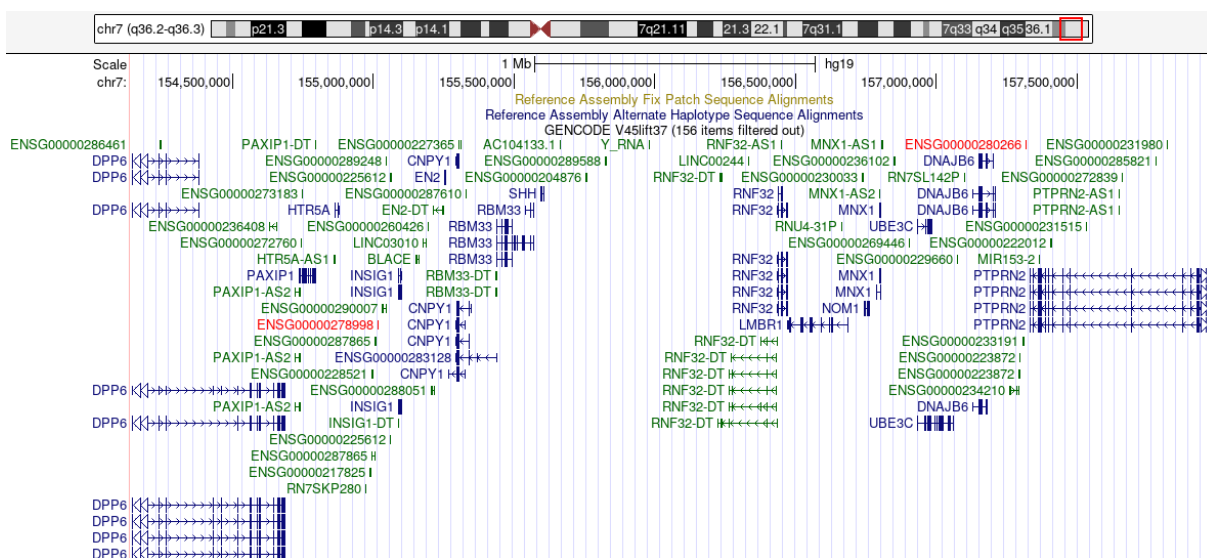
Exames realizados:

Cariótipo com bandeamento G (2024): 46,XY.

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante estrutural em heterozigose: trata-se de uma deleção de 3,9 Mb na posição 7q36.2-q36.3 (chr7: 152.908.587_158.230.39 - fig. 30) contemplando 31 genes (destes, 15 são codantes) e regiões, classificada como patogênica segundo os critérios da ACMG (2A - sobreposição completa de uma região genômica sensível a haploinsuficiência/perda de função e 4L - evidência populacional e de caso-controle).

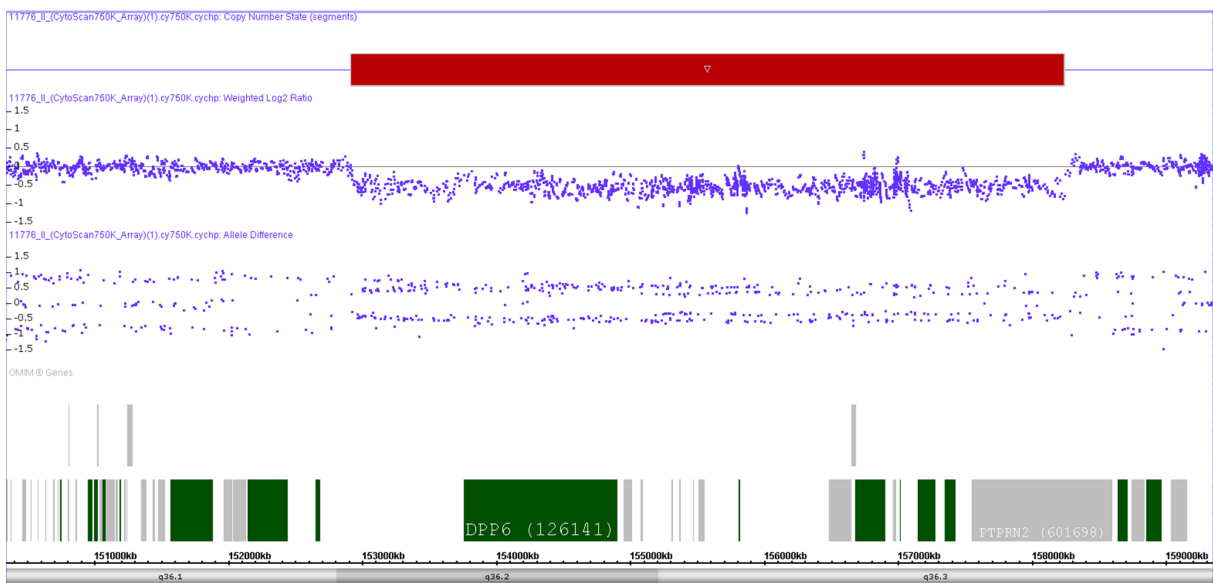
Figura 30. Deleção de 3,9 Mb identificada em heterozigose em relação ao alelo de referência na posição 7q36.2-q36.3 do paciente 12.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* UCSC Genome Browser on Human (GRCh37/hg19).

A fim de se confirmar a presença da variante e melhor delimitar os pontos de quebra, foi também realizado CMA na amostra do paciente 12 (fig. 31).

Figura 31. Mapeamento por CMA da deleção de 3.9 Mb na posição 7q36.2-q36.3 observada na amostra do paciente 12.



Fonte: Imagem gerada pelo software *Chromosome Analysis Suite* (ChAS) (Affymetrix).

Em 2012, Beleza-Meireles e colaboradores reportaram um caso de um paciente de 13 anos de idade com um quadro de múltiplas malformações congênitas, principalmente oculares. Um ensaio por CMA demonstrou a presença de uma variante estrutural que se estendia entre as bandas 7q36.2 e 7q36.3, tratando-se de uma deleção de 2,93 Mb (chr7: 153.206.347-156.133.135). Os autores sugeriram a deleção no gene *SHH* (OMIM* 600725) como principal candidato para explicação do quadro clínico observado. Destacaram também outros genes deletados na região, tais como *EN2* (OMIM* 600725), *CNPY1* (OMIM* 612493) e *PAXIP1* (OMIM* 608254), os quais são altamente conservados e possuem função nos estágios iniciais da morfogênese (Beleza-Meireles et al., 2012)

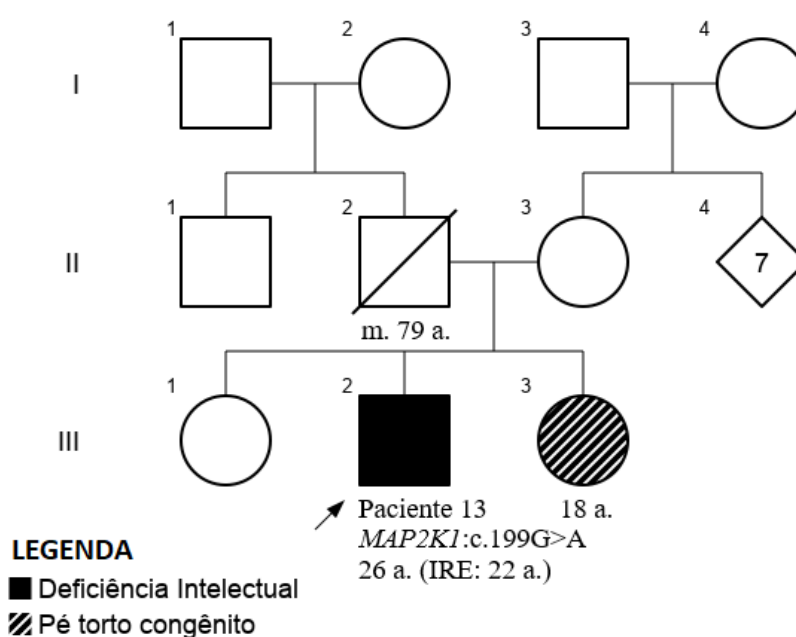
Em 2018, Cococcioni e colaboradores reportaram uma variante semelhante, mas com o quadro clínico diferente: tratava-se de paciente de 3 anos de idade com quadro de constipação, encoprese e microcefalia. Empregando a técnica de CMA, os autores demonstraram uma deleção de 4,15 Mb na região 7q36.2-q36.3 (chr7: 152.676.931-156.821.546). Nesse estudo, os autores indicaram os genes *SHH* e *MNX1* (OMIM* 142994) cujas variantes estão associadas com a Síndrome de Currarino (OMIM# 176450), fenótipo caracterizado por disgenesia sacral, como os principais candidatos para explicação do quadro observado. Ademais, os autores citam possível contribuição da deleção do gene *DPP6* (OMIM* 126141), cujas variantes possuem associação com o distúrbio de desenvolvimento intelectual, AD, tipo 33 (OMIM# 616311), caracterizado por atraso de crescimento, microcefalia e DI (Cococcioni et al., 2018). Desta forma, ao considerar a

sobreposição fenotípica (embora parcial), bem como a classificação da variante, é razoável assumir que se trata de um achado de significado clínico.

3.2.13 Paciente 13

Trata-se do segundo filho de casal não-consanguíneo (heredograma 13 - fig. 32), mãe com 25 anos e pai com 51 à época do parto, nascido de parto normal a termo com peso de 4000 g (p85-p97), estatura de 54 cm (p97) e PC de 35,5 cm (p50-p85). A mãe relatou que o parto foi difícil e que o neonato demorou a chorar, apresentou criptorquidia bilateral ao nascer. Permaneceu na maternidade por três dias, foi medicado por quadro febril, mas a mãe não soube especificar a razão. Encaminhado para genética aos 7 anos de idade por quadro de DI sintomática e TEA.

Figura 32. Heredograma do paciente 13.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e história clínica: atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (ADNPM) evidente - andou aos 15 meses, formou frases aos 12 meses,

controle vesical diurno e noturno entre 2 e 3 anos, controle anal diurno e noturno aos 5 anos de idade. Lê palavras curtas e faz cópias simples - muito inativo, prefere ficar sozinho, roe unhas das mãos e dos pés. Tem coordenação motora pobre. Dorme bem, se alimenta sem restrições, às vezes se queixa de dor de cabeça.

Quanto ao exame físico à idade de 22 anos: antropometria - peso de 58,9 kg (p10-p25), estatura de 163 cm (p3) e PC de 58 cm (p50-p98). Aparente macrocefalia, mandíbulas largas, fendas palpebrais retas, epicanto inverso, raiz nasal alta, sobrancelha esparsa em sua porção lateral, filtro nasolabial curto, lábios grossos, palato alto, orelhas displásicas de implantação baixa, rodadas para trás, hipoplasia de hélices e aspecto de trilho de bonde. Membros proporcionados, hiperextensibilidade de articulações, pregas palmares normais. A pele da face, da porção lateral dos braços e do dorso é áspera e avermelhada (ceratose pilar e *ulerythema ophryogenes*). Abdome levemente proeminente, normotenso, sem visceromegalias ou massas palpáveis.

Exames realizados:

Ecocardiografia: normal;

Ecografia abdominal: normal;

Teste molecular para síndrome de X-frágil: negativo;

Cariótipo com bandeamento G (2006): 46,XY;

TC de crânio (2008): normal;

Radiografia de esqueleto (2008): sem atraso de idade óssea, vértebra de transição lombossacra;

RM de encéfalo (2009): normal;

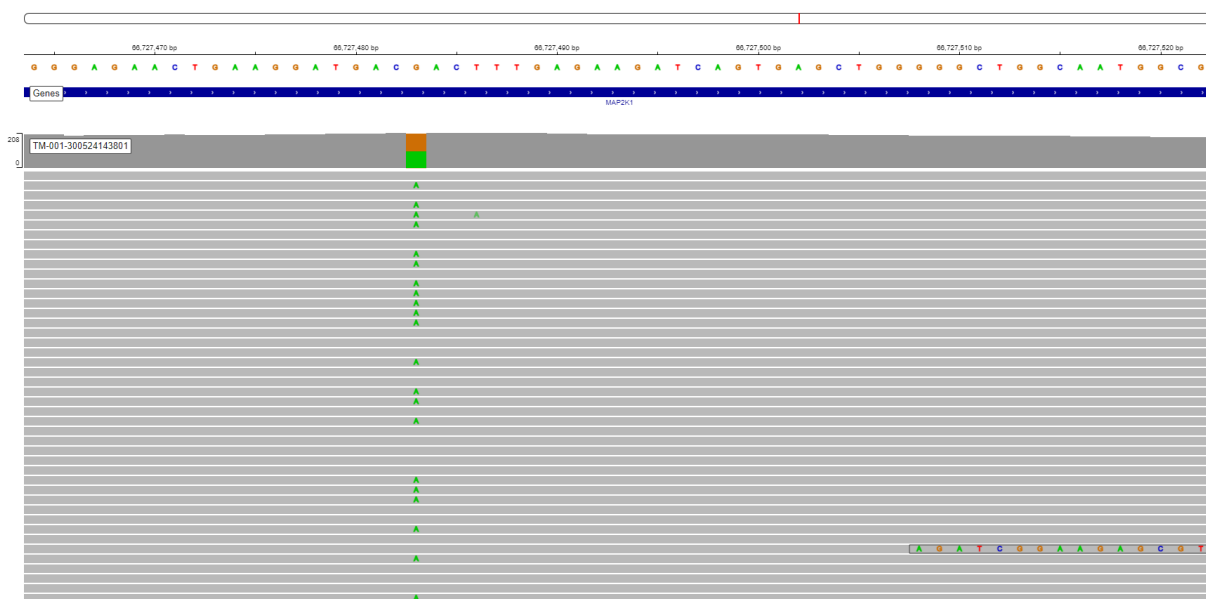
TC de tórax (2014): fusão de apêndice xifoide com corpo esternal, o qual apresenta também fusão de todos os seus segmentos corporais, há assimetria latero-lateral do corpo vertebral, principalmente no seu aspecto mais inferior, também com assimetria das cartilagens costais inferiores (sexta e sétima), sem fusão do manúbrio. O corpo esternal mede 8,4 cm no seu maior eixo longitudinal, no entanto, ao considerar o apêndice xifoide fundido, o seu maior diâmetro longitudinal é de 9,1 cm. A largura do corpo esternal é de 5,2 cm, já o manúbrio esternal mede 5,0 cm no maior diâmetro longitudinal;

CMA (2022): não foram detectadas alterações cromossômicas.

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *MAP2K1* (c.199G>A, p.D67N, rs727504317 - fig. 33), localizado na posição 15q22.31, classificada como patogênica segundo os critérios do ACMG (PS3 - patogênico suporte, estudos funcionais bem estabelecidos demonstram efeito deletério no gene ou em seu produto; PM1 - patogênico moderado, variante não-sinônima, não-truncada, localizada em *hotspot* mutacional e/ou em um domínio funcional bem estabelecido; PM6 - patogênico forte, variante de novo com consistência fenotípica, sem histórico familiar e maternidade e paternidade assumidas; PP2 - variante de sentido trocado em um gene com uma baixa frequência de mutações *missense* benignas e para qual mutações *missense* são um mecanismo comum de doença; PP3 - patogênico moderado, para uma variante de sentido trocado ou em região de splicing, ferramentas de predição computacional unanimemente suportam efeito deletério no gene; PP5 - patogênico suporte, fontes confiáveis reportaram recentemente a variante como patogênica mas as evidências não estão disponíveis para avaliação laboratorial independente e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 204 vezes com um balanço alélico igual a 0,49.

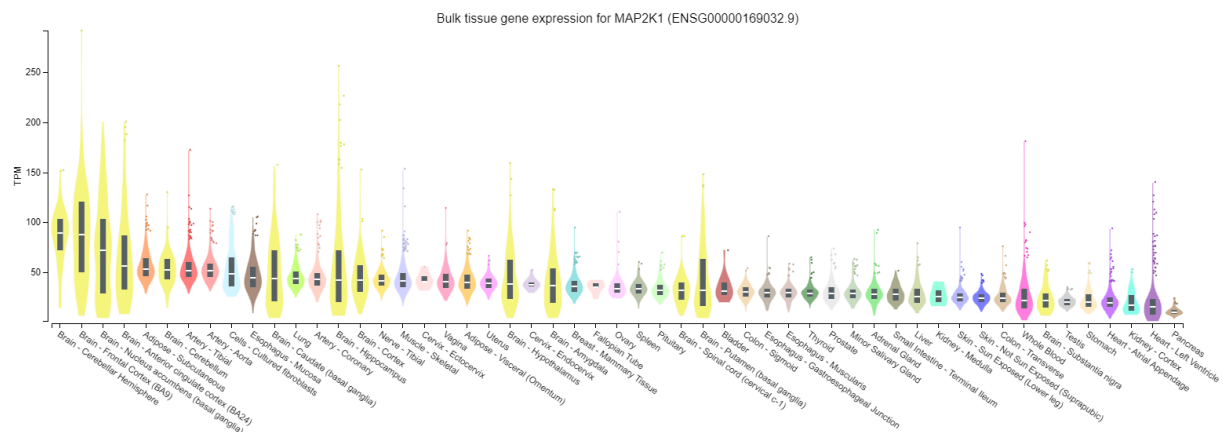
Figura 33. Variante c.199G>A identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *MAP2K1* do paciente 13.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *MAP2K1* (OMIM* 176872) codifica uma proteína que age como quinase ativada por mitógeno e está envolvida em diversos processos celulares, como proliferação, diferenciação, regulação transcricional e desenvolvimento. O gene possui um padrão aumentado de expressão no tecido cerebral, como ilustrado na figura 34.

Figura 34. Padrão de expressão do gene *MAP2K1* em diferentes tecidos.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* GTEx Analysis Release, V8. TPM - transcritos por milhão.

Variantes no gene *MAP2K1* causam duas condições: 1. Síndrome cardio-facio-cutânea, tipo 3 (OMIM# 615279) (AD) e 2. Melorreostose isolada, somática em mosaico (OMIM# 155950).

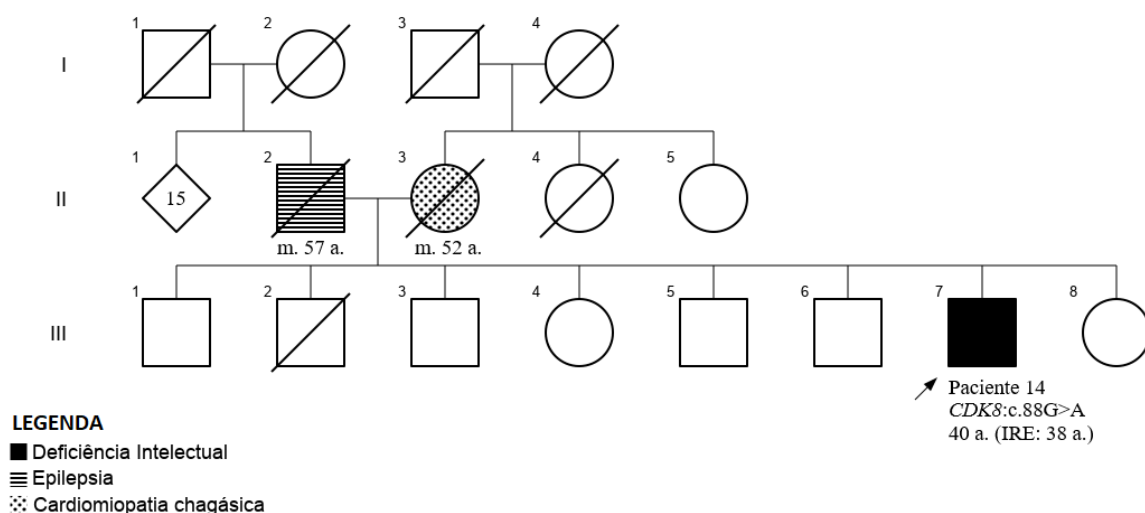
A síndrome cardio-facio-cutânea é caracterizada por dismorfias craniofaciais, anomalias cardíacas, anomalias de pele e cabelo, atraso de crescimento pós-natal, hipotonia, atraso no desenvolvimento e DI de severidade variável. Características distintas incluem macrostomia e fendas palpebrais retas (Rauen, 2007). A variante observada na amostra do probando já foi reportada como de significado clínico, sendo causal para o fenótipo 1 (Nava et al., 2007). Desta forma, ao considerar a classificação da variante bem como a sobreposição fenotípica com o quadro do probando, é razoável assumir que se trata de uma variante de significado clínico.

3.2.14 Paciente 14

Trata-se do sétimo filho de casal não-consanguíneo (heredograma 14 - fig. 36), mãe com 33 anos e pai com 42 à época do parto, nascido de parto normal domiciliar a termo. A

mãe referiu que o parto foi difícil pois o neonato tinha o pescoço “grosso”. Encaminhado aos 12 anos para genética por apresentar quadro de DI-S.

Figura 36. Heredograma do paciente 14.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e história clínica: atraso importante de desenvolvimento, andou aos 3 anos de idade e falou as primeiras palavras aos 2 anos. Foi internado por quadro de sarampo na infância. À época da primeira consulta, a mãe referiu agitação e agressividade, mas que houve melhora conforme o crescimento. Referiu ainda que o filho tinha dificuldade de aprendizado, não retém o que lhe é ensinado. Já na vida adulta, vai à escola para se ocupar, reconhece os colegas, sabe as letras, números e cores, mas não foi alfabetizado. Possui certa independência, anda desacompanhado. Após o falecimento de seus pais, o irmão mais velho (indivíduo III-3, fig. 36) passou a ser seu tutor, que conferiu quadro de ansiedade no probando - roe unhas das mãos e dos pés, arranca obturações dentárias. Come bem, mas com restrições, pois tem diabetes tipo 2. Fez timpanomastoidectomia na orelha esquerda aos 33 anos.

Quanto ao exame físico à idade de 37 anos: cifose torácica, face alongada, queixo grande, prognatismo. Testa ampla, entradas laterais, cabelos ralos, fendas palpebrais oblíquas

para baixo, raiz e ponta nasal alta, ponta do nariz afilada, columelas visíveis, filtro nasolabial médio, palato alto, falhas dentárias - dentes mal-conservados. Angulação normal dos cotovelos, tórax largo, aparente hipertelorismo mamário. Hiperextensibilidade do joelho, prega palmar única na mão esquerda, encurtamento bilateral do 5º quirodáctilo, alargamento de 1º polidáctilo bilateral, pés evertidos.

Exames realizados:

Ecodopplercardiograma: normal;

Teste molecular para X-frágil: negativo.

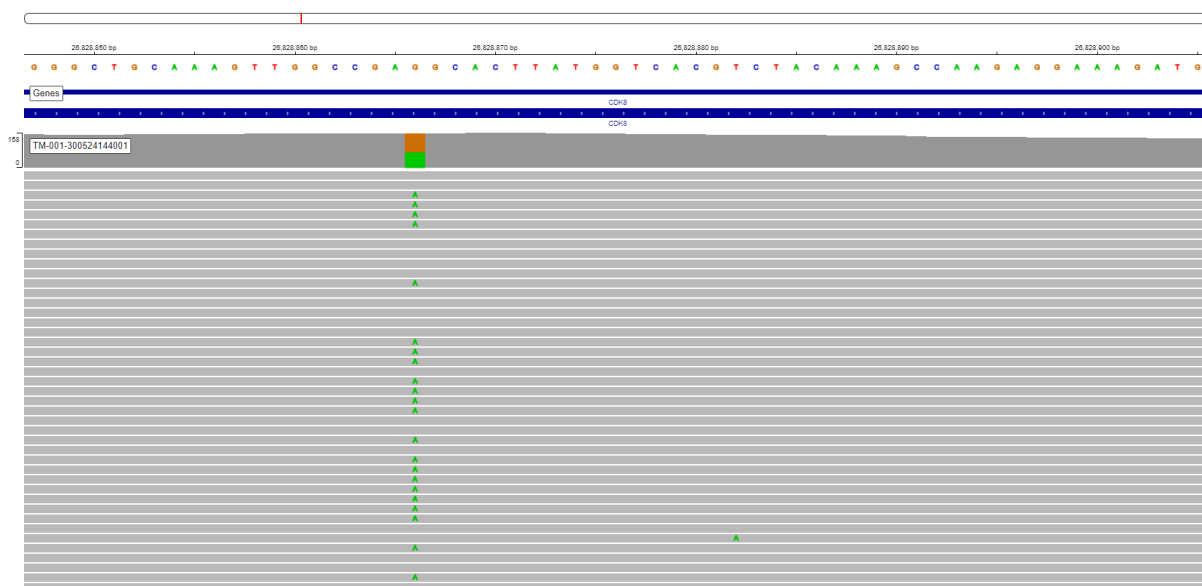
Cariótipo com bandeamento G (1998): 46,XY;

Radiografia de tórax (2018): fraturas com redução de altura e acunhamento de alguns corpos vertebrais torácicos inferiores;

Sequenciamento de exoma:

A análise do exoma do probando evidenciou uma variante em heterozigose no gene *CDK8* (c.88G>A, p.G30S, rs1593218890 - fig. 36), localizado na posição 13q12.13, classificada como provavelmente patogênica segundo os critérios do ACMG (PM1 - patogênico suporte, variante não-sinônima, não-truncada localizada em *hotspot* mutacional e/ou em um domínio funcional bem estabelecido; PP2 - variante de sentido trocado em um gene com uma baixa frequência de mutações *missense* benignas e para qual mutações *missense* são um mecanismo comum de doença; PM5 - patogênico suporte, mudança para aminoácido diferente como uma variante patogênica conhecida; PP3 - patogênico moderado, para uma variante de sentido trocado ou em região de splicing, ferramentas de predição computacional unanimemente suportam efeito deletério no gene; PP5 - patogênico suporte, fontes confiáveis reportaram recentemente a variante como patogênica mas as evidências não estão disponíveis para avaliação laboratorial independente e PM2 - patogênico moderado, frequência populacional extremamente baixa em bancos de dados). A variante foi lida 152 vezes com um balanço alélico igual a 0,47.

Figura 36. Variante c.88G>A identificada em heterozigose em comparação ao alelo de referência no gene *CDK8* do paciente 14.



Fonte: Imagem gerada pelo *software* IGV - Integrative Genomes Viewers.

O gene *CDK8* (OMIM* 603184) codifica uma proteína pertencente à família de quinases ciclina-dependentes, sendo um importante regulador do ciclo celular.

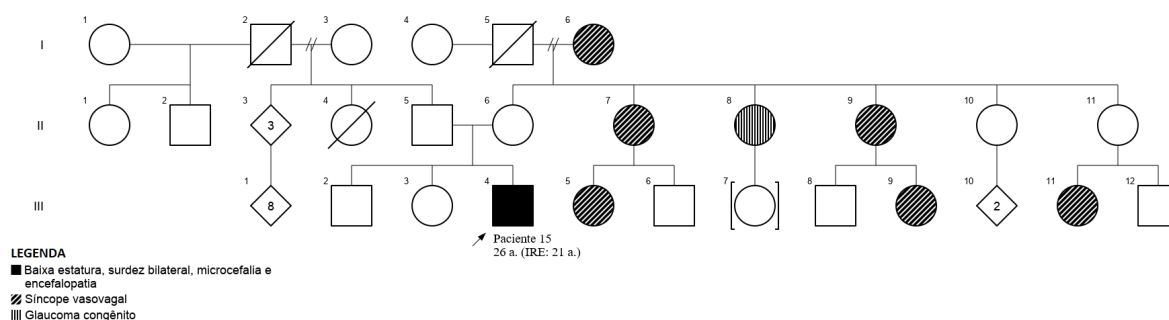
Variantes no gene *CDK8* causam uma condição: 1. Distúrbio de desenvolvimento intelectual com hipotonia e anomalias comportamentais (OMIM# 618748) (AD).

O fenótipo é caracterizado por hipotonia, AGD, DI, TEA e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH). Outros achados incluem dismorfias faciais não-específicas, defeitos cardíacos congênitos, anomalias de movimento ocular ou visual, dificuldade de alimentação e refluxo gastroesofágico (Calpena et al., 2019). Poucos casos foram, até então, reportados na literatura, mas um padrão comum consiste no tipo de variante: de sentido trocado, especificamente presentes em regiões altamente conservadas do domínio funcional de quinase da proteína *CDK8*, compreendendo do aminoácido 21 ao 335 (Interpro - EMBL-EBI). Na amostra do caso índice, algo semelhante ao que é descrito foi observado: variante de sentido trocado inserida na região de domínio quinase (p.G30S). Ademais, a variante *CDK8:c.88G>A* foi descrita na literatura como causal do fenótipo 1 (Calpena et al., 2019). Desta forma, ao considerar a classificação da variante, bem como a sobreposição fenotípica com o quadro do propósito, é razoável assumir que se trata de uma variante de significado clínico.

3.2.15 Paciente 15

Trata-se do terceiro filho de casal não-consanguíneo (heredograma 15 - fig. 37), mãe com 33 anos e pai com 40 à época do parto, nascido de parto cesariano à idade gestacional de 33 semanas, com peso de 1785 g (p50-p75), Apgar 8-9, permaneceu sob internação durante um mês. A mãe relatou diabetes gestacional. Encaminhado para genética aos 16 anos por apresentar quadro de surdez bilateral, baixa estatura, microcefalia e encefalopatia espástica bilateral.

Figura 37. Heredograma do paciente 15.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e história clínica: sustento cefálico com mais de 6 meses de idade, sentou-se sem apoio aos 12 meses, engatinhou entre 1 e 2 anos, andou aos 3 anos, primeiras palavras aos 2 anos, formou frases aos 6 anos, controle vesical diurno e noturno aos 3 anos. Tem asma. Mãe relata que é agitado, faz uso de ritalina (foi diagnosticado com TDAH), é sociável. Baixa ingesta alimentar devido a malformação dentária - tem dificuldade de mastigação. Durante a consulta, mostrou-se cooperativo, obedeceu a comandos e interagiu com o examinador.

Quanto ao exame físico (à idade de 15 anos e 9 meses): antropometria - peso de 31,1 kg (<p3), estatura de 147,5 cm (<p3) e PC de 52,2 cm (<p2). Microcefalia, sinofre discreta, fendas palpebrais retas, raiz nasal alta, asas do nariz hipoplásicas, filtro nasolabial pouco marcado. Palato alto, orelhas rodadas posteriormente, retrognatía discreta, abdome sem

visceromegalias. Encurtamento bilateral do 5º quirodáctilo, não estende completamente o cotovelo esquerdo.

Exames realizados:

TC de crânio: compatível com leucomalácia periventricular bilateral, agenesia e disgenesia do corpo caloso;

Potencial evocado auditivo (2000): sinais de comprometimento bilateral das vias auditivas, localizado na porção intracraniana do nervo auditivo;

Audiometria (2006): deficiência auditiva neurossensorial bilateral;

RM de encéfalo (2009): leucoencefalomalácia periventricular (sequela de anoxia perinatal);

Painel de surdez sindrômica: não foram encontradas variantes que isoladamente explique o quadro do paciente;

Cariótipo com bandeamento G (2015): 46,XY;

CMA (2016): não foram detectadas alterações cromossômicas.

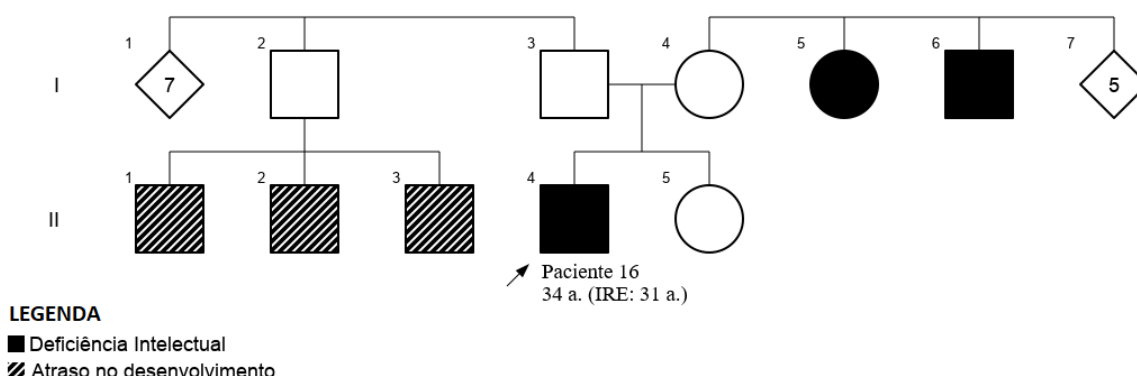
Sequenciamento de exoma:

Não foram detectadas variantes PA/PP que, isoladamente, expliquem o quadro clínico do probando.

3.2.16 Paciente 16

Trata-se do primeiro filho de casal não-consanguíneo (heredograma 16 - fig. 39), mãe com 29 anos e pai com 28 à época do parto, nascido de parto normal à idade gestacional de 9 meses com peso de 3680 g (p50-p85), estatura de 50 cm (p50) e PC de 33 cm (p3-p15). Encaminhado para o serviço de genética aos 5 anos de idade por apresentar dismorfias e quadro de hipertensão arterial.

Figura 39. Heredograma do paciente 16.



Fonte: feito pelo autor empregando o *software* Invitae - Family History Tool. IRE: idade de realização do exoma.

Quanto à evolução neuromotora e história clínica: sustento cefálico aos 4 meses de vida, sentou-se sem apoio aos 8 meses, ficou de pé sem apoio aos 8 meses, andou aos 18 meses e, à época da primeira consulta (aos 5 anos de idade), falava, mas não formava frases (palavras com incorreção). Foi relatado internação aos 3 anos por apresentar hipertensão arterial persistente (1 mês), atualmente, a condição é mais controlada, mas ainda refere oscilações na pressão, é acompanhado por nefrologista. Ademais, durante a infância teve infecções de repetição na garganta que se tornaram menos frequentes conforme o crescimento, tem bronquite. Teve episódios de convulsão até os 12 anos, os quais cessaram com uso de medicação (Depakene).

Quanto ao exame físico (à idade de 5 anos): antropometria - peso de 15,8 kg (p10), estatura de 99,5 cm (p3; a mãe tem 1,48 m) e PC de 49,2 cm (p2). Achatamento occipital, cabelos abundantes, encaracolados, orelhas de implantação normal, sendo que a orelha esquerda é rotacionada para trás e a concha é septada pela hélice, lóbulo preso. Fronte em quilha, sobrancelhas retas, fendas pouco povoadas, sobretudo na sua porção lateral. Olhos em formato de amêndoa, com fendas palpebrais ligeiramente oblíquas para cima, epicanto bilateral, raiz nasal reta, dorso reto e narinas antevertidas, hipoplasia leve da face média, filtro nasolabial curto, com sulco triangular, rima bucal reta, apresentando queilite nos cantos da boca, palato ogival, dentes bem preservados (2ª dentição), pescoço proporcionado ao tórax, ponta do baço palpável, *pectus excavatum*. Genitália masculina, testículos de tamanho reduzido, mas palpáveis. Membros proporcionados, mãos pequenas e largas, prega palmar

única bilateral, clinodactilia do 5º quirodáctilo, encurtamento do 2º metacarpo e sindactilia entre o 2º e 3º pododáctilo.

Exames realizados:

EEG em sono induzido (1993): em vigília normal para a idade;

CT de crânio (1995): normal;

ECG (1995): normal;

Ecodoppler (1995): normal;

Urografia excretora (1995): normal;

RX das mãos (1995): idade óssea normal;

Raio-X de coração e vasos da base (1995): cardiomegalia, pulmões expandidos de transparência normal, questionado infiltrado na base direita, *pectus carinatum*;

Cariótipo com bandeamento G (1997): 46,XY;

Teste molecular para X frágil (2009): negativo.

Sequenciamento de exoma:

Não foram detectadas variantes PA/PP que, isoladamente, expliquem o quadro clínico do probando. No entanto, visto que há histórico familiar positivo para DI, uma perspectiva futura é de testagem de outros indivíduos da família.

3.3 Discussão geral

A aplicação da técnica de WES, em conjunto a outras metodologias, mostrou-se eficaz para a identificação das causas genéticas da DI, como evidenciado pela taxa de diagnóstico de 62,5% (10/16) observada neste estudo. Destaca-se, todavia, que a presença de características sindrômicas está fortemente associada a um aumento na taxa de diagnóstico genético da DI, com rendimentos de duas até cinco vezes superiores em comparação aos dos casos não sindrômicos (Srivastava et al., 2019; Li et al., 2024). Dessa forma, a taxa obtida está em concordância com achados da literatura, especialmente considerando que a amostra foi composta exclusivamente por casos sindrômicos. Adicionalmente, a gravidade dos

quadros analisados representa um fator relevante: a exclusão de quadros leves pode ter contribuído para o aumento da taxa de sucesso diagnóstico (Srivastava et al., 2019; AlMutiri et al., 2023).

Outra informação pertinente diz respeito ao relativo baixo número de variantes no cromossomo X, que correspondeu somente a 10% do total (1/10), divergente do que é reportado na literatura. A interpretação desse dado deve ser, no entanto, cautelosa, visto que a coorte explorada é pequena. Para além do tamanho reduzido da amostra, outras explicações para esse achado incluem vieses na seleção de casos, limitações técnicas do sequenciamento do exoma em regiões do cromossomo X, bem como critérios analíticos mais restritivos para variantes em hemizigose. Em adjunto, variantes de expansão ou alterações epigenéticas – comumente observadas no cromossomo X – podem não ser identificadas por WES.

No contexto de diagnóstico de DI, apenas o paciente 3 apresentou uma variante causal localizada no cromossomo X. Nesse caso, a alta sobreposição fenotípica com a síndrome de Síndrome de Borjerson-Forssman-Lehmann foi resolutiva para a conclusão diagnóstica. A variante identificada, inicialmente classificada como VUS (variante em região de *splicing*), difere das demais previamente descritas como causais para a síndrome, que em sua maioria são variantes do tipo sentido trocado (Hammed et al., 2023).

Neste estudo também foi possível observar o que tem se notado cada vez mais nos últimos anos, principalmente desde a implementação de *NGS* na prática clínica: condições concomitantes são mais frequentes do que se pensava. Neste trabalho, houve uma prevalência de 12,5% (2/16) de achados secundários: a variante *CRYAA:c.347G>A*, causal para catarata e a variante *G6PD:c.202G>A*, causal para deficiência de G6PD. Essa porcentagem também está de acordo com que é descrito pela literatura, que estipula, com uso do WES, um intervalo de prevalência que varia de 1% a 15% (Farwell et al., 2015; Posey et al., 2016, 2017; Balci et al., 2017; Trujillano et al., 2017).

O número de variantes raras identificadas neste estudo reflete não apenas a complexidade molecular da DI, mas também o cenário típico enfrentado por pacientes com doenças raras, marcado pela chamada “odisseia diagnóstica” – termo que designa o percurso prolongado, de alta carga emocional e econômica, vivenciado por pacientes e seus familiares até que um diagnóstico definitivo seja estabelecido (Bauskis et al., 2022). Durante esse processo, os indivíduos acometidos passam por múltiplos profissionais, são submetidos a diversos exames e, não raro, recebem um diagnóstico incorreto ou incompleto, o que acarreta

em atrasos no início de intervenções específicas, aumento de custos médicos e dificuldade no acesso a serviços de suporte e aconselhamento genético (Bauskis et al., 2022; Pavisich; Jones; Baynam, 2024).

Para os pacientes cuja etiologia permanece desconhecida, é recomendada a reavaliação periódica de seus casos. Como demonstrado por Al-Nabhani e al. (2018), a reanálise de dados tidos previamente como negativos pode ser efetiva para elucidação diagnóstica de DI (Al Nabhani et al., 2018). Essa estratégia, aliada à realização de WES em trio, poderia ser especialmente útil nos casos dos irmãos, pacientes 5 e 6, que apresentam um quadro clínico semelhante, embora provavelmente com causas distintas. O mesmo se aplica ao paciente 16, o qual apresenta histórico familiar positivo para DI.

4. CONCLUSÃO

Com emprego de técnicas moleculares, com destaque para o sequenciamento completo de exoma, o objetivo central deste trabalho foi a elucidação da etiologia genética da deficiência intelectual sindrômica em 16 pacientes 46,XY recrutados do Ambulatório de Genética do Hospital Universitário de Brasília.

Como resultado, obteve-se uma taxa de diagnóstico de 62,5% (10/16), condizente com os achados na literatura, sobretudo quando se delimita o grupo amostral a indivíduos com DI que apresentam quadros sindrômicos e de gravidade moderada a severa, reforçando que o WES é um importante método para o diagnóstico da DI.

Um ponto crítico para a interpretação das variantes reportadas foi o processo extensivo de fenotipagem realizado. Essa etapa direciona e regula aquilo que é relevante em termos clínicos, o que pode levar, em última instância, a uma resposta diagnóstica. Em adjunto, dados sobre a gravidez, parto, desenvolvimento, comportamentais e familiares também se mostraram indispensáveis.

Para os pacientes em que não se chegou a um diagnóstico molecular para DI (pacientes 5, 6, 15 e 16), pretende-se seguir a recomendação de reavaliação periódica de seus casos, além da análise da possibilidade de avaliação em trio.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALFARES A. et al. Whole-genome sequencing offers additional but limited clinical utility compared with reanalysis of whole-exome sequencing. **Genetics in Medicine** v.2
- ALMUTIRI, R. et al. Evaluation of Individuals with Non-Syndromic Global Developmental Delay and Intellectual Disability. **Children**, v. 10, n. 3, p. 414, 1 mar. 2023.
- AL-NABHANI, M. et al. Reanalysis of exome sequencing data of intellectual disability samples: Yields and benefits. **Clinical genetics**, v. 94, n. 6, 1 dez. 2018.
- AOKI, Y. et al. Recent advances in RASopathies. **Journal of Human Genetics**, v. 61, n. 1, p. 33–39, 8 out. 2015.
- ASSIA BATZIR, N.; WHITE, J.; SUTTON, V. R. **White-Sutton Syndrome**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK573972/>>.
- BALCI, T. B. et al. Debunking Occam's razor: Diagnosing multiple genetic diseases in families by whole-exome sequencing. **Clinical Genetics**, v. 92, n. 3, p. 281–289, 13 mar. 2017.
- BAUSKIS, A. et al. The diagnostic odyssey: insights from parents of children living with an undiagnosed condition. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 17, n. 1, 18 jun. 2022.
- BELEZA-MEIRELES, A. et al. Cryptic 7q36.2q36.3 deletion causes multiple congenital eye anomalies and craniofacial dysmorphism. **American journal of medical genetics. Part A**, v. 161A, n. 3, p. 589–93, mar. 2013.
- BITTLES, A. H. et al. The Influence of Intellectual Disability on Life Expectancy. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 57, n. 7, p. M470–M472, 1 jul. 2002.
- CALPENA, E. et al. De Novo Missense Substitutions in the Gene Encoding CDK8, a Regulator of the Mediator Complex, Cause a Syndromic Developmental Disorder. **American Journal of Human Genetics**, v. 104, n. 4, p. 709–720, 4 abr. 2019.

COCOCCIONI, L. et al. Currarino syndrome and microcephaly due to a rare 7q36.2 microdeletion: a case report. **Italian Journal of Pediatrics**, v. 44, n. 1, 25 maio 2018.

CURRY, C. J. et al. Evaluation of mental retardation: Recommendations of a consensus conference. **American Journal of Medical Genetics**, v. 72, n. 4, p. 468–477, 12 nov. 1997.

CUVERTINO, S. et al. ACTB Loss-of-Function Mutations Result in a Pleiotropic Developmental Disorder. **American Journal of Human Genetics**, v. 101, n. 6, p. 1021–1033, 7 dez. 2017.

DE LIGT, J. et al. Diagnostic Exome Sequencing in Persons with Severe Intellectual Disability. **New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 20, p. 1921–1929, 15 nov. 2012.

DEMARI, J. et al. *CLTC* as a clinically novel gene associated with multiple malformations and developmental delay. **American journal of medical genetics. Part A**, v. 170, n. 4, p. 958–966, 29 jan. 2016.

EDVARDSON, S. et al. West syndrome caused by *ST3Gal-III* deficiency. **Epilepsia**, v. 54, n. 2, p. e24–e27, 17 dez. 2012.

ELLISON, J. W.; ROSENFELD, J. A.; SHAFFER, L. G. Genetic Basis of Intellectual Disability. **Annual Review of Medicine**, v. 64, n. 1, p. 441–450, 14 jan. 2013.

FARWELL, K. D. et al. Enhanced utility of family-centered diagnostic exome sequencing with inheritance model-based analysis: results from 500 unselected families with undiagnosed genetic conditions. **Genetics in Medicine**, v. 17, n. 7, p. 578–586, 13 nov. 2014.

GIORGIO, E. et al. Whole exome sequencing is necessary to clarify ID/DD cases with de novo copy number variants of uncertain significance: Two proof-of-concept examples. **American Journal of Medical Genetics - Part A**, v. 170, n. 7, p. 1772–1779, 25 abr. 2016.

GREEN, R. C. et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. **Genetics in Medicine**, v. 15, n. 7, p. 565–574, 2013.

HAMDAN, F. F. et al. High Rate of Recurrent De Novo Mutations in Developmental and Epileptic Encephalopathies. **American Journal of Human Genetics**, v. 101, n. 5, p. 664–685, 2 nov. 2017.

HAMEED, M. et al. Borjeson-Forssman-Lehmann Syndrome: Clinical Features and Diagnostic Challenges. **Brain & Neurorehabilitation**, v. 16, n. 3, 1 jan. 2023.

HAO, X.-D. et al. De novo mutations of TUBA3D are associated with keratoconus. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 13570, 2017.

HARRIS, E. L. et al. A recurrent de novo MAX p.Arg60Gln variant causes a syndromic overgrowth disorder through differential expression of c-Myc target genes. **American journal of human genetics**, v. 111, n. 1, p. 119–132, abr. 2024.

HARRIS, P. C.; TORRES, V. E. **Polycystic Kidney Disease, Autosomal Dominant**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1246/>>.

HEBRON, K. E.; HERNANDEZ, E. R.; YOHE, M. E. The RASopathies: from pathogenetics to therapeutics. **Disease Models & Mechanisms**, v. 15, n. 2, 1 fev. 2022.

HOSKING, F. J. et al. Mortality Among Adults With Intellectual Disability in England: Comparisons With the General Population. **American Journal of Public Health**, v. 106, n. 8, p. 1483–1490, ago. 2016.

HUMEAU, Y. et al. X-linked mental retardation: focus on synaptic function and plasticity. **Journal of Neurochemistry**, v. 109, n. 1, p. 1–14, abr. 2009.

INTERPRO EMBL-EBI. **InterPro protein sequence analysis & classification** < InterPro < EMBL-EBI. Disponível em: <<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>>.

KALIA, S. S. et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. **Genetics in Medicine**, v. 19, n. 2, p. 249–255, 17 nov. 2016.

KARAM, S. M. et al. Genetic causes of intellectual disability in a birth cohort: A population-based study. **American Journal of Medical Genetics. Part a**, v. 167, n. 6, p. 1204–1214, 1 jun. 2015.

KOCHINKE, K. et al. Systematic Phenomics Analysis Deconvolutes Genes Mutated in Intellectual Disability into Biologically Coherent Modules. **The American Journal of Human Genetics**, v. 98, n. 1, p. 149–164, jan. 2016.

KUHLENBAÜMER G. et al Novel genomic techniques open new avenues in the analysis of monogenic disorders. **Hum Mutat** v. 32, n. 1, p.144-151, 2011.0, n. 11, p. 1328-1333, 2018.

LANDES, S. D.; TURK, M. A. Health equity for people with intellectual and developmental disability requires vast improvements to data collection: Lessons from the COVID-19 pandemic. **Disability and Health Journal**, v. 17, n. 1, p. 101539, jan. 2024.

LEE, K. et al. ACMG SF v3.3 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). **Genetics in Medicine**, v. 27, n. 8, p. 101454–101454, 23 jun. 2025.

LI, C. et al. Trio-whole exome sequencing reveals the importance of de novo variants in children with intellectual disability and developmental delay. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, 11 nov. 2024.

LIMA, S. E. **Busca da etiologia genética de casos de deficiência auditiva síndrômicos e não síndrômicos em pacientes do Distrito Federal**. Universidade de Brasília: [s.n.].

MAHTANI, K. et al. Importance of Family History in the Era of Exome Analysis: A Report of a Family with Multiple Concurrent Genetic Diseases. **Human Heredity**, v. 86, n. 1-4, p. 28–33, 1 jan. 2021.

MAIA, N. et al. Intellectual disability genomics: current state, pitfalls and future challenges. **BMC Genomics**, v. 22, n. 1, dez. 2021.

MAJEWSKI J. et al. What can exome sequencing do for you? **J Med Genet** v. 48, n. 9, p. 580-589, 2011.

MANSOUR, S. et al. **Lymphedema-Distichiasis Syndrome**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1457/>>.

MAULIK, P. K. et al. Prevalence of intellectual disability: a meta-analysis of population-based studies. **Research in developmental disabilities**, v. 32, n. 2, p. 419–36, 2011.

MCKENZIE, K. et al. Systematic Review of the Prevalence and Incidence of Intellectual Disabilities: Current Trends and Issues. **Current Developmental Disorders Reports**, v. 3, n. 2, p. 104–115, 15 abr. 2016.

MCLAREN, J.; BRYSON, S. E. Review of recent epidemiological studies of mental retardation: prevalence, associated disorders, and etiology. **American journal of mental retardation : AJMR**, v. 92, n. 3, p. 243–54, nov. 1987.

MICHELINI, S. et al. Clinical and genetic study of 46 Italian patients with primary lymphedema. **Lymphology**, v. 45, n. 1, p. 3–12, mar. 2012.

MOOSAJEE, M.; HINGORANI, M.; MOORE, A. T. **PAX6-Related Aniridia**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1360/>>.

NABAIS DE SÁ et al. De Novo Variants in SPOP Cause Two Clinically Distinct Neurodevelopmental Disorders. **American Journal of Human Genetics**, v. 106, n. 3, p. 405–411, 5 mar. 2020.

NAVA, C. et al. Cardio-facio-cutaneous and Noonan syndromes due to mutations in the RAS/MAPK signalling pathway: genotype phenotype relationships and overlap with Costello syndrome. **Journal of Medical Genetics**, v. 44, n. 12, p. 763–771, 14 set. 2007.

PATEL, D. R. et al. A clinical primer on intellectual disability. **Translational Pediatrics**, v. 9, n. S1, p. S23–S35, fev. 2020.

PAULSON, H. Repeat Expansion Diseases. **Neurogenetics, Part I**, v. 147, p. 105–123, 2018.

PAVISICH, K.; JONES, H.; GARETH BAYNAM. The diagnostic odyssey for children living with a rare disease – Caregiver and patient perspectives: A narrative review with recommendations. **Rare**, v. 2, p. 100022–100022, 1 jan. 2024.

PETERSEN B. S. et al. Opportunities and challenges of whole-genome and -exome sequencing. **BMC Genetics** v. 18,1 n. 14, 2017.

PHAM, H. H. et al. Advancing Health Policy and Outcomes for People With Intellectual or Developmental Disabilities. **JAMA Health Forum**, v. 5, n. 8, p. e242201–e242201, 2 ago. 2024.

POLYAK, A.; ROSENFELD, J. A.; GIRIRAJAN, S. An assessment of sex bias in neurodevelopmental disorders. **Genome Medicine**, v. 7, n. 1, 27 ago. 2015.

POSEY, J. E. et al. Resolution of Disease Phenotypes Resulting from Multilocus Genomic Variation. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 1, p. 21–31, 5 jan. 2017.

PROSSER, J.; VAN HEYNINGEN, V. PAX6 mutations reviewed. **Human Mutation**, v. 11, n. 2, p. 93–108, 1998.

PROTIC, D. D. et al. Fragile X Syndrome: From Molecular Aspect to Clinical Treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 4, p. 1935, 9 fev. 2022.

RAUEN, K. A. **Cardiofaciocutaneous Syndrome**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1186/>>.

RICHARDS, S. 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: official journal of the American College of Medical Genetics**, v. 17, n. 5, p. 405–24, 2015.

RICHARDSON, S. R.; O'MALLEY, G. F. **Glucose 6 Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficiency**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470315/>>.

RICHTER, L. et al. Clinical variability of autosomal dominant cataract, microcornea and corneal opacity and novel mutation in the alpha A crystallin gene (*CRYAA*). **American Journal of Medical Genetics**, v. 146A, n. 7, p. 833–842, 1 abr. 2008.

ROCHE, M. I.; BERG, J. S. Incidental Findings with Genomic Testing: Implications for Genetic Counseling Practice. **Current Genetic Medicine Reports**, v. 3, n. 4, p. 166–176, 25 ago. 2015.

SANTEN, E. et al. Coffin-Siris Syndrome and the BAF Complex: Genotype-Phenotype Study in 63 Patients. **Human Mutation**, v. 34, n. 11, p. 1519–1528, 1 nov. 2013.

SCHRIER VERGANO, S. et al. **Coffin-Siris Syndrome**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK131811/>>.

SHAREEF, S.; HOROWITZ, D.; KALIYADAN, F. **Cutis Vertice Gyrata**. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/NBK/nbk539812>>.

SIM, J. C. H.; WHITE, S. M.; LOCKHART, P. J. *ARID1B*-mediated disorders: Mutations and possible mechanisms. **Intractable & Rare Diseases Research**, v. 4, n. 1, p. 17–23, 2015.

SINGH, A. K. et al. Detecting copy number variation in next generation sequencing data from diagnostic gene panels. **BMC Medical Genomics**, v. 14, n. 1, 31 ago. 2021.

SOLOVIEFF, N. et al. Pleiotropy in complex traits: challenges and strategies. **Nature Reviews Genetics**, v. 14, n. 7, p. 483–495, 11 jun. 2013.

SRIVASTAVA, S. et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. **Genetics in Medicine**, v. 21, n. 11, p. 2413–2421, 11 jun. 2019.

STOLLER, J. K.; LACBAWAN, F. L.; ABOUSSOUAN, L. S. **Alpha-1 Antitrypsin Deficiency**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1519/>>.

TAVIAN, D. et al. *FOXC2* disease-mutations identified in lymphedema-distichiasis patients cause both loss and gain of protein function. **Oncotarget**, v. 7, n. 34, p. 54228–54239, 2 jun. 2016.

TOMAC, V. et al. Etiology and the Genetic Basis of Intellectual Disability in the Pediatric Population. **Southeastern European Medical Journal**, v. 1, n. 1, p. 144–153, 3 jul. 2017.

TRUJILLANO, D. et al. Clinical exome sequencing: results from 2819 samples reflecting 1000 families. **European Journal of Human Genetics**, v. 25, n. 2, p. 176–182, 16 nov. 2016.

TURNER, G. et al. Börjeson-Forssman-Lehmann syndrome: clinical manifestations and gene localization to Xq26-27. **American journal of medical genetics**, v. 34, n. 4, p. 463–9, dez. 1989.

VERGULT, S. et al. 17q24.2 microdeletions: a new syndromal entity with intellectual disability, truncal obesity, mood swings and hallucinations. **European Journal of Human Genetics**, v. 20, n. 5, p. 534–539, 14 dez. 2011.

VERKERK, A. J. et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. **Cell**, v. 65, n. 5, p. 905–14, 1991.

VERLOES, A. et al. **Baraitser-Winter Cerebrofrontofacial Syndrome**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK327153/>>.

WATSON, C. T. et al. The Genetics of Microdeletion and Microduplication Syndromes: An Update. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 15, p. 215–244, 2014.

WATSON, M. S. ACMG policy statement: Updated recommendations regarding analysis and reporting of secondary findings in clinical genome-scale sequencing. *Genetics in Medicine*, v. 17, n. 1, p. 68–69, 2015.

WHITNEY, R. et al. The epilepsy phenotype of *ST3GAL3*-related developmental and epileptic encephalopathy. **Epilepsia Open**, v. 8, n. 2, p. 623–632, 24 abr. 2023.

WIESER, T. **Carnitine Palmitoyltransferase II Deficiency**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1253/>>.

WRIGHT, C. F. et al. Genetic diagnosis of developmental disorders in the DDD study: a scalable analysis of genome-wide research data. **The Lancet**, v. 385, n. 9975, p. 1305–1314, abr. 2015.

ZODY, M. C. et al. DNA sequence of human chromosome 17 and analysis of rearrangement in the human lineage. **Nature**, v. 440, n. 7087, p. 1045–1049, 20 abr. 2006.

ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Investigação da etiologia da deficiência intelectual síndrome

Pesquisador: Juliana Forte Mazzeu de Araújo

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 4

CAAE: 84001517.8.0000.5558

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília - UNB

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE APOIO A PESQUISA DO DISTRITO FEDERAL FAPDF

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.739.066

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo genético que visa, por meio de amostras sanguíneas, detectar alterações que justifiquem quadro fenotípico de retardo mental. A presente avaliação trata de emenda para análise mais detalhada das amostras coletadas. A metodologia adicional consiste no sequenciamento do exoma.

Objetivo da Pesquisa:

Investigar as causas genéticas da deficiência intelectual em pacientes atendidos em serviços de genética no DF.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

1. Relacionados à punção venosa, já discutidos em pareceres anteriores;
2. Relacionados ao achado de mutações genéticas incidentais que indiquem doença futura.

Benefícios:

Possibilitar tratamento de condições existentes e prevenção de condições futuras.

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

**UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA**



Continuação do Parecer: 3.739.066

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Na última avaliação esta colegiado solicitou a inclusão da autorização de consulta das informações caso os indivíduos da pesquisa mudassem de ideia após realização dos exames.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

AO TCLE foi adicionado o seguinte trecho:

Fica estabelecido que, caso mude de ideia, o participante pode requerer as informações genéticas testadas a qualquer momento, mesmo que tenha consentido em não recebê-las em um primeiro acesso.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise do colegiado em reunião ordinária dia 27/10/2019, o parecer foi pela aprovação do projeto

Considerações Finais a critério do CEP:

Após análise do colegiado em reunião ordinária dia 27/10/2019, o parecer foi pela aprovação do projeto

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1295019_E1.pdf	30/10/2019 10:55:28		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_emenda_aditiva_V3.pdf	30/10/2019 10:54:56	Juliana Forte Mazzeu de Araújo	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_E1_v3.pdf	26/09/2019 09:40:55	Juliana Forte Mazzeu de Araújo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_emenda_aditiva_v3.pdf	23/09/2019 16:49:52	Juliana Forte Mazzeu de Araújo	Aceito
Outros	Carta_de_solicitacao_emenda_aditiva.pdf	02/05/2019 16:32:28	Juliana Forte Mazzeu de Araújo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.739.066

BRASILIA, 02 de Dezembro de 2019

Assinado por:
Antônio Carlos Rodrigues da Cunha
(Coordenador(a))

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

Página 03 de 03

ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

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

O objetivo desta pesquisa é estudar os aspectos clínicos e genéticos da deficiência intelectual síndrome, 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 ressarcido(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.

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

_____, ____ de _____ de _____.

ANEXO 3 – COMPROVANTE DE PUBLICAÇÃO



American Journal of Medical Genetics Part A



CASE REPORT

Longitudinal Insights Into Polydactyly-Macrocephaly Syndrome: A Case Report of an Adult With a Recurrent *MAX* Variant

Reyner S. de Oliveira^{1,2} | Karina F. Henriques³ | Samyra E. Lima² | Mara S. Cordoba⁴ | Aline Pic-Taylor^{3,5} | Silviene F. Oliveira^{3,5} | Juliana F. Mazzeu^{1,2,4,5}

¹Programa de Pós-Graduação Em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil | ²Laboratório de Genética Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil | ³Departamento de Genética e Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil | ⁴Hospital Universitário, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil | ⁵Instituto Nacional de Doenças Raras (InRaras), Universidade de Brasília, Brasília, Brazil

Correspondence: Juliana F. Mazzeu (julianamazzeu@unb.br)

Received: 24 April 2025 | Revised: 12 June 2025 | Accepted: 18 June 2025

Funding: This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior–Brasil (CAPES), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF), Universidade de Brasília, and Instituto Nacional de Doenças Raras (InRaras).

Keywords: exome sequencing | *MAX* gene | neurodevelopmental disorder | polydactyly-macrocephaly syndrome

ABSTRACT

As genetic sequencing technologies—particularly whole-exome sequencing—have become readily accessible, their role has progressively shifted from identifying candidate genes for old or new syndromes to elucidating the etiology of ultra-rare disorders, where the population of affected individuals is frequently scarce and challenging to study. A newly described syndromic disorder, Polydactyly-Macrocephaly Syndrome (PMS), caused by a recurrent *de novo* variant in the *MAX* gene, has been reported in three individuals aged between 0 and 7 years. Here, we report a 19-year-old male with clinical follow-ups in our genetics unit since birth who carries the same recurrent *MAX* gene variant, along with glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency as a concurrent condition. Our findings provide valuable longitudinal insights into PMS variable expressivity and natural history and reinforce the recurrence of the c.179G>A (p.Arg60Gln) variant in all cases reported so far.

1 | Introduction

Genetic sequencing has become a readily accessible and widely adopted tool for elucidating the etiology of rare conditions, both in academic research and clinical practice. In that respect, whole-exome sequencing (WES) is particularly valuable, as it captures approximately 95% of coding regions (Alfares et al. 2018). Although these regions account for about as little as 2% of the human genome, it is estimated that they harbor ~85% of clinically relevant variants (Majewski et al. 2011; Petersen et al. 2017). Since its introduction, however, the rate at which new candidate genes are identified has steadily declined.

Current applications are mainly oriented toward the genetic characterization of ultra-rare disorders, where the cohorts of affected individuals are frequently small and challenging to study. Despite these efforts, the underlying genetic cause of 40% to 60% of individuals with rare neurodevelopmental disorders (NDDs) remains unidentified, even after extensive genetic testing (Wright et al. 2023).

Therein, Harris et al. (2024) have described three individuals with a new syndromic overgrowth disorder, termed Polydactyly-Macrocephaly Syndrome (PMS), caused by a recurrent *de novo* c.179G>A (p.Arg60Gln) variant in Myc-associated factor X

© 2025 Wiley Periodicals LLC.

American Journal of Medical Genetics Part A, 2025; 0:e64165
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.64165>

1 of 4