

T-Exom®

Análise de dados do Exoma completo

Nome do Paciente:	Isaac Lobato França	Código do Paciente:	TM968
Data de Nascimento:	06/11/2018	Local de Coleta:	Domicílio
Sexo:	Masculino	Tipo de Amostra:	Saliva (swab bucal)
Solicitado por:	Dr. Rogério Rodrigues Rita	Recebimento da Amostra:	18/04/2023
	CRM-SC 4.538	Emissão do Relatório:	07/07/2023

Exame Solicitado

Sequenciamento e análise dos dados brutos do Exoma completo de Isaac Lobato França.

Indicação Clínica

Paciente com diagnóstico de Transtorno do Espectro do Autismo (TEA).

RESULTADOS OBTIDOS

A análise genética do Exoma completo de Isaac Lobato França foi realizada a partir da amostra de saliva, sob responsabilidade da TISMOO BIOTECH LABORATÓRIO LTDA (SP, Brasil). Uma variante genética de significado clínico desconhecido foi identificada no gene **MED13**, associado a transtornos do neurodesenvolvimento (Tabela 1). **Esta análise genética não identificou variantes genéticas associadas a outras condições de saúde como achados incidentais e/ou secundários.**

RELATÓRIO DE INTERPRETAÇÃO DOS DADOS GENÉTICOS

INTERPRETAÇÃO DA VARIANTE GENÉTICA DE SIGNIFICADO CLÍNICO DESCONHECIDO
IDENTIFICADA EM GENE RELACIONADO A ETIOLOGIA DO TEA (TABELA 1)

Apesar de Isaac Lobato França possuir variante genética de significado clínico desconhecido (chamadas em inglês de **VUS**, *Variant of Unknown Significance*) para o gene **MED13**, este gene é extremamente intolerante a alterações estruturais que causam perda de função e está associado a transtornos do neurodesenvolvimento com relevância e impacto clínico significativos. Genes que desempenham funções epigenéticas, juntamente com genes relacionados a formação e manutenção de sinapses, são um grupo de genes muito importantes na etiologia do TEA (Samocha et al., 2014; Ganna et al., 2018).

O gene **MED13** codifica uma proteína de importante função no controle da expressão gênica durante o desenvolvimento. O gene **MED13** é intolerante a alterações estruturais e foi relacionado ao TEA e transtornos do neurodesenvolvimento por diversos estudos genômicos populacionais (Iossifov et al., 2014; Yuen et al., 2017; Snijders et al., 2018; Brea-Fernández et al., 2022; Zhou et al., 2022).

T-Exom®

Análise de dados do Exoma completo

Nome do Paciente:	Isaac Lobato França	Código do Paciente:	TM968
Data de Nascimento:	06/11/2018	Local de Coleta:	Domicílio
Sexo:	Masculino	Tipo de Amostra:	Saliva (swab bucal)
Solicitado por:	Dr. Rogério Rodrigues Rita	Recebimento da Amostra:	18/04/2023
	CRM-SC 4.538	Emissão do Relatório:	07/07/2023

A variante genética p.D289V do gene **MED13** identificada em Isaac Lobato França é extremamente rara na população pelo fato de não estar registrada em bancos de dados genômicos internacionais e, portanto, de significado clínico desconhecido (VUS) até o momento.

Tabela 1 - Variante genética de significado clínico desconhecido (Variant of Unknown Clinical Significance, VUS) identificada em gene relacionado a etiologia de transtornos do neurodesenvolvimento.

Gene/ Isoforma	Nucleotídeos/ Aminoácidos Alterados	Localização Cromossômica (hg38)	Zigossidade	Referências Bibliográficas
MED13 (NM_005121)	c.A866T p.D289V	17:62031587	Heterozigoto	Iossifov et al., 2014 Yuen et al., 2017 Snijders et al., 2018

COMENTÁRIOS FINAIS

O TEA é um transtorno multigênico e multifatorial, por isso, ainda é um desafio definir quais genes e respectivas variantes genéticas têm relevância clínica. Isoladamente, variantes genéticas de significado clínico desconhecido (VUS) podem resultar em características clínicas relevantes para o TEA quando combinadas com outras variações genéticas. Na prática, isto quer dizer que ainda não há como prever se variantes genéticas de significado clínico desconhecido (VUS) podem ser fator de risco relevante quando combinadas com outros fatores de risco em um determinado indivíduo (Gaugler et al., 2014). Por esta razão, a TISMOO tem como premissa relatar VUS para análises genéticas futuras (Lovato et al., 2019).

Na análise do Exoma completo de Isaac Lobato França, foi identificada uma variante genética de significado clínico desconhecido (VUS) no gene **MED13** como evento genético de extrema raridade populacional. Devido as características clínicas do paciente e desta alteração genética específica, sugere-se a investigação nos progenitores para verificar a possibilidade de mutação *de novo*, quer dizer, alteração genética que não foi herdada. **Esta análise genética não identificou variantes genéticas associadas a outras condições de saúde como achados incidentais e/ou secundários.**

T-Exom®

Análise de dados do Exoma completo

Nome do Paciente:	Isaac Lobato França	Código do Paciente:	TM968
Data de Nascimento:	06/11/2018	Local de Coleta:	Domicílio
Sexo:	Masculino	Tipo de Amostra:	Saliva (swab bucal)
Solicitado por:	Dr. Rogério Rodrigues Rita	Recebimento da Amostra:	18/04/2023
	CRM-SC 4.538	Emissão do Relatório:	07/07/2023

As condições clínicas relacionadas a alterações genéticas, fenótipos clínicos e riscos associados a variantes genéticas devem ser avaliadas pela médica que acompanha o paciente.

De acordo com o *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), é recomendado que os dados do sequenciamento genético sejam reanalisados após um a três anos da emissão destes resultados (Deignan et al., 2019).

EM TODOS OS CASOS DE VARIANTES GENÉTICAS RELATADAS NESTE LAUDO, NÃO É POSSÍVEL AFIRMAR A ORIGEM DAS ALTERAÇÕES, SE FORAM HERDADAS OU SE SÃO MUTAÇÕES *DE NOVO*, POR INDISPONIBILIDADE DE DADOS GENÉTICOS DOS PROGENITORES.

É recomendado que os achados genéticos sejam correlacionados com os dados clínicos e, se for o caso, que seja consultado um serviço de aconselhamento genético.

METODOLOGIA

Sequenciamento do Exoma completo

O Exoma completo do paciente foi sequenciado sob responsabilidade da TISMOO BIOTECH LABORATÓRIO LTDA (SP, Brasil). O material biológico utilizado para o sequenciamento genético foi obtido a partir da amostra oral. Em seguida, o DNA genômico foi obtido e apenas as regiões codificantes (éxons) foram submetidas ao sequenciamento genético em larga escala com cobertura mínima de 100x usando leituras de 150 PE (*paired end*), com mais de 97% dos dados apresentando *score* de qualidade superior 20 (PHRED Q20). Os dados gerados em formato digital (arquivo texto - FastQ) foram armazenados sob sigilo em uma nuvem computacional e analisados por equipe especializada de bioinformatas da Tismoo.

Análise do Exoma completo

1. Recebimento dos dados sequenciados do Exoma completo gerado sob responsabilidade da TISMOO;
2. Análise de bioinformática, subdividida nas seguintes etapas: análise de qualidade dos dados genéticos, mapeamento contra sequência humana de referência (versão hg38); detecção de variantes genéticas;
3. Correlação das variantes genéticas do paciente com variantes genéticas previamente descritas nos bancos de dados e na literatura científica;
4. Seleção dos resultados realizada com base nas informações clínicas fornecidas pela médica prescritora bem como anamnese estruturada.

Interpretação dos resultados

A confecção deste laudo foi baseada na RDC 302/2005 da ANVISA, nas diretrizes da Sociedade Brasileira de Genética Médica (SBGM) e no *American College of Medical Genetics and Genomics* – ACMG (Richards et al., 2015, Miller et al., 2021).

As variantes genéticas, quando identificadas, são correlacionadas e classificadas considerando os seguintes critérios: nível de zigosidade da variante (homozigose, heterozigose e hemizigose); relação entre função biológica da variante identificada, o fenótipo do paciente e dados oriundos da literatura científica mundial comprovando a correlação entre a variante genética identificada e sua relação com potencial significado clínico.

T-Exom®

Análise de dados do Exoma completo

Nome do Paciente:	Isaac Lobato França	Código do Paciente:	TM968
Data de Nascimento:	06/11/2018	Local de Coleta:	Domicílio
Sexo:	Masculino	Tipo de Amostra:	Saliva (swab bucal)
Solicitado por:	Dr. Rogério Rodrigues Rita	Recebimento da Amostra:	18/04/2023
	CRM-SC 4.538	Emissão do Relatório:	07/07/2023

Com o aumento das pesquisas voltadas ao estudo genômico, novas associações entre variantes genéticas de significado clínico tendem a ser identificadas. A descrição das variantes genéticas segue os padrões de nomenclatura estabelecidos pelo *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG). Neste laudo, serão relatadas todas as variantes genéticas classificadas como patogênicas, provavelmente patogênicas e variantes de significado desconhecido (VUS) que tenham potencial relação com o quadro clínico do paciente. Variantes genéticas provavelmente benignas ou benignas não serão relatadas (Richards et al., 2015).

Achados incidentais e ou secundários, serão relatados se passíveis de tratamento e/ou prevenção e seguindo a lista de genes recomendados pelo ACMG (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/docs/acmg/>) (Green et al., 2013, Miller et al., 2021, 2022, 2023).

Limitações da metodologia utilizada

A técnica de sequenciamento genético como a do Exoma completo não é adequada para alguns tipos de variantes genéticas, onde se incluem: variantes com expansão ou encurtamento de microssatélites, regiões com baixa cobertura de sequenciamento e variantes oriundas de regiões paralogas (sequências homólogas geradas por duplicação de genes), variantes de números de cópias CNV (do inglês, *copy number variation*) e DNA mitocondrial.

A identificação das variantes genéticas reportadas no laudo, está baseada na literatura científica e na análise de bancos de dados públicos atuais e pode ser, portanto, passível de ter sua associação alterada no futuro (Duzkale et al., 2013; Lek et al., 2016; Strande et al., 2017).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brea-Fernández et al. Trio-based exome sequencing reveals a high rate of the de novo variants in intellectual disability. *Eur J Hum Genet.* 30(8):938-45, 2022.
- Deignan et al. Points to consider in the reevaluation and reanalysis of genomic test results: a statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 21(6):1267-1270, 2019.
- Duzkale et al. A systematic approach to assessing the clinical significance of genetic variants. *Clin Genet.* 84(5):453-63, 2013.
- Ganna et al. Quantifying the Impact of Rare and Ultra-rare Coding Variation across the Phenotypic Spectrum. *Am J Hum Genet.* 102(6):1204-1211, 2018.
- Gaugler et al. Most genetic risk for autism resides with common variation. *Nature genetics.* 46(8), 881-885, 2014.
- Green et al. (2013). ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genetics in medicine*, 15(7), 565-574, 2013.
- Iossifov et al. The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature* 515(7526):216-21, 2014.
- Lek et al. Exome Aggregation Consortium. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 536(7616):285-91, 2016.

T-Exom®

Análise de dados do Exoma completo

Nome do Paciente:	Isaac Lobato França	Código do Paciente:	TM968
Data de Nascimento:	06/11/2018	Local de Coleta:	Domicílio
Sexo:	Masculino	Tipo de Amostra:	Saliva (swab bucal)
Solicitado por:	Dr. Rogério Rodrigues Rita	Recebimento da Amostra:	18/04/2023
	CRM-SC 4.538	Emissão do Relatório:	07/07/2023

- Lovato et al. The relevance of variants with unknown significance for Autism Spectrum Disorder considering the genotype-phenotype interrelationship. *Front Psychiatry*. 10:409, 2019.
- Miller, et al. ACMG SF v3.0 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). *Genet Med*. 1-10, 2021.
- Miller, et al. ACMG SF v3. 1 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*, 24(7), 1407-1414, 2022.
- Miller et al. ACMG SF v3.2 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). *Genet Med*. 2023 Jun 15:100866. doi: 10.1016/j.gim.2023.100866.
- Richards et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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. *Genet Med*. 17(5):405-24, 2015.
- Samocha et al. A framework for the interpretation of de novo mutation in human disease. *Nat Genet*. 46(9):944-50, 2014.
- Snijders et al. De novo mutations in MED13, a component of the Mediator complex, are associated with a novel neurodevelopmental disorder. *Hum Genet* 137(5):375-88, 2018.
- Strande et al. Evaluating the Clinical Validity of Gene-Disease Associations: An Evidence-Based Framework Developed by the Clinical Genome Resource. *Am J Hum Genet*. 100(6):895-906, 2017.
- Yuen et al. Whole genome sequencing resource identifies 18 new candidate genes for autism spectrum disorder. *Nat Neurosci*. 20(4):602-611, 2017.
- Zhou et al. Integrating de novo and inherited variants in 42,607 autism cases identifies mutations in new moderate-risk genes. *Nature Genet*. 54(9):1305-19, 2022.

T-Exom®

Análise de dados do Exoma completo

Nome do Paciente:	Isaac Lobato França	Código do Paciente:	TM968
Data de Nascimento:	06/11/2018	Local de Coleta:	Domicílio
Sexo:	Masculino	Tipo de Amostra:	Saliva (swab bucal)
Solicitado por:	Dr. Rogério Rodrigues Rita	Recebimento da Amostra:	18/04/2023
	CRM-SC 4.538	Emissão do Relatório:	07/07/2023

Equipe técnica

Dr. Alysson R. Muotri – Neurogeneticista
Dr. Carlos A. Gadia – Neuropediatra
Dr. Diogo V. Lovato – Geneticista Molecular
Dra. Graciela C. P. S. Alves – Biologista Molecular e Celular
Dra. Iara Brandão – Neuropediatra e Geneticista
Dr. Roberto H. Herai – Especialista em Bioinformática



Dra. Graciela Conceição Pignatari Simões Alves
Responsável Técnico - CRBio 072910/01-D

Lauda liberado pela Dra. Graciela Conceição Pignatari Simões Alves CRBio 072910/01-D
Tismoo Biotech Laboratório LTDA - CRBio 001140/01