

RELATÓRIO DE ANÁLISE DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO (NGS)

Nome: Issac Lobato França

Protocolo: JST2203

DN: 06/11/2018

Sequenciado por: Tismoo

Modalidade: Exoma Completo

Data de Análise: 23/01/2024

METODOLOGIA

A análise a seguir é o laudo genético, condizentes com o quadro clínico apresentado pelo paciente, foram autorizados por Tony Calleri França sendo toda e qualquer informação processada com seu consentimento prévio.

A busca por variantes foi realizada a partir dos dados genéticos em formato FASTQ sendo a que cada base das variantes aqui relatadas foi lida, no mínimo 20x.

Para a realização desta análise foi utilizada a versão **GRCh38** do genoma humano de referência, seguindo as recomendações de boas práticas para montagem e anotação genômica¹. O DNA mitocondrial foi anotado utilizando a versão rCRS (NC_012920) e frequências populacionais relatadas no Mitomap².

As informações obtidas para este parecer foram obtidas em literatura científica e bases de dados como OMIM, NCBI, 1000genomes, ExAC, SFARI e UNIPROT, bem como referências citadas, tendo como hipótese diagnóstica: Atraso de desenvolvimento, TEA acidose metabólica, distúrbio gastrointestinal.

Para determinar a significância clínica, classificamos as variantes utilizando informações obtidas nos bancos de dados citados e ferramentas bioinformáticas, segundo o *Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics (ACMG) and Genomics and the Association for Molecular Pathology*³.

A busca de variantes foi realizada utilizando os seguintes critérios de forma combinada ou independente: significado clínico, potencial de perda de função do gene, frequência populacional da variante e zigosidade. Foram consideradas somente variantes que cumpram os critérios descritos acima em genes onde haja uma correlação fenótipo/genótipo.

RESULTADO

Não foram encontradas variantes patogênicas que justifiquem o quadro clínico.

Foram encontradas uma variante **patogênica** e seis de **significado clínico incerto** relatadas nas tabelas 1 e 2 como achados complementares.

Tabela 1: Variantes raras em genes associados ao desenvolvimento de quadros fenotípicos similares ao do paciente.

Gene	Localização (GRCh38)	Variante	Zigosidade (Ref/Alt)	Classificação (ACMG)	Condições associadas (Herança)	dbSNP (Origem)
<i>GALT</i>	Chr9 34647858	NM_000155:c.C404T (p.S135L)	Heterozigoto C/T	Patogênica	Galactosemia – AR (OMIM: 230400)	rs111033690 (N/D)
<i>MED13</i>	Chr17 62031587	NM_005121:c.A866T (p.D289V)	Heterozigoto T/A	Significado Incerto (PM2, PP3, BP1)	Transtorno de desenvolvimento intelectual – AD (OMIM: 618009)	rs925249026 (N/D)
<i>ASS1</i>	Chr9 130458525	NM_054012:c.G299A (p.R100H)	Heterozigoto G/A	Significado Incerto (PM1, PM2, PM5, PP5, BP4)	Citrulinemia - AR (OMIM: 215700)	rs138279074 (N/D)
<i>TAT</i>	Chr16 71570312	NM_000353:c.G998A (p.R333H)	Heterozigoto C/T	Significado Incerto (PM2, BP4)	Tirosinemia, tipo II – AR (OMIM: 276600)	rs771408463 (N/D)
<i>FHL1</i>	ChrX 136208570	NM_001159699:c.A665G (p.Q222R)	Hemizigoto A/G	Significado Incerto (PM2, BP4, PM1)	Distrofia muscular de Emery-Dreifuss, tipo 6 – LXR Miopatia corporal redutora, tipo 1A – LXD (OMIM: 300717) Miopatia corporal redutora, 1B – LX (OMIM: 300718) Miopatia escapulooperoneal – LXD (OMIM: 300695)	rs915687031 (N/D)

AD: Autossômica Dominante; **AR:** Autossômica Recessiva; **LXR:** Ligada ao X recessiva; **LXD:** Ligada ao X dominante; **XL:** Ligada ao X; **Ref:** Referência; **Alt:** Alterado; **N/D:** não determinada.

Variante patogênica no gene *GALT*

A variante no gene *GALT* (rs111033690) encontra-se relatada nas bases de dados clínicas consultadas como patogênica para o desenvolvimento de Galactosemia (OMIM: 230400) e está relatada em baixa frequência (ABraOM: 0.0004%, GnomAD: 0.0009%) nas bases de dados populacionais.

GALT expressa a proteína Galactose-1-fosfato uridil transferase (GALT), que catalisa a segunda etapa da via de Leloir do metabolismo da galactose. Variantes patogênicas do tipo *missense* neste gene estão associadas ao desenvolvimento de Galactosemia (OMIM: 230400), de herança autossômica recessiva, caracterizada por catarata, cirrose, vômito, diarreia, atraso de desenvolvimento e anemia hemolítica.

É importante mencionar que estes achados isolados não devem ser considerados suficiente para o desenvolvimento das síndromes associadas à fenótipos de herança autossômica recessiva, já que não encontramos outra variante em *trans* que justifique. Porém, devemos considerar as limitações da metodologia empregada que impossibilita o estudo de sequências não codificantes, reguladoras, intrônicas profundas ou de erro em número de cópias.

Variante de significado incerto no gene *MED13*

A variante no gene *MED13* (rs925249026) não se encontra relatada nas bases de dados clínicas ou populacionais consultadas (PM2). Considera-se, portanto, uma variante de novo, porém, até o momento, sem comprovação de herança nos genitores. Evidências computacionais suportam o efeito deletério do produto desta variante (PP3), sendo que predições bioinformáticas são em sua maioria consistentes ao avaliar a substituição p.D289V *in silico*, classificando a mesma como potencialmente patogênica (8 preditores), de significado incerto (12 preditores) e neutra (0 preditores), sendo alto o nível de conservação (PhastCons100way score: 1.000) observado para o aminoácido mutado, em mamíferos.

Variantes patogênicas do tipo *missense* neste gene estão associadas ao desenvolvimento de Atraso de desenvolvimento intelectual (OMIM: 215700), de herança autossômica dominante, caracterizada por atraso global no desenvolvimento aparente na infância, com desenvolvimento intelectual levemente prejudicado, atraso na fala expressiva e anormalidades comportamentais, incluindo transtorno do espectro do autismo e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH). A maioria dos indivíduos afetados aprende a andar na hora certa ou com algum atraso leve. Características adicionais são altamente

variáveis e podem incluir características dismórficas inespecíficas, obstipação, anomalias oculares e baixo crescimento geral.

Variante de significado incerto no gene *ASS1*

A variante no gene *ASS1* (rs138279074) encontra-se relatada nas bases de dados clínicas consultadas como patogênica para o desenvolvimento de citrulinemia (OMIM: 215700) (PP5) e está relatada em baixa frequência (ABraOM: 0.001%, GnomAD: 0.00018%) nas bases de dados populacionais (PM2). Esta variante encontra-se também em região *Hotspot* para variantes patogênicas (PM1), sendo que outras alterações do tipo *missense*, classificadas como patogênicas, estão relatadas para o mesmo aminoácido (PM5). Evidências computacionais não suportam o efeito deletério do produto desta variante (BP4), sendo que predições bioinformáticas são inconsistentes ao avaliar a substituição p.R476W *in silico*, classificando a mesma como potencialmente patogênica (8 preditores), de significado incerto (13 preditores) e neutra (3 preditores), sendo alto o nível de conservação (PhastCons100way score: 1.000) observado para o aminoácido mutado, em mamíferos.

A proteína codificada por *ASS1* catalisa a penúltima etapa da via Biosintética da arginina. Variantes patogênicas do tipo *missense* neste gene estão associadas ao desenvolvimento de citrulinemia (OMIM: 215700), de herança autossômica recessiva, caracterizada por vômitos, hepatomegalia, letargia, convulsão, atraso de desenvolvimento, irritabilidade, episódios de intoxicação por amônia e alcalose respiratória.

É importante mencionar que estes achados isolados não devem ser considerados suficiente para o desenvolvimento das síndromes associadas à fenótipos de herança autossômica recessiva, já que não encontramos outra variante em *trans* que justifique. Porém, devemos considerar as limitações da metodologia empregada que impossibilita o estudo de sequências não codificantes, reguladoras, intrônicas profundas ou de erro em número de cópias.

Variante de significado incerto no gene *TAT*

A variante no gene *TAT* (rs771408463) não se encontra relatada nas bases de dados clínicas consultadas e está relatada em baixa frequência (ALFA: 0.000028%, GnomAD: 0.000024%) nas bases de dados populacionais (PM2). Evidências computacionais não suportam o efeito deletério do produto desta variante (BP4), sendo que predições bioinformáticas são inconsistentes ao avaliar a substituição p.R333H *in silico*, classificando a mesma como potencialmente patogênica (1 preditor), de significado incerto (8 preditores) e neutra (15 preditores), sendo alto o nível de conservação (PhastCons100way score: 0.901) observado para o aminoácido mutado, em mamíferos.

TAT codifica uma proteína tirosina aminotransferase mitocondrial que está presente no fígado e catalisa a conversão de L-tirosina em p-hidroxifenilpiruvato. Variantes patogênicas do tipo *missense* neste gene estão associadas ao desenvolvimento de Tirosinemia, tipo II (OMIM: 276600), de herança autossômica recessiva, caracterizada por atraso de desenvolvimento e queratoses puntiformes dolorosas dos dedos, palmas das mãos e plantas dos pés.

É importante mencionar que estes achados isolados não devem ser considerados suficiente para o desenvolvimento das síndromes associadas à fenótipos de herança autossômica recessiva, já que não encontramos outra variante em *trans* que justifique. Porém, devemos considerar as limitações da metodologia empregada que impossibilita o estudo de sequências não codificantes, reguladoras, intrônicas profundas ou de erro em número de cópias.

Variante de significado incerto no gene *FHL1*

A variante no gene *FHL1* (rs915687031) não se encontra relatada nas bases de dados clínicas consultadas e está relatada em baixa frequência (ABraOM: 0.001%, TOMMO: 0.00008%) nas bases de dados populacionais (PM2). Esta variante encontra-se também em região *Hotspot* para variantes patogênicas (PM1). Evidências computacionais não suportam o efeito deletério do produto desta variante (BP4), sendo que predições bioinformáticas são inconsistentes ao avaliar a substituição p.Q222R *in silico*, classificando a mesma como sendo de significado incerto (12 preditores) e neutra (7 preditores), sendo alto o nível de

conservação (PhastCons100way score: 1.000) observado para o aminoácido mutado, em mamíferos.

FHL1 codifica uma proteína da família LIM, que contém dois domínios de dedo de zinco altamente conservados e dispostos em tandem, com quatro cisteínas altamente conservadas ligando-se a um átomo de zinco em cada dedo de zinco. Variantes patogênicas do tipo *missense* neste gene estão associadas ao desenvolvimento de Distrofia muscular de Emery-Dreifuss (OMIM: 300696), Miopatia corporal redutora, tipo 1A (OMIM: 300717), Miopatia corporal redutora, tipo 1B (OMIM: 300718), Miopatia escapulooperoneal (OMIM: 300695).

Distrofia muscular de Emery-Dreifuss (OMIM: 300696), de herança ligada ao X recessiva, progressiva, caracterizada por arritmias e defeitos de condução cardíaca, insuficiência respiratória, paralisia de cordas vocais, fraqueza e atrofia muscular.

Miopatia corporal redutora, tipo 1A (OMIM: 300717), de herança ligada ao X dominante, progressiva, caracterizada por contraturas articulares, fraqueza muscular, hiporreflexia e perda de ambulação.

Miopatia corporal redutora, tipo 1B (OMIM: 300718), de herança ligada ao X, progressiva, caracterizada por cardiomiopatia, perda de ambulação, insuficiência respiratória, cifose, lordose, escoliose e hiporreflexia.

Miopatia escapulooperoneal (OMIM: 300695), de herança ligada ao X dominante, progressiva, caracterizada por arritmias, fraqueza muscular, alterações de marcha, miopatia miofibrilar, contraturas articulares e hiporreflexia.

Tabela 2: Variantes raras em genes de susceptibilidade ao Transtorno do Espectro Autista (TEA).

Gene	Localização (GRCh38)	Variante	Zigosidade (Ref/Alt)	Classificação (ACMG)	Condições associadas (Score)	dbSNP (Origem)
<i>DLGAP1</i>	Chr18 3879219	NM_001242761:c.A850G (p.T284A)	Heterozigoto T/C	Significado Incerto (PM2, PP2, BP4)	TEA (SCORE: 2)	rs200178260 (N/D)
<i>MED13</i>	chr17 62031587	NM_005121:c.A866T (p.D289V)	Heterozigoto T/A	Significado Incerto (PM2, PP3, BP1)	TEA (SCORE: 1)	rs925249026* (N/D)

Score (SFARI): Classificação de evidência científica para associação entre o gene descrito e o risco de desenvolvimento de autismo (Score 1: Associação comprovada; Score 2: Forte candidato à associação).

* Variante descrita na Tabela 1.

Variante de significado incerto nos genes *DLGAP1* e *MED13*

A variante no gene *DLGAP1* (rs200178260) encontra-se em baixa frequência nas bases de dados populacionais consultadas (ExAC: 0.000009%) (PM2). Esta variante é do tipo *missense* e encontra-se em um gene com baixa taxa de variação *missense* benigna e no qual variantes *missense* são um mecanismo comum de doença (PP2). Evidências computacionais não suportam o efeito deletério do produto desta variante (BP4), sendo que pedições bioinformáticas são inconsistentes ao avaliar a substituição p.T284A *in silico*, classificando a mesma como potencialmente patogênica (7 preditores), de significado incerto (10 preditores) e neutra (5 preditores), sendo alto o nível de conservação (PhastCons100way score: 0.901) observado para o aminoácido mutado, em mamíferos.

Variantes raras do tipo *missense* em heterozigose nestes genes são associadas à susceptibilidade para desenvolvimento de autismo segundo a base de dados SFARI⁴ (atualização 2023 Q2), sendo a classificação de evidência científica para sua associação pontuado segundo score (Tabela 2).

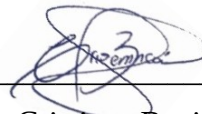
OBSERVAÇÕES

SUGERIMOS E REFORÇAMOS A IMPORTÂNCIA da realização de aconselhamento genético para melhor interpretação dos resultados. Faz-se necessária a correlação clínica com os achados aqui descritos.

- Todas as alterações encontradas foram filtradas pelos protocolos de controle de qualidade de exoma, porém, as variantes relatadas devem ser comprovadas por outro método de sequenciamento ou genotipagem.
- Variantes classificadas como potencialmente patogênicas por algoritmos bioinformáticos não devem ser caracterizadas como patogênicas, já que o estudo funcional das mesmas não foi realizado.



Dra. Vanessa Zanette (PhD)
CRF-PR: 24574
Geneticista
Pós-doutorado em Bioinformática
Responsável Técnica



Dra. Cristiane Benincá (PhD)
CRBio: 108143/07-D
Geneticista
Pós-doutorado em Genética Humana

REFERÊNCIAS

1. Van Der Auwera, G. A. et al. **From fastQ data to high-confidence variant calls: The genome analysis toolkit best practices pipeline.** Current Protocols in Bioinformatics, v. 43, n. 11.10, p. 1–33, 2013.
2. Lott MT, Leipzig JN, Derbeneva O, et al. **mtDNA Variation and Analysis Using Mitomap and Mitomaster.** Curr Protoc Bioinformatics. 2013;44(123):1.23.1-1.23.26. doi:10.1002/0471250953.bi0123s44
3. 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, v. 17, n. 5, p. 405–424, 2015.
4. Abrahams BS, et. al. **SFARI Gene 2.0: a community-driven knowledge base for autism spectrum disorders (ASDs).** Mol Autism. 2013 Oct 3;4(1):36. doi: 10.1186/2040-2392-4-36. PMID: 24090431; PMCID: PMC3851189.