



Aplicabilidade de redes PPI em Biologia de sistemas no contexto da síndrome de Williams-Beuren

PRISCILA MEDEIROS

BOTUCATU – SP

2021

Instituto de Biociências – Seção Técnica de Pós-Graduação
Distrito de Rubião Júnior s.n CEP 18618-000 Botucatu SP Brasil
posgraduacao@ibb.unesp.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Aplicabilidade de redes PPI em Biologia de sistemas no contexto da
síndrome de Williams-Beuren

PRISCILA MEDEIROS

ORIENTADORA: Profa. Dra. Lucilene Arilho Ribeiro-Bicudo

COORIENTADOR: Dr. Bruno Faulin Gamba

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus Botucatu, UNESP, para obtenção do
título de Doutor no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Genética).

BOTUCATU – SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Medeiros, Priscila.

Aplicabilidade de redes PPI em Biologia de sistemas no
contexto da síndrome de Williams-Beuren / Priscila
Medeiros. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Lucilene Arilho Ribeiro-Bicudo

Coorientador: Bruno Faulin Gamba

Capes: 20200005

1. Genética. 2. Genes. 3. Mapeamento de interação de
proteínas. 4. Síndrome de Williams. 5. Williams, Síndrome
de.

Palavras-chave: 7q11.23; Genética; PPI; Redes de interação
proteína-proteína; Síndrome de Williams-Beuren.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família (Eduardo, Ede, Jhonatan e Cleber) que desde sempre apoiaram minhas decisões e, mesmo sem muita compreensão, incentivaram minha jornada.

Obrigada pelo imensurável carinho e amor. *“Ter família, é ter sempre para onde voltar quando tudo perde sentido...”*

Dedico também ao meu filho. Você ainda não sabe, mais é o amor da minha vida. *“Maternar é tornar-se oceano”*.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo, primeiro pela credibilidade e confiança, mas principalmente por ser a pessoa que é, digna, humana, ímpar. Sou extremamente grata por tudo que fez por mim, sobretudo pela paciência e por não desistir de mim. Meu profundo e eterno agradecimento.

Ao meu coorientador, Dr.^a. Bruno Gamba Faulin, por toda paciência, compreensão, aprendizado e amizade. Com certeza se tornou uma pessoa que levarei para sempre comigo.

Aos pacientes e familiares da Associação Goiana da Síndrome de Williams (AGSW) que fizeram parte deste estudo, não haveria pesquisa científica sem a contribuição de vocês.

Aos companheiros de laboratórios que além de compartilhar ciência, compartilharam momentos inesquecíveis durante a pós-graduação, desde a organização até a participação de eventos científicos, minicursos, palestras: Stéfany Empke, Jakeline Santos Oliveira, Thársis Gabryel, Amanda Tanamachi, Alessandro Vassilievitch, Ana Beatriz Palugan, Peu Macedo, Erica Ramos, Camila Baldin, Paula Freire e ao eterno grupinho “Real Oficial”: Marlene Santos, Fernanda Ramos, Gilvana Vasconcelos, Roberta Curado, Sheila Sestari, Marina Machado. Foi uma honra trabalhar e compartilhar tantos momentos com vocês.

Às minhas amigas-irmãs, Luiza Mimura, Luisa Thomazini, Caroline Mitiká, Isabela Lia e seus respectivos, por todo apoio, conselho, amizade e companheirismo. Amigos, a família que o coração escolhe.

Eduardo Marreto, agradeço imensamente pela ajuda na bioinformática.

Aos amigos que mesmo distante, sempre celebram junto comigo cada conquista alcançada: Marina Sousa, Vinícius Dalri, Nayara Finotti, Pedro Paulo, Matheus Pavan, Lívia Paccagnella, Polyana Tizioto, Nádia Amôr, Mônica Furlan.

Às novas amizades que em tão pouco tempo cada um conquistou um espaço especial dentro do meu coração: Lucas Brasa, Bruna Gazeto, Thamara Twan, Fernanda, Alessandra Rossetti. Fazer novas amizades nos recorda que a vida é uma constante surpresa e que algo maravilhoso pode surgir do nada.

Aos professores e pesquisadores que contribuíram de alguma forma na minha trajetória na pós-graduação. Por mais árduo que possa ser, todo ensinamento é uma oportunidade de evoluir.

Aos Prof.(s) Dr.(s) Adriana Camargo Ferrasi, Patrícia Pintor do Reis e Robson Francisco de Carvalho pelas contribuições e sugestões durante o exame de Qualificação.

Aos Prof.(s) Dr.(s) Renata de Oliveira Dias, Narciso Almeida Vieira, Adriana Camargo Ferrasi, Rossano César Bonatto, por aceitarem o convite para composição da banca examinadora.

À Seção de Pós-Graduação do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB) pelo suporte técnico.
Aos professores, alunos e funcionários do Departamento de Genética pelo suporte técnico e acadêmico.

Ao Laboratório de Genética Molecular e Citogenética (LGMCM) da Universidade Federal de Goiás (UFG) de Goiânia (GO), pelo acolhimento e colaboração dos professores e alunos.

À Profa. Dra. Ana Cristina Victorino Krepischi do Laboratório de Genética Humana do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP), pela parceria na realização de análises de array-CGH das amostras do presente trabalho.

Ao Laboratório de Biologia de Sistemas e Genômica do Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu coordenado pelo Prof. Dr. Guilherme Targino Valente pela colaboração no presente trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Finalmente, retribuo toda contribuição direta ou indireta para a realização deste trabalho às pessoas que estiveram presentes em toda trajetória.

EPÍGRAFE

“É tão difícil a gente caminhar
Quando uma estrada não está mais lá
E ter que construir o próprio chão
Com as incertezas que tiver
Em cada curva pra lá e pra cá
Qualquer desvio pode transformar
A ponta de um universo em explosão
Coisa com o futuro que vier
E tudo que foi dor num dia
No outro dia será dia de continuar
Caminhado sobre o sol
Até o amor se reinventar
Vida que a gente aprende
Tudo o que acontece de ruim é para melhorar!”

Tudo o Que Acontece de Ruim É Para Melhorar – PAULINHO MOSKA

RESUMO

MEDEIROS, P. **Aplicabilidade de redes PPI em Biologia de sistemas no contexto da síndrome de Williams-Beuren**. 2021, p.15-120. Tese de doutorado – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Uma microdeleção hemizigótica de 1,5Mb a 1,8Mb na região do braço longo do cromossomo 7 (7q11.23) ocasiona uma doença genética rara multigênica. Faces típicas, doenças cardiovasculares, alterações do tecido conjuntivo combinados com déficit de aprendizado e crescimento, personalidade e perfil cognitivo característicos representam o conjunto de sinais clínicos que caracteriza a síndrome de Williams-Beuren (SWB). Embora a técnica da FISH permita o diagnóstico citomolecular da síndrome, a existência de deleções de tamanhos típicos e atípicos, as quais não são evidenciadas pela FISH, acarreta em diferentes genes afetados. Por isso, o objetivo deste estudo foi investigar e caracterizar a microdeleção mediante análise por CMA (do inglês *Chromosome Microarray Analysis*) e analisar o impacto desta através de uma abordagem *in silico* utilizando redes de interação entre proteínas (PPI). Dentre os 14 indivíduos recrutados e avaliados no estudo, apenas um apresentou uma FISH negativa. Clinicamente, todos os participantes exibiram características da SWB com escore acima de 3. Uma deleção típica de 1,367,201Kb foi confirmada e caracterizada por CMA em 13 participantes do estudo e o impacto desta foi analisado em duas redes biológicas, uma representando a rede de um indivíduo sem alterações (GN) e outra representando o indivíduo acometido (PN). As proteínas codificadas pelos genes deletados foram extraídos da rede GN para simular a rede PPI do indivíduo com a deleção (PN). Análises topológicas de ambas redes foram analisadas, assim como nas redes no contexto de comunidades. Os resultados não mostraram diferenças significativas entre as redes. Pela análise de enriquecimento com termos ontológicos relacionados a processos biológicos, foi possível identificar as regiões onde houve enriquecimento dentro de cada comunidade, bem como identificar quais proteínas e termos ontológicos são compartilhados. Com isso, foi possível analisar diferenças entre as redes após a deleção e apontar diferentes proteínas até então não correlacionadas à síndrome. Embora a abordagem *in silico* utilizada neste estudo não tenha apresentando diferenças estatísticas, a utilização de estudos com redes biológicas além de trazer novas descobertas para o estudo da SWB, pode também ser uma ferramenta importante para esclarecer a variabilidade fenotípica e fisiopatologia da doença.

Palavras-chaves: genética, síndrome de Williams-Beuren; redes de interação proteína-proteína; região 7q11.23; SWB; PPI.

ABSTRACT

MEDEIROS, P. **Applicability of PPI networks in systems Biology in the context of Williams-Beuren syndrome.** 2021, p.15-120. Doctoral Thesis - Instituto de Biociencias de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"

A hemizygous deletion of 1.5Mb to 1.8Mb in the long arm region of chromosome 7 (7q11.23) causes a rare multigenic genetic disorder. Typical faces, cardiovascular disease, connective tissue abnormalities combined with learning and growth deficits, a characteristic personality and cognitive profile represent the set of clinical signs that characterize Williams-Beuren syndrome (SWB). Although the FISH technique allows the diagnosis, a correct genotype-phenotype correlation is necessary since, due to the existence of typical or atypical deletions, different genes can be affected. To this end, the aim of this study was to investigate and characterize microdeletion by Chromosome Microarray Analysis (CMA) and analyze its impact through an in silico approach using protein-protein interaction networks (PPI). Among the fourteen recruited and evaluated individuals, only one had a negative FISH. Clinically, all individuals exhibited WBS characteristics with score higher than 3. A typical deletion of 1,367,201Kb in thirteen individuals was confirmed and characterized by CMA and its impact was analyzed in two biological networks, one representing the network of an unchanged individual (GN) and the other representing the affected individual (PN). The proteins encoded by the deleted genes were extracted from the GN network to simulate the PPI network of the individual with the deletion (PN). Topological analyses of both networks were analyzed, as well as networks in the context of communities. The results exhibited no significant differences among the networks. By analyzing enrichment with ontological terms related to biological processes, it was possible to identify the regions where enrichment occurred within each community, as well as to identify which proteins and ontological terms are shared. By doing so, it was possible to analyze differences between the networks after the deletion and to point out different proteins not previously correlated to the syndrome. Although the in silico approach used in this study did not show statistical differences, the use of studies with biological networks, besides bringing new discoveries for the study of WBS, can also be an important tool to clarify the phenotypic variability and pathophysiology of the disease.

Keywords: genetics; Williams-Beuren syndrome; protein-protein interaction networks; region 7q11.23; WBS; PPI.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Páginas
Figura 1 - Representação da região 7q11.23 deletada na síndrome de Williams-Beuren (SWB).....	20
Figura 2 - Visão geral da região deletada na síndrome de Williams-Beuren de acordo com a sequência de referência humana: GRCh37/hg19	30
Figura 3 - Representação de um grafo $G = (V, E)$	45
Figura 4 - Grafos do tipo não direcionado (A) e direcionado (B)	46
Figura 5 - Distribuição percentual das principais características clínicas da síndrome de Williams-Beuren (SWB) presentes nos casos provenientes da AGSW (n=14)	62
Figura 6 - Visão geral da região deletada de 1,37 Mb do braço longo do cromossomo 7	65
Figura 7 - Isorformas, provenientes de <i>splicing</i> alternativo, dos genes <i>FKBP6</i> e <i>GTF2I</i>	65
Figura 8 - Diagrama de Venn das proteínas vizinhas (n = 1.225)	68
Figura 9 - Boxplot	70
Figura 10 - Grafos representando o aumento de interações da proteína vizinha Q7Z3Z0	71
Figura 11 - Diagrama de dispersão	72
Figura 12 - Clusterização das proteínas vizinhas (n = 1.219)	73
Figura 13 - Mapas funcionais das comunidades (1-5) provenientes da rede global (GN)	76
Figura 14 - Mapas funcionais das comunidades (1-4) provenientes da rede global (PN)	77

LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tabela 1 - Principais genes envolvidos na síndrome de Williams-Beuren (SWB) e suas respectivas correlações genótipo-genótipo	37
Tabela 2 - Resultados da técnica de CMA dos pacientes (n = 6) provenientes da Associação Goiana da Síndrome de Williams (AGSW) por meio do microarranjo SurePrint G3 Unrestricted CGH, 8x60K (AgilentTechnologies®)	63
Tabela 3 - Composição das redes de interação entre proteínas (PPI)	66
Tabela 4 - Medidas topológicas das redes de interação entre proteínas (PPI) provenientes da rede global (GN) e rede paciente (PN)	67
Tabela 5 - Clusterização da rede global (GN) e da rede paciente (PN) em comunidades com a quantidade de proteínas (total de proteínas de cada rede, proteínas deletadas e proteínas vizinhas).....	69
Tabela 6 - Ontologias genéticas (GOs) anotadas pela análise espacial de enriquecimento funcional (SAFE) nas comunidades da GN de oito proteínas afetadas pela deleção em 7q11.23	78

LISTA DE ABREVIATURAS

AAP - Academia Americana de Pediatria

ADNPM - atraso no desenvolvimento neuropsicomotor

AGSW - Associação Goiana da Síndrome de Williams

ATR - proteína quinase relacionada com Ataxia Telanxiectasia e Rad3

AVC - acidente vascular cerebral

BA – rede do tipo Albert-László Barabási

Betweenness - medidas de centralidade

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

CGD (*chronic granulomatous disease*) - doença granulomatosa crônica

CGH array (*comparative genomic hybridization array*) - hibridização genômica comparativa de microarranjos

CL - cutis laxa

CMA (*chromosomal microarray analysis*) - análise cromossômica por microarranjos

CNVs (*copy number variation*) - variações no número de cópias

DECIPHER - *Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Human using Ensembl Resources*

DI - deficiência intelectual

DGV - *Database Genomic Variants*

E - aresta

EAo - estenose aórtica

EAP - estenose da artéria pulmonar

EASV - estenose aórtica supravalvar

FISH - hibridação *in situ* por fluorescência

G - grafo

GH - hormônio de crescimento

GN (*global network*) - rede global

GOs - termos ontológicos

hiPSC - células-tronco pluripotentes induzidas humanas

ISCN - *International System for Human Cytogenetic Nomenclature*

k (*degree*) - grau ou conectividade de um nó

KEGG - *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*

LCR (*low copy repeats*) - baixo número de cópias

lincRNA (*long intergenic non-coding RNA*) - lncRNA intergênico

lncRNA (*long non-coding RNA*) - ncRNA longo

miRNA - microRNAs

MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*) - amplificação multiplex de sondas dependentes de ligação

NAHR (*non allelic homologous recombination*) - recombinação entre homólogos não alélicos

NCBI - *National Center for Biotechnology Information*

ncRNA (*non-coding RNA*) - pequenos RNAs não codificantes

NGS (*next generation sequencing*) - sequenciamento de nova geração

NHEJ - união de extremidades não homólogas

NPC - células progenitoras neurais

OMIM - *Online Mendelian Inheritance in Man*

PCR - reação em cadeia da polimerase

piRNA (*piwi-interacting rna*) - RNAs interagindo com proteínas Piwi

PN (*patient network*) - rede do paciente

PPI - interação proteína-proteína

QI - quociente de inteligência

qPCR - PCR em tempo real

RCSWB - região crítica da SWB

RT (*reverse transcriptase*) - RT-qPCR

SAFE - análise espacial de enriquecimento funcional

SD (*segmental duplications*) - duplicações segmentais

SNC - sistema nervoso central

snoRNA (*small nucleolar RNA*) - RNAs nucleolares

SVAS - estenose supraválvula da aorta

SWB - síndrome de Williams-Beuren

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TE (*transposable elemento*) - elementos transponíveis

TEA - transtorno do espectro autista

UCSC *Genome Browser*

UFG - Universidade Federal de Goiânia

UniProt - *Universal Protein*

V - vértices ou nós

WEKA - *Waikato Environment for Knowledge Analysis*

WES (*Whole Exome Sequencing*) - sequenciamento de exoma

WGS (*Whole Genome Sequencing*) - sequenciamento do genoma todo

7dup - duplicação da região 7q11.23

$\langle k \rangle$ - média de *degree*

ρ - coeficiente de Pearson

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	155
1.1.	Síndrome de Williams-Beuren (SWB)	15
1.1.1.	Características clínicas	16
1.1.2.	Etiologia genética	19
1.1.3.	Diagnóstico	21
1.1.4.	Investigações genéticas	23
1.1.5.	Tratamento	28
1.1.6.	Correlação genótipo-fenótipo	29
1.2.	Redes biológicas	44
2.	OBJETIVOS	51
2.1.	Geral	51
2.2.	Específicos	51
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	533
3.1.	Aspectos éticos	53
3.2.	Casuística	53
3.3.	Análises Genéticas	54
3.3.1.	Obtenção do DNA genômico	54
3.3.2.	Análise por CMA	54
3.3.2.1.	CLC <i>Sequence Viewer</i>	55
3.4.	Análise de redes biológicas	55
3.4.1.	Obtenção e padronização da rede PPI	55
3.4.2.	Determinação da rede global (GN) e da rede paciente (PN)	56
3.4.3.	Propriedades topológicas das redes	56

3.4.4. Obtenção e avaliação das proteínas vizinhas	56
3.4.5. Obtenção das comunidades ou módulos	57
3.4.6. Análise de enriquecimento de ontologias genéticas (GOs)	57
4. RESULTADOS	60
4.1. Casuística	60
4.2. Análises Genéticas	63
4.2.1. Investigação por CMA	63
4.2.1.1. CLC <i>Sequence Viewer</i>	64
4.3. Análises de redes biológicas	66
4.3.1. Composição das redes de PPI (GN e PN)	66
4.3.2. Análise das propriedades topológicas das redes GN e PN	66
4.3.3. Análise das propriedades topológicas das proteínas vizinhas em ambas redes (GN e PN)	67
4.3.4. Análise das propriedades topológicas das proteínas vizinhas dentro das comunidades	69
4.3.5. Análise de enriquecimento de ontologias genéticas (GOs)	75
4.3.6. Análise das proteínas vizinhas às proteínas codificadas pelos genes <i>FZD9</i> , <i>ELN</i> e <i>GTF2I</i>	80
5. DISCUSSÃO	83
6. CONCLUSÃO	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	1033
ANEXOS	123

INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Síndrome de Williams-Beuren (SWB)

Descrita e documentada por dois médicos cardiologistas em dois estudos independentes, Williams e col. (1961) e Beuren e col. (1962), a síndrome de Williams-Beuren (SWB) tem relatos desde o período pós II Guerra Mundial. A principal característica relatada sobre essa síndrome era a hipercalcemia infantil, a qual mais tarde foi associada ao atraso no desenvolvimento, dismorfismo facial e doença cardiovascular (BONGIOVANNI; EBERLEIN; JONES, 1957; BLACK; CARTER, 1963; GARCIA *et al.*, 1964; MORRIS; MERVIS, 2000).

A ocorrência da SWB (OMIM 194050) geralmente é esporádica e apresenta uma prevalência estimada de 1/7.500 à 1/20.000 nativos, segundo Stromme e col. (2002) e Greenberg (1990). Visto que as referências utilizadas por Stromme e Greenberg estão frequentemente baseadas em dados obsoletos e/ou incompletos, essa prevalência pode estar subestimada.

Watson e col. (2014) revisaram uma série de estudos na literatura com intuito de mostrar como as descobertas de microdeleções e microduplicações estão sendo realizadas diante o desenvolvimento de novas tecnologias genômicas. Essa revisão possibilitou constatar que existem estudos que avaliam determinadas síndromes baseadas em apenas algumas características das síndromes, indicando um viés iminente na prevalência de muitas delas.

Gillentine e col. (2018) geraram um modelo para determinar a prevalência de um conjunto de variações no número de cópias (CNVs, do inglês *Copy Number Variation*) altamente penetrantes, baseados em dados clínicos por análise cromossômica por microarranjos (CMA, do inglês *Chromosomal Microarray Analysis*) e dados epidemiológicos, publicados anteriormente na literatura e, assim, concluíram que há diferenças entre as frequências de síndromes de microdeleções/microduplicações em 1q21.1, 15q13.3 e 16p11.2 na população. A síndrome de microdeleção em 15q13.3, retratada no estudo citado com uma prevalência sete vezes maior que à estabelecida em estudos precedentes (1/5525 e 1/40000, respectivamente), foi comparada à SWB já que ambas foram avaliadas quanto à deficiência intelectual (DI) em estudos preliminares. Desta forma, como as análises acerca da prevalência estão enviesadas, uma vez que DI é apenas uma das

características de ambas síndromes, pode-se apontar que a frequência da SWB também possa estar enviesada (GILLENLINE *et al.*, 2018).

A SWB pode acometer quaisquer grupos étnicos e áreas geográficas, não há uma predileção (DUTRA *et al.*, 2012). Em relação à clínica, podem haver diferenças de acordo com área geográfica e etnia (LUMAKA *et al.*, 2017). Pérez-García e col. (2017) encontraram evidências comportamentais significantes entre 53 indivíduos provenientes da Espanha e 145 dos Estados Unidos da América, porém, ao compararem os dados com os da população em geral, a significância desapareceu. Estudos como este trazem desafios que não são suficientes para afirmar, de forma estatística, essas diferenças visto que o tamanho insuficiente da amostra, os diferentes tipos de questionários utilizados, quem e como os respondem, e qual região geográfica pertencem, apontam algumas dificuldades que interferem nos dados estatísticos (PÉREZ-GARCÍA *et al.*, 2017). Kruszka e col. (2018) também demonstraram diferenças fenotípicas entre três grupos étnicos, no entanto, a dificuldade em comprovar a exata ancestralidade dos indivíduos prejudica a correspondência da característica ao grupo étnico.

Em relação ao sexo, embora alguns estudos apontem alguns traços comportamentais mais prevalentes no sexo feminino do que no sexo masculino com SWB (DYKENS, 2003; PORTER; DODD; CAIRNS, 2009), de um modo geral, não há nenhuma diferença entre os sexos (LEYFER *et al.*, 2006).

1.1.1. Características clínicas

O fenótipo clínico da SWB é caracterizado por um conjunto de sinais. As principais manifestações clínicas nos indivíduos acometidos incluem dismorfismo facial, problemas endócrinos, alterações dentárias, malformações cardíacas e perfil cognitivo e comportamental bem característico (MORRIS *et al.*, 1988; LOWERY *et al.*, 1995; AAP, 2001; SUGAYAMA *et al.*, 2007; MORRIS, 2017).

O dismorfismo facial é estabelecido pela presença de uma ampla fronte, sobrancelhas espessas, edema periorbital com visibilidade da pálpebra, ponte nasal baixa, nariz pequeno e arrebitado com narinas antevertidas, hipoplasia malar, orelhas grandes com lóbulos marcantes, filtro nasal longo, boca grande e sorriso largo, lábio inferior espesso e queixo pequeno. Esse

conjunto de características, pejorativamente relacionadas a um “duende”, embora sutis, tendem a se dissociar conforme a idade (JONES; SMITH, 1975; MORRIS *et al.*, 1988; AAP, 2001; MORRIS, 2017). As bochechas proeminentes, devido à hipoplasia malar, e dentes pequenos e espaçados são mais evidentes quando o indivíduo é mais jovem, no entanto, quando mais velho, a aparência torna-se mais esquelética, apresentam ombro caído, pescoço e rosto alongados (MORRIS; MERVIS, 2000; MORRIS, 2017).

O déficit de crescimento, a puberdade precoce, a hipercalcemia, o hipotireodismo e a diabetes são os problemas endócrinos mais comuns nos casos de SWB (PALACIOS-VERDÚ *et al.*, 2015; KIM *et al.*, 2016; MORRIS, 2017). A dificuldade alimentar durante a infância, bem como o refluxo e vômitos podem ser responsáveis pela deficiência de crescimento, assim como o hipotireodismo e deficiência no hormônio de crescimento (GH, do inglês *Growth Hormone*) (LEVY-SHRAGA *et al.*, 2018). Embora a puberdade precoce seja observada em ambos os sexos, a menarca é mais frequente (PARTSCH *et al.*, 2002). Cerca de 50% dos casos apresentam hipercalcemia durante a infância, no entanto, essa condição tende a melhorar com o passar dos anos. O distúrbio metabólico mais comumente observado nos adultos é a diabete, que atinge cerca de 75% dos casos (POBER *et al.*, 2010b).

Outra característica notadamente nos casos de SWB são as alterações cardiovasculares. Estas representam a maior parte da morbidade e mortalidade dos casos. Cerca de 80% dos casos com a SWB apresenta alterações cardíacas (MORRIS *et al.*, 1988), sendo a mais frequente e preocupante, a estenose aórtica supraválvular (EASV), encontrada em aproximadamente 35% a 65% dos casos (SADLER *et al.*, 2001; DEL PASQUA *et al.*, 2009; COLLINS *et al.*, 2010b; POBER, 2010). Embora menos frequente, a estenose da artéria pulmonar (EAP) é comum na infância e, geralmente, melhora com o tempo (MORRIS, 2017). Collins (2018) aborda em sua revisão outros problemas cardíacos frequentemente encontrados nos pacientes como a hipertensão, anormalidades nas válvulas mitral (SUGAYAMA *et al.*, 2003; BAJRACHARYA; BHATNAGAR; PAULIKS, 2011), estenose aórtica (EAo) (HALLIDIE-SMITH; KARAS, 1988; MORRIS; MERVIS, 2000; BARCZYK; CARRACEDO; GULLBERG, 2010; POBER, 2010; YUAN, 2017), estenose da artéria renal, dentre outras alterações mais raras. Todas essas alterações predispõe os indivíduos a diferentes anormalidades na função cardiocirculatória desde infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral (AVC), até a morte súbita. Neste caso, embora os procedimentos cirúrgicos tenham sido

aprimorados nos últimos anos na medicina cardiovascular, ainda há um risco aumentado pela anestesia nos casos cirúrgicos de pacientes com SWB (WESSEL *et al.*, 2004; VAN DER BOM *et al.*, 2011; COLLINS, 2018; GOLDENBERG, 2018).

Os aspectos mais intrigantes dessa síndrome são os que caracterizam o perfil comportamental e neurocognitivo, visto que são atribuídos à personalidade característica dos indivíduos acometidos. A sociabilidade excessiva, empatia, hiperatividade, ansiedade, déficit de atenção são as características comportamentais que, geralmente, despertam atenção dos familiares e profissionais (ROYSTON; WAITE; HOWLIN, 2019). No entanto, todas essas características tendem a ser ponderadas no decorrer da idade (KOZEL *et al.*, 2021). Na maioria, essas características são avaliadas junto à formulários que promovem uma avaliação psicológica através do compilamento de informações. Estes testes psicológicos tem como objetivo auxiliar no reconhecimento do distúrbio e, conseqüentemente, promover um melhor direcionamento terapêutico para estes indivíduos (MORRIS; MERVIS, 2000; PÉREZ-GARCÍA *et al.*, 2017).

O perfil neurocognitivo é caracterizado pelo atraso no desenvolvimento intelectual, dificuldade na construção visuoespacial e na habilidade auditiva que capacita aquisição de línguas (MORRIS; MERVIS, 2000; POBER, 2010b). A DI é estabelecida de acordo com o quociente de inteligência (QI) e pode variar de médio a moderado, indicando assim uma variabilidade na cognição. O distúrbio visuoespacial está relacionado a falta de habilidades de relacionar e armazenar objetos, imagens na memória (EWART *et al.*, 1993). Em analogia ao um quebra-cabeça, é como se eles não conseguissem construir toda a imagem de um quebra-cabeça a partir de cada peça. A percepção visual não é afetada visto que esses indivíduos tem uma grande capacidade de reconhecimento facial. A habilidade em aprender a tocar qualquer instrumento musical, reproduzir sons, aprender novas línguas é devido a memória auditiva que os SWB possuem (EWART *et al.*, 1993; MORRIS; MERVIS, 2000).

Tanto o perfil comportamental como o neurocognitivo variam quanto à gravidade e manifestações individuais. Essas variações estão intimamente ligadas ao rearranjo genômico e, conseqüentemente, ao *background* genético, em que outros genes, fora àqueles perdidos, podem interferir no fenótipo. Fatores epigenéticos também contribuem para essas variações em que genes podem ser ativados ou desativados através da metilação e acetilação, como também podem ser regulados por pequenos RNAs não codificantes (ncRNA, do inglês *non-coding RNA*) (NIKITINA

et al., 2014; HAAS; SMITH, 2015). Os fatores ambientais, como baixo nível socioeconômico (MORRIS; MERVIS, 2000) e a idade também podem interferir nas manifestações cognitivas e comportamentais (DEL COLE *et al.*, 2017).

1.1.2. Etiologia genética

A etiologia da SWB está associada a uma microdeleção no braço longo do cromossomo 7, em 7q11.23. Essa fração deletada compreende cerca de 26-28 genes de cópias únicas (OSBORNE *et al.*, 2001; BAYÉS *et al.*, 2003; MERLA *et al.*, 2010). Sabe-se que a haploinsuficiência destes genes determina um fenótipo característico, mas a correlação genótipo-fenótipo de cada gene envolvido e o impacto no fenótipo ainda são pouco esclarecidos (SCHUBERT, 2009).

De modo geral, essa síndrome ocorre de forma esporádica por apresentar deleções inéditas, não herdadas, denominadas *de novo* (ANTONELL *et al.*, 2006). No entanto, alguns casos de herança autossômica dominante foram relatados, com 50% de chance de transmissão (MORRIS; THOMAS; GREENBERG, 1993a; MORRIS *et al.*, 1993b; SADLER *et al.*, 1993; METCALFE *et al.*, 2005).

A estrutura genômica da região 7q11.23 compreende uma região multigênica de cópia única (em torno de 1,2Mb) flanqueada por regiões de repetições com baixo número de cópias (LCR, do inglês *Low Copy Repeats*). Formadas através de eventos de duplicação, essas regiões de repetições são também denominadas como duplicações segmentais (SD, do inglês *segmental duplications*) (SCHUBERT, 2009). No geral, as LCRs variam de tamanho e estão presentes em 5% de todo o genoma (STANKIEWICZ; LUPSKI, 2010). Quando apresentam mais de 10 kb e compartilham mais de 97% de identidade das sequências, as LCRs podem predispor à recombinação entre homólogos não alélicos (NAHR, do inglês *Non Allelic Homologous Recombination*). As LCRs presentes em 7q11.23 são divididas em três blocos diferentes (A, B e C) compostos, principalmente, por cópias truncadas de pseudogenes. Os três blocos, organizados em segmentos centromérico, medial e telomérico, representam o substrato para a ocorrência de crossing-over durante a divisão meiótica (INOUE; LUPSKI, 2002; BAYÉS *et al.*, 2003), como apresentado na **figura 1**.

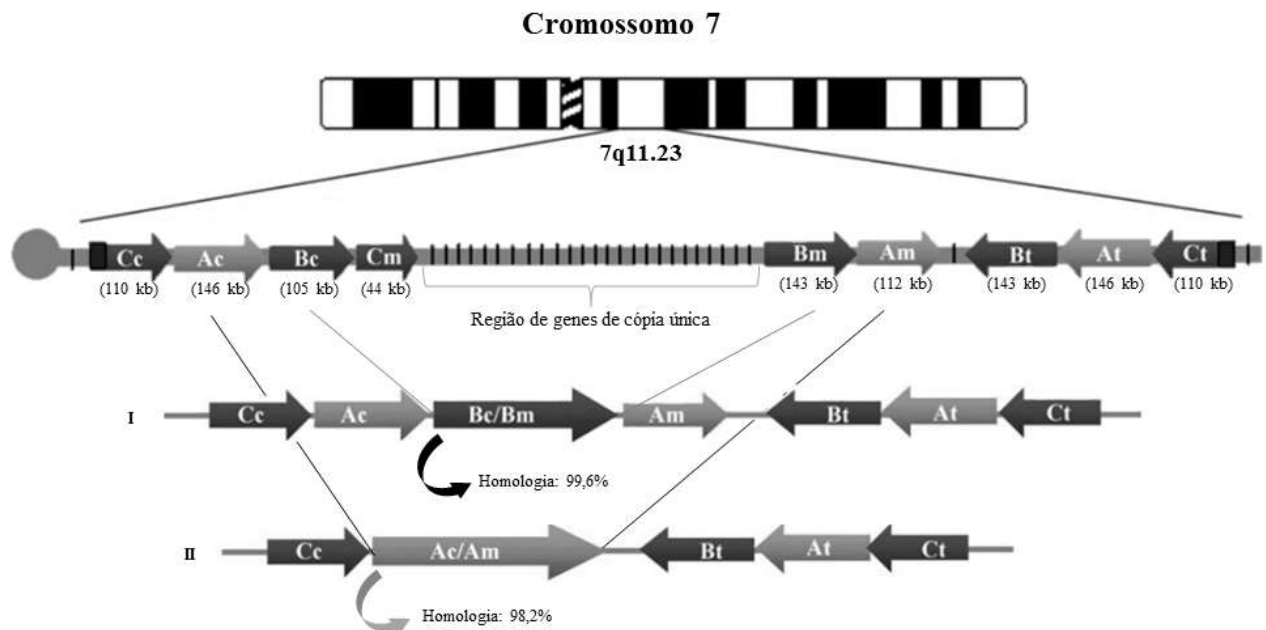


Figura 1 - Representação da região 7q11.23 deletada na síndrome de Williams-Beuren (SWB).

As setas indicam a orientação dos blocos LCRs, estes, por sua vez, estão representados pelas letras A, B e C. Em subscrito as letra c, m e t correspondem, respectivamente, aos segmentos centromérico, medial e telomérico. Os blocos Bc e Bm apresentam uma maior homologia comparado aos blocos Ac e Am. A região de genes de cópia única flanqueada pelos blocos LCRs corresponde aos seguintes genes: *FZD9*, *BAZ1B*, *BCL7B*, *TBL2*, *MLXIPL*, *VPS37D*, *DNAJC30*, *BUD23*, *STX1A*, *ABHD11*, *CLDN3*, *CLDN4*, *METTL27*, *TMEM270*, *ELN*, *LIMK1*, *EIF4H*, *LAT2*, *RFC2*, *CLIP2* e *GTF2IRD1*. As deleções de 1,55 Mb e de 1,85 Mb correspondem às deleções típicas e estão representadas, respectivamente, por I e II. Revisto e modificado de CUSCÓ *et al.*, 2008; MERLA *et al.*, 2010; POBER, 2010b.

Durante o crossing-over, a NAHR pode acontecer devido à alta similaridade entre blocos LCRs, principalmente do bloco B. Esta preferência é devido a maior homologia entre eles. Os blocos B centromérico e medial possuem cerca de 99,7% de homologia e, em relação ao bloco B telomérico, a homologia é cerca de 99,6% (**Figura 1**) (BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT, 2009; MERLA *et al.*, 2010).

Este mecanismo (NAHR) pode ocorrer entre os cromossomos homólogos (intercromossômico) ou entre as cromátides irmãs de um mesmo cromossomo (intracromossômico). O desalinhamento dos blocos pode ocasionar deleções e duplicações quando a recombinação ocorrer entre LCRs orientados no mesmo sentido, ou causar inversões quando ocorrer entre LCRs com orientações invertidas (OSBORNE *et al.*, 2001; LUPSKI, 2009; NIKITINA *et al.*, 2014). Outra possibilidade de ocorrência de uma deleção e duplicação da região 7q11.23 (7dup) refere-se a transmissão de um cromossomo com uma inversão paracêntrica (sem

envolvimento do centrômero) da região causadora da SWB dos genitores aos seus descendentes (OSBORNE *et al.*, 2001; BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT, 2009; HOBART *et al.*, 2010).

As deleções mais comuns compreendem tamanhos de 1,55 Mb (entre os blocos A centromérico e A medial) a 1,85 Mb (entre os blocos B centromérico e B medial) (PÉREZ JURADO, 2003), como apresentado por I e II, respectivamente, na figura 1. Ambas as deleções são tidas como típicas, uma vez que a maioria dos indivíduos afetados exibem estes tamanhos de deleção. Dentre essas duas, a mais comum (cerca de 95% dos casos) é a de 1,55 Mb e a mais rara, de 1,85 Mb (KORENBERG *et al.*, 2000; BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT, 2009; MERLA *et al.*, 2010). Essa preferência é devido à alta similaridade dos blocos, especialmente dos blocos B. Deleções com tamanhos diferentes das citadas são consideradas atípicas e são menos frequentes que as demais (BAYÉS *et al.*, 2003; SCHUBERT; LACCONE, 2006).

1.1.3. Diagnóstico

A hipótese diagnóstica da SWB baseia-se principalmente na evolução clínica durante os primeiros anos de vida, quando as características faciais, as anomalias cardíacas e o perfil comportamental e cognitivo tornam-se evidentes. No entanto, a grande variabilidade fenotípica nesta síndrome muitas vezes dificulta e atrasa o diagnóstico clínico. Yao e col. (2019) apontam a existência de casos subdiagnosticados devido a dificuldade de uma triagem precoce na prática clínica e, também, da falta de preparo dos profissionais.

Desta forma, a técnica de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) tem sido usada para confirmar o diagnóstico clínico, sendo considerada o método padrão ouro para o diagnóstico da SWB. Essa técnica, bastante específica, consiste em hibridizar uma sequência específica de DNA marcada com fluorocromo (sonda) em uma sequência de DNA alvo complementar permitindo verificar se o indivíduo possui ou não duas cópias da sequência alvo em questão. No caso da SWB, a sequência de DNA marcada com fluorocromo é geralmente referente à região crítica da SWB (RCSWB), que contém as sequências dos genes *ELN* (mais comumente utilizada) ou *LIMK1* e de marcadores de microssatélites as quais variam conforme os fabricantes (LOWERY *et al.*, 1995). A não detecção da fluorescência ao microscópio óptico de fluorescência em um dos cromossomos, FISH positiva, denota que houve deleção e, portanto, confirma a hipótese diagnóstica para a SWB

(MORRIS; MERVIS, 2000). Contudo, há casos nos quais pacientes com diagnóstico clínico da SWB apresentam uma FISH negativa, ou seja, a fluorescência foi detectada nos dois cromossomos. A falha na identificação nestes pacientes pode remeter-se a várias possibilidades. Se não diagnosticado erroneamente, o indivíduo pode apresentar uma deleção atípica ou a deleção pode ter ocorrido em genes adjacentes ao gene *ELN*, o que resulta em um diagnóstico falso negativo (PLAJA *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2016). Os indivíduos podem exibir manifestações clínicas similares às da SWB, porém, não em função de uma alteração genética como na síndrome e sim por uma influência ambiental (MORRIS; MERVIS, 2000). Como é muito difícil inferir qual síndrome afeta o indivíduo apenas com base no exame clínico, devido à existência de sobreposição de características clínicas (RIEGEL, 2014), o indivíduo pode apresentar outra síndrome (LOWERY *et al.*, 1995).

Algumas características, como o déficit de atenção, hiperatividade e voz grave também são traços encontrados em pacientes com síndrome de Smith-Magenis (17p11.2), assim como a cardiopatia que também é encontrada na síndrome de DiGeorge (22q11.2) (MORRIS, 2017). A síndrome de Alagille (SA; OMIM 118450) é causada principalmente pela haploinsuficiência, seja por mutação ou deleção, do gene *JAG1* localizado no cromossomo 20 (20p12) ou do gene *NOTCH2* no cromossomo 1 (1p12) (TURNPENNY; ELLARD, 2012). A semelhança de algumas características com a SWB, como cardiopatias, estenose pulmonar, atraso no desenvolvimento e dismorfia facial, fez da SA um diagnóstico diferencial para SWB.

Sistemas de pontuações foram elaborados a fim de auxiliar a hipótese diagnóstica (LOWERY *et al.*, 1995; AAP, 2001; SUGAYAMA *et al.*, 2007). Cada sistema é baseado nos aspectos clínicos, os quais recebem uma pontuação conforme a presença dos mesmos nos pacientes permitindo que os profissionais diferenciem aqueles indivíduos que podem ser diagnosticados de forma confiável, com base apenas nos achados clínicos, daqueles que precisam se submeter à técnica da FISH para um diagnóstico correto. Lowery e col. (1995) classificam pacientes como clássicos quando a pontuação excede quatro pontos, e incertos quando atinge no máximo três. O comitê da Academia Americana de Pediatria (AAP, 2001) elaborou o sistema de pontuação baseado em critérios clínicos de duas pesquisas promovidas por Collen A. Morris e Carolyn B. Mervis e seus respectivos colaboradores em 1994. Essa classificação sugere a realização da FISH somente quando a pontuação obtida for maior ou igual a três. Ademais, o grupo elaborou um guia

com orientações médicas de acordo com a idade do paciente para auxiliar os profissionais da área. A metodologia de pontuação desenvolvida por Sugayama e col. (2007) sugere uma pontuação com limite de corte de vinte pontos. Recomenda-se a realização da técnica da FISH quando os valores estiverem abaixo desse limite. Os três sistemas de pontuação, avaliados por Leme e col. (2013) revelaram uma alta sensibilidade e baixa especificidade. Desta maneira, o diagnóstico clínico para SWB pode ser realizado por qualquer um dos três sistemas elaborados.

O diagnóstico da SWB, baseado apenas nas avaliações clínicas ou pelo “gestalt”, é uma abordagem arriscada para um profissional inexperiente, uma vez que a SWB é muito complexa em virtude da variabilidade fenotípica (MUSTACCHI; CARAKUSHANSKY, 2000). Portanto, deve-se ter cautela e assegurar que outros aspectos sejam também compatíveis à hipótese diagnóstica. Se o fenótipo é sugestivo para a SWB, mas o comportamento cognitivo não, a hipótese diagnóstica inicial deve ser reconsiderada e uma investigação genética mais abrangente é mais indicada. Sendo assim, a investigação genética por meio de testes laboratoriais com maior poder de resolução é essencial para confirmar microdeleções/microduplicações.

1.1.4. Investigações genéticas

Os testes diagnósticos para detecção de microdeleções/microduplicações podem ser realizados tanto por técnicas padrões, como a FISH e reação em cadeia da polimerase (PCR) quantitativa (LELIS DUTRA *et al.*, 2011), como também por técnicas de citogenética molecular com maior poder de resolução, como amplificação multiplex de sondas dependentes de ligação (MLPA, do inglês *Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification*) ou técnica de triagem genômica quantitativa (VAN HAGEN *et al.*, 2007) e CMA de alta densidade (LAURITO *et al.*, 2013).

Dutra e col. (2011) ao analisarem marcadores de DNA do tipo microsatélites (D7S1870, D7S489, D7S613, D7S2476 and D7S489A) por PCR em 23 indivíduos avaliados previamente pela FISH confirmou microdeleções em todos os pacientes, incluindo dois pacientes que apresentaram FISH negativo. Além de confirmarem o diagnóstico, o marcador D7S489A também revelou os tamanhos das microdeleções. Portanto, concluíram que marcadores de DNA microsatélites são considerados altamente informativos e fáceis de gerenciar para confirmação diagnóstica.

Apesar das técnicas terem diferentes resoluções, a combinação de duas ou mais podem ser mais acuradas para o diagnóstico (GHAFARI *et al.*, 2018). Hussein e col. (2016) aplicaram quatro diferentes testes genéticos, o cariótipo convencional, a FISH, a análise por CMA e a técnica de PCR em tempo real (qPCR), com intuito de confirmar a SWB. Exceto o cariótipo, todos os demais confirmaram o diagnóstico, no entanto, eles concluíram que embora a FISH seja confiável na detecção das alterações e o qPCR detecte o tamanho dessas alterações, a análise por CMA é ainda mais vantajoso por permitir a detecção das alterações, bem como seu tamanho e genes envolvidos. Ramírez-Velazco e col. (2019) também demonstraram a importância de utilizar duas técnicas diferentes, FISH e análise por CMA, para avaliar pacientes com suspeita diagnóstica para a SWB. Além das técnicas se apresentarem em concordância diagnóstica, a CMA forneceu informações sobre deleções atípicas, característica esta que a FISH não oferece.

As metodologias de MLPA e CMA permitem a detecção de alterações genéticas complexas, para as quais as técnicas padrões não são capazes de identificar. Ambas tem capacidade de detecção de perdas e ganhos de CNVs em uma única reação, no entanto, a metodologia empregada pelos microarranjos permite uma varredura em todo genoma, diferente do MLPA, que visa cerca de 50 sequências alvo de DNA genômico. No entanto, muitas das alterações encontradas e descritas na literatura podem ainda conter mutações que não são detectadas por essas duas técnicas. Para isso, novas técnicas genômicas como o sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês *Next Generation Sequencing*) possibilitam novas descobertas.

O princípio da técnica de MLPA baseia-se, resumidamente, na ligação de um par de oligonucleotídeo, comum a todas as sondas e distintos entre si pelo tamanho da sequência coringa, à sequência alvo e na amplificação do híbrido por PCR. Este é formado pela complementaridade das sondas ao DNA alvo seguido pela união desses pares de sonda entre si por meio da enzima ligase. Os fragmentos são analisados e separados de acordo com seus respectivos tamanhos por eletroforese capilar e os resultados são analisados com softwares específicos (SCHOUTEN *et al.*, 2002). A pequena quantidade de DNA (cerca de 20 ng), rapidez e baixo custo são as principais vantagens da técnica, no entanto, sua eficácia depende muito da qualidade do DNA. Outra limitação é a incapacidade na detecção de rearranjos balanceados e mosaicismos (KOZLOWSKI; JASINSKA; KWIATKOWSKI, 2008; HONJO *et al.*, 2015) e, assim como a FISH, a técnica aplica-se a ensaios específicos. Um dos estudos mostrou a eficácia dessa técnica ao confirmar o

diagnóstico clínico para SWB pela detecção de deleções de uma das cópias de genes envolvidos na RCSWB (LAURITO *et al.*, 2013). Plaja e col. (2015) utilizaram a técnica de MLPA para validar os resultados encontrados na análise de microarranjo e com isso, puderam observar a presença de um ponto de quebra entre os genes *LIMK1* e *EIF4H*, em três pacientes independentes. O uso da técnica também se mostrou apropriada no estudo realizado por (MONTEIRO *et al.*, 2017) ao detectar CNVs importantes e causadoras de doença cardíacas congênitas, que destacou a SWB como uma das anormalidades mais frequente em sua pesquisa.

Embora a técnica de MLPA possua um baixo custo em relação ao CMA, a técnica de microarranjo confere um resultado ainda mais amplo, o qual pode revelar alterações implícitas à RCSWB.

Os microarranjos de DNA referem-se a uma metodologia de citogenética molecular desenvolvida para avaliar variações ou alterações de genoma total em alta resolução. Brevemente, o ensaio consiste na marcação (com diferentes corantes) e co-hibridização de duas amostras em um microarranjo contendo sondas (pequenos oligonucleotídeos de DNA) que cobrem todo o genoma (HAERI; GELOWANI; BEAUDET, 2015). A análise comparativa é dada pela detecção das diferenças relativas ao número de cópias entre as duas amostras, diferentemente marcadas. Essa detecção permite avaliar se existem alterações, se houve perda ou ganho de material genético e quais são os genes envolvidos. O método além de fornecer a coordenada genômica das alterações (marco inicial e final de uma dada região genômica com base em um genoma de referência) e, consequentemente, o tamanho exato dessas alterações, permite também a identificação de novas e raras anomalias cromossômicas. A resolução da técnica varia conforme a plataforma utilizada (de dez a centenas de kilobases), no entanto, quanto maior a cobertura do genoma maior será a resolução (BI *et al.*, 2012).

O conhecimento da existência de CNVs ao longo do genoma humano e o conhecimento do conteúdo dessas variações (patológicas, benignas e de significado incerto) revelaram suas implicações nos genes e, consequentemente, nas doenças. No entanto, o grande desafio ainda é interpretar e classificar corretamente essas CNVs (CUSCÓ *et al.*, 2008; RIEGEL, 2014). A hibridização genômica comparativa de microarranjos (CGH array, do inglês *Comparative Genomic Hybridization Array*) é uma das técnicas que complementa a citogenética clássica devido seu maior

poder de resolução, tempo e acurácia, porém, ainda é incapaz de detectar inversões e translocações balanceadas (RIEGEL, 2014).

CNV é definida como uma região cromossômica (de pelo menos 1 Kb de tamanho) distinta em número de cópias em relação ao genoma humano de referência (TZETIS *et al.*, 2012). Sabe-se hoje que 12% do genoma de qualquer indivíduo é constituído de CNVs (REDON *et al.*, 2009) e, dentre estes, 5% estão ligados às doenças (AMOUR *et al.*, 2002). Em vista disso, ao encontrar uma variação, seja por MLPA ou CMA ou por sequenciamento, a mesma deve ser pesquisada e interpretada com muita cautela em bancos de dados público para fornecer uma correta correlação genótipo-fenótipo. Alguns autores até sugerem um fluxograma para interpretar essas alterações (BUYSSE *et al.*, 2009; GIJSBERS; SCHOUmans; RUIVENKAMP, 2011; KEARNEY *et al.*, 2011), no entanto, a pesquisa por variantes benignas pode ser feita no DGV (do inglês *Database Genomic Variants*) e a pesquisa por variantes patogênicas no DECIPHER (do inglês *Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Human using Ensembl Resources*). Além desses bancos, outros como NCBI (do inglês *National Center for Biotechnology Information*), OMIM (do inglês *Online Mendelian Inheritance in Man*) e UCSC Genome Browser podem auxiliar muito na pesquisa, principalmente para aquelas variações de significado clínico indeterminado.

Hussein e col. (2016) com intuito de detectar CNVs relacionadas às cardiopatias em pacientes com provável diagnóstico para SWB, constataram além da deleção compatível com a SWB, duplicações na região em casos os quais não exibiram qualquer diferença nas análises por FISH e cariótipo convencional. Outras CNVs duplicadas e/ou deletadas também foram detectadas e relacionadas às cardiopatias segundo dados presentes nos bancos de dados. Kuo e col. (2019) detectaram CNVs, por CMA, em quatro regiões cromossômicas diferentes (4p16.1, 16p13.11, 10q26.3 e 21q22.3) em quatro dos nove indivíduos analisados e provenientes de Taiwan. Embora algumas CNVs tenham apresentado uma relação com a clínica dos pacientes, nenhuma foi conclusiva na patogênese da SWB.

Dentre as diferentes abordagens de NGS, o sequenciamento de exoma compreende a principal tecnologia utilizada para obter sequências exônicas de genes específicos ou de todo o exoma (WES, do inglês *Whole Exome Sequencing*). A maioria dos estudos que utilizam WES como abordagem para estudar a SWB também estão em busca de informações sobre o transtorno do espectro autista (TEA). Este fato remete-se, primeiro, ao fato de que a SWB é geralmente

considerada uma síndrome de perfil oposta ao TEA (TORDJMAN *et al.*, 2012) e, segundo, porque indivíduos com duplicação da região 7q11.23 (7dup) exibem um perfil semelhante aos pacientes com TEA (VELLEMAN; MERVIS, 2011; STRONG *et al.*, 2015). Kopp e col. (2018) ressaltaram também que o sequenciamento do genoma todo (WGS, do inglês *Whole Genome Sequencing*) pode permitir uma determinação mais precisa do ponto de quebra das deleções típicas da SWB pois as LCRs que flanqueiam a RCSWB impedem uma detecção precisa pelo CMA. Neste caso, a determinação precisa da deleção pode levar a uma compreensão de como a variação do tamanho da deleção entre os indivíduos contribui para o comportamento social e outras características fenotípicas atribuídas à SWB.

Popp e col. (2016) detectaram, por meio de um sequenciamento de exoma em trios (pai-mãe-probando), uma variante truncada *de novo* no gene *GABRA1* em um paciente com deleção típica da SWB (confirmado por CMA) e vários episódios de epilepsia. Este dado apontou que a variante é a provável causa da epilepsia de início precoce já que não foi encontrado nenhuma interação deste gene com os da RCSWB e outros (*MAGI2*, *HIP1* e *YWHAG*), o quais já associados a um fenótipo mais grave incluindo forte atraso no desenvolvimento, características semelhantes ao TEA e epilepsia (MARSHALL *et al.*, 2008; RAMOCKI *et al.*, 2010; FUSCO *et al.*, 2014). Diante disso, o estudo mostrou que o uso de WES é um método poderoso e eficiente para alcançar um diagnóstico decisivo e excluiu a contribuição de variantes independentes da variabilidade fenotípica da SWB.

Kopp e col. (2018) realizaram WES para analisar variações comuns e raras em 85 indivíduos com deleção típica da SWB (confirmado por CMA) cujo comportamento social, avaliado por um questionário que analisa aspectos da interação social que compõem os principais sintomas do TEA, difere do encontrado na literatura. Uma das hipóteses do grupo foi que a variação no alelo restante na RCSWB poderia afetar o fenótipo social dos indivíduos afetados. No entanto, dentre os indivíduos avaliados, não encontraram nenhuma variante que esclarecesse a variabilidade social, nem dentro da RCSWB e nem fora dela. Isso não quer dizer que a variação genética não desempenhe um papel significativo na variabilidade fenotípica, mas que um tamanho amostral maior pode ser mais informativo. Masson e col. (2019) também realizaram WES com intuito de investigar as bases moleculares da associação da SWB e TEA. Com um tamanho amostral menor do que o estudo anterior ($n = 6$), os pesquisadores concluíram que a presença de TEA nos pacientes com SWB não está associada a grandes deleções consideradas atípicas e nem a presença de

variantes patogênicas em genes localizados no alelo não deletado. Além disso, não identificaram um segundo diagnóstico genético relacionado a CNVs patogênicas ou variantes exônicas patogênicas raras em genes conhecidos e causadores de DI e TEA, embora várias variantes de significado clínico indeterminado tenham sido encontradas.

O emprego de todas essas técnicas, utilizadas por diversos estudos, além de constatar o diagnóstico para a SWB, também busca estabelecer uma correlação genótipo-fenótipo na síndrome a partir de toda a caracterização da região, tamanho da microdeleção, os genes envolvidos, existência ou não de variantes patogênicas e/ou raras etc. A busca por uma correlação entre o genótipo e fenótipo nada mais é que estabelecer uma relação entre uma alteração na composição genética (genótipo) de um indivíduo e a expressão fenotípica observável, isto é, as manifestações morfológicas, clínicas, bioquímicas ou molecular que o indivíduo pode apresentar (NUSSBAUM; MCINNES; WILLARD, 2002). Vale ressaltar que nem todo fenótipo observável é passível de uma alteração gênica bem definida e que pode haver variações no fenótipo, por esse motivo, considera-se a busca por uma correlação entre genótipo e fenótipo que possa esclarecer a SWB.

1.1.5. Tratamento

O tratamento ou terapia para a SWB não é único. É necessário uma equipe multiprofissional atuando para fornecer uma melhor qualidade de vida e adaptação social tanto para os indivíduos acometidos como para os pais e/ou responsáveis (POBER, 2010b; MORRIS, 2017; MORRIS; BRADDOCK, 2020). Vale evidenciar aqui que tanto o paciente quanto os pais e/ou responsáveis necessitam de cuidados especiais como um acompanhamento psicológico, informações acerca dos direitos civis que eles possuem e o que precisam fazer para terem uma conduta apropriada frente a uma condição genética rara.

Dentre os profissionais que acompanham os casos, o geneticista tem como finalidade informar e orientar pais e/ou responsáveis, bem como os pacientes sobre o prognóstico da síndrome, os riscos de recorrência e as opções frente ao risco de recorrência (MUSTACCHI; CARAKUSHANSKY, 2000). Como a maioria dos casos são considerados *de novo*, o risco de recorrência da SWB em uma família, cujos pais não são afetados, mas apresenta um probando, é menor que 1%, isto é, risco considerado muito baixo. Se a síndrome em um probando provir de

uma transmissão de um dos pais (não afetados) cuja inversão esteja presente nestes, o risco de recorrência é de 50%. O risco de recorrência é igual quando um dos pais apresenta a síndrome (MORRIS; THOMAS; GREENBERG, 1993b; MORRIS, 2017).

1.1.6. Correlação genótipo-fenótipo

A região 7q11.23 (72.200.001 – 77.500.000 – GRCh37/hg19), ilustrada na **figura 2**, apresenta cerca de 60 genes codificadores de proteínas e aproximadamente 30 genes de ncRNAs (KAROLCHIK, 2004; GENETICS HOME REFERENCE, 2020). Dentre estes, 16 compreendem pseudogenes, sete consistem em pequenos ncRNA como microRNAs (miRNA), RNAs interagindo com proteínas Piwi (piRNA, do inglês *piwi-interacting RNA*) e RNAs nucleolares (snoRNA, do inglês *small nucleolar RNA*), e um consiste em ncRNA longo (lncRNA, do inglês *long non-coding RNA*) como o lncRNA intergênico (lincRNA, do inglês *long intergenic non-coding RNA*). A região abrange também dois genes ainda não caracterizados, LOC100093631 e LOC100133091.

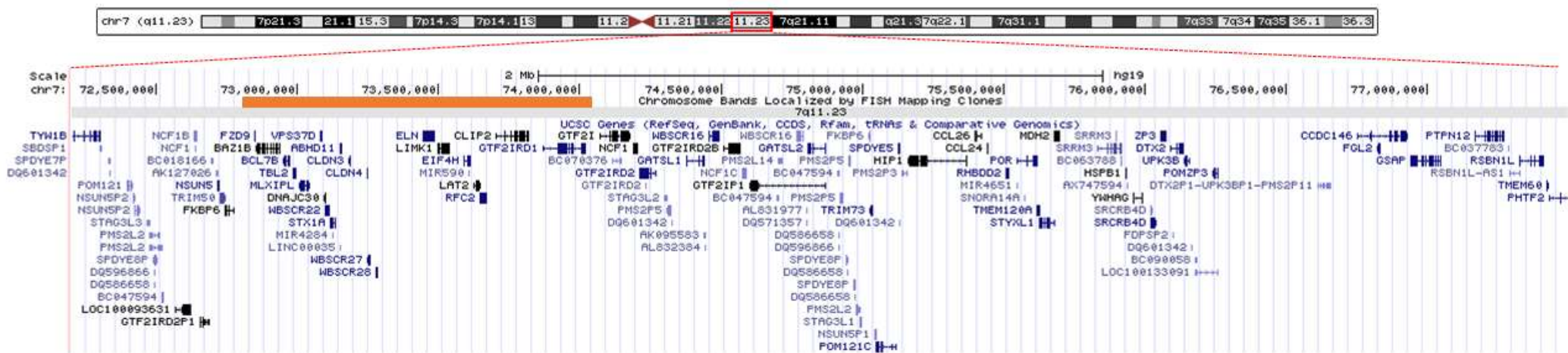


Figura 2 - Visão geral da região deletada na síndrome de Williams-Beuren (SWB) de acordo com a sequência de referência humana: GRCh37/hg19. A região crítica da síndrome de Williams-Beuren (RCSWB) compreende a região destacada em laranja. FONTE: Plataforma *UCSC Genome Browser* (GRCh37/hg19). Disponível em: <https://genome.ucsc.edu/cgi_bin/hgGateway>. Acesso em: 10 abr. 2020.

Embora estima-se que 70% do genoma seja transcrito em RNAs, nem todos são traduzidos em proteínas. Apenas 2% destes resultam em proteínas. Isto é, cerca de 68% do transcriptoma atua como ncRNA no genoma (BERTONE *et al.*, 2004; GUTSCHNER; DIEDERICH, 2012). Os ncRNAs podem interagir com moléculas de DNA, RNA e proteínas. Podem também participar de diversas atividades estruturais, funcionais e regulatórias, e desempenharem papéis na organização nuclear e nos processos transcricionais, pós-transcricionais e epigenéticos (QURESHI; MEHLER, 2012). As diferentes classes de ncRNA diferem uma da outra em relação ao tamanho, a origem (biogênese), a localização subcelular e a função (KAPRANOV *et al.*, 2007; DHARAP; VEMUGANTI, 2017). Depois que evidenciaram que os ncRNAs desempenham papéis importantes no desenvolvimento cerebral, nos processos cognitivos, na plasticidade estrutural e na formação de memória no cérebro adulto, vários estudos sugeriram que alterações na expressão e função dos ncRNAs modulam a fisiopatologia dos distúrbios do SNC. Contudo, cada vez mais as pesquisas envolvendo doenças neurodegenerativas e ncRNAs tem sido imprescindível para uma melhor compreensão da fisiopatologia das doenças e, conseqüentemente, para encontrar novas estratégias terapêuticas (QURESHI; MEHLER, 2012; SALTA; DE STROOPER, 2012; VEMUGANTI, 2013).

Os pseudogenes que flanqueiam a RCSWB (destacado em laranja na figura 2) são oriundos de mecanismos de duplicações os quais surgiram ao longo da evolução (STANKIEWICZ; LUPSKI, 2010). Resumidamente, um pseudogene consiste em uma cópia anormal de um gene funcional cuja sequência apresenta uma homologia bem próxima a sequência do gene original, e sua função tem sido atribuída a regulação dos genes que o originaram (STRACHAN; READ, 2012). Isto é, os pseudogenes produzem proteínas truncadas que suprimem a atividade das proteínas homólogas. Na SWB, o gene *NCF1*, que produz uma proteína (fator citosólico dos neutrófilos 1, conhecido também como p47-phox) integrante do complexo enzimático NADPH oxidase, apresenta dois pseudogenes (*NCF1B* e *NCF1C*). A deleção de dois pares de base (Δ GT) presentes no éxon 2 diferencia o gene *NCF1* de seus pseudogenes (ROESLER *et al.*, 2000; HEYWORTH; NOACK; CROSS, 2002; KOZEL *et al.*, 2014). Estudos tem revelado que indivíduos nos quais a deleção não abrange o gene *NCF1* por completo podem ter uma predisposição aumentada no desenvolvimento de hipertensão, isto é, a prevalência de hipertensão é menor em indivíduos que apresentam uma única cópia do gene *NCF1* (DEL CAMPO *et al.*, 2006;

KOZEL *et al.*, 2014). Isso sugere que espécies reativas de oxigênio, produzidos pela ação da NADPH oxidases, desempenham um papel importante na patogênese da hipertensão na WBS.

Devido a alta homologia entre o *NCF1* e seus pseudogenes, a recombinação entre o gene *NCF1* com algum de seus pseudogenes pode levar a uma deleção total ou parcial do gene *NCF1* e, desta maneira, acarretar na ausência de um alelo normal do gene *NCF1* (ROESLER *et al.*, 2000). Esse rearranjo ajudou a esclarecer um caso clínico de um indivíduo que apresentava múltiplos granulomas compatíveis com a doença granulomatosa crônica (CGD, do inglês *chronic granulomatous disease*), características faciais similares à SWB (ampla fronte, estrabismo, orelhas grandes com lóbulos marcantes, filtro nasal longo e boca grande) e dificuldade de aprendizagem. Soukup e col. (2018) demonstraram que a CGD é devido a deficiência (deleção Δ GT) do gene *NCF1* (OMIM 608512), e que o outro alelo do gene foi deletado juntamente com a RCSW esclarecendo assim as características similares a SWB. Deste modo, fica claro a possibilidade de pacientes com DGC, deficientes em *NCF1*, também poderem apresentar microdeleções que resultam na SWB ou outros distúrbios hereditários.

Pequenas moléculas de RNA reguladores com tamanho variando de 19 a 25 nucleotídeos são classificados como miRNAs. Estes, ao se associarem a região 3'UTR, podem reduzir a eficiência da tradução ou levar a degradação do mRNA (BICKER; SCHRATT, 2008; MEOLA; GENNARINO; BANFI, 2009; DHARAP; VEMUGANTI, 2017; ÖNER, 2019). Sabe-se que essas pequenas moléculas estão envolvidas em uma série de processos biológicos básicos, como o desenvolvimento, diferenciação, apoptose e proliferação. Desde a descoberta de que os miRNAs tem um papel importante nos processos biológicos, foi levantada a hipótese de que alterações as quais podem impactar na função do miRNA pode também influenciar no papel patogênico nas doenças humanas. O sistema nervoso central (SNC) dos mamíferos apresenta uma grande quantidade de miRNAs e estes tem revelado papéis importantes durante o desenvolvimento do cérebro, maturação de dendritos e espinhos, além de função sináptica e plasticidade (DHARAP; VEMUGANTI, 2017).

Dentre os miRNAs exibidos na região 7q11.23, tais como miR-4284 (73.125.647 – 73.125.727), miR-590 (73.605.528 – 73.605.624) e miR-4651 (75.544.515 – 75.544.587), nenhum deles apresenta relatos na literatura associados à SWB. Mesmo que os miR-4284 e miR-590 sejam

retratados em estudos envolvendo casos de duplicação da região, não há relatos sobre o impacto deles na síndrome 7dup (ABBAS *et al.*, 2016).

Alguns miRNAs que alteram a expressão de proteínas importantes da RCSWB já foram identificados. Um deles, o miR-134 (14q32.31), foi identificado em um modelo animal como sendo um miRNA específico do cérebro (SCHRATT *et al.*, 2006). Os neurônios do hipocampo de ratos que superexpressam o miR-134 apresentam uma redução no tamanho das espinhas dendríticas (pequenas evaginações no dendrito) que formam os compartimentos pós sináptico da maioria das sinapses excitatórias (SIEGEL; SABA; SCHRATT, 2011). Essa alteração na morfologia é devido ao pareamento entre o miR-134 e o mRNA do gene *LIMK1* que resulta na regulação da expressão da proteína quinase codificada pelo gene, promovendo a regulação da dinâmica dos filamentos de actina e, assim, coordenando o tamanho das espinhas dendríticas (SCHRATT *et al.*, 2006; BICKER; SCHRATT, 2008). A tradução regulada por miR-134 pode por sua vez ser aliviada com a exposição dos neurônios a um peptídeo o qual é liberado durante a estimulação sináptica, conhecido como fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Dependendo da condição da atividade de uma dada sinapse, a regulação pode alternar entre a inibição e ativação da tradução (BICKER; SCHRATT, 2008; SIEGEL; SABA; SCHRATT, 2011).

Palacios-Reyes e col. (2013) demonstraram que existem miRNAs que possuem diferenças na sua expressão frente à haploinsuficiência de genes oriundos da RCSWB. Devido aos papéis fisiológicos indispensáveis, Dharpa e Vemuganti (2017) evidenciaram que a desregulação de miRNA tem sido implicada na progressão de danos cerebrais em condições agudas e crônicas, como epilepsia, distúrbios neurodegenerativos e psiquiátricos. Através de células neurais derivadas de neuroepitélio olfatório (ONE, do inglês *olfactory neuroepithelium*) de indivíduos com a SWB e de indivíduos saudáveis, 667 miRNAs via RT-qPCR (RT, do inglês *reverse transcriptase*) foram analisados e comparados entre os dois grupos (PALACIOS-REYES *et al.*, 2013). Dentre eles, os miR-200c (12p13.31) e miR-744 (17p12) se destacaram por atuarem na expressão, respectivamente, dos genes *CLIP2* e *VPS37D*. Sugere-se que a baixa expressão de ambos esteja relacionada a uma compensação à haploinsuficiência dos genes, de modo que os efeitos deletérios que podem ocorrer sejam minimizados. As duas proteínas codificadas por esses genes fazem parte de complexos os quais tem grande impacto no desenvolvimento neurológico. Embora a função da proteína proveniente do gene *VPS37D* não seja caracterizada em humanos, os complexos que

envolve as proteínas da mesma família estão envolvidos em vários processos celulares cuja deficiência está associada a doenças neurodegenerativas (LEE; GAO, 2012). A proteína CLIP-115, codificada pelo *CLIP2*, tem sido associada ao perfil neurológico da SWB e sugere-se que a sua deleção altere a formação, transporte e morfogênese do citoesqueleto, bem como o transporte e crescimento dos corpos e extensões das células neurais.

Outra classe de pequeno ncRNA presente na região consiste nos piRNAs, que consistem na interação de um ncRNA com proteínas provenientes de uma família chamada Piwi (DHARAP; VEMUGANTI, 2017; LITWACK, 2018). Essa classe foi descoberta recentemente expressa em testículos de drosófilas (ARAVIN *et al.*, 2001), contudo, logo os estudos se expandiram a outros organismos como ratos, camundongos (GIRARD *et al.*, 2006; LAU *et al.*, 2006) e humanos (WILLIAMS *et al.*, 2015). Os piRNAs são denominados como guardiões do genoma pois previne o excesso de mutações (DHARAP; VEMUGANTI, 2017) atuando no silenciamento de elementos transponíveis (TE, do inglês *transposable element*) através da metilação do DNA. Estudos tem sugerido que esta não seja a principal função nos humanos (KRISHNAN; DAMARAJU, 2019). Basicamente, os piRNAs parecem contribuir nos processos de desenvolvimento como na formação de células germinativas, manutenção das células-tronco germinativas, meiose, espermiogênese e ovogênese, e na regulação de genes podendo atuar como supressor ou ativador epigenético, dependendo do recrutamento de proteínas (YUAN *et al.*, 2016; KRISHNAN; DAMARAJU, 2019; ÖNER, 2019). Dentre os piRNAs exibidos na região, como DQ586658 (piR-53770), DQ596866 (piR-34932) e DQ601342 (piR-59725), não há nenhum relato deles na literatura.

O único snoRNAs existente na região, SNORA14A, além de não ter nenhum relato na literatura relacionado à SWB também não apresenta uma função estabelecida, como foi abordado em um estudo onde essa molécula foi significativamente expressa em um perfil gênico (MATTICK, 2009). No genoma humano a maioria dos snoRNAs identificados estão localizados em regiões intrônicas e de forma individual (DIECI; PRETI; MONTANINI, 2009).

Assim como os miRNAs, os lncRNAs também são abundantes no SNC embora sejam expressos em todas as células e tipos de tecido (DHARAP; VEMUGANTI, 2017). Dentre as categorias existentes, os mais comuns são aqueles transcritos de regiões intergênicas, lincRNAs (DHARAP; VEMUGANTI, 2017). A região abaixo apresenta um lncRNA intergênico,

LINC00035 (73.149.399 – 73.150.330). Mesmo este localizando-se dentro da RCSWB, entre os genes *STX1A* e *ABHD11* (mais próximo deste), não existe relatos que associam ele à SWB.

Como já relatado, os indivíduos acometidos podem apresentar deleções consideradas atípicas na SWB. Isto é, as deleções podem ser diferentes daquelas consideradas típicas, de 1,55 Mb ou 1,85 Mb (PÉREZ JURADO, 2003). Em vista disso, as deleções atípicas podem envolver tanto genes *upstream* à RCSWB como também *downstream*. Considerando a visão geral apresentada na figura 2, dentre os genes *upstream* à RCSWB, *POM121*, *NSUN5*, *TRIM50*, alguns já foram identificados em indivíduos cujas deleções são consideradas atípicas (MICALE *et al.*, 2008; KUO *et al.*, 2019; RAMÍREZ-VELAZCO *et al.*, 2019).

Curiosamente, um estudo utilizou dados sobre o fenótipo comportamental de indivíduos com SWB (excessiva sociabilidade) para estudar e compreender componentes genéticos intrínsecos na personalidade e comportamento de cães domésticos. Dentre os resultados, observou-se que o gene *POM121*, o qual codifica uma proteína transmembranar que medeia o transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma, está associado ao aumento da socialização desses cães. Além desse gene, o estudo revelou dados sobre variantes estruturais de um outro gene dentro da RCSWB, o *GTF2I*, também significativamente associado à socialização nos cães domésticos (VONHOLDT *et al.*, 2017; TANDON *et al.*, 2019). Vale ressaltar aqui que esses genes no genoma de cães domésticos estão presentes no cromossomo 6 e são ortólogos aos genes humanos, isto é, genes que possuem uma origem em comum e que podem ou não ter a mesma função.

O gene *NSUN5* cuja proteína codificada atua como uma metiltransferase na posição 5 da citosina no RNA, isto é, inativa a expressão pela adição de metil (CH₃) no carbono 5 da base nitrogenada citosina do RNA, já foi bem estudado por um grupo na China (ZHANG *et al.*, 2019). Os objetivos dos estudos foram avaliar o impacto que a falta deste gene, em homozigose (*Nsun5*^{-/-}) ou hemizigose (*Nsun5*^{+/-}) em camundongos, implica no desenvolvimento no cérebro cujo transcrito é altamente expresso no cérebro de camundongos. Ambos estudos avaliaram a influência deste transcrito em fases embrionárias, em camadas e estruturas celulares diferentes durante o desenvolvimento cerebral. Primeiramente Zhang e col. (2018) concluíram que a deleção não teve alteração em relação ao crescimento e metabolismo energético no cérebro, no entanto, em relação ao comportamento cognitivo espacial e memória a falta deste transcrito levou ao déficit cognitivo.

Dentre os genes *downstream*, o *GTF2IRD2* também foi relatado por Ramírez-Velazco e col. (2019) e Kuo e col. (2019). Além deste, outros genes *downstream* já foram correlacionados à síndrome, como os *NCF1*, *WBSCR16*, *TRIM73*, *HIP1*, *POR*, *HSPB1* e *YWHAG* (KUO *et al.*, 2019).

Os genes pertencentes a RCSW são os mais comumente estudados e, diante disso, estes estão sumarizados na **tabela 1**. Estudos em camundongos, com deleções heterozigotas e homozigotas da região e knockout de alguns genes, mostram que a maioria destes genes exibem alterações na expressão no cérebro (HOOGENRAAD *et al.*, 2002; BORRALLERAS *et al.*, 2016).

Tabela 1 - Principais genes envolvidos na síndrome de Williams-Beuren (SWB) e suas respectivas correlações genótipo-genótipo.

GENES	PROTEÍNAS	COORDENADA GENÔMICA*	CORRELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO	REFERÊNCIAS
<i>FKBP6</i>	O75344	72742299-72772641	Codifica uma proteína envolvida no pareamento e recombinação de cromossomos homólogos durante a meiose. Pode estar relacionado à hipercalcemia, atraso de crescimento e fertilidade.	MENG <i>et al.</i> , 1998; METCALFE <i>et al.</i> , 2005.
<i>FZD9</i>	O00144	72848108-72850450	Determinante crítico no desenvolvimento do hipocampo e pode contribuir, provavelmente, para o fenótipo de desenvolvimento neurológico e comportamental da SWB. Recentemente, foi descoberto que a haploinsuficiência deste gene faz com que os neurônios fiquem ultraconectados e realize uma maior quantidade de sinapses, oposto ao que acontece nos indivíduos com transtornos do espectro autista (TEA).	ZHAO <i>et al.</i> , 2005; LAURITO <i>et al.</i> , 2013; FUSCO <i>et al.</i> , 2014; CHAILANGKARN <i>et al.</i> , 2016.
<i>BAZ1B</i>	Q9UIG0	72854727-72936615	Dados recentes indicam que a haploinsuficiência concede desregulação transcricional nas vias de desenvolvimento neurológico. É componente do complexo de remodelamento da cromatina, ou seja, está envolvido em múltiplas funções como transcrição, replicação e reparo do DNA.	ASHE <i>et al.</i> , 2008; KITAGAWA <i>et al.</i> , 2011; SAVINA <i>et al.</i> , 2011; LALLI <i>et al.</i> , 2016; GUENAT <i>et al.</i> , 2017; ZANELLA <i>et al.</i> , 2019.
<i>BCL7B</i>	Q9BQE9	72950682-72972065	Regula positivamente a via de apoptose.	ZHUKOVA; NAQVI, 2013; UEHARA <i>et al.</i> , 2015.
<i>TBL2</i>	Q9Y4P3	72983276-72993013	Importante na regulação de vias envolvidas na síntese de proteína, sua haploinsuficiência pode contribuir para alguns aspectos da SWB. Associado também a síndromes neurológicas.	PÉREZ JURADO <i>et al.</i> , 1999; TSUKUMO <i>et al.</i> , 2014; TABATABAI <i>et al.</i> , 2021.
<i>MLXIPL</i>	Q9NP71	73007523-73038870	A proteína codificada atua como fator de transcrição envolvido na regulação de síntese e estocagem de glicose e lipídios.	PALACIOS-VERDÚ <i>et al.</i> , 2015; MEJHERT <i>et al.</i> , 2020.
<i>VPS37D</i>	Q86XT2	73082173-73086440	-	-
<i>DNAJ30</i>	Q96LL9	73095247-73097781	Baixa expressão está correlacionada com alteração na função e morfologia mitocondrial e neuronal.	TEBBENKAMP <i>et al.</i> , 2018.
<i>WBSCR22 (BUD23)</i>	O43709	73097897-73112551	Envolvido na síntese ribossômica. Redução na sua expressão tem sido correlacionado a problemas cardíacos.	HAAG; KRETSCHMER; BOHNSACK, 2015; BAXTER <i>et al.</i> , 2020.
<i>STX1A</i>	Q16623	73113534-73134017	Apresenta um papel fundamental na liberação e fusão de neurotransmissores nas vesículas sinápticas e na secreção de insulina. Sua haploinsuficiência pode estar relacionada à deficiência neuropsiquiatria e a ocorrência de diabetes na SWB.	GAO <i>et al.</i> , 2010; DURDIAKOVÁ <i>et al.</i> , 2014; ASLAMY; THURMOND, 2017; KOZEL <i>et al.</i> , 2021.
<i>CLDN3</i>	O15551	73183326-73184600	-	-
<i>CLDN4</i>	O14493	73245192-73247015		

<i>WBSCR27</i> (<i>METTL27</i>)	Q8N6F8	73248920-73256855	Promove alteração enzimática importante para efetivação da função metiltransferase.	MARIASINA <i>et al.</i> , 2018; MARIASINA <i>et al.</i> , 2020.
<i>WBSCR28</i> (<i>TMEM270</i>)	Q6UE05	73275488-73280223	-	-
<i>ELN</i>	P15502	73442426-73484236	Codifica proteína presente no tecido conjuntivo, sua insuficiência ou anormalidade está envolvida em várias características da SWB, tais como problemas cardíacos, dimorfismo facial, rouquidão, hérnias (umbilical ou inguinal).	EWART <i>et al.</i> , 1993; DUQUE LASIO; KOZEL, 2018; PARRISH <i>et al.</i> , 2020; KOZEL <i>et al.</i> , 2021.
<i>LIMK1</i>	P53667	73498106-73536855	Atua na formação e manutenção das sinapses, sua deleção implica na formação visuoespacial cuja deficiência é observada na SWB. Esta deficiência foi também associada à hiperacusia.	MORRIS; MERVIS, 2000; ANTONELL <i>et al.</i> , 2006; GAO <i>et al.</i> , 2010; MATSUMOTO; KITANI; KALINEC, 2011; GREGORY <i>et al.</i> , 2019; ZABLAH <i>et al.</i> , 2021.
<i>EIF4H</i>	Q15056	73588705-73611429	Primordial para iniciação da síntese proteica. Sua ausência está associada ao atraso no crescimento e diminuição de peso e volume na maioria dos órgãos e tecidos. Alteração na morfologia cerebral bem como redução no número e complexidade dos neurônios também foram associados.	CAPOSSELA <i>et al.</i> , 2012.
<i>LAT2</i>	Q9GZY6	73624086-73644164	-	-
<i>RFC2</i>	P35250	73645831-73668738	Pode estar envolvido na microcefalia e, portanto, pode influenciar na deficiência de crescimento na SWB devido o papel importante na replicação do DNA e checkpoint do ciclo celular.	FERRERO <i>et al.</i> , 2007; O'DRISCOLL <i>et al.</i> , 2007; SAVINA <i>et al.</i> , 2011; GUENAT <i>et al.</i> , 2017.
<i>CLIP2</i>	Q9UDT6	73703804-73820273	Associado à função cognitiva e motora.	TASSABEHJI <i>et al.</i> , 2005; FERRERO <i>et al.</i> , 2010; DELGADO <i>et al.</i> , 2013; ALESÍ <i>et al.</i> , 2021.
<i>GTF2IRD1</i>	Q9UHL9	73868119-74016920	As proteínas codificadas atuam como fatores de transcrição multifuncionais e estão envolvidas na resposta ao dano no DNA e reparo nas vias de sinalização. Evidências apontam a existência de sobreposição de características e sugere a haploinsuficiência de ambos é responsável pelos principais aspectos do perfil neurocognitivo da SWB. Esses genes estão também associados às diferentes manifestações fenotípicas de SWB, como comportamento social, ansiedade, déficit visuoespacial, hiperacusia, retardo mental e características relacionadas ao dismorfismo craniofacial.	ANTONELL <i>et al.</i> , 2006; PALMER <i>et al.</i> , 2012; CANALES <i>et al.</i> , 2015; GUENAT <i>et al.</i> , 2017; CHAILANGKARN; NOREE; MUOTRI, 2018; CAVALLO <i>et al.</i> , 2020; KOPP <i>et al.</i> , 2020; KOZEL <i>et</i>
<i>GTF2I</i>	P78347	74072029-74175022		

				<i>al.</i> , 2021; SERRANO-JUÁREZ <i>et al.</i> , 2021.
<i>NCF1</i>	P14598	74188308-74203659	Sua haploinsuficiência confere um fator de proteção contra a hipertensão.	DEL CAMPO <i>et al.</i> , 2006; KOZEL <i>et al.</i> , 2014.
<i>WBSCR16</i> (<i>RCC1L</i>)	Q96I51	74456282-74489699 74765875-74789332	Proteína envolvida com fusão mitocodrial. Sugere-se que a hemizigosidade está relacionada às patologias neuronais na SWB devido a redução nos eventos de fusão mitocondrial.	MERLA <i>et al.</i> , 2002; HUANG <i>et al.</i> , 2017.

*Início (star) e fim (end) de acordo com a sequência de referência humana: GRCh37/hg19. FONTE: Plataforma *UCSC Genome Browser* (GRCh37/hg19).

- Sem dados correlacionados com a SWB na literatura.

O principal gene envolvido na SWB é o da elastina (*ELN*), com tamanho aproximado de 42Kb e 33 éxons. Este gene codifica uma proteína que é o componente crucial da fibra elástica encontrada no tecido conjuntivo (tais como pulmões, pele e artérias). A haploinsuficiência deste gene esclarece várias características da SWB devido a sua importância na matriz extracelular, como dismorfismo facial, voz grave que leva à rouquidão e aspereza na voz, presença de hérnias (umbilical ou inguinal), alterações renais, problemas ortopédicos, problemas respiratórios (estenose da artéria pulmonar, dispneia) (EWART *et al.*, 1993; MORRIS; THOMAS; GREENBERG, 1993b; MORRIS; MERVIS, 2000; AAP, 2001; VAUX *et al.*, 2003; SAMMOUR *et al.*, 2014; MORRIS, 2017; OWENS *et al.*, 2017; DUQUE LASIO; KOZEL, 2018). As alterações cardíacas também são caracterizadas pela hemizigiosidade do gene *ELN* e, como já abordado, essa condição atribui uma das características de maior morbidade e mortalidade na SWB (SZAFLIK *et al.*, 2016). Delio e col. (2013) sugeriram que variações na sequência do alelo *ELN* não deletado podem ser responsáveis pela expressividade variável do fenótipo cardiovascular, dependendo da quantidade de tropoelastina disponível.

Existem mais de cem variantes desse gene descritas na literatura (DUQUE LASIO; KOZEL, 2018) associadas à estenose supravalvar da aorta (SVAS) autossômica dominante e à doença autossômica dominante cutis laxa (CL). Pequenas deleções e mutações pontuais também foram relatadas como causadores de SVAS (EWART *et al.*, 1994; OLSON *et al.*, 1995). A primeira correlação do gene *ELN* à SWB foi através de um estudo familiar com SVAS. Os pesquisadores observaram que uma translocação recíproca, cosegregada em uma família, entre os cromossomos 6 e 7 [t(6:7) (p21.1;q11.23)] ocasionava a disrupção do *ELN* e, consequentemente, causava um fenótipo cardiovascular quase idêntico ao encontrado em 95% dos indivíduos com SWB (EWART *et al.*, 1993; MORRIS *et al.*, 1993; SCHUBERT, 2009; COLLINS, 2018). As outras características da SWB não são observadas em SVAS e CL, portanto, é improvável que o gene da *ELN* seja unicamente responsável pelas demais características da síndrome (EUTENEUER *et al.*, 2014).

Os genes *RFC2*, *GTF2I* e *BAZ1B* codificam proteínas as quais estão envolvidas na resposta ou reparo ao dano no DNA. Em vista disso, um estudo funcional foi conduzido com fibroblastos provenientes de pacientes com SWB para investigar essa resposta nos pacientes. *RFC2* codifica uma das cinco subunidades do fator C da replicação que facilita a ação da DNA polimerase e importante para a resposta de sinalização ATR (proteína quinase relacionada com Ataxia

Telangiectasia e Rad3). O'Driscoll e col. (2007) mostraram que esta via de sinalização foi sensível à haploinsuficiência do gene *RFC2I*. O *BAZ1B* é componente do complexo de remodelação da cromatina que mantém a organização da cromatina e o *GTF2I*, é um fator de transcrição multifuncional que é ativado em resposta à sinalização mitogênica. Nenhum dado significativo provou que a deficiência na resposta ou no reparo ao dano no DNA é devido a haploinsuficiência desses genes (GUENAT *et al.*, 2017). No entanto, Tassabehji e col. (2005) mostraram evidências de sensibilidade à dosagem do *GTF2I* (e *GTF2IRD1*) implicados na causa do dismorfismo craniofacial na SWB. O *BAZ1B* também tem sido implicado no desenvolvimento craniofacial na síndrome (ASHE *et al.*, 2008), mas seu papel ainda está sendo investigado. Recentemente, Zanella e col. (2019), propuseram uma contribuição chave deste gene para a indução e migração *in vitro* de células-tronco da crista neural, juntamente com um envolvimento crucial em circuitos de transcrição específicos de crista neural e regulação. Sendo assim, conclui-se que esses genes desempenham papéis importantes na resposta ou no reparo do DNA, mas parece que existe uma interação com outros genes ou outras vias de sinalização para que isso aconteça efetivamente.

Chailangkarn e col. (2016 e 2017) concluíram, a partir de um estudo com células-tronco pluripotentes induzidas humanas (hiPSC), que o gene *FZD9* é responsável pela apoptose nas células progenitoras neurais (NPC) de indivíduos com SWB. Os neurônios procedentes dos casos típicos exibiram alterações morfológicas, expondo neurônios ultraconectados. Os resultados obtidos mostram que esse modelo de estudo tem potencial para desvendar os mecanismos implícitos em doenças complexas.

O gene *GTF2I* é um dos genes relacionados às diferentes manifestações fenotípicas de SWB, como comportamento social, ansiedade, déficit visuoespacial, hiperacusia, deficiência intelectual e características relacionadas ao dismorfismo craniofacial (TASSABEHJI *et al.*, 2005).

Chailangkarn, Noree, Muotri (2018) propuseram estudos com iPSC para coletar maiores informações desse gene no âmbito da SWB devido o seu envolvimento no perfil neurocognitivo na síndrome.

Muitos estudos têm buscado estabelecer uma correlação genótipo-fenótipo entre os genes e SWB, na tentativa de correlacionar o tamanho e o número de genes envolvidos na microdeleção bem como a dosagem gênica com o espectro de manifestações clínicas dos pacientes. Entretanto, a maioria dos pacientes que apresenta a microdeleção também possui uma variedade nos padrões

fenotípicos e essa correlação tornou-se ainda mais trabalhosa do que inicialmente se acreditava. Em vista disso, torna-se extremamente importante estudos de pacientes que possuam deleções parciais e atípicas (SCHUBERT, 2009; HONJO *et al.*, 2015).

Vale ressaltar, por fim, que são necessárias mais investigações a fim de estabelecer uma correlação genótipo-fenótipo mais ampla e mais robusta, visto que há vários outros fatores genéticos (como ncRNAs, regulação epigenética, mutações pontuais, entre outros) e ambientais que podem estar subjacentes à etiologia das anomalias congênitas apresentadas pelos pacientes investigados.

Diversos estudos tem focado nesses tipos de abordagem para identificar os pontos de quebra e, desta forma, tentar correlacionar às alterações encontradas com o fenótipo. Li e col., 2015 utilizou a metodologia de CMA para a detecção de tamanhos e pontos de quebras diferentes de microdeleção e microduplicação da região 7q11.23 em pacientes diagnosticados com SWB. Embora esses estudos apontem genes importantes para a SWB, não se sabe qual o papel em que todos os genes envolvidos na deleção contribuem para o desenvolvimento da síndrome. Em 2010, Osborne reforçou que mesmo definindo os pontos de quebra, é extremamente relevante e necessário a avaliação dos efeitos sobre a expressão de genes vizinhos à região deletada, já que estes podem ser alterados devido à supressão de elementos reguladores. O autor enfatiza também a dificuldade de avaliar os efeitos das alterações genéticas específicas em tecido ou estágio de desenvolvimento que não são possíveis em humanos. Embora Osborne enalteça o uso de camundongo como modelo animal para uma melhor compreensão genótipo-fenótipo, pela ortologia gênica, sabe-se que a fisiologia entre eles tem diferenças que podem impactar significativamente na interação genótipo-fenótipo.

Em vista disso, faz-se necessária análises que compreendam como o sistema biológico por inteiro atua, verificar a interação gênica de cada um desses genes, a expressão gênica, as interações entre proteínas, as vias metabólicas, dentre outras (FERRELL, 2009) sem a necessidade de utilizar um modelo animal. Análises *in silico* envolvendo biologia de sistemas, aprendizado de máquinas e redes biológicas, vem sendo aplicadas com intuito de proporcionar uma visão holística para elucidar o comportamento global do sistema e predizer, com certa precisão, suas respostas às perturbações, sejam estas funcionais, estruturais e/ou evolutivas, nas doenças humanas (KALTENBACH *et al.*, 2007; TAYLOR, WRANA, 2012; BASSETT *et al.*, 2017; KIMURA *et*

al., 2019; SRIROOPREDDY *et al.*, 2019; ZHANG; ITAN, 2019; PRAJAPATI; EMERSON, 2020; BASU *et al.*, 2021).

1.2 Redes biológicas

Redes biológicas consistem na representação, em forma de rede, da complexidade dos sistemas biológicos (BELLOMO; CARBONARO, 2011). A biologia de sistemas é a área que estuda as interações entre os diversos componentes dos sistemas biológicos (MARCUS, 2008; GU; SAURO, 2013). Embora não exista uma definição bem estabelecida (KITANO, 2002), essa área visa esclarecer o comportamento global do sistema biológico a partir das interações de todos os seus componentes. Isto é, analisar de forma holística onde as propriedades de um sistema biológico não podem ser explicadas meramente pela soma de suas partes menores. Para isso, redes baseadas em conceitos matemáticos de grafos vêm sendo amplamente utilizadas como uma forma de modelagem dos sistemas biológicos, permitindo uma melhor compreensão dos processos biológicos que os compõem e das suas inter-relações (JUNKER; SCHREIBER, 2008). Nesse contexto, as redes são empregadas para descrever e identificar interdependências entre os seus componentes, tais como genes e proteínas, com o objetivo de entender melhor os mecanismos moleculares da célula (STUMP; BALDING; GIROLAMI, 2011). Os fenótipos de muitas doenças humanas são controlados não apenas pelos genes individuais e seus produtos, mas também pelas interações existentes entre eles e pelo comportamento dinâmico em todo o sistema que eles exibem (MARCUS, 2008). Por exemplo, na biologia de sistemas aplicada a medicina, o foco específico está na compreensão dos mecanismos relacionados as doenças que são mediados por mudanças na estrutura da rede.

Estudos da biologia de sistemas na área médica incluem a análise de redes biológicas metabólicas (HEFZI; PALSSON; LEWIS, 2013), de regulação gênica (BULYK; WALHOUT, 2013), transdução de sinal e de interação entre proteínas (PHIZICKY; FIELDS, 1995; CARVUNIS *et al.*, 2013). O presente trabalho é direcionado ao estudo de alterações na rede de interação do tipo proteína-proteína (PPI) vinculadas à SWB. O intuito de analisar esse tipo de rede remete-se ao fato de que as proteínas atuam em várias funções dentro dos organismos (BOCCALETTI *et al.*, 2006; WALHOUT *et al.*, 2013), além de serem importantes para o diagnóstico e desenvolvimento de estratégias terapêuticas de algumas doenças (JAEGER; ALOY, 2012; TAYLOR; WRANA, 2012; ROLLAND *et al.*, 2014).

A representação de uma rede é baseada na teoria de grafos. A teoria de grafos trata de uma subárea da matemática que tem como objetivo esclarecer os aspectos estruturais das interações de

um sistema complexo. Isto é, a representação de uma rede biológica em grafo tem por objetivo simplificar toda a complexidade de um sistema biológico. Um grafo é representado matematicamente por $G = (V, E)$, onde “V” consiste em um conjunto de vértices (denominados a partir daqui como nós) e “E” um conjunto de arestas (denominadas também como interações, conexões e/ou ligações) (JUNKER; SCHREIBER, 2008). Tomando o grafo (G) ilustrado na **figura 3**, $V = \{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7\}$ e $E = \{(1, 2), (2, 3), (1, 3), (3, 6), (4, 5), (5, 7)\}$. No geral, um grafo é diagramado como um conjunto de pontos (representando os nós), conectados por linhas (representando as interações).

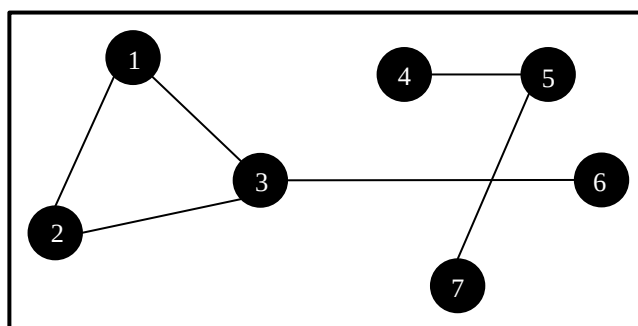


Figura 3 – Representação de um grafo $G = (V, E)$. “V” consiste em um conjunto de vértices e “E” um conjunto de arestas. $V = \{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7\}$ e $E = \{(1, 2), (2, 3), (1, 3), (3, 6), (4, 5), (5, 7)\}$. Adaptado de JUNKER; SCHREIBER, 2008.

Os primórdios dessa teoria surgiram para resolver um problema na cidade de Königsberg, na Prússia, em 1736 (MA’AYAN, 2011; BARZEL, SHARMA, BARABÁSI, 2013). Brevemente, o problema girava em torno das sete pontes que ligavam toda a cidade, a qual era dividida em ilhas. Leonhard Euler, um matemático da época, simplificou todo o mapa da cidade: as ilhas foram representadas como vértices e as sete pontes como arestas. Desta forma, Euler concluiu que para visitar toda a cidade era preciso passar pelo menos duas vezes em uma das sete pontes. Diante disso, fica claro que essa teoria permite focar estritamente no cerne do problema diante de toda a complexidade envolvida. Embora a origem da teoria tenha sido aplicada por Euler, os avanços mais significativos nessa área se deram anos mais tarde e foram atribuídos a Paul Erdős e Alfred Rényi que buscavam estabelecer as consequências de jogar em uma mesa um punhado de botões e conectá-los aleatoriamente.

Um grafo, dependendo da natureza das interações entre os nós, pode ser definido como direcionado, não direcionado ou misto (**Figura 4**). Um grafo direcionado descreve a existência de uma direção ordenada das interações entre os nós de uma rede, representadas por setas. Isto é, a interação entre os nós 5 e 7 (figura 4 - B) só ocorre se houver outras interações precedentes como (1,2), (2,4), (4,5). Redes biológicas metabólicas e de regulação gênica, as quais necessitam de uma sinalização anterior para ativar uma cascata de sinais ou regular a ação de um gene, apresentam esse perfil de interação. Grafos não direcionados, tais como os presentes nas redes biológicas do tipo PPI, utilizada no presente trabalho, consistem de interações não ordenadas entre os nós (figura 4 - A). Por fim, um grafo misto é composto tanto por interações do tipo ordenadas quanto não ordenadas. Todas essas representações refletem o fluxo de informações em uma rede (BARABÁSI; OLTVAI, 2004; JUNKER; SCHREIBER, 2008; WALHOUT *et al.*, 2013).

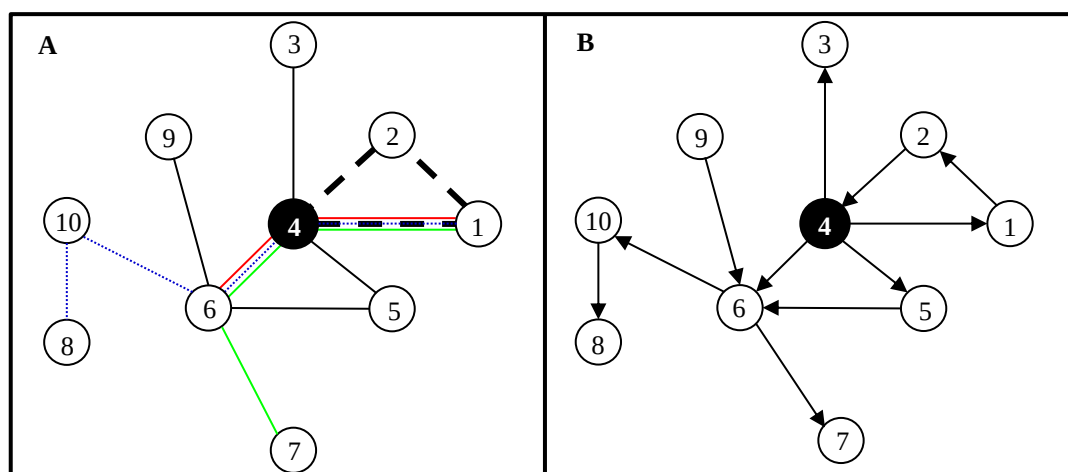


Figura 4 – Grafos do tipo não direcionado (A) e direcionado (B). Adaptado e modificado de JUNKER; SCHREIBER, 2008.

A análise da estrutura (topologia) de uma rede, obtida através de propriedades métricas, inclui as propriedades topológicas gerais e específicas dos nós e das interações entre eles, bem como as propriedades de toda a rede (propriedades globais) e dos módulos dentro da rede (ALBERT; BARABÁSI, 2002; BARABÁSI; OLTVAI, 2004; JUNKER; SCHREIBER, 2008; WALHOUT *et al.*, 2013). Essas medidas proporcionam informações sobre todo o comportamento da rede, além de classificar e categorizar o formato geral da rede.

Uma das medidas mais importantes em uma rede é dado pelo grau ou conectividade de um nó, estabelecido a partir daqui como *degree* (k). Essa propriedade determina o número total de ligações que um nó faz com outros nós da rede e varia entre uma rede direcionada e não direcionada (BARABÁSI; OLTVAI, 2004; JUNKER; SCHREIBER, 2008; MA'AYAN, 2011; PAVLOPOULOS *et al.*, 2011; WALHOUT *et al.*, 2013). Tomando a figura 4 como base, o nó de número 4 (destacado em preto) apresenta um *degree* igual a 5 no grafo não direcionado (A). No grafo direcionado (B) o mesmo nó apresenta um *in-degree* (k_i) de 1 e um *out-degree* (k_o) de 4, sendo k_i e k_o a quantidade de interações que chegam e saem, respectivamente, do nó 4. A partir dessa medida, podemos estabelecer qual a distribuição de *degree* e, com isso, estabelecer a qual modelo a rede em questão pertence. A assortatividade, propriedade que estabelece o grau de correlação dos nós, também é estabelecida por essa medida. O valor de assortatividade varia de -1 a 1, onde -1 representa uma rede totalmente dissortativa (quando nós de alto *degree* tendem a conectar nós com baixo *degree*) e 1 representa uma rede totalmente assortativa (quando os nós tendem a estarem associados a nós de *degree* similar) (HOLME; ZHAO, 2007; JUNKER; SCHREIBER, 2008). Em geral, as redes biológicas são dissortativas. Outra propriedade topológica que pode ser mensurada a partir dessa informação de conectividade dos nós é a propriedade de módulos ou comunidades, a qual compreende um grupo de nós que apresentam mais interações entre si do que com o resto da rede (JUNKER; SCHREIBER, 2008). A identificação dessas comunidades pode auxiliar a encontrar nós que compartilham propriedades similares (COSTANZO *et al.*, 2010 e 2016).

A distância e os caminhos (do inglês *Path*) entre os nós de uma rede são a base de muitas medidas em grafos. A distância é determinada pelo número de interações (arestas) que conectam dois nós, ou seja, quantidade de arestas que compõem o percurso. Na figura 4 - A, as arestas indicadas em azul mostram o caminho entre os nós 1 e 8, que resultam em uma distância entre os nós igual a 4. O diâmetro é determinado pela distância máxima entre quaisquer pares de nós (JUNKER; SCHREIBER, 2008). Essa medida estabelece a robustez de uma rede frente a uma possível disrupção, aleatória ou dirigida, da mesma.

O caminho determina a sequência de nós cujas arestas (interações) conectam um determinado nó ao outro. Na figura 4 - A, está destacado em vermelho o caminho entre os nós 1 e 6, que é dado por: (1,4) e (4,6). O caminho mais curto (do inglês *Shortest path*) determina o menor

caminho entre dois nós distantes, levando em conta todos os caminhos possíveis entre dois nós. Na figura 4 - A, os possíveis caminhos entre os nós 1 e 7 são: (1,2), (2,4), (4,5), (5,6) e (6,7) ou (1,4), (4,5), (5,6) e (6,7) ou (1,2), (2,4), (4,6) e (6,7) ou (1,4), (4,6) e (6,7). Contudo, o caminho mais curto entre nós 1 e 7 é determinado por: (1,4), (4,6), (6,7), cujas arestas estão destacadas em verde na figura 4 - A. O caminho simples (do inglês *Simple path*) estabelece o caminho mais simples entre quaisquer dois nós levando em consideração que nenhum dos nós se repete no percurso e todas as interações entre os dois nós (PAVLOPOULOS *et al.*, 2011). Considerando os nós 1 e 7 na figura 4 - B, os possíveis caminhos entre eles são: (1,2), (2,4), (4,6) e (6, 7).

As medidas de centralidade estabelecem a relevância de um nó e o quão central ele é na rede (JUNKER; SCHREIBER, 2008). As medidas mais relevantes para este trabalho foram o *betweenness* e *eigenvector*. *Betweenness* compreende a quantidade de caminhos mais curtos entre um par de nós que obrigatoriamente passa por um nó determinado. Quanto maior a quantidade de caminhos mais curtos que passam por um nó, mais importante ele é na propagação de uma informação (Freeman, 1977). *Eigenvector* verifica a proximidade entre nós que apresentam alto *degree* (ALBERT; BARABÁSI, 2002; MA'AYAN, 2011; PAVLOPOULOS *et al.*, 2011).

Essas propriedades descritas acima permitem comparar o modelo de rede PPI em questão aos modelos de redes já bem estabelecidos na literatura. Dois dos principais modelos de rede que influenciaram diretamente na compreensão de redes biológicas (ALBERT; BARABÁSI, 2002; BARABÁSI; OLTVAI, 2004; STEUR; LÓPEZ, 2008) são discutidos a seguir.

O modelo ER, proposto por Paul Erdős e Alfred Rényi em 1959, consiste em um modelo de grafo baseado em ligações aleatórias. Resumidamente, este modelo estabelece que um número fixo de nós é ligado aleatoriamente uns com os outros com igual probabilidade. A distribuição de conectividade, dado pelos valores de *degree*, nessa rede segue uma distribuição de Poisson a qual estabelece que a maioria dos nós apresenta aproximadamente o mesmo número de ligações, próximo ao valor médio de *degree* ($\langle k \rangle$, onde $\langle \rangle$ indica média).

O modelo BA, proposto por Albert-László Barabási e Réka Albert em 1999, consiste em um modelo de grafo baseado em ligações não aleatórias, ou seja, a probabilidade de que um nó na rede esteja conectado em outros segue uma lei de potência (do inglês *power-law*). Redes com esse tipo de distribuição não apresentam uma escala característica. Essa “liberdade” faz com que esse modelo BA seja conhecido também como livre de escalas (do inglês *scale-free*). Diferente do

modelo ER, este modelo revela que as redes não apresentam um número fixo de nós e que os nós apresentam uma ligação preferencial. Esses aspectos determinam que os nós podem ser adicionados e/ou retirados e que um novo nó apresenta maior probabilidade de se ligar a um nó com alto *degree*. Essa prioridade acarreta em um efeito conhecido como “o rico fica mais rico” (do inglês *rich-get-rich*) onde nós com alto *degree* adquirem ainda mais conexões levando a concentração de ligações em apenas alguns nós da rede, denominados como *hubs*.

Diante da variabilidade fenotípica observada na SWB, das deleções atípicas que também podem ser responsáveis pelo fenótipo e da falta de conhecimento sobre a interação proteína-proteína de redes biológicas envolvidas na síndrome, delineamos o presente estudo com o intuito de contribuir com maiores esclarecimentos sobre a interação dos genes presentes na região deletada, bem como demais fatores que possam estar associados a relação genótipo-fenótipo.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1.Geral

Analisar a região 7q11.23 em pacientes com suspeita clínica de SWB para verificar a presença de deleção típica ou atípica e investigar por meio de uma abordagem *in silico* os efeitos na alteração de redes de interação entre proteínas (PPI), com o intuito de promover uma correlação genótipo-fenótipo observada na SWB.

2.2.Específicos

- Investigar a microdeleção 7q11.23 e caracterizar os pontos de quebra por CMA em pacientes provenientes da AGSW;
- Listar os genes codificadores de proteínas afetados pela microdeleção;
- Identificar as proteínas codificadas por esses genes nas redes PPI obtidas de repositórios públicos;
- Verificar as alterações topológicas entre as redes PPI preditas para indivíduos sem e com a microdeleção (Global *versus* Paciente);
- Análise de enriquecimento com termos ontológicos;
- Estabelecer uma correlação genótipo-fenótipo e identificar novas proteínas/vias que possam estar envolvidas na fisiopatologia da SWB.

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.Aspectos éticos

O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Goiânia (UFG) onde obteve aprovação conforme o número do parecer: 2.177.521 (**ANEXO I**).

Todas informações essenciais à pesquisa foram devidamente esclarecidas tanto pelos pesquisadores responsáveis como por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**ANEXO II**).

As assinaturas dos pais e/ou responsáveis dos consulentes que consentiram em participar do presente estudo foram coletadas por meio do TCLE em duas vias. Cada uma das partes envolvidas, pais e/ou responsáveis e pesquisadores, detém uma cópia. Da mesma forma, foi solicitado a autorização do uso de imagens (**ANEXO III**) para publicação em divulgações científicas.

3.2.Casuística

Os indivíduos que compõem este trabalho são provenientes da Associação Goiana da Síndrome de Williams (AGSW). A casuística foi composta inicialmente por 17 indivíduos com hipótese diagnóstica da SWB da cidade de Goiânia, GO e região. No entanto, apenas 14 indivíduos compuseram a casuística final e, dentre estes, oito indivíduos foram selecionados para análise citogenômica por CMA.

Os indivíduos, bem como seus responsáveis, foram recebidos por um geneticista clínico o qual além de reunir dados clínicos de cada consulente através de uma ficha de características da SWB (**ANEXO IV**), coletou amostras de sangue periférico (5 mL) para realização das análises citogenéticas e moleculares subsequentes. A pesquisa não resultou em riscos relevantes aos indivíduos examinados e a identidade destes foi mantida em anonimato, respeitando a Declaração de Helsinque (Associação Médica Mundial, 1964).

Os pacientes incluídos na amostra atenderam os seguintes critérios de seleção:

Critérios de Inclusão

- Obtenção de um escore clínico maior ou igual ($\geq$) a três, pelo sistema de pontuação da Academia Americana de Pediatria (AAP), de acordo com os dados clínicos dos pacientes;
- Análise citogenética pela técnica da FISH para a região da SWB;
- Consentimento e assinatura do TCLE pelos pais e/ou responsáveis.

3.3. Análises Genéticas

3.3.1. Obtenção do DNA genômico

A extração de DNA genômico foi feita a partir de amostras de 2 ml de sangue periférico (coletado em tubos Vacutainer® com EDTA), segundo as recomendações do fabricante do kit comercial *Flexigene Genomic Purification Kit* (QIAGEN®).

A qualidade e pureza do DNA extraído foram determinadas no espectrofotômetro NanoDrop™ 2000 (Thermo Scientific™) por absorbância da luz UV nos comprimentos de onda de 260 nm a 280 nm. A integridade também foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1%. Posteriormente, as amostras foram estocadas em freezer a -20 °C até as análises subsequentes.

3.3.2. Análise por CMA

A análise por CMA foi realizada em parceria com o Laboratório de Genética Humana da Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB-USP), São Paulo, SP.

O microarranjo *SurePrint G3 Unrestricted CGH*, 8x60K (AgilentTechnologies®, Inc., Santa Clara, CA, USA) usado na análise possui cerca de 60.000 sondas distribuídas pelo genoma humano e possibilita a detecção das variações no número de cópias, ou seja, perdas e ganhos genômicos. Desta forma, a análise possibilitou a detecção do ponto de quebra que flanqueia a região cromossômica 7q11.23 deletada, bem como possibilitou identificar os genes afetados pela deleção. O protocolo utilizado seguiu as instruções do fabricante (Agilent Technologies®).

3.3.2.1. CLC Sequence Viewer

Uma análise preliminar foi feita no programa de bioinformática CLC *Sequence Viewer* (QIAGEN®), com intuito de inferir possíveis consequências de genes comprometidos em suas extremidades 3' (*downstream*) e/ou 5' (*upstream*). A sequência genômica dos genes para análise foi obtida pelo NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3.4. Análise de redes biológicas

A análise de redes biológicas foi realizada em parceria com o Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP.

3.4.1. Obtenção e padronização da rede PPI

Os dados de interações físicas entre proteínas (PPIs) referenciados neste estudo foram obtidos por meio de repositórios públicos como: HumanNet (LEE *et al.*, 2011), BioGRID (STARK, 2006), HuRi (ROLLAND *et al.*, 2014), RegNetworks (LIU *et al.*, 2015), Signalink (FAZEKAS *et al.*, 2013) e ComPPI (VERES *et al.*, 2015), utilizando o identificador taxonômico 9606 – *Homo sapiens* quando necessário. As interações consideradas consistem nas PPI diretas inferidas a partir de métodos experimentais. Dados de interações com microRNAs foram desconsiderados.

Com o objetivo de reunir esses dados em uma única rede, estes foram padronizados para uma única nomenclatura UniProt (UniProt Consortium, 2018) e verificados com intuito de excluir duplicatas e redundância entre as interações onde uma interação entre X-Y representa a mesma interação entre Y-X. Diante disso, obteve-se uma rede de PPI a qual é representada aqui como a rede global (GN, do inglês *global network*).

3.4.2. Determinação da rede global (GN) e da rede paciente (PN)

A rede global (GN), padronizada na etapa anterior, tem por finalidade simular as interações físicas de proteínas proveniente de uma pessoa sem nenhuma alteração genética. A rede denominada como rede do paciente (PN, do inglês *patient network*) consiste na remoção de proteínas a partir da GN. Essas proteínas removidas (denominadas a partir daqui como proteínas deletadas) correspondem as proteínas codificadas pelos genes afetados na microdeleção 7q11.23, identificados anteriormente pela análise por CMA. Logo, PN mimetiza as interações físicas de proteínas de um indivíduo com a SWB.

3.4.3. Propriedades topológicas das redes

As propriedades topológicas de ambas as redes (GN e PN) foram estimadas no software R utilizando a biblioteca Igraph. As principais medidas avaliadas foram: diâmetro, comprimento dos caminhos, *degree* (k), *betweenness* e *eigenvector*.

Os testes estatísticos também foram avaliados no software R utilizando as seguintes bibliotecas: Igraph, "dplyr" e "ggpubr". O teste de normalidade foi avaliado pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, devido ao tamanho amostral. A distribuição foi avaliada usando o teste estatístico não paramétrico de Mann-Whitney U o qual promove uma comparação das propriedades entre as redes. A significância estatística foi estabelecida com valores de $p < 0,05$.

3.4.4. Obtenção e avaliação das proteínas vizinhas

As proteínas prontamente adjacentes, denominadas também como proteínas vizinhas (do inglês *neighbors*), às proteínas deletadas na rede PN foram identificadas e, da mesma forma, foram avaliadas quanto as propriedades topológicas para ambas redes (GN e PN), seguindo os testes estatísticos de Shapiro-Wilk (para avaliação da normalidade) e Mann-Whitney U.

3.4.5. Obtenção das comunidades ou módulos

Cada uma das redes GN e PN foi submetida a um algoritmo (*fastgreedy.community*), pertencente a biblioteca Igraph no software R, que promoveu a separação das redes em comunidades. Esse algoritmo utiliza uma abordagem hierárquica aglomerativa para detecção da estrutura das comunidades, também conhecidas como módulos. Isto é, esse algoritmo inicia-se com cada nó sendo o único membro de uma comunidade e, a cada etapa, os nós com características similares vão sendo agrupados até obter um valor máximo de modularidade (CLAUSET; NEWMAN; MOORE, 2004).

As medidas de *degree* (k), *betweenness* e *eigenvector* das proteínas vizinhas dentro das comunidades de cada grupo (GN e PN) foram reavaliadas seguindo os mesmos critérios estatísticos estabelecidos anteriormente.

A correlação entre *degree* (k) e *betweenness* para cada rede (GN e PN) no contexto de comunidade também foi estabelecida pelo coeficiente de Pearson no software R utilizando a biblioteca Hmisc.

O algoritmo "*SimpleKmeans*" no software WEKA (HALL *et al.*, 2008; FRANK *et al.*, 2016), por meio dos valores de *degree* (k) e *betweenness*, revelou quais proteínas vizinhas foram as mais afetadas da rede global (GN) para a rede paciente (PN) no contexto de comunidades. Para isto, o logaritmo de FC na base 2 ($\log_2FC$) foi estimado, onde FC (do inglês *fold-change*) é definido como a razão dos valores obtidos na PN sobre os valores da GN.

3.4.6. Análise de enriquecimento de ontologias genéticas (GOs)

A análise de enriquecimento foi realizada nas comunidades de cada rede (GN e PN) utilizando uma análise espacial de enriquecimento funcional (SAFE) (BARYSHNIKOVA, 2016, 2018) no programa Cytoscape (versão 3.7.0) (SHANNON *et al.*, 2003). Os termos referente aos processos biológicos (ASHBURNER *et al.*, 2000; Gene Ontology Consortium, 2018) foram utilizados como input para o enriquecimento dos nós nas redes.

Brevemente, as redes foram previamente submetidas ao algoritmo *edge-weighted spring-embedded* (KAMADA; KAWAI, 1989) no Cytoscape. Esse algoritmo tem por objetivo posicionar

cada nó de cada rede com base no equilíbrio de forças de atração e repulsão exercidas pelos nós conectados e desconectados de um nó, respectivamente. Em seguida, o SAFE agrupou as proteínas que apresentaram padrões similares de interação e mesmos termos ontológicos, e gerou mapas funcionais ilustrando quais regiões da rede estão associadas a um determinado atributo e onde essas regiões estão localizadas em relação a outros atributos (COSTANZO *et al.*, 2010 e 2016). As informações sobre cada termo foram obtidas pelo Revigo (SUPEK *et al.*, 2011) e as definições pelo AmiGO (CARBON *et al.*, 2009).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Casuística

Avaliamos um total de 14 pacientes, sendo 7 do sexo feminino e 7 do sexo masculino, uma proporção de 1:1 (F:M). A idade variou de três a 38 anos (Média = 15,1 anos), sendo a idade do primeiro atendimento, isto é, primeira vez que entrou em contato com algum médico com intuito de diagnosticar a SWB, variou de zero (recém-nascido – RN) a 21 anos (Média = 7,6 anos). Esses dados estão apresentados na tabela V1 (**ANEXO V**).

As principais características clínicas da SWB abordadas pelo geneticista, bem como o escore obtido pelo sistema de pontuação da Academia Americana de Pediatria (AAP), também estão apresentados na tabela V1. O escore seguiu os critérios presentes no **ANEXO VI** (Revisto e modificado de AAP, 2001). A descrição clínica e resultado da análise citogenética por FISH de cada indivíduo estão presentes no **ANEXO VII**. Os indivíduos 290 e 369 não possuem imagem da FISH pois a técnica foi realizada em outro serviço. Os percentis foram obtidos em gráficos de parâmetros físicos pelo software WHO Anthro e em gráficos antropométricos específicos para a SWB (AAP, 2001) (**ANEXO VIII**) de acordo, respectivamente, com as medidas de RN e no momento da avaliação clínica. A frequência dos sinais clínicos avaliados está sumarizada na **figura 5**.

A morfologia facial típica da SWB foi observada em 86% dos casos, sendo 12/12 com hipoplasia malar, boca grande e filtro nasal longo, 11/12 com edema periorbital e lábio inferior grosso, 10/12 com fronte alargada, 8/12 com orelhas grandes e micrognatismo e 5/12 com ponte nasal baixa. As anomalias dentárias foram identificadas em 13/14, porém sem especificação de qual anomalia dentária. Em relação ao estrabismo e íris estrelada, houve poucos relatos.

As alterações cardíacas foram observadas em 79% dos casos sendo 4/11 com EAP e prolapso da válvula mitral (também conhecido como “sopro”), 3/11 com hipertensão (sendo uma delas hipertensão pulmonar), 2/11 com EASV e 1/11 com estenose aórtica (Eao). Quatro indivíduos exibiram mais de uma alteração cardíaca.

O perfil cognitivo (ADNPM) foi avaliado com base na idade em que o paciente falou pela primeira vez e começou a andar. Dentre os 14 indivíduos, apenas um não apresentou esse perfil. O

perfil comportamental foi estabelecido pela sociabilidade exagerada, hiperatividade e loquacidade. O tônus muscular foi estabelecido pela hipotonia.

As alterações no tecido conjuntivo foram definidas pela presença de voz grave e hérnia inguinal e/ou umbilical. Problemas renais foram relatados em apenas dois casos. Os problemas gastrointestinais foram determinados conforme a existência de dificuldade alimentar e vômitos. A constipação intestinal pode ser decorrente tanto pelas alterações no tecido conjuntivo como pelos problemas gastrointestinais.

A hipercalcemia, quantidade de cálcio elevada no sangue, foi relatada em apenas um paciente dentre os 14 avaliados. Os problemas na audição foram estabelecidos quanto a existência de hiperacusia e otites de repetição. Dentre os problemas respiratórios relatados, a maioria refere-se a dispneia.

A microcefalia e déficit de crescimento foram determinados pelos gráficos de perímetro cefálico e de crescimento específicos para a SWB (**ANEXO VIII**).

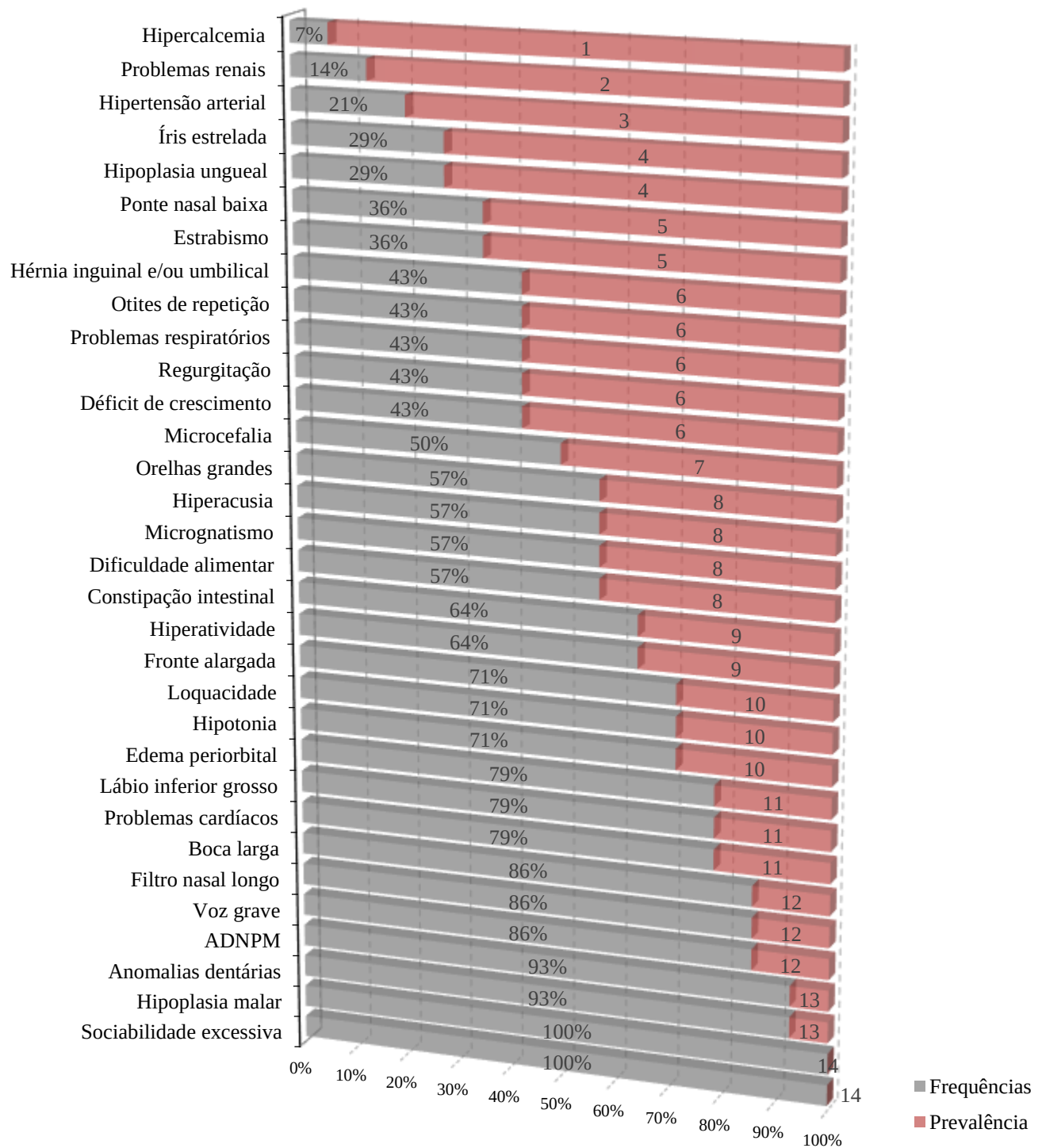


Figura 5 – Distribuição percentual das características clínicas da síndrome de Williams-Beuren (SWB). Principais características clínicas presentes nos casos provenientes da AGSW (n = 14).

4.2. Análises Genéticas

4.2.1. Investigação por CMA

Dos 14 pacientes, 8 foram selecionados para análise citogenômica, no entanto, dois foram excluídos por desistência à participação na pesquisa durante o processo.

A microdeleção da região cromossômica 7q11.23 foi detectada em 5/6 pacientes (83%). A CMA revelou uma perda no número de cópias em 7q11.23 com um tamanho de 1,37 Mb (Chr7: 72,766,313 – 74,133,332) de acordo com a referência GRCh37/hg19 (**figura 6**). A deleção compreendeu os seguintes genes: *FKBP6* (breakpoint no éxon 9), *FZD9*, *BAZ1B*, *BCL7B*, *TBL2*, *MLXIPL*, *VPS37D*, *DNAJC30*, *BUD23*, *STX1A*, *ABHD11*, *CLDN3*, *CLDN4*, *METTL27*, *TMEM270*, *ELN*, *LIMK1*, *EIF4H*, *LAT2*, *RFC2*, *CLIP2*, *GTF2IRD1* e *GTF2I* (breakpoint no éxon 12).

Os resultados gerais da análise por CMA na casuística dos 6 pacientes analisados estão sumarizados a seguir na **tabela 2**.

Tabela 2 – Resultados da técnica de CMA dos pacientes (n = 6) provenientes da Associação Goiana da Síndrome de Williams (AGSW) por meio do microarranjo *SurePrint G3 Unrestricted CGH*, 8x60K (AgilentTechnologies®).

Paciente	Região Cromossômica ¹ (ICSN ²)	Alteração	Tamanho (kb)
169	arr[GRCh37] 7q11.23(72766313_74133332)x1	Perda	1,367,201
174	arr[GRCh37] 7q11.23(72766313_74133332)x1	Perda	1,367,201
205	arr (1-22)x2, (X,Y)x1	-	-
207	arr[GRCh37] 7q11.23(72766313_74133332)x1	Perda	1,367,201
291	arr[GRCh37] 7q11.23(72766313_74133332)x1	Perda	1,367,201
322	arr[GRCh37] 7q11.23(72766313_74133332)x1	Perda	1,367,201

¹Localização de acordo com GRCh37/hg19.

²Nomenclatura citogenômica de acordo com ICSN 2016 (International System for Human Cytogenetic Nomenclature).

4.2.1.1. CLC Sequence Viewer

Uma análise preliminar com intuito de inferir algumas consequências dos genes *FKBP6* e *GTF2I*, que foram comprometidos em suas extremidades 3' (*downstream*) e 5' (*upstream*), respectivamente, foi feita no programa de bioinformática CLC Sequence Viewer (QIAGEN®). As sequências genômicas dos genes *FKBP6* e *GTF2I*, comprometidos em suas extremidades 3' (*downstream*) e 5' (*upstream*), respectivamente, que foram utilizadas no CLC correspondem às isoformas 2 e 1 do *FKBP6* e *GTF2I*, respectivamente (**figura 7**).

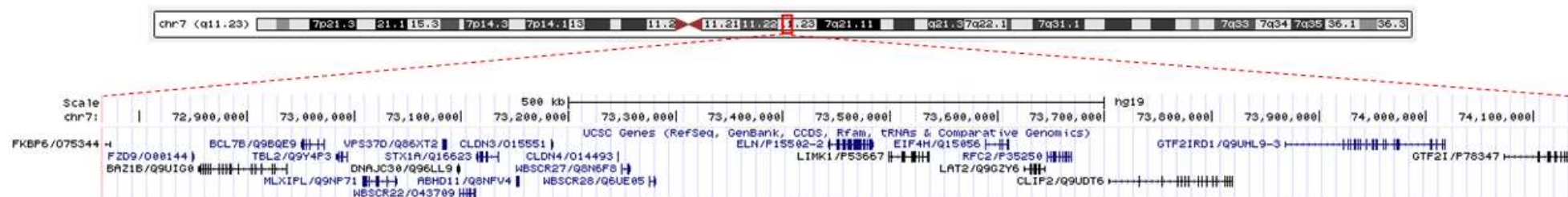


Figura 6 – Visão geral da região deletada de 1,37 Mb do braço longo do cromossomo 7. A região foi detectada por meio do microarranjo SurePrint G3 Unrestricted CGH, 8x60K (AgilentTechnologies®). FONTE: Plataforma UCSC Genome Browser (GRCh37/hg19). Disponível em: <<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>>. Acesso em: 15 out. 2019.

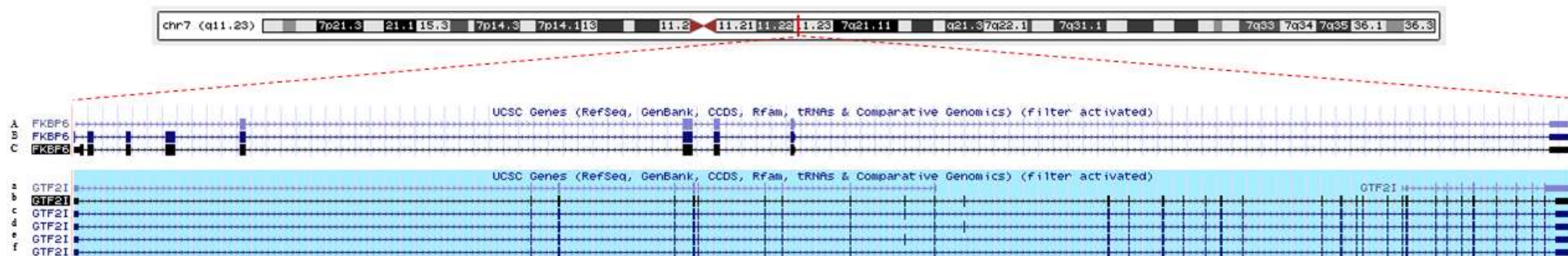


Figura 7 – Isoformas, provenientes de *splicing* alternativo, dos genes *FKBP6* e *GTF2I*. Legenda: Isoformas de *FKBP6* → A - NM_001135211 (8 éxons) - Posição: hg19 chr7:72,440,192-72,772,641 Size: 332,450 kb; B - NM_001135211 (9 éxons) - Posição: hg19 chr7:72,742,155-72,772,641 Size: 30,487 kb; C - NM_003602 (9 éxons) - Posição: hg19 chr7:72,742,300-72,772,641 Tamanho: 30,342 kb. Isoformas de *GTF2I* (realçadas em azul) → a - NM_001518 (10 éxons) - Posição: hg19 chr7:74,072,030-74,131,386 Tamanho: 59,357 kb; b - NM_032999 (35 éxons) - Posição: hg19 chr7:74,072,030-74,175,022 Tamanho: 102,993 kb; c - NM_033001 (34 éxons) - Posição: hg19 chr7:74,072,030-74,175,022 Tamanho: 102,993 kb; d - NM_033000 (34 éxons) - Posição: hg19 chr7:74,072,030-74,175,022 Tamanho: 102,993 kb; e - NM_001163636 (34 éxons) - Posição: hg19 chr7:74,072,030-74,175,022 Tamanho: 102,993 kb; f - NM_001518 (33 éxons) - Posição: hg19 chr7:74,072,030-74,175,022 Tamanho: 102,993 kb. **Negrito:** Sequências genômicas de referência NG_023242.2 e NG_008179.2 do *FKBP6* e *GTF2I*, respectivamente, de acordo com NCBI GRCh37.p13. FONTE: Plataforma UCSC Genome Browser (GRCh37/hg19). Disponível em: <<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>>. Acesso em: 17 out. 2019.

4.3. Análise de redes biológicas

4.3.1. Composição das redes de PPI (GN e PN)

A rede global (GN), constituída pela união de dados de interações entre proteínas (PPI) provenientes de seis diferentes repositórios públicos, compreende 21.492 proteínas no total e 682.911 interações físicas.

A rede paciente (PN) apresenta 21.469 proteínas no total e 1.403 interações físicas a menos que a GN. As 23 proteínas deletadas, referentes aos 23 genes afetados na deleção em 7q11.23, são: O75344 (*FKBP6*), O00144 (*FZD9*), Q9UIG0 (*BAZ1B*), Q9BQE9 (*BCL7B*), Q9Y4P3 (*TBL2*), Q9NP71 (*MLXIPL*), Q86XT2 (*VPS37D*), Q96LL9 (*DNAJC30*), O43709 (*BUD23*), Q16623 (*STX1A*), Q8NFV4 (*ABHD11*), O15551 (*CLDN3*), O14493 (*CLDN4*), Q8N6F8 (*METTL27*), Q6UE05 (*TMEM270*), P15502 (*ELN*), P53667 (*LIMK1*), Q15056 (*EIF4H*), Q9GZY6 (*LAT2*), P35250 (*RFC2*), Q9UDT6 (*CLIP2*), Q9UHL9 (*GTF2IRD1*) e P78347 (*GTF2I*).

A composição de cada rede está sintetizada na **tabela 3** abaixo.

Tabela 3 – Composição das redes de interação entre proteínas (PPI).

	Redes PPI	
	Rede Global (GN)	Rede Paciente (PN)
Número de nós	21.492	21.469
Número de interações	682.911	681.508

4.3.2. Análise das propriedades topológicas das redes GN e PN

As propriedades gerais de ambas as redes (GN e PN) foram analisadas e a média ($\bar{X}$) de cada propriedade está representada na **tabela 4** abaixo.

A assortatividade também foi estimada. O valor negativo assegura que as redes em questão se ajustam ao modelo de redes dissortativas onde nós com alto degree conectam-se preferencialmente a nós com baixo degree, característico de uma rede biológica.

As análises estatísticas aplicadas sob os valores de *degree* (k), *betweenness* e *eigenvector* mostraram que os dados não seguem uma distribuição normal. Ao comparar estes dados entre as

redes por Mann-Whitney U, os valores de p ($p = 0,9255$, $p = 0,7368$ e $p = 0,611$, respectivamente) não exibiram significância estatística. A diferença entre os valores de *degree* (k), *betweenness* e *eigenvector* obtidos em cada rede, bem como a razão desses valores, também não exibiram divergências entre as redes (dados não apresentados).

Portanto, de um modo geral, a remoção de 23 proteínas da GN não causou impacto relevante na topologia global da PN. Os gráficos obtidos nesta etapa estão presentes nas figuras IX.1 e IX.2 no **ANEXO IX**.

Tabela 4 – Medidas topológicas das redes de interação entre proteínas (PPI) provenientes da rede global (GN) e rede paciente (PN).

Propriedades Topológicas	Redes PPI	
	Rede Global (GN) ¹	Rede Paciente (PN) ¹
Diâmetro	8	8
Assortatividade	-0.121517776364431	-0.121630155977153
Degree	63.5502512562814	63.4876333317807
Betweenness	18693.7377628885	18677.7942614933
Eigenvector	0.0307598518762979	0.0307767358223945
Comprimento do caminho	2.74065234127394	2.7410320950046

¹Valores apresentados como média ($\bar{X}$).

4.3.3. Análise das propriedades topológicas das proteínas vizinhas em ambas redes (GN e PN)

No total, 1.225 proteínas vizinhas foram identificadas, no entanto, apenas 1.219 são comuns em ambas as redes (**figura 8**). As demais proteínas (O14493, O15551, P35250, P78347, Q15056 e Q9UHL9) são exclusivas da GN uma vez que essas proteínas se referem respectivamente as seis proteínas deletadas *CLDN4*, *CLDN3*, *RFC2*, *GTF2I*, *EIF4H* e *GTF2IRD1*, que fazem interação física entre si.

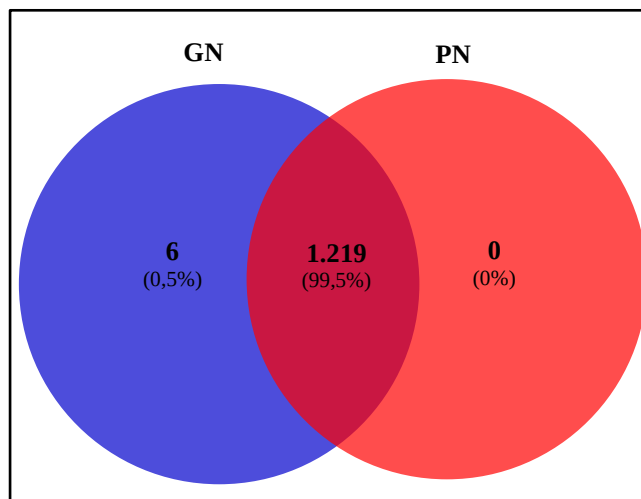


Figura 8 – Diagrama de Venn das proteínas vizinhas (n = 1.225). O círculo azul representa as proteínas vizinhas na rede global (GN) e o círculo vermelho as proteínas vizinhas na rede paciente (PN). A região de intersecção representa a quantidade de proteínas vizinhas comuns em ambas as redes (GN e PN).

A partir dessa informação, foi possível verificar que um total de 1.104 proteínas vizinhas, dentre as 1.219, apresentam interações específicas com cada uma das 23 proteínas deletadas na GN. A quantidade bem como quais proteínas vizinhas realizam essa interação específica com cada proteína deletada estão compiladas na tabela X.1 (**ANEXO X**). As 115 proteínas vizinhas restantes, interagem com mais de uma proteína deletada, dados apresentados na tabela X.2 (**ANEXO X**).

As propriedades topológicas das 1.219 proteínas vizinhas foram estimadas para ambas redes (GN e PN) e as análises estatísticas aplicadas sob os valores de *degree* (k), *betweenness* e *eigenvector* mostraram que os dados não são distribuídos de forma normal e ao comparar os dados entre as redes por Mann-Whitney U, os valores de p ($p = 0,8356$, $p = 0,8799$ e $p = 0,9055$, respectivamente) também não exibiram significância estatística. Os gráficos obtidos nesta etapa estão presentes nas figuras XI.1 e XI.2 no **ANEXO XI**.

4.3.4. Análise das propriedades topológicas das proteínas vizinhas dentro das comunidades

A divisão das redes em comunidades originou 13 comunidades provenientes da GN e 18 comunidades oriundos da PN. A quantidade de proteínas em cada comunidade dentre outros detalhes está sumarizada na **tabela 5** a seguir:

Tabela 5 – Clusterização da rede global (GN) e da rede paciente (PN) em comunidades com a quantidade de proteínas (total de proteínas de cada rede, proteínas deletadas e proteínas vizinhas).

Comunidades	Total de proteínas		Proteínas deletadas	Proteínas vizinhas	
	GN (n = 21.492)	PN (n = 21.469)	GN (n = 23)	GN (n = 1.225)	PN (n = 1.2019)
1	7.734	7.403	12	266	254
2	4.338	5.471	2	150	224
3	4.217	5.259	4	261	310
4	2.819	2.547	5	447	428
5	1.630	728	-	98	3
6	723	9	-	3	-
7	9	3	-	-	-
8	6	14	-	-	-
9	7	7	-	-	-
10	3	6	-	-	-
11	2	7	-	-	-
12	2	2	-	-	-
13	2	3	-	-	-
14-18	-	2	-	-	-

GN – rede global, PN – rede paciente.

As propriedades topológicas no contexto de comunidades, assim como nas demais análises, não exibiram uma distribuição normal e os valores de p foram maiores que 0,05 para os dados de *degree* (k) e *betweenness* (p = 0,8616 e p = 0,1491, respectivamente). A **figura 9** abaixo exibe o boxplot dessas duas medidas.

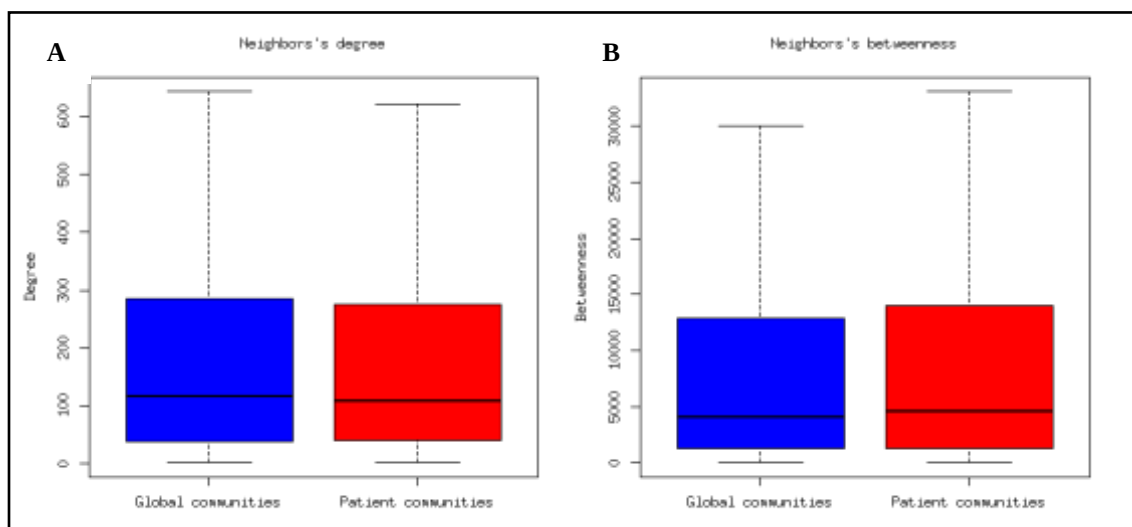
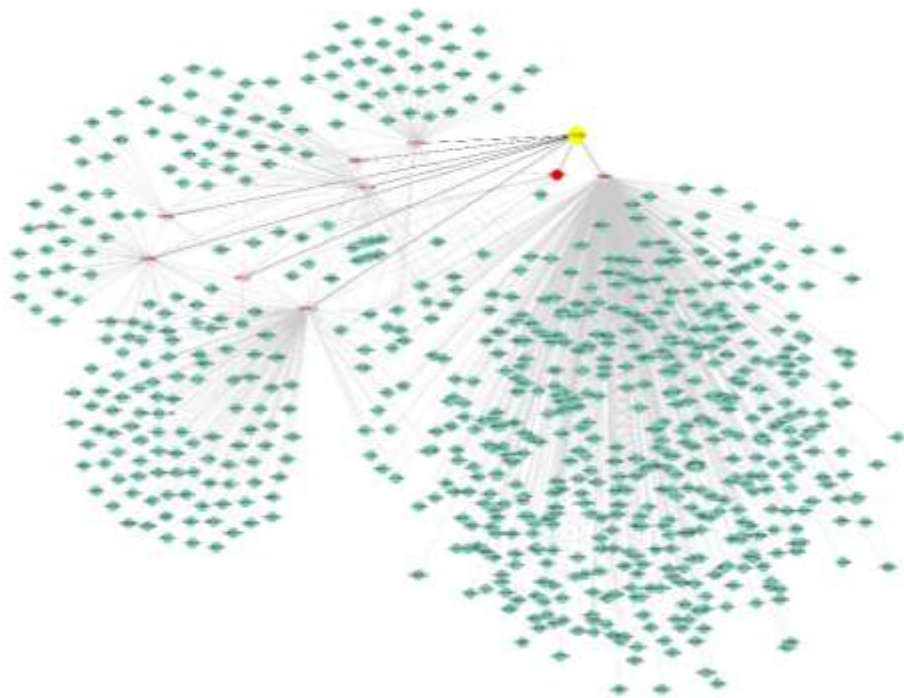


Figura 9 – Boxplot. Boxplot comparando as propriedades topológicas das proteínas vizinhas avaliadas na rede global (GN) e rede paciente (PN) no contexto de comunidades. **A** – Boxplot referente ao *degree* (*k*) e **B** - Boxplot referente ao *betweenness*. GN está representado em azul e PN, em vermelho.

Embora as diferenças entre as comunidades de uma rede para a outra não foram significativas, as proteínas se reestruturaram após a deleção. O boxplot acima (figura 9) exibe um aumento sutil em relação aos valores de centralidade (*betweenness*) nas comunidades da PN (**B**). Essa característica foi observada em 741 proteínas vizinhas. Curiosamente, embora em menor quantidade, os valores de *degree* (*k*) de algumas proteínas vizinhas também aumentaram nas comunidades da PN (**A**), isto é, houve um aumento na conectividade dessas proteínas. A **figura 10** ilustra um exemplo, observado em mais 450 proteínas, desse aumento na conectividade. O exemplo exibe as conexões que a proteína vizinha Q7Z3Z0 (queratina, citoesqueleto tipo I 25) apresenta antes e depois da deleção da proteína Q9UDT6 (*CLIP2*). Embora o exemplo ilustra um aumento de apenas uma conexão, é possível visualizar que esta diferença tem impacto quando observamos a quantidade de proteínas além das vizinhas diretas.

A



B

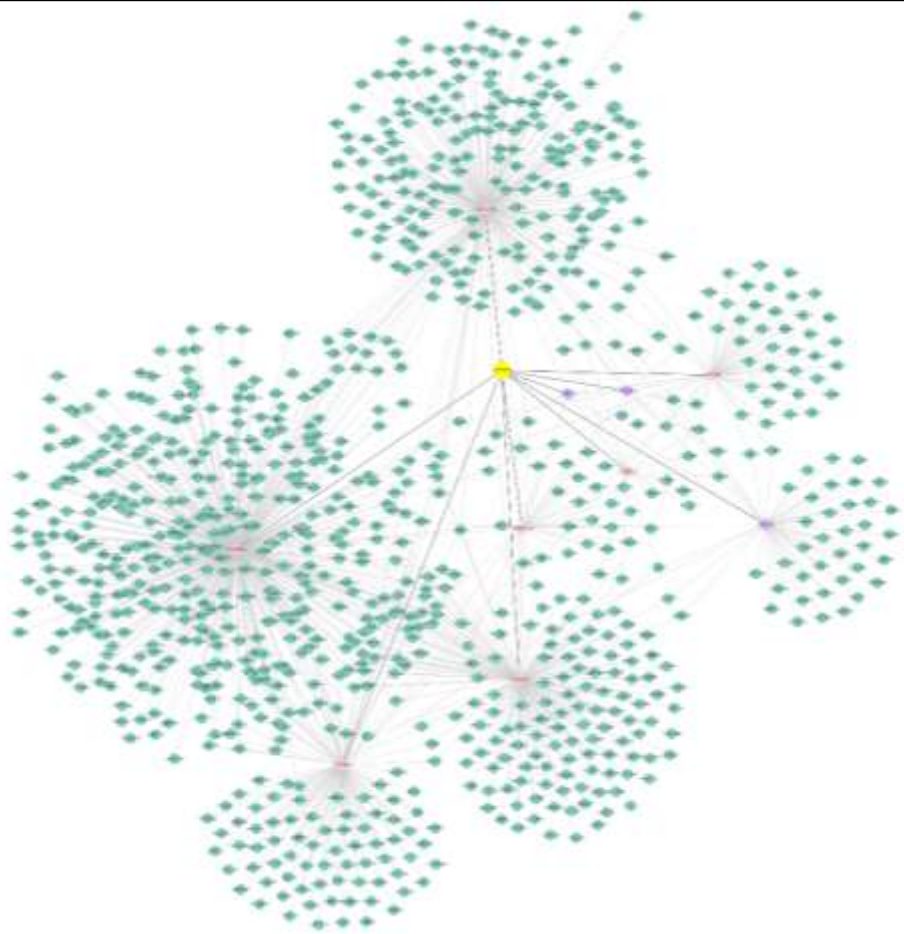


Figura 10 – Grafos representando o aumento de interações da proteína vizinha Q7Z3Z0*.

A proteína vizinha (destacada em amarelo) aumentou a quantidade de interações da comunidade da rede global (GN) (A) para a comunidade da rede paciente (PN) (B), após a remoção da proteína Q9UDT6 (destacada em vermelho), correspondente ao gene *CLIP2* deletado na região 7q11.23. Os nós representam as proteínas e linhas representam as interações. As linhas em destaque consistem na quantidade de interações que a proteína Q7Z3Z0 realiza em cada comunidade. As proteínas adjacentes à Q7Z3Z0 estão representadas em rosa e roxo. As proteínas em roxo representam proteínas adjacentes similares entre as duas comunidades. *Q7Z3Z0: Queratina, citoesqueleto tipo I 25.

A correlação entre os valores de *degree* (k) e *betweenness* foi estabelecida para as comunidades nas duas redes pelo coeficiente de Pearson. Para ambas, os coeficientes (ρ) exibiram uma correlação positiva significativa entre os dados ($\rho = 0,6644232$ e $\rho = 0,6771814$, respectivamente, com valor de $p < 2,2 \times 10^{-16}$), como mostrado na **figura 11**.

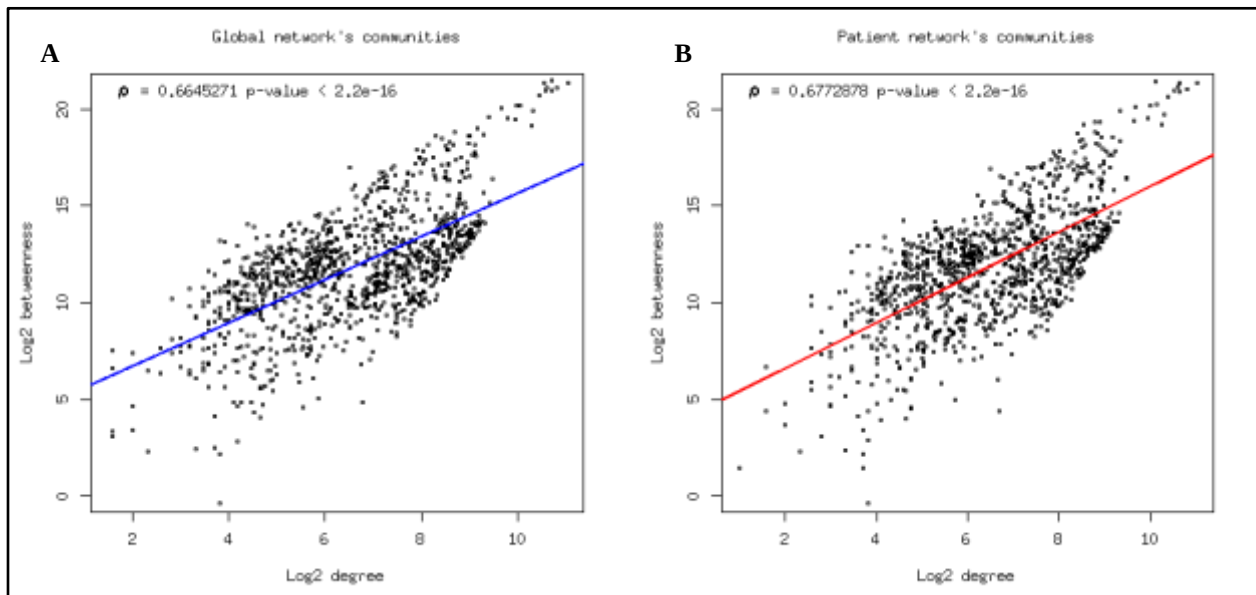


Figura 11 – Diagrama de dispersão. Diagrama de dispersão das proteínas vizinhas ($n = 1.219$) entre os valores de *degrees* (k) e *betweenness* das comunidades da rede global (**A**) e da rede paciente (**B**) com o coeficiente de Pearson (ρ) e valores de p . GN está representado em azul e PN, em vermelho.

Pelo software WEKA foi possível identificar quais proteínas vizinhas apresentaram maiores alterações em relação ao *degree* (k) e *betweenness* nas comunidades da GN para as comunidades da PN. Essa ferramenta promoveu uma clusterização das proteínas vizinhas e, o cluster representado em azul na **figura 12**, com 151 proteínas, consiste no grupo de proteínas vizinhas que sofreram maiores alterações. Em vista disso, esse cluster foi selecionado para uma análise mais refinada (a seguir).

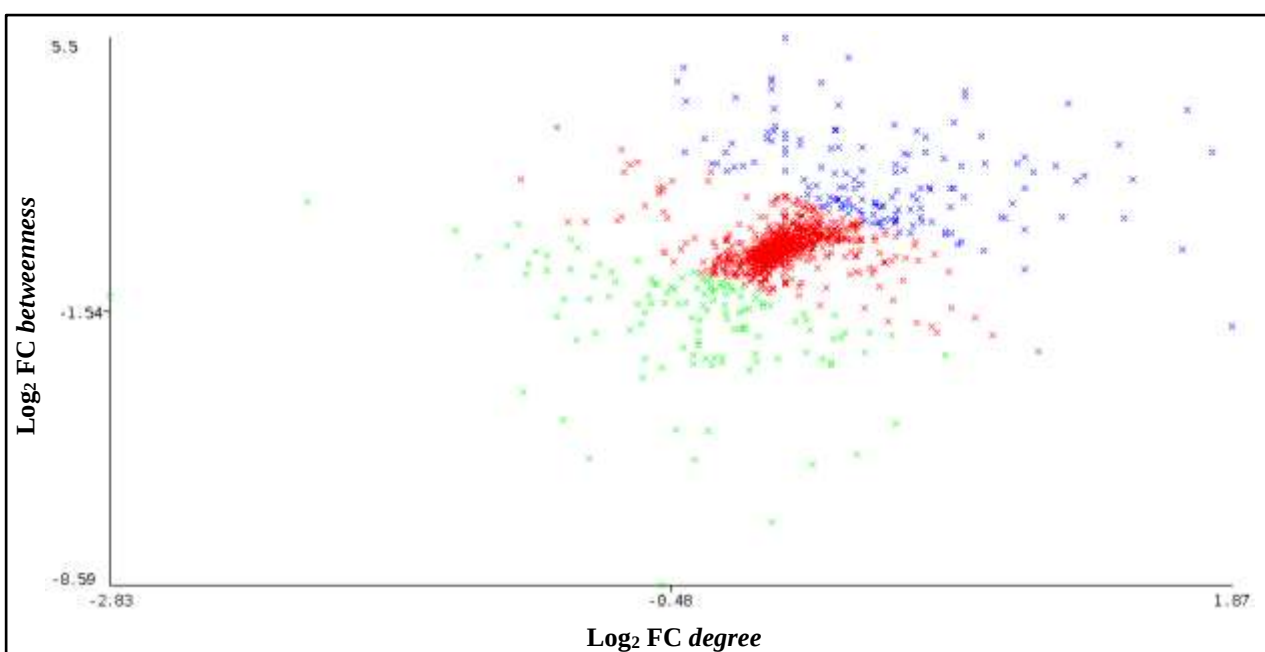


Figura 12 – Clusterização das proteínas vizinhas ($n = 1.219$). Clusterização realizado no software WEKA para identificar quais proteínas apresentaram maiores alterações em relação aos valores de *degree* (k) e *betweenness* da rede global (GN) para a rede paciente (PN) no contexto de comunidades. O cluster em azul representa as proteínas que tiveram mais alterações ($n = 151$). Os demais clusters, vermelho ($n = 943$) e verde ($n = 125$), equivalem às proteínas que apresentaram menos variações.

Retomando as tabelas X.1 e X.2 (**ANEXO X**), cada uma dessas 151 proteínas vizinhas foram destacadas (em **negrito**) com intuito de exibir quais delas apresentam interação específica com

cada proteína deletada e quais delas interagem com mais de uma proteína deletada. A maioria dessas proteínas vizinhas interage especificamente com as proteínas deletadas, com destaque para a proteína Q16623 (*STX1A*) que interage com 41 proteínas vizinhas. Para aquelas proteínas que interagem com mais uma proteína deletada, a maioria faz interação apenas com O43709 (*BUD23*) e Q8N6F8 (*METTL27*).

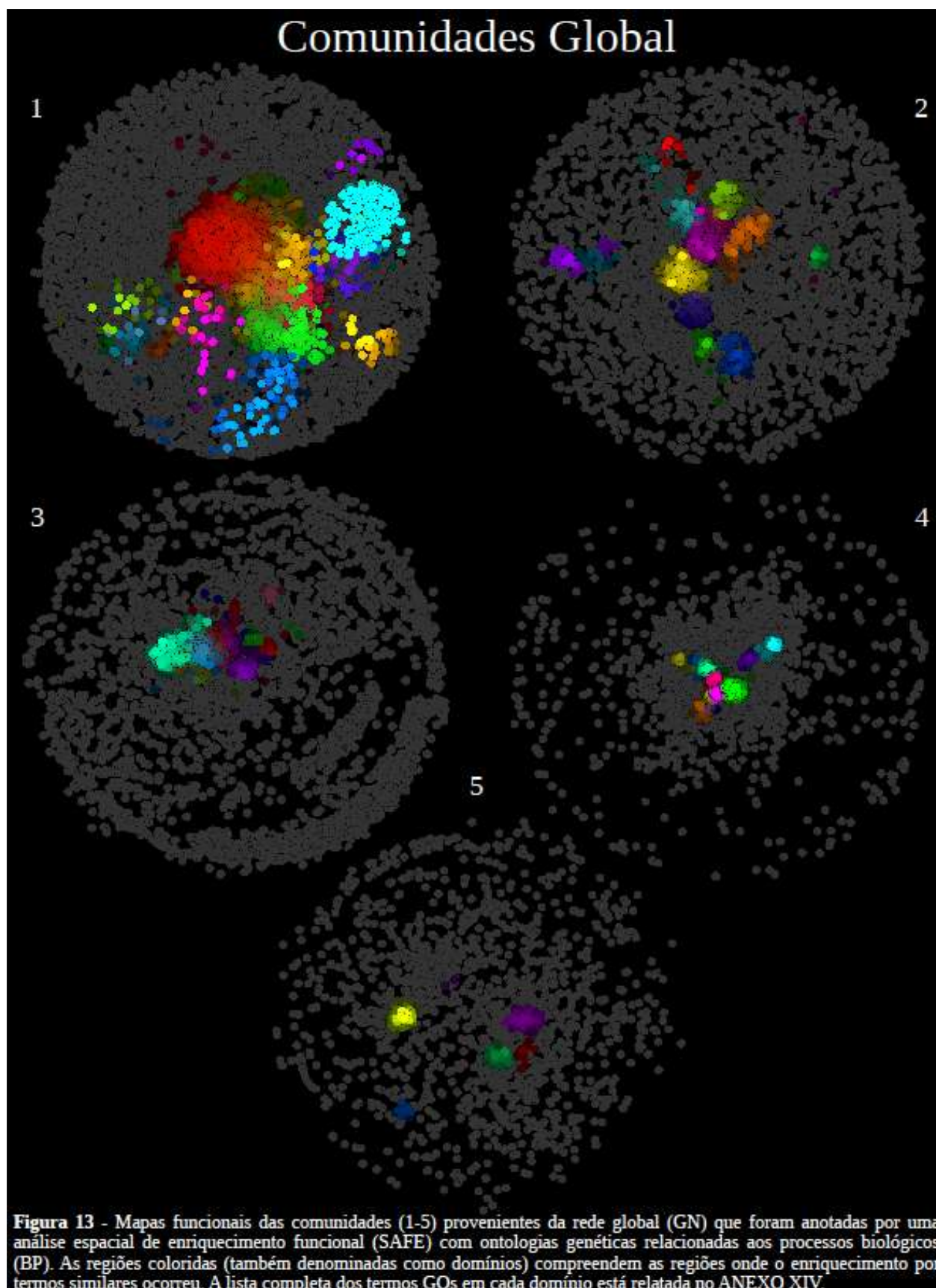
Além disso, cada uma dessas 151 proteínas vizinhas foi explorada no banco de dados da UniProt com o objetivo de encontrar uma relação dessas proteínas com doenças já relatadas na literatura. Foi verificado que, dentre essas proteínas vizinhas, 57 já foram relacionadas a diferentes patologias. Essas informações estão compiladas no **ANEXO XII**. Retomando novamente as tabelas presentes no **ANEXO X**, as proteínas sublinhadas evidenciam essas 57 proteínas. A proteína deletada Q16623 (*STX1A*), mais uma vez, se destaca por interagir com 22 proteínas vizinhas já associadas a doenças.

Os dados compilados no **ANEXO XII** auxiliaram também na busca por características semelhantes entre as 57 proteínas vizinhas e a síndrome estudada neste estudo (SWB). Dentre elas, algumas proteínas chamaram atenção por apresentarem características similares às encontradas na síndrome. De um modo geral, a maioria dessas proteínas estão relacionadas a doenças que, além de manifestarem outras características, acarretam em um comprometimento no desenvolvimento neurológico, característica típica na SWB.

Além dessas análises pontuais, as 151 proteínas vizinhas foram também utilizadas como input no KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) (KANEHISA; GOTO, 2000; KANEHISA, 2019) para buscar vias as quais essas proteínas estão atuando. A compreensão de quais vias biológicas uma proteína participa pode auxiliar na caracterização do seu envolvimento na fisiopatologia da SWB. As informações obtidas aqui estão reunidas em duas tabelas no **ANEXO XIII**. A tabela XIII.1 exhibe quais foram as vias identificadas e quantas proteínas vizinhas participam dessas vias. A tabela XIII.2 apresenta a quantidade de vias em que cada proteína vizinha atua. Dentre as 151 proteínas, 65 proteínas não foram identificadas e seis se destacaram por estarem envolvidas em mais de 30 vias. São elas: Q01668 atuando em 32 vias; P61586, P0DP25 e P16220 atuando em 40 vias; P50148 atuando em 45 vias e P22694 atuando em 69 vias.

4.3.5. Análise de enriquecimento de ontologias genéticas (GOs)

Os termos ontológicos (GOs) referentes aos processos biológicos (PBs) foram utilizados para enriquecer as comunidades de 1 a 6 da GN e de 1 a 5 da PN, já que são essas as comunidades onde as 1.219 proteínas vizinhas estão localizadas. Dentre essas comunidades, o SAFE promoveu o enriquecimento das comunidades 1, 2, 3, 4 e 5 da GN e 1, 2, 3 e 4 da PN (**figura 13 e 14**). A descrição de todos os processos biológicos enriquecidos em cada comunidade encontra-se no **ANEXO XIV**.



Comunidades Paciente

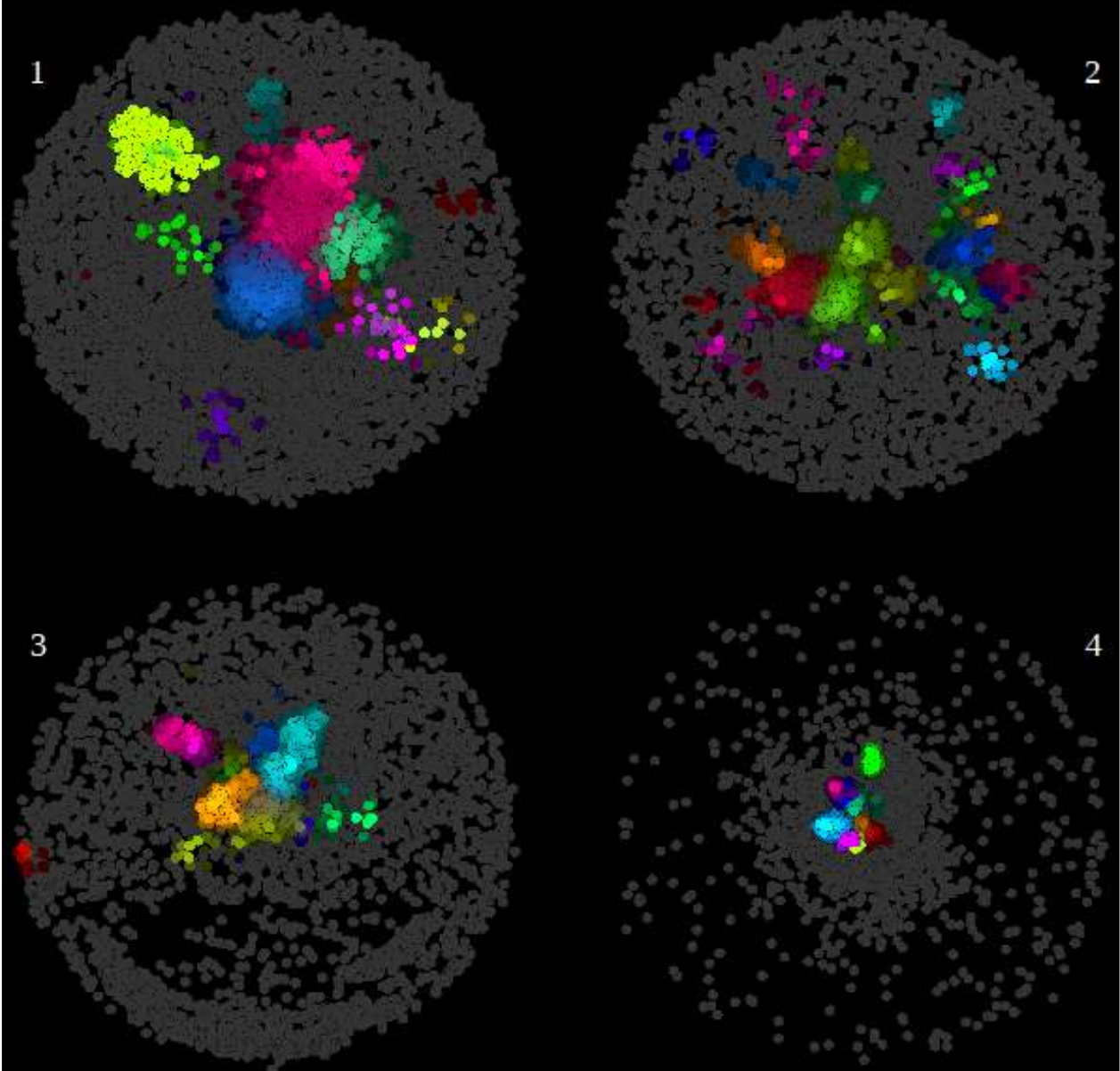


Figura 14 - Mapas funcionais das comunidades (1-4) provenientes da rede paciente (PN) que foram anotadas por uma análise espacial de enriquecimento funcional (SAFE) com ontologias genéticas relacionadas aos processos biológicos (BP). As regiões coloridas (também denominadas como domínios) compreendem as regiões onde o enriquecimento por termos similares ocorreu. A lista completa dos termos GOs em cada domínio está relatada no ANEXO XIV.

Dentre as 23 proteínas deletadas, aquelas referentes aos 23 genes afetados pela deleção em 7q11.23, oito estavam em regiões onde o enriquecimento ocorreu nas comunidades da GN (**figura 13**). São elas: O00144 (*FZD9*), Q9UIG0 (*BAZ1B*), Q9Y4P3 (*TBL2*), Q16623 (*STX1A*), O15551 (*CLDN3*), P15502 (*ELN*), P53667 (*LIMK1*) e P78347 (*GTF2I*). A **tabela 6** abaixo exhibe quais GOs foram enriquecidos para essas proteínas.

Tabela 6 – Ontologias genéticas (GOs) anotadas pela análise espacial de enriquecimento funcional (SAFE) nas comunidades da GN de oito proteínas afetadas pela deleção em 7q11.23.

Proteínas deletadas (n = 8)	Genes deletados (n = 8)	Ontologias genéticas (GOs) ¹
O00144, Q9UIG0 e P78347	<i>FZD9</i> , <i>BAZ1B</i> , <i>GTF2I</i>	- Diferenciação de células adiposas; - Regulação negativa do processo apoptótico; - Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA; - Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação da transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação negativa da proliferação celular; - Ritmo circadiano; - Regulação da diferenciação de células-tronco hematopoiéticas; - Desenvolvimento da gônada masculina.
Q9Y4P3	<i>TBL2</i>	- Dobramento de proteínas.
Q16623	<i>STX1A</i>	- Desubiquitinação de proteínas; - Via de sinalização do receptor da superfície celular; processo catabólico da proteína dependente de ubiquitina; - Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA; - Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Via de sinalização do receptor de insulina; - Regulação negativa da proliferação celular; - Regulação positiva da proliferação celular; - Via de sinalização mediada por citocinas; - Regulação positiva da sinalização da proteína quinase B; - Organização da membrana; - Regulação positiva da fosforilação de proteínas; - Processo viral; - Transdução de sinal; - Regulação negativa do processo apoptótico; - Regulação positiva das cascatas ERK1 e ERK2; - Regulação positiva da expressão gênica; - Regulação positiva da cascata MAPK.
O15551	<i>CLDN3</i>	- Adesão de célula independente de cálcio através de moléculas de adesão celular da membrana plasmática; - Transmissão do impulso nervoso; - Regulação da atividade seletiva do receptor AMPA - Transporte de íons cálcio;

		- Transporte através da membrana plasmática de íons cálcio.
P15502	<i>ELN</i>	- Organização das fibrilas de colágeno; - Organização da matriz extracelular.
P53667	<i>LIMK1</i>	- Regulação do transporte do endossoma inicial para o endossoma tardio; - Via de sinalização estimulante do receptor de lectina do tipo C; - Diferenciação de células gliais de Bergmann; - Regulação da estabilidade do mRNA; - Regulação positiva da atividade da JUN quinase; - Regulação da atividade do fator de transcrição de ligação ao DNA específico da sequência; - Fosforilação de peptidil-treonina; - Regulação do processo apoptótico; - Processo apoptótico; - Regulação da herança de Golgi; - Regulação da cascata MAPK ativada por estresse; - Resposta celular ao estímulo à insulina; - Resposta celular ao íon cádmio; - Ativação da atividade MAPK; - Resposta celular a espécies reativas de oxigênio; - Fosforilação; - Cascata MAPK; - Regulação positiva da migração celular; - Resposta imune adaptativa; - Resposta imune inata; - Regulação positiva da sinalização de PI3Ks; - Regulação negativa da sinalização de PI3Ks; - Fosforilação de peptidil-tirosina; - Auto fosforilação de peptidil-tirosina; - Via de sinalização da proteína tirosina quinase do receptor na membrana plasmática; - Regulação da proliferação celular; - Migração celular; - Via de sinalização do receptor de efrina; - Coestimulação de células T; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR); - Via de sinalização do receptor Fc-ε; - Via de sinalização do receptor de células T; - Ativação plaquetária; - Via de sinalização do receptor Fc-γ envolvida na fagocitose; - Orientação axonal; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico; - Montagem complexa de sinal.

¹Ontologias genéticas (GOs) relacionadas aos processos biológicos.

Como mencionado anteriormente, o foco das análises se estendeu as 151 proteínas detectadas pelo WEKA já que elas representam as proteínas que sofreram maiores alterações das comunidades da GN para as comunidades da PN. Aproximadamente metade dessas proteínas (n = 76) não foram enriquecidas pela análise no SAFE. As demais foram anotadas ou apenas nas

comunidades da GN (n = 9), ou apenas nas comunidades da PN (n = 49) ou foram anotadas nas comunidades de ambas as redes (GN e PN) (n = 17).

Para uma melhor compreensão as 151 proteínas vizinhas foram divididas em quatro tabelas que estão presentes no **ANEXO XV**:

- 1) Tabela XV.1 compreende as proteínas vizinhas que foram enriquecidas apenas nas comunidades da GN (n = 9);
- 2) Tabela XV.2 compreende as proteínas vizinhas que foram enriquecidas apenas nas comunidades da PN (n = 49);
- 3) Tabela XV.3 compreende as proteínas vizinhas que foram enriquecidas tanto nas comunidades da GN como nas comunidades da PN (n = 17);
- 4) Tabela XV.4 compreende as proteínas que não foram enriquecidas em nenhuma comunidade da GN e PN (n = 76).

4.3.6. Análise das proteínas vizinhas às proteínas codificadas pelos genes *FZD9*, *ELN* e *GTF2I*

As proteínas codificadas pelos genes *FZD9*, *ELN* e *GTF2I* interagem especificamente com, respectivamente, 34, 86 e 33 outras proteínas, como apresentadas na tabela X.1 (**ANEXO X**).

Das 34 proteínas vizinhas à O00144 (*FZD9*), oito mudaram de comunidades após a deleção sendo que quatro (P11161, Q06889, Q8TCT8 e Q99750) diminuíram tanto a centralidade (*betweenness*) como a conectividade (*degree*), isto é, essas proteínas deixaram de ser centrais e/ou perderam ligações com outras proteínas. Mesmo que irrelevante, após a deleção, duas proteínas (P04628 e Q8IU89) aumentaram a conectividade e uma (P60369) apresentou um aumento na medida de centralidade. Dentre as proteínas vizinhas, apenas uma (O00755) foi identificada como uma das 151 proteínas vizinhas que sofreram maiores alterações pelo software WEKA. Embora esta proteína também tenha sido relacionada com alguma patologia no banco de dados da UniProt,

não há qualquer similaridade com a SWB. Pelo KEGG essa mesma proteína foi identificada como uma proteína importante na rota metabólica do desenvolvimento de câncer.

Das oito proteínas que mudaram de comunidades após a deleção, três (O00755, P04628 e Q8TCT8) delas não foram enriquecidas pela análise no SAFE nem no contexto da GN, como no PN. As demais proteínas, duas (P11161 e Q06889) passaram a compartilhar diferentes termos ontológicos, duas (P60369 e Q99750) perderam padrões de interação e uma (Q8IU89) ganhou.

Das 86 proteínas vizinhas à P15502 (*ELN*), dez mudaram de comunidades após a deleção sendo que apenas duas (P31271 e Q6NT16) diminuíram tanto a centralidade (*betweenness*) como a conectividade (*degree*). Dentre essas, após a deleção, foi observado que quatro proteínas (O94805, P35523, Q8NGU9 e Q96NT1) sofreram um aumento na medida de centralidade. Pelo software WEKA cujas proteínas identificadas sofreram maiores alterações quanto ao *degree* e *betweenness*, três (O00399, P35523 e P51800) interagem diretamente com a P15502. As duas últimas foram também relacionadas com alguma patologia no banco de dados da UniProt sendo que a última possui alguma similaridade com a SWB. Pelo KEGG a proteína O00399 foi identificada como uma proteína importante na rota de reabsorção de água regulada pelo hormônio vasopressina.

Das dez proteínas que mudaram de comunidades após a deleção, apenas a Q96NT1 passou a compartilhar termos ontológicos. As demais não foram enriquecidas pela análise no SAFE nem no contexto da GN, como no PN.

Das 33 proteínas vizinhas à P78347 (*GTF2I*), apenas seis mudaram de comunidades após a deleção. Metade destas (P63010, P63279 e Q9UJW3) apresentaram uma diminuição da centralidade e da conectividade. Após a deleção, duas proteínas (Q86T82 e P40763) aumentaram, respectivamente, a conectividade e a centralidade. Esta e a proteína Q7Z6K3 foram uma das proteínas identificadas pelo WEKA, embora sem nenhuma patologia relacionadas a elas no banco de dados da UniProt. Da mesma forma, nenhuma via metabólica foi reconhecida no KEGG.

Dessas seis proteínas que mudaram de comunidades após a deleção, duas (P63010 e Q9UJW3) perderam padrões de interação enriquecidas pela análise no SAFE nem no contexto da GN, como no PN. Das proteínas restantes, duas (P40763 e P63279) passaram a compartilhar diferentes termos ontológicos e duas (Q7Z6K3 e Q86T82) passaram a compartilhar padrões de interação na comunidade PN.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A SWB é um distúrbio genético raro multigênico determinado por sinais clínicos e perfis cognitivos característicos. O perfil clínico dos indivíduos acometidos é essencial para levantar suspeita da síndrome. Em suma, os sinais clínicos são fáceis típicas, alterações cardiovasculares, problemas no tecido conjuntivo, deficiência intelectual, perfil cognitivo específico, personalidade típica, déficit de crescimento, problemas endócrinos, dentre outras características significativas de acordo com a faixa etária (MORRIS; MERVIS, 2000; MORRIS, 2017; MORRIS; BRADDOCK, 2020). Essas características são estabelecidas pela microdeleção de 26-28 genes presentes na região 7q11.23. Ainda que se conheça quais genes estão envolvidos na RCSWB e a função estabelecida por alguns destes na síndrome, a variabilidade fenotípica encontrada nos indivíduos acometidos desperta interesse sobre como essa diversidade é estabelecida. Evidências mostram que o tamanho da deleção e os genes envolvidos não influenciam diretamente nessas variações fenotípicas visto que há casos em que pacientes com diferentes tamanhos de deleções exibem características similares e outros onde não há evidências clínicas, mas o diagnóstico é compatível com a SWB (GHAFFARI *et al.*, 2018).

As características clínicas dos participantes do presente estudo correspondem às descritas na literatura (LOWERY *et al.*, 1995; MORRIS; MERVIS, 2000; AAP, 2001; SUGAYAMA *et al.*, 2003, 2007; MORRIS, 2017). Dentre as avaliadas, todos os participantes apresentaram sociabilidade exagerada e apenas um não apresentou ADNPM. A característica cognitiva foi avaliada apenas com base na idade em que o paciente falou pela primeira vez e começou a andar, já que esse tipo de análise necessita de um especialista na área. Um estudo recém publicado demonstrou que algumas características fenotípicas como edema periorbital, hipoplasia malar, boca larga, queixo pequeno (micrognatismo), filtro nasal longo e deficiência intelectual, apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos étnicos avaliados (Latino Americano, Asiático e Africano) em 137 indivíduos com SWB oriundos de 19 países, incluindo o Brasil (KRUSZKA *et al.*, 2018). Exceto a deficiência intelectual, essas características foram as mais expressivas na nossa amostra. A fisionomia típica, embora alguns traços tornam-se mais evidentes conforme a idade progride, foi observada em 86% dos participantes. A título de exemplo, as imagens 294 e 322, presentes no **ANEXO VII**, mostram claramente essas diferenças visto que o primeiro se refere a uma criança

de 3 anos de idade com bochechas proeminentes e dentes pequenos e espaçados e o outro, um adolescente de 15 anos de idade, com uma aparência mais esquelética e rosto alongado.

As alterações no tecido conjuntivo, associadas à expressão reduzida da proteína elastina, devido a hemizigiosidade do gene *ELN*, promovem uma série de modificações observadas. Indivíduos acometidos podem apresentar flacidez nas cordas vocais e perda na elasticidade devido a diminuição e desorganização de fibras de elastina (VAUX *et al.*, 2003). Essas alterações, as quais conferem rouquidão e aspereza na voz, só não estão presentes em dois indivíduos da amostra. As alterações cardíacas, presentes em 11 indivíduos, também são atribuídas à hemizigiosidade. A alteração mais comum, encontrada em cerca de 70% dos casos, trata-se da EASV (POBER, 2010b), seguida da EAP. Dos 12 pacientes que relataram a existência de pelo menos um problema cardíaco, 4/12 apresentaram EAP e 2/12 EASV. No entanto, outras arteriopatias são relatadas na síndrome como a hipertensão, prolapso da válvula mitral (ou “sopro”) (BAJRACHARYA; BHATNAGAR; PAULIKS, 2011) e estenose aórtica (EAo) (HALLIDIE-SMITH; KARAS, 1988; MORRIS; MERVIS, 2000; POBER, 2010b; YUAN, 2017). A EAo, prolapso da válvula mitral e hipertensão foram também relatadas nos pacientes avaliados. Esses dados seguem as mesmas anormalidades encontradas na literatura (YUAN, 2017), no entanto, na nossa amostra a EAP é mais representativa. A hipertensão pode ocorrer ainda quando o indivíduo é jovem, porém, a incidência é notória nos indivíduos adultos. Este cenário é claramente evidenciado pelos pacientes do grupo amostral deste trabalho. Estudos tem revelado que a hipertensão é menos frequente naqueles indivíduos o qual a deleção inclui o gene *NCF1* (KOZEL *et al.*, 2014).

A proteína elastina encontra-se localizada nas artérias, cartilagens e extremidades dos septos alveolares, a expressão reduzida desta proteína promove problemas respiratórios, os quais estão presentes em 43%. Os problemas respiratórios relatados na SWB também são caracterizados pela hemizigiosidade do gene *ELN*, sendo os principais sintomas a tosse, dispneia e chiado (DUQUE LASIO; KOZEL, 2018). A elastina encontra-se localizada nas artérias, cartilagens e nas extremidades dos septos alveolares. Seis pacientes (43%) da nossa amostra relataram algum problema respiratório: três casos de dispneia, um de pneumonia, um de bronquite e um de hipertensão pulmonar.

O perfil cognitivo e comportamental são os aspectos mais interessantes na SWB (MORRIS; MERVIS, 2000). O primeiro é estabelecido pela DI com problema visuoespacial e facilidade de vocabulário. A DI é avaliada por diferentes testes de QI. Nesses pacientes, o QI varia de médio a moderado indicando uma variabilidade na cognição. Essa variabilidade pode estar relacionada à hemizigosidade de genes importantes na região deletada. Em vista disso, e da complexidade da síndrome ir além desses testes, fica claro a necessidade de um especialista na área e, portanto, não avaliamos esse aspecto no nosso grupo amostral. Enquanto estes pacientes apresentam uma capacidade aumentada em aprender línguas diferentes e boa memória auditiva, a capacidade visuoespacial (habilidade de relacionar objetos, quebra-cabeça, jogo da memória) é fortemente afetada (NIKITINA *et al.*, 2014). Curiosamente, a capacidade de reconhecimento facial não é acometida nesses pacientes. Embora esses aspectos não tenham sido avaliados, o diálogo com a família foi muito esclarecedor sobre o perfil cognitivo dos participantes.

Outras características concordantes com as retratadas na literatura foram a hipotonia, avaliada de acordo com o baixo tônus muscular, e loquacidade, ambos presentes em 71%. A hiperatividade, muito associada a falta de atenção, e constipação intestinal estão presentes em 64%. A hiperacusia, adversidades aos sons ambientais como máquinas eletrônicas, trovão, fogos de artifício, estouros de balão dentre outros, estão presentes em 57% da amostra. Essa anormalidade foi associada a vários genes da região, tais como *ELN*, *LIMK1*, *FZD9*, *STX1* e ao *GTF2IRD1*, no entanto, embora seja possível que qualquer um desses genes possa contribuir para o fenótipo auditivo, tais hipóteses ainda não foram totalmente esclarecidas. O envolvimento da *ELN* é comumente relacionado ao impacto deste em outros sistemas e à expressão do gene em várias estruturas auditivas importantes. Já a relação do *LIMK1* foi associada a baixa expressão deste gene em células ciliares externas presentes na cóclea, o que promove uma alteração no controle da amplificação coclear através da baixa motilidade e comprimento das células ciliares (MATSUMOTO; KITANI; KALINEC, 2011). O *GTF2IRD1* também foi correlacionado a patologia auditiva pela disfunção na amplificação coclear às células ciliares, no entanto, essa correlação, obtida por análises em camundongos knockout homozigoto, sugere que a haploinsuficiência deste gene não seja suficiente para explicar a hiperacusia (CANALES *et al.*, 2015).

Os aspectos endócrinos da nossa amostragem não foram compatíveis com os dados encontrados na literatura, no entanto, em alguns casos isolados, não houve qualquer explicação clínica relacionada às alterações endócrinas, as quais estão relacionadas a baixa estatura, puberdade precoce, hipercalcemia, hipotireodismo e diabetes nos indivíduos com SWB (LEVY-SHRAGA *et al.*, 2018). A hipercalcemia, quantidade de cálcio elevada no sangue, e o hipertireodismo foram relatados em apenas dois pacientes e ambos não exibiram nenhuma outra característica relacionada. A baixa estatura, com percentil abaixo de 50, foi observada em 47% dos casos, porém não houve relação com algum tipo de problema endócrino. O déficit de crescimento nesses pacientes pode estar relacionado a outros aspectos da síndrome como dificuldade na alimentação, refluxo gastroesofágico, regurgitação e problemas cardíacos (LEVY-SHRAGA *et al.*, 2018).

Todos os 14 participantes do estudo realizaram análise citogenética molecular por FISH. Destes, 13 apresentaram resultado positivo para a SWB. Esse resultado é conclusivo para a síndrome, porém, não fornece maiores informações acerca da região deletada. Uma análise mais refinada, como CMA, pode cobrir todo o genoma em alta resolução, permitindo maiores informações como o tamanho exato e locus da microdeleção. A título de exemplo, algumas características clínicas podem estar mais prevalentes em determinados indivíduos do que em outros, ou serem menos ou mais nocivas em uns do que em outros, e essa variabilidade está intimamente ligada ao tamanho da deleção e posição do ponto de quebra (PLAJA *et al.*, 2015). Indivíduos que apresentam uma única cópia do gene *NCF1* apresentam uma menor prevalência de hipertensão (DEL CAMPO *et al.*, 2006), ou seja, indivíduos os quais a deleção não abrange o gene por completo podem ter uma predisposição aumentada no desenvolvimento de hipertensão, pois a microdeleção pode não interferir na produção completa da proteína. A gravidade cognitiva também pode ser influenciada pelo tamanho da deleção. Procurando respostas sobre epilepsia infantil, Marshall e col. (2008) constataram a existência de um gene (*MAGI2*), distante da região da SWB (7q11.23-q21.1), envolvido tanto na epilepsia como na gravidade cognitiva dos pacientes com a síndrome. Logo, deleções maiores que 2Mb (até 4Mb), a qual compreende o gene em questão, conferem uma gravidade aumentada no perfil cognitivo. Portanto, conhecer onde exatamente ocorreu a deleção e quais genes foram afetados diz muito mais sobre o fenótipo do paciente.

Dentre os 14 casos analisados por FISH, um não apresentou a deleção 7q11.23 para a SWB. Esse resultado, uma vez que o escore desse paciente foi 6, não significa que o paciente não possui a síndrome, contudo, pode implicar que a técnica de FISH não detectou a microdeleção em 7q11.23 devido a presença do gene presente na sonda. Plaja e col. (2015) confirmaram a síndrome em uma paciente que apresentou suspeita clínica, porém, sem detecção da deleção 7q11.23 por FISH. Diante disso, se a hipótese diagnóstica, baseadas nos achados clínicos, é indicativo da SWB, e o FISH não detectar a deleção 7q11.23, torna-se indispensável realizar uma busca mais refinada na região pois o paciente pode ser um SWB atípico, ou seja, a deleção pode abranger uma região na qual o gene da *ELN* não está envolvido ou mesmo pode envolver outra região, de outro cromossomo, a qual proporciona similaridades clínicas. O déficit de atenção, a hiperatividade e voz grave são também características encontradas em pacientes com síndrome de Smith-Magenis (17p11.2), assim como a cardiopatia também é encontrada na síndrome de DiGeorge (22q11.2) (MORRIS, 2017). A síndrome de Alagille é causada principalmente pela haploinsuficiência seja por mutação ou deleção, do gene *JAG1* localizado no cromossomo 20 (20p12) ou do gene *NOTCH2* no cromossomo 1 (1p12) (TURNPENNY; ELLARD, 2012). A semelhança de algumas características com a SWB, como cardiopatias, estenose pulmonar, atraso no desenvolvimento e dismorfia facial, fez da SA um diagnóstico diferencial para SWB. No entanto, o resultado obtido pela análise do CMA consta que o teste de microarranjo não detectou nenhuma alteração cromossômica considerada patogênica, provavelmente patogênica ou de significado clínico indeterminado, excluindo como causa de quadro clínico as síndromes conhecidas de microdeleção ou microduplicação genômicas, conforme descrito nos bancos de dados DECIPHER e OMIM. Portanto, embora o indivíduo apresente características típicas da SWB, como ADNPM, sociabilidade excessiva, hiperacusia dentre outras características físicas, estas características não foram esclarecidas pelo perfil genético do paciente.

A deleção de 1,37Mb, identificada e analisada por CMA em 6 participantes, revelou danos nas regiões 3'UTR (*downstream*) e 5'UTR (*upstream*) de dois genes, *FKBP6* e *GTF2I*, respectivamente. Pela análise preliminar realizada no *CLC Sequence Viewer*, foi possível inferir algumas consequências em relação às proteínas codificadas. Pela coordenada genômica do gene *FKBP6* (72,742,164 – 72,772,634), dada pela CMA, foi possível verificar que o ponto de quebra se localiza no último éxon (9) da isoforma 2. Como o códon de parada, nesta isoforma, está

localizado no éxon anterior (8), presume-se que esta “quebra” pode não alterar a funcionalidade da proteína codificada. No entanto, é sabidamente conhecido que a região 3’UTR tem papel fundamental na expressão gênica, e, portanto, o dano pode comprometer a expressão desse gene. A proteína codificada por *FKBP6* pode funcionar na imunorregulação e processos celulares básicos que envolvem o dobramento e o tráfego de proteínas. A haploinsuficiência desse gene pode ser a causa de certas anormalidades cardiovasculares e músculo-esqueléticas observadas na SWB.

No gene *GTF2I* (74,072,030 – 74,175,022) o ponto de quebra ocorreu entre os éxons 12 e 13, excluindo o primeiro domínio da proteína. Sabe-se que qualquer dano ocorrido no início da sequência de DNA altera o quadro de leitura da proteína codificada já que haverá perda de regiões importantes na regulação gênica. Lucena e col. (2010) mostraram que a perda dos 140 primeiros aminoácidos é suficiente para alterar o fenótipo em modelos celulares e modelos *in vivo*. Portanto, a deleção parcial detectada por CMA acarreta na produção de uma proteína diferente da convencional, a qual codifica um fator de transcrição geral II-I (TFII-I), fator este considerado multifuncional já que atua tanto no núcleo como no citoplasma (CHAILANGKARN; NOREE; MUOTRI, 2018; DEURLOO *et al.*, 2019). Sua haploinsuficiência está envolvida a várias manifestações fenotípicas da SWB, incluindo comportamento social, ansiedade, deficiência visuoespacial, sensibilidade aumentada a sons e deficiência intelectual (CHAILANGKARN; NOREE; MUOTRI, 2018).

Embora esta análise preliminar aponte danos irreversíveis, a veracidade dessas consequências só é possível com dados de sequenciamento desses genes nos pacientes já que há isoformas diferentes devido ao *splicing* alternativo ilustrado na **figura 7**.

Embora um completo knockout da RCSW exiba um fenótipo clínico e comportamental muito próximo à SWB, as regiões adjacentes à 7q11.23, que abrangem outros genes e vias metabólicas, podem fornecer ainda mais compreensão sobre a relação que esses genes e vias podem estabelecer na falta dos genes da RCSW. Kimura e col. (2019) ao analisarem uma rede de coexpressão de genes relacionados à função neuro comportamental em pacientes com SWB e os perfis de expressão de microRNAs e redes de coexpressão de miRNA, além de identificarem diferentes genes fora da RCSWB, concluíram que a desregulação da rede mRNA/miRNA envolvendo genes fora da região provavelmente está relacionada aos fenótipos complexos observados em pacientes com SWB. Bassett e col. (2017) com intuito de identificar fatores

genéticos que contribuem para o desenvolvimento de esquizofrenia associada à síndrome de DiGeorge (22q11) sugeriram que a sobreposição de CNVs fora da região deletada contribui para o risco de desenvolvimento de esquizofrenia, sustentando uma hipótese multigênica para a ocorrência desse distúrbio.

Portanto, para analisar a região bem como as regiões adjacentes, a biologia de sistemas (BS), que consiste no estudo das interações entre componentes de um sistema biológico e como essas correlações estabelecem funções e comportamento no sistema, permite uma visão mais abrangente ao invés de uma reducionista. A BS faz uso de experimentos para medir quantitativamente processos biológicos, modelagem matemática e computacional, inferência dos parâmetros destes modelos e sua análise para descobrir evidências biológicas desconhecidas que ocorrem nos sistemas biológicos. Em vista disso, nosso objetivo foi analisar, por meio de redes de interações proteína-proteína (PPI), fundamentais para a maioria dos processos biológicos, o impacto da microdeleção em pacientes com SWB.

Para analisar o impacto da microdeleção por meio de redes de interações proteína-proteína (PPI), duas redes foram analisadas, uma representando a rede PPI de um indivíduo sem alterações genéticas, denominadas aqui como GN, e outra simulando as interações de um indivíduo com SWB, designada como PN. Pela localização genômica da deleção (chr7: 72,766,313-74,133,332, GRCh37/hg19) identificamos quais genes foram perdidos. As 23 proteínas codificadas por estes genes, foram removidas da GN para obtenção da PN. Ao comparar as propriedades topológicas das redes, observou-se que não houve diferença significativa, isto é, a remoção das 23 proteínas não causou uma disrupção na rede como seria esperado já que as redes analisadas foram condizentes ao que Barabási e Albert (1999) definiu como rede livre de escala (BARABÁSI; OLTVAI, 2004). Uma rede livre de escala com uma distribuição da conectividade (grau) dos nós que se ajusta a uma lei de potência é tida como uma rede resistente a falhas aleatórias. As falhas afetam principalmente os nós de pequeno grau que não alteram a estrutura do caminho dos nós restantes e, portanto, não prejudicam a integridade geral da rede (ALBERT, JEONG E BARABÁSI, 2000; BARABÁSI; OLTVAI, 2004; RAMAN, 2010). Dado o tamanho da rede GN, com 21.492 nós, de fato a perturbação provocada pela remoção é muito irrisória para gerar uma alteração significativa. Se dentre os nós removidos existissem nós centrais, a remoção de um ou mais poderia causar uma disrupção e, conseqüentemente, acarretaria em alterações consideráveis. Perante a

irrelevância estatística, verificamos se a remoção dessas 23 proteínas gerou alguma alteração topológica nas proteínas adjacentes. No entanto, embora esse foco nos genes vizinhos possa oferecer uma maior compreensão sobre a relação que estes genes e vias podem estabelecer na ausência dos genes da RCSW, observamos que a remoção não promoveu uma alteração notória nas proteínas vizinhas.

No geral, as PPI tendem a ocorrer entre proteínas que estejam nos mesmos componentes celulares (COSTANZO *et al.*, 2010 e 2016). No contexto de comunidades, onde um algoritmo promoveu o fracionamento das redes em módulos que compartilham características similares, o impacto da microdeleção de 7q11.23 também foi examinado e, mais uma vez, as análises não foram relevantes, ainda que exista uma diferença significativa no número de nós entre as comunidades GN e PN. Sobretudo, as comunidades 2 e 3 da PN que passaram a exibir maior quantidade de nós. A quantidade de proteínas vizinhas presentes nessas duas comunidades também aumentou. Mesmo que as propriedades topológicas não exibiram significância estatística no contexto de comunidades, além de aumentar a conectividade, algumas proteínas vizinhas exibiram também um aumento nos valores de centralidade após a deleção. Presume-se que toda essa reestruturação, após a deleção, pode ter ocorrido na tentativa de manter as propriedades e interações da rede.

Pelo software WEKA foi possível identificar quais as proteínas vizinhas que mais sofreram alterações em relação a centralidade e grau de conexão. Dentre as 1.219 proteínas, 151 proteínas se destacaram por apresentarem as maiores alterações nos valores de *degree* (k) e *betweenness*. Devido a essas notáveis alterações, as 151 proteínas podem trazer esclarecimentos que vão além da RCSWB, pois ao deixar de fazer interações ou mesmo passar a interagir com mais proteínas e/ou deixar de existir em caminhos onde a informação se propaga na rede ou passar a ser uma proteína importante na propagação de informações, outras proteínas podem ser prejudicadas, seja alterando-as ou mesmo inibindo sua função.

A análise de enriquecimento realizada pelo SAFE além de identificar *hubs* de proteínas que compartilham processos biológicos semelhantes, identifica e correlaciona proteínas à processos biológicos ainda não estabelecidos na literatura. Diante disto, proteínas que até então não apresentavam nenhuma associação podem ser estudadas para maiores esclarecimentos. No entanto, assim como algumas proteínas podem ser inovadoras, outras parecem não participarem diretamente de funções já pré estabelecidas na literatura.

De um modo geral, as redes aqui analisadas revelaram que a microdeleção de 1,37Mb, causadora da SWB, não explica o fenótipo no contexto de redes de PPI na BS, assim como as proteínas adjacentes. Embora a abordagem utilizada proporcione uma visão holística, as proteínas que englobam à região 7q11.23, e suas proteínas adjacentes, desempenham diferentes papéis em diferentes estágios de desenvolvimento e em diferentes estruturas anatômicas. Isto é, a expressão de proteínas, bem como suas interações entre proteínas, tende a modificar conforme o estágio de desenvolvimento bem como as estruturas biológicas. Chen e col. (2021) ao analisarem genes envolvidos no desenvolvimento cerebral em um contexto de redes de PPI, utilizando dados de transcritos provenientes do cérebro humano, concluíram que o *GTF2I* é um candidato a gene driver, isto é, gene que comanda as atividades de outros genes. Essa análise proporciona novas informações sobre diferentes genes atuando em conjunto com os relacionados com a SWB e, assim, abre novas oportunidades de análises em estudos experimentais do impacto desses genes na fisiopatologia da síndrome.

Como exposto anteriormente, muito do que se sabe hoje sobre o que cada gene proporciona no fenótipo vem de estudos que direcionam suas análises em um ou mais genes, sendo conhecidos como estudos reducionistas. Nesse contexto de BS, onde traz uma visão holística, é possível analisar o real impacto de um conjunto de genes nos fenótipos. A análise fisiológica bem-sucedida requer uma compreensão das interações funcionais entre os principais componentes das células, órgãos e sistemas, bem como essas interações mudam nos estados de doença. Esta informação não reside no genoma nem mesmo nas proteínas individuais que os genes codificam. Encontra-se no nível das interações proteicas no contexto das estruturas subcelulares, celulares, de tecidos, órgãos e sistemas (NOBLE, 2008).

Com o intuito de mostrar quão robusto e produtivo é esse tipo análise, reunimos informações de três genes relevantes presente na literatura e associamos estes achados às informações obtidas pelas redes para elucidar possíveis vias e prever possíveis efeitos que não são esclarecidos/elucidados nos estudos considerados reducionistas. Focamos nas proteínas vizinhas ao gene *ELN*, por ser o principal gene estudado na síndrome, e aos genes *FZD9* e *GTF2I* pois ambos têm sido correlacionados às características comportamentais da SWB (CHAILANGKARN *et al.*, 2016; CHAILANGKARN; MUOTRI, 2017; CHAILANGKARN; NOREE; MUOTRI, 2018).

FZD9

A proteína O00144 codificada pelo gene *FZD9* é um receptor transmembranar que atua na sinalização de proteínas Wnt, importantes na regulação de vários processos no desenvolvimento embrionário. A proteína é um determinante crítico no desenvolvimento do hipocampo e pode contribuir para o fenótipo de desenvolvimento neurológico e comportamental da SWB. O grupo liderado por Muotri (CHAILANGKARN *et al.*, 2016; CHAILANGKARN; MUOTRI, 2017) colocou em pauta um modelo humano para estudar a SWB com uso das hiPSC. Essa abordagem já rendeu ao grupo resultados informativos para a SWB. Os dois primeiros estudos investigaram o fenótipo de NPCs e neurônios por meio das análises morfológicas, eletrofisiológicas, de eventos apoptóticos, influxo de cálcio e perfis de expressão, a partir da obtenção de hiPSCs derivadas da polpa dentária de pacientes. O retardo no crescimento das NPCs provenientes dos casos típicos conduziu a atenção para a proliferação e apoptose dessas células, nas quais se observou um aumento na morte celular. Esse fato, não observado nas mesmas células oriundas do caso atípico, instigou a existência de um gene que regula a morte celular e, através de uma análise na expressão gênica na via canônica Wnt, chegaram à conclusão que o gene *FZD9* é o responsável pela apoptose em NPCs de indivíduos com SWB. Os neurônios procedentes dos casos típicos exibiram alterações morfológicas, expondo neurônios mais elaborados. Em suma, os resultados obtidos nesse estudo mostraram que esse modelo de estudo tem potencial para desvendar os mecanismos implícitos de doenças complexas, tal como a SWB (CHAILANGKARN *et al.*, 2016; CHAILANGKARN; MUOTRI, 2017).

Diante da estratégia utilizada, 34 proteínas vizinhas à O00144 foram identificadas. A função da maioria está relacionada a ligantes, ativadores de ligantes e receptores. Ainda que a grande maioria delas não tenha mudado de comunidades, após a deleção oito proteínas, O00755, P04628, P11161, P60369, Q06889, Q81U89, Q8TCT8 e Q99750, se reorganizaram em diferentes comunidades. Mesmo que a deleção tenha proporcionado uma alteração ou não de comunidades, a maioria das proteínas sofreram alterações em relação ao grau de conexões e centralidade. Pela análise realizado no WEKA foi possível verificar que três proteínas (O00755, P56704 e Q9NPG1) sofreram maiores alteração na medida de conectividade e centralidade. Essas proteínas foram também enriquecidas pela análise no KEGG a qual atuam em diversas vias. Dentre estas podemos

destacar a via de sinalização da proteína mTOR (do inglês “*mammalian target of rapamycin*”), pois embora essa via seja firmemente estabelecida e correlacionada a tumorigênese (ZOU *et al.*, 2020), a importância dessa via na função cerebral é evidenciada pela quantidade de distúrbios nos quais a desregulação dessa via tem sido implicada na fisiopatologia de várias doenças neurológicas, como autismo, epilepsia e distúrbios neurodegenerativos (WONG, 2013; LIPTON; SAHIN, 2014; XU *et al.*, 2020). Wong (2013) afirma que a sinalização mTOR desregulada em vários distúrbios neurológicos não deveria ser uma novidade já que essa disfunção tem sido implicada na mediação de mecanismos fisiológicos de aprendizagem e memória. Portanto, ensaios experimentais utilizando estas proteínas podem esclarecer o impacto delas na fisiopatogênese da SWB. A utilização farmacológica de inibidores de mTOR, assim como em alguns ensaios clínicos tem apontado benefícios direto aos pacientes com epilepsia (WONG, 2013; LIPTON; SAHIN, 2014), pode ser uma terapia promissora para os indivíduos com SWB.

As demais vias enriquecidas pelo KEGG para as três proteínas indicaram que elas também estão envolvidas em vias implicadas no câncer. Seguindo a abordagem estabelecida, nenhuma proteína vizinha foi relacionada a doenças, segundo dados obtidos pela Uniprot.

Pela análise de enriquecimento de termos ontológicos realizada no SAFE, as três proteínas (O00755, P04628 e Q8TCT8), identificadas pelo WEKA, permaneceram em regiões onde não houve enriquecimento, mesmo após o evento de deleção.

A discussão em relação às proteínas vizinhas a proteína O00144 até aqui, seguiu a trajetória adotada com intuito de promover um refinamento das análises. No entanto, convém ressaltar a importância das demais proteínas vizinhas. Dentre as oito proteínas que se reestruturaram em outras comunidades após a deleção, duas deixaram de compartilhar processos biológicos (P60369 e Q99750), outras duas passaram a compartilhar diferentes processos (P11161 e Q06889) e apenas uma passou a compartilhar novos processos após a deleção (Q8IU89).

As proteínas P60369 e Q99750 deixaram de compartilhar processos relacionados ao ciclo celular, especificamente a fase que antecede à divisão celular na mitose, e nos processos que direcionam a posição onde a divisão ocorre como localização da proteína no centrôssomo. A proteína Q8IU89 passou a compartilhar processos envolvidos na biossíntese da molécula de lipídios que formam membrana.

As proteínas vizinhas P11161 e Q06889, embora continuem compartilhando processos relacionados a transcrição, deixaram de compartilhar processos importantes como os que atuam na regulação na expressão gênica, na proliferação celular, na diferenciação de células com as células-tronco e adiposas, e na regulação negativa do processo de apoptose. Curiosamente, essa regulação negativa do processo de apoptose, com a qual a proteína O00144 interage fisicamente, vai na contramão dos achados de Chailangkarn e col. (2016 e 2017). Podemos presumir aqui algumas circunstâncias: a proteína O00144 é responsável pela apoptose apenas nas células progenitoras neurais de indivíduos com SWB e não é regulada pelas proteínas vizinhas P11161 e Q06889, ou nestas duas, embora atuem de forma negativa ao processo de apoptose, a deleção da O00144 levou ao bloqueio deste processo.

ELN

O gene *ELN* codifica uma proteína (P15502) da matriz extracelular que permite a flexibilidade do tecido conjuntivo presente na pele, pulmões e vasos sanguíneos (PARRISH et. al, 2020). Dentre as características fenotípicas, os problemas cardiovasculares, estenose de artérias grandes e médias, especialmente aorta e artéria pulmonar, e hipertensão e rigidez arterial, representam a forma mais grave da doença (KOZEL et. al, 2021). O mecanismo que leva ao aumento no risco relativo de morte parece ser multifatorial refletindo na fisiopatologia vascular (TASSABEHJI et. al, 1997). A insuficiência de elastina produz fibrose na parede arterial, a qual altera a mobilidade das células musculares lisas, levando a um crescimento anormal da circunferência, diminuindo o lúmen e aumentando o espessamento da parede arterial (JIAO et. al, 2017).

Nossa abordagem metodológica possibilitou identificar a quantidade, bem como categorizar quais são as proteínas vizinhas à P15502. Mesmo após a deleção, observamos que nenhuma das 86 proteínas vizinhas foram excluídas. Devido às alterações nos valores de centralidade e de conectividade, podemos inferir que houve uma reestruturação tanto nas redes como um todo como nas redes dentro do contexto de comunidades. Verificamos, também, que a maioria das proteínas não mudaram de comunidades após a deleção, embora sugere-se também uma reorganização dentro das comunidades. Àquelas que mudaram, curiosamente se reestruturaram em duas comunidades em que a maioria das proteínas vizinhas se situam. Ao analisar as alterações em relação aos valores

de centralidade e conectividade pelo WEKA, dez proteínas foram identificadas: O00399, O95831, P00390, P00966, P35523, P51800, P51801, Q5VYV0, Q86YZ3 e Q96AY3. Dentre estas, seis foram também relacionadas com doenças segundo dados obtidos pela Uniprot e apenas uma apresenta características similares à síndrome. A proteína O95831 foi associada a uma doença mitocondrial que resulta em transtorno neurodegenerativos (MIM: 300816) caracterizado por atraso psicomotor e hipotonia.

Parrish e col. (2020) detectaram quatro vias metabólicas que podem impactar vigorosamente na severidade da estenose aórtica supravalvar (EASV) nos indivíduos acometidos pela SWB. Dentre as vias identificadas pelo estudo, tais como vias envolvidas no sistema imune, na matriz extracelular, na sinalização de receptores de ligação de proteína G e metabolismo lipídico, nenhuma foi observada quando realizamos enriquecimento pelo KEGG. A única via detectada foi a de reabsorção de água regulada por vasopressina associada à proteína O00399. Embora a via encontrada em nosso estudo não seja concordante com o estudo de Parrish, não significa que não há correlações, mas que provavelmente a interação dos vizinhos com outros podem direcionar as vias que influenciam na fibra elástica.

Na análise de enriquecimento realizado pelo SAFE, das 10 proteínas vizinhas identificadas pelo WEKA, a maioria situa-se em regiões onde nenhum processo biológico foi enriquecido, mesmo após a deleção. Porém, após a deleção, proteína P00390 passou a compartilhar o processo biológico beta-oxidação de ácidos graxos usando acil-CoA, e a proteína P00966 deixou de compartilhar os seguintes processos: polimerização de proteínas, modificação proteica pós-tradução, processo metabólico da proteína celular, regulação positiva da secreção de hormônio peptídico, regulação positiva da esterificação de colesterol, regulação da ativação do complemento, fibrinólise.

Desconsiderando as proteínas vizinhas identificadas pelo WEKA, metade das proteínas vizinhas localiza-se em regiões onde não houve enriquecimento nem antes e nem depois da deleção. Um fato curioso é que se esperava que a grande maioria das proteínas tivessem sido enriquecidas pela análise, já que se trata de vizinhos da proteína P15502 de um dos genes mais estudados e comentados na síndrome. Podemos levantar algumas hipóteses: ou nossa abordagem necessita de um refinamento maior para que as análises encontrem proteínas próximas com impactos potenciais, ou esta proteína só tem relevância estatística em momentos específicos no

desenvolvimento como foi inferido por Chen e col. (2021), ou esta proteína na verdade atua como uma intermediadora de outras que são efetivamente relevantes.

GTF2I

A proteína P78347, codificada pelo gene *GTF2I*, atua como um fator de transcrição geral II-I (TFII-I). Este gene está associado a diferentes manifestações fenotípicas na SWB, como comportamento social, ansiedade, déficit visuoespacial, hiperacusia, retardo mental e características relacionadas ao dismorfismo craniofacial (CHAILANGKARN; NOREE; MUOTRI, 2018). Enkhmandakh e col. (2009) avaliaram camundongos knockout para este gene e, além da microcefalia, os camundongos exibiram retardo no crescimento e outros problemas no desenvolvimento craniofacial e no esqueleto. Diante disso, concluíram que a haploinsuficiência da proteína P78347 causa várias anomalias de desenvolvimento que são frequentemente associadas à SWB. Recentemente, um grupo da Itália liderado por Dallpiccola, publicaram um estudo que sustenta a importância e influência que o gene *GTF2I* e outros dois também importantes da RCSWB (*CLIP2* e *GTF2IRD1*) no papel crítico no perfil neurocognitivo e características craniofaciais (ALESI *et al.*, 2021).

Embora esteja envolvido no desenvolvimento do cérebro, a proteína codificada pode estar também envolvida na hipercalcemia infantil. O TFII-I regula negativamente a entrada de Ca^{2+} no citoplasma através da atividade dos canais de receptores transientes de potencial do tipo 3 (TRPC3). Deurloo e col. (2019) analisaram o efeito dessa proteína em camundongos heterozigotos para o gene *GTF2I* e concluíram que a falta dessa proteína aumentou a entrada de Ca^{2+} mediado por TRPC3 elevando os níveis de cálcio intracelular. A presença de Ca^{2+} no meio intracelular é importante na maturação neuronal, porém o excesso desse íon além de promover alterações morfológicas, principalmente nos axônios, pode também estar envolvido na hipercalcemia (LETAVERNIER *et al.*, 2012), já que o aumento dos níveis de Ca^{2+} é devido ao aumento na expressão de TRPC3 na membrana plasmática (DEURLOO *et al.*, 2019).

Recentemente, uma função até então desconhecida na expressão deste gene, foi descoberta em neurônios excitatórios no desenvolvimento de oligodendrócitos e mielinização (BARAK *et al.*, 2019). Dentre os genes estudados pelo grupo, o *MBP*, que codifica uma proteína base da mielinização (P02686), nos chamou atenção por não realizar interação física direta com o fator de

transcrição geral 2I (*GTF2I*). No entanto, observamos que além desta proteína (P02686) interagir com outra grandemente estudada na síndrome, proteína quinase 1 contendo domínio LIM, codificada pelo gene *LIMK1*, a P78347 (*GTF2I*) não realiza interação física direta com a proteína codificada por *LIMK1*. Isso sugere que o papel dos genes *GTF2I* e *MBP* na mielinização depende de outros genes, como *LIMK1*. Análises experimentais podem avaliar se realmente a interação física entre *MBP* e *LIMK1* tem impacto relevante na mielinização.

A abordagem aqui utilizada possibilitou identificar a quantidade e quais são as proteínas vizinhas à P78347. Seguindo a estratégia utilizada, após a deleção, embora nenhuma das 33 proteínas vizinhas tenham sido excluídas, as mesmas parecem ter se reestruturado dentro das redes no contexto de comunidades, pois tanto os valores de centralidade como os de conectividade alteraram. Observamos também que além dessa reestruturação, seis proteínas mudaram de comunidades após a deleção. As demais proteínas embora tenham permanecido nas mesmas comunidades, também se reestruturaram dentro delas. Pelo WEKA, seis proteínas se destacaram por apresentarem maiores alterações tanto nos valores de centralidade como na conectividade, são elas PODP25, P14174, Q13105, Q16633, Q7Z6K3 e Q86T82. Segundo dados obtidos pela Uniprot, três já foram associadas a diferentes doenças, porém, nenhuma característica associada remete à SWB.

Chen e col. (2021) ao analisarem o gene *GTF2I* em um contexto de redes de PPI, em diferentes estágios de desenvolvimento cerebral, identificaram alguns genes que interagem diretamente com o *GTF2I*, dentre eles, *PRKCD*, *BRCA1* e três subunidades do complexo *RPA*. Pela nossa abordagem foi possível observar que dentre as proteínas codificadas por esses genes, apenas uma interage fisicamente com a proteína codificada por *GTF2I*. A proteína P38398, codificada por *BRCA1*, está envolvida no reparo de quebras na dupla fita do DNA e na recombinação homóloga (WEI *et al.*, 2008). Observamos que após a deleção essa proteína deixou de compartilhar as funções que tinha, porém, adquiriu novas outras. A proteína P78527, codificada por *PRKCD*, também está envolvida com reparo no DNA via união de extremidades não homólogas (NHEJ). Diferente da outra, essa proteína interage com a P78347 de forma indireta, isto é, a interação ocorre apenas se P78527 interagir antes com outras proteínas, sobretudo a P38398. Além desta, identificamos outras duas proteínas vizinhas que podem permitir essa interação. Este fato pode ser um viés na obtenção dos experimentos que confirmam a interação física ou esta proteína só interage fisicamente com

P78347 em momentos específicos no desenvolvimento como Chen e col. (2021) concluíram. Embora este estudo afirma que as proteínas codificadas pelos genes *RPA1*, *RPA2* e *RPA3* também não interagem fisicamente com P78347, observamos que elas interagem com uma outra proteína da RCSW, a P35250 codificado pelo gene *RFC2*. Esta proteína, que também atua no reparo de DNA e na replicação do DNA, assim como a P78527, pode interagir diretamente com a P78347 em momentos específicos no desenvolvimento. Essas três proteínas ativam as vias mediadas por ATR e estão envolvidas na resposta a danos no DNA dependente de ATR e na parada do ciclo celular. O'Driscoll e col. (2007) sugeriram uma relação causal entre disfunção na sinalização de ATR e atraso no desenvolvimento. Desse modo podemos concluir que dependendo do estágio de desenvolvimento as interações entre as proteínas mudam e, na falta de uma ou mais, essa conformação tende a ser prejudicada.

Pelo KEGG foi possível identificar três proteínas, P0DP25, P14174 e Q13105, que atuam em diferentes vias metabólicas. Embora P0DP25 e Q13105 aparecem atuando em vias relacionadas ao câncer, a primeira atua em várias outras vias, incluindo na regulação do mediador inflamatório dos canais TRP já associados à hipercalcemia. O envolvimento dessas proteínas nas diferentes vias metabólicas pode trazer informações relevantes sobre a patogênese da SWB.

Pela análise de enriquecimento realizada pelo SAFE, após a deleção, apenas 10 proteínas permaneceram em regiões onde não houve enriquecimento. Quatro deixaram de compartilhar processos biológicos, cinco passaram a compartilhar e quatorze passaram a compartilhar diferentes processos biológicos. Das seis proteínas que mais sofreram alterações em relação a conectividade e centralidade, duas passaram a compartilhar termos ontológicos após a deleção, como Q7Z6K3 e Q86T82. Embora ambas compartilham alguns processos biológicos semelhantes, dentre os quais podemos destacar a regulação da transcrição, a proteína Q86T82 foi enriquecida com outros processos envolvidos na ativação gênica. As proteínas P63010 e Q9UJW3, após a deleção, deixaram de compartilhar termos relacionados, respectivamente, com processos que regulam negativamente a transição para iniciar o ciclo celular e regulação da transcrição, expressão gênica, proliferação celular, entre outros. Já outras duas proteínas alteraram as regiões de enriquecimento. A P63279, localizada em uma região enriquecida com processos que regulam negativamente a transição para iniciar o ciclo celular, passou a compartilhar processos que estão envolvidos na transcrição. A P40763 deixou de compartilhar processos relacionados à regulação da transcrição e

passou a compartilhar muitos outros processos, com destaque aqueles que atuam na regulação negativa de ligação de proteínas, nas vias e regulação no processo de apoptose, na resposta ao dano no DNA e proliferação celular.

Como podemos observar, embora a deleção das 23 proteínas não tenha retratado alterações reveladoras no que tange as propriedades topológicas das redes, o impacto dessa deleção é notório quando direcionamos uma análise pontual das proteínas adjacentes. Com a análise pelo SAFE conseguimos observar que após a deleção as proteínas realmente sofreram mudanças seja nos valores de conectividade e/ou na centralidade, como no compartilhamento de processos biológicos. O fato de uma proteína deixar de compartilhar processos biológicos, ou alterar os processos que compartilham, ou até mesmo passar a compartilhar processos, mostra que a deleção resultou em mudanças e que estas podem revelar novas vias, novos candidatos para estudos experimentais.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

A microdeleção 7q11.23 de pacientes provenientes da AGSW, foi identificada e caracterizada pela CMA;

A CMA permitiu identificar a deleção de 23 genes codificadores de proteínas (*FKBP6* - *breakpoint* no éxon 9, *FZD9*, *BAZ1B*, *BCL7B*, *TBL2*, *MLXIPL*, *VPS37D*, *DNAJC30*, *BUD23*, *STX1A*, *ABHD11*, *CLDN3*, *CLDN4*, *METTL27*, *TMEM270*, *ELN*, *LIMK1*, *EIF4H*, *LAT2*, *RFC2*, *CLIP2*, *GTF2IRD1* e *GTF2I* - *breakpoint* no éxon 12) bem como a localização genômica em que ocorreu a deleção (Chr7: 72,766,313 – 74,133,332);

As 23 proteínas codificadas pelos genes deletados, O75344 (*FKBP6*), O00144 (*FZD9*), Q9UIG0 (*BAZ1B*), Q9BQE9 (*BCL7B*), Q9Y4P3 (*TBL2*), Q9NP71 (*MLXIPL*), Q86XT2 (*VPS37D*), Q96LL9 (*DNAJC30*), O43709 (*BUD23*), Q16623 (*STX1A*), Q8NFV4 (*ABHD11*), O15551 (*CLDN3*), O14493 (*CLDN4*), Q8N6F8 (*METTL27*), Q6UE05 (*TMEM270*), P15502 (*ELN*), P53667 (*LIMK1*), Q15056 (*EIF4H*), Q9GZY6 (*LAT2*), P35250 (*RFC2*), Q9UDT6 (*CLIP2*), Q9UHL9 (*GTF2IRD1*) e P78347 (*GTF2I*), foram identificadas nas redes PPI.

As propriedades topológicas entre as redes PPI preditas para indivíduos sem e com a microdeleção (GN x PN) não apresentaram diferenças estatísticas. Mesmo direcionando as análises aos vizinhos, as alterações topológicas não foram significativas, assim como nas análise realizadas no contexto de comunidades.

A análise de enriquecimento com termos ontológicos relacionados a processos biológicos possibilitou verificar que, após a deleção, as proteínas sofreram uma reestruturação dentro e fora das comunidades e que esta reorganização promoveu perdas, ganhos ou alterações de termos ontológicos compartilhados.

Os dados obtidos no estudo permitiu inferir novas proteínas e vias que podem estar correlacionadas à SWB, como as proteínas vizinhas à proteína codificada pelo gene *FZD9*: O00755, P56704 e Q9NPG1; proteínas vizinhas à proteína codificada pelo gene *ELN*: P11161 e Q06889; e as proteínas vizinhas à proteína codificada pelo gene *GTF2I*: P02686 e P38398. Estudos experimentais desses achados podem esclarecer melhor uma correlação genótipo-fenótipo.

REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAP. Health Care Supervision for Children With Williams Syndrome. **Pediatrics**, v. 107, n. 5, p. 1192–1204, 2001.
- ABBAS, E. *et al.* The 7q11.23 Microduplication Syndrome: A Clinical Report with Review of Literature. **Journal of Pediatric Genetics**, v. 05, n. 03, p. 129–140, 2016.
- ALBERT, R.; JEONG, H; BARABÁSI, A. L. Error and attack tolerance of complex networks. **Nature**, 406, p. 378-382, 2000.
- ALBERT, R.; BARABÁSI, A. L. Statistical mechanics of complex networks. **Reviews of Modern Physics**, v. 74, n. 1, p. 47–97, 2002.
- ALESI, V. *et al.* Atypical 7q11.23 deletions excluding *ELN* gene result in Williams-Beuren syndrome craniofacial features and neurocognitive profile. **American journal of medical genetics. Part A**, v. 185, n. 1, p. 242–249, 2021.
- ANTONELL, A. *et al.* Williams syndrome: its clinical aspects and molecular bases. **Revista de neurologia**, v. 42 Suppl 1, p. 69-75, 2006.
- ARAVIN, A. A. *et al.* Double-stranded RNA-mediated silencing of genomic tandem repeats and transposable elements in the *D. melanogaster* germline. **Current Biology**, v. 11, n. 13, p. 1017–1027, 2001.
- ASHBURNER, M. *et al.* Gene ontology: Tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium **Nature Genetics**, v. 25, n. 1, p. 25-29, 2000.
- ASHE, A. *et al.* A genome-wide screen for modifiers of transgene variegation identifies genes with critical roles in development. **Genome Biology**, v. 9, n. 12, p. R182.1-R182.16, 2008.
- ASLAMY, A.; THURMOND, D. C. Exocytosis proteins as novel targets for diabetes prevention and/or remediation? **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 312, n. 5, p. R739-R752, 2017.
- BAJRACHARYA, P.; BHATNAGAR, S.; PAULIKS, L. B. Mitral Valve Diseases in Williams Syndrome-Case Report and Review of the Literature. **Echocardiography**, v. 28, n. 8, p. E156–E159, 2011.
- BARABÁSI, A. L.; OLTVAI, Z. N. Network biology: understanding the cell's functional organization. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 2, p. 101–113, 2004.

BARAK, B. *et al.* Neuronal deletion of Gtf2i, associated with Williams syndrome, causes behavioral and myelin alterations rescuable by a remyelinating drug. **Nature Neuroscience**, v. 22, n. 5, p. 700-708, 2019.

BARAK, B.; FENG, G. Neurobiology of social behavior abnormalities in autism and Williams syndrome. **Nature Neuroscience**, v. 19, n. 5, p. 647-655, 2016.

BARCZYK, M.; CARRACEDO, S.; GULLBERG, D. Integrins. **Cell and Tissue Research**, v. 339, p. 269–280, 2010.

BARZEL, B.; SHARMA, A.; BARABÁSI, A. L. Graph theory properties of cellular networks. *In*: WALHOUT, A. J. M.; VIDAL, M.; DEKKER, J. **Handbook of Systems Biology**. [S.l.]: Academic Press, 2013. p. 177-193.

BARYSHNIKOVA, A. Systematic Functional Annotation and Visualization of Biological Networks. **Cell Systems**, v. 2, n. 6, p. 412-421, 2016.

BARYSHNIKOVA, A. Spatial analysis of functional enrichment (SAFE) in large biological networks. *In*: VON STECHOW, L.; DELGADO, S. A. **Computational Cell Biology**. Methods in Molecular Biology. 1.ed. [S.l.]: Humana Press, 2018, p. 249-268.

BASSETTI, A. S. *et al.* Rare Genome-Wide Copy Number Variation and Expression of Schizophrenia in 22q11.2 Deletion Syndrome. **The American Journal of Psychiatry**, v. 174, n. 11, p. 1054-1063, 2017.

BASU, A. *et al.* Protein Interaction Network Biology in Neuroscience. **Proteomics**, v. 21, n. 3-4, p. 1-15, 2021.

BAXTER, M. *et al.* Cardiac mitochondrial function depends on *BUD23* mediated ribosome programming. **eLife**, v. 9, 2020.

BAYÉS, M. *et al.* Mutational Mechanisms of Williams-Beuren Syndrome Deletions. **The American Journal of Human Genetics**, v. 73, n. 1, p. 131–151, 2003.

BELLOMO, N.; CARBONARO, B. Toward a mathematical theory of living systems focusing on developmental biology and evolution: a review and perspectives. **Physics of life Reviews**, v. 8, n. 1, p.1-18, 2011.

BERTONE, P. *et al.* Global identification of human transcribed sequences with genome tiling arrays. **Science**, v. 306, n. 5705, p. 2242–2246, 2004.

BI, W. *et al.* Detection of ≥ 1 Mb microdeletions and microduplications in a single cell using custom oligonucleotide arrays. **Prenatal Diagnosis**, v. 32, n. 1, p. 10–20, 2012.

BICKER, S.; SCHRATT, G. microRNAs: tiny regulators of synapse function in development and disease. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 12, n. 5a, p. 1466–1476, 2008.

BLACK, J. A.; CARTER, R. E. Association Between Aortic Stenosis And Facies Of Severe Infantile Hypercalcaemia. **Lancet**, v. 2, n. 7311, p. 745–9, 1963.

BOCCALETTI, S. *et al.* Complex networks: Structure and dynamics Physics Reports. **Physics Reports**, v.424, n.4-5, p.175-308, 2006.

BONGIOVANNI, A. M.; EBERLEIN, W. R.; JONES, I. T. Idiopathic Hypercalcemia of Infancy, with Failure to Thrive. **New England Journal of medicine**, v. 257, n. 20, p. 951–958, 1957.

BORRALLERAS, C. *et al.* Synaptic plasticity and spatial working memory are impaired in the CD mouse model of Williams-Beuren syndrome. **Molecular Brain**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2016.

BULYK, M. L.; WALHOUT, A. J. M. Gene regulatory networks. *In*: WALHOUT, A. J. M.; VIDAL, M.; DEKKER, J. **Handbook of Systems Biology**. [S.l.]: Academic Press, 2013. p. 65-88.

BUYSSE, K. *et al.* Challenges for CNV interpretation in clinical molecular karyotyping: Lessons learned from a 1001 sample experience. **European Journal of Medical Genetics**, v. 52, n. 6, p. 398–403, 2009.

CANALES, C. P. *et al.* The role of *GTF2IRD1* in the auditory pathology of Williams-Beuren Syndrome. **European Journal of Human Genetics**, v. 23, n. 6, p. 774–780, 2015.

CAPOSSELA, S. *et al.* Growth defects and impaired cognitive-behavioral abilities in mice with knockout for *Eif4h*, a gene located in the mouse homolog of the Williams-Beuren syndrome critical region. **The American journal of pathology**, v. 180, n. 3, p. 1121–1135, 2012.

CARBON, S. *et al.* AmiGO: Online access to ontology and annotation data. **Bioinformatics**, v. 25, n.2, p. 288-289, 2009.

CARVUNIS *et al.* Interactome Networks. *In*: WALHOUT, A. J. M.; VIDAL, M.; DEKKER, J. **Handbook of Systems Biology**. [S.l.]: Academic Press, 2013. p.45-63.

CAVALLO, F. *et al.* High-throughput screening identifies histone deacetylase inhibitors that modulate *GTF2I* expression in 7q11.23 microduplication autism spectrum disorder patient-derived cortical neurons. **Molecular Autism**, v. 11, n. 1, p. 1-18, 2020.

CHAILANGKARN, T. *et al.* A human neurodevelopmental model for Williams syndrome. **Nature**, v. 536, n. 7616, p. 338–343, 2016.

CHAILANGKARN, T.; MUOTRI, A. R. Modeling Williams syndrome with induced pluripotent stem cells. **Neurogenesis**, v.4, n.1, 2017.

CHAILANGKARN, T.; NOREE, C.; MUOTRI, A. R. The contribution of *GTF2I* haploinsufficiency to Williams syndrome. **Molecular and Cellular Probes**, v. 40, p. 45-51, 2018.

CHEN, L. *et al.* Spatiotemporal 7q11.23 protein network analysis implicates the role of DNA repair pathway during human brain development. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021.

CHI, L., DELGADO-OLGUIN, P. Expression of NOL1/NOP2/sun domain (Nsun) RNA methyltransferase family genes in early mouse embryogenesis. **Gene Expr Patterns**, p. 319–27, 2013.

CLARK, N. R.; MA'AYAN, A. Introduction to Statistical Methods for Analyzing Large Data Sets: Gene-Set Enrichment Analysis. **Science Signaling**, v.4, n. 190, p. tr4, 2011.

CLAUSET, A.; NEWMAN, M. E. J.; MOORE, C. Finding community structure in very large networks. **Physical Review E**, v. 70, n.6, p. 0066111.1-0066111.6, 2004.

COLLINS, R. T. Cardiovascular disease in Williams syndrome. **Current Opinion in Pediatrics**, v. 30, n. 5, p. 609–615, 2018.

COLLINS, R. T. *et al.* Cardiovascular abnormalities, interventions, and long-term outcomes in infantile Williams syndrome. **J Pediatr**, v. 156, p. 253-258, 2010a.

COLLINS, R. T. *et al.* Long-Term Outcomes of Patients With Cardiovascular Abnormalities and Williams Syndrome. **American Journal of Cardiology**, v. 105, n. 6, p. 874–878, 2010b.

COSTANZO, M. *et al.* A global genetic interaction network maps a wiring diagram of cellular function. **Science**, v. 353, n. 6306, p. aaf1420.1- aaf1420.14, 2016.

COSTANZO, M. *et al.* The Genetic Landscape of a cell. **Science**, v. 327, n. 5964, p. 425-431, 2010.

CUSCÓ, I. *et al.* Susceptibility factor for the Williams-Beuren syndrome deletion copy number variation at the 7q11.23 segmental duplications is a susceptibility factor for the Williams-Beuren syndrome deletion. **Genome Research**, p. 683–694, 2008.

CSÁRDI, G.; NEPUSZ, T. The Igraph software package for complex network. **InterJournal**, v. 1695, p. 1-9, 2005.

DEL CAMPO, M. *et al.* Hemizygoty at the *NCF1* gene in patients with Williams-Beuren syndrome decreases their risk of hypertension. **American journal of human genetics**, v. 78, n. 4, p. 533–42, 2006.

DEL COLE, C. G. *et al.* Adolescent adaptive behavior profiles in Williams–Beuren syndrome, Down syndrome, and autism spectrum disorder. **Child and Adolescent Psychiatry and Mental Health**, v. 11, n. 1, p. 40, 2017.

DEL PASQUA, A. *et al.* New findings concerning cardiovascular manifestations emerging from long-term follow-up of 150 patients with the Williams-Beuren-Beuren syndrome. **Cardiology in the Young**, v. 19, n. 6, p. 563–567, 2009.

DELGADO, L. M. *et al.* A 1.3-Mb 7q11.23 atypical deletion identified in a cohort of patients with Williams-Beuren syndrome. **Molecular Syndromology**, v.4, p.143-147, 2013.

DELIO, M. *et al.* Spectrum of elastin sequence variants and cardiovascular phenotypes in 49 patients with Williams-Beuren syndrome. **American journal of medical genetics. Part A**, v. 161A, n. 3, p. 527–533, 2013.

DEURLOO, M. H. S. *et al.* Transcription Factor 2I Regulates Neuronal Development via TRPC3 in 7q11.23 Disorder Models. **Molecular Neurobiology**, v.56, p.3313-25, 2019.

DHARAP, A.; VEMUGANTI, R. Noncoding RNAs and Stroke. In: CAPLAN, L.R. *et al.* **Primer on Cerebrovascular Diseases**. 2. ed. [S.l.]: Academic Press, 2017. p. 276–279.

DIECI, G.; PRETI, M.; MONTANINI, B. Eukaryotic snoRNAs: A paradigm for gene expression flexibility Genomics. **Genomics**, v.94, n.2, p.83-88, 2009.

DUQUE LASIO, M. L.; KOZEL, B. A. Elastin-driven genetic diseases. **Matrix Biology**, v.71-72, p. 144-160, 2018.

DURDIAKOVÁ, J. *et al.* *STX1A* and Asperger syndrome: a replication study. **Molecular Autism**, v. 5, n. 1, p. 14, 2014.

DUTRA, R. L. *et al.* Detection of deletions at 7q11.23 in Williams-Beuren syndrome by polymorphic markers. **Clinics**, v.66, p.959-64, 2011.

DUTRA, R. L. *et al.* Copy number variation in Williams-Beuren syndrome: suitable diagnostic strategy for developing countries. **BMC research notes**, v. 5, p. 13, 2012.

DYKENS, E. M. Anxiety, fears, and phobias in persons with Williams syndrome. **Developmental Neuropsychology**, v. 23, n. 1–2, p. 291–316, 2003.

ENKHMANDAKH, B. *et al.* Essential functions of the Williams-Beuren syndrome-associated TFII-I genes in embryonic development. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 1, p. 181-186, 2009.

EUTENEUER, J. *et al.* Molecular and phenotypic characterization of atypical Williams-Beuren syndrome. **Clinical Genetics**, v. 86, n. 5, p. 487–491, 2014.

EWART, A. K. *et al.* Hemizyosity at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome. **Nature genetics**, v. 5, n. 1, p. 11–16, 1993.

- EWART, A. K. *et al.* Supravalvular aortic stenosis associated with a deletion disrupting the elastin gene. **Journal of Clinical Investigation**, v. 93, n. 3, p. 1071–1077, 1994.
- FAZEKAS, D. *et al.* SignaLink 2 – a signaling pathway resource with multi-layered regulatory networks. **BMC Systems Biology**, v. 7, n. 7, p. 1-15, 2013.
- FRANK, E.; HALL, M. A.; WITTEN, I. H. **The WEKA Workbench**. Online Appendix for "Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques". 4. ed. [S.l.]: Morgan Kaufmann, 2016, 128p.
- FERRERO, G. B. *et al.* Presenting phenotype and clinical evaluation in a cohort of 22 Williams-Beuren syndrome patients. **European Journal of Medical Genetics**, v. 50, n. 5, p. 327–337, 2007.
- FERRERO, G. B. *et al.* An atypical 7q11.23 deletion in a normal IQ Williams-Beuren syndrome patient. **European journal of human genetic**, v. 18, n. 1, p. 33, 2010.
- FUSCO, C. *et al.* Smaller and larger deletions of the Williams Beuren syndrome region implicate genes involved in mild facial phenotype, epilepsy and autistic traits. **European Journal of Human Genetics**, v. 22, n. 1, p. 64–70, 2014.
- GHAFFARI, M. *et al.* Genotype-phenotype correlation and the size of microdeletion or microduplication of 7q11.23 region in patients with Williams-Beuren syndrome. **Annals of human genetics**, v. 82, n. 6, p. 469–476, 2018.
- GAO, M. C. *et al.* Intelligence in williams syndrome is related to *STX1A*, which encodes a component of the presynaptic SNARE complex. **PLoS ONE**, v. 5, n. 4, p. 3–10, 2010.
- GARCIA, R. E. *et al.* Idiopathic Hypercalcemia and Supravalvular Aortic Stenosis. **New England Journal of medicine**, v. 271, n. 3, p. 117–120, 1964.
- GENETICS Home Reference. Noncoding DNA. US National Library of medicine. Disponível em: <<https://ghr.nlm.nih.gov/primer/basics/noncodingdna>>. Acesso em: 2020.
- GIJSBERS, A. C. J.; SCHOUmans, J.; RUIVENKAMP, C. A. L. Interpretation of array comparative genome hybridization data: A major challenge. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 135, n. 3–4, p. 222–227, 2011.
- GILLENtINE, M. A. *et al.* An estimation of the prevalence of genomic disorders using chromosomal microarray data. **Journal of Human Genetics**, v.63, p.795-801, 2018.
- GIRARD, A. *et al.* A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. **Nature**, v. 442, n. 7099, p. 199–202, 2006.
- GOH, K. I. *et al.* The human disease network. **PNAS**, v. 104, n. 21, p. 8685-8690, 2007.

- GOLDENBERG, P. An update on common chromosome microdeletion and microduplication syndromes. **Pediatric Annals**, v. 47, n. 5, p. e198–203, 2018.
- GREENBERG, F. Williams syndrome professional symposium. **American Journal of Medical Genetics**, v. 37, n. S6, p. 85–88, 1990.
- GREGORY, M. D. *et al.* Williams syndrome hemideletion and *LIMK1* variation both affect dorsal stream functional connectivity. **Brain**, v. 142, n. 12, p. 3963, 2019.
- GU, S.; SAURO, H. Standards, Platforms and Applications. *In*: EILS, R.; KRIETE, A. **Computational systems biology**. From molecular mechanisms to disease. 2. ed. [S. l.]: Academic Press, 2013. p. 133-172.
- GUENAT, D. *et al.* DNA damage response defect in Williams-Beuren syndrome. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 39, n. 3, p. 622–628, 2017.
- GUTSCHNER, T.; DIEDERICH, S. The hallmarks of cancer: A long non-coding RNA point of view. **RNA Biology**, v. 9, n. 6, p. 703–719, 2012.
- HAAG, S.; KRETSCHMER, J.; BOHNSACK, M. T. WBSCR22/Merm1 is required for late nuclear pre-ribosomal RNA processing and mediates N7-methylation of G1639 in human 18S rRNA. **RNA**, v. 21, n. 2, p. 180, 2015.
- HAAS, B. W.; SMITH, A. K. Oxytocin, vasopressin, and Williams syndrome: Epigenetic effects on abnormal social behavior. **Frontiers in Genetics**, v. 6, n. 28, 2015.
- HAERI, M.; GELOWANI, V.; BEAUDET, A. L. Chromosomal microarrayanalysis, or comparative genomic hybridization: A high throughput approach. **MethodsX**, v. 3, p. 8–18, 2015.
- HALL, M. *et al.* The WEKA Data Mining Software: An Update. **ACM SIGKDD Explorations Newsletter**, v.11, n.1, p. 10-18, 2008.
- HALLIDIE-SMITH, K. A.; KARAS, S. Cardiac anomalies in Williams-Beuren syndrome. **Archives of disease in childhood**, v. 63, n. 7, p. 809–13, 1988.
- HAO, T. *et al.* Reconstruction and Application of Protein–Protein Interaction Network. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 6, p. 1-18, 2016.
- HEFZI, H.; PALSSON, B. O.; LEWIS, N. E. Reconstruction os genome-scale metabolic networks. *In*: WALHOUT, A. J. M.; VIDAL, M.; DEKKER, J. **Handbook of Systems Biology**. [S.l.]: Academic Press, 2013. p.229-250.

HEYWORTH, P. G.; NOACK, D.; CROSS, A. R. Identification of a novel NCF-1 (p47-phox) pseudogene not containing the signature GT deletion: Significance for A47° chronic granulomatous disease carrier detection. **Blood**, v. 100, n. 5, p. 1845–1851, 2002.

HOBART, H. H. *et al.* Inversion of the Williams syndrome region is a common polymorphism found more frequently in parentes of children with Williams syndrome. **American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics**, v. 154, n. 2, p. 220–228, 2010.

HOLME, P.; ZHAO, J. Exploring the assortativity-clustering space of a network's degree sequence. **Physical Review**, v. 78, p. 046111.1- 046111.10, 2007.

HONJO, R. S. *et al.* Williams-Beuren Syndrome: A Clinical Study of 55 Brazilian Patients and the Diagnostic Use of MLPA. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-6, 2015.

HOOGENRAAD, C. C. *et al.* Targeted mutation of Cyln2 in the Williams syndrome critical region links CLIP-115 haploinsufficiency to neurodevelopmental abnormalities in mice. **Nature Genetics**, v. 32, n. 1, p. 116–127, 2002.

HUANG, G. *et al.* WBSCR16 Is a Guanine Nucleotide Exchange Factor Important for Mitochondrial Fusion. **Cell Reports**, v. 20, n. 4, p. 923–934, 2017.

HUSSEIN, I. R. *et al.* Genome wide array-CGH and qPCR analysis for the identification of genome defects in Williams' syndrome patients in Saudi Arabia. **Molecular Cytogenetics**, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2016.

INOUE, K.; LUPSKI, J. R. Molecular mechanisms for genomic disorders. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 3, p. 199–242, 2002.

JAEGER, S.; ALOY, P. From protein interaction networks to novel therapeutic strategies. **IUBMB Life**, v.64, n.6, p.529-537, 2012.

JIAO, Y. *et al.* Improved maize reference genome with single-molecule technologies. **Nature**, v. 546, n. 7659, p. 524–527, 2017.

JONES, K. L.; SMITH, D. W. The Williams elfin facies syndrome. A new perspective. **The Journal of Pediatrics**, v. 86, n. 5, p. 718–723, 1975.

JUNKER, B. H.; SCHREIBER, F. **Analysis of Biological Networks**. 1. ed. [S.l.]: Wiley-Interscience, 2008, 346p.

KALTENBACH, L. S. *et al.* Huntingtin Interacting Proteins Are Genetic Modifiers of Neurodegeneration. **Plos Genetics**, v. 3, n. 5, p. 689-708.

KAMADA, T.; KAWAI, S. An algorithm for drawing general undirected graphs. **Information Processing Letters**, v. 31, n. 1, p. 7–15, 1989.

- KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n.1, p. 27-30, 2000.
- KANEHISA, M. *et al.* Toward understanding the origin and evolution of cellular organisms. **Protein Science**, v. 28, n. 11, p. 1947-1951, 2019.
- KAPRANOV, P. *et al.* RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. **Science**, v. 316, n. 5830, p. 1484–1488, 2007.
- KAROLCHIK, D. The UCSC Table Browser data retrieval tool. **Nucleic Acids Research**, v.32. p. D493-D496, 2004.
- KEARNEY, H. M. *et al.* American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. **Genetics in medicine**, v. 13, n. 7, p. 680–685, 2011.
- KENT, W.J. The human genome browser at UCSC. **Genome Res.**, v.12, n.6, p.996-1006, 2002.
- KIM, Y.M. *et al.* Endocrine dysfunctions in children with Williams-Beuren syndrome. **Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism**, v. 21, n. 1, p. 15, 2016.
- KIMURA, R. *et al.* Integrative network analysis reveals biological pathways associated with Williams syndrome. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 60, n. 5, p. 585-598, 2019.
- KITAGAWA, H. *et al.* Williams syndrome is na epigenome-regulator disease. **Endocrine journal**, v. 58, n. 2, p. 77–85, 2011.
- KITANO, H. Systems biology: a brief overview. **Science**, v. 295, n. 5560, p. 1662–1664, 2002.
- KITANO, H. The Standard Graphical Notation for Biological Networks. p. 1-20, 2002.
- KOLACZYK, E. D.; CSÁRDI, G. Statistical Analysis of Network Data with R. 2014. ed. [S.l.]: Springer, 2014, 207p.
- KOPP, N. D. *et al.* Exome sequencing of 85 Williams–Beuren syndrome cases rules out coding variation as a major contributor to remaining variance in social behavior. **Molecular Genetics and Genomic Medicine**, v 6 n. 5, p. 749-765, 2018.
- KOPP, N. D. *et al.* Functions of Gtf2i and Gtf2ird1 in the developing brain: transcription, DNA binding and long-term behavioral consequences. **Human Molecular Genetics**, v. 29, n. 9, p. 1498, 2020.
- KORENBERG, J. R. *et al.* VI Genome structure and cognitive map of Williams syndrome. **Journal of cognitive neuroscience**, v. 12, n.suppl 1, p. 89–107, 2000.

KOZEL, B. A. *et al.* Williams syndrome. **Nature Reviews Disease Primers**, 2021.

KOZEL, B. A. *et al.* Williams syndrome predisposes to vascular stiffness modified by antihypertensive use and copy number changes in NCF1. **Hypertension**, v. 63, n. 1, p. 74–79, 2014.

KOZLOWSKI, P.; JASINSKA, A. J.; KWIATKOWSKI, D. J. New applications and developments in the use of multiplex ligation-dependent probe amplification. **Electrophoresis**, v. 29, n. 23, p. 4627–36, 2008.

KRISHNAN, P.; DAMARAJU, S. piRNAs in the pathophysiology of disease and potential clinical applications. *In*: MALLICK, B. **AGO-Driven Non-Coding RNAs**. 1. ed, [S. l.]: Academic Press, 2019. p. 335-356.

KUO, H. T. *et al.* Chromosomal Microarray Analysis in Taiwanese Patients with Williams-Beuren Syndrome. **Cytogenetic and genome research**, v. 159, n. 4, p. 182–189, 2019.

KRUSZKA, P. *et al.* Williams–Beuren syndrome in diverse populations. **American Journal of Medical Genetics**, v.176, n5, p.1128-1136, 2018.

LALLI, M. A. *et al.* Haploinsufficiency of *BAZ1B* contributes to Williams syndrome through transcriptional dysregulation of neurodevelopmental pathways. n. 805, p. 1–38, 2016.

LAU, N. C. *et al.* Characterization of the piRNA complex from rat testes. **Science**, v. 313, n. 5785, p. 363–367, 2006.

LAURITO, S. *et al.* Detection of a Williams Beuren syndrome case by MLPA. **Medicina**, v. 73, n. 1, p. 47–50, 2013.

LEE, I. *et al.* Prioritizing candidate disease genes by network-based boosting of genome-wide association data. **Genome Research**, v.21, n.7, p.1109-1121, 2011

LEE, J.A.; GAO, F.B. Neuronal Functions of ESCRTs. **Experimental Neurobiology**, v. 21, n. 1, p. 9–15, 2012.

LELIS DUTRA, R. *et al.* Detection of deletions at 7q11.23 in Williams-Beuren syndrome by polymorphic markers. **Clinics**, v. 66, n. 6, p. 959–964, 2011.

LEME, D. E. S. *et al.* Assessment of clinical scoring systems for the diagnosis of Williams-Beuren syndrome. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 3, p. 3407-3411, 2013.

LETAVERNIER, E. *et al.* Williams-Beuren syndrome hypercalcemia: Is TRPC3 a novel mediator in calcium homeostasis? **Pediatrics**, v. 129, n. 6, p. 162-1630, 2012.

- LEVY-SHRAGA, Y. *et al.* Endocrine manifestations in children with Williams-Beuren syndrome. **Acta Paediatrica**, v. 107, n. 4, p. 678–684, 2018.
- LEYFER, O. T. *et al.* Prevalence of psychiatric disorders in 4 to 16-year-olds with Williams syndrome. **American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 141, n. 6, p. 615–622, 2006.
- LI, L. *et al.* Differing Microdeletion Sizes and Breakpoints in Chromosome 7q11.23 in Williams-Beuren Syndrome Detected by Chromosomal Microarray Analysis. **Molecular Syndromology**, v. 6, n. 6, p. 268–275, 2016.
- LIU, Z. *et al.* RegNetwork: An integrated database of transcriptional and post-transcriptional regulatory networks in human and mouse. **Database**, v. 2015, p. 1-12, 2015.
- LIPTON, J. O.; SAHIN, M. The Neurology of mTOR. **Neuron**, v. 84, n. 2, p. 275-291, 2014.
- LITWACK, G. Nucleic Acids and Molecular Genetics. In: LITWACK, G. **Human Biochemistry**. 1. ed. [S.l.]: Academic Press, 2018. p.257-317.
- LOWERY, M. C. *et al.* Strong correlation of elastin deletions, detected by FISH, with Williams syndrome: evaluation of 235 patients. **American journal of human genetics**, v. 57, n. 1, p. 49–53, 1995.
- LUCENA, J. *et al.* Essential role of the N-terminal region of TFII-I in viability and behavior. **BMC Medical Genetics**, v. 11, p.1-10, 2010.
- LUMAKA, A. *et al.* Facial dysmorphism is influenced by ethnic background of the patient and of the evaluator. **Clinical Genetics**, v. 92, n. 2, p. 166–171, 2017.
- LUPSKI, J. R. Genomic disorder syndrome. **Genome medicine**, v. 1, n. 4, p. 42, 2009.
- MA'AYAN, A. Introduction to network analysis in systems biology. **Science Signaling**, v.4, n.190, p. tr5, 2011.
- MARCUS, F. B. Systems Biology. In: MARCUS, F. B. **Bioinformatics and Systems Biology**. 2008 ed. [S.l.]: Springer, 2008. p. 53-83.
- MARIASINA, S. *et al.* NMR assignments of the WBSCR27 protein related to Williams-Beuren syndrome. **Biomolecular NMR assignments**, v. 12, n. 2, p. 303–308, 2018.
- MARIASINA, S. *et al.* Williams-Beuren syndrome-related methyltransferase WBSCR27: cofactor binding and cleavage. **The FEBS journal**, v. 287, n. 24, p. 5375–5393, 2020.
- MARSHALL, C. R. *et al.* Infantile spasms is associated with deletion of the *MAGI2* gene on chromosome 7q11.23-q21.11. **American journal of human genetics**, v. 83, n. 1, p. 106–11, 2008.

MASSON, J. *et al.* Molecular investigation, using chromosomal microarray and whole exome sequencing, of six patients affected by Williams Beuren syndrome and Autism Spectrum Disorder. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 14, n. 1, 2019.

MATSUMOTO, N.; KITANI, R.; KALINEC, F. Linking *LIMK1* deficiency to hyperacusis and progressive hearing loss in individuals with Williams syndrome. **Communicative & integrative biology**, v. 4, n. 2, p. 208–10, 2011.

MATTICK, J. S. The genetic signatures of noncoding RNAs. **PLoS Genetics**, v. 5, n. 4, 2009.

MEJHERT, N. *et al.* Partitioning of MLX-Family Transcription Factors to Lipid Droplets Regulates Metabolic Gene Expression. **Molecular cell**, v. 77, n. 6, p. 1251, 2020.

MENG, X. *et al.* A novel human gene *FKBP6* is deleted in Williams syndrome. **Genomics**, v. 52, n. 2, p. 130–7, 1998.

MEOLA, N.; GENNARINO, V.; BANFI, S. microRNAs and genetic diseases. **Patho Genetics**, v. 2, n. 1, p. 7, 2009.

MERLA, G. *et al.* Copy number variants at Williams-Beuren syndrome 7q11.23 region. **Human Genetics**, v. 128, n. 1, p. 3–26, 2010.

MERLA, G. *et al.* Identification of additional transcripts in the Williams-Beuren syndrome critical region. **Human genetics**, v. 110, n. 5, p. 429–438, 2002.

METCALFE, K. *et al.* Autosomal dominant inheritance of Williams-Beuren syndrome in a father and son with haploinsufficiency for FKBP6. **Clinical dysmorphology**, v. 14, n. 2, p. 61–65, 2005.

MICALE, L. *et al.* Williams–Beurensyndrome *TRIM50* encodes an E3 ubiquitin ligase. **European journal of human genetics**, v. 16, n. 9, p. 1038, 2008.

MONTEIRO, R. A. C. *et al.* Major Contribution of Genomic Copy Number Variation in Syndromic Congenital Heart Disease: The Use of MLPA as the First Genetic Test. **Molecular Syndromology**, v. 8, n. 5, p. 227–235, 2017.

MORRIS, C. A. *et al.* Supravalvular aortic stenosis cosegregates with a familial 6; 7 translocation which disrupts the elastin gene. **American journal of medical genetics**, v. 46, n. 6, p. 737–44, 1993a.

MORRIS, C. A. *et al.* Natural history of Williams syndrome: physical characteristics. **The Journal of pediatrics**, v. 113, n. 2, p. 318–26, 1988.

MORRIS, C. A. Williams Syndrome. In: PAGON, R.A.; ADAM, M.P.; ARDINGER, H.H., *et al.* **Gene Review® [Internet]**. [S.l. : s.n.], 2017.

MORRIS, C. A.; BRADDOCK, S. Health Care Supervision for Children With Williams Syndrome. **Pediatrics**, v. 145, n. 2, 2020.

MORRIS, C. A.; MERVIS, C. B. William Syndrome and Related Disorders. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 1, p. 461–84, 2000.

MORRIS, C. A.; MERVIS, C. B. Williams syndrome. *In*: GOLDSTEIN S.; REYNOLDS, C.R. **Handbook of neurodevelopmental and genetic disorders in children**. 1. ed. [S.l.]: The Guilford Press, 1999. p. 555–590.

MORRIS, C. A.; THOMAS, I. T.; GREENBERG, F. Williams syndrome: autosomal dominant inheritance. **American jornal of medical genetics**, v. 47, n. 4, p. 478–81, 1993b.

MUSTACCHI, Z.; CARAKUSHANSKY, G. Anamnese, Exame Clínico Dirigido e Parâmetros Antropométricos dos Desvios Fenotípicos. *In*: MUSTACCHI, Z.; PERES, S. **Genética baseada em evidências - síndromes e heranças**. [S.l.]: Cid Editora, 2000. p. 103–186.

NIKITINA, E. A. *et al.* Williams syndrome as a model for elucidation of the pathway genes – the Brain – cognitive functions: Genetics and Epigenetics. **Acta naturae**, v. 6, n. 1, p. 9–22, 2014.

NOBLE, D. Claude Bernard, the first systems biologist, and the future of physiology. **Experimental physiology**, v. 93, n. 1, p. 16–26, 2008.

NOVÈRE, N. L. *et al.* The systems biology graphical notation. **Nature Biotechnology**, v. 27, n. 8, p. 735–741, 2009.

NUSSBAUM, R.; MCINNES, R.; WILLARD, H. Padrões de herança monogênica. *In*: THOMPSON & THOMPSON: **Genética Médica**. 6. ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2002. p. 44–68.

O'DRISCOLL, M. *et al.* Cellular and clinical impact of haploinsufficiency for genes involved in ATR signaling. **American jornal of human genetics**, v. 81, n. 1, p. 77–86, 2007.

OLSON, T. M. *et al.* A 30 kb deletion with in the elastin gene results in familial supravalvular aortic stenosis. **Human molecular genetics**, v. 4, n. 9, p. 1677–1679, 1995.

ÖNER, Ç. Two diferente mechanisms of two different non-coding RNAs – MicroRNAs and PIWI-interacting RNAs: From origin to cancer. *In*: MALLICK, B. **AGO-Driven Non-Coding RNAs**. 1. ed, [S. l.]: Academic Press, 2019. p. 3-34.

ONLINE Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD), 2018. World Wide Web URL: <https://omim.org>.

OSBORNE, L. R. *et al.* A 1.5 million-base pair inversion polymorphism in families with Williams-Beuren syndrome. **Nature Genetics**, v. 29, n. 3, p. 321–5, 2001.

OSBORNE, L. R. Animal models of Williams syndrome. **Am J Med Genet**, v. 154C, n. 2, p. 209–219, 2010.

OWENS, E. A. *et al.* Elastin insufficiency causes hypertension, structural defects and abnormal remodeling of renal vascular signaling. **Kidney International**, v. 92, n. 5, p. 1100–1118, 2017.

PALACIOS-REYES, C. *et al.* Williams neural stem cells new model for insight into microRNA dysregulation. **Frontiers in Bioscience**, v. 5, n. 3, p. 1057–1073, 2013.

PALACIOS-VERDÚ, M. G. *et al.* Metabolic abnormalities in Williams-Beuren syndrome. **Journal of Medical Genetics**, v. 52, n. 4, p. 248–255, 2015.

PALMER, S. J. *et al.* *GTF2IRD2* from the Williams-Beuren critical region encodes a mobile-element-derived fusion protein that antagonizes the action of its related Family members. **Journal of cell science**, v. 125, n. 21, p. 5040–50, 2012.

PARRISH, P. C. R. *et al.* Whole exome sequencing in patients with Williams–Beuren syndrome followed by disease modeling in mice points to four novel pathways that may modify stenosis risk. **Human Molecular Genetics**, v. 29, n. 12, p. 2035–2050, 2020.

PARTSCH, C. J. *et al.* Central precocious puberty in girls with Williams syndrome. **Journal of Pediatrics**, v. 141, n. 3, p. 441–444, 2002.

PAVLOPOULOS, G. A. *et al.* Using graph theory to analyze biological networks. **BioData mining**, v. 4, n. 10, 2011.

PÉREZ JURADO, L. A. *et al.* *TBL2*, a novel transducin family member in the WBS deletion: characterization of the complete sequence, genomic structure, transcriptional variants and the mouse ortholog. **Cytogenetics and cell genetics**, v. 86, n. 3–4, p. 277–84, 1999.

PÉREZ JURADO, L. A. Williams-Beuren syndrome: A model of recurrent genomic mutation. **Hormone Research**, v. 59, n. sup. 1, p. 106–113, 2003.

PÉREZ-GARCÍA, D. *et al.* Behavioral profiles of children with Williams syndrome from Spain and the United States: Cross-cultural similarities and differences. **American Journal on Intellectual and Developmental Disabilities**, v. 122, n. 2, p. 156–172, 2017.

PHIZICKY, E. M.; FIELDS, S. Protein-protein interactions: methods for detection and analysis. **Microbiological Reviews**, v. 59, n. 1, p. 94–123, 1995.

PLAJA, A. *et al.* A Novel Recurrent Breakpoint Responsible for Rearrangements in the Williams-Beuren Region. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 146, n. 3, p. 181–186, 2015.

- POBER, B. R. *et al.* High Prevalence of Diabetes and Pre-Diabetes in Adults With Williams. **American Journal of Medical Genetics**, v. 154, n. 2, p. 291–298, 2010a.
- POBER, B. R. Williams–Beuren Syndrome. **The New England Journal of medicine**, v. 362, p. 239–252, 2010b.
- POPP, B. *et al.* Do the exome: A case of Williams-Beuren syndrome with severe epilepsy due to a truncating de novo variant in *GABRA1*. **European Journal of Medical Genetics**, v. 59, n. 10, p. 549–553, 2016.
- PORTER, M. A.; DODD, H.; CAIRNS, D. Psychopathological and behavior impairments in williams-beuren syndrome: The influence of gender, chronological age, and cognition. **Child Neuropsychology**, v. 15, n. 4, p. 359–374, 2009.
- PRAJAPATI, R.; EMERSON, I. A. Gene Prioritization in Parkinson’s Disease Using Human Protein–Protein Interaction Network. **Journal Of Computational Biology**, v. 27, n. 0, p. 1–12, 2020.
- QURESHI, I. A.; MEHLER, M. F. Emerging roles of non-coding RNAs in brain evolution, development, plasticity and disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v.13, n.8 p.528–541, 2012.
- RAMAN, K. Construction and analysis of protein–protein interaction networks. **Automated Experimentation**, v. 2, p. 1–11, 2010.
- RAMÍREZ-VELAZCO, A. *et al.* Williams–Beuren syndrome in Mexican patients confirmed by FISH and assessed by aCGH. **Journal of Genetics**, v. 98, n. 2, p. 1–7, 2019.
- RAMOCKI, M. B. *et al.* Recurrent distal 7q11.23 deletion including *HIP1* and *YWHAG* identified in patients with intellectual disabilities, epilepsy, and neuro behavioral problems. **American journal of human genetics**, v. 87, n. 6, p. 857–65, 2010.
- REDON, R. *et al.* Global variation in copy number in the human genome. **Nature**, v. 444, n. 7118, p. 444–454, 2009.
- RIEGEL, M. Human molecular cytogenetics: From cells to nucleotides. **Genetics and molecular biology**, v. 37, n. 1 Suppl, p. 194–209, 2014.
- ROESLER, J. *et al.* Recombination events between the p47-phox gene and its highly homologous pseudogenes are the main cause of autosomal recessive chronic granulomatous disease. **Blood**, v. 95, n. 6, p. 2150–6, 2000.
- ROLLAND, T. *et al.* A proteome-scale map of the human interactome network. **Cell**, v. 159, n. 5, p. 1212–1226, 2014.

ROYSTON, R.; WAITE, J.; HOWLIN, P. Williams syndrome: recente advances in our understanding of cognitive, social and psychological functioning. **Current opinion in psychiatry**, v. 32, n. 2, p. 60–66, 2019.

SADLER, L. S. *et al.* Differences by sex in cardiovascular disease in Williams syndrome. **Journal of Pediatrics**, v. 139, n. 6, p. 849–853, 2001.

SADLER, L. S. *et al.* The Williams syndrome: Evidence for possible autosomal dominant inheritance. **American Journal of Medical Genetics**, v. 47, n. 4, p. 468–470, 1993.

SAKAI, Y. *et al.* Protein interactome reveals converging molecular pathways among autism disorders. **Science Translational Medicine**, v. 3, n. 86, p. 86ra49.1-86ra49.17, 2011.

SALTA, E.; DE STROOPER, B. Non-coding RNAs with essential roles in neurodegenerative disorders. **The Lancet Neurology**, v. 11, n. 2, p. 189–200, 2012.

SAMMOUR, Z. *et al.* Congenital genitourinary abnormalities in children with Williams-Beuren syndrome. **Journal of pediatric urology**, v. 10, n. 5, p. 804–809, 2014.

SAVINA, N. *et al.* Chromosomal instability at the 7q11.23 region impacts on DNA-damage response in lymphocytes from Williams-Beuren syndrome patients. **Mutation research**, v. 724, n. 1–2, p. 46–51, 2011.

SCHOENROCK, A. *et al.* Evolution of protein-protein interaction networks in yeast. **PloS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1-21, 2017.

SCHOUTEN, J. P. *et al.* Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. **Nucleic acids research**, v. 30, n. 12, p. 57, 2002.

SCHRATT, G. M. *et al.* A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. **Nature**, v. 439, n. 7074, p. 283–289, 2006.

SCHUBERT, C. The genomic basis of the Williams – Beuren syndrome. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, n. 7, p. 1178–1197, 2009.

SCHUBERT, C.; LACCONE, F. Williams-Beuren syndrome: Determination of deletion size using quantitative real-time PCR. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 18, n. 5, p. 799–806, 2006.

SCUTARI, M.; DENIS, JB. Bayesian Networks with examples in R. 2^a ed., **Chapman and Hall/CRC**. 2015.

SERRANO-JUÁREZ, C. *et al.* An Exploration of Social Cognition in Children with Different Degrees of Genetic Deletion in Williams Syndrome. **Journal of autism and developmental disorders**, v. 51, n. 5, p. 1695–1704, 2021.

SHANNON, P. *et al.* Cytoscape: A software Environment for integrated models of biomolecular interaction networks. **Genome Research**, v. 13, n. 11, p. 2498-2504, 2003.

SIEGEL, G.; SABA, R.; SCHRATT, G. MicroRNAs in neurons: Manifold regulatory roles at the synapse. **Current Opinion in Genetics and Development**, v. 21, n.4, p.491-497, 2011.

SOUKUP, D. *et al.* Genetic Diagnostic Elucidation of a Patient With Multiorgan Granulomas, Facial Peculiarities, and Psychomotor Retardation. **Frontiers in Genetics**, v. 9, p. 355, 2018.

SRIROOPREDDY, R. *et al.* Differentially expressed gene (DEG) based protein-protein interaction (PPI) network identifies a spectrum of gene interactome, transcriptome and correlated miRNA in nondisjunction Down syndrome. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 1080-1089, 2019.

STANKIEWICZ, P.; LUPSKI, J. R. Structural variation in the human genome and its role in disease. **Annual Review of Medicine**, v. 61, p. 437–455, 2010.

STARK, C. BioGRID: a general repository for interaction datasets. **Nucleic Acids Research**, v.34, p.535-539, 2006.

STEUER, R.; LÓPEZ, G. Z. Global network properties. *In*: JUNKER, B. H.; SCHREIBER, F. **Analysis of Biological Networks**. 1. ed. [S.l.]: Wiley-Interscience, 2008. p. 31-63.

STRACHAN, TOM; READ, A. R. **Genética Molecular Humana**. 4. ed. [S.l.]: Artmed, 2012. p. 255–296.

STROMME, P.; BJORNSTAD, P. G.; RAMSTAD, K. Prevalence estimation of Williams syndrome. **Journal of child neurology**, v. 17, n. 4, p. 269–71, 2002.

STRONG, E. *et al.* Symmetrical Dose-Dependent DNA-Methylation Profiles in Children with Deletion or Duplication of 7q11.23. **American Journal of Human Genetics**, v. 97, n. 2, p. 216-227, 2015.

STUMPF, M. P. H.; BALDING, D. J.; GIROLAMI, M. **Handbook of Statistical Systems Biology**. 1. ed. [S.l.]: Wiley, 2011. 495p.

SUGAYAMA, S. M. M. *et al.* Williams Syndrome: development of a new scoring system for clinical diagnosis. **Clinics**, v. 62, n. 2, p. 159–166, 2007.

SUGAYAMA, S. M. M. *et al.* Síndrome de Williams-Beuren. Anomalias cardiovasculares em 20 pacientes diagnosticados pela hibridização in situ por fluorescência. **Arq Bras Cardiol**, v. 81, n. 5, p. 462–467, 2003.

SUPEK, F. *et al.* Revigo summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. **PLoS ONE**, v. 6, n.7, p. 21800 1-9, 2011.

SZAFLIK, K. *et al.* Severe Congenital Obstruction of the Left Main Coronary Artery Coexisting With Supravalvular Aortic Stenosis in Williams Syndrome. **World Journal for Pediatric and Congenital Heart Surgery**, v. 7, n. 2, p. 216–219, 2016.

TABATABAI, M. *et al.* An introduction to new robust linear and monotonic correlation coefficients. **BMC Bioinformatics**, v. 22, n. 1, p. 170, 2021.

TANDON, D. *et al.* Homozygosity for mobile element insertions associated with *WBSCR17* could predict success in assistance dog training programs. **Genes**, v. 10, n. 6, p. 439.1-439.14, 2019.

TASSABEHJI, M. *et al.* *GTF2IRD1* in craniofacial development of humans and mice. **Science**, v. 310, n. 5751, p. 1184–1187, 2005.

TASSABEHJI, M. *et al.* Elastin: genomic structure and point mutations in patients with supravalvular aortic stenosis. **Human Molecular Genetics**, v. 6, n. 7, p. 1029-1036, 1997.

TAYLOR, I. W.; WRANA, J. L. Protein interaction networks in medicine and disease. **Proteomics**, v. 12, n. 10, p. 1706-1716, 2012.

TEBBENKAMP, A. T. N. *et al.* The 7q11.23 Protein DNAJC30 is an Auxiliary Component of ATP Synthase and Links Mitochondria to Brain Development. **Cell**, v. 175, n. 4, p. 1088-1104, 2018.

TORDJMAN, S. *et al.* Autistic Disorder in Patients with Williams-Beuren Syndrome: A Reconsideration of the Williams-Beuren Syndrome Phenotype. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. e30778.1-e30778.8, 2012.

TSUKUMO, Y. *et al.* *TBL2* Is a Novel PERK-Binding Protein that Modulates Stress-Signaling and Cell Survival during Endoplasmic Reticulum Stress. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. e112761.1-e112761.11, 2014.

TURNPENNY, P. D.; ELLARD, S. Alagille syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. **European Journal of Human Genetics**, v. 20, n. 3, p. 251–257, 2012.

TZETIS, M. *et al.* The clinical utility of molecular karyotyping using high-resolution array-comparative genomic hybridization. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v. 12, n. 5, p. 449-457, 2012.

UEHARA, T. *et al.* The Tumor Suppressor *BCL7B* Functions in the Wnt Signaling Pathway. **PLoS Genetics**, v. 11, n. 1, p. e1004921.1- e1004921.19, 2015.

UNIPROT CONSORTIUM T. UniProt: the universal protein knowledgebase. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. 5, p. 2699, 2018.

VAN DER BOM, T. *et al.* The changing epidemiology of congenital heart disease. **Nature Reviews Cardiology**, v.8, n.1, p. 50-60, 2011.

VAN HAGEN, J. M. *et al.* Comparing Two Diagnostic Laboratory Tests for Williams Syndrome: Fluorescent *In Situ* Hybridization versus Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification. **Genetic Testing**, v. 11, n. 3, p. 321–327, 2007.

VAN LEEUWEN, J. *et al.* Exploring genetic suppression interactions on a global scale. **Science**, v. 354, n. 6312, p. aag0839.1-aag0839.11, 2016.

VAUX, K. K. *et al.* Vocal cord abnormalities in Williams syndrome: A further manifestation of elastin deficiency. **American Journal of Medical Genetics**, v. 119A, n. 3, p. 302–304, 2003.

VELLEMAN, S. L.; MERVIS, C. B. Children With 7q11.23 Duplication Syndrome: Speech, Language, Cognitive, and Behavioral Characteristics and Their Implications for Intervention. **Perspectives on Language Learning and Education**, v. 18, n. 3, p. 108-116, 2011.

VEMUGANTI, R. All's well that transcribes well: Non-coding RNAs and post-stroke brain damage. **Neurochemistry International**, v. 63, n. 5, p. 438-449, 2013.

VERES, D. *et al.* ComPPI: A cellular compartment-specific database for protein-protein interaction network analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. D1, p. 485-493, 2015.

VONHOLDT, B. M. *et al.* Structural variants in genes associated with human Williams-Beuren syndrome underlie stereotypical hypersociability in domestic dogs. **Science Advances**, v. 3, n. 7, p. e1700398.1- e1700398.12, 2017.

WATSON, C.T. *et al.* The Genetics of Microdeletion and Microduplication Syndromes: An Update. **Annual Reviews Genomics Hum Genet**, v. 15, p. 215-244, 2014.

WALHOUT, A. J. M.; VIDAL, M.; DEKKER, J. **Handbook of Systems Biology**. [S.l.]: Academic Press, 2013, 538p.

WEI, L. *et al.* Rapid recruitment of *BRCA1* to DNA double-strand breaks is dependent on its association with Ku80. **Molecular and Cellular Biology**, v. 28, n. 24, p. 7380-7393, 2008.

WESSEL, A. *et al.* Risk of sudden death in the Williams-Beuren syndrome. **American Journal of Medical Genetics**, v. 127A, n. 3, p. 234–237, 2004.

WHO. Anthro for personal computers, version 3.2.2, 2011: Software for assessing growth and development of the world's children. Geneva: WHO, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/childgrowth/software/en/>>.

- WILLIAMS, J.; BARRATT-BOYES, B.; LOWE, J. Supravalvular aortic stenosis. **Circulation**, v. 24, p. 1311-1318, 1961.
- WILLIAMS, Z. *et al.* Discovery and Characterization of piRNAs in the Human Fetal Ovary. **Cell Reports**, v. 13, n. 4, p. 854–863, 2015.
- WONG, M. Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Pathways in Neurological Diseases. **Biomedical journal**, v. 36, n. 2, p. 40–50, 2013.
- XU, F. *et al.* Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. **Cell&Bioscience**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020.
- YAO, D. *et al.* Physical growth and development characteristics of children with Williams syndrome aged 0–24 months in Zhejiang Province. **Journal Pediatr Endocrinol Metab**, v.32, n. 3, p. 233-237, 2019.
- YUAN, J. *et al.* Computational identification of piRNA targets on mouse mRNAs. **Bioinformatics**, v. 32, n. 8, p. 1170–1177, 2016.
- YUAN, S.M. Congenital heart defects in Williams syndrome. **Turkish Journal of Pediatrics**, v. 59, n. 3, p. 225–232, 2017.
- ZABLAH, Y.B. *et al.* LIM-Kinases in Synaptic Plasticity, Memory, and BrainDiseases. **Cells**, v. 10, n. 8, p. 2079.1-2079.24, 2021.
- ZANELLA, M. *et al.* Dosage analysis of the 7q11.23 Williams region identifies *BAZ1B* as a major human gene patterning the modern human face and underlying self-domestication. **Science Advances**, v. 5, n. 12, p. 1-15, 2019.
- ZOU, Z. *et al.* MTOR signaling pathway and mTOR inhibitors in cancer: Progress and challenges. **Cell and Bioscience**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.
- ZHANG, P.; ITAN, Y. Biological Network Approaches and Applications in Rare Disease Studies. **Genes**, v. 10, n. 10, p. 1-15, 2019.
- ZHANG, T. *et al.* Cognitive deficits in mice lacking Nsun5, a cytosine-5 RNA methyltransferase, with impairment of oligodendrocyte precursor cells. **Glia**, v. 67, n. 4, p. 688–702, 2019.
- ZHAO, C. *et al.* Hippocampal and visuospatial learning defects in mice with a deletion of frizzled 9, a gene in the Williams syndrome deletion interval. **Development**, v. 132, n. 12, p. 2917–2927, 2005.
- ZHUKOVA, N.; NAQVI, A. Williams-Beuren Syndrome and Burkitt Leukemia. **Journal of pediatric hematology/oncology**, v. 35, n. 1, p.e30-e32, 2013.

ANEXOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Investigação de microdeleções/microduplicações em indivíduos com hipótese diagnóstica da síndrome de Williams-Beuren

Pesquisador: Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 2

CAAE: 68865117.6.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.177.521

Apresentação do Projeto:

Título da Pesquisa: Investigação de microdeleções/microduplicações em indivíduos com hipótese diagnóstica da síndrome de Williams-Beuren. Pesquisadora Responsável: Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo.

Membros da equipe de pesquisa: Priscila Medeiros; ROBERTA MACHADO DE OLIVEIRA FROTA

CURADO; BRUNO FAULIN GAMBA; Nádia Aparecida Bérnago; Elisângela de Paula Silveira Lacerda.

A deleção hemizigótica de aproximadamente 1,5Mb a 1,8Mb da região do cromossomo 7 (7q11.23) acarreta em uma doença de perfil genético raro e multissistêmico denominada síndrome de Williams-Beuren (SWB). Faces típicas, doenças cardíacas congênitas, alterações do tecido conjuntivo combinados com déficit de aprendizado e crescimento, personalidade e perfil cognitivo característicos representam o conjunto de sinais clínicos que

caracteriza a SWB. A etiologia genética compreende uma região de genes de cópia única, com 28 genes, ligadas a duas regiões repetitivas (LCR – Low Copy Repeats). O diagnóstico padrão, dado pela técnica de citogenética molecular FISH (hibridização in situ por fluorescência), pode não detectar o principal gene envolvido na síndrome (ELN) e com isso mascarar o diagnóstico. Dessa forma, técnicas de citogenética molecular com maior poder de resolução, como amplificação

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.177.521

multiplex de sondas dependentes de ligação (MLPA) e microarranjos de alta densidade, tem sido realizadas com intuito de detectar alterações genéticas complexas bem como verificar o tamanho das possíveis deleções/duplicações em 7q11. Em vista disso, esse trabalho pretende analisar variações genéticas em indivíduos com hipótese diagnóstica da SWB, provenientes da Associação Goiania da síndrome de Williams -Beuren, utilizando as técnicas de MLPA e de microarranjos de alta densidade para investigar microdeleções/duplicações e ponto de quebra nesses indivíduos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Realizar o diagnóstico genético de indivíduos com hipótese diagnóstica da SWB.

Objetivo Secundário:

- Utilizar a técnica de cariotipagem para a investigação cromossômica nos indivíduos com suspeita clínica de SWB.
- Utilizar a técnica de MLPA para a investigação de microdeleções/duplicações nos indivíduos com suspeita clínica de SWB.
- Utilizar a técnica de CMA para a investigação de microdeleções/duplicações nos indivíduos com suspeita clínica de SWB os quais não apresentem alterações detectadas pela técnica de MLPA e verificar o ponto de quebra nos casos que apresentem alterações no MLPA.
- Correlacioná-las a fenótipos em bancos de dados público como DVG, DECIPHER, UCSC dentre outros

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Relatam que:

"A coleta de dados não implica riscos ao indivíduo e o sigilo será preservado assim como seu consentimento, respeitando a Declaração de Helsinki. A coleta de sangue poderá causar uma mancha roxa no local, sem nenhum agravamento, que deverá desaparecer naturalmente em 3 a 5 dias. Todo material utilizado na coleta é estéril e descartável. A equipe que realizará o projeto se responsabilizará em cumprir dentro das mais estreitas regras éticas a condução do trabalho.

Benefícios – aos indivíduos analisados: Os participantes da AGSW com suspeita de diagnóstico de SWB poderão ser beneficiados com as análises citogenética e molecular, uma vez que a identificação do diagnóstico específico permite se ter um melhor conhecimento a respeito do

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



curso natural da doença e, assim, orientar as famílias que pertencem a Associação.

Benefícios – a comunidade científica: a presente proposta possibilitará a formação e o treinamento de profissionais envolvidos com genética humana em diferentes especialidades, que atuam na UFG, e poderão futuramente atuar nesse campo na saúde pública. Assim, a comunidade que utiliza os serviços de saúde pública será beneficiada com os conhecimentos obtidos."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Participarão 15 indivíduos com hipótese diagnóstica da SWB. Serão recrutados pela Associação Goiana da Síndrome de Williams (AGSW) onde serão atendidos por um médico especialista que coletará exames subsidiários, além da descrição clínica dos pacientes. Só serão incluídos no trabalho os indivíduos ou responsáveis que autorizarem a participação no estudo mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Após anamnese, serão coletados 5 mL de sangue periférico que serão destinados às análises genéticas.

O estudo não implicará em riscos relevantes aos participantes.

CITOGENÉTICA. Linfócitos do sangue periférico das amostras coletadas serão cultivados de acordo com o protocolo de Moorhead et al. (1960). Os passos do cultivo e alterações feitas ao protocolo original estão descritas a seguir: As células (500l de sangue) serão cultivadas em duplicatas (frasco A e B), em 80% de meio RPMI 1640 (Gibco), suplementados com estreptomicina (Sigma 0,01mg/ml) e penicilina (Sigma 0,005mg/ml), 20% de soro bovino fetal (Gibco) e 0,1% de feto-hemaglutinina (Gibco), perfazendo um total de 5ml. As culturas serão incubadas a 37°C por 72 horas. Ao término do prazo foi adicionado colchicina (0,4g/ml, Sigma) para a obtenção de células em metáfase, com tempo de ação de 40 minutos a 37°C. Em seguida, as culturas de linfócitos serão transferidas para tubos e centrifugadas a 800 rpm por 8 minutos. O sobrenadante será desprezado, ao precipitado de células 5ml de solução hipotônica (KCl 0,075M, Merk) será adicionado e incubados a 37°C por 20 minutos. Após esse período, 1ml de solução fixadora (metanol/ácido acético, Merk) será incorporada na proporção de 3:1. O material será homogeneizado com o uso da pipeta de "Pasteur". Esta suspensão será novamente centrifugada a 800 rpm por 8 minutos e o sobrenadante descartado. Esse procedimento será repetido com a solução fixadora até que o material ficasse transparente, repetida por cerca de três vezes, a cada ciclo adiciona-se 5ml de solução fixadora. No último ciclo adiciona-se 1ml de fixador ao precipitado de células. As lâminas contendo as metáfases para análise serão submetidas aos procedimentos de bandamento GTG, segundo um protocolo modificado de Scheres (1972). Estas serão submersas

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.177.521

por 5 a 10 segundos em solução de tripsina 1:250 (0,1% Gibco) pré-aquecida a 37°C e lavadas com água destilada. A seguir, as lâminas serão coradas com solução contendo 1ml de Giemsa (Merck) e 30ml de tampão fosfato de Sorensen (0,06M pH 6,8) por 3 minutos, lavadas em água corrente e secas a temperatura ambiente. Onze metáfases serão analisadas por paciente.

AMPLIFICAÇÃO MULTIPLEX DE SONDAS DEPENDENTES DE LIGAÇÃO (MLPA) O método de MLPA será realizado no Laboratório de Genética Molecular e Citogenética (LGMC) do Instituto de Ciências Biológicas da UFG, em Goiânia (GO). A técnica de MLPA será realizada segundo o protocolo original descrito por Schouten et al. (2002). Através da hibridação de sondas específicas e amplificação por PCR, esta técnica permite a identificação do número de cópias de uma dada sequência de DNA. Essas sondas apresentam dois segmentos complementares às sequências-alvo de DNA.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de rosto devidamente assinada.
- Termo de compromisso dos pesquisadores envolvidos.
- Termo de anuência da Associação Goiana de Síndrome de Williams.
- TCLE destinado aos pais/responsáveis autorizando a participação do(a) filho(a).
- TALE corrigido

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise dos documentos postados somos favoráveis à aprovação do presente protocolo de pesquisa, smj deste Comitê.

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para agosto de 2020.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.177.521

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_925680.pdf	13/07/2017 18:49:03		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_SW_corrigido.pdf	13/07/2017 18:48:06	Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Sindrome_Williams_corrigido.pdf	13/07/2017 18:41:35	Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	carta_resposta.pdf	13/07/2017 16:14:24	Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_compromisso_priscila.pdf	25/05/2017 21:28:29	Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termo_compromisso.pdf	25/05/2017 21:28:09	Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termo_anuencia_SW.pdf	25/05/2017 21:27:38	Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_SWB.pdf	25/05/2017 21:26:25	Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_SWB.pdf	25/05/2017 21:25:58	Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 18 de Julho de 2017

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com

ANEXO II



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Genética

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezados pais

Vocês estão sendo convidados a participarem de uma pesquisa a ser conduzida pelos pesquisadores Priscila Medeiros, Bruno Faulin Gamba, Nádia Aparecida Bérghamo, Roberta Frota Curado, sob a coordenação da Profa. Lucilene Arilho Ribeiro Bicudo, ICB1-UFG (telefones 62-35211927, 62-982269566).

O estudo a ser realizado se chama **“Investigação de microdeleções/duplicações em indivíduos com hipótese diagnóstica da Síndrome de Williams-Beuren.”**. Nesta pesquisa estudaremos os cromossomos e o DNA em busca de alterações no material genético que poderiam causar a doença presente no seu filho (a).

As células do nosso corpo contêm um tipo de molécula chamada DNA. DNA é a substância da qual nossos cromossomos e genes são feitos. Pesquisas com DNA envolvem o estudo de mudanças que são herdadas (passadas adiante pelas famílias). Alguns genes que são herdados podem afetar a possibilidade de uma pessoa desenvolver doenças. Estudando as mudanças genéticas os pesquisadores esperam poder compreender as causas da doença e desenvolver novas maneiras de prevenir, detectar e realizar consultoria genética apropriada. Se você concordar em permitir os testes genéticos os pesquisadores poderão examinar o material genético do seu filho (a) e compara-lo com a informação clínica. No presente estudo procuraremos por alterações nos cromossomos e DNA que possam estar associadas a doença. Utilizaremos aproximadamente 5 mL de sangue (uma colher de sopa), que será coletado no Laboratório de Genética Humana e Medica da UFG, localizado no ICB1 da UFG, campus II, por profissional especializado. A coleta de sangue poderá causar uma mancha roxa no local, sem nenhum agravamento, que deverá desaparecer naturalmente em 3 a 5 dias. Todo material utilizado na coleta é estéril e descartável. Nessa amostra de sangue analisaremos os cromossomos e também faremos a extração do DNA para analisá-lo. Esses procedimentos serão realizados no Laboratório de Genética Humana e Medica. Se durante esse período de coleta você desistir de participar da pesquisa, você poderá solicitar a devolução das amostras

biológicas que não foram processadas. Sua desistência será formalizada e valerá a partir da data que você a solicitou.

Os dados do seu filho (a) serão identificados por código e as informações obtidas na triagem do estudo serão guardadas sob sigilo e poderão ser publicadas em relatórios científicos, sem identificação. A participação é voluntária. Não haverá qualquer valor monetário ou gratificações por ter participado da pesquisa e poderá em qualquer momento deixar a pesquisa sem qualquer consequência para seu filho (a). Seu filho (a) poderá ser beneficiado com esses estudos, uma vez que o conhecimento específico da doença permite se ter uma melhor compreensão a respeito do curso natural da mesma.

Se sobrar algum material biológico, este material ficará guardado por um período aproximado de cinco anos, em condições ideais, a -80°C . Durante esse período, novos métodos de análise poderão surgir para ajudar no diagnóstico genético da sua doença, caso ainda não tenha sido diagnosticado. Se isso acontecer, um novo TCLE será apresentado a você e, se você concordar em participar dessa nova etapa de análise, as amostras do seu filho (a) serão utilizadas para este fim.

Se por acaso houver transferência do seu material biológico armazenado, você será avisado. Se durante a pesquisa acontecer alguma coisa com o material biológico, como por exemplo, perda ou a destruição da sua amostra, você será informado. Por fim, se o Biorrepositorio (local onde as amostras biológicas ficam armazenadas) for encerrado, você também será informado.

Apesar de serem mínimos os riscos na participação dessa pesquisa, se algum dano ocorrer em função desse estudo, garantiremos assistência imediata e gratuita pelo tempo necessário. Se em algum momento durante esta pesquisa você se sentir lesado de alguma forma, poderá solicitar indenização.

Uma via original deste Termo ficará com você, onde constam os telefones do pesquisador responsável que esclarecerá qualquer dúvida que ocorrer durante a pesquisa (a ligação pode ser a cobrar). Todas as páginas do referido termo deverão ser rubricadas. O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFG situado na Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, com o telefone de contato (62) 3521-1215, tem por função garantir a integralidade do participante na pesquisa e fazer valer os princípios éticos dentro das pesquisas que envolvem seres humanos, seguindo as normativas estabelecidas pela Resolução CNS 466/2012.



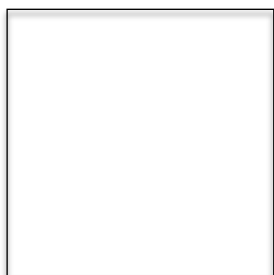
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, RG _____ abaixo assinado, informo que fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) sobre a pesquisa e os procedimentos nela envolvidos. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento.

Goiânia, _____ de _____ de 2017.

Participante

Visto do pesquisador



AUTORIZAÇÃO PARA USO DE IMAGEM

Pelo presente instrumento particular, Eu _____,
CPF: _____ , RG: _____ , Órgão Expedidor: _____,
Residente à _____
Responsável por _____
CPF: _____ , RG: _____ , Órgão Expedidor: _____,
doravante denominada LICENCIANTE, e a Associação Goiana da Síndrome de Williams –
AGSW, doravante denominada LICENCIADA, têm entre si junto e acertado o que se segue:

1. A LICENCIANTE autoriza a LICENCIADA a utilizar a imagem de: _____
_____, a qualquer momento, em Site, CD, DVD, painel de
fotografia, filmagem, jornal, revista e outros meios de divulgação em que o assunto seja da AGSW
ou sobre a Síndrome de Williams.
2. A LICENCIADA é uma Associação Civil de Direito Privado, sem fins lucrativos, fundada em
abril de 2016.
3. A LICENCIADA não responderá pelos direitos autorais de quem captou a imagem, sempre que a
fixação desta tenha sido especialmente feita para os fins desta autorização.

_____, ____ de _____ de _____.

LICENCIANTE _____
Assinatura do responsável

LICENCIADA _____
Assinatura responsável AGSW

ANEXO IV

NOME:

SAG:

CARACTERÍSTICAS DA SWB
CARACTERÍSTICAS GERAIS
Sexo
Idade Gestacional (semanas)
Peso RN
Comprimento RN
Idade ao 1º atendimento
DN
Motivo da Consulta
Estatura
Peso
PC
EVOLUÇÃO
Atraso DNPM / DM
Hipotonia
Sociabilidade Excessiva
Hiperatividade
Loquacidade
Voz grave
Hiperacusia
Deficiência de crescimento
Dificuldade Alimentar
Vômitos
Constipação Intestinal
Hérnia inguinal e/ou umbilical
Problemas cardíacos (especificar)
Problemas respiratórios (especificar)
Otites de Repetição
Problemas renais
Hipertensão arterial
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS
Microcefalia
Fronte Alargada
Orelhas grandes em abano
Edema periorbital
Estrabismo
Íris estrelada
Ponte nasal baixa
Filtro nasal longo
Boca de carpa
Lábio inferior grosso
Anomalias dentárias especifiquem
Bochechas proeminentes
Micrognatismo
Hipoplasia ungueal
Hipercalcemia

Data: ____/____/____

ANEXO V

Tabela V1. Características clínicas dos pacientes provenientes da Associação Goiânia da síndrome de Williams (AGSW) (n = 14).

CARACTERÍSTICAS GERAIS	CASOS				
	164	165	167	169	174
Sexo	F	F	M	M	F
Idade gestacional (semanas)	39	35	38	41	39
Peso – RN (kg)	2.460	2.296	2.850	4.150	2.500
Comprimento – RN (cm)	47	44	48	58	43
Idade ao 1º atendimento	21	7	14	8	10
DN	05/06/95	16/12/09	02/12/01	20/05/89	28/11/06
Motivo da consulta	Validação	NR	Suspeita	Validação	Suspeita
Estatura (m)	1.50	1.23	1.68	1.71	1.26
Peso (kg)	43.35	22.9	47.30	100.30	22.5
PC (cm)	51	51.5	52.2	58	49
EVOLUÇÃO					
ADNPM	+	+	+	+	+
Hipotonia	+	+	+	-	-
Sociabilidade excessiva	+	+	+	+	+
Hiperatividade	+	+	+	+	+
Loquacidade	NR	-	+	+	+
Voz grave	+	-	+	+	+
Hiperacusia	-	-	-	-	-
Déficit de crescimento	+	-	-	-	+
Dificuldade alimentar	+	+	+	-	-
Regurgitação	+	-	-	+	-
Constipação intestinal	-	-	+	+	-
Hérnia inguinal e/ou umbilical	-	-	+	+	-
Problemas cardíacos	+	-	+	+	+
Problemas respiratórios	+	+	+	-	+
Otites de repetição	+	-	+	-	-
Problemas renais	+	-	-	-	-
Hipertensão arterial	+	-	-	+	-

CARACTERÍSTICA FÍSICAS	CASOS				
	164	165	167	169	174
Microcefalia	+	-	+	-	+
Fronte alargada	-	+	+	+	-
Orelhas grandes	+	-	+	+	+
Edema periorbital	+	-	-	-	+
Estrabismo	+	-	-	NR	+
Íris estrelada	+	-	+	+	NR
Ponte nasal baixa	-	+	-	-	-
Filtro nasal longo	+	+	-	+	+
Boca larga	+	+	+	+	+
Lábio inferior grosso	+	+	+	+	+
Anomalias dentárias	-	+	+	+	+
Hipoplasia malar	+	+	+	+	+
Micrognatismo	-	+	+	+	+
Hipoplasia ungueal	+	-	-	-	+
Hipercalcemia	-	NR	+	-	NR
EXAMES COMPLEMENTARES					
Cariótipo de alta resolução	46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)
FISH	+	+	+	+	+
ESCORE*					
AAP	12	4	11	6	6

SAG: Identificação do paciente; M: Masculino; F: Feminino; RN: Recém-nascido; DN: Data de nascimento; PC: Perímetro cefálico; ADNPM: Atraso do desenvolvimento neuropsicomotor; +: Presença; -: Ausência; NR: Não relatado; 46,XX: Pacientes do sexo feminino; 46,XY: Pacientes do sexo masculino; *ish*: *in situ hybridization*; FISH: Hibridação *in situ* por fluorescência; AAP: *American Academy of Pediatrics*. *Referência: <3 :Diagnóstico duvidoso para SWB; ≥3: o FISH deve ser considerado – segundo AAP, 2001.

Tabela V1 – Características clínicas dos pacientes provenientes da AGSW (n = 14). (CONTINUAÇÃO)

CARACTERÍSTICAS GERAIS	CASOS				
	205	207	278	290	291
Sexo	M	F	M	M	F
Idade gestacional (semanas)	37	40	42	38	36
Peso – RN (kg)	2.750	2.440	2.550	2.950	2.550
Comprimento – RN (cm)	47	45	47	48	46
Idade ao 1º atendimento	6	2	5	0	13
DN	08/10/09	13/12/14	14/01/13	16/06/01	26/12/02
Motivo da consulta	Suspeita	Validação	Suspeita	NR	Validação
Estatura (m)	1.27	0.96	1.00	1.56	1.46
Peso (kg)	23.9	12	14	62	32
PC (cm)	53	47	48	57	52
EVOLUÇÃO					
ADNPM	+	+	+	+	-
Hipotonia	+	-	+	+	+
Sociabilidade excessiva	+	+	+	+	+
Hiperatividade	+	-	+	-	-
Loquacidade	+	+	+	+	+
Voz grave	-	+	+	+	+
Hiperacusia	+	+	+	+	+
Déficit de crescimento	-	-	+	+	+
Dificuldade alimentar	-	-	+	+	+
Regurgitação	+	-	-	+	+
Constipação intestinal	+	+	+	-	+
Hérnia inguinal e/ou umbilical	-	-	+	+	+
Problemas cardíacos	-	+	-	+	+
Problemas respiratórios	+	-	-	-	-
Otitis de repetição	+	-	+	+	-
Problemas renais	-	-	-	-	+
Hipertensão arterial	-	-	-	-	-

CARACTERÍSTICA FÍSICAS	CASOS				
	205	207	278	290	291
Microcefalia	-	+	+	-	+
Fronte alargada	+	+	+	+	+
Orelhas grandes	+	-	+	+	-
Edema periorbital	+	+	+	+	+
Estrabismo	-	-	-	+	+
Íris estrelada	-	-	NR	+	-
Ponte nasal baixa	+	+	+	-	-
Filtro nasal longo	+	+	+	+	-
Boca larga	+	+	+	+	-
Lábio inferior grosso	-	+	+	+	-
Anomalias dentárias	+	+	+	+	+
Hipoplasia malar	+	+	+	+	+
Micrognatismo	-	-	-	+	-
Hipoplasia ungueal	+	-	+	-	-
Hipercalcemia	-	-	-	-	-
EXAMES COMPLEMENTARES					
Cariótipo de alta resolução	46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN+)	46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)
FISH	-	+	+	+	+
ESCORE*					
AAP	6	5	6	16	3

SAG: Identificação do paciente; M: Masculino; F: Feminino; RN: Recém-nascido; DN: Data de nascimento; PC: Perímetro cefálico; ADNPM: Atraso do desenvolvimento neuropsicomotor; +: Presença; -: Ausência; NR: Não relatado; 46,XX: Pacientes do sexo feminino; 46,XY: Pacientes do sexo masculino; *ish*: *in situ hybridization*; FISH: Hibridação *in situ* por fluorescência; AAP: *American Academy of Pediatrics*. *Referência: < 3 :Diagnóstico duvidoso para SWB; ≥ 3: o FISH deve ser considerado – segundo AAP, 2001.

Tabela V1 – Características clínicas dos pacientes provenientes da AGSW (n = 14). (CONTINUAÇÃO)

CARACTERÍSTICAS GERAIS	CASOS			
	292	294	322	369
Sexo	F	M	M	F
Idade gestacional (semanas)	38	38	36	37
Peso – RN (kg)	2.850	3.150	3.950	2.150
Comprimento – RN (cm)	47	53	52	45
Idade ao 1º atendimento	1	1	16	2
DN	08/04/98	23/07/14	08/06/02	26/02/80
Motivo da consulta	Suspeita	Validação	Suspeita	Suspeita
Estatura (m)	1.55	0.95	1.73	1.57
Peso (kg)	46	13	54	90
PC (cm)	53	50	55	55
EVOLUÇÃO				
ADNPM	+	+	+	+
Hipotonia	-	+	+	+
Sociabilidade excessiva	+	+	+	+
Hiperatividade	+	-	-	+
Loquacidade	-	+	-	+
Voz grave	+	+	+	+
Hiperacusia	+	+	-	+
Déficit de crescimento	+	-	-	-
Dificuldade alimentar	+	-	-	+
Regurgitação	+	-	-	-
Constipação intestinal	+	-	+	+
Hérnia inguinal e/ou umbilical	+	-	-	-
Problemas cardíacos	+	+	+	+
Problemas respiratórios	-	-	-	+
Otites de repetição	-	-	+	-
Problemas renais	NR	-	-	-
Hipertensão arterail	-	-	+	-

CARACTERÍSTICA FÍSICAS	CASOS			
	292	294	322	369
Microcefalia	+	-	-	-
Fronte alargada	+	-	+	-
Orelhas grandes	+	-	-	-
Edema periorbital	+	+	+	+
Estrabismo	NR	-	+	-
Íris estrelada	NR	NR	NR	-
Ponte nasal baixa	-	+	-	-
Filtro nasal longo	+	+	+	+
Boca larga	+	+	+	-
Lábio inferior grosso	+	+	+	-
Anomalias dentárias	+	+	+	+
Hipoplasia malar	+	+	+	+
Micrognatismo	+	-	+	+
Hipoplasia ungueal	-	-	-	-
Hipercalcemia	NR	-	-	-
EXAMES COMPLEMENTARES				
Cariótipo de alta resolução	46,XX. <i>ish</i> del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XY. <i>ish</i> del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XY. <i>ish</i> del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)	46,XX. <i>ish</i> del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)
FISH	+	+	+	+
ESCORE*				
AAP	10	9	7	5

SAG: Identificação do paciente; M: Masculino; F: Feminino; RN: Recém-nascido; DN: Data de nascimento; PC: Perímetro cefálico; ADNPM: Atraso do desenvolvimento neuropsicomotor; +: Presença; -: Ausência; NR: Não relatado; 46,XX: Pacientes do sexo feminino; 46,XY: Pacientes do sexo masculino; *ish*: *in situ hybridization*; FISH: Hibridação *in situ* por fluorescência; AAP: *American Academy of Pediatrics*. *Referência: < 3: Diagnóstico duvidoso para SWB; ≥ 3: o FISH deve ser considerado – segundo AAP, 2001.

ANEXO VI

NOME		SAG	
------	--	-----	--

Academia Americana de Pediatria			
Crescimento			
	Pós-termo > 41 semanas	Constipação crônica	3 score = 1 ponto
	Cólica prolongada > 4 m irritabilidade	Vômitos ou refluxo gastroencefálico	
	Déficit de crescimento < p 5		
Comportamento e desenvolvimento			
	Personalidade amigável	Atraso de fala, excesso de fala	3 score = 1 ponto
	Problema visuo-espacial	Ansiedade	
	Hiperacusia	Deficiência mental	
Craniofacial			
	Estreitamento bitemporal	Sobrancelhas largas	8 score = 3 pontos
	Epicanto ou ponte nasal achatada	Estrabismo	
	Edema periorbitário	Íris de padrão estrelado	
	Nariz curto ou narinas antevertidas	Nariz bulboso	
	Hipoplasia malar	Bochechas proeminentes	
	Filtro longo	Lábios espessos	
	Dentes pequenos, espaçados	Má oclusão	
	Boca grande	Lóbulos da orelha proeminentes	
	Queixo pequeno		
Cardiopatias			
	Estenose aórtica supravulvar	Estenose artéria pulmonar periférica	1 score = 5 pontos
Outras cardiopatias			
	Hipertensão arterial	Sopro cardíaco	1 score = 1 ponto
	Outras		
Tecido conectivo			
	Voz rouca	Hérnia inguinal	2 score = 2 pontos
	Pescoço longo ou ombro caído	Limitação articular ou frouxidão	
	Divertículo de bexiga ou intestino	Prolapso retal	
Cálcio			
	Hipercalcemia	Hipercaciúria	1 score = 2 pontos
Achados adicionais			
	Diarreia	Sinostose radioulnar	
	Prega sacral	Cifose, escoliose ou lordose	
	Enurese	Úlcera gástrica	
	Hipotireoidismo		
TOTAL			

ANEXO VII

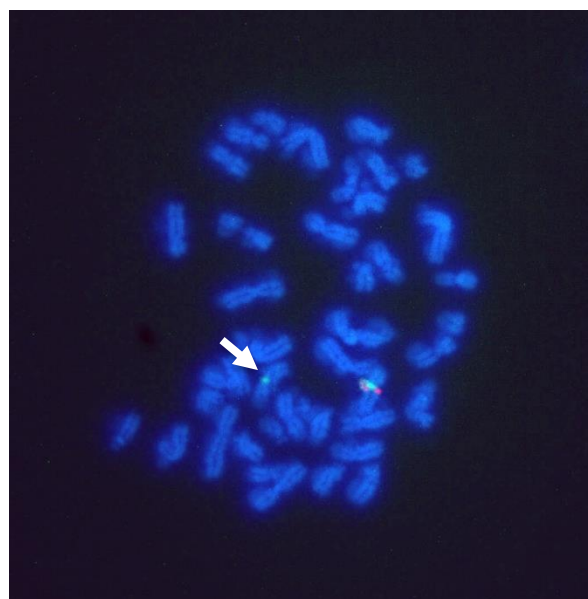
Descrições clínicas, análises citogenéticas por FISH e foto.

SAG164

Paciente do sexo feminino, filha de pais não consanguíneos. Nasceu a termo com 47 cm (percentil = 12,4) de comprimento e 2,460 kg ($p = 3,4$) de peso. Quando criança apresentou hipotonia, regurgitação e otites de repetição. No exame físico realizado aos 21 anos revelou uma estatura (1,50 m), peso (43,3 5kg) e perímetro cefálico (51 cm) abaixo do percentil 50 correspondendo à deficiência no crescimento, dificuldade em ganhar peso (sendo relatado também a dificuldade em se alimentar) e uma microcefalia relativa, respectivamente. Os sinais clínicos apontaram ADNPM, sociabilidade excessiva, hiperatividade, voz grave, estenose renal, problema cardíaco (EAP), dispneia e hipertensão (manifestado depois da adolescência). No exame dismorfológico revelou: orelhas grandes, edema periorbital, estrabismo, íris com padrão estrelado, boca larga, lábio inferior grosso e hipoplasia ungueal. Na AGSW a paciente foi submetida novamente à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)].



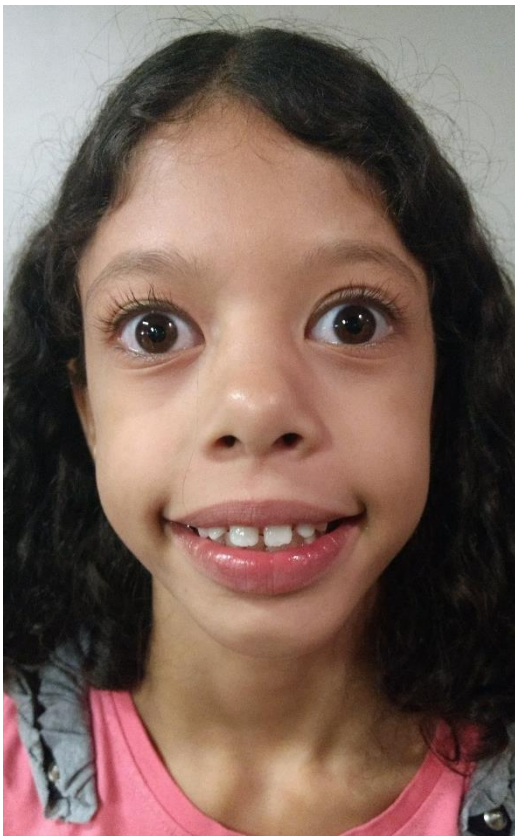
Paciente – SAG164



Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG165

Paciente do sexo feminino, 9 anos de idade. Nasceu a termo com 44 cm (percentil = 0,3) de comprimento e 2,296 kg ($p = 1,2$) de peso. Quando criança apresentou hipotonia. No exame físico realizado aos 7 anos revelou uma estatura de 1,23 m, peso (22,9 kg) e perímetro cefálico (51,5 cm) acima do percentil 50. Os sinais clínicos apontaram ADNPM, hypersociabilidade, loquacidade, dificuldade alimentar (embora possui peso acima da média) e dispneia. No exame dismorfológico revelou: fronte ampla, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca larga com lábio inferior volumoso, micrognatismo e distúrbio no desenvolvimento das estruturas dentárias. Na AGSW a paciente foi submetida à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)].



Paciente – SAG165



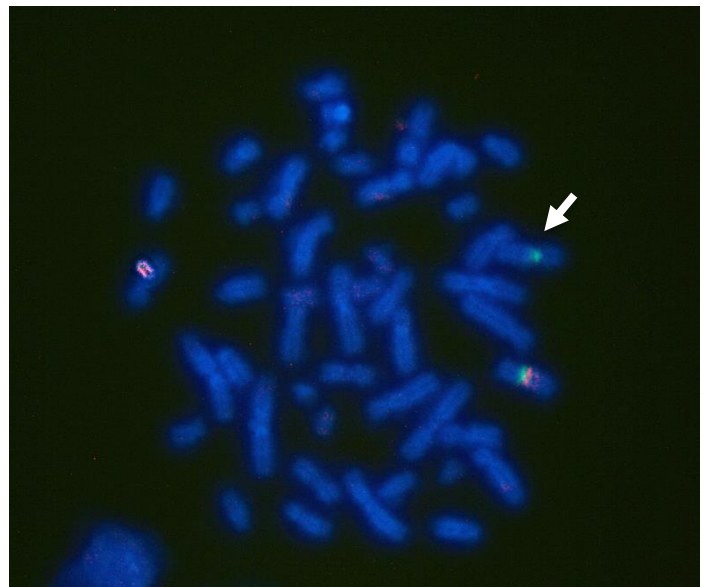
Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG167

Paciente do sexo masculino, segundo filho de pais não consanguíneos. Nasceu a termo com 48 cm (percentil = 16) de comprimento e 2,850 kg ($p = 14,2$) de peso. Andou e falou com 2 anos, evoluiu com atraso na aquisição de linguagem. Quando criança apresentou hipotonia, constipação intestinal e otites de repetição. No exame físico realizado aos 14 anos revelou uma estatura de 1,68 m ($p > 95$), peso 47,3 kg ($p > 95$) e 52,2 cm de PC ($p < 50$). Os sinais clínicos apontaram ADNPM, hipersociável, hiperatividade, voz rouca, dispneia, hérnia inguinal bilateral e EAP. No exame dismorfológico revelou: uma microcefalia relativa, fronte ampla, orelhas grandes com lóbulos proeminentes, íris estrelada, boca larga, lábio inferior volumoso, micrognatismo, hipercalcemia e anomalias dentárias. Na AGSW o paciente foi submetida novamente à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)].



Paciente – SAG167



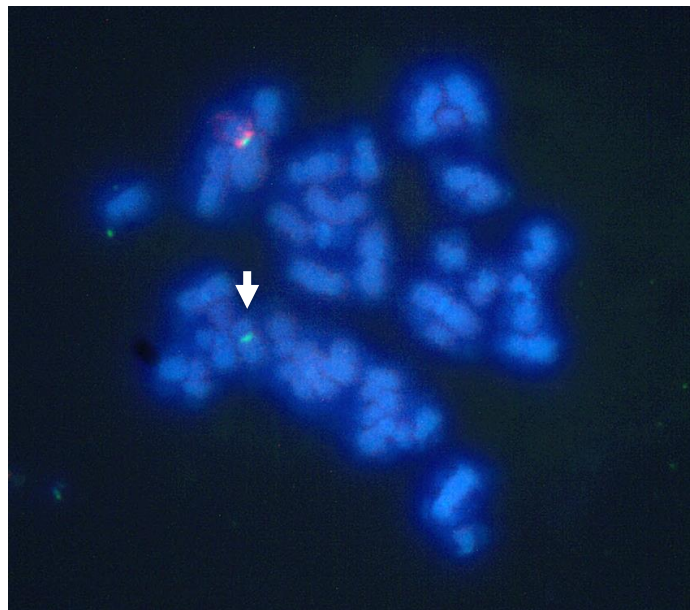
Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG169

Paciente do sexo masculino, primeiro filho de um casal não consanguíneo. Nasceu a termo com 58 cm (percentil > 97) de comprimento e 4,150 kg ($p = 93,7$) de peso. Andou com 1 ano e 6 meses e falou com 2 anos, evoluiu com atraso na aquisição de linguagem. Quando criança apresentou regurgitação e constipação intestinal. No exame físico realizado aos 27 anos revelou uma estatura de 1,71 m ($p > 50$), peso de 100,30 kg ($p > 95$) e PC de 58 cm ($p > 50$). Os sinais clínicos apontaram ADNPM, sociabilidade excessiva, hiperatividade, voz grave, loquacidade, hérnia inguinal bilateral, EASV, arritmia e hipertensão arterial. No exame dismorfológico relevou: fronte ampla, orelhas grandes, íris com padrão estrelado, filtro nasal longo, boca grande com lábio inferior grosso, alterações dentárias e micrognatismo. Na AGSW o paciente foi submetida novamente à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XY ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)]. A análise citogenômica identificou a deleção de segmento intersticial de 1,37 Mb do braço longo do cromossomo 7: arr[GRCh37] 7q11.23(72766313_74133332)x1.



Paciente – SAG169



Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG174

Paciente do sexo feminino, filha de pais não consanguíneos. Nasceu a termo com 43 cm (percentil < 3) de comprimento e 2,500 kg ($p = 4,2$) de peso. No exame físico realizado aos 11 anos revelou uma estatura de 1,26 m ($p < 5$), peso 22,05 kg ($p < 50$) e perímetro cefálico de 49 cm ($p < 5$). Os sinais clínicos apontaram ADNPM, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento e prolapso da válvula mitral. No exame dismorfológico revelou: orelhas grandes, inchaço ao redor dos olhos, estrabismo, filtro nasal longo, boca grande com lábio inferior volumoso, anomalias dentárias (não especificado), micrognatismo e desenvolvimento anormal das unhas. Na AGSW a paciente foi submetida novamente à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)]. A análise citogenômica identificou a deleção de segmento intersticial de 1,37 Mb do braço longo do cromossomo 7: arr[GRCh37] 7q11.23(72766313_74133332)x1.



Paciente – SAG174



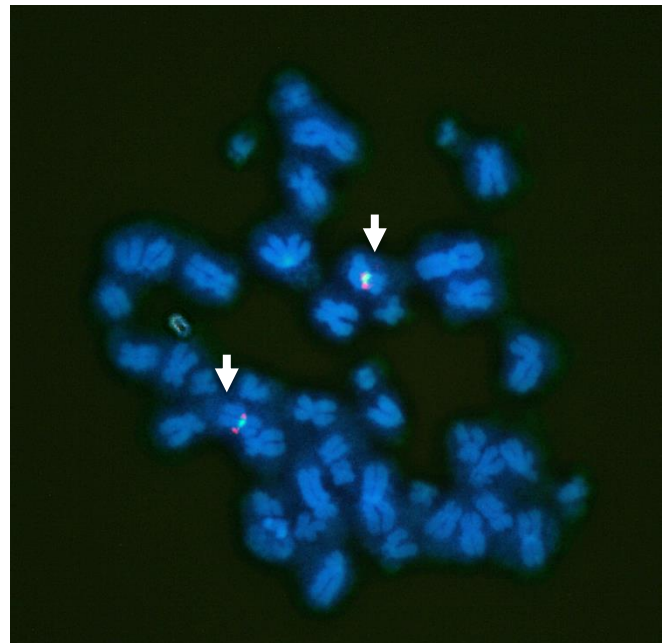
Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG205

Paciente do sexo masculino. Nasceu a termo com 47 cm (percentil = 6,4) de comprimento e 2,750 kg (p = 9,7) de peso. Andou com 1 ano e 6 meses e falou com 3 anos, evoluiu com atraso na aquisição de linguagem. Quando criança apresentou hipotonia, regurgitação e refluxos seguido de melhora, constipação e otites de repetição. No exame físico realizado aos 8 anos revelou uma estatura de 1,27 m (p > 50), 23,9 kg (p > 50) e 53 cm de PC (p > 95). Os sinais clínicos apontaram ADNPM, sociabilidade exagerada, loquacidade, hiperacusia e bronquite. No exame dismorfológico apontou: fronte alargada, orelhas grandes, leve edema no entorno dos olhos, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca larga, dentes pequenos e separados e hipoplasia ungueal. Apesar do perfil clínico ir ao encontro da SWB, a análise citogenética por FISH foi negativo, ou seja, o menor não apresentou deleção da região 7q11.23 pela técnica da FISH [46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN+)]. A investigação por CMA está em andamento. A análise citogenômica não detectou ganhos ou perdas de segmentos cromossômicos: arr (1-22)x2, (X,Y)x1.



Paciente – SAG205



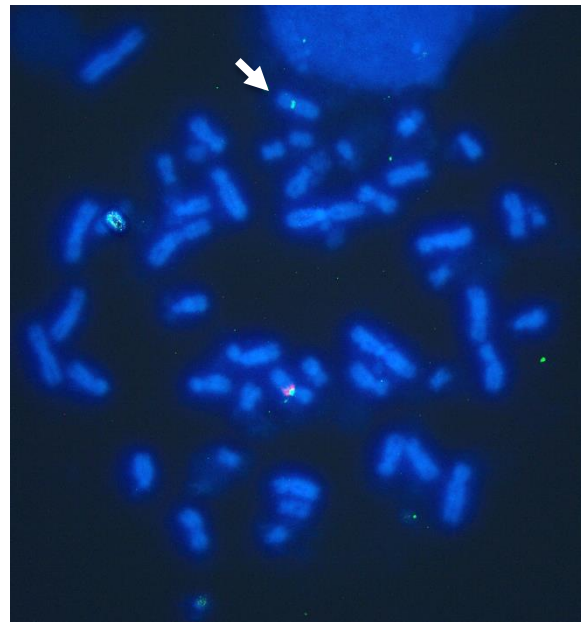
Metáfase em FISH mostrando a presença de dois sinais vermelhos nos dois cromossomos 7.

SAG207

Paciente do sexo feminino, segunda filha de casal saudável e não consanguíneo. Nasceu a termo com 45 cm (percentil = 1,3) de comprimento e 2,440 kg ($p = 3$). Andou com 2 anos e falou com 3 anos, evoluiu com atraso na aquisição de linguagem. Quando criança apresentou constipação. No exame físico realizado aos 3 anos revelou uma estatura de 96 cm ($p > 50$), peso 12 kg ($p > 50$) e perímetro cefálico de 47 cm ($p < 50$). Os sinais clínicos revelaram ADNPM, loquacidade, voz grave, sociabilidade excessiva, hiperacusia, hipotireoidismo, estenose leve do ramo pulmonar e da aorta e adenoide. No exame dismorfológico revelou: fronte ampla, edema periorbital, ponte nasal baixa, boca grande, lábio inferior grosso e anomalias dentárias (dentes pequenos e afastados). A técnica da FISH confirmou o resultado sendo positivo para a síndrome. Na AGSW a paciente foi submetida à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)]. A análise citogenômica identificou a deleção de segmento intersticial de 1,37 Mb do braço longo do cromossomo 7: arr[GRCh37]7q11.23(72766313_74133332)x1.



Paciente – SAG207



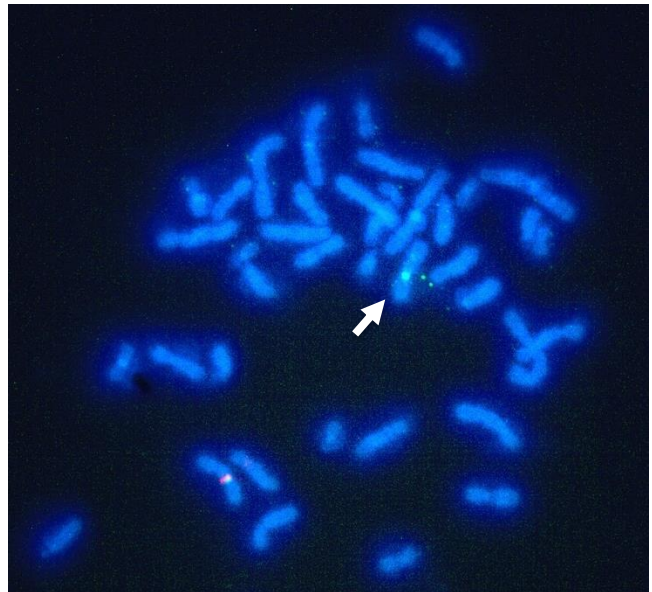
Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG278

Paciente sexo masculino. Nasceu pós-termo com 47 cm (percentil = 6,4) de comprimento e 2,550 kg (p = 3,8) de peso. Quando criança apresentou hipotonia, obstipação intestinal e otites de repetição. No exame físico realizado aos 5 anos revelou uma estatura de (1,00 m), peso (14 kg) e perímetro cefálico (48 cm) abaixo da média (p < 50) mostrando que o menor apresenta déficit de crescimento, microcefalia e dificuldade em ganhar peso visto que há dificuldade alimentar. Os sinais clínicos revelaram ADNPM (atraso na fala), hipersociabilidade, loquacidade, voz rouca, hiperacusia e hérnia inguinal. No exame dismorfológico revelou: fronte ampla, orelhas grandes, edema periorbital, ponte nasal baixa, filtro longo, boca larga, lábio inferior volumoso, anomalias dentárias e hipoplasia ungueal. Na AGSW o paciente foi submetida à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)].

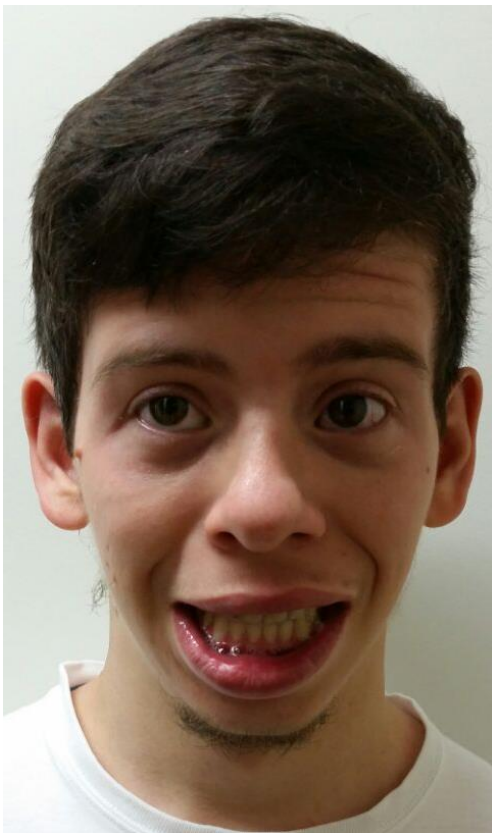


Paciente – SAG278



Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

Paciente do sexo masculino, segundo filho de casal não consanguíneo. Nasceu a termo com 48 cm (percentil = 16) de comprimento e 2,950 kg (p = 19,9) de peso. Quando criança apresentou hipotonia, regurgitação, otites de repetição e crises convulsivas de ausência. No exame físico revelou uma estatura de 1,56 m (p = 5), peso de 62 kg (p > 95) e perímetro cefálico de 57 cm (p > 95) dificuldade alimentar. Os sinais clínicos apontaram ADNPM, hypersociabilidade, ansiedade, voz grave, hiperacusia, deficiência de crescimento, hérnia umbilical e problemas cardíacos como EASV e EAP (já operado). No exame dismorfológico revelou: fronte ampla, orelhas grandes, edema periorbitário, íris com padrão de estrela, filtro nasal longo, boca grande, lábios volumosos (principalmente o inferior), má oclusão dental (dentes pequenos e espaçados) e micrognatismo. Análise genética, realizada em outro serviço (laudo abaixo), confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)].

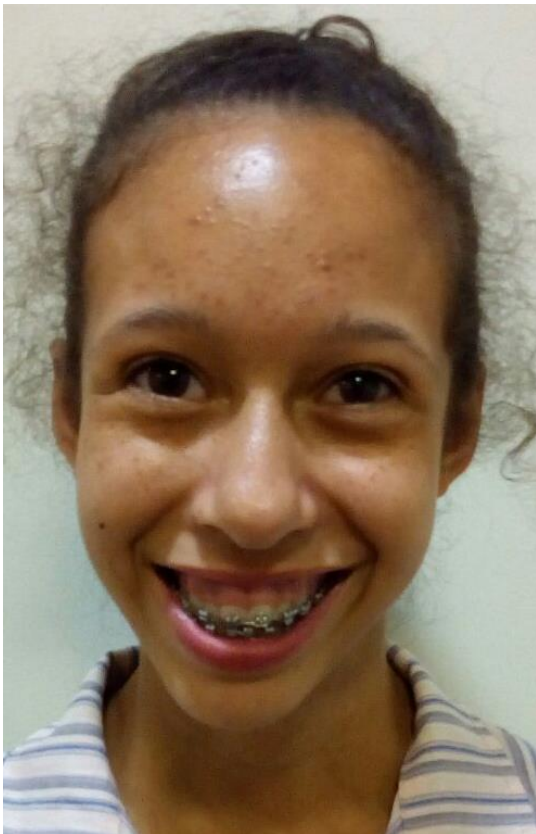


 HERMES PARDINI	End. Mariz R.Amoreis, 66 - Funcionários Belo Horizonte-MG CEP-30140-070 Telefone Geral/Acad.Domiciliar (31) 3228-6200	CNPJ: 15.378.789/0001-76 CNAE 204 - MG CNES 1.762116 RT - Kala Health Partners Ltda CREA 4356	
	Cliente: [REDACTED]		
Laboratório: CRER	Pedido: 6404973-CAL		
Resultado de Exames		Data Entrada: B.Hte., 28/09/2011	
MATERIAL - SANGUE FISH PARA SINDROME DE WILLIAMS		Wp. Pedido no Convênio: 83453 Data Impressão: 09/10/11 15:08	
[DATA DA COLETA : 28/09/2011 08:00] COLETA DE AMOSTRA NAO REALIZADA PELO INSTITUTO HERMES PARDINI METODO: HIBRIDIZACAO "IN SITU" FLUORESCENTE - (Metodologia in house) SONDAS: WILLIAMS-BEUREN SYNDROME REGION PROBE (7q11.23)			
R E S U L T A D O			
NUMERO DE CELULAS ANALISADAS: 200 CARIOTIPO: 46,XY,ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)			
OBSERVACAO: <u>FOI DETECTADA A PRESENÇA DA DELECAO 7q11.23.</u>			
VALOR DE REFERENCIA: AUSENCIA DA DELECAO 7q11.23. INTERPRETACAO: AUSENCIA DA DELECAO 7q11.23 NOS DOIS CROMOSSOMOS HOMOLOGOS. PRESENÇA DA DELECAO: PRESENÇA DA REGIAO 7q11.23 EM APENAS 1 DOS CROMOSSOMOS.			
NOTAS: - A ANALISE FOI REALIZADA POR 02 OBSERVADORES DIFERENTES. - SEGUIE PASTA COM FOTOS PELO CORREIO.			

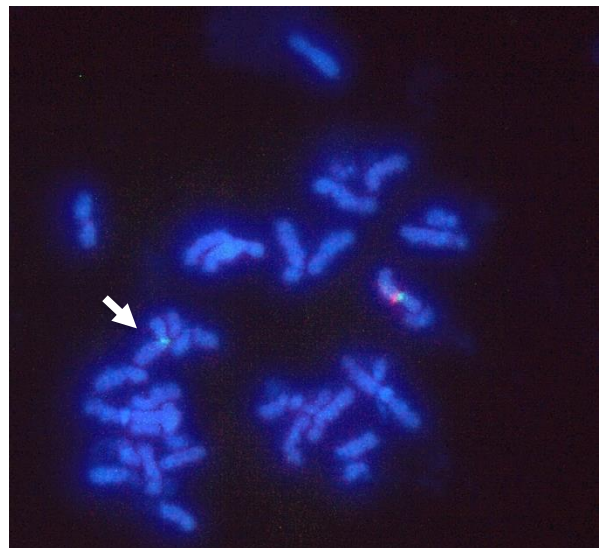
Laudo externo da técnica de FISH demonstrando presença da deleção 7q11.23 (presença da SWB).

SAG291

Paciente do sexo feminino. Nasceu a termo com 46 cm (percentil = 4,6) de comprimento e 2,550 kg ($p = 5,5$) de peso. Andou com 1 ano e 7 meses e falou com 2 anos. Quando criança apresentou hipotonia, regurgitação e constipação intestinal. No exame físico realizado aos 15 anos revelou uma estatura de 1,46 m ($p < 50$), peso de 32 kg ($p < 5$) e perímetro cefálico de 52 cm ($p < 50$). Os sinais clínicos revelaram loquacidade, voz grave, hiperacusia, sociabilidade exagerada, dificuldade alimentar, hérnia inguinal bilateral, prolapso da válvula mitral e rim pequeno. No exame dismorfológico revelou: microcefalia, osso frontal proeminente, edema periorbital, discreto estrabismo, anomalias dentárias (não especificados) e hipoplasia malar. Na AGSW a paciente foi submetida novamente à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)]. A análise citogenômica identificou a deleção de segmento intersticial de 1,37 Mb do braço longo do cromossomo 7: arr[GRCh37] 7q11.23(72766313_74133332)x1.



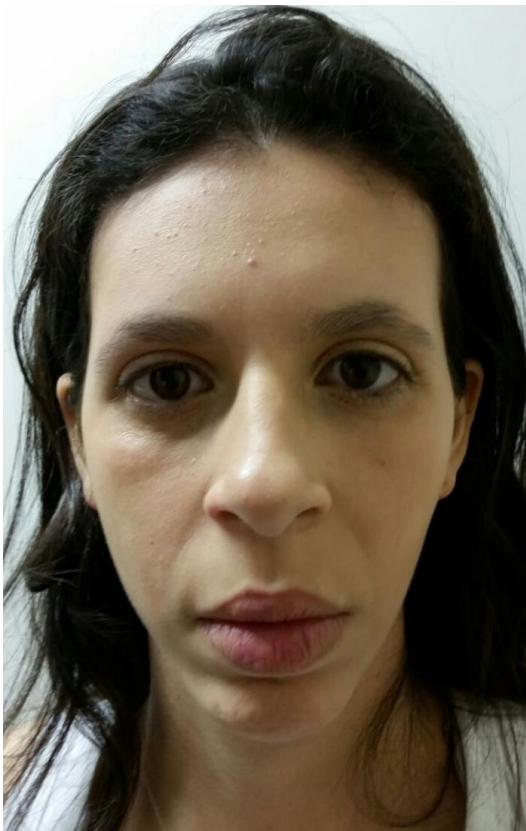
Paciente – SAG291



Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG292

Paciente do sexo feminino. Nasceu a termo com 47 cm (percentil = 12,4) de comprimento e 2,850 kg (p = 19,3) de peso. Quando criança apresentou regurgitação e constipação. No exame físico realizado aos 18 anos revelou estatura (1,55 m), peso (46 kg) e perímetro cefálico (53 cm) abaixo da média (p < 50) apontando déficit de crescimento, dificuldade alimentar e, consequentemente, no ganho de massa, e microcefalia. Os sinais clínicos apontaram ADNPM, sociabilidade, hiperatividade, voz grave, hiperacusia, hérnia umbilical, estreitamento da válvula aórtica e sopro. No exame dismorfológico revelou: fronte alargada, orelhas grandes, edema periorbital, filtro nasal longo, boca grande com lábio inferior grosso, bochechas proeminente, má oclusão dentária e prognatismo (operada). A investigação genética evidenciou a microdeleção da região 7q11.23, característica da SWB. Na AGSW a paciente foi submetida à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)].



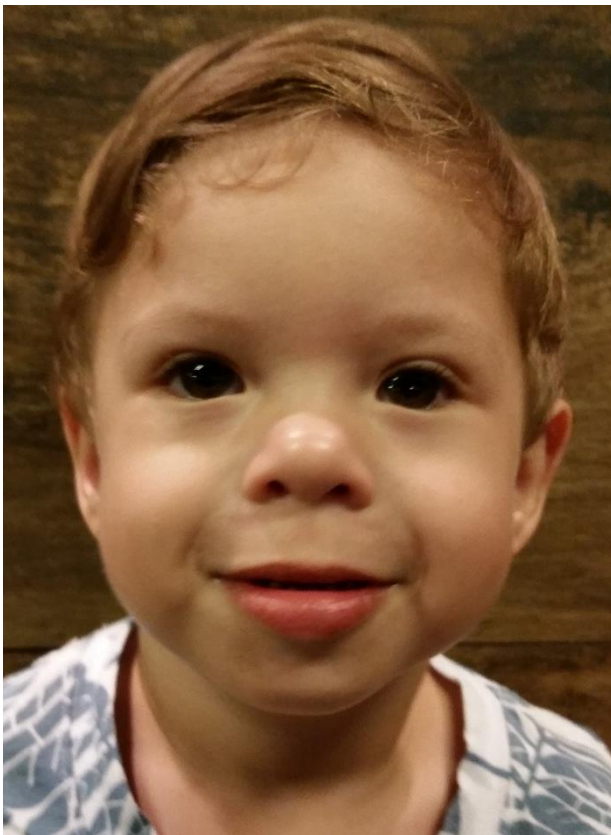
Paciente – SAG292



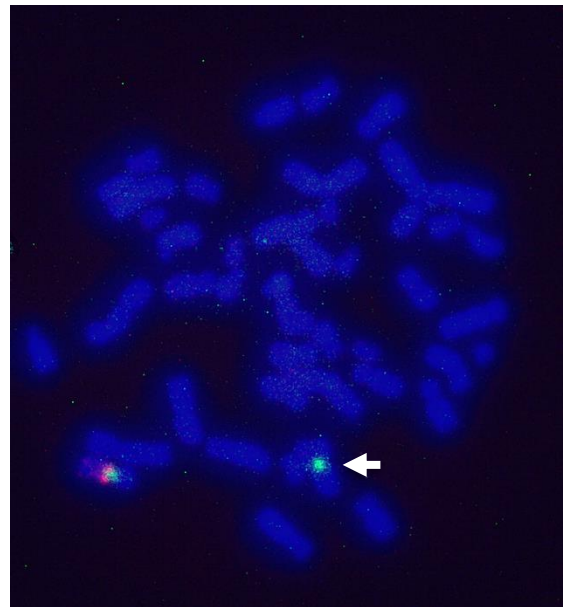
Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG294

Paciente do sexo masculino. Nasceu a termo com 53 cm (percentil = 95) de comprimento e 3,150 kg ($p = 34,1$) de peso. Andou com 2 anos e 8 meses e falou com 2 anos, evoluiu com atraso na aquisição de linguagem. Quando criança apresentou hipotonia. No exame físico realizado aos 3 anos revelou uma estatura 0,95 m ($p > 50$), peso de 13 kg ($p = 50$) e perímetro cefálico de 50 cm ($p > 95$). Os sinais clínicos apontaram ADNPM, hypersociabilidade, loquacidade, hiperacusia, voz grave e EAP. No exame dismorfológico relevou: inchaço no entorno dos olhos, ponte nasal baixa, filtro longo, hipoplasia malar, sorriso largo, lábio inferior grosso e má oclusão dental. apresentou voz grossa e problema cardíaco como a estenose pulmonar. Na AGSW o paciente foi submetida novamente à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)].



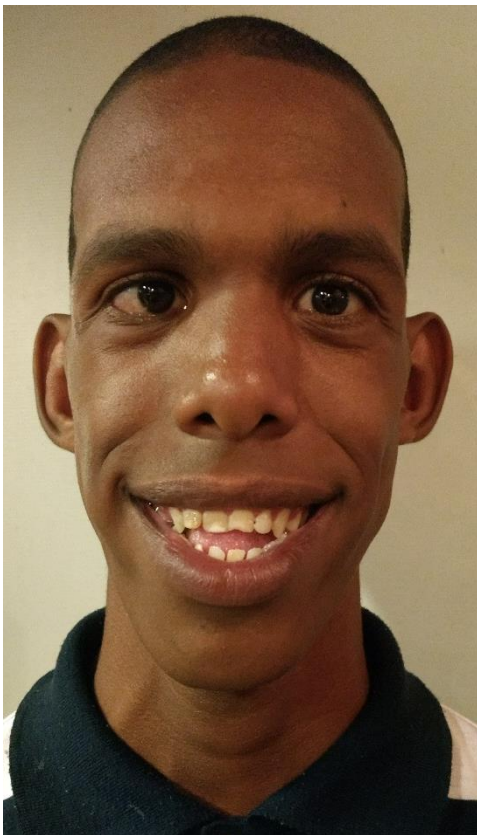
Paciente – SAG294



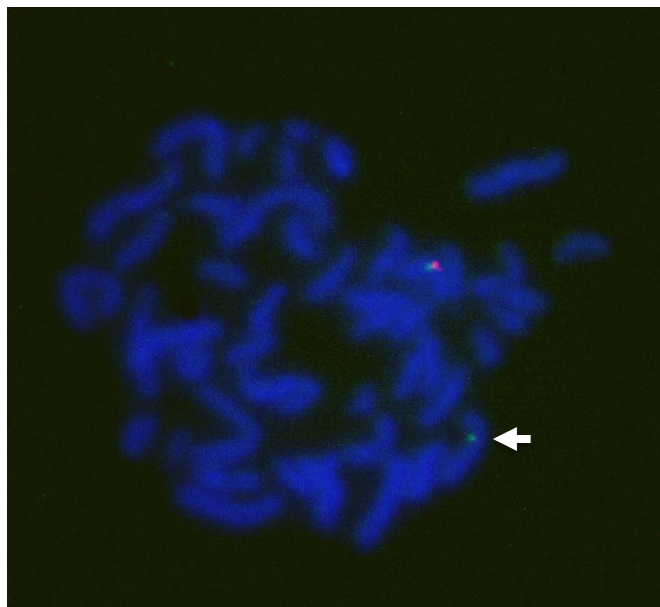
Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG322

Paciente do sexo masculino. Nasceu a termo com 52 cm (percentil = 86,8) de comprimento e 3,950 kg ($p = 87,9$) de peso. Quando criança apresentou hipotonia, obstipação intestinal e otites de repetição. No exame clínico realizado aos 15 anos revelou uma estatura de 1,73 m ($p > 95$), peso de 54 kg ($p > 95$) e perímetro cefálio de 55 cm ($p > 50$). Os sinais clínicos revelaram ADNPM por atraso na fala, sociabilidade exagerada, voz grave, arritmia e hipertensão arterial. No exame dismorfológico revelou: fronte alargada, edema periorbital, estrabismo, filtro nasal longo, boca grande, lábios espessos (principalmente o inferior) e defeito dentário. Na AGSW o paciente foi submetido novamente à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XY.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)]. A análise citogenômica identificou a deleção de segmento intersticial de 1,37 Mb do braço longo do cromossomo 7: arr[GRCh37]7q11.23(72766313_74133332)x1.



Paciente - SAG322



Metáfase em FISH mostrando a ausência do sinal vermelho (seta) em um cromossomo 7 indicando a deleção do gene da elastina.

SAG369

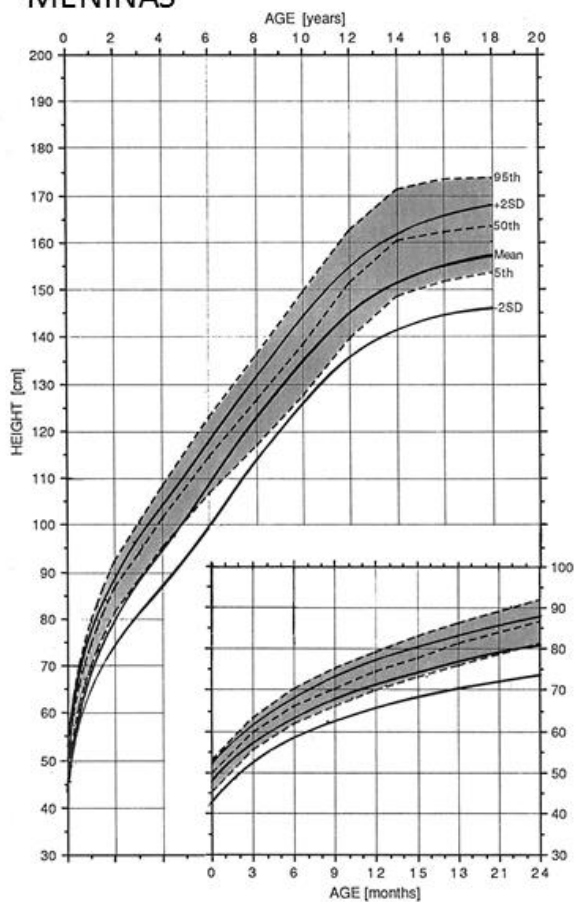
Paciente do sexo feminino. Nasceu a termo com 45 cm (percentil = 1,3) de comprimento e 2,150 kg ($p = 0,4$) de peso. Andou com 2 anos e meio e falou com 1 ano e meio. Quando criança apresentou hipotonia e constipação intestinal. No exame físico realizado aos 38 anos revelou uma estatura de 1,57 m ($p > 50$), peso de 90 kg ($p > 50$) e perímetro cefálico de 55 cm ($p > 95$). Os sinais clínicos revelaram ADNPM, loquacidade, hiperatividade, ansiedade, hiperacusia, sopro, taquicardia e pneumonia. No exame dismorfológico revelou: edema periorbital, filtro nasal longo, má formação dentária e micrognatismo. Na AGSW a paciente foi submetida à análise genética onde confirmou o diagnóstico genético para a SWB [46,XX.ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)]



Paciente - SAG369

ANEXO VIII

MENINAS



MENINOS

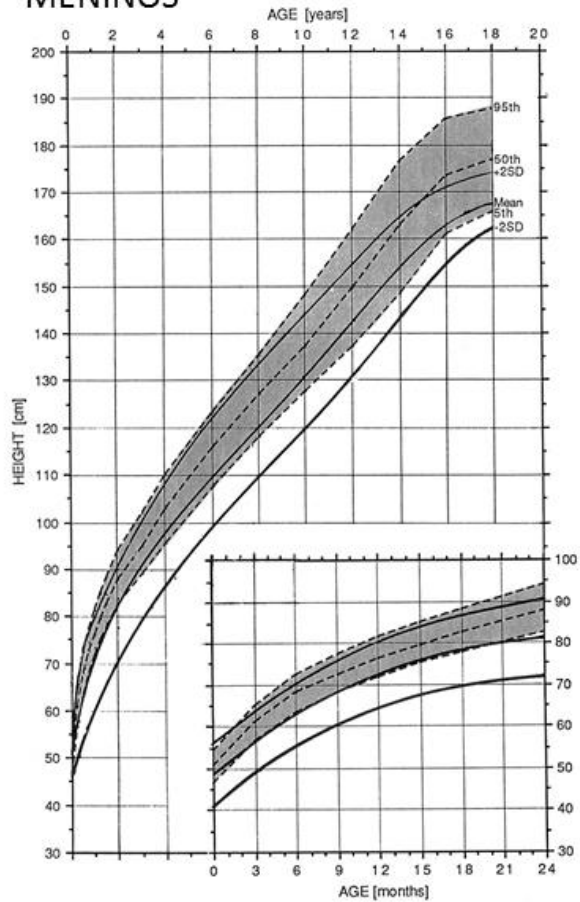
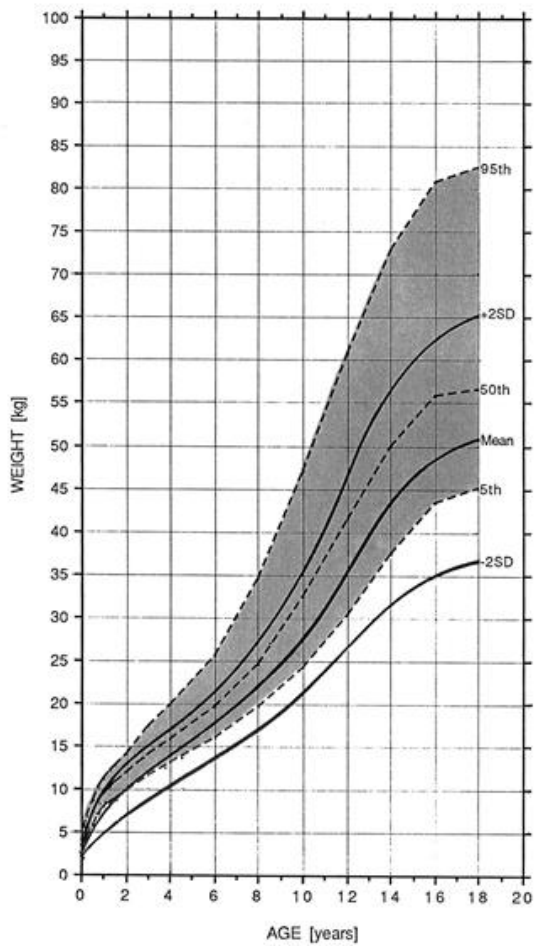


Figura 3. Gráficos de crescimento (cm) na síndrome de Williams-Beuren, para ambos os sexos, do nascimento aos 20 anos, comparado com a normalidade. Legenda: ----- → comprimento padrão; ————— → comprimento de pacientes afetados. Revisto e modificado de AAP, 2001.

MENINAS



MENINOS

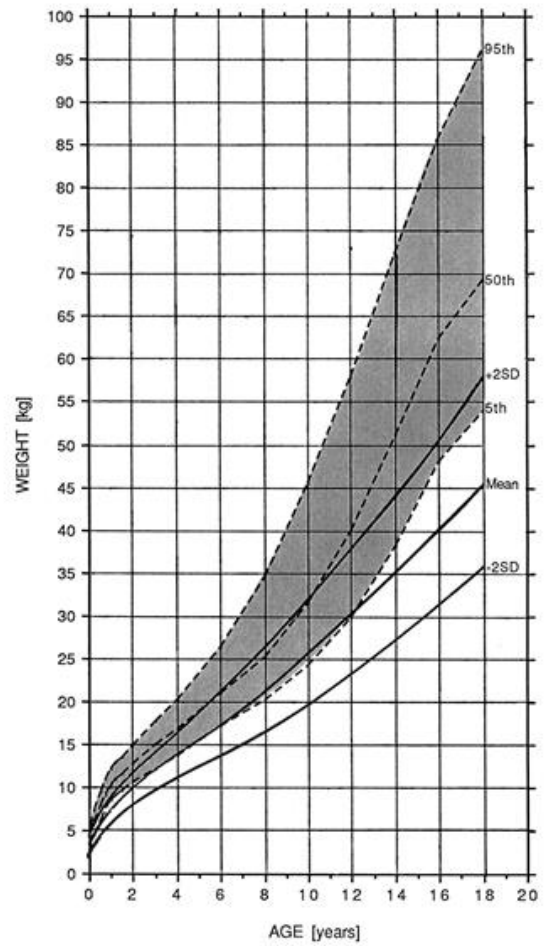


Figura 4. Gráficos de peso (kg) na síndrome de Williams-Beuren, para ambos os sexos, do nascimento aos 20 anos, comparado com a normalidade. Legenda: ----- → peso padrão; ————— → peso de pacientes afetados. Revisto e modificado de AAP, 2001.

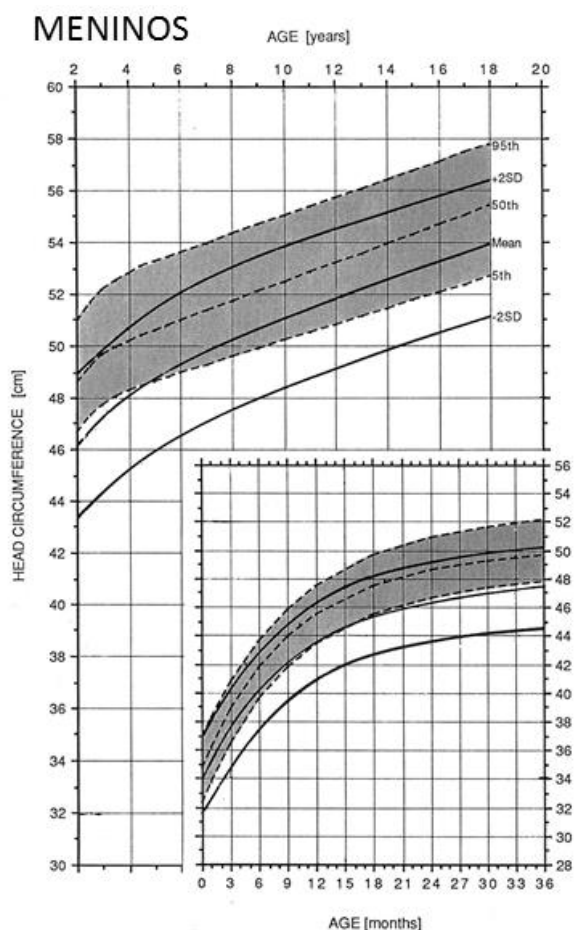
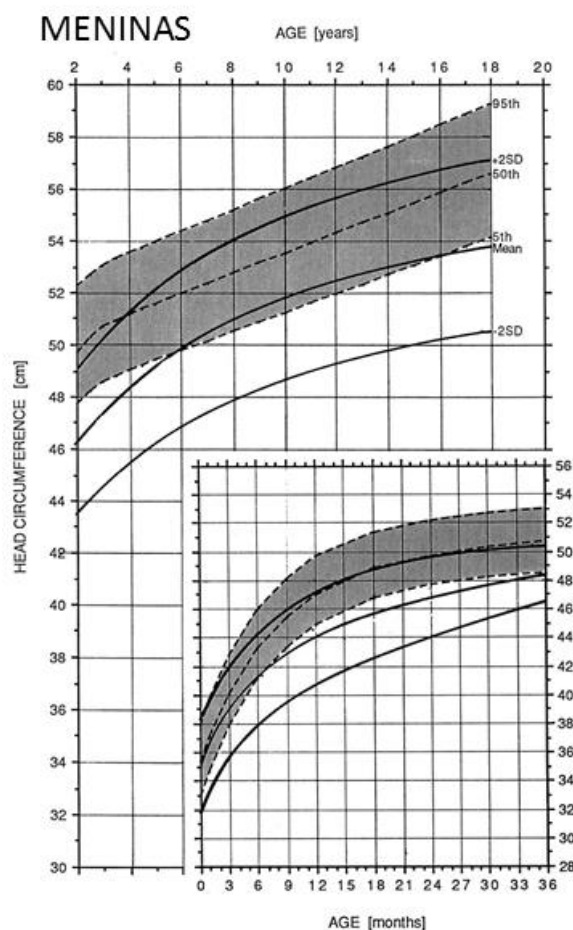


Figura 5. Gráficos de perímetro cefálico (PC) na síndrome de Williams-Beuren, para ambos os sexos, do nascimento aos 20 anos, comparado com a normalidade. Legenda: - - - - - → PC padrão; ———— → PC de pacientes afetados. Revisto e modificado de AAP, 2001.

ANEXO IX

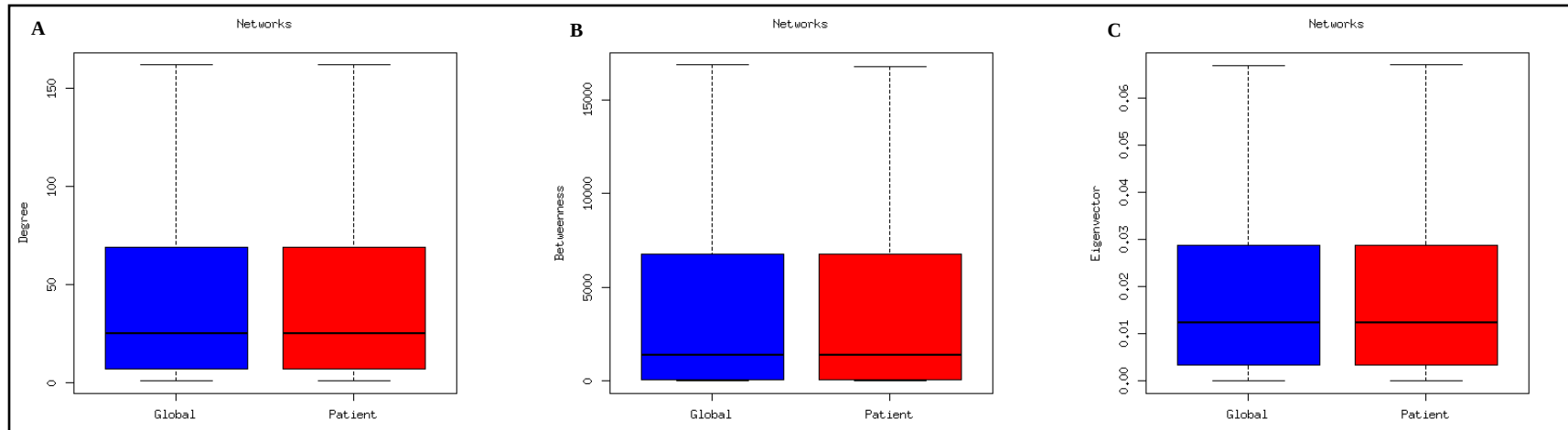


Figura IX.1 – Boxplot comparando as propriedades topológicas avaliadas na rede global (GN) e na rede paciente (PN). **A** – Boxplot referente ao *degree*; **B** – Boxplot referente ao *betweenness*; **C** – Boxplot referente ao *eigenvector*. GN – representado em azul e PN em vermelho.

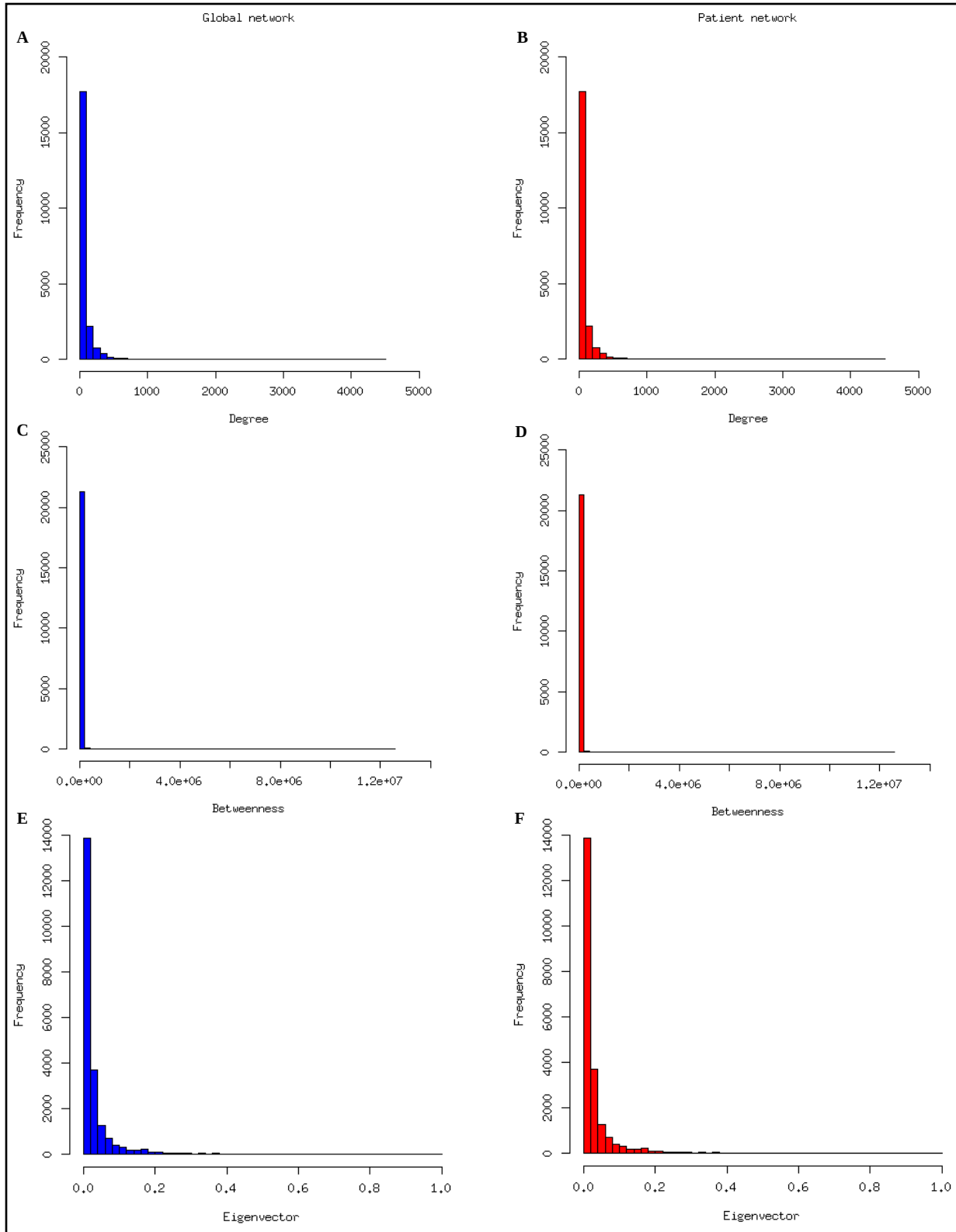


Figura IX.2 – Histogramas das propriedades topológicas avaliadas na rede global (GN) e na rede paciente (PN). **A e B** – Histogramas referentes ao *degree*; **C e D** - Histogramas referentes ao *betweenness*; **E e F** - Histogramas referentes ao *eigenvector*. A frequência é equivalente a quantidade de nós. GN – representado em azul e PN em vermelho.

ANEXO X

PROTEÍNAS VIZINHAS (n = 1.219)

Tabela X.1 - Proteínas vizinhas (n = 1.104) que apresentam interações específicas com cada uma das 23 proteínas deletadas.

Proteínas deletadas (n = 23)	Genes deletados (n = 23)	Quantidade de proteínas vizinhas por gene deletado (%)	Proteínas vizinhas (n = 1.104)*
O75344	FKBP6	28 (2,30%)	O00170; O15235; O43506; O75909; P08238; P35398; P61758; P82664; P82912; Q12809; Q13233; Q15185; Q16540; Q16543; Q8IUH5; Q8IYA8; Q96AP0; Q96JB5; Q9BSI4; Q9NUQ8; Q9NWM8; Q9NZN9; Q9UG63; Q9UGM6; Q9UHV9; Q9Y2R9; Q9Y5B8; Q9Y680
O00144	FZD9	34 (2,79%)	O00716; Q00755 ; O60353; O60779; O75084; O75461; P04150; P04628; P09544; P11161; P41221; P56703; P56704 ; P56705; P56706; P60369; Q02548; Q06889; Q14209; Q14332; Q15329; Q8IU89; Q8IUQ4; Q8NGV5; Q8TCT7; Q8TCT8; Q93097; Q96AV8; Q99750; Q9H1J7; Q9NPG1 ; Q9UBV4; Q9ULW2; Q9UP38
Q9UIG0	BAZ1B	27 (2,21%)	O00159; O60264; O96019; P02545; P10589; P11473; P12882; P15923; P28370; P41235; P43354; P48039; P55201; P61956; Q12824; Q13111 ; Q8TAA2; Q92922; Q969G3; Q96GM5; Q9H211; Q9H9Y6; Q9NRG9; Q9NRL2; Q9UBC5; Q9UIF9; Q9Y5B9
Q9BQE9	BCL7B	44 (3,61%)	O00327; O75764; O75956; O94956; P02655; P02751; P06340; P07737; P08637; P09601; P15976; P23769; P24394; P26572 ; P42081; P48509 ; P53634; P54274 ; P55899; P56377; P59998; P98082; Q01518; Q13510; Q13637; Q16581; Q4VC05; Q5VWQ0 ; Q6ZUX7; Q86XS8 ; Q8IW50; Q8N4T4 ; Q8WUZ0; Q96HE7 ; Q99538; Q99828; Q9BUV8; Q9C0H2; Q9NRQ5 ; Q9NYB0 ; Q9NW97; Q9UBR2; Q9UM01; Q9P2T0
Q9Y4P3	TBL2	100 (8,20%)	A2RRH5; A4D1P6; A6NE52; B1ANS9; Q00628 ; O14775; O14980; O43379; O43684; O43818; O75717; O95170; O95302; P16520; P16989; P26885; P31146; P31153; P35606 ; P35998; P52803; P57737; P62195; P62873; P62879; P78406 ; Q03060; Q05048; Q05BV3; Q07866; Q09028; Q12834; Q13033; Q13451; Q13685; Q149M9; Q15276; Q15291; Q16576; Q32P44; Q5QP82; Q5XX13; Q64LD2; Q6NUS6; Q6ZMW3; Q7Z5U6; Q86W42; Q86Y33; Q8IWB7; Q8IX12 ; Q8IZU2; Q8N357; Q8N5D0; Q8NAA4; Q8NFH4 ; Q8NHY2; Q8TBZ3; Q8TDJ6; Q8TEQ6; Q92466; Q92523; Q96EE3; Q96GX1; Q96J01 ; Q96JK2; Q96KV7; Q96MR6; Q96MT7; Q96P53; Q9BQ67; Q9BR76; Q9BRX9; Q9BUR4; Q9BV38; Q9BVC4; Q9BYB4; Q9H0B6; Q9HAD4; Q9HAV0; Q9HCU5; Q9NSK0; Q9NTK5; Q9NVJ2; Q9NW82; Q9NYL4; Q9NZJ0 ; Q9P2G9; Q9UBV2; Q9P2H3; Q9UKT8; Q9UL03; Q9UL49; Q9ULV4; Q9UM11; Q9UQ03; Q9Y2I8; Q9Y3F4; Q9Y485; Q9Y4E6; Q9Y5J1
Q9NP71	MLXIPL	14 (1,15%)	O00763; O43741 ; P13861 ; P30613; P31321 ; P31323; P53396 ; P54646; Q15831; Q86UK5 ; Q99943 ; Q9GZT8; Q9UGJ0; Q9UH92
Q86XT2	VPS37D	9 (0,74%)	A5D8V6; A8MPS7; O14964; P40225; Q53EZ4 ; Q8NEZ2; Q99816; Q9H9H4; Q9Y2W2
Q96LL9	DNAJC30	29 (2,38%)	O43889; O75165; O95757; P04271; P0DMV8; P11021; P11142; P17066; P27708; P31327; P34931; P34932; P38646; P48723; P54652; Q0VDF9; Q5RKV6; Q86YJ6; Q8IYQ7; Q8TAA5; Q92598; Q96DA6; Q96KC8; Q96MM6; Q9HAV7; Q9UGP8; Q9UKB3; Q9Y4L1 ; Q9Y5T4
O43709	BUD23	64 (5,25%)	O00488; O00566; O00567; O00571; O15213; O15523; O43143; O43776; O60861; O75691; P00973 ; P22087; P35869; P42696; P48681; P48730; P49674; P63244; Q13895; Q13952; Q14353; Q14692; Q15269; Q15361; Q15397; Q16512; Q2NL82; Q5H9R7; Q5JTH9; Q5QJE6; Q5TAP6; Q6P1R4; Q6RFH5; Q8IY37; Q8N9T8; Q8TED0; Q92979; Q969S3; Q96FX7; Q96I59; Q99873; Q9BRU9; Q9BVI4; Q9BVJ6; Q9BVS4; Q9BY44; Q9H6R4; Q9NQ55; Q9NRX1; Q9NUP7; Q9NZM5; Q9UBP6; Q9UJA5; Q9UKD2; Q9ULW3; Q9ULX3; Q9UNQ2; Q9UNX4; Q9Y2P8; Q9Y324; Q9Y3B9; Q9Y606; Q9Y6V7; Q9Y5N5
Q16623	STX1A	159 (13,04%)	O00161; O00186; O00570; O14653 ; O14717; O14793; O14795; O14810; O15155; O43524 ; O43581 ; O43752; O15079 ; O60499; O60706 ; O75112 ; O75150; O75379; O75396; O75444; O75469; Q75558 ; O75844; O95183; O95292; O95352 ; O95390; O95409; O95631; O95721; P00558; P06213; P07205; P08069; P08134 ; P08670; P09471 ; P10276; P10826; P10828; P13569; P13631; P14616; P14866; P15313; P19784; P20336; P20337; P21579 ; P23763; P23975; P25788; P29973 ; P29992 ; P30531 ; P31645; P32856; P36896; P36897; P37023; P37088; P37275; P40222; P42858; P48067; P49758; P49768; P49802; P50148 ; P51159 ; P51164; P51168; P51170; P51809 ; P54920; P55055; P56962 ; P60880; P60953; P61266; P61586 ; P61764 ; P62745 ; P63027; P68400 ; P98177 ; Q00535; Q01668 ; Q01959; P82970; Q02410; Q04771; Q12778; Q12791; Q12846; Q13133; Q13190; Q13277; Q13492; Q13554; Q13555; Q13557; Q14028 ; Q14721 ; Q14994; Q15019; Q15833; Q15836 ; Q16280; Q16281 ; Q16849; Q53FV1; Q53GQ0 ; Q5SQN1 ; Q5T5C0; Q6PUV4; Q7L5A8; Q86UR5 ; Q86UW7; Q8IYI6 ; Q8N138 ; Q8N3L3; Q8N4C7; Q8NER5; Q8NFX7; Q8NHW3; Q8TAG9; Q8WTU0;

			Q8WWV3 ; Q8WXG6 ; Q92834; Q92932 ; Q969R2; Q96C24 ; Q96E17; Q96HC4 ; Q96KP1; Q96R11; Q99719; Q9BV40; Q7Z3E4; Q9H115; Q9H270; Q9H2B2; Q9H7U1; Q9H3Z4; Q9HBG4; Q9HD20; Q9NQW8; Q9NYM9 ; Q9NZL4; Q9P253 ; Q9P0S3; Q9UF47; Q9UPT5 ; Q9UNK0; Q9ULU8; Q9UQM7; Q9Y2Q0
Q8NFV4	ABHD11	42 (3,45%)	Q75390; Q95870; Q95897; P07099 ; P07814; P08243; P34913 ; P35670; P36871 ; P46926; P47897; P63208; Q02218; Q04656 ; Q15124 ; Q16649; Q49AJ0; Q5EB52 ; Q6V1X1; Q75T13 ; Q7L211 ; Q7Z5M8 ; Q86TI2 ; Q86WA6 ; Q8IUS5; Q8IXK0; Q8N2K0; Q8TB40 ; Q8TDQ7; Q8WTS1; Q92900; Q96HY7 ; Q96I13; Q96IU4; Q99685 ; Q9BUJ0; Q9H3Z7; Q9H6B9 ; Q9HCB6; Q9NUJ1; Q9NZD8; Q9ULD0
O15551	CLDN3	4 (0,33%)	O00501; O95832; P55317 ; Q06432
O14493	CLDN4	3 (0,25%)	P04278; P29317; Q02962
Q8N6F8	METTL27	3 (0,25%)	O60341; Q5TEU4; Q92569
Q6UE05	TMEM270	6 (0,49%)	O95817; P17544; P18846; P18847; P18848; Q9Y2D1
P15502	ELN	84 (6,89%)	A1L390; O00399 ; O00602; O60755; O75339; O94805; O95831 ; O95967; P00390 ; P00966 ; P00995; P02452; P02462; P07585; P08246; P08651; P09622; P10809; P10909; P17540P17676; P17931; P17987; P18065; P21810; P23142; P24158; P25067; P27658; P28300; P29400; P31271; P35523 ; P35555; P35556; P40227; P41225; P48643; P49368; P49715; P49716; P50991; P51797; P51798; P51800 ; P51801 ; P55001; P78371; P98095; Q03828; Q08397; Q14050; Q14112; Q15768; Q5D862; Q5T0F9; Q5VYV0 ; Q6NT16; Q6YN16; Q86UU0; Q86YZ3 ; Q8N4T8; Q8N7U7; Q8NGU9; Q8WUU4; Q92526; Q96AY3 ; Q96IJ6; Q96L96; Q96MA1; Q96NT1; Q96Q06; Q96SF2; Q99453; Q99832; Q99932; Q9BXX0; Q9BTE1; Q9C0K0; Q9H213; Q9UBX5; Q9UGT4; Q9Y5P6; Q9Y651
P53667	LIMK1	145 (11,89%)	A0AV37; A8MTG8; B1P762; B3KNU0; B3KWR2; B3KXF4; B3KXZ2; B4DE59; B4DG58; B4DJU1; B4DL06; B4DRK2; B4DSW9; B4DXS3; B4DXZ4; B4E1N1; B5BU28; B7Z2V8; B7Z441; B7Z453; B7Z4M5; B7Z637; B8QGS6; B8QGS7; B8QGS9; B9EH95; C9J8P8; C9JAA7; C9JBY2; C9JC46; C9JX6; C9JZR2; D6RB97; D6RF90; D6RHH8; D6RHZ7; E0ZS56; E5RHK3; E5RJ86; E7EWS1; E9PDC3; E9PH06; E9PHB5; E9PIE5; E9PR92; F5GWK4; F5GWK8; F5GWP8; F5GWW0; F5GYG2; F5H4P3; F5H6J3; F8J390; F8W7E2; F8WA43; G5E9P9; G5E9V6; G5E9V7; H0Y3K0; H0Y8M2; H0Y9J0; O15297; O15355; O60524 ; O75688; O95477; O95645; O95835; O96013; P02686; P10914; P23528; P32121; P35813; P49023; P49407; P49593; P49918 ; P52306; P53671; P63104; P78352; Q02297 ; Q02539; Q08J23; Q12959; Q13153; Q13177 ; Q13368; Q13464; Q13823; Q13873; Q14168; Q15700; Q16539; Q16774 ; Q4QQI8; Q4W5T8; Q5SGD2; Q5T2T1; Q5TCQ9; Q5TD89; Q5TFJ7; Q5VT25; Q5W041; Q5W042; Q68CW5; Q68DU0; Q6IPM2; Q6LCG8; Q6NXE6; Q6U7G8; Q76I76; Q7KZJ3; Q7Z5J8; Q86UL8; Q8IUR7; Q8N3J5; Q8N3R9; Q8NAH4; Q8TE77; Q8TEA1; Q8WY54 ; Q8WYL5; Q92796; Q96AT9; Q96CD2; Q96DP5; Q96FS1; Q96JB8; Q96M69; Q96P11; Q96QZ7; Q96SB4; Q9BUX6; Q9H0C8; Q9H3S4; Q9H649; Q9H6L4; Q9NVW2; Q9NZW5; Q9NZY0; Q9UPY3; Q9Y281; Q9Y4X4
Q15056	EIF4H	152 (12,47%)	O00303; Q14979 ; O15371; O15372; O43347; O60506; O60841; O75494; O75821; O75822; P05198; P05386; P05387; P05388; P06730; P08621; P08708; P08865; P11940; P12830; P15880; P18077; P20042; P22090; P22626; P23588; P25398; P26368; P26373; P26378; P27635; P30050; P32969; P35268; P35544; P39019; P39023; P40429; P41091; P42677; P42766; P46776; P46777; P46778; P46779; P46782; P46783; P47813; P47914; P49207; P49770; P50914; P52272; P55010; P55884; P60228; P60842; P61254; P61313; P61353; P61513; P61927; P62249; P62263; P62266; P62269; P62273; P62701; P62750; P62807; P62829; P62841; P62847; P62851; P62854; P62888; P62891; P62899; P62906; P62910; P62913; P62917; P62945; P62979; P62987; P62995; P63173; P63220; P83731; P83881; P84098; P84103; Q01130; Q01844; Q02543; Q02878; Q04637; Q07020; Q13148; Q13151; Q13242; Q13243; Q13247; Q13310; Q13595; Q14152; Q14232; Q14240; Q14576; Q15020; Q15287; Q15434; Q15717; Q16560; Q86V81; Q8IUH3; Q8IY67 ; Q8N6W0; Q8N9W6; Q8TBB1; Q8WXF0; Q8WXF1 ; Q92901; Q92904; Q96DH6; Q96DU9; Q96H35; Q96J87; Q96PK6 ; Q99613; Q9BRL6; Q9BZC1; Q9GZT3; Q9H0Z9; Q9NQZ3; Q9NR50; Q9NR90; Q9H3H3; Q9NW13; Q9NX07; Q9P2K5; Q9UBQ5; Q9UFF9; Q9UHX1; Q9UI10; Q9UIV1; Q9UKM9; Q9UNX3; Q9Y3U8; Q9Y580; Q9Y5S9; Q96I51
Q9GZY6	LAT2	7 (0,57%)	P16885; P19174; P22681; Q07889; Q13480; Q8WV28; Q9NRR5
P35250	RFC2	94 (7,71%)	O00541; O14757; O60885; O60921; O75164; O75351; O75643; O75943; P04908; P07992; P09884; P0C0S8; P11388; P15927; P17980; P18074; P18858; P19447; P20671; P20839; P22102; P23193; P27694 ; P28340 ; P28715; P32780; P35244; P35249; P35251; P36776; P40937; P40938; P43686; P49005 ; P49591; P49642; P49643 ; P50579; P50613; P51946; P51948; P55209; P56282; P62333; Q02880; Q03468; Q06546; Q07864; Q13535 ; Q13608; Q13888; Q13889; Q14181 ; Q15054 ; Q15075; Q16777; Q49A26; Q5FWF5 ; Q5MIZ7; Q6FI13; Q6IN85; Q6P1N9; Q6WXB8 ; Q7L7L0; Q7Z628 ; Q7Z6V5 ; Q8IUE6; Q8WVB6; Q92759; Q92889; Q93077; Q96EY9; Q93075; Q96KK5; Q96P70; Q96QE3; Q96QV6; Q96RL7 ;

			Q96TA2; Q99638; Q99741; Q99878; Q9BTM1; Q9BQ48; Q9HCS7; Q9HCU8; Q9NP81; Q9NS91 ; Q9NSU2 ; Q9NVP2; Q9UBP0; Q9UN37; Q9UPV0; Q9Y294
Q9UDT6	<i>CLIP2</i>	18 (1,48%)	A5PLK6; O00469; O75122; P15407; P15408; P26038; P49959; P55198; P63167 ; Q01201; Q04206; Q04446 ; Q15811 ; Q68D86; Q6ZMI0; Q7Z3Z0 ; Q7Z460; Q9UM54
Q9UHL9	<i>GTF2IRD1</i>	5 (0,41%)	P00519; P84022; Q09472; Q8IZL9 ; Q9NPD3
P78347	<i>GTF2I</i>	33 (2,71%)	O00470; O43521; O60674; O75365; O95391; O95777; P04003; P0DP25 ; P12931; P14174 ; P27361; P38398; P40763; P53778; P54821; P63010; P63162; P63279; Q13105 ; Q13976; Q14202; Q15796; Q16633 ; Q5JR59; Q7Z6K3 ; Q86T82 ; Q96CN9; Q99759; Q9C005; Q9NYJ8; Q9UJW3; Q9Y4K3; Q9Y587

*Proteínas vizinhas destacadas em **negrito** correspondem as proteínas que apresentaram maiores alterações em relação a duas medidas topológicas (*degree* (k) e *betweenness*), dados obtidos pelo software WEKA. As proteínas sublinhadas representam proteínas já associadas a doenças e relatadas na literatura, dados obtidos pelo banco de dados UniProt.

Tabela X.2 – Proteínas vizinhas (n = 115) que apresentam interações com mais de uma das 23 proteínas deletadas.

Proteínas vizinhas* (n = 115)	Proteínas deletadas (n = 23)	Genes deletados (n = 23)
P05549	Q8NFV4; O14493; P15502; P53667	<i>ABHD11; CLDN4; ELN; LIMK1</i>
P25490	Q9UIG0; Q9BQE9; O43709; P78347	<i>BAZ1B; BCL7B; BUD23; GTF2I</i>
P23511	Q9UIG0; Q9BQE9; O43709; Q9UHL9	<i>BAZ1B; BCL7B; BUD23; GTF2IRD1</i>
P17542	Q9UIG0; Q9BQE9; P15502	<i>BAZ1B; BCL7B; ELN</i>
P51531, P51532	Q9UIG0; O43709	<i>BAZ1B; BUD23</i>
P19838	Q9UIG0; Q9UDT6	<i>BAZ1B; CLIP2</i>
Q00653	Q9UIG0; Q9UDT6; P78347	<i>BAZ1B; CLIP2; GTF2I</i>
P04637	Q9UIG0; Q96LL9	<i>BAZ1B; DNAJC30</i>
P15884	Q9UIG0; P15502	<i>BAZ1B; ELN</i>
P12004, P16104	Q9UIG0; P35250	<i>BAZ1B; RFC2</i>
P15336	Q9UIG0; Q6UE05	<i>BAZ1B; TMEM270</i>
Q92754	Q9BQE9; Q8NFV4; O14493; P15502; P53667	<i>BCL7B; ABHD11; CLDN4; ELN; LIMK1</i>
P61626	Q9BQE9; P15502	<i>BCL7B; ELN</i>
P43360	Q9BQE9; P78347	<i>BCL7B; GTF2I</i>
P17947	Q9BQE9; Q9UHL9	<i>BCL7B; GTF2IRD1</i>
P49137, Q00013	Q9BQE9; P53667	<i>BCL7B; LIMK1</i>
P50539, Q9NY25	Q9BQE9; Q9NP71; Q15056; Q9GZY6; Q9UHL9	<i>BCL7B; MLXIPL; EIF4H; LAT2; GTF2IRD1</i>
Q9UH73	Q9BQE9; Q16623; P35250; Q9UDT6	<i>BCL7B; STX1A; RFC2; CLIP2</i>
O15143, O75083, Q16186	Q9BQE9; Q9Y4P3	<i>BCL7B; TBL2</i>
P46781, P62081, P62244, P62277, P62857, Q9BYG3, Q9Y4C8	O43709; Q15056	<i>BUD23; EIF4H</i>
P62241	O43709; Q15056; P35250	<i>BUD23; EIF4H; RFC2</i>

P27540	O43709; Q9UHL9	<i>BUD23; GTF2IRD1</i>
P46087	O43709; P53667	<i>BUD23; LIMK1</i>
O60678, O95671, <u>Q14749</u> , <u>Q5HYK3</u> , Q5JPI9, Q6P1Q9, Q6UX53, Q7L2J0, Q86X55, <u>Q8N6R0</u> , Q8TCB7, Q96IZ6, Q96LA8, Q9BV86, Q9H7H0, Q9H825, <u>Q9H8H3</u> , <u>Q9HBK9</u> , <u>Q9NZJ6</u> , Q9P272	O43709; Q8N6F8	<i>BUD23; METTL27</i>
O43159	O43709; Q8N6F8; P35250	<i>BUD23; METTL27; RFC2</i>
Q9NXB9, Q9NYP7	O43709; Q16623	<i>BUD23; STX1A</i>
O60359, Q07157, <u>Q86UF1</u> , <u>Q96J92</u>	O15551; O14493	<i>CLDN3; CLDN4</i>
<u>Q13127</u>	O14493; Q15056	<i>CLDN4; EIF4H</i>
P11831, P42224	O14493; P78347	<i>CLDN4; GTF2I</i>
P05067	Q96LL9; Q8NFV4; O15551; P53667	<i>DNAJC30; ABHD11; CLDN3; LIMK1</i>
<u>P16220</u>	Q96LL9; P15502	<i>DNAJC30; ELN</i>
P18124, P36578, P61247, P62424, P62753	Q15056; P35250	<i>EIF4H; RFC2</i>
Q13144	P15502;	<i>ELN; EIF4H</i>
P05412	P15502; P53667	<i>ELN; LIMK1</i>
P01100	P15502; P53667; Q9UHL9	<i>ELN; LIMK1; GTF2IRD1</i>
P22415	O75344; Q8NFV4; O14493; Q15056; Q9UHL9; P78347	<i>FKBP6; ABHD11; CLDN4; EIF4H; GTF2IRD1; GTF2I</i>
P62280	O75344; O43709; Q15056	<i>FKBP6; BUD23; EIF4H</i>
Q9BRK4	O75344; Q9UDT6	<i>FKBP6; CLIP2</i>
P18621, P60866	O75344; Q15056	<i>FKBP6; EIF4H</i>
P23396	O75344; Q15056; P35250	<i>FKBP6; EIF4H; RFC2</i>
P07900	O75344; P53667	<i>FKBP6; LIMK1</i>

P49711	O75344; Q9NP71; P15502; Q9GZY6; Q9UHL9; P78347	<i>FKBP6; MLXIPL; ELN; LAT2; GTF2IRD1; GTF2I</i>
P22059	O75344; Q16623	<i>FKBP6; STX1A</i>
A8MT70	O75344; Q9Y4P3	<i>FKBP6; TBL2</i>
O94966	O75344; Q86XT2	<i>FKBP6; VPS37D</i>
P01106	O00144; Q9UIG0; O14493; Q15056; P35250; Q9UHL9; P78347	<i>FZD9; BAZ1B; CLDN4; EIF4H; RFC2; GTF2IRD1; GTF2I</i>
P61244	O00144; Q9BQE9; Q9NP71; Q96LL9; O43709; O14493; Q15056; Q9UDT6; Q9UHL9; P78347	<i>FZD9; BCL7B; MLXIPL; DNAJC30; BUD23; CLDN4; EIF4H; CLIP2; GTF2IRD1; GTF2I</i>
P18146	O00144; Q9BQE9; Q9Y4P3; Q15056; Q9UDT6; P78347	<i>FZD9; BCL7B; TBL2; EIF4H; CLIP2; GTF2I</i>
Q01094	O00144; Q15056; P35250	<i>FZD9; EIF4H; RFC2</i>
Q16254	O00144; Q9Y4P3; Q15056; P35250	<i>FZD9; TBL2; EIF4H; RFC2</i>
P08047	O00144; Q9Y4P3; Q86XT2; Q96LL9; Q16623; Q8NFV4; O14493; P78347	<i>FZD9; TBL2; VPS37D; DNAJC30; STX1A; ABHD11; CLDN4; GTF2I</i>
O15379, O75928, P0CG48	Q9UHL9; P78347	<i>GTF2IRD1; GTF2I</i>
P49327	Q9NP71; O43709; Q8N6F8	<i>MLXIPL; BUD23; METTL27</i>
P62993	Q9NP71; Q8N6F8; Q9GZY6	<i>MLXIPL; METTL27; LAT2</i>
P10644	Q9NP71; P35250	<i>MLXIPL; RFC2</i>
P22612, P22694	Q9NP71; Q16623	<i>MLXIPL; STX1A</i>
P17612	Q9NP71; Q16623; O15551; P53667	<i>MLXIPL; STX1A; CLDN3; LIMK1</i>
P46459	Q16623; P35250	<i>STX1A; RFC2</i>
P55072, Q13610, Q14137, Q6IA86, Q969X6, Q9GZL7, Q9NWT1	Q9Y4P3; O43709	<i>TBL2; BUD23</i>
Q13347	Q9Y4P3; Q15056	<i>TBL2; EIF4H</i>
Q06187	Q9Y4P3; P78347	<i>TBL2; GTF2I</i>
Q13216	Q9Y4P3; P35250	<i>TBL2; RFC2</i>

P53355	Q9Y4P3; Q16623	<i>TBL2; STX1A</i>
P22670	Q6UE05; Q9UDT6; P78347	<i>TMEM270; CLIP2; GTF2I</i>
P18850	Q6UE05; P78347	<i>TMEM270; GTF2I</i>

*Proteínas vizinhas destacadas em **negrito** correspondem as proteínas que apresentaram maiores alterações em relação a duas medidas topológicas (*degree* (k) e *betweenness*), dados obtidos pelo software WEKA. As proteínas sublinhadas representam proteínas já associadas a doenças e relatadas na literatura, dados obtidos pelo banco de dados UniProt.

ANEXO XI

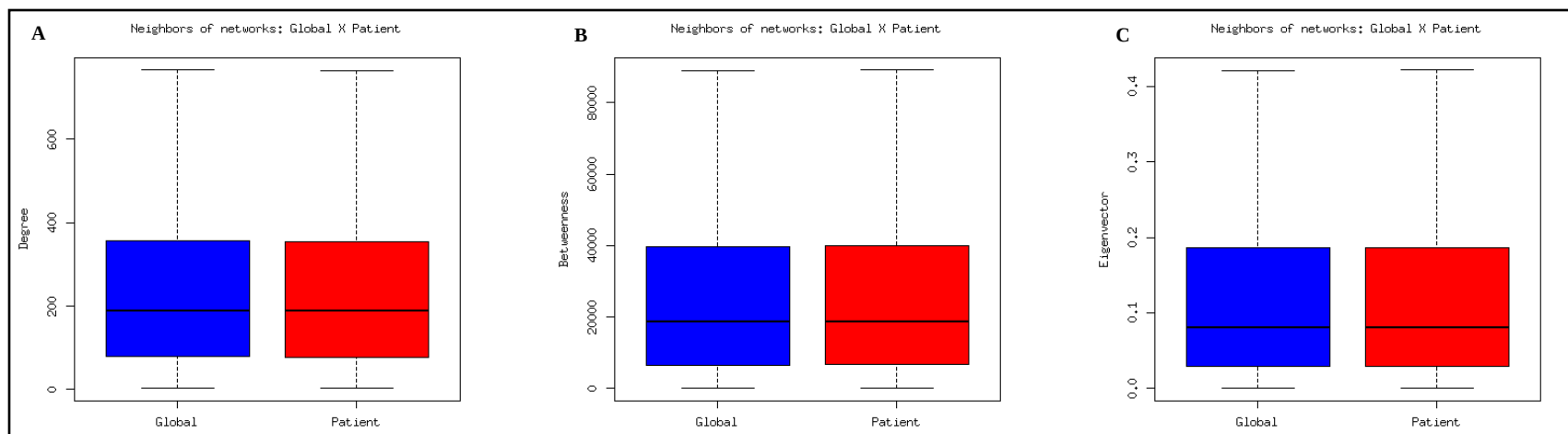


Figura XI.1 – Boxplot comparando as propriedades topológicas das proteínas vizinhas avaliadas na rede global (GN) e rede paciente (PN). A – Boxplot referente ao *degree*; B - Boxplot referente ao *betweenness*; C - Boxplot referente ao *eigenvector*. GN – representado em azul e PN em vermelho.

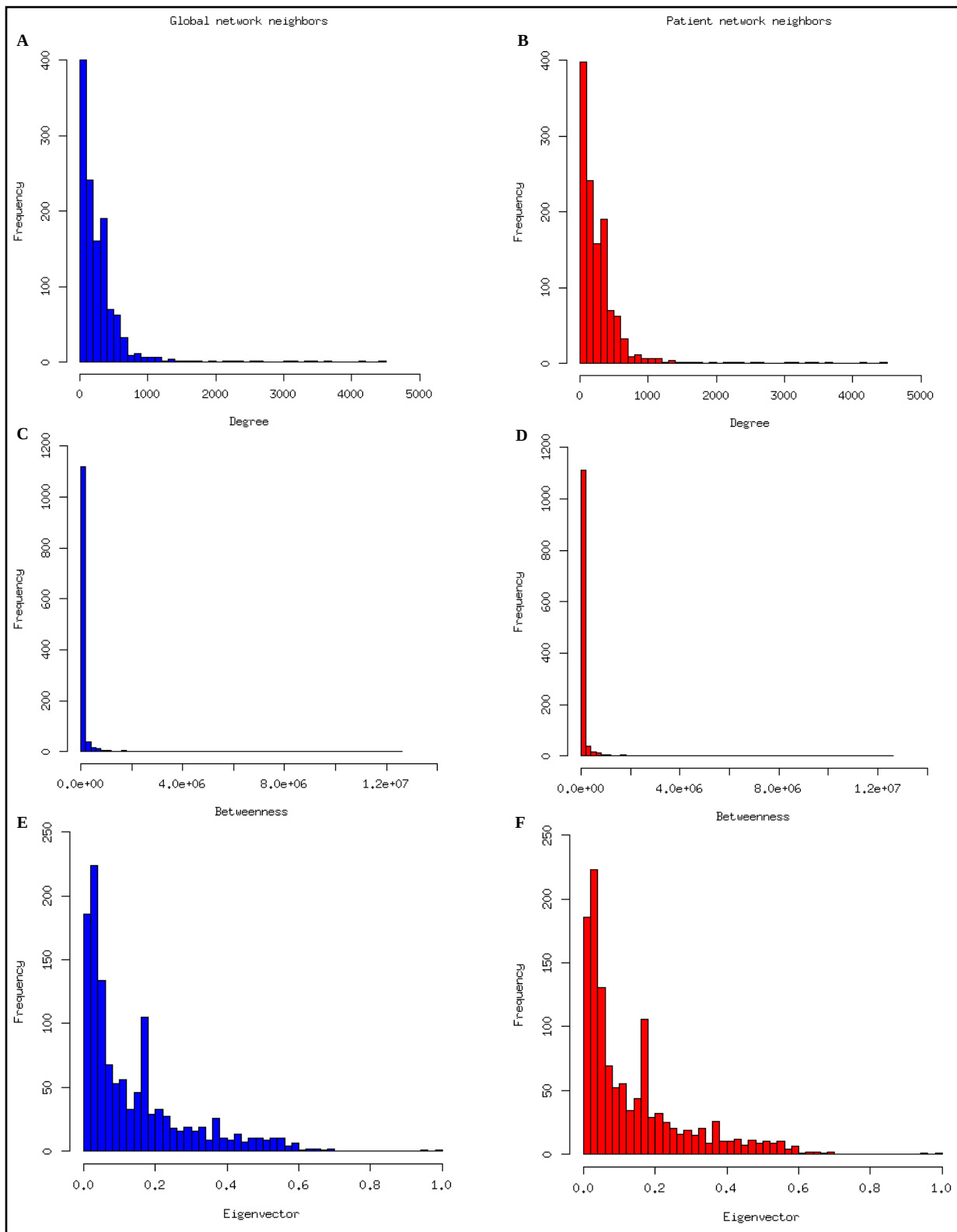


Figura XI.2 – Histogramas das propriedades topológicas das proteínas vizinhas avaliadas na rede global (GN) e na rede paciente (PN). **A e B** – Histogramas referentes ao *degree*; **C e D** - Histogramas referentes ao *betweenness*; **E e F** - Histogramas referentes ao *eigenvector*. A frequência é equivalente a quantidade de nós. GN – representado em azul e PN em vermelho.

ANEXO XII

Neighbors (Uniprot KB/Swiss-Prot)*	Involvement in disease
<u>O00628</u>	Peroxisome biogenesis disorder complementation group 11 (PBD-CG11) [MIM:614879]: A peroxisomal disorder arising from a failure of protein import into the peroxisomal membrane or matrix. The peroxisome biogenesis disorders (PBD group) are genetically heterogeneous with at least 14 distinct genetic groups as concluded from complementation studies. Include disorders are: Zellweger syndrome (ZWS), neonatal adrenoleukodystrophy (NALD), infantile Refsum disease (IRD), and classical rhizomelic chondrodysplasia punctata (RCDP). ZWS, NALD and IRD are distinct from RCDP and constitute a clinical continuum of overlapping phenotypes known as the Zellweger spectrum (PBD-ZSS). Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Rhizomelic chondrodysplasia punctata 1 (RCDP1) [MIM:215100]: A peroxisome biogenesis disorder. It is characterized by severely disturbed endochondral bone formation, rhizomelic shortening of femur and humerus, vertebral disorders, dwarfism, cataract, cutaneous lesions, facial dysmorphism, and severe mental retardation with spasticity. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Peroxisome biogenesis disorder 9B (PBD9B) [MIM:614879]: A peroxisome biogenesis disorder with unusually mild clinical and biochemical manifestations. Affected individuals manifest a variable phenotype similar to, and in some cases indistinguishable from, classic Refsum disease. Variable features include ocular abnormalities, sensorimotor neuropathy, ichthyosis, deafness, chondrodysplasia punctata without rhizomelia or growth failure. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
O00755	Limb pelvis hypoplasia aplasia syndrome (LPHAS) [MIM:276820]: A syndrome of severe deficiency of the extremities due to hypo- or aplasia of one or more long bones of one or more limbs. Pelvic manifestations include hip dislocation, hypoplastic iliac bone and aplastic pubic bones. Thoracic deformity, unusual facies and genitourinary anomalies can be present. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Fuhrmann syndrome (FUHRS) [MIM:228930]: Distinct limb-malformation disorder characterized also by various degrees of limb aplasia/hypoplasia and joint dysplasia. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
O14653	Epilepsy, progressive myoclonic 6 (EPM6) [MIM:614018]: A neurologic disorder characterized by onset of ataxia in the first years of life, followed by action myoclonus and seizures later in childhood, and loss of independent ambulation in the second decade. Cognition is not usually affected, although mild memory difficulties may occur in the third decade. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
O14979	Limb-girdle muscular dystrophy 1G (LGMD1G) [MIM:609115]: An autosomal dominant degenerative myopathy characterized by slowly progressive wasting and weakness of the proximal muscles of arms and legs around the pelvic or shoulder girdles, elevated creatine kinase levels and dystrophic features on muscle biopsy. LGMD1G is characterized by a mild late-onset and is associated with progressive fingers and toes flexion limitation. Affected individuals may also develop cataracts before age 50. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
O43524	A chromosomal aberration involving FOXO3 is found in secondary acute leukemias. Translocation t(6;11)(q21;q23) with KMT2A/MLL1.
<u>O60706</u>	Cardiomyopathy, dilated 1O (CMD1O) [MIM:608569]: A disorder characterized by ventricular dilation and impaired systolic function, resulting in congestive heart failure and arrhythmia. Patients are at risk of premature death. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Atrial fibrillation, familial, 12 (ATFB12) [MIM:614050]: A familial form of atrial fibrillation, a common sustained cardiac rhythm disturbance. Atrial fibrillation is characterized by disorganized atrial electrical activity and ineffective atrial contraction promoting blood stasis in the atria and reduces ventricular filling. It can result in palpitations, syncope, thromboembolic stroke, and congestive heart failure. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Hypertrichotic osteochondrodysplasia (HTOCD) [MIM:239850]: A rare disorder characterized by congenital hypertrichosis, neonatal macrosomia, a distinct osteochondrodysplasia, and cardiomegaly. The hypertrichosis leads to thick scalp hair, which extends onto the forehead, and a general increase in body hair. In addition, macrocephaly and coarse facial features, including a broad nasal bridge, epicanthal folds, a wide mouth, and full lips, can be suggestive of a storage disorder. About half of affected individuals are macrosomic and edematous at birth, whereas in childhood they usually have a muscular appearance with little subcutaneous fat. Thickened calvarium, narrow thorax, wide ribs, flattened or ovoid vertebral bodies, coxa valga, osteopenia, enlarged medullary canals, and metaphyseal widening of long bones have been reported. Cardiac manifestations such as patent ductus arteriosus, ventricular hypertrophy, pulmonary hypertension, and pericardial effusions are present in approximately 80% of cases. Motor development is usually delayed due to hypotonia. Most patients have a mild speech delay, and a small percentage have learning difficulties or intellectual disability. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
O75112	Cardiomyopathy, dilated 1C, with or without left ventricular non-compaction (CMD1C) [MIM:601493]: A disorder characterized by ventricular dilation and impaired systolic function, resulting in congestive heart failure and arrhythmia. Patients are at risk of premature death. Cardiomyopathy dilated type 1C is associated with left ventricular non-compaction in some patients. Left ventricular non-compaction is characterized by numerous prominent trabeculations and deep intertrabecular recesses in hypertrophied and hypokinetic segments of the left ventricle. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Left ventricular non-compaction 3 (LVNC3) [MIM:601493]: A form of left ventricular non-compaction, a cardiomyopathy due to myocardial morphogenesis arrest and characterized by a hypertrophic left ventricle, a severely thickened 2-layered myocardium, numerous prominent trabeculations, deep intertrabecular recesses, and poor systolic function. Clinical manifestations are variable. Some affected individuals experience no symptoms at all, others develop heart failure. In some cases, left ventricular non-compaction is associated with other congenital heart anomalies. LVNC3 is an autosomal dominant condition. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Myopathy, myofibrillar, 4 (MFM4) [MIM:609452]: A form of myofibrillar myopathy, a group of chronic neuromuscular disorders characterized at ultrastructural level by disintegration of the sarcomeric Z disk and myofibrils, and replacement

	of the normal myofibrillar markings by small dense granules, or larger hyaline masses, or amorphous material. MFM4 is characterized by distal and proximal muscle weakness with signs of cardiomyopathy and neuropathy. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
O75558	Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis 4 (FHL4) [MIM:603552]: A rare disorder characterized by immune dysregulation with hypercytokinemia, defective function of natural killer cell, and massive infiltration of several organs by activated lymphocytes and macrophages. The clinical features of the disease include fever, hepatosplenomegaly, cytopenia, and less frequently neurological abnormalities ranging from irritability and hypotonia to seizures, cranial nerve deficits and ataxia. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>O95831</u>	Combined oxidative phosphorylation deficiency 6 (COXPD6) [MIM:300816]: A mitochondrial disease resulting in a neurodegenerative disorder characterized by psychomotor delay, hypotonia, areflexia, muscle weakness and wasting. Some patients manifest prenatal ventriculomegaly and severe postnatal encephalomyopathy. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Cowchock syndrome (COWCK) [MIM:310490]: An X-linked recessive neuromuscular disorder characterized by early childhood onset of a slowly progressive axonal sensorimotor neuropathy associated in some patients with sensorineural deafness and cognitive impairment. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Deafness, X-linked, 5 (DFNX5) [MIM:300614]: A form of hearing loss characterized by absent or severely abnormal auditory brainstem response, abnormal middle ear reflexes, abnormal speech discrimination, loss of outer hair cell function, and cochlear nerve hypoplasia. DFNX5 patients manifest auditory neuropathy with childhood onset, associated with distal sensory impairment affecting the peripheral nervous system. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P00966	Citrullinemia 1 (CTLN1) [MIM:215700]: The classic form of citrullinemia, an autosomal recessive disease characterized primarily by elevated serum and urine citrulline levels. Ammonia intoxication is another manifestation. It is a disorder of the urea cycle, usually manifesting in the first few days of life. Affected infants appear normal at birth, but as ammonia builds up in the body they present symptoms such as lethargy, poor feeding, vomiting, seizures and loss of consciousness. Less commonly, a milder form can develop later in childhood or adulthood. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P07099	In some populations, the high activity haplotype tyr113/his139 is overrepresented among women suffering from pregnancy-induced hypertension (pre-eclampsia) when compared with healthy controls.; Familial hypercholanemia (FHCA) [MIM:607748]: A disorder characterized by elevated serum bile acid concentrations, itching, and fat malabsorption. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>P09471</u>	Epileptic encephalopathy, early infantile, 17 (EIEE17) [MIM:615473]: A severe neurologic disorder characterized by onset of intractable seizures in the first weeks or months of life and usually associated with EEG abnormalities. Affected infants have very poor psychomotor development and may have brain abnormalities, such as cerebral atrophy or thin corpus callosum. Some patients may show involuntary movements. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Neurodevelopmental disorder with involuntary movements (NEDIM) [MIM:617493]: A neurodevelopmental disorder manifesting with a wide range of clinical symptoms. Clinical features range from severe motor and cognitive impairment with marked choreoathetosis, self-injurious behavior and epileptic encephalopathy, to a milder phenotype featuring moderate developmental delay associated with complex stereotypies, mainly facial dyskinesia, and mild epilepsy. Hyperkinetic movements are often exacerbated by specific triggers, such as illness, emotion and high ambient temperature. Some patients have brain abnormalities, such as cerebral atrophy or thin corpus callosum. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>P0DP25</u>	Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT) is a rare condition caused by mutation in CALM3 that lead to an arrhythmogenic disorder characterized by stress-induced, bidirectional ventricular tachycardia that may degenerate into cardiac arrest and cause sudden death. Patients present with recurrent syncope, seizures, or sudden death after physical activity or emotional stress.
P14174	Rheumatoid arthritis systemic juvenile (RASJ) [MIM:604302]: An inflammatory articular disorder with systemic-onset beginning before the age of 16. It represents a subgroup of juvenile arthritis associated with severe extraarticular features and occasionally fatal complications. During active phases of the disorder, patients display a typical daily spiking fever, an evanescent macular rash, lymphadenopathy, hepatosplenomegaly, serositis, myalgia and arthritis. Note=Disease susceptibility is associated with variations affecting the gene represented in this entry.
<u>P16220</u>	Angiomatoid fibrous histiocytoma (AFH) [MIM:612160]: A distinct variant of malignant fibrous histiocytoma that typically occurs in children and adolescents and is manifest by nodular subcutaneous growth. Characteristic microscopic features include lobulated sheets of histiocyte-like cells intimately associated with areas of hemorrhage and cystic pseudovascular spaces, as well as a striking cuffing of inflammatory cells, mimicking a lymph node metastasis. Note=The gene represented in this entry may be involved in disease pathogenesis. A chromosomal aberration involving CREB1 is found in a patient with angiomatoid fibrous histiocytoma. Translocation t(2;22)(q33;q12) with CREB1 generates a EWSR1/CREB1 fusion gene that is most common genetic abnormality in this tumor type.; Note=A CREB1 mutation has been found in a patient with multiple congenital anomalies consisting of agenesis of the corpus callosum, cerebellar hypoplasia, severe neonatal respiratory distress refractory to surfactant, thymus hypoplasia, and thyroid follicular hypoplasia.
<u>P21579</u>	A SYT1 rare mutation has been found in a child with a severe neuro-developmental disorder. The individual harboring this variant shows early onset dyskinetic movement disorder, severe motor delay and profound cognitive impairment, suggesting that SYT1 may play a role in the pathogenesis of this neuro-developmental disorder.
<u>P28340</u>	Colorectal cancer 10 (CRCS10) [MIM:612591]: A complex disease characterized by malignant lesions arising from the inner wall of the large intestine (the colon) and the rectum. Genetic alterations are often associated with progression from premalignant lesion (adenoma) to invasive adenocarcinoma. Risk factors for cancer of the colon and rectum include colon polyps, long-standing ulcerative colitis, and genetic family history. Note=Disease susceptibility is associated with variations affecting the gene represented in this entry.; Mandibular hypoplasia, deafness, progeroid features, and lipodystrophy syndrome (MDPL) [MIM:615381]: An autosomal dominant systemic disorder characterized by prominent loss of subcutaneous fat, metabolic

	abnormalities including insulin resistance and diabetes mellitus, sclerodermatous skin, and a facial appearance characterized by mandibular hypoplasia. Sensorineural deafness occurs late in the first or second decades of life. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P29973	Retinitis pigmentosa 49 (RP49) [MIM:613756]: A retinal dystrophy belonging to the group of pigmentary retinopathies. Retinitis pigmentosa is characterized by retinal pigment deposits visible on fundus examination and primary loss of rod photoreceptor cells followed by secondary loss of cone photoreceptors. Patients typically have night vision blindness and loss of midperipheral visual field. As their condition progresses, they lose their far peripheral visual field and eventually central vision as well. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>P29992</u>	Hypocalciuric hypercalcemia, familial 2 (HHC2) [MIM:145981]: A form of hypocalciuric hypercalcemia, a disorder of mineral homeostasis that is transmitted as an autosomal dominant trait with a high degree of penetrance. It is characterized biochemically by lifelong elevation of serum calcium concentrations and is associated with inappropriately low urinary calcium excretion and a normal or mildly elevated circulating parathyroid hormone level. Hypermagnesemia is typically present. Affected individuals are usually asymptomatic and the disorder is considered benign. However, chondrocalcinosis and pancreatitis occur in some adults. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Hypocalcemia, autosomal dominant 2 (HYPOC2) [MIM:615361]: A form of hypocalcemia, a disorder of mineral homeostasis characterized by blood calcium levels below normal, and low or normal serum parathyroid hormone concentrations. Disease manifestations include hypocalcemia, paresthesias, carpopedal spasm, seizures, hypercalciuria with nephrocalcinosis or kidney stones, and ectopic and basal ganglia calcifications. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P30531	Myoclonic-atic epilepsy (MAE) [MIM:616421]: A form of epilepsy characterized by myoclonic-atic and absence seizures, appearing in early childhood. Patients have delayed development before the onset of seizures and show varying degrees of intellectual disability following seizure onset. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P35523	Myotonia congenita, autosomal dominant (MCAD) [MIM:160800]: A non-dystrophic skeletal muscle disorder characterized by muscle stiffness and an inability of the muscle to relax after voluntary contraction. Most patients have symptom onset in the legs, which later progresses to the arms, neck, and facial muscles. Many patients show marked hypertrophy of the lower limb muscles. The autosomal dominant form (Thomsen disease) is less common and less severe than the autosomal recessive one (Becker disease). A milder form of autosomal dominant myotonia is characterized by isolated myotonia without muscle weakness, hypotrophy, or hypertrophy (myotonia levior). Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Myotonia congenita, autosomal recessive (MCAR) [MIM:255700]: A non-dystrophic skeletal muscle disorder characterized by muscle stiffness and an inability of the muscle to relax after voluntary contraction. Most patients have symptom onset in the legs, which later progresses to the arms, neck, and facial muscles. Many patients show marked hypertrophy of the lower limb muscles. The autosomal recessive form (Becker disease) is more severe than the autosomal dominant one (Thomsen disease). Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>P35606</u>	Microcephaly 19, primary, autosomal recessive (MCPH19) [MIM:617800]: A form of microcephaly, a disease defined as a head circumference more than 3 standard deviations below the age, sex and ethnically matched mean. Brain weight is markedly reduced and the cerebral cortex is disproportionately small. MCPH19 affected individuals manifest severe developmental delay, failure to thrive, cortical blindness, and spasticity. Brain imaging show a simplified gyral pattern, thin corpus callosum, slight ventricular dilation, and delayed myelination. Note=The disease may be caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>P36871</u>	Congenital disorder of glycosylation 1T (CDG1T) [MIM:614921]: A form of congenital disorder of glycosylation, a multisystem disorder caused by a defect in glycoprotein biosynthesis and characterized by under-glycosylated serum glycoproteins. Congenital disorders of glycosylation result in a wide variety of clinical features, such as defects in the nervous system development, psychomotor retardation, dysmorphic features, hypotonia, coagulation disorders, and immunodeficiency. The broad spectrum of features reflects the critical role of N-glycoproteins during embryonic development, differentiation, and maintenance of cell functions. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P48509	Nephropathy with pretibial epidermolysis bullosa and deafness (NPEBD) [MIM:609057]: A disorder characterized by the association of hereditary nephritis, epidermolysis bullosa, deafness, and beta-thalassemia minor. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>P49918</u>	Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS) [MIM:130650]: A disorder characterized by anterior abdominal wall defects including exomphalos (omphalocele), pre- and postnatal overgrowth, and macroglossia. Additional less frequent complications include specific developmental defects and a predisposition to embryonal tumors. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Intrauterine growth retardation, metaphyseal dysplasia, adrenal hypoplasia congenita, and genital anomalies (IMAGE) [MIM:614732]: A rare condition characterized by intrauterine growth restriction, metaphyseal dysplasia, congenital adrenal hypoplasia, and genital anomalies. Patients with this condition may present shortly after birth with severe adrenal insufficiency, which can be life-threatening if not recognized early and commenced on steroid replacement therapy. Other reported features in this condition include, hypercalciuria and/or hypercalcemia, craniosynostosis, cleft palate, and scoliosis. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P50148	Capillary malformations, congenital (CMC) [MIM:163000]: A form of vascular malformations that are present from birth, tend to grow with the individual, do not regress spontaneously, and show normal rates of endothelial cell turnover. Capillary malformations are distinct from capillary hemangiomas, which are highly proliferative lesions that appear shortly after birth and show rapid growth, slow involution, and endothelial hypercellularity. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Sturge-Weber syndrome (SWS) [MIM:185300]: A syndrome characterized by an intracranial vascular anomaly, leptomeningeal angiomatosis, most often involving the occipital and posterior parietal lobes. The most common features are facial cutaneous vascular malformations (port-wine stains), seizures, and glaucoma. Stasis results in ischemia underlying the leptomeningeal angiomatosis, leading to calcification and laminar cortical necrosis. The clinical course is highly variable and some children experience intractable seizures, mental retardation, and recurrent stroke-like episodes. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.

P51159	Griscelli syndrome 2 (GS2) [MIM:607624]: Rare autosomal recessive disorder that results in pigmentary dilution of the skin and hair, the presence of large clumps of pigment in hair shafts, and an accumulation of melanosomes in melanocytes. GS2 patients also develop an uncontrolled T-lymphocyte and macrophage activation syndrome, known as hemophagocytic syndrome, leading to death in the absence of bone marrow transplantation. Neurological impairment is present in some patients, likely as a result of hemophagocytic syndrome. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P51800	Bartter syndrome 4B, neonatal, with sensorineural deafness (BARTS4B) [MIM:613090]: A digenic form of Bartter syndrome, an autosomal recessive disorder characterized by impaired salt reabsorption in the thick ascending loop of Henle with pronounced salt wasting, hypokalemic metabolic alkalosis, and varying degrees of hypercalciuria. BARTS4B is associated with sensorineural deafness. Note=The disease is caused by mutations affecting distinct genetic loci, including the gene represented in this entry. Loss-of-function of both CLCNKA and CLCNKB results in the disease phenotype (PubMed:18310267).
P51801	Bartter syndrome 3 (BARTS3) [MIM:607364]: A form of Bartter syndrome, an autosomal recessive disorder characterized by impaired salt reabsorption in the thick ascending loop of Henle with pronounced salt wasting, hypokalemic metabolic alkalosis, and varying degrees of hypercalciuria. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Bartter syndrome 4B, neonatal, with sensorineural deafness (BARTS4B) [MIM:613090]: A digenic form of Bartter syndrome, an autosomal recessive disorder characterized by impaired salt reabsorption in the thick ascending loop of Henle with pronounced salt wasting, hypokalemic metabolic alkalosis, and varying degrees of hypercalciuria. BARTS4B is associated with sensorineural deafness. Note=The disease is caused by mutations affecting distinct genetic loci, including the gene represented in this entry. Loss-of-function of both CLCNKA and CLCNKB results in the disease phenotype (PubMed:18310267).
P61764	Epileptic encephalopathy, early infantile, 4 (EIEE4) [MIM:612164]: A severe form of epilepsy characterized by frequent tonic seizures or spasms beginning in infancy with a specific EEG finding of suppression-burst patterns, characterized by high-voltage bursts alternating with almost flat suppression phases. Affected individuals have neonatal or infantile onset of seizures, profound mental retardation, and MRI evidence of brain hypomyelination. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
P98177	A chromosomal aberration involving FOXO4 is found in acute leukemias. Translocation t(X;11)(q13;q23) with KMT2A/MLL1. The result is a rogue activator protein.
Q01668	Sinoatrial node dysfunction and deafness (SANDD) [MIM:614896]: A disease characterized by congenital severe to profound deafness without vestibular dysfunction, associated with episodic syncope due to intermittent pronounced bradycardia. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Primary aldosteronism, seizures, and neurologic abnormalities (PASNA) [MIM:615474]: A disorder characterized by hypertension, hypokalemia, and high aldosterone levels with low plasma renin activity and an elevated aldosterone/renin ratio. Other features include generalized seizures, cerebral palsy, spasticity, intellectual disability, and developmental delay. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Note=Gain of function variations affecting the gene represented in this entry may be associated with susceptibility to autism spectrum disorders.
Q02297	A chromosomal aberration involving NRG1 produces gamma-hereregulin. Translocation t(8;11) with TENM4. The translocation fuses the 5'-end of TENM4 to NRG1 (isoform 8). The product of this translocation was first thought to be an alternatively spliced isoform. Gamma-hereregulin is a soluble activating ligand for the ERBB2-ERBB3 receptor complex and acts as an autocrine growth factor in a specific breast cancer cell line (MDA-MB-175). Not detected in breast carcinoma samples, including ductal, lobular, medullary, and mucinous histological types, neither in other breast cancer cell lines.
Q02962	Papillorenal syndrome (PAPRS) [MIM:120330]: An autosomal dominant disorder characterized by both ocular and renal anomalies, but may also include vesicoureteral reflux, high frequency hearing loss, central nervous system anomalies, and/or genital anomalies. Eye anomalies in this disorder consist of a wide and sometimes excavated dysplastic optic disk with the emergence of the retinal vessels from the periphery of the disk, designated optic nerve coloboma or 'moming glory' anomaly. Associated findings may include a small corneal diameter, retinal coloboma, scleral staphyloma, optic nerve cyst, microphthalmia, and pigmentary macular dysplasia. The kidneys are small and abnormally formed (renal hypodysplasia), and have fewer than the normal number of glomeruli, which are enlarged (oligomeganephronia). These ocular and renal anomalies result in decreased visual acuity and retinal detachment, as well as hypertension, proteinuria, and renal insufficiency that frequently progresses to end-stage renal disease. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Focal segmental glomerulosclerosis 7 (FSGS7) [MIM:616002]: A renal pathology defined by the presence of segmental sclerosis in glomeruli and resulting in proteinuria, reduced glomerular filtration rate and progressive decline in renal function. Renal insufficiency often progresses to end-stage renal disease, a highly morbid state requiring either dialysis therapy or kidney transplantation. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q04446	Glycogen storage disease 4 (GSD4) [MIM:232500]: A metabolic disorder characterized by the accumulation of an amylopectin-like polysaccharide. The typical clinical manifestation is liver disease of childhood, progressing to lethal hepatic cirrhosis. Most children with this condition die before two years of age. However, the liver disease is not always progressive. No treatment apart from liver transplantation has been found to prevent progression of the disease. There is also a neuromuscular form of glycogen storage disease type 4 that varies in onset (perinatal, congenital, juvenile, or adult) and severity. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Note=Neuromuscular perinatal glycogen storage disease type 4 is associated with non-immune hydrops fetalis, a generalized edema of the fetus with fluid accumulation in the body cavities due to non-immune causes. Non-immune hydrops fetalis is not a diagnosis in itself but a symptom, a feature of many genetic disorders, and the end-stage of a wide variety of disorders.; Polyglucosan body neuropathy, adult form (APBN) [MIM:263570]: A late-onset, slowly progressive disorder affecting the central and peripheral nervous systems. Patients typically present after age 40 years with a variable combination of cognitive impairment, pyramidal tetraparesis, peripheral neuropathy, and neurogenic bladder. Other manifestations include cerebellar dysfunction and extrapyramidal signs. The pathologic hallmark of APBN is the widespread accumulation of round, intracellular polyglucosan bodies throughout the nervous system, which are confined to neuronal and astrocytic processes. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q04656	Menkes disease (MNKD) [MIM:309400]: An X-linked recessive disorder of copper metabolism characterized

	by generalized copper deficiency. MNKD results in progressive neurodegeneration and connective-tissue disturbances: focal cerebral and cerebellar degeneration, early growth retardation, peculiar hair, hypopigmentation, cutis laxa, vascular complications and death in early childhood. The clinical features result from the dysfunction of several copper-dependent enzymes. A mild form of the disease has been described, in which cerebellar ataxia and moderate developmental delay predominate. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Occipital horn syndrome (OHS) [MIM:304150]: An X-linked recessive disorder of copper metabolism. Common features are unusual facial appearance, skeletal abnormalities, chronic diarrhea and genitourinary defects. The skeletal abnormalities include occipital horns, short, broad clavicles, deformed radii, ulnae and humeri, narrowing of the rib cage, undercalcified long bones with thin cortical walls and coxa valga. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Distal spinal muscular atrophy, X-linked, 3 (DSMAX3) [MIM:300489]: A neuromuscular disorder. Distal spinal muscular atrophy, also known as distal hereditary motor neuronopathy, represents a heterogeneous group of neuromuscular disorders caused by selective degeneration of motor neurons in the anterior horn of the spinal cord, without sensory deficit in the posterior horn. The overall clinical picture consists of a classical distal muscular atrophy syndrome in the legs without clinical sensory loss. The disease starts with weakness and wasting of distal muscles of the anterior tibial and peroneal compartments of the legs. Later on, weakness and atrophy may expand to the proximal muscles of the lower limbs and/or to the distal upper limbs. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>Q13127</u>	Wilms tumor 6 (WT6) [MIM:616806]: A pediatric malignancy of kidney, and the most common childhood abdominal malignancy. It is caused by the uncontrolled multiplication of renal stem, stromal, and epithelial cells. Note=Disease susceptibility is associated with variations affecting the gene represented in this entry.; Fibromatosis, gingival, 5 (GINGF5) [MIM:617626]: An autosomal dominant form of hereditary gingival fibromatosis, a rare condition characterized by a slow, progressive overgrowth of the gingiva. The excess gingival tissue can cover part of or the entire crown, and can result in diastemas, teeth displacement, or retention of primary or impacted teeth. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>Q13535</u>	Seckel syndrome 1 (SCKL1) [MIM:210600]: A rare autosomal recessive disorder characterized by proportionate dwarfism of prenatal onset associated with low birth weight, growth retardation, severe microcephaly with a bird-headed like appearance, and mental retardation. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Cutaneous telangiectasia and cancer syndrome, familial (FCTCS) [MIM:614564]: A disease characterized by cutaneous telangiectases in infancy with patchy alopecia over areas of affected skin, thinning of the lateral eyebrows, and mild dental and nail anomalies. Affected individuals are at increased risk of developing oropharyngeal cancer, and other malignancies have been reported as well. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q14028	Retinitis pigmentosa 45 (RP45) [MIM:613767]: A retinal dystrophy belonging to the group of pigmentary retinopathies. Retinitis pigmentosa is characterized by retinal pigment deposits visible on fundus examination and primary loss of rod photoreceptor cells followed by secondary loss of cone photoreceptors. Patients typically have night vision blindness and loss of midperipheral visual field. As their condition progresses, they lose their far peripheral visual field and eventually central vision as well. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q14721	Epileptic encephalopathy, early infantile, 26 (EIEE26) [MIM:616056]: A form of epileptic encephalopathy, a heterogeneous group of severe childhood onset epilepsies characterized by refractory seizures, neurodevelopmental impairment, and poor prognosis. Development is normal prior to seizure onset, after which cognitive and motor delays become apparent. EIEE26 patients manifest multiple types of seizures, delayed psychomotor development, poor or absent speech, hypotonia, hypsarrhythmia. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>Q14749</u>	Glycine N-methyltransferase deficiency (GNMT deficiency) [MIM:606664]: The only clinical abnormalities in patients with this deficiency are mild hepatomegaly and chronic elevation of serum transaminases. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q16281	Achromatopsia 2 (ACHM2) [MIM:216900]: An autosomal recessive, ocular stationary disorder due to the absence of functioning cone photoreceptors in the retina. It is characterized by total colorblindness, low visual acuity, photophobia and nystagmus. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q16633	A chromosomal aberration involving POU2AF1/OBF1 may be a cause of a form of B-cell leukemia. Translocation t(3;11)(q27;q23) with BCL6.
<u>Q53EZ4</u>	Multinucleated neurons, anhydramnios, renal dysplasia, cerebellar hypoplasia and hydranencephaly (MARCH) [MIM:236500]: An autosomal recessive, congenital disease characterized by severe hydranencephaly with multinucleated neurons, renal aplasia or dysplasia, and hypoplastic kidneys. Hydranencephaly is an anomaly leading to replacement of the cerebral hemispheres with a fluid-filled cyst. MARCH results in death in utero or in the perinatal period. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>Q75T13</u>	Mental retardation, autosomal recessive 42 (MRT42) [MIM:615802]: A disorder characterized by significantly below average general intellectual functioning associated with impairments in adaptive behavior and manifested during the developmental period. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q7Z3Z0	Woolly hair autosomal recessive 3 (ARWH3) [MIM:616760]: A hair shaft disorder characterized by fine and tightly curled hair. Compared to normal curly hair that is observed in some populations, woolly hair grows slowly and stops growing after a few inches. Under light microscopy, woolly hair shows some structural anomalies, including trichorrhexis nodosa and tapered ends. Some individuals may present with hypotrichosis. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>Q86UK5</u>	Ellis-van Creveld syndrome (EVC) [MIM:225500]: An autosomal recessive condition characterized by the clinical tetrad of chondrodystrophy, polydactyly, ectodermal dysplasia and cardiac anomalies. Patients manifest short-limb dwarfism, short ribs, postaxial polydactyly, and dysplastic nails and teeth. Congenital heart defects, most commonly an atrioventricular septal defect, are observed in 60% of affected individuals. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Acrofacial dysostosis, Weyers type (WAD) [MIM:193530]: An autosomal dominant condition characterized by dysplastic nails, postaxial polydactyly, dental anomalies, short limbs, short stature and normal intelligence. The phenotype is

	milder than Ellis-van Creveld syndrome. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q86UR5	Cone-rod dystrophy 7 (CORD7) [MIM:603649]: An inherited retinal dystrophy characterized by retinal pigment deposits visible on fundus examination, predominantly in the macular region, and initial loss of cone photoreceptors followed by rod degeneration. This leads to decreased visual acuity and sensitivity in the central visual field, followed by loss of peripheral vision. Severe loss of vision occurs earlier than in retinitis pigmentosa, due to cone photoreceptors degenerating at a higher rate than rod photoreceptors. Note=The disease may be caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q8N138	Asthma (ASTHMA) [MIM:600807]: The most common chronic disease affecting children and young adults. It is a complex genetic disorder with a heterogeneous phenotype, largely attributed to the interactions among many genes and between these genes and the environment. It is characterized by recurrent attacks of paroxysmal dyspnea, with wheezing due to spasmodic contraction of the bronchi. Note=Disease susceptibility is associated with variations affecting the gene represented in this entry.
<u>Q8NFH4</u>	Microcephaly 24, primary, autosomal recessive (MCPH24) [MIM:609264]: A form of microcephaly, a disease defined as a head circumference more than 3 standard deviations below the age, sex and ethnically matched mean. Brain weight is markedly reduced and the cerebral cortex is disproportionately small. MCPH24 patients additionally manifest mildly impaired intellectual development, cerebellar vermis hypoplasia, and fifth finger clinodactyly. Note=The disease may be caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q8WWV3	Optic atrophy 10 with or without ataxia, mental retardation, and seizures (OPA10) [MIM:616732]: An autosomal recessive disease characterized by progressive visual loss in association with optic atrophy. Atrophy of the optic disk indicates a deficiency in the number of nerve fibers which arise in the retina and converge to form the optic disk, optic nerve, optic chiasm and optic tracts. OPA10 patients may also manifest mild ataxia, mild mental retardation and, rarely, generalized seizures. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q92932	Autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM).
Q96AY3	Osteogenesis imperfecta 11 (OI11) [MIM:610968]: A form of osteogenesis imperfecta, a connective tissue disorder characterized by low bone mass, bone fragility and susceptibility to fractures after minimal trauma. Disease severity ranges from very mild forms without fractures to intrauterine fractures and perinatal lethality. Extraskelatal manifestations, which affect a variable number of patients, are dentinogenesis imperfecta, hearing loss, and blue sclerae. OI11 is an autosomal recessive form. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Bruck syndrome 1 (BRKS1) [MIM:259450]: A disease characterized by generalized osteopenia, congenital joint contractures, fragile bones with onset of fractures in infancy or early childhood, short stature, severe limb deformity, progressive scoliosis, and pterygia. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>Q96HY7</u>	Charcot-Marie-Tooth disease 2Q (CMT2Q) [MIM:615025]: An axonal form of Charcot-Marie-Tooth disease, a disorder of the peripheral nervous system, characterized by progressive weakness and atrophy, initially of the peroneal muscles and later of the distal muscles of the arms. Charcot-Marie-Tooth disease is classified in two main groups on the basis of electrophysiologic properties and histopathology: primary peripheral demyelinating neuropathies (designated CMT1 when they are dominantly inherited) and primary peripheral axonal neuropathies (CMT2). Neuropathies of the CMT2 group are characterized by signs of axonal degeneration in the absence of obvious myelin alterations, normal or slightly reduced nerve conduction velocities, and progressive distal muscle weakness and atrophy. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; 2-aminoadipic 2-oxoadipic aciduria (AMOXAD) [MIM:204750]: A metabolic disorder characterized by increased levels of 2-oxoadipate and 2-hydroxyadipate in the urine, and elevated 2-aminoadipate in the plasma. Patients can have mild to severe intellectual disability, muscular hypotonia, developmental delay, ataxia, and epilepsy. Most cases are asymptomatic. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
<u>Q96J92</u>	Pseudohypoaldosteronism 2B (PHA2B) [MIM:614491]: An autosomal dominant disorder characterized by hypertension, hyperkalemia, hyperchloremia, mild hyperchloremic metabolic acidosis, and correction of physiologic abnormalities by thiazide diuretics. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.
Q96RL7 Q9NSU2	Choreoacanthocytosis (CHAC) [MIM:200150]: An autosomal recessive neurodegenerative disorder characterized by the gradual onset of hyperkinetic movements and abnormal erythrocyte morphology. Basal ganglia atrophy in the brain is a pathological feature of the disease. Other clinical symptoms include psychiatric features, epilepsy, peripheral neuropathy, myopathy and oral self-mutilation. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry. Aicardi-Goutieres syndrome 1 (AGS1) [MIM:225750]: A form of Aicardi-Goutieres syndrome, a genetically heterogeneous disease characterized by cerebral atrophy, leukoencephalopathy, intracranial calcifications, chronic cerebrospinal fluid (CSF) lymphocytosis, increased CSF alpha-interferon, and negative serologic investigations for common prenatal infection. Clinical features as thrombocytopenia, hepatosplenomegaly and elevated hepatic transaminases along with intermittent fever may erroneously suggest an infective process. Severe neurological dysfunctions manifest in infancy as progressive microcephaly, spasticity, dystonic posturing and profound psychomotor retardation. Death often occurs in early childhood. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Systemic lupus erythematosus (SLE) [MIM:152700]: A chronic, relapsing, inflammatory, and often febrile multisystemic disorder of connective tissue, characterized principally by involvement of the skin, joints, kidneys and serosal membranes. It is of unknown etiology, but is thought to represent a failure of the regulatory mechanisms of the autoimmune system. The disease is marked by a wide range of system dysfunctions, an elevated erythrocyte sedimentation rate, and the formation of LE cells in the blood or bone marrow. Note=Disease susceptibility is associated with variations affecting the gene represented in this entry. Enhanced immune sensing of oxidized DNA may be involved in the phototoxicity experienced by SLE patients. Exposure to UV-light produces DNA oxidative damage. Oxidized DNA being a poor TREX1 substrate, it accumulates in skin, leading to enhanced autoimmune reactivity and eventually skin lesions (PubMed:23993650).; Chilblain lupus 1 (CHBL1) [MIM:610448]: A rare cutaneous form of lupus erythematosus. Affected individuals present with painful bluish-red papular or nodular lesions of the skin in acral locations precipitated by cold and wet exposure at temperatures less than 10 degrees centigrade. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Vasculopathy, retinal, with cerebral leukodystrophy (RVCL) [MIM:192315]: A

microvascular endotheliopathy resulting in central nervous system degeneration and retinopathy, with progressive loss of vision, stroke, motor impairment, and cognitive decline. The ocular manifestations are characterized by telangiectasias, microaneurysms and retinal capillary obliteration starting in the macula. Diseased cerebral white matter has prominent small infarcts that often coalesce to pseudotumors. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.

Q9UM54

Deafness, autosomal dominant, 22 (DFNA22) [MIM:606346]: A form of non-syndromic sensorineural hearing loss. Sensorineural deafness results from damage to the neural receptors of the inner ear, the nerve pathways to the brain, or the area of the brain that receives sound information. DFNA22 is progressive and postlingual, with onset during childhood. By the age of approximately 50 years, affected individuals invariably have profound sensorineural deafness. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Deafness, autosomal recessive, 37 (DFNB37) [MIM:607821]: A form of non-syndromic sensorineural hearing loss. Sensorineural deafness results from damage to the neural receptors of the inner ear, the nerve pathways to the brain, or the area of the brain that receives sound information. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.; Deafness, autosomal dominant 22, with hypertrophic cardiomyopathy (DFNHCM) [MIM:606346]: An autosomal dominant sensorineural deafness associated with hypertrophic cardiomyopathy. Note=The disease is caused by mutations affecting the gene represented in this entry.

Q9Y4L1

Immunodeficiency 59 and hypoglycemia (IMD59) [MIM:601746]: An autosomal recessive primary immunologic disorder characterized by combined immunodeficiency, granulocytopenia, B-cell and dendritic cell deficiency, recurrent septic infections of the respiratory tract, skin and mucous membranes, and disturbed glucose metabolism. Note=The disease may be caused by mutations affecting the gene represented in this entry.

*Proteínas vizinhas destacadas em **negrito** correspondem as proteínas que apresentaram maiores alterações em relação a duas medidas topológicas (*degree* (k) e *betweenness*), dados obtidos pelo software WEKA. As proteínas sublinhadas representam proteínas já associadas a doenças e relatadas na literatura, dados obtidos pelo banco de dados UniProt.

ANEXO XIII

Tabela XIII.1 – Principais vias KEGG obtidas por meio de uma análise de enriquecimento das proteínas vizinhas (n = 151). Quantidade de proteínas vizinhas em cada via identificada.

KEGG		Número de proteínas vizinhas por via
ID	Vias	
hsa 01100	Metabolic pathways	18
hsa 05200	Pathways in cancer	9
hsa 04916	Melanogenesis	8
hsa 04022	cGMP-PKG signaling pathway	8
hsa 04024	cAMP signaling pathway	8
hsa 04934	Cushing syndrome	8
hsa 04921	Oxytocin signaling pathway	7
hsa 05163	Human cytomegalovirus infection	7
hsa 03030	DNA replication	6
hsa 04925	Aldosterone synthesis and secretion	6
hsa 04310	Wnt signaling pathway	6
hsa 04723	Retrograde endocannabinoid signaling	6
hsa 04910	Insulin signaling pathway	6
hsa 04270	Vascular smooth muscle contraction	6
hsa 04728	Dopaminergic synapse	6
hsa 04713	Circadian entrainment	6
hsa 05165	Human papillomavirus infection	6
hsa 05170	Human immunodeficiency virus 1 infection	6
hsa 04725	Cholinergic synapse	6
hsa 04130	SNARE interactions in vesicular transport	6
hsa 04915	Estrogen signaling pathway	6
hsa 04912	GnRH signaling pathway	5
hsa 05205	Proteoglycans in cancer	5
hsa 04911	Insulin secretion	5
hsa 04927	Cortisol synthesis and secretion	5
hsa 04924	Renin secretion	5
hsa 04935	Growth hormone synthesis, secretion and action	5
hsa 04261	Adrenergic signaling in cardiomyocytes	5
hsa 04020	Calcium signaling pathway	5
hsa 04928	Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	5
hsa 04014	Ras signaling pathway	5
hsa 04922	Glucagon signaling pathway	5
hsa 04218	Cellular senescence	5
hsa 04371	Apelin signaling pathway	4
hsa 04714	Thermogenesis	4
hsa 04962	Vasopressin-regulated water reabsorption	4
hsa 05034	Alcoholism	4
hsa 04726	Serotonergic synapse	4
hsa 05031	Amphetamine addiction	4

hsa 04550	Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	4
hsa 04530	Tight junction	4
hsa 04724	Glutamatergic synapse	4
hsa 04721	Synaptic vesicle cycle	4
hsa 04918	Thyroid hormone synthesis	4
hsa 03430	Mismatch repair	4
hsa 04211	Longevity regulating pathway	4
hsa 03440	Homologous recombination	4
hsa 04740	Olfactory transduction	4
hsa 04727	GABAergic synapse	4
hsa 04015	Rap1 signaling pathway	4
hsa 03420	Nucleotide excision repair	4
hsa 04150	mTOR signaling pathway	4
hsa 05010	Alzheimer disease	3
hsa 05206	MicroRNAs in cancer	3
hsa 05130	Pathogenic Escherichia coli infection	3
hsa 05016	Huntington disease	3
hsa 03410	Base excision repair	3
hsa 04971	Gastric acid secretion	3
hsa 05226	Gastric cancer	3
hsa 05418	Fluid shear stress and atherosclerosis	3
hsa 04140	Autophagy - animal	3
hsa 04540	Gap junction	3
hsa 04390	Hippo signaling pathway	3
hsa 04720	Long-term potentiation	3
hsa 04110	Cell cycle	3
hsa 04213	Longevity regulating pathway - multiple species	3
hsa 05224	Breast cancer	3
hsa 05203	Viral carcinogenesis	3
hsa 05152	Tuberculosis	3
hsa 04929	GnRH secretion	3
hsa 04744	Phototransduction	3
hsa 04970	Salivary secretion	3
hsa 04068	FoxO signaling pathway	3
hsa 04750	Inflammatory mediator regulation of TRP channels	3
hsa 04010	MAPK signaling pathway	3
hsa 05142	Chagas disease (American trypanosomiasis)	3
hsa 04611	Platelet activation	3
hsa 05131	Shigellosis	3
hsa 05166	Human T-cell leukemia virus 1 infection	3
hsa 04722	Neurotrophin signaling pathway	3
hsa 05217	Basal cell carcinoma	3
hsa 04730	Long-term depression	3
hsa 05146	Amoebiasis	3
hsa 04926	Relaxin signaling pathway	3
hsa 05225	Hepatocellular carcinoma	3

hsa 04152	AMPK signaling pathway	3
hsa 04062	Chemokine signaling pathway	3
hsa 03013	RNA transport	3
hsa 04360	Axon guidance	3
hsa 04141	Protein processing in endoplasmic reticulum	2
hsa 05164	Influenza A	2
hsa 05110	Vibrio cholerae infection	2
hsa 04810	Regulation of actin cytoskeleton	2
hsa 04520	Adherens junction	2
hsa 03460	Fanconi anemia pathway	2
hsa 04961	Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	2
hsa 05410	Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	2
hsa 04146	Peroxisome	2
hsa 04012	ErbB signaling pathway	2
hsa 05414	Dilated cardiomyopathy (DCM)	2
hsa 04621	NOD-like receptor signaling pathway	2
hsa 04072	Phospholipase D signaling pathway	2
hsa 04137	Mitophagy - animal	2
hsa 04710	Circadian rhythm	2
hsa 05162	Measles	2
hsa 04340	Hedgehog signaling pathway	2
hsa 05032	Morphine addiction	2
hsa 04114	Oocyte meiosis	2
hsa 04931	Insulin resistance	2
hsa 00561	Glycerolipid metabolism	2
hsa 04923	Regulation of lipolysis in adipocytes	2
hsa 01521	EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	2
hsa 04510	Focal adhesion	2
hsa 04976	Bile secretion	2
hsa 05167	Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	2
hsa 03040	Spliceosome	2
hsa 05030	Cocaine addiction	2
hsa 04151	PI3K-Akt signaling pathway	2
hsa 04071	Sphingolipid signaling pathway	2
hsa 04972	Pancreatic secretion	2
hsa 04660	T cell receptor signaling pathway	2
hsa 05133	Pertussis	2
hsa 00500	Starch and sucrose metabolism	2
hsa 00020	Citrate cycle (TCA cycle)	2
hsa 00230	Purine metabolism	2
hsa 04625	C-type lectin receptor signaling pathway	2
hsa 00130	Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	2
hsa 03320	PPAR signaling pathway	1
hsa 04136	Autophagy - other	1
hsa 05223	Non-small cell lung cancer	1
hsa 03008	Ribosome biogenesis in eukaryotes	1

hsa 00062	Fatty acid elongation	1
hsa 00380	Tryptophan metabolism	1
hsa 00010	Glycolysis / Gluconeogenesis	1
hsa 04350	TGF-beta signaling pathway	1
hsa 05213	Endometrial cancer	1
hsa 00260	Glycine, serine and threonine metabolism	1
hsa 05012	Parkinson disease	1
hsa 04217	Necroptosis	1
hsa 01522	Endocrine resistance	1
hsa 05204	Chemical carcinogenesis	1
hsa 04913	Ovarian steroidogenesis	1
hsa 04612	Antigen processing and presentation	1
hsa 00360	Phenylalanine metabolism	1
hsa 00052	Galactose metabolism	1
hsa 00220	Arginine biosynthesis	1
hsa 00480	Glutathione metabolism	1
hsa 00513	Various types of N-glycan biosynthesis	1
hsa 05215	Prostate cancer	1
hsa 00310	Lysine degradation	1
hsa 05169	Epstein-Barr virus infection	1
hsa 02010	ABC transporters	1
hsa 00520	Amino sugar and nucleotide sugar metabolism	1
hsa 04919	Thyroid hormone signaling pathway	1
hsa 00140	Steroid hormone biosynthesis	1
hsa 05160	Hepatitis C	1
hsa 04932	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	1
hsa 05150	Staphylococcus aureus infection	1
hsa 01524	Platinum drug resistance	1
hsa 04260	Cardiac muscle contraction	1
hsa 05100	Bacterial invasion of epithelial cells	1
hsa 00564	Glycerophospholipid metabolism	1
hsa 04742	Taste transduction	1
hsa 04210	Apoptosis	1
hsa 05168	Herpes simplex virus 1 infection	1
hsa 00030	Pentose phosphate pathway	1
hsa 05412	Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	1
hsa 05235	PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	1
hsa 05145	Toxoplasmosis	1
hsa 04623	Cytosolic DNA-sensing pathway	1
hsa 00350	Tyrosine metabolism	1
hsa 01212	Fatty acid metabolism	1
hsa 05135	Yersinia infection	1
hsa 04216	Ferroptosis	1
hsa 04670	Leukocyte transendothelial migration	1
hsa 00510	N-Glycan biosynthesis	1
hsa 04144	Endocytosis	1

hsa 04914	Progesterone-mediated oocyte maturation	1
hsa 05211	Renal cell carcinoma	1
hsa 01200	Carbon metabolism	1
hsa 05214	Glioma	1
hsa 00590	Arachidonic acid metabolism	1
hsa 04064	NF-kappa B signaling pathway	1
hsa 04978	Mineral absorption	1
hsa 05202	Transcriptional misregulation in cancer	1
hsa 04930	Type II diabetes mellitus	1
hsa 04917	Prolactin signaling pathway	1
hsa 04920	Adipocytokine signaling pathway	1
hsa 00980	Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	1
hsa 04975	Fat digestion and absorption	1
hsa 00563	Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis	1
hsa 05017	Spinocerebellar ataxia	1
hsa 05020	Prion diseases	1
hsa 05161	Hepatitis B	1
hsa 05222	Small cell lung cancer	1
hsa 04973	Carbohydrate digestion and absorption	1
hsa 04966	Collecting duct acid secretion	1
hsa 01040	Biosynthesis of unsaturated fatty acids	1
hsa 04145	Phagosome	1
hsa 01230	Biosynthesis of amino acids	1
hsa 05210	Colorectal cancer	1
hsa 04115	p53 signaling pathway	1
hsa 05143	African trypanosomiasis	1
hsa 04070	Phosphatidylinositol signaling system	1
hsa 00250	Alanine, aspartate and glutamate metabolism	1
hsa 04940	Type I diabetes mellitus	1
hsa 04668	TNF signaling pathway	1
hsa 04380	Osteoclast differentiation	1

Tabela XIII.2 – Principais vias KEGG em que cada proteína vizinha (n = 151) atua.

Proteínas vizinhas* (n = 151)	KEGG		Quantidade de vias
	ID	Vias	
O00399	hsa 04962	Vasopressin-regulated water reabsorption	1
O00628	hsa 04146	Peroxisome	1
O00755	hsa 05200	Pathways in cancer	13
	hsa 04934	Cushing syndrome	
	hsa 04916	Melanogenesis	
	hsa 05165	Human papillomavirus infection	
	hsa 04310	Wnt signaling pathway	
	hsa 05205	Proteoglycans in cancer	
	hsa 04150	mTOR signaling pathway	
	hsa 04550	Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	
	hsa 05225	Hepatocellular carcinoma	
	hsa 04390	Hippo signaling pathway	
	hsa 05226	Gastric cancer	
	hsa 05224	Breast cancer	
	hsa 05217	Basal cell carcinoma	
O14653	hsa 04130	SNARE interactions in vesicular transport	1
O14979	-	-	-
O15079	-	-	-
O43524	hsa 04218	Cellular senescence	14
	hsa 04211	Longevity regulating pathway	
	hsa 04722	Neurotrophin signaling pathway	
	hsa 04062	Chemokine signaling pathway	
	hsa 04213	Longevity regulating pathway - multiple species	
	hsa 05131	Shigellosis	
	hsa 04152	AMPK signaling pathway	
	hsa 04068	FoxO signaling pathway	
	hsa 04137	Mitophagy - animal	
	hsa 04151	PI3K-Akt signaling pathway	
	hsa 01521	EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	
	hsa 04917	Prolactin signaling pathway	
	hsa 05213	Endometrial cancer	
	hsa 05223	Non-small cell lung cancer	
O43581	-	-	-
O43741	hsa 04921	Oxytocin signaling pathway	15
	hsa 04910	Insulin signaling pathway	
	hsa 04922	Glucagon signaling pathway	
	hsa 04211	Longevity regulating pathway	
	hsa 04530	Tight junction	
	hsa 04714	Thermogenesis	
	hsa 04371	Apelin signaling pathway	
	hsa 04213	Longevity regulating pathway - multiple species	
	hsa 04152	AMPK signaling pathway	
	hsa 04068	FoxO signaling pathway	
	hsa 04931	Insulin resistance	
	hsa 04710	Circadian rhythm	
	hsa 05410	Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	
	hsa 04932	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	
	hsa 04920	Adipocytokine signaling pathway	
O60524	-	-	-
O60706	hsa 02010	ABC transportes	1
O75112	-	-	-
O75558	hsa 04130	SNARE interactions in vesicular transport	1
O95352	hsa 04140	Autophagy - animal	3

	hsa 04136	Autophagy - other	
	hsa 04216	Ferroptosis	
<u>O95831</u>	hsa 04217	Necroptosis	2
	hsa 04210	Apoptosis	
P00390	hsa 01100	Metabolic pathways	
	hsa 04918	Thyroid hormone synthesis	3
	hsa 00480	Glutathione metabolism	
<u>P00966</u>	hsa 01100	Metabolic pathways	
	hsa 05418	Fluid shear stress and atherosclerosis	
	hsa 00220	Arginine biosynthesis	5
	hsa 01230	Biosynthesis of amino acids	
	hsa 00250	Alanine, aspartate and glutamate metabolism	
P00973	hsa 04621	NOD-like receptor signaling pathway	
	hsa 05164	Influenza A	
	hsa 05162	Measles	6
	hsa 05169	Epstein-Barr virus infection	
	hsa 05168	Herpes simplex virus 1 infection	
	hsa 05160	Hepatitis C	
<u>P07099</u>	hsa 04976	Bile secretion	
	hsa 05204	Chemical carcinogenesis	3
	hsa 00980	Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	
P08134	-	-	-
<u>P09471</u>	hsa 04916	Melanogenesis	
	hsa 04921	Oxytocin signaling pathway	
	hsa 05163	Human cytomegalovirus infection	
	hsa 04915	Estrogen signaling pathway	
	hsa 04713	Circadian entrainment	
	hsa 04725	Cholinergic synapse	
	hsa 05170	Human immunodeficiency virus 1 infection	
	hsa 04723	Retrograde endocannabinoid signaling	
	hsa 04728	Dopaminergic synapse	
	hsa 04726	Serotonergic synapse	19
	hsa 04015	Rap1 signaling pathway	
	hsa 05034	Alcoholism	
	hsa 04724	Glutamatergic synapse	
	hsa 04727	GABAergic synapse	
	hsa 04926	Relaxin signaling pathway	
	hsa 05142	Chagas disease (American trypanosomiasis)	
	hsa 04730	Long-term depression	
	hsa 05032	Morphine addiction	
	hsa 05145	Toxoplasmosis	
P0CG48	hsa 03320	PPAR signaling pathway	1
<u>P0DP25</u>	hsa 05200	Pathways in cancer	
	hsa 04024	cAMP signaling pathway	
	hsa 04022	cGMP-PKG signaling pathway	
	hsa 04916	Melanogenesis	
	hsa 04921	Oxytocin signaling pathway	
	hsa 05163	Human cytomegalovirus infection	
	hsa 04910	Insulin signaling pathway	
	hsa 04915	Estrogen signaling pathway	
	hsa 04270	Vascular smooth muscle contraction	40
	hsa 04713	Circadian entrainment	
	hsa 05170	Human immunodeficiency virus 1 infection	
	hsa 04925	Aldosterone synthesis and secretion	
	hsa 04728	Dopaminergic synapse	
	hsa 04912	GnRH signaling pathway	
	hsa 04922	Glucagon signaling pathway	
	hsa 04261	Adrenergic signaling in cardiomyocytes	
	hsa 04218	Cellular senescence	

	hsa 04020	Calcium signaling pathway	
	hsa 04014	Ras signaling pathway	
	hsa 04924	Renin secretion	
	hsa 04015	Rap1 signaling pathway	
	hsa 05034	Alcoholism	
	hsa 04740	Olfactory transduction	
	hsa 05031	Amphetamine addiction	
	hsa 04371	Apelin signaling pathway	
	hsa 05010	Alzheimer disease	
	hsa 04744	Phototransduction	
	hsa 04722	Neurotrophin signaling pathway	
	hsa 04970	Salivary secretion	
	hsa 04971	Gastric acid secretion	
	hsa 04750	Inflammatory mediator regulation of TRP channels	
	hsa 05152	Tuberculosis	
	hsa 04720	Long-term potentiation	
	hsa 05418	Fluid shear stress and atherosclerosis	
	hsa 05167	Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	
	hsa 04114	Oocyte meiosis	
	hsa 04625	C-type lectin receptor signaling pathway	
	hsa 05133	Pertussis	
	hsa 05214	Glioma	
	hsa 04070	Phosphatidylinositol signaling system	
P13861	hsa 04910	Insulin signaling pathway	1
<u>P14174</u>	hsa 01100	Metabolic pathways	
	hsa 00350	Tyrosine metabolism	3
	hsa 00360	Phenylalanine metabolism	
<u>P16220</u>	hsa 04024	cAMP signaling pathway	
	hsa 04022	cGMP-PKG signaling pathway	
	hsa 04934	Cushing syndrome	
	hsa 04916	Melanogenesis	
	hsa 05163	Human cytomegalovirus infection	
	hsa 04915	Estrogen signaling pathway	
	hsa 05165	Human papillomavirus infection	
	hsa 04713	Circadian entrainment	
	hsa 04725	Cholinergic synapse	
	hsa 04925	Aldosterone synthesis and secretion	
	hsa 04728	Dopaminergic synapse	
	hsa 04911	Insulin secretion	
	hsa 04927	Cortisol synthesis and secretion	
	hsa 04922	Glucagon signaling pathway	
	hsa 04261	Adrenergic signaling in cardiomyocytes	
	hsa 04928	Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	
	hsa 04935	Growth hormone synthesis, secretion and action	40
	hsa 04924	Renin secretion	
	hsa 04211	Longevity regulating pathway	
	hsa 04918	Thyroid hormone synthesis	
	hsa 05034	Alcoholism	
	hsa 04962	Vasopressin-regulated water reabsorption	
	hsa 05031	Amphetamine addiction	
	hsa 04714	Thermogenesis	
	hsa 05166	Human T-cell leukemia virus 1 infection	
	hsa 05203	Viral carcinogenesis	
	hsa 04926	Relaxin signaling pathway	
	hsa 05152	Tuberculosis	
	hsa 05016	Huntington disease	
	hsa 04152	AMPK signaling pathway	
	hsa 05030	Cocaine addiction	
	hsa 04931	Insulin resistance	
	hsa 05167	Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	

	hsa 04710	Circadian rhythm	
	hsa 04151	PI3K-Akt signaling pathway	
	hsa 04668	TNF signaling pathway	
	hsa 05161	Hepatitis B	
	hsa 05215	Prostate cancer	
	hsa 04380	Osteoclast differentiation	
	hsa 04612	Antigen processing and presentation	
P21579	hsa 04721	Synaptic vesicle cycle	1
P22059	-	-	-
P22694	hsa 05200	Pathways in cancer	
	hsa 04024	cAMP signaling pathway	
	hsa 04934	Cushing syndrome	
	hsa 04916	Melanogenesis	
	hsa 04921	Oxytocin signaling pathway	
	hsa 05163	Human cytomegalovirus infection	
	hsa 04910	Insulin signaling pathway	
	hsa 04915	Estrogen signaling pathway	
	hsa 04270	Vascular smooth muscle contraction	
	hsa 05165	Human papillomavirus infection	
	hsa 04713	Circadian entrainment	
	hsa 04725	Cholinergic synapse	
	hsa 04723	Retrograde endocannabinoid signaling	
	hsa 04310	Wnt signaling pathway	
	hsa 04925	Aldosterone synthesis and secretion	
	hsa 04728	Dopaminergic synapse	
	hsa 04911	Insulin secretion	
	hsa 04912	GnRH signaling pathway	
	hsa 04927	Cortisol synthesis and secretion	
	hsa 04922	Glucagon signaling pathway	
	hsa 04261	Adrenergic signaling in cardiomyocytes	
	hsa 04020	Calcium signaling pathway	
	hsa 04014	Ras signaling pathway	
	hsa 04928	Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	
	hsa 04935	Growth hormone synthesis, secretion and action	
	hsa 04924	Renin secretion	
	hsa 05205	Proteoglycans in cancer	
	hsa 04211	Longevity regulating pathway	
	hsa 04918	Thyroid hormone synthesis	
	hsa 04726	Serotonergic synapse	
	hsa 05034	Alcoholism	
	hsa 04724	Glutamatergic synapse	
	hsa 04727	GABAergic synapse	
	hsa 04530	Tight junction	
	hsa 04740	Olfactory transduction	
	hsa 04962	Vasopressin-regulated water reabsorption	
	hsa 05031	Amphetamine addiction	
	hsa 04714	Thermogenesis	
	hsa 04371	Apelin signaling pathway	
	hsa 05166	Human T-cell leukemia virus 1 infection	
	hsa 05203	Viral carcinogenesis	
	hsa 04062	Chemokine signaling pathway	
	hsa 04213	Longevity regulating pathway - multiple species	
	hsa 04970	Salivary secretion	
	hsa 04971	Gastric acid secretion	
	hsa 04750	Inflammatory mediator regulation of TRP channels	
	hsa 04926	Relaxin signaling pathway	
	hsa 04611	Platelet activation	
	hsa 04140	Autophagy - animal	
	hsa 04010	MAPK signaling pathway	
	hsa 04720	Long-term potentiation	

	hsa 04540	Gap junction	
	hsa 05146	Amoebiasis	
	hsa 04976	Bile secretion	
	hsa 05030	Cocaine addiction	
	hsa 05032	Morphine addiction	
	hsa 04961	Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	
	hsa 05110	Vibrio cholerae infection	
	hsa 04114	Oocyte meiosis	
	hsa 05414	Dilated cardiomyopathy (DCM)	
	hsa 04923	Regulation of lipolysis in adipocytes	
	hsa 04340	Hedgehog signaling pathway	
	hsa 04914	Progesterone-mediated oocyte maturation	
	hsa 04919	Thyroid hormone signaling pathway	
	hsa 04742	Taste transduction	
	hsa 05012	Parkinson disease	
	hsa 04913	Ovarian steroidogenesis	
	hsa 01522	Endocrine resistance	
	hsa 05020	Prion diseases	
P26572	hsa 01100	Metabolic pathways	
	hsa 00510	N-Glycan biosynthesis	3
	hsa 00513	Various types of N-glycan biosynthesis	
P27694	hsa 03030	DNA replication	
	hsa 03440	Homologous recombination	
	hsa 03430	Mismatch repair	5
	hsa 03420	Nucleotide excision repair	
	hsa 03460	Fanconi anemia pathway	
P28340	hsa 03030	DNA replication	
	hsa 03440	Homologous recombination	
	hsa 03430	Mismatch repair	5
	hsa 03420	Nucleotide excision repair	
	hsa 03410	Base excision repair	
P29973	hsa 04024	cAMP signaling pathway	
	hsa 04022	cGMP-PKG signaling pathway	3
	hsa 04744	Phototransduction	
P29992	hsa 05200	Pathways in cancer	
	hsa 04022	cGMP-PKG signaling pathway	
	hsa 04934	Cushing syndrome	
	hsa 05163	Human cytomegalovirus infection	
	hsa 04270	Vascular smooth muscle contraction	
	hsa 04725	Cholinergic synapse	
	hsa 05170	Human immunodeficiency virus 1 infection	
	hsa 04925	Aldosterone synthesis and secretion	
	hsa 04911	Insulin secretion	
	hsa 04912	GnRH signaling pathway	19
	hsa 04927	Cortisol synthesis and secretion	
	hsa 04020	Calcium signaling pathway	
	hsa 04928	Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	
	hsa 04935	Growth hormone synthesis, secretion and action	
	hsa 04929	GnRH secretion	
	hsa 05142	Chagas disease (American trypanosomiasis)	
	hsa 04730	Long-term depression	
	hsa 04540	Gap junction	
	hsa 05146	Amoebiasis	
P30531	hsa 04721	Synaptic vesicle cycle	2
	hsa 04727	GABAergic synapse	
P31321	hsa 04910	Insulin signaling pathway	1
P34913	hsa 01100	Metabolic pathways	
	hsa 04146	Peroxisome	3
	hsa 00590	Arachidonic acid metabolism	

<u>P35523</u>	-	-	-
<u>P35606</u>	-	-	-
<u>P36871</u>	hsa 01100 hsa 00500 hsa 00230 hsa 00052 hsa 00010 hsa 00520 hsa 00030	Metabolic pathways Starch and sucrose metabolism Purine metabolism Galactose metabolism Glycolysis / Gluconeogenesis Amino sugar and nucleotide sugar metabolism Pentose phosphate pathway	7
<u>P48509</u>	-	-	-
<u>P49005</u>	hsa 03030 hsa 03440 hsa 03430 hsa 03420 hsa 03410	DNA replication Homologous recombination Mismatch repair Nucleotide excision repair Base excision repair	5
<u>P49643</u>	hsa 03030	DNA replication	1
<u>P49918</u>	hsa 04110	Cell cycle	1
<u>P50148</u>	hsa 05200 hsa 04022 hsa 04934 hsa 04916 hsa 04921 hsa 05163 hsa 04915 hsa 04270 hsa 04713 hsa 04725 hsa 05170 hsa 04723 hsa 04925 hsa 04728 hsa 04911 hsa 04912 hsa 04927 hsa 04922 hsa 04261 hsa 04020 hsa 04928 hsa 04935 hsa 04924 hsa 04918 hsa 04726 hsa 04015 hsa 04724 hsa 04371 hsa 05010 hsa 04929 hsa 04970 hsa 04971 hsa 04750 hsa 05016 hsa 04611 hsa 05142 hsa 04720 hsa 04730 hsa 04540 hsa 05146 hsa 04972 hsa 04961	Pathways in cancer cGMP-PKG signaling pathway Cushing syndrome Melanogenesis Oxytocin signaling pathway Human cytomegalovirus infection Estrogen signaling pathway Vascular smooth muscle contraction Circadian entrainment Cholinergic synapse Human immunodeficiency virus 1 infection Retrograde endocannabinoid signaling Aldosterone synthesis and secretion Dopaminergic synapse Insulin secretion GnRH signaling pathway Cortisol synthesis and secretion Glucagon signaling pathway Adrenergic signaling in cardiomyocytes Calcium signaling pathway Parathyroid hormone synthesis, secretion and action Growth hormone synthesis, secretion and action Renin secretion Thyroid hormone synthesis Serotonergic synapse Rap1 signaling pathway Glutamatergic synapse Apelin signaling pathway Alzheimer disease GnRH secretion Salivary secretion Gastric acid secretion Inflammatory mediator regulation of TRP channels Huntington disease Platelet activation Chagas disease (American trypanosomiasis) Long-term potentiation Long-term depression Gap junction Amoebiasis Pancreatic secretion Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption	45

	hsa 04071	Sphingolipid signaling pathway	
	hsa 05143	African trypanosomiasis	
	hsa 05017	Spinocerebellar ataxia	
P51159	-	-	-
P51800	-	-	-
P51801	hsa 04966	Collecting duct acid secretion	1
P51809	hsa 04130	SNARE interactions in vesicular transport	1
P53396	hsa 01100	Metabolic pathways	
	hsa 00020	Citrate cycle (TCA cycle)	2
P54274	-	-	-
P55317	-	-	-
P56704	hsa 05200	Pathways in cancer	
	hsa 04934	Cushing syndrome	
	hsa 04916	Melanogenesis	
	hsa 05165	Human papillomavirus infection	
	hsa 04310	Wnt signaling pathway	
	hsa 05205	Proteoglycans in cancer	
	hsa 04150	mTOR signaling pathway	
	hsa 04550	Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	14
	hsa 05225	Hepatocellular carcinoma	
	hsa 04390	Hippo signaling pathway	
	hsa 05226	Gastric cancer	
	hsa 05206	MicroRNAs in cancer	
	hsa 05224	Breast cancer	
	hsa 05217	Basal cell carcinoma	
P56962	hsa 04130	SNARE interactions in vesicular transport	
	hsa 04140	Autophagy – animal	2
P61586	hsa 05200	Pathways in cancer	
	hsa 04024	cAMP signaling pathway	
	hsa 04022	cGMP-PKG signaling pathway	
	hsa 04921	Oxytocin signaling pathway	
	hsa 05163	Human cytomegalovirus infection	
	hsa 04270	Vascular smooth muscle contraction	
	hsa 05132	Salmonella infection	
	hsa 04310	Wnt signaling pathway	
	hsa 04014	Ras signaling pathway	
	hsa 04928	Parathyroid hormone synthesis, secretion and action	
	hsa 05205	Proteoglycans in cancer	
	hsa 04150	mTOR signaling pathway	
	hsa 04015	Rap1 signaling pathway	
	hsa 04530	Tight junction	
	hsa 04722	Neurotrophin signaling pathway	
	hsa 05203	Viral carcinogenesis	
	hsa 04062	Chemokine signaling pathway	40
	hsa 04360	Axon guidance	
	hsa 05131	Shigellosis	
	hsa 05152	Tuberculosis	
	hsa 04611	Platelet activation	
	hsa 05206	MicroRNAs in cancer	
	hsa 05418	Fluid shear stress and atherosclerosis	
	hsa 05130	Pathogenic Escherichia coli infection	
	hsa 04520	Adherens junction	
	hsa 04510	Focal adhesion	
	hsa 04621	NOD-like receptor signaling pathway	
	hsa 04972	Pancreatic secretion	
	hsa 04810	Regulation of actin cytoskeleton	
	hsa 04660	T cell receptor signaling pathway	
	hsa 04072	Phospholipase D signaling pathway	

	hsa 04071	Sphingolipid signaling pathway	
	hsa 04625	C-type lectin receptor signaling pathway	
	hsa 05133	Pertussis	
	hsa 05100	Bacterial invasion of epithelial cells	
	hsa 04144	Endocytosis	
	hsa 04670	Leukocyte transendothelial migration	
	hsa 05135	Yersinia infection	
	hsa 05210	Colorectal cancer	
	hsa 04350	TGF-beta signaling pathway	
<u>P61764</u>	hsa 04721	Synaptic vesicle cycle	1
<u>P62745</u>	hsa 05132	Salmonella infection	1
<u>P63167</u>	hsa 05132	Salmonella infection	2
	hsa 04962	Vasopressin-regulated water reabsorption	
<u>P68400</u>	hsa 04310	Wnt signaling pathway	7
	hsa 04520	Adherens junction	
	hsa 04137	Mitophagy - animal	
	hsa 05162	Measles	
	hsa 04064	NF-kappa B signaling pathway	
	hsa 03008	Ribosome biogenesis in eukaryotes	
	hsa 05235	PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	
<u>P78406</u>	hsa 03013	RNA transport	2
	hsa 05164	Influenza A	
<u>P98177</u>	hsa 04014	Ras signaling pathway	3
	hsa 05131	Shigellosis	
	hsa 04068	FoxO signaling pathway	
<u>Q01668</u>	hsa 04024	cAMP signaling pathway	32
	hsa 04022	cGMP-PKG signaling pathway	
	hsa 04934	Cushing syndrome	
	hsa 04921	Oxytocin signaling pathway	
	hsa 04270	Vascular smooth muscle contraction	
	hsa 04713	Circadian entrainment	
	hsa 04725	Cholinergic synapse	
	hsa 04723	Retrograde endocannabinoid signaling	
	hsa 04925	Aldosterone synthesis and secretion	
	hsa 04728	Dopaminergic synapse	
	hsa 04911	Insulin secretion	
	hsa 04912	GnRH signaling pathway	
	hsa 04927	Cortisol synthesis and secretion	
	hsa 04261	Adrenergic signaling in cardiomyocytes	
	hsa 04218	Cellular senescence	
	hsa 04020	Calcium signaling pathway	
	hsa 04935	Growth hormone synthesis, secretion and action	
	hsa 04924	Renin secretion	
	hsa 04726	Serotonergic synapse	
	hsa 04724	Glutamatergic synapse	
	hsa 04727	GABAergic synapse	
	hsa 04530	Tight junction	
	hsa 05031	Amphetamine addiction	
	hsa 05010	Alzheimer disease	
	hsa 04929	GnRH secretion	
	hsa 04010	MAPK signaling pathway	
	hsa 05414	Dilated cardiomyopathy (DCM)	
	hsa 05410	Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	
	hsa 04930	Type II diabetes mellitus	
	hsa 05412	Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC)	
	hsa 04260	Cardiac muscle contraction	
	hsa 04973	Carbohydrate digestion and absorption	
<u>Q02297</u>	hsa 04012	ErbB signaling pathway	2
	hsa 01521	EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance	

<u>Q02962</u>	-	-	-
<u>Q04446</u>	hsa 01100 hsa 00500	Metabolic pathways Starch and sucrose metabolismo	2
<u>Q04656</u>	hsa 04978 hsa 01524	Mineral absorption Platinum drug resistance	2
Q13105	hsa 05200 hsa 04110 hsa 05202 hsa 05222	Pathways in cancer Cell cycle Transcriptional misregulation in cancer Small cell lung câncer	4
Q13111	-	-	-
<u>Q13127</u>	hsa 04550 hsa 05016	Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells Huntington disease	2
Q13177	hsa 05170 hsa 04014 hsa 04360 hsa 04010 hsa 05130 hsa 04510 hsa 04810 hsa 04660 hsa 04012 hsa 05211	Human immunodeficiency virus 1 infection Ras signaling pathway Axon guidance MAPK signaling pathway Pathogenic Escherichia coli infection Focal adhesion Regulation of actin cytoskeleton T cell receptor signaling pathway ErbB signaling pathway Renal cell carcinoma	10
<u>Q13535</u>	hsa 05165 hsa 05170 hsa 04218 hsa 05166 hsa 04110 hsa 03460 hsa 04115	Human papillomavirus infection Human immunodeficiency virus 1 infection Cellular senescence Human T-cell leukemia virus 1 infection Cell cycle Fanconi anemia pathway p53 signaling pathway	7
<u>Q14028</u>	hsa 04024 hsa 04022 hsa 04740 hsa 04744	cAMP signaling pathway cGMP-PKG signaling pathway Olfactory transduction Phototransduction	4
Q14181	hsa 03030	DNA replication	1
<u>Q14721</u>	-	-	-
<u>Q14749</u>	hsa 01100 hsa 00260	Metabolic pathways Glycine, serine and threonine metabolismo	2
Q15054	hsa 03030 hsa 03440 hsa 03430 hsa 03420 hsa 03410	DNA replication Homologous recombination Mismatch repair Nucleotide excision repair Base excision repair	5
Q15124	-	-	-
Q15811	-	-	-
Q15836	hsa 04130 hsa 04145	SNARE interactions in vesicular transport Phagosome	2
<u>Q16281</u>	hsa 04024 hsa 04740	cAMP signaling pathway Olfactory transduction	2
<u>Q16633</u>	-	-	-
Q16774	hsa 01100 hsa 00230	Metabolic pathways Purine metabolismo	2
<u>Q53EZ4</u>	-	-	-
Q53GQ0	hsa 01100 hsa 01212 hsa 00062 hsa 00140 hsa 01040	Metabolic pathways Fatty acid metabolism Fatty acid elongation Steroid hormone biosynthesis Biosynthesis of unsaturated fatty acids	5

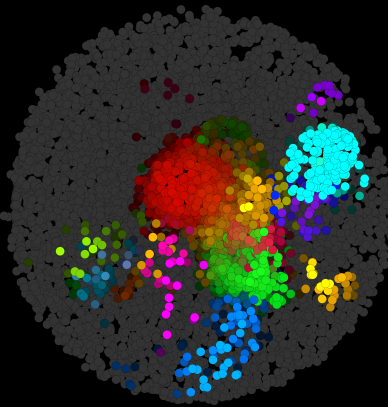
Q5EB52	-	-	-
Q5FWF5	-	-	-
Q5HYK3	hsa 01100 hsa 00130	Metabolic pathways Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	2
Q5SQN1	-	-	-
Q5VWQ0	-	-	-
Q5VYV0	-	-	-
Q6WBX8	hsa 04218	Cellular senescence	1
<u>Q75T13</u>	hsa 01100 hsa 00563	Metabolic pathways Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis	2
Q7L211	-	-	-
<u>Q7Z3Z0</u>	hsa 04915 hsa 05150	Estrogen signaling pathway Staphylococcus aureus infection	2
Q7Z5M8	-	-	-
Q7Z628	-	-	-
Q7Z6K3	-	-	-
Q7Z6V5	-	-	-
Q86T82	-	-	-
Q86TI2	-	-	-
Q86UF1	-	-	-
<u>Q86UK5</u>	hsa 04340	Hedgehog signaling pathway	1
<u>Q86UR5</u>	hsa 04723 hsa 04721	Retrograde endocannabinoid signaling Synaptic vesicle cycle	2
Q86WA6	-	-	-
Q86XS8	-	-	-
Q86YZ3	-	-	-
Q8IX12	-	-	-
Q8IY67	-	-	-
Q8IYI6	-	-	-
Q8IZL9	-	-	-
<u>Q8N138</u>	-	-	-
Q8N4T4	-	-	-
Q8N6R0	-	-	-
Q8NFH4	hsa 03013	RNA transport	1
Q8TB40	-	-	-
<u>Q8WWV3</u>	-	-	-
Q8WXF1	-	-	-
Q8WYG6	-	-	-
Q8WY54	-	-	-
<u>Q92932</u>	hsa 04940	Type I diabetes mellitus	1
<u>Q96AY3</u>	-	-	-
Q96C24	-	-	-
Q96HC4	-	-	-
Q96HE7	hsa 05110 hsa 04141	Vibrio cholerae infection Protein processing in endoplasmic reticulum	2
<u>Q96HY7</u>	hsa 01100 hsa 00380 hsa 00310	Metabolic pathways Tryptophan metabolism Lysine degradation	3
Q96J01	hsa 03013 hsa 03040	RNA transport Spliceosome	2

<u>Q96J92</u>	-	-	-
Q96PK6	-	-	-
<u>Q96RL7</u>	-	-	-
Q99685	hsa 01100 hsa 04723 hsa 04714 hsa 04923 hsa 00561	Metabolic pathways Retrograde endocannabinoid signaling Thermogenesis Regulation of lipolysis in adipocytes Glycerolipid metabolismo	5
Q99943	hsa 01100 hsa 04072 hsa 00561 hsa 04975 hsa 00564	Metabolic pathways Phospholipase D signaling pathway Glycerolipid metabolism Fat digestion and absorption Glycerophospholipid metabolism	5
Q9H6B9	-	-	-
Q9H8H3	-	-	-
Q9HBK9	-	-	-
Q9NPG1	hsa 05200 hsa 04934 hsa 04916 hsa 05165 hsa 04310 hsa 05205 hsa 04150 hsa 04550 hsa 04360 hsa 05225 hsa 04390 hsa 05226 hsa 05206 hsa 05224 hsa 05217	Pathways in cancer Cushing syndrome Melanogenesis Human papillomavirus infection Wnt signaling pathway Proteoglycans in cancer mTOR signaling pathway Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells Axon guidance Hepatocellular carcinoma Hippo signaling pathway Gastric cancer MicroRNAs in cancer Breast cancer Basal cell carcinoma	15
Q9NRQ5	-	-	-
Q9NS91	-	-	-
<u>Q9NSU2</u>	hsa 04623	Cytosolic DNA-sensing pathway	1
Q9NYB0	-	-	-
Q9NYM9	hsa 04130	SNARE interactions in vesicular transport	1
Q9NZJ0	-	-	-
Q9NZJ6	hsa 01100 hsa 00130	Metabolic pathways Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	2
Q9P253	hsa 05132	Salmonella infection	1
Q9ULD0	hsa 01100 hsa 00020 hsa 01200	Metabolic pathways Citrate cycle (TCA cycle) Carbon metabolismo	3
<u>Q9UM54</u>	hsa 05132 hsa 05130	Salmonella infection Pathogenic Escherichia coli infection	2
Q9UPT5	hsa 04910 hsa 05132	Insulin signaling pathway Salmonella infection	2
Q9Y2W2	hsa 03040	Spliceosome	1
Q9Y4L1	hsa 04141	Protein processing in endoplasmic reticulum	1
Q9Y4X4	-	-	-
Q9Y5N5	-	-	-
Q9Y680	-	-	-

*Proteínas vizinhas sublinhadas representam proteínas já associadas a doenças e relatadas na literatura, dados obtidos pelo banco de dados UniProt.

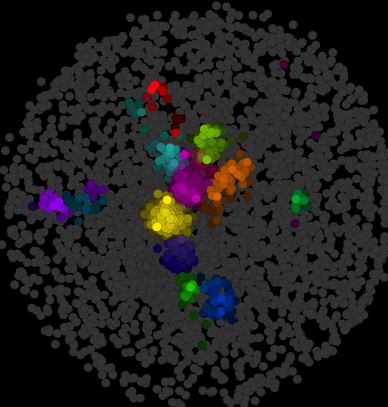
Comunidades Global

1



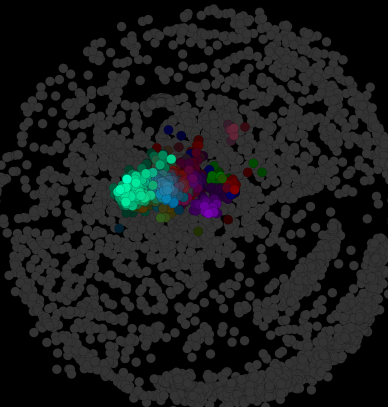
- calcium-independent cell-cell adhesion via plasma membrane cell-adhesion molecules; transmission of nerve impulse; regulation of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate selective glutamate receptor activity; calcium ion transport; calcium ion transmembrane transport
- protein folding
- cell redox homeostasis
- keratinization
- positive regulation of release of cytochrome c from mitochondria; regulation of apoptotic process; intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage; protein insertion into mitochondrial membrane involved in apoptotic signaling pathway; positive regulation of protein oligomerization; extrinsic apoptotic signaling pathway via death domain receptors; intrinsic apoptotic signaling pathway; activation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process by cytochrome c; extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand; activation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process; positive regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway; apoptotic process
- protein ubiquitination
- histone H3-K4 demethylation; histone H3-K9 demethylation; histone H3-K36 demethylation
- cilium assembly; centriole replication; protein localization to centrosome; G2/M transition of mitotic cell cycle; regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle; ciliary basal body docking
- protein polyubiquitination; protein K11-linked ubiquitination; protein deubiquitination; positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity; protein K63-linked ubiquitination; protein K48-linked ubiquitination; ubiquitin-dependent protein catabolic process; protein ubiquitination
- viral process; negative regulation of G0 to G1 transition
- fat cell differentiation; negative regulation of apoptotic process; negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; positive regulation of transcription, DNA-templated; negative regulation of transcription, DNA-templated; positive regulation of gene expression; transcription from RNA polymerase II promoter; regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; negative regulation of cell proliferation; circadian rhythm; regulation of hematopoietic stem cell differentiation; male gonad development
- intracellular signal transduction
- potassium ion transport; regulation of ion transmembrane transport; potassium ion transmembrane transport; neuronal action potential
- phospholipid dephosphorylation; phospholipid metabolic process
- binding of sperm to zona pellucida

2



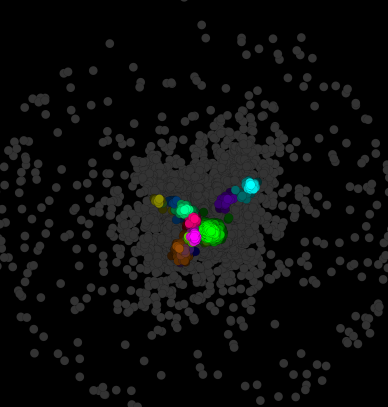
- interleukin-9-mediated signaling pathway; JAK-STAT cascade; interleukin-21-mediated signaling pathway; interleukin-35-mediated signaling pathway; positive regulation of transcription, DNA-templated; positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; transcription from RNA polymerase II promoter
- chemokine-mediated signaling pathway; G-protein coupled receptor signaling pathway; positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade; cellular response to interleukin-1; cellular response to interferon-gamma; cellular response to tumor necrosis factor; neutrophil chemotaxis; chemotaxis; lymphocyte chemotaxis; positive regulation of GTPase activity; killing of cells of other organism; positive regulation of calcium ion transport; monocyte chemotaxis; positive regulation of natural killer cell chemotaxis
- respiratory burst; T cell receptor signaling pathway; interferon-gamma-mediated signaling pathway
- cytokine-mediated signaling pathway; inflammatory response; immune response; neutrophil degranulation; Fc-gamma receptor signaling pathway involved in phagocytosis; innate immune response; antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II
- antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I, TAP-dependent; antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I; viral process; defense response to virus; type I interferon signaling pathway; response to type I interferon
- protein polymerization; post-translational protein modification; cellular protein metabolic process; positive regulation of peptide hormone secretion; positive regulation of cholesterol esterification; regulation of complement activation; fibrinolysis
- collagen fibril organization; extracellular matrix organization
- steroid metabolic process; ethanol catabolic process; 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate metabolic process; sulfation; sulfur compound metabolic process
- negative regulation of serine-type endopeptidase activity
- protein targeting to peroxisome; fatty acid beta-oxidation
- cell recognition

3



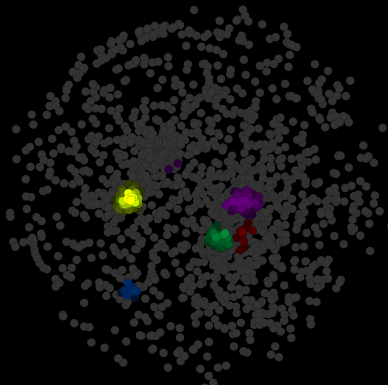
- anterior/posterior pattern specification
- sensory perception of taste; ATP metabolic process; skeletal muscle contraction; muscle contraction; muscle filament sliding; positive regulation of inhibitory postsynaptic potential
- interferon-gamma-mediated signaling pathway
- neurotransmitter receptor localization to postsynaptic specialization membrane; receptor localization to synapse; receptor clustering
- peptidyl-threonine dephosphorylation; cell cycle; cell division; establishment of cell polarity; regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle; regulation of mitotic cell cycle; protein autophosphorylation; protein phosphorylation; peptidyl-serine phosphorylation; intracellular signal transduction
- activin receptor signaling pathway; positive regulation of pathway-restricted SMAD protein phosphorylation; cellular response to BMP stimulus; positive regulation of bone mineralization; positive regulation of osteoblast differentiation; BMP signaling pathway; transmembrane receptor protein serine/threonine kinase signaling pathway
- positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter involved in cellular response to chemical stimulus; ureteric bud development; SMAD protein signal transduction
- protein deubiquitination; cell surface receptor signaling pathway; ubiquitin-dependent protein catabolic process; negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; positive regulation of transcription, DNA-templated; negative regulation of transcription, DNA-templated; insulin receptor signaling pathway; negative regulation of cell proliferation; cytokine-mediated signaling pathway; positive regulation of protein kinase B signaling; membrane organization; positive regulation of protein phosphorylation; viral process; signal transduction; negative regulation of apoptotic process; positive regulation of cell proliferation; positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade; positive regulation of gene expression; positive regulation of MAPK cascade
- regulation of early endosome to late endosome transport; stimulatory C-type lectin receptor signaling pathway; Bergmann glial cell differentiation; regulation of mRNA stability; positive regulation of JUN kinase activity; regulation of sequence-specific DNA binding transcription factor activity; peptidyl-threonine phosphorylation; regulation of apoptotic process; apoptotic process; regulation of Golgi inheritance; regulation of stress-activated MAPK cascade; cellular response to insulin stimulus; cellular response to cadmium ion; activation of MAPK activity; cellular response to reactive oxygen species; phosphorylation; MAPK cascade; positive regulation of cell migration; adaptive immune response; positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling; positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase activity; peptidyl-tyrosine phosphorylation; peptidyl-tyrosine autophosphorylation; transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway; innate immune response; regulation of cell proliferation; cell migration; ephrin receptor signaling pathway; T cell costimulation; vascular endothelial growth factor receptor signaling pathway; Fc-epsilon receptor signaling pathway; T cell receptor signaling pathway platelet activation; Fc-gamma receptor signaling pathway involved in phagocytosis; axon guidance; epidermal growth factor receptor signaling pathway; signal complex assembly

4



- ribosomal large subunit biogenesis; ribosomal small subunit biogenesis; rRNA processing; translational initiation; SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane; translation; nuclear-transcribed mRNA catabolic process, nonsense-mediated decay; cytoplasmic translation; ribosomal large subunit assembly
- chromatin silencing; nucleosome assembly; protein ubiquitination
- regulation of gene silencing by miRNA
- mRNA polyadenylation; termination of RNA polymerase II transcription
- mRNA export from nucleus; RNA export from nucleus; RNA splicing; mRNA 3'-end processing
- DNA replication
- binding of sperm to zona pellucida; positive regulation of establishment of protein localization to telomere; positive regulation of protein localization to Cajal body; toxin transport; positive regulation of telomerase RNA localization to Cajal body; positive regulation of telomere maintenance via telomerase; microtubule-based process
- ubiquitin-dependent protein catabolic process; proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process; protein deubiquitination; post-translational protein modification
- protein K11-linked ubiquitination
- mitochondrial ATP synthesis coupled proton transport
- mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone; mitochondrial respiratory chain complex I assembly

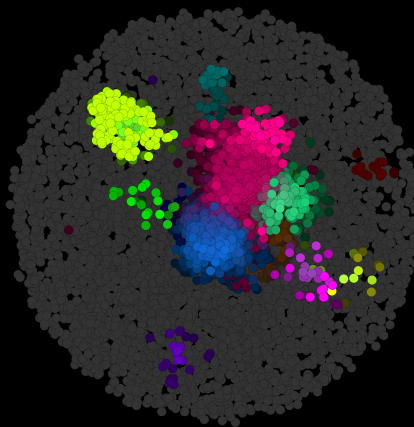
5



- regulation of endocytosis; retrograde vesicle-mediated transport, Golgi to ER; protein transport; retrograde transport, endosome to Golgi
- regulation of rhodopsin mediated signaling pathway; visual perception

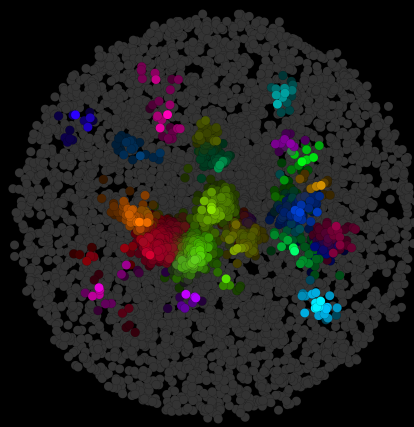
Comunidades Paciente

1



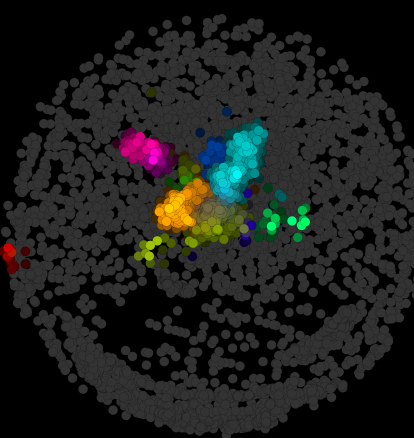
- histone H3-K36 demethylation; histone H3-K9 demethylation
- protein ubiquitination
- negative regulation of cell proliferation; negative regulation of transcription, DNA-templated; regulation of hematopoietic stem cell differentiation; transcription from RNA polymerase II promoter; regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; positive regulation of transcription, DNA-templated; positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter in response to endoplasmic reticulum stress
- nucleoside-containing small molecule interconversion; DNA unwinding involved in DNA replication; response to drug; response to UV; response to oxidative stress; DNA recombination; t-circle formation; ciliary basal body docking; regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle; G2/M transition of mitotic cell cycle; chromosome segregation; mitotic cell cycle; mitotic cell cycle checkpoint; error-free translesion synthesis; DNA repair; mitotic spindle assembly checkpoint; cell division; cell proliferation; DNA replication; DNA replication initiation; G1/S transition of mitotic cell cycle; transcription-coupled nucleotide-excision repair; nucleotide-excision repair; DNA incision; nucleotide-excision repair; DNA incision; 5'-to-lesion; nucleotide-excision repair; DNA gap filling; telomere maintenance via semi-conservative replication; double-strand break repair via homologous recombination; mismatch repair; base-excision repair; translesion synthesis; telomere maintenance; error-prone translesion synthesis; viral process; apoptotic process; DNA damage response; detection of DNA damage; cellular response to DNA damage stimulus; nucleotide-excision repair; preincision complex stabilization; interstrand cross-link repair; mitotic G2 DNA damage checkpoint; DNA duplex unwinding; double-strand break repair; DNA double-strand break processing; purine ribonucleoside monophosphate biosynthetic process; mRNA export from nucleus; protein import into nucleus; establishment of integrated proviral latency
- ER-associated ubiquitin-dependent protein catabolic process; postreplication repair; protein monoubiquitination; protein polyubiquitination; positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling; positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity; protein autoubiquitination; proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process; cellular protein modification process; protein polyubiquitination; protein ubiquitination; protein K63-linked ubiquitination; protein K11-linked ubiquitination; protein K48-linked ubiquitination; ubiquitin-dependent protein catabolic process
- intracellular signal transduction
- calcium ion transport; regulation of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate selective glutamate receptor activity; transmission of nerve impulse; calcium ion-dependent cell-cell adhesion via plasma membrane cell-adhesion molecules; calcium ion transmembrane transport
- protein localization to cilium

2



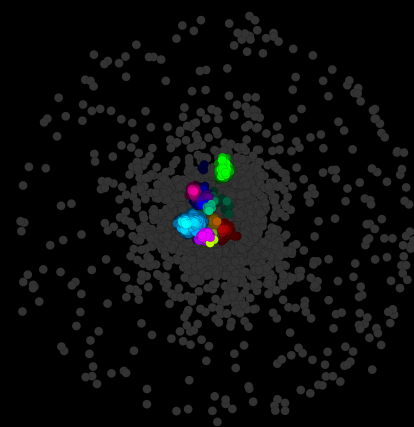
- sphingolipid biosynthetic process
- daunorubicin metabolic process; doxorubicin metabolic process
- glycogen biosynthetic process
- fatty acid beta-oxidation using acyl-CoA dehydrogenase
- protein targeting to peroxisome
- tumor necrosis factor-mediated signaling pathway
- regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; positive regulation of transcription, DNA-templated; transcription from RNA polymerase II promoter; positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter
- negative regulation of endothelial cell apoptotic process; cellular macromolecular complex assembly; plasminogen activation; fibrinolysis; protein polymerization; positive regulation of peptide hormone secretion; blood coagulation
- post-translational protein modification; chylomicron assembly; high-density lipoprotein particle clearance; positive regulation of cholesterol esterification; cholesterol efflux
- retinoid metabolic process; regulation of lipid metabolic process
- skeletal system development; endodermal cell differentiation
- extracellular matrix organization; platelet degranulation; peptidyl-tyrosine phosphorylation; positive regulation of cell migration; cell adhesion; integrin-mediated signaling pathway
- type I interferon signaling pathway; defense response to virus; response to virus
- phagocytosis; platelet activation; B cell receptor signaling pathway; cell-cell adhesion; respiratory burst; negative regulation of apoptotic process; signal transduction; protein phosphorylation; inflammatory response; immune response; cytokine-mediated signaling pathway; neutrophil degranulation; innate immune response; leukocyte migration; neutrophil chemotaxis; positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade; interferon-gamma-mediated signaling pathway; T cell receptor signaling pathway; antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II; chemotaxis; positive regulation of T cell proliferation; adaptive immune response; regulation of cell shape; cellular response to lipopolysaccharide
- positive regulation of GTPase activity; chemokine-mediated signaling pathway; cellular response to interferon-gamma; cellular response to interleukin-1; cellular response to tumor necrosis factor
- regulation of acrosome reaction; negative regulation of serine-type endopeptidase activity
- nucleosome assembly
- synaptic vesicle maturation
- ethanol catabolic process; 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate metabolic process; sulfation; sulfur compound metabolic process; steroid metabolic process
- respiratory chain complex IV assembly; mitochondrial electron transport; cytochrome c to oxygen
- iron-sulfur cluster assembly; protein maturation by iron-sulfur cluster transfer; small molecule metabolic process; mitochondrion morphogenesis; ubiquinone biosynthetic process
- hexose transport; glucose import

3



- rhodopsin mediated signaling pathway
- regulation of rhodopsin mediated signaling pathway; visual perception
- ATP metabolic process; muscle contraction; muscle filament sliding; positive regulation of inhibitory postsynaptic potential
- beta-catenin-TCF complex assembly; transcription, DNA-templated; positive regulation of transcription, DNA-templated; positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter; negative regulation of transcription, DNA-templated
- negative regulation of neuron apoptotic process; adaptive immune response; inflammatory response; signal complex assembly; T cell activation; cell adhesion; interleukin-2-mediated signaling pathway; positive regulation of T cell proliferation; positive regulation of tyrosine phosphorylation of STAT protein; cell-cell signaling; positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation; stress fiber assembly; cell surface receptor signaling pathway; insulin receptor signaling pathway; positive regulation of MAP kinase activity; positive regulation of protein localization to plasma membrane; positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity; MAPK cascade; positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase activity; activation of MAPK activity; positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling; positive regulation of MAPK cascade; positive regulation of angiogenesis; axon guidance; positive regulation of apoptotic process; positive regulation of protein kinase B signaling; positive regulation of cell migration; positive regulation of protein phosphorylation; T cell receptor signaling pathway; innate immune response; regulation of cell proliferation; transmembrane receptor protein tyrosine kinase signaling pathway; peptidyl-tyrosine phosphorylation; peptidyl-tyrosine autophosphorylation; cell migration; ephrin receptor signaling pathway; Fc-gamma receptor signaling pathway involved in phagocytosis; leukocyte migration; cytokine-mediated signaling pathway; vascular endothelial growth factor receptor signaling pathway; epidermal growth factor receptor signaling pathway; positive regulation of gene expression; positive regulation of cell proliferation; signal transduction
- cell cycle arrest; protein autophosphorylation; intracellular signal transduction; protein phosphorylation; peptidyl-serine phosphorylation; peptidyl-threonine phosphorylation; regulation of mitotic cell cycle; regulation of apoptotic process; cell division; establishment of cell polarity; cell cycle; Wnt signaling pathway; G1/S transition of mitotic cell cycle; regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle; G2/M transition of mitotic cell cycle; regulation of gene expression; lipopolysaccharide-mediated signaling pathway; ciliary basal body docking; microtubule cytoskeleton organization
- positive regulation of protein targeting to membrane; negative regulation of protein ubiquitination; cellular response to reactive oxygen species; cellular response to hydrogen peroxide; regulation of mRNA stability; positive regulation of neuron apoptotic process; ubiquitination; response to hypoxia; regulation of Golgi inheritance; regulation of stress-activated MAPK cascade; DNA damage induced protein phosphorylation; apoptotic process; stress-activated MAPK cascade; response to UV; regulation of axonogenesis; negative regulation of protein binding; rhythmic process; regulation of macroautophagy; regulation of signal transduction by p53 class mediator; transforming growth factor beta receptor signaling pathway; regulation of cellular response to heat; membrane organization; T cell costimulation; positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade; negative regulation of cell proliferation; protein deubiquitination; positive regulation of protein insertion into mitochondrial membrane involved in apoptotic signaling pathway; regulation of cell motility; negative regulation of apoptotic process; viral process; Fc-epsilon receptor signaling pathway; platelet activation; cellular response to DNA damage stimulus; cellular response to cadmium ion; cellular response to insulin stimulus; phosphorylation; regulation of circadian rhythm; regulation of cell migration; stimulatory G-type lectin receptor signaling pathway; cell proliferation; regulation of early endosome to late endosome transport; Bergmann glial cell differentiation; regulation of actin cytoskeleton organization; positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB signaling
- sensory perception of smell

4



- mitochondrial respiratory chain complex I assembly
- innate immune response in mucosa; antibacterial humoral response; nucleosome assembly; protein ubiquitination; chromatin silencing
- microtubule-based process
- viral process
- post-translational protein modification; protein deubiquitination; proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process; ubiquitin-dependent protein catabolic process
- ribosomal large subunit biogenesis; rRNA processing; translational initiation; SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane; translation; nuclear-transcribed mRNA catabolic process; nonsense-mediated decay; cytoplasmic translation; ribosomal large subunit assembly
- transcription elongation from RNA polymerase II promoter; snRNA transcription from RNA polymerase II promoter; transcription-coupled nucleotide-excision repair; 7-methylguanosine mRNA capping; fibroblast growth factor receptor signaling pathway; regulation of gene silencing by mRNA
- mRNA 3'-end processing; RNA export from nucleus; mRNA export from nucleus; negative regulation of mRNA splicing, via spliceosome; RNA splicing
- termination of RNA polymerase II transcription

ANEXO XV

Tabela XV.1 – Proteínas vizinhas que foram anotadas somente nas comunidades da rede global (GN) pela análise espacial de enriquecimento funcional (SAFE) com ontologias genéticas relacionadas aos processos biológicos.

Proteínas vizinhas* (n = 9)	Ontologias genéticas (GOs) ¹	Interação – Proteínas deletadas (n = 4)
<u>O14979; Q5VWQ0</u>	- Diferenciação de células adiposas; - Regulação negativa do processo apoptótico; - Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA; - Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação da transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação negativa da proliferação celular; - Ritmo circadiano; - Regulação da diferenciação de células-tronco hematopoiéticas; - Desenvolvimento da gônada masculina.	<i>FZD9, BAZ1B e GTF2I</i>
<u>O43741; P07099</u>	- Proteína direcionada ao peroxissomo; - Oxidação beta de ácidos graxos.	
<u>O75112; P50148</u>	- Regulação do transporte do endossoma inicial para o endossoma tardio; - Via de sinalização estimulante do receptor de lectina do tipo C; - Diferenciação de células gliais de Bergmann; - Regulação da estabilidade do mRNA; - Regulação positiva da atividade da JUN quinase; - Regulação da atividade do fator de transcrição de ligação ao DNA específico da sequência; - Fosforilação de peptidil-treonina; - Regulação do processo apoptótico; - Processo apoptótico; - Regulação da herança de Golgi; - Regulação da cascata MAPK ativada por estresse; - Resposta celular ao estímulo à insulina; - Resposta celular ao íon cádmio; - Ativação da atividade MAPK; - Resposta celular a espécies reativas de oxigênio; - Fosforilação; - Cascata MAPK; - Regulação positiva da migração celular; - Resposta imune adaptativa; - Resposta imune inata; - Regulação positiva da sinalização de PI3Ks; - Regulação negativa da sinalização de PI3Ks; - Fosforilação de peptidil-tirosina; - Autofosforilação de peptidil-tirosina; - Via de sinalização da proteína tirosina quinase do receptor na membrana plasmática; - Regulação da proliferação celular; - Migração celular; - Via de sinalização do receptor de efrina; - Coestimulação de células T; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR); - Via de sinalização do receptor Fc-epsilon; - Via de sinalização do receptor de células T; - Ativação plaquetária; - Via de sinalização do receptor Fc-gamma envolvida na fagocitose; - Orientação axonal; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico; - Montagem complexa de sinal.	<i>LIMK1</i>
<u>P00966</u>	- Polimerização de proteínas;	

	- Modificação proteica pós-tradução; - Processo metabólico da proteína celular; - Regulação positiva da secreção de hormônio peptídico; - Regulação positiva da esterificação de colesterol; - Regulação da ativação do complemento; - Fibrinólise.	
<u>P35606</u>	- Ligação de espermatozoides à zona pelúcida; - Regulação positiva do estabelecimento de localização de proteínas no telômero; - Regulação positiva da localização de proteínas no corpo de Cajal; - Transporte de toxinas; - Regulação positiva da localização do RNA da telomerase no corpo de Cajal; - Regulação positiva da manutenção de telômeros via telomerase; - Processo baseado em microtúbulos.	
<u>Q9Y2W2</u>	- Processo viral; - Regulação negativa a transição G0/G1.	

*Proteínas vizinhas sublinhadas representam proteínas já associadas a doenças e relatadas na literatura, dados obtidos pelo banco de dados UniProt.

¹Ontologias genéticas (GOs) relacionadas aos processos biológicos.

Tabela XV.2 – Proteínas vizinhas que foram anotadas somente nas comunidades da rede paciente (PN) pela análise espacial de enriquecimento funcional (SAFE) com ontologias genéticas relacionadas aos processos biológicos.

Proteínas vizinhas* (n = 49)	Ontologias genéticas (GOs)¹
O15079	- Montagem do nucleossomo.
O60524; P09471	- Parada do ciclo celular; - Autofosforilação de proteínas; - Transdução de sinal intracelular; - Fosforilação de proteínas; - Fosforilação de peptidil-serina; - Fosforilação de peptidil-treonina; - Regulação do ciclo celular mitótico; - Regulação do processo apoptótico; - Divisão celular; - Estabelecimento da polaridade celular; - Ciclo de célula; - Via de sinalização Wnt; - Transição G1/S do ciclo celular mitótico; - Regulação da transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Regulação da expressão gênica; - Via de sinalização mediada por lipopolissacarídeos; - Ancoragem do corpo basal ciliar; - Organização do citoesqueleto de microtúbulos.
O75558; P0CG48; P49005; P49643; P49918; P54274; P78406; Q13111; Q13535; Q14181; Q15054; Q53EZ4; Q5FWF5; Q86T82; Q8NFH4; Q9NS91; Q9UPT5	- Interconversão de moléculas pequenas contendo nucleobase; - Desenrolamento de DNA envolvido na replicação do DNA; - Resposta a drogas; - Resposta ao UV; - Resposta ao estresse oxidativo; - Recombinação de DNA; - Formação de círculo t; - Ancoragem do corpo basal ciliar; - Regulação da transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G1/S do ciclo celular mitótico; - Segregação cromossômica; - Ciclo celular mitótico; - Checkpoint do ciclo celular mitótico; - Síntese de translesão sem erros; - Síntese de translesão propensa a erros; - Síntese de translesão; - Reparo de DNA; - Checkpoint da montagem do fuso mitótico; - Divisão celular; - Proliferação celular; - Replicação de DNA; - Iniciação da replicação de DNA; - Reparo de excisão de nucleotídeo acoplada à transcrição; - Reparo por excisão de nucleotídeos, incisão no DNA; - Reparo de excisão de nucleotídeo, incisão de DNA, lesão 5'; - Reparo por excisão de nucleotídeos, estabilização do complexo pré-incisão; - Reparo de ligação cruzada entre fitas; - Preenchimento de gap de DNA; - Manutenção de telômeros via replicação semi conservadora; - Reparo de quebra de fita dupla; - Reparo de quebra de fita dupla por recombinação homóloga; - Reparo de incompatibilidade; - Reparo por excisão de base; - Manutenção de telômeros; - Detecção e Resposta a danos no DNA; - Resposta celular ao estímulo de dano ao DNA; - Checkpoint de danos no DNA G2 mitótico; - Processo viral; - Processo apoptótico;

	- Processamento de quebra de fita dupla de DNA; - Processo biossintético de monofosfato de ribonucleosídeo de purina; - Exportação de mRNA do núcleo; - Importação de proteínas para o núcleo; - Estabelecimento de latência proviral integrada.
O95352; Q15124	- Proteína direcionada ao peroxissomo.
P00390	- Beta-oxidação de ácidos graxos usando acil-CoA.
P00973	- Via de sinalização de interferon tipo I; - Resposta de defesa ao vírus; - Resposta ao vírus.
P08134; P31321; P61586; P62745; Q7Z628; Q96HC4	- Regulação negativa do processo apoptótico do neurônio; - Resposta imune adaptativa; - Resposta inflamatória; - Montagem complexa de sinal; - Ativação de células T; - Adesão celular; - Via de sinalização mediada por interleucina-2; - Regulação positiva da proliferação de células T; - Regulação positiva da fosforilação da tirosina da proteína STAT; - Sinalização célula a célula - Regulação positiva da fosforilação da peptidil-tirosina; - Montagem de fibra de estresse; - Via de sinalização do receptor da superfície celular; - Via de sinalização do receptor de insulina; - Regulação positiva da atividade da MAP quinase; - Regulação positiva da localização de proteínas na membrana plasmática; - Regulação positiva da atividade do fator de transcrição NF-kB; - Cascata MAPK; - Ativação da atividade MAPK; - Regulação positiva da cascata MAPK; - Regulação positiva da atividade de PI3Ks; - Regulação positiva da sinalização de PI3Ks; - Regulação positiva da angiogênese; - Orientação axonal; - Regulação positiva do processo apoptótico; - Regulação positiva da sinalização da proteína quinase B; - Regulação positiva da migração celular; - Regulação positiva da fosforilação de proteínas; - Via de sinalização do receptor de células T; - Resposta imune inata; - Regulação da proliferação celular; - Via de sinalização da proteína tirosina quinase do receptor na membrana plasmática; - Fosforilação de peptidil-tirosina; - Autofosforilação de peptidil-tirosina; - Migração celular; - Via de sinalização do receptor de efrina; - Via de sinalização do receptor Fc-γ envolvida na fagocitose; - Migração de leucócitos; - Via de sinalização mediada por citocinas; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento endotelial vascular; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico; - Regulação positiva da expressão gênica; - Regulação positiva da proliferação celular; - Transdução de sinal.
<u>P21579; Q01668</u>	- Processo metabólico de ATP; - Contração muscular; - Deslizamento do filamento muscular; - Regulação positiva do potencial pós-sináptico inibitório.
<u>P36871</u>	- Processo biossintético de glicogênio.
P51809; P53396; <u>Q02962; Q13127;</u>	- Regulação negativa da proliferação celular; - Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA;

Q7Z6K3; Q86UK5; Q9Y4X4	- Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Regulação da diferenciação de células-tronco hematopoiéticas; - Transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação da transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição do promotor da RNA polimerase II em resposta ao estresse do retículo endoplasmático.
P61764; Q9NYB0	- Maturação da vesícula sináptica.
Q02297; Q13105; Q92932	- Montagem do complexo beta-catenina-TCF; - Transcrição, modelada em DNA; - Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA.
Q14028; Q14721	- Regulação da via de sinalização mediada por rodopsina; - Percepção visual.
Q5HYK3; Q9NZJ6	- Montagem de aglomerados de ferro-enxofre; - Maturação proteica por transferência de ferro-enxofre; - Processo metabólico de molécula pequena; - Morfogênese da mitocôndria; - Processo biossintético de ubiquinona.

*Proteínas vizinhas sublinhadas representam proteínas já associadas a doenças e relatadas na literatura, dados obtidos pelo banco de dados UniProt.

¹Ontologias genéticas (GOs) relacionadas aos processos biológicos.

Tabela XV.3 – Proteínas vizinhas que foram anotadas tanto nas comunidades da rede global (GN) como nas comunidades da rede paciente (PN) pela análise espacial de enriquecimento funcional (SAFE) com ontologias genéticas relacionadas aos processos biológicos.

Proteínas vizinhas* (n = 17)	Ontologias genéticas (GOs) – GN^{1,2}	Ontologias genéticas (GOs) – PN^{1,2}	Interação – Proteínas deletadas (n = 6)
<u>O43524;</u> <u>P16220;</u> <u>P55317;</u> <u>P98177</u>	- Desubiquitinação de proteínas; - Via de sinalização do receptor da superfície celular; - Processo catabólico da proteína dependente de ubiquitina; - Via de sinalização do receptor de insulina; - Regulação negativa da proliferação celular; - Regulação positiva da proliferação celular; - Via de sinalização mediada por citocinas; - Regulação positiva da sinalização da proteína quinase B; - Organização da membrana; - Regulação positiva da fosforilação de proteínas; - Processo viral; - Transdução de sinal; - Regulação negativa do processo apoptótico; - Regulação positiva das cascatas ERK1 e ERK2; - Regulação positiva da expressão gênica; - Regulação positiva da cascata MAPK; - <i>Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II;</i> - <i>Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA;</i> - <i>Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II;</i> - <i>Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA.</i>	- Montagem do complexo beta-catenina-TCF; - Transcrição, modelada em DNA; - <i>Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II;</i> - <i>Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA;</i> - <i>Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II;</i> - <i>Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA.</i>	<i>STX1A</i>
<u>P0DP25</u>	- Desubiquitinação de proteínas; - Via de sinalização do receptor da superfície celular; processo catabólico da proteína dependente de ubiquitina; - Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA; - Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Via de sinalização do receptor de insulina; - Regulação negativa da proliferação celular; - Regulação positiva da proliferação celular; - Via de sinalização mediada por citocinas; - Regulação positiva da sinalização da proteína quinase B; - Organização da membrana; - Regulação positiva da fosforilação de proteínas; - Processo viral; - Transdução de sinal; - Regulação negativa do processo apoptótico; - Regulação positiva das cascatas ERK1 e ERK2; - Regulação positiva da expressão gênica; - Regulação positiva da cascata MAPK.	- Processo metabólico de ATP; - Contração muscular; - Deslizamento do filamento muscular; - Regulação positiva do potencial pós-sináptico inibitório.	<i>STX1A</i>
<u>P14174;</u> <u>Q15836</u>	- Diferenciação de células adiposas; - Regulação negativa do processo apoptótico; - Ritmo circadiano; - Desenvolvimento da gônada masculina; - <i>Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II;</i>	- Regulação positiva da transcrição do promotor da RNA polimerase II em resposta ao estresse do retículo endoplasmático; - <i>Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II;</i>	<i>FZD9, BAZ1B e GTF2I</i>

	- Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA; - Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação da transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação negativa da proliferação celular; - Regulação da diferenciação de células-tronco hematopoiéticas.	- Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA; - Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação da transcrição do promotor de RNA polimerase II; - Regulação negativa da proliferação celular; - Regulação da diferenciação de células-tronco hematopoiéticas.	
P22694; Q8WY54	- Desfosforilação de peptidil-treonina; - Ciclo celular; - Divisão celular; - Estabelecimento da polaridade celular; - Regulação da transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Regulação do ciclo celular mitótico; - Autofosforilação de proteínas; - Fosforilação de proteínas; - Fosforilação de peptidil-serina; - Transdução de sinal intracelular.	- Interrupção do ciclo celular; - Fosforilação peptidil-treonina; - Regulação do processo apoptótico; - Via de sinalização Wnt; - Transição G1/S do ciclo celular mitótico; - Transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Regulação da expressão gênica; - Via de sinalização mediada por lipopolissacarídeos; - Ancoragem do corpo basal ciliar; - Organização do citoesqueleto de microtúbulos; - Ciclo celular; - Divisão celular; - Estabelecimento da polaridade celular; - Regulação da transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Regulação do ciclo celular mitótico; - Autofosforilação proteica; - Fosforilação de proteína; - Fosforilação peptidil-serina; - Transdução de sinal intracelular.	
<u>P28340</u>	- Replicação de DNA.	- Interconversão de moléculas pequenas contendo nucleobase; - Desenrolamento de DNA envolvido na replicação do DNA; - Resposta a drogas; - Resposta ao UV; - Resposta ao estresse oxidativo; - Recombinação de DNA; - Formação de círculo t; - Ancoragem do corpo basal ciliar; - Regulação da transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G1/S do ciclo celular mitótico; - Segregação cromossômica; - Ciclo celular mitótico; - Checkpoint do ciclo celular mitótico; - Síntese de translesão sem erros; - Síntese de translesão propensa a erros; - Síntese de translesão; - Reparo de DNA; - Chekpoint da montagem do fuso mitótico; - Divisão celular; - Proliferação celular; - Iniciação da replicação de DNA; - Reparo de excisão de nucleotídeo acoplada à transcrição; - Reparo por excisão de nucleotídeos, incisão no DNA; - Reparo de excisão de nucleotídeo, incisão de DNA, lesão 5'; - Reparo por excisão de nucleotídeos, estabilização do complexo pré-incisão; - Reparo de ligação cruzada entre fitas;	

		- Preenchimento de gap de DNA; - Manutenção de telômeros via replicação semi conservadora; - Reparo de quebra de fita dupla; - Reparo de quebra de fita dupla por recombinação homóloga; - Reparo de incompatibilidade; - Reparo por excisão de base; - Manutenção de telômeros; - Detecção e Resposta a danos no DNA; - Resposta celular ao estímulo de dano ao DNA; - Checkpoint de danos no DNA G2 mitótico; - Processo viral; - Processo apoptótico; - Processamento de quebra de fita dupla de DNA; - Processo biossintético de monofosfato de ribonucleosídeo de purina; - Exportação de mRNA do núcleo; - Importação de proteínas para o núcleo; - Estabelecimento de latência proviral integrada; - <i>Replicação de DNA</i>.	
<u>P29973</u>	- Via de sinalização do receptor de ativina; - Regulação positiva da fosforilação da proteína SMAD com restrição de via; - Resposta celular ao estímulo BMP; - Regulação positiva da mineralização óssea; - Regulação positiva da diferenciação de osteoblastos; - Via de sinalização BMP; - Via de sinalização da proteína serina/treonina quinase do receptor da membrana plasmática.	- Via de sinalização mediada por rodopsina.	
<u>P29992</u>	- Regulação do transporte do endossoma inicial para o endossoma tardio; - Via de sinalização estimulante do receptor de lectina do tipo C; - Diferenciação de células gliais de Bergmann; - Regulação da estabilidade do mRNA; - Regulação positiva da atividade da JUN quinase; - Regulação da atividade do fator de transcrição de ligação ao DNA específico da sequência; - Processo apoptótico; - Regulação da herança de Golgi; - Regulação da cascata MAPK ativada por estresse; - Resposta celular ao estímulo à insulina; - Resposta celular ao íon cádmio; - Ativação da atividade MAPK; - Resposta celular a espécies reativas de oxigênio; - Fosforilação; - Cascata MAPK; - Regulação positiva da migração celular; - Resposta imune adaptativa; - Resposta imune inata; - Regulação positiva da sinalização de PI3Ks; - Regulação negativa da sinalização de PI3Ks; - Fosforilação de peptidil-tirosina; - Autofosforilação de peptidil-tirosina; - Via de sinalização da proteína tirosina quinase do receptor na membrana plasmática; - Regulação da proliferação celular; - Migração celular; - Via de sinalização do receptor de efrina; - Coestimulação de células T; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR); - Via de sinalização do receptor Fc-ε; - Via de sinalização do receptor de células T;	- Transdução de sinal intracelular; - Autofosforilação proteica; - Fosforilação de proteína; - Divisão celular; - Estabelecimento da polaridade celular; - Parada do ciclo celular; - Ciclo celular; - Regulação do ciclo celular mitótico; - Via de sinalização Wnt; - Transição G1/S do ciclo celular mitótico; - Regulação da transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Regulação da expressão gênica; - Via de sinalização mediada por lipopolissacarídeos; - Ancoragem do corpo basal ciliar; - Organização do citoesqueleto de microtúbulos; - <i>Fosforilação de peptidil-treonina;</i> - <i>Regulação do processo apoptótico.</i>	<i>LIMK1</i>

	- Ativação plaquetária; - Via de sinalização do receptor Fc-γ envolvida na fagocitose; - Orientação axonal; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico; - Montagem complexa de sinal; - Fosforilação de peptidil-treonina; - Regulação do processo apoptótico.		
Q13177	- Regulação positiva da atividade da JUN quinase; - Regulação da atividade do fator de transcrição de ligação ao DNA específico da sequência; - Fosforilação de peptidil-treonina; - Regulação do processo apoptótico; - Ativação da atividade MAPK; - Cascata MAPK; - Regulação positiva da migração celular; - Resposta imune adaptativa; - Resposta imune inata; - Regulação positiva da sinalização de PI3Ks; - Regulação negativa da sinalização de PI3Ks; - Fosforilação de peptidil-tirosina; - Autofosforilação de peptidil-tirosina; - Via de sinalização da proteína tirosina quinase do receptor na membrana plasmática; - Regulação da proliferação celular; - Migração celular; - Via de sinalização do receptor de efrina; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR); - Via de sinalização do receptor de células T; - Via de sinalização do receptor Fc-γ envolvida na fagocitose; - Orientação axonal; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico; - Montagem complexa de sinal; - Regulação do transporte do endossoma inicial para o endossoma tardio; - Via de sinalização estimulante do receptor de lectina do tipo C; - Diferenciação de células gliais de Bergmann; - Regulação da herança de Golgi; - Regulação da cascata MAPK ativada por estresse; - Fosforilação; - Coestimulação de células T; - Via de sinalização do receptor Fc-ϵ; - Resposta celular a espécies reativas de oxigênio; - Regulação da estabilidade do mRNA; - Processo apoptótico; - Ativação plaquetária; - Resposta celular ao íon cádmio; - Resposta celular ao estímulo à insulina.	- Regulação positiva da proteína direcionada para a membrana; - Regulação negativa da ubiquitinação de proteínas; - Resposta celular ao peróxido de hidrogênio; - Regulação positiva do processo apoptótico do neurônio; - Resposta celular à hipóxia; - Fosforilação de proteína induzida por dano ao DNA; - Cascata MAPK ativada por estresse; - Resposta ao UV; - Regulação da axonogênese; - Regulação negativa da ligação às proteínas; - Processo rítmico; - Regulação da macroautofagia; - Regulação da transdução de sinal pelo mediador da classe p53; - Via de sinalização do receptor beta do fator de crescimento transformador; - Regulação da resposta celular ao calor - Organização da membrana; - Regulação positiva das cascatas ERK1 e ERK2; - Regulação negativa da proliferação celular; - Desubiquitinação de proteínas; - Regulação positiva da inserção de proteínas na membrana mitocondrial envolvida na via de sinalização apoptótica; - Regulação da motilidade celular; - Regulação negativa do processo apoptótico; - Processo viral; - Resposta celular ao estímulo de dano ao DNA; - Regulação do ritmo circadiano; - Regulação da migração celular; - Proliferação celular; - Regulação da organização do citoesqueleto de actina; - Regulação positiva da sinalização I-Kb quinase/NF-kB; - Regulação do transporte do endossoma inicial para o endossoma tardio; - Via de sinalização estimulante do receptor de lectina do tipo C; - Diferenciação de células gliais de Bergmann; - Regulação da herança de Golgi; - Regulação da cascata MAPK ativada por estresse; - Fosforilação; - Coestimulação de células T; - Via de sinalização do receptor Fc-ϵ; - Resposta celular a espécies reativas de oxigênio; - Regulação da estabilidade do mRNA; - Processo apoptótico; - Ativação plaquetária; - Resposta celular ao íon cádmio; - Resposta celular ao estímulo à insulina.	<i>LIMK1</i>
Q15811	- Desubiquitinação de proteínas;	- Regulação negativa do processo apoptótico do neurônio;	<i>STX1A</i>

	- Processo catabólico da proteína dependente de ubiquitina; - Regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação negativa da transcrição, modelada em DNA; - Regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; - Regulação positiva da transcrição, modelada em DNA; - Regulação negativa da proliferação celular; - Organização da membrana; - Processo viral; - Regulação negativa do processo apoptótico; - Regulação positiva das cascatas ERK1 e ERK2; - <i>Via de sinalização do receptor da superfície celular;</i> - <i>Via de sinalização do receptor de insulina;</i> - <i>Regulação positiva da proliferação celular;</i> - <i>Via de sinalização mediada por citocinas;</i> - <i>Regulação positiva da sinalização da proteína quinase B;</i> - <i>Regulação positiva da fosforilação de proteínas;</i> - <i>Transdução de sinal;</i> - <i>Regulação positiva da expressão gênica;</i> - <i>Regulação positiva da cascata MAPK.</i>	- Resposta imune adaptativa; - Resposta inflamatória; - Montagem complexa de sinal; - Ativação de células T; - Adesão celular; - Via de sinalização mediada por interleucina-2; - Regulação positiva da proliferação de células T; - Regulação positiva da fosforilação da tirosina da proteína STAT; - Sinalização célula a célula - Regulação positiva da fosforilação da peptidil-tirosina; - Montagem de fibra de estresse; - Regulação positiva da atividade da MAP quinase; - Regulação positiva da localização de proteínas na membrana plasmática; - Regulação positiva da atividade do fator de transcrição NF-kB; - Cascata MAPK; - Ativação da atividade MAPK; - Regulação positiva da atividade de PI3Ks; - Regulação positiva da sinalização de PI3Ks; - Regulação positiva da angiogênese; - Orientação axonal; - Regulação positiva do processo apoptótico; - Regulação positiva da migração celular; - Via de sinalização do receptor de células T; - Resposta imune inata; - Regulação da proliferação celular; - Via de sinalização da proteína tirosina quinase do receptor na membrana plasmática; - Fosforilação de peptidil-tirosina; - Autofosforilação de peptidil-tirosina; - Migração celular; - Via de sinalização do receptor de efrina; - Via de sinalização do receptor Fc-γ envolvida na fagocitose; - Migração de leucócitos; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento endotelial vascular; - Via de sinalização do receptor do fator de crescimento epidérmico; - <i>Via de sinalização do receptor da superfície celular;</i> - <i>Via de sinalização do receptor de insulina;</i> - <i>Regulação positiva da proliferação celular;</i> - <i>Via de sinalização mediada por citocinas;</i> - <i>Regulação positiva da sinalização da proteína quinase B;</i> - <i>Regulação positiva da fosforilação de proteínas;</i> - <i>Transdução de sinal;</i> - <i>Regulação positiva da expressão gênica;</i> - <i>Regulação positiva da cascata MAPK.</i>	
Q16774	- Biogênese de uma grande subunidade ribossômica; - Biogênese de uma pequena subunidade ribossômicas; - Montagem da subunidade grande ribossômica; - Processamento de rRNA; - Proteína cotranslacional dependente de SRP direcionada para a membrana; - Iniciação translacional; - Tradução; - Tradução citoplasmática; - Processo catabólico de mRNA transcrito no núcleo, decaimento nonsense-mediated;	- Parada do ciclo celular; - Autofosforilação de proteínas; - Transdução de sinal intracelular; - Fosforilação de proteínas; - Fosforilação de peptidil-serina; - Fosforilação de peptidil-treonina; - Regulação do ciclo celular mitótico; - Regulação do processo apoptótico; - Divisão celular; - Estabelecimento da polaridade celular; - Ciclo de célula; - Via de sinalização Wnt; - Transição G1/S do ciclo celular mitótico;	

	- Processo catabólico de mRNA transcrito em nuclear, decaimento nonsense-mediated.	- Regulação da transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Regulação da expressão gênica; - Via de sinalização mediada por lipopolissacarídeos; - Ancoragem do corpo basal ciliar; - Organização do citoesqueleto de microtúbulos.	
<u>Q86UR5</u>	- Percepção sensorial do paladar; - <i>Processo metabólico de ATP</i>; - <i>Contração muscular</i>; - <i>Contração muscular esquelética</i>; - <i>Deslizamento do filamento muscular</i>; - <i>Regulação positiva do potencial pós-sináptico inibitório.</i>	- <i>Processo metabólico de ATP</i>; - <i>Contração muscular</i>; - <i>Contração muscular esquelética</i>; - <i>Deslizamento do filamento muscular</i>; - <i>Regulação positiva do potencial pós-sináptico inibitório.</i>	
Q9NZJ0	- Dobramento de proteínas.	- Interconversão de moléculas pequenas contendo nucleobase; - Desenrolamento de DNA envolvido na replicação do DNA; - Resposta a drogas; - Resposta ao UV; - Resposta ao estresse oxidativo; - Recombinação de DNA; - Formação de círculo t; - Ancoragem do corpo basal ciliar; - Regulação da transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G2/M do ciclo celular mitótico; - Transição G1/S do ciclo celular mitótico; - Segregação cromossômica; - Ciclo celular mitótico; - Checkpoint do ciclo celular mitótico; - Síntese de translesão sem erros; - Síntese de translesão propensa a erros; - Síntese de translesão; - Reparo de DNA; - Chekpoint da montagem do fuso mitótico; - Divisão celular; - Proliferação celular; - Replicação de DNA; - Iniciação da replicação de DNA; - Reparo de excisão de nucleotídeo acoplada à transcrição; - Reparo por excisão de nucleotídeos, incisão no DNA; - Reparo de excisão de nucleotídeo, incisão de DNA, lesão 5'; - Reparo por excisão de nucleotídeos, estabilização do complexo pré-incisão; - Reparo de ligação cruzada entre fitas; - Preenchimento de gap de DNA; - Manutenção de telômeros via replicação semi conservadora; - Reparo de quebra de fita dupla; - Reparo de quebra de fita dupla por recombinação homóloga; - Reparo de incompatibilidade; - Reparo por excisão de base; - Manutenção de telômeros; - Detecção e Resposta a danos no DNA; - Resposta celular ao estímulo de dano ao DNA; - Checkpoint de danos no DNA G2 mitótico; - Processo viral; - Processo apoptótico; - Processamento de quebra de fita dupla de DNA; - Processo biossintético de monofosfato de ribonucleosídeo de purina;	<i>TBL2</i>

		- Exportação de mRNA do núcleo; - Importação de proteínas para o núcleo; - Estabelecimento de latência proviral integrada.	
--	--	--	--

*Proteínas vizinhas sublinhadas representam proteínas já associadas a doenças e relatadas na literatura, dados obtidos pelo banco de dados UniProt.

¹Ontologias genéticas (GOs) relacionadas aos processos biológicos.

²GOs destacadas em *itálico* representam termos similares entre as comunidades da GN e PN.

Tabela XV.4 – Proteínas vizinhas que não foram anotadas com nenhuma ontologia genética pela análise espacial de enriquecimento funcional (SAFE) nas comunidades da rede global (GN) e paciente (PN).

Proteínas vizinhas* (n = 76)	Ontologias genéticas (GOs)
<u>O00399</u>	-
<u>O00628</u>	-
<u>O00755</u>	-
<u>O14653</u>	-
<u>O43581</u>	-
<u>O60706</u>	-
<u>O95831</u>	-
<u>P13861</u>	-
<u>P22059</u>	-
<u>P26572</u>	-
<u>P27694</u>	-
<u>P30531</u>	-
<u>P34913</u>	-
<u>P35523</u>	-
<u>P48509</u>	-
<u>P51159</u>	-
<u>P51800</u>	-
<u>P51801</u>	-
<u>P56704</u>	-
<u>P56962</u>	-
<u>P63167</u>	-
<u>P68400</u>	-
<u>Q04446</u>	-
<u>Q04656</u>	-
<u>Q14749</u>	-
<u>Q16281</u>	-
<u>Q16633</u>	-
<u>Q53GQ0</u>	-
<u>Q5EB52</u>	-
<u>Q5SQN1</u>	-
<u>Q5VYV0</u>	-
<u>Q6WBX8</u>	-
<u>Q75T13</u>	-
<u>Q7L211</u>	-
<u>Q7Z3Z0</u>	-
<u>Q7Z5M8</u>	-
<u>Q7Z6V5</u>	-
<u>Q86TI2</u>	-
<u>Q86UF1</u>	-
<u>Q86WA6</u>	-
<u>Q86XS8</u>	-
<u>Q86YZ3</u>	-
<u>Q8IX12</u>	-
<u>Q8IY67</u>	-
<u>Q8IYI6</u>	-
<u>Q8IZL9</u>	-
<u>Q8N4T4</u>	-

<u>Q8N138</u>	-
Q8N6R0	-
Q8TB40	-
<u>Q8WWV3</u>	-
Q8WXF1	-
Q8WYG6	-
<u>Q96AY3</u>	-
Q96C24	-
Q96HE7	-
<u>Q96HY7</u>	-
Q96J01	-
<u>Q96J92</u>	-
Q96PK6	-
<u>Q96RL7</u>	-
Q99685	-
Q99943	-
Q9H6B9	-
Q9H8H3	-
Q9HBK9	-
Q9NPG1	-
Q9NRQ5	-
<u>Q9NSU2</u>	-
Q9NYM9	-
Q9P253	-
Q9ULD0	-
<u>Q9UM54</u>	-
Q9Y4L1	-
Q9Y5N5	-
Q9Y680	-

*Proteínas vizinhas sublinhadas representam proteínas já associadas a doenças e relatadas na literatura, dados obtidos pelo banco de dados UniProt.