

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

Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de
síndrome de Williams-Beuren e com exame da FISH (-).

Leticia Cassimiro Batista

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

Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de
síndrome de Williams-Beuren e com exame da FISH (-).

Letícia Cassimiro Batista

Orientador: Prof. Dr. Danilo Moretti Ferreira.

Co-orientadora: Dra. Deise Helena de Souza

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

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Batista, Leticia Cassimiro.

Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de síndrome de Williams-Beuren e com exame da FISH (-) / Leticia Cassimiro Batista. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Danilo Moretti Ferreira

Coorientador: Deise Helena de Souza

Capes: 20205007

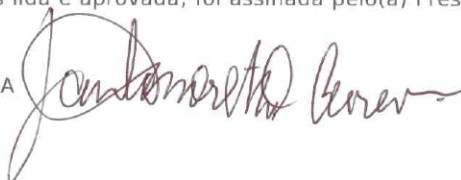
1. Exoma. 2. Hibridização *in Situ* Fluorescente. 3. Williams, Síndrome de.

Palavras-chave: Exoma; FISH(-); Síndrome de Williams-Beuren.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE LETÍCIA CASSIMIRO BATISTA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (GENÉTICA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 25 dias do mês de julho do ano de 2024, às 08:30 horas, no(a) Anfiteatro da Pós-Graduação., realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de LETÍCIA CASSIMIRO BATISTA, intitulada **Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de síndrome de Williams-Beuren e com exame da FISH (-)**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. DANILO MORETTI FERREIRA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Químicas e Biológicas / Instituto de Biociências de Botucatu UNESP, Profa. Dra. SARAH H. ELSEA (Participação Presencial) do(a) Molecular and Human Genetics / Baylor College of Medicine, Profª. Drª. RENATA LÚCIA LEITE FERREIRA DE LIMA (Participação Virtual) do(a) Instituto de Biologia - Universidade Federal da Bahia - UFBA, Prof. Dr. CARLOS ARTHUR CARDOSO ALMEIDA (Participação Virtual) do(a) Instituto de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Alagoas, Profa. Dra. SARAH SANTILONI CURY (Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Químicas e Biológicas / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. DANILO MORETTI FERREIRA



DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais Ademir e Dulce, in memoriam, por me permitirem sonhar e acreditar em mim mesmo quando eu mesma não acreditava. Vocês são meus maiores exemplos de vida, amor, trabalho e dedicação. Eu amo muito vocês!

AGRADECIMENTO

À Deus, por conceder-me paz e sabedoria para conduzir este trabalho;

Aos pacientes e seus familiares, por aceitarem participar deste estudo. Sem vocês este projeto não seria realizado;

Ao Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira, meu orientador. Muito obrigada pelo carinho, paciência, orientações, conselhos, suporte e confiança durante toda essa trajetória.

A Dr. Deise Helena de Souza pela amizade, carinho, conselhos, apoio e ensinamentos que foram importantíssimos para a realização deste projeto;

À Dra. Sarah H. Elsea agradeço por me receber em seu laboratório e por tudo que me ensinou, também agradeço o carinho e atenção que foram de grande suporte durante minha estadia em Houston.

À Rosana Bicudo pela disponibilidade, ensinamento e carinho no laboratório.

Aos membros do Laboratório da Dra. Sarah H. Elsea por me receberem bem e toda ajuda no período que passei lá.

À ABSW e demais centro de genéticas, e seus professores, funcionários e colaboradores, por tornar este trabalho possível;

Aos meus amigos e familiares pelo amor, pela amizade, compreensão, incentivo e pela ajuda nos momentos em que mais precisei.

Ao Murilo, meu namorado, por estar do meu lado desde o princípio, por me ajudar e apoiar nas decisões mais difíceis, você estava lá quando me senti mais perdida;

Aos familiares ausentes, que em todos os momentos estiveram presentes em meu coração;

A todos que me ajudaram neste trabalho;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) por todo o financiamento para a realização do presente trabalho.

Muito obrigada!!

RESUMO

A síndrome Williams-Beuren (SWB) é causada por uma microdeleção, na região 7q11.23. As deleções típicas podem ser de 1,5Mb e 1,8Mb. O fenótipo da SWB caracterizado com face típica, perfil cognitivo específico e alterações cardíacas. Devido a esse fenótipo conhecido, sistemas de pontuação foram desenvolvidos baseados nas características clínicas e assim auxiliar no diagnóstico clínico indicando quando se fazer o diagnóstico laboratorial. Esse diagnóstico pode ser realizado por diferentes técnicas, como a hibridização in situ por fluorescência (FISH), a amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação (MLPA), hibridização genômica comparativa em microarranjos (aCGH) e o sequenciamento de nova geração (SNG) de exoma. Este trabalho realizou o exoma de 22 pacientes com diagnóstico clínico de SWB e exame da FISH (-). A análise do exoma revelou em 10 pacientes variantes patogênicas nos genes ARID1B, ARID2, NAA15, GIGYF1, MED13L, KAT6B, KAT6A, PTPN11, TRRAP, RFX7, GGCX e GJA1. Entretanto, novos estudos precisam realizados.

ABSTRACT

Williams-Beuren syndrome (WSB) is caused by a microdeletion in the 7q11.23 region. These deletions are called typical and can be 1.5Mb and 1.8Mb. The phenotype of WSB is characterized by a typical face, specific cognitive profile, and cardiac alterations. Due to this established phenotype, scoring systems have been developed based on the characteristics found in patients in order to aid in the clinical diagnosis and indicate when to make the laboratory diagnosis. This diagnosis can be made by different techniques, such as fluorescence in situ hybridization (FISH), multiplex ligation-dependent amplification (MLPA), comparative genomic hybridization on microarrays (aCGH), and next-generation sequencing (NGS) of the exome. This study performed the exome analysis of 22 patients with a clinical diagnosis of WSB and FISH (-). The exome revealed pathogenic and probably pathogenic variants in genes *ARID1B*, *ARID2*, *NAA15*, *GIGYF1*, *MED13L*, *KAT6B*, *KAT6A*, *PTPN11*, *TRRAP*, *RFX7*, *GGCX* e *GJA1* genes in 10 cases. However, further studies are needed

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	11
1.1. Características Clínicas.....	11
1.2. Diagnóstico Clínico	13
1.3. Características genéticas	14
1.4. Diagnostico Laboratorial	16
2. OBJETIVOS	18
2.1. Geral	18
2.1.1. Específico	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1. Casuística.....	19
3.2. Aspectos éticos.....	20
3.3. Avaliação clínica	20
3.4. Análise Molecular	20
3.4.1. Obtenção do DNA genômico.....	21
3.4.2. Exoma	21
3.4.2.1. Análise das variantes	21
4.RESULTADOS	25
4.1. Grupo amostral.....	25
4.2. Análises moleculares.....	26
4.2.1. ARID1B e ARID2- Casos 2 e 16.....	26
4.2.2. KAT6A- Caso 13.....	30
4.2.3. PTPN11- Caso 19	33
4.2.4. GJA1- Caso 22.....	36
4.2.5. KAT6B- Caso 9	37
4.2.6. NAA15-Caso 4	41
4.2.7. MED13L- Caso 5.....	44
4.2.8. Caso 12- TRRAP	46
4.2.9. Caso 17- RFX7	49
4.2.10. CLIP2- Caso 10	52
4.2.11. Casos sem hipótese diagnóstica molecular.....	55
5. DISCUSSÃO	64
6.CONCLUSÃO.....	74

7. REFERÊNCIAS.....	75
8.ANEXOS.....	82
8.1. Anexo I. Ficha de Anamnese da SWB	82
8.2. Anexo II. Sistemas de pontuação utilizados para o diagnostico clínico da SWB. .	89
8.3. Anexo III. Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa.....	91
8.4. Anexo IV. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para menores de 18 anos. 	96
8.5.Anexo V. Fotografias do grupo amostral.	99

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Visualização gráfica da região 7q11.23 deletada na síndrome de Williams-Beuren..16
- Figura 2.** Diagrama de Venn com as características clínicas da síndrome de Williams-Beuren e da síndrome de Coffin-Siris.....61
- Figura 3.** Diagrama de Venn com as características faciais da síndrome de Williams-Beuren e da síndrome de Coffin-Siris.....61

LISTA DE TABELAS

Fluxograma 1. Desenho do grupo amostral.....	
Tabela 1. Caracterização das mutações encontradas nos genes <i>ARID1B</i> e <i>ARID2</i>	
Tabela 2. Características clínicas da síndrome de Coffin-Siris e dos casos 2 e 16.....	
Tabela 3. Caracterização da variante encontrada no gene <i>KAT6A</i>	
Tabela 4. Características clínicas da síndrome de Arboleda-Tham.....	
Tabela 5. Caracterização da variante encontrada no gene <i>PTPN11</i>	
Tabela 6. Características clínicas da síndrome de Noonan de pacientes com alterações no gene <i>PTPN11</i>	
Tabela 7. Caracterização da variante encontrada no gene <i>GJA1</i>	
Tabela 8. Características clínicas da DODD.....	
Tabela 9. Caracterização da variante encontrada no gene <i>KAT6B</i>	
Tabela 10. Características clínicas da síndrome de SBBYSS.....	
Tabela 11. Caracterização das variantes encontradas nos genes <i>NAA15</i>	
Tabela 12. Características clínicas da MRD50.....	
Tabela 13. Caracterização da variante encontrada no gene <i>MED13L</i>	
Tabela 14. Características clínicas da MRFACD.....	
Tabela 15. Caracterização da variante encontrada no gene <i>TRRAP</i>	
Tabela 16. Características clínicas da síndrome de DEDDFA.....	
Tabela 17. Caracterização da variante encontrada no gene <i>RFX7</i>	

Tabela 18.	Características clínicas do transtorno MRD71.....
Tabela 19.	Caracterização da variante do gene <i>CLIP2</i>
Tabela 20.	Características clínicas da síndrome de Williams-Beuren.....
Tabela 21.	Caracterização das variantes encontradas no caso 1.....
Tabela 22.	Caracterização das variantes encontradas no caso 3.....
Tabela 23.	Caracterização das variantes encontradas no caso 20.....
Tabela 24.	Características clínicas da SWB dos casos complexos.....

LISTA DE ABREVIATURAS

et al. e outros

LISTA DE SÍMBOLOS

Mb	megabase (s)
ml	mililitro
$\geq$	Maior ou igual
$<$	menor que
%	porcentagem
-	negativo e/ou ausência
+	positivo e/ou presente

LISTA DE SIGLAS

AA	Aminoácido
AAP	Associação Americana de Pediatria
ABraOM	Arquivo Brasileiro Online de Mutações
ABSW	Associação Brasileira da Síndrome de Williams-Beuren
aCGH	microarray-based Comparative Genomic Hybridization (array-CGH)
AD	Autossômica dominante
Ala	Alanina
AR	Autossômica recessiva
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
Asp	Aspartato
AVC	Acidente vascular cerebral
CADD	Combined Annotation Dependent Depletion
CEP	Comitê de ética em pesquisa
CNV	Variação do número de cópias (<i>copy number variation</i>)
Cys	Cisteína
DANN	<i>Deep neural network (DNN) algorithm</i>
dbSNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism Database</i>
DECIPHE	
R	<i>Database of Genomic Variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources</i>
del	Deleção
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DODD	Displasia Oculodentodigital
dup	Duplicação
EAP	Estenose da artéria pulmonar
EASV	Estenose aórtica supravalvar
EDTA	Ácido etileno diamino tetra-acético
Exoma	Sequenciamento de éxons
FATHMM	<i>Functional Analysis through Hidden Markov Models</i>
FCM	Faculdade de Ciências Médicas

FISH	Hibridação in situ por fluorescência (Fluorescence in situ hybridization)
fitcons	<i>fitness consequences of functional annotation</i>
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
FRX	Fator regulador X
fs*	<i>Frameshift</i>
GERP	<i>Genomic Evolutionary Rate Profiling</i>
Gln	Glutamina
Gly	Glicina
gnomAD	<i>Genome Aggregation Database</i>
GRCh38	<i>Genome Reference Consortium Human Build 38 Organism: Homo sapiens (human)</i>
His	Histidina
HPO	<i>Human Phenotype Ontology</i>
IGV	<i>Integrative Genomics Viewer</i>
indel	<i>insertion-deletion</i>
LCR	Sequências de baixo número de cópias (low copy repeats)
Lys	Lisina
MetaLR	<i>Logistic regression (LR) based ensemble prediction score</i>
MLPA	Amplificação de sondas multiplex dependente de ligação
MRD50	<i>Intellectual developmental disorder, autosomal dominant 50, with behavioral abnormalities</i>
MRFACD	<i>Impaired intellectual development and distinctive facial features with or without cardiac defects</i>
MRD71	<i>Intellectual developmental disorder, autosomal dominant 71, with behavioral abnormalities</i>
N/A	<i>Not applicable</i>
NAHR	Recombinação alélica não homologa (non allelic homologous recombination)
ND	Não descrito
NGS	<i>New generation sequencing</i>
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
Poly-Phen-2	<i>Polymorphism Phenotyping v2</i>
Pro	Prolina
RCSWB	Região crítica da síndrome de Williams-Beuren

REVEL	<i>Rare exome variant ensemble learner</i>
RNA	Ácido ribonucleico
SAG	Serviço de aconselhamento genético
SARTH	Síndrome de Arboleda-Tham
SBBYSS	Síndrome de Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson
SCS	Síndrome de Coffin-Siris
Ser	Serina
SIFT	<i>Sorting Intolerant From Tolerant</i>
SMS	Síndrome de Smith-Magenis
SNG	Sequenciamento de nova geração
SNV	<i>Single Nucleotide Variant</i>
SWB	Síndrome de Williams-Beuren
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
Ter	Terminal
Thr	Treonina
Trp	Triptofano
Tyr	Tirosina
UCSC	<i>University of California Santa Cruz</i>
UNESP	Universidade Estadual Paulista
UNICAMP	Universidade de Campinas
US	Ultrassonografia
Val	Valina
WBS	<i>Williams-Beuren syndrome</i>

1.INTRODUÇÃO

A síndrome de Williams-Beuren (SWB; OMIM 194050) é uma afecção genética rara e multissistêmica, descrita por Williams *et al.*, 1961 e Beuren *et al.*, 1962 independentemente. Eles descreveram grupos de pacientes distintos, que apresentavam dismorfismos faciais, anomalias cardiovasculares congênitas, deficiência intelectual e de crescimento, perfil cognitivo característico e ocasionalmente hipercalcemia infantil transitória (AAP, 2001).

A ocorrência desta afecção é estimada em 1/7.500 nascidos vivos (STROMME; RAMSTAD, 2002; KRUSZKA *et al.*, 2018). É uma síndrome pan-etnica e acomete ambos os sexos (KRUSZKA *et al.*, 2018). A maioria dos casos é considerada uma síndrome esporádica, resultado de uma deleção *de novo* (CAMPO *et al.*, 2006) embora herança autossômica dominante já tenha sido descrita (MORRIS; THOMAS; GREENBERG, 1993).

Estudos envolvendo os pais não encontraram predominância de origem parental, nem relação com a idade dos pais ou diferenças fenotípicas (PEREZ JURADO, *et al.*, 1996; DUTLY; SCHINZEL, 1996; ROBINSON *et al.*, 1996; BAUMER *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 1999; BAYÉS *et al.*, 2003; THOMAS *et al.*, 2006). Contudo uma inversão na região cromossômica da SWB (SWBinv-1) em pais de pacientes com SWB, aumenta a probabilidade de um subsequente rearranjo meiótico como a deleção (BAYÉS *et al.*, 2003).

A SWB é causada por uma microdeleção hemizigótica no braço longo do cromossomo 7(7q11.23) abrangendo de 1.5Mb à 1.8Mb contendo 28 genes. A haploinsuficiência desses genes leva a um fenótipo característico, mas a correlação genótipo-fenótipo ainda não é estabelecida (SCHUBERT, 2009)(FIGURA 1).

A região cromossômica deletada na SWB envolve o gene da elastina (*ELN*), que codifica a proteína elastina, importante componente das fibras do tecido conjuntivo o que explica as várias características da síndrome como alterações faciais, voz rouca, cardiopatia, envelhecimento precoce da pele, divertículos vesicais, hérnias, contratura ou frouxidão de articulações (CURRAN *et al.*, 1993; EWART *et al.*, 1993; OSBORNE *et al.*, 1996; AAP, 2001).

1.1. Características Clínicas

A SWB possui uma grande variabilidade fenotípica, mas algumas características se destacam, como a face típica, as alterações cardíacas e o perfil cognitivo.

As características faciais típicas incluem estreitamento bitemporal, edema periorbital, estrabismo, íris estrelada, sobranceiras largas, epicanto, ponte nasal baixa, nariz curto e arrebicado ou narinas antevertidas, nariz bulboso, hipoplasia malar, filtro nasal longo, lóbulos das orelhas proeminentes, bochechas proeminentes, boca grande, lábios proeminentes, dentes pequenos e espaçados, maloclusão e queixo pequeno (MORRIS et al., 1988; AAP, 2001).

A estenose aórtica supravalvar (EASV) é um tipo de arteriopatia severa encontrada em 75% dos casos com SWB (MORRIS,2018), que pode resultar numa hipertensão (40% a 50%) ou até numa insuficiência cardíaca (ERONEN et al., 2002; BOUCHIREB et al., 2010). Já a estenose da artéria pulmonar (EAP) é outro tipo de arteriopatia, vista com maior frequência na infância e apresenta melhora com o tempo (MORRIS,2018). Devido à presença de problemas cardíacos na SWB há um risco maior de episódios de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral (AVC) e morte súbita (WESSEL et al., 2004). O que representa a maior parte da morbidade e mortalidade da síndrome.

As alterações no tecido conjuntivo estão relacionadas aos seguintes aspectos: voz rouca, presença de hérnias umbilical e/ou inguinal, frouxidão das articulações e anomalias cardiovasculares (MORRIS,2018). Já os aspectos musculoesqueléticos que podem ser observados são: a hipotonia e a frouxidão das articulações na infância, enquanto nos adolescentes e adultos estão presentes a hipertonia e contratura das articulações (KAPLAN et al., 1989; LOPEZ-RANGEL et al., 1992).

Na primeira infância, observamos refluxo gastresofágico, vômitos, dificuldades alimentares e cólicas prolongadas. Também notamos constipação e alterações endócrinas, como a hipercalcemia idiopática infantil transitória, presente em 6 a 15% dos casos (MORRIS et al., 1988; FERRERO et al., 2007). Esses sintomas gastrointestinais levam a uma desnutrição que resulta em baixo peso e crescimento.

Assim, pacientes com a SWB tem um seu próprio padrão de crescimento com restrição de crescimento intrauterino e ao nascimento baixo peso, comprimento e perímetro cefálico. Durante a infância e adolescência apresenta um atraso global no crescimento responsável por uma altura final abaixo da média da população o mesmo para o peso e perímetro cefálico (DE SOUSA LIMA STRAFACCI et al., 2020; STANLEY; LEONG; POBER, 2021). Ambos meninos e meninas com SWB tem início da puberdade 1-2 anos mais cedo que a população em geral incluindo menarca 1-2 anos mais cedo que a média e pode contribuir para a altura final do adulto (MORRIS et al., 1988; STANLEY; LEONG; POBER, 2021).

Curvas de crescimento e peso específicas para SWB foram desenvolvidas com o passar do tempo. Por exemplo, em 2001 a Academia Americana de Pediatria publicou em seu guideline de

tratamento da SWB as curvas que sugerem ser usadas (AAP, 2001). Na Inglaterra, num estudo com 169 pacientes com SWB desenvolveram as suas curvas de crescimento para peso, altura e perímetro encefálico (MARTIN et al., 2007). Recentemente foi publicado um estudo com 245 pacientes brasileiros com a SWB e assim elaborou-se curvas de crescimento e peso específicas para o Brasil (STRAFACCI et al., 2024).

O perfil cognitivo da SWB também é particular, os pacientes apresentam um padrão típico de debilidades e habilidades. As áreas com debilidades incluem a construção visuoespacial, a deficiência intelectual que pode ser de leve a moderada; e as habilidades motoras finas (SMOOT et al., 2005; SERRANO-JUÁREZ et al., 2022). No entanto, eles apresentam um desenvolvimento superior em linguagem, reconhecimento facial, talento musical e hipersociabilidade, um traço distintivo da síndrome (SMOOT et al., 2005; POBER, 2010). Além dessas características os pacientes podem apresentar déficit de atenção, hiperatividade, ansiedade, fobias, hiperacusia e distúrbios do sono (AAP, 2001).

1.2. Diagnóstico Clínico

Apesar das características clínicas serem conhecidas, a síndrome ainda demora a ser diagnosticada. Tal situação pode ocorrer, pois, as características faciais típicas podem ser sutis no nascimento. Os bebês podem apresentar vômitos, constipação e irritabilidade, esses sintomas podem estar relacionados à hipercalcemia. Entretanto, não são específicos e a dosagem de cálcio sérico não é realizada de rotina. Já os atrasos no desenvolvimento são frequentemente atribuídos aos problemas crônicos (MORRIS et al., 1988). O estudo realizado por Souza et al., 2007 demonstrou que a SWB possui um diagnóstico tardio. Pois, na maioria dos casos os pacientes tinham mais de sete anos ao diagnóstico, dados . Apenas em três casos o diagnóstico foi realizado com idade abaixo de três anos. Esse estudo corrobora com o estudo de Morris *et al.*, 1988, onde a idade média do diagnóstico foi de 6,4 anos.

Nas últimas décadas nos países mais ricos a idade do diagnóstico apresentou uma queda devido ao acesso maior aos testes moleculares. Entretanto, para os demais países o diagnóstico continua sendo tardio, ocorrendo depois da primeira infância (KOZEL et al., 2021).

Conhecer as características clínicas da SWB permitiu que sistemas de pontuações fossem elaborados a fim de auxiliar no diagnóstico clínico da síndrome e indicar se deve-se fazer a confirmação laboratorial.

Os sistemas de pontuação ou escores, atribuem pontos para as características clínicas apresentadas pelos pacientes, ao final esses pontos são somados e de acordo com o seu valor de corte estabelecem se o paciente é SWB clássico ou não.

Para a SWB foram desenvolvidos quatro sistemas de pontuações: o primeiro de Preus, 1984; Lowery et al., 1995; Academia Americana de Pediatria (AAP, 2001); e Sugayama et al., 2007 (ANEXO II). O sistema descrito por Preus em 1984 caiu em desuso por ser de difícil aplicação. O nosso grupo avaliou os três sistemas de pontuação e encontram entre eles uma alta sensibilidade e baixa especificidade (LEME et al., 2013).

Nos últimos anos estudos passaram a relacionar algumas características observadas em exames de ultrassonografias (US) realizadas durante o pré-natal a SWB. Apesar de não haver um quadro clínico específico, as características mais frequentes observadas foram às alterações cardiovasculares, a restrição de crescimento intrauterino e o poli-hidrânio (HUANG et al., 2022; COURDIER et al., 2023; LV et al., 2023).

1.3. Características genéticas

A SWB é causada pela deleção em 7q11.23. Essa região é conhecida como região crítica da SWB (RCSWB). E possui uma arquitetura genômica complexa sendo composta por: uma região de 1.2Mb de genes de cópia única; ligada a duas regiões repetitivas, repetições de cópias baixas (*LCR: Low Copy Repeats*) (SCHUBERT, 2009). As *LCRs* estão divididas em 3 blocos: A, B e C; que estão organizados em segmentos centrométrico, medial e telomérico. Essas *LCRs* representam o substrato para a ocorrência de *crossing-over* durante a divisão meiótica (INOUE; LUPSKI, 2002), como apresentado na Figura 1. Nas *LCRs* podemos encontrar tanto genes quanto pseudogenes (HOBART et al., 2010).

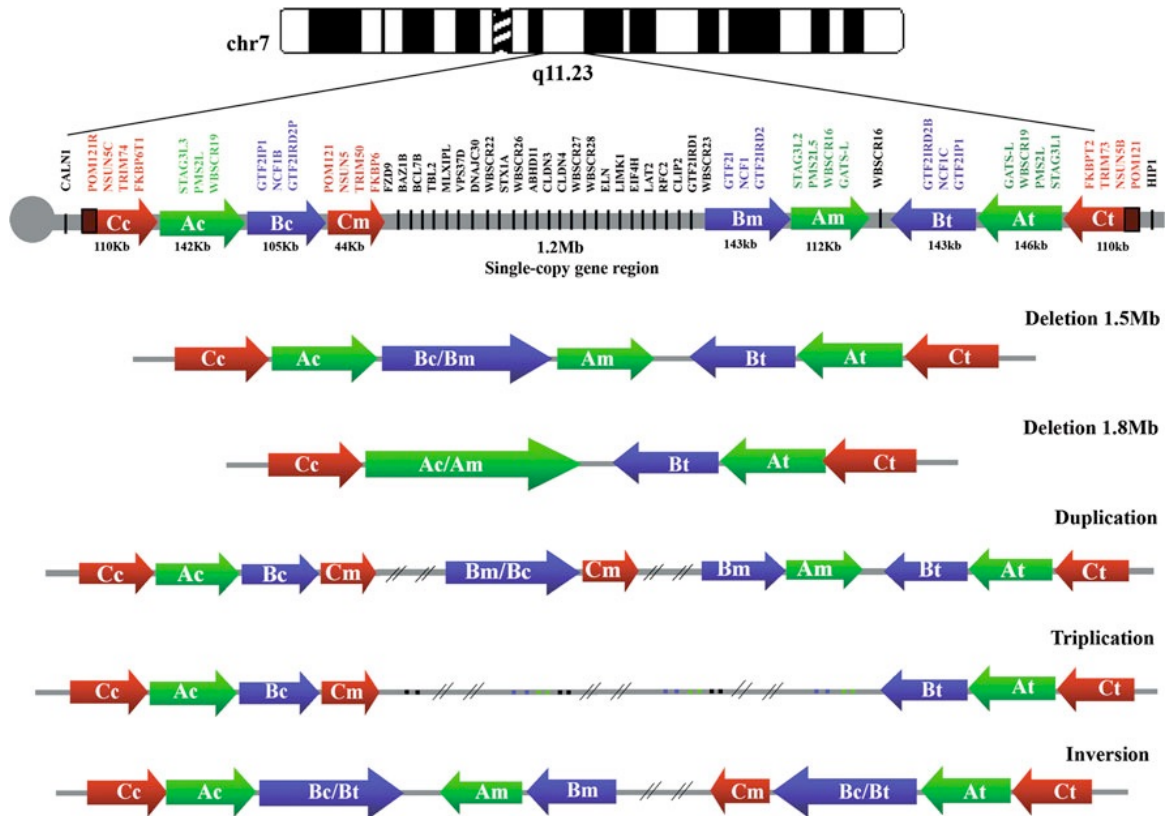


Figura 1. Visualização gráfica da região 7q11.23 deletada na síndrome de Williams-Beuren. A localização e orientação dos blocos *LCRs* (A, B e C) centromérico (c), médios (m) e teloméricos (t) estão indicados por setas coloridas, nota-se que os genes estão representados nos blocos apenas uma vez. Abaixo, as deleções típicas de 1.5Mb e 1.8Mb estão representadas com pontos de quebra dentro dos blocos B centromérico e B medial e blocos A centromérico e A medial, respectivamente. Logo abaixo há a duplicação dos blocos de *LCRs* B medial, B centromérico e C medial; há também a representação da triplicação. Por último há a representação da inversão dos blocos A medial, B medial, C medial e B telomérico (Modificado de MERLA et al., 2010).

O pareamento não homólogo (*non allelic homologous recombination* — *NAHR*) entre blocos diferentes de *LCRs* ocorre, pois, estas possuem uma alta similaridade de sequências homólogas. Nessa situação, a recombinação poderá resultar em uma deleção em uma cromátide e/ou duplicação da região na outra cromátide, (OSBORNE et al., 2001).

Aproximadamente, 95% dos pacientes com diagnóstico clínico de SWB apresentam uma deleção de ~1.5 Mb causada por uma recombinação meiótica desigual entre os blocos B-centromérico e B-medial, enquanto, 3–5% exibem uma deleção de ~1.8 Mb entre os blocos A-centromérico e A-medial. Na literatura, com frequência menor, existem relatos de deleções maiores ou menores que

esses limites e estas são nomeadas de atípicas (BELLUGI et al., 2000; NICA BAYÉS et al., 2003; SCHUBERT, 2009) (Figura 3).

Na literatura há estudos que identificaram a presença de uma inversão paracêntrica hemizigótica na região crítica da SWB. Esta inversão poderia aumentar a possibilidade de um pareamento desequilibrado em 7q11.23 que resultaria na deleção ou duplicação da região (OSBORNE et al., 2001; BAYÉS et al., 2003; SCHUBERT, 2009; HOBART et al., 2010). Assim, as pessoas que possuem a inversão têm um risco maior de ter um filho com a SWB em comparação a população que não possui a inversão (HOBART et al., 2010).

Na região crítica da SWB foram identificados 28 genes, entretanto, a correlação genótipo-fenótipo das características da SWB ainda não foi esclarecida para todos os genes deletados. Ewart *et al.*, 1993 estabeleceu a ligação entre a haploinsuficiência da proteína *ELN* e os problemas cardiovasculares e alterações de tecido conjuntivo. Uma vez que, a elastina forma as fibras elásticas da matriz extracelular do tecido conjuntivo e de regular a proliferação de células musculares lisas vasculares.

1.4. Diagnostico Laboratorial

A técnica preconizada para o diagnóstico da SWB é a técnica da FISH, por ser uma técnica específica (EWART' et al., 1993; LOWERY et al., 1995; SOUZA et al., 2007). Essa técnica é realizada pela hibridação de uma sequência específica de DNA marcada com uma sonda na sequência de DNA alvo complementar, a fim de verificar se a mesma possui ou não as duas cópias da sequência alvo. Assim na SWB, a sequência de DNA a ser marcada com a sonda está na RCSWB, onde se encontram os genes da *ELN*, o mais comumente marcado, e o gene *LIMK1*, além de marcadores de microssatélites (LOWERY *et al.*, 1995).

A ausência da fluorescência da região 7q11.23 em um dos cromossomos indica que houve deleção, ou seja, FISH (+) e, portanto, confirma a hipótese diagnóstica para a SWB (MERVIS et al., 2000). Contudo, há situações em que os pacientes têm o diagnóstico clínico da SWB e são FISH (-), ou seja, a fluorescência é observada em ambos os cromossomos 7. Esses últimos representam 4% dos casos e não possuem a confirmação laboratorial. Tal situação pode ocorrer pois:

- A microdeleção é atípica e não envolve os genes utilizados como marcadores (*ELN*) (PANI et al., 2010).
- Pode ser uma variante nos genes da região crítica da SWB.

- Deleções ou mutações em outras regiões do genoma apresentando aspectos semelhantes à SWB.
- Diagnóstico clínico errôneo.

Com o advento tecnológico, outras técnicas mais recentes de citogenética molecular passaram a ser utilizadas no diagnóstico da SWB. Como a amplificação multiplex de sondas dependentes de ligação (MLPA), microarranjos de alta densidade (aCGH) e sequenciamento de nova geração (SNG). Essas técnicas novas possuem um maior poder de resolução e têm auxiliado na detecção de alterações genéticas complexas.

A MLPA é uma técnica de varredura genômica de alto rendimento e específica, que permite detectar deleções e/ou duplicações no número de cópias (CNVs) em sequências de DNA alvo em uma única reação (RIEGEL et al., 2014). A sua eficácia depende da qualidade do DNA e não é uma técnica capaz de identificar rearranjos balanceados e mosaicismos (HONJO et al., 2015).

Os microarranjos de DNA permitem avaliar variações ou alterações de genoma completo. Por isso, pode identificar anomalias cromossômicas raras e a sua resolução irá variar conforme a plataforma utilizada (de dez a centenas de quilobases), ou seja, quanto maior a cobertura do genoma maior será a resolução (BI et al., 2012).

As técnicas de microarranjos são eficazes, mas as técnicas de sequenciamento são capazes de detectar variantes ainda mais raras (SHENDURE, 2008). Dentre as diferentes abordagens, o sequenciamento de éxons (Exoma) conquistou espaço como um método de diagnóstico para doenças genéticas. Por exemplo, na identificação de novas mutações em genes relacionados a doenças raras que ainda não possuem bases genéticas esclarecidas (KU et al., 2012). A SWB e outras patologias que apresentam uma ampla heterogeneidade fenotípica podem ter as bases genéticas evidenciadas com o emprego dessa abordagem de Exoma (RABBANI; TEKIN; MAHDIEH, 2014).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Realizar triagem genômica de pacientes com diagnóstico clínico de SWB e FISH (-), aplicando técnicas para identificar contribuintes genéticos que se correlacionam com as alterações fenotípicas, a fim de esclarecer o quadro clínico desses pacientes.

2.1.1. Específico

Melhorar a acuidade diagnóstica da SWB, para melhorar os critérios clínicos e apoiar o aconselhamento genético para pacientes e familiares

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Casuística

Dos arquivos do Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) foram selecionados 35 indivíduos com diagnóstico clínico da SWB, que foram encaminhados pela Associação Brasileira de Síndrome de Williams (ABSW)(24 casos), São Paulo- SP; Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto-SP(5 casos); Departamento de Genética Médica-FCM/UNICAMP (2 casos); Universidade Federal do Rio de Janeiro-RJ (1 caso); Conjunto Hospitalar de Sorocaba (1 caso); Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (1 caso); Universidade Estadual de Londrina (1 caso).

Os pacientes foram avaliados clinicamente e foi proposto aos pais participação nesta pesquisa.

A pesquisa foi apresentada e após tirarem todas as dúvidas os responsáveis assinaram o termo de consentimento livre esclarecido em duas vias. Após esse processo os pacientes foram fotografados e o sangue foi coletado para a realização da técnica da FISH e extração do DNA. Para os pacientes encaminhados dos outros centros de genética foi solicitado o envio das amostras de sangue para realização da FISH e extração de DNA, juntamente com tabela de sinais clínicos preenchidos pelos geneticistas desses centros, além de fotografias e os termos de consentimento livre esclarecido assinado pelos pais ou responsáveis.

Critérios de inclusão

- Diagnóstico clínico para a SWB, estabelecido pela classificação de escore clínico AAP ≥ 3 com base na ficha de anamnese genético-clínico do paciente (ANEXO I);
- Análise citogenética negativa para SWB estabelecida pela técnica da FISH com sondas para a região da síndrome envolvendo o gene da *ELN* segundo protocolo dos fabricantes (CYTOCELL®, VYSIS® e LIVE®).

Critérios de exclusão:

Contrapor-se à participação no estudo, não assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e não comparecimento ao retorno quando solicitado novas amostras de DNA.

3.2. Aspectos éticos

O projeto possui aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB-UNESP), sendo este o número de primeiro parecer: 2.370.344 (08 de novembro de 2017)(ANEXO III).

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) com todas as informações necessárias sobre o estudo foi fornecido aos responsáveis quando o paciente era menor de 18 anos (ANEXO IV) e aos próprios pacientes quando eram maiores de 18 anos. Aos pacientes maiores de 12 anos um termo de assentimento também apresentado com todas as informações compatíveis com a idade do paciente.

Uma vez aceita a participação no estudo, os termos foram assinados em duas vias, uma ficando com os responsáveis pela pesquisa e a outra com os pacientes ou responsáveis. Como o diagnóstico clínico é baseado na classificação do escore clínico AAP, é necessário o uso de imagens dos pacientes, com possibilidade futura de publicação. Em vista disso, a autorização foi solicitada juntamente aos TCLEs.

3.3. Avaliação clínica

A descrição clínica e fotografias dos pacientes estão no Anexo V.

Para estabelecer o diagnóstico clínico da SWB foi utilizado o sistema de pontuação da Associação Americana de Pediatria (AAP, 2001). Segundo esse score quando a pontuação total for < 3 , o diagnóstico de SWB é improvável; enquanto pontuações totais ≥ 3 são classificadas como SWB clássicos.

AAP (2001) também descreveu curvas antropométricas para a SWB, assim durante a avaliação clínica foram obtidas essas medidas como peso, altura e perímetro cefálico que foram comparadas essas curvas da AAP.

3.4. Análise Molecular

Todos os pacientes durante as consultas foram coletados amostras de sangue para a extração de DNA. Assim, as amostras de DNA dos pacientes com SWB do SAG foram armazenadas num banco de amostras.

3.4.1. Obtenção do DNA genômico.

O DNA foi extraído de uma alíquota de sangue do tubo de 5 ml com EDTA, com o kit comercial de extração de DNA da QIAGEN® (*Flexigene Genomic Purification Kit*), seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante.

As amostras de DNA foram quantificadas e qualificadas através de leitura em espectrofotômetros NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific). Neste processo utilizou-se de 0,5 até 1,0µl da amostra. As amostras foram armazenadas em freezer a temperatura de -20°C.

3.4.2. Exoma

O exoma foi realizado pela empresa *Genewiz-Azenta Life Technologies* pela plataforma Illumina NovaSeq™ 6000 Sequencing System e a configuração NovaSeq 2x150 bp S4 lane. As leituras foram alinhadas com o genoma de referência GRCh38.

3.4.2.1. Análise das variantes

Para iniciar as análises das variantes, foi utilizado os programas Franklin, by Genoox; e *Integrative Genomics Viewer* (IGV).

No Franklin foram anexados os arquivos .csv e adicionados para todos os pacientes: o ano de nascimento e as características clínicas presentes nas fichas de anamnese seguindo a nomenclatura *Human Phenotype Ontology* (HPO). As variantes foram selecionadas e aplicadas conjuntos de filtros.

O programa IGV foi utilizado para visualizar as variantes.

As variantes autossômicas dominantes foram filtradas por um conjunto de filtros que denominamos AD.

Os filtros presentes em AD eram:

- Frequência agregada: 0-0.1 e N/A
- Confiança: alta e média
- Características fenotípicas adicionadas
- Tipo de herança: autossômica dominante
- Zigosidade: heterozigoto

- Região: região de splicing (+ ou -3->10), aceitador de splicing (-2), doador de splicing (+2), éxon
- Efeito: stop gain, start gain, non-frameshift, start loss, frameshift, stop loss, não sinônima e outro.

As variantes autossômicas recessivas também foram filtradas por um conjunto de filtros que denominamos AR.

Os filtros presentes em AR eram:

- Frequência agregada: 0-0.1 e N/A
- Confiança: alta e média
- Zigosidade: homozigoto
- Região: região de splicing (+ ou -3->10), aceitador de splicing (-2), doador de splicing (+2), éxon
- Efeito: stop gain, start gain, non-frameshift, start loss, frameshift, stop loss, não sinônima e outro

O programa permite filtrar variantes que podem estar em combinação com outra variante no mesmo gene e assim poder ter alguma importância clínica. Esse filtro procura um par de variantes que possa ser possivelmente relevante em termos de classificação, região, efeito e confiança.

- O conjunto de filtros presentes em *suspected compound* eram:
- Frequência agregada: 0-0.1 e N/A
- Confiança: alta e média
- Zigosidade: homozigoto e heterozigoto
- Região: região de splicing (+ ou -3->10), aceitador de splicing (-2), doador de splicing (+2), éxon
- Efeito: stop gain, start gain, non-frameshift, start loss, frameshift, stop loss, missense e outro.
- Suspected compound het.

Os bancos de dados ClinVar, dbSNP, Franklin by Genoox, DECIPHER, UCSC, Ensemble e UniProt foram utilizadas para consultar se as variantes foram relatadas anteriormente, quando sim

qual a sua classificação. Enquanto para verificar as frequências populacionais, foram consultados os seguintes bancos: gnomAD v.4.1, BraVE-BIPMed e ABraOM. Sendo os dois últimos da população brasileira. Para a análise de predição computacional foram usados a predição agregada do Franklin by Genoox, que incluem a ferramentas de previsão in-silico: SIFT, FATHMM, DANN, MetaLR, REVEL, MutationAssessor, PolyPhen-2, MutationTaster, SpliceAI, dbSCSNV, GERP, GenoCanyon e fitCons. Em conjunto com esses programas também foi utilizado o CADD.

A partir das listas de variantes geradas por esses filtros, foi realizada a análise segundo o *guideline* da ACMG 2015.

4.RESULTADOS

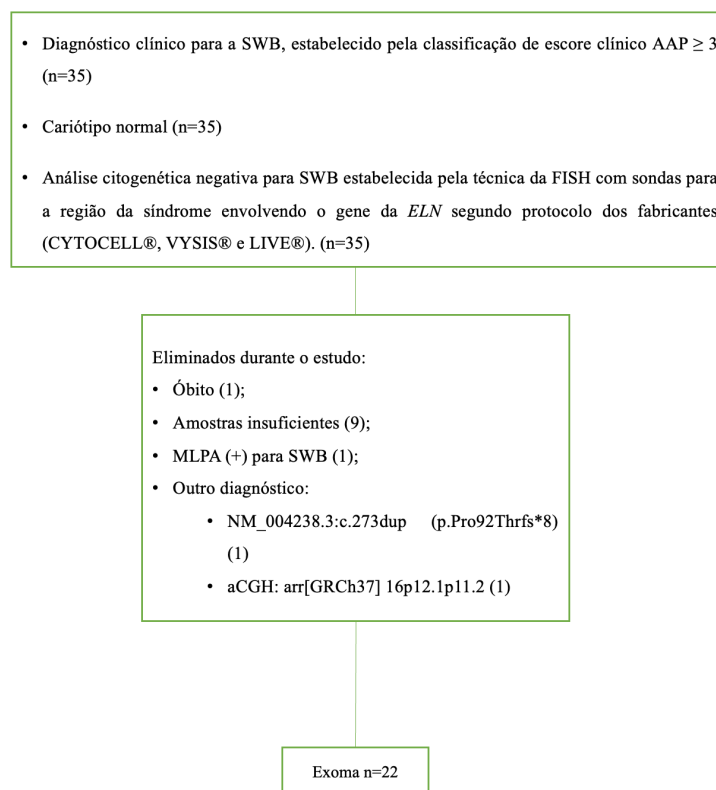
4.1. Grupo amostral

Dos 35 pacientes avaliados clinicamente, 22 eram do sexo masculino e 13 do sexo feminino. A idade no primeiro atendimento variou de um ano a 38 anos; a idade média foi de aproximadamente 11 anos. Ainda com relação a idade no primeiro atendimento em 16 casos a investigação se iniciou com menos de 10 anos, enquanto os demais pacientes, 19, tinham 10 anos ou mais; e desses quatro tinham idade superior a 20 anos.

Todos os responsáveis pelos 35 pacientes da presente casuística concordaram em participar desta pesquisa e assinaram o TCLE que consta nos arquivos dos pacientes no SAG.

Durante o estudo 13 casos foram eliminados por diferentes motivos (FLUXOGRAMA 1).

Fluxograma 1. Desenho do grupo amostral.



4.2. Análises moleculares

Foram realizados 22 exomas e para apresentar os resultados moleculares agrupamos os casos por hipóteses diagnosticas moleculares.

4.2.1. *ARID1B* e *ARID2*- Casos 2 e 16

O exoma do caso 2 revelou a variante NM_001374828.1:c.5715dup no gene *ARID1B*, essa variante ocorre por duplicação de um nucleotídeo que resulta em uma mudança na leitura, um *frameshift*, e assim numa proteína truncada. Já o exoma do caso 16 revelou a variante NM_152641.4:c.103A>T, esse SNV resulta em um stop gain no éxon 2 do gene *ARID2* (TABELA 1).

Ambas as variantes não foram observadas nos bancos de frequência populacionais. A análise baseada no ACMG guideline de 2015 as variantes foram classificadas como: provavelmente patogênicas (PM2 e PVS1).

Tabela 1. Caracterização das mutações encontradas nos genes *ARID1B* e *ARID2*.

Notação HGVS	NM_001374828.1:c.5715dup	NM_152641.4:c.103A>T
Gene	<i>ARID1B</i>	<i>ARID2</i>
Tipo de variante	Indel	SNV
Cromossomo	6	12
Posição	157.206.486	45.730.054
AA Referência	G	A
AA Alternativo	GT	T
dbSNP	ND	rs2137959592
Transcrito	NM_001374828.1	NM_152641.4
AA mudado	p.Lys1906Ter	p.Lys35Ter

Notação HGVS	NM_001374828.1:c.5715dup	NM_152641.4:c.103A>T
Nucleotídeo	c.5715dup	c.103A>T
Éxon	20	2
Herança	ND	ND
Zigosidade	heterozigoto	heterozigoto
Efeito	<i>frameshift</i>	<i>stop gain</i>
Contagem de Alelos no gnomAD	ND	ND
Frequência alélica no gnomAD	ND	ND
Frequência alélica estimada	ND	ND
REVEL	-	0
CADD	-	35
Splice AI	-	0
Literatura	-	-
Condição (OMIM e herança)	Síndrome de Coffin Siris 1 (OMIM #135900; AD)	Síndrome de Coffin Siris 6 (OMIM #617808; AD)
ClinVar	ND	ND

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

Variantes patogênicas em ambos os genes resultam na síndrome de Coffin-Siris. Apesar do fenótipo dessa síndrome ser muito variável, os sinais observados nos pacientes são semelhantes as características clínicas descritas para a síndrome de Coffin-Siris (TABELA 2).

Tabela 2. Características clínicas da síndrome de Coffin-Siris e dos casos 2 e 16.

Síndrome de Coffin- Siris	<i>ARID1B</i> literatura*	Caso 2	<i>ARID2</i> literatura*	Caso 16
Ansiedade	ND	-	ND	+
Deficiência intelectual	32%	+	13%	+
Atraso de desenvolvimento	35%	+	41%	+
Atraso na fala	ND	ND	ND	+
Não-Verbal	7%	ND	0%	ND
Transtorno do espectro autista	16%	ND	0%	ND
Hipotonia	44%	+	38%	+
Convulsões	13%	ND	0%	ND
Agenesia do corpo caloso	40%	ND	13%	ND
Baixa estatura	ND	+	ND	+
Escoliose	15%	ND	25%	ND
Voz rouca	ND	+	ND	+
Defeito do septo cardíaco	12%	ND	0%	-
Constipação crônica	21%	ND	25%	+
Problemas de alimentação	ND	-	ND	-
Refluxo gastroesofágico	17%	ND	25%	-
Infecções frequentes do trato respiratório superior e inferior (início da vida)	ND	ND	ND	+
Criptorquidismo (homens)	44%	ND	0%	ND

Síndrome de Coffin- Siris	<i>ARID1B</i> literatura*	Caso 2	<i>ARID2</i> literatura*	Caso 16
Fácies dismórficas	ND	+	ND	+
Macrocefalia	24%	ND	13%	ND
Microcefalia	8%	-	13%	-
Testa alta	ND	-	ND	+
Testa grande	ND	+	ND	+
Sobranceiras espessas	ND	+	ND	+
Fissuras palpebrais inclinadas para baixo	ND	-	ND	ND
Epicanto	ND	-	ND	-
Cílios longos	ND	+	ND	-
Ptose	13%	ND	0%	+
Estrabismo	31%	-	13%	-
Orelhas rotacionadas posteriormente	ND	-	ND	ND
Orelhas de inserção baixa	ND	-	ND	-
Ponte nasal plana	ND	+	ND	-
Ponta nasal larga	ND	+	ND	+
Filtro proeminente	ND	+	ND	+
Filtro curto	ND	-	ND	-
Boca grande	ND	+	ND	+
Lábio inferior espesso	ND	+	ND	-

Síndrome de Coffin- Siris	<i>ARID1B</i> literatura*	Caso 2	<i>ARID2</i> literatura*	Caso 16
Lábio superior fino	ND	+	ND	-
Micrognatia	ND	+	ND	+
Hipertricose (diminui com a idade em alguns pacientes)	62%	ND	13%	ND
Esparso cabelo do couro cabeludo	48%	ND	63%	ND
Unhas hipoplásicas	ND	+	ND	ND
Hipoplasia da falange distal	33%	ND	13%	ND

*Vasko et al., 2021; ND= não descrito.

4.2.2. *KAT6A*- Caso 13

O exoma do caso 13 revelou uma variante no gene *KAT6A*, NM_006766.5:c.499T>C, que está presente na população em baixíssima frequência. Por se tratar de uma variante não sinônima foi realizada a análise de predição computacional e essa indicou que a variante é provavelmente patogênica (TABELA 3).

Tabela 3. Caracterização da variante encontrada no gene *KAT6A*.

Notação HGVS	NM_006766.5:c.499T>C
Gene	<i>KAT6A</i>
Tipo de variante	SNV
Cromossomo	8
Posição	42,048,478
AA Referência	A

Notação HGVS	NM_006766.5:c.499T>C
AA Alternativo	G
dbSNP	ND
Transcrito	NM_006766.5
AA mudado	p.Tyr167His
Nucleotídeo	c.499T>C
Éxon	2
Herança	ND
Zigosidade	heterozigoto
Efeito	não sinônimo
Contagem de Alelos no gnomAD	1
Frequência alélica no gnomAD	6.20e-7
Frequência alélica estimada	ND
REVEL	0.469
CADD	28.1
Splice AI	0.03
Literatura	ND
Condição (OMIM e herança)	Síndrome de Arboleda-Tham (OMIM #616268; AD)
ClinVar	ND

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

A síndrome de Arboleta-Tham (SARTH) é causada por mutações heterozigotas no gene *KAT6A*. Essas mutações podem ser não sinônimas, *frameshift* e *stop gain*. Essa síndrome é caracterizada pela deficiência intelectual, atraso na fala, microcefalia, problemas cardíacos e complicações gastrointestinais. Tais características são compatíveis com os sinais observados no caso 13 (TABELA 4).

Tabela 4. Características clínicas da síndrome de Arboleda-Tham.

Características da síndrome de Arboleda-Tham	Total de casos, excluindo as não sinônimas (70)*	Casos com mutação não sinônimas (6)*	Total casos (76)*	Caso 13
Sexo	F=35; M=35	F=2; M=4	F=37; M=39	M
Microcefalia	32%	20%	31%	+
Deficiência Intelectual	100%	100%	100%	+
Hipotonia	75%	83%	76%	+
Convulsões	9%	17%	9%	ND
Atraso na fala	100%	100%	100%	+
Estrabismo	56%	20%	54%	-
Ptoses	18%	0%	16%	ND
Deficiência Visual	65%	33%	63%	ND
Ponta nasal larga	87%	60%	85%	+
Lábio superior fino	68%	50%	67%	+
Dificuldades alimentares	79%	67%	78%	-

Características da síndrome de Arboleda-Tham	Total de casos, excluindo as não sinônimas (70)*	Casos com mutação não sinônimas (6)*	Total casos (76)*	Caso 13
Refluxo	65%	50%	60%	-
Constipação	51%	50%	51%	+
Defeito cardíaco congênito	56%	0%	51%	+
Infecções recorrentes	50%	20%	47%	+
Problemas comportamentais	33%	100%	39%	-
Distúrbios de sono	36%	50%	37%	ND

* Kennedy et al., 2019; ND= não descrito.

4.2.3. *PTPN11*- Caso 19

O exoma do caso 19 identificou a variante patogênica NM_002834.5:c.922A>G no gene *PTPN11*, essa variante não sinônima foi observada em baixa frequência na população e já foi descrita como patogênica na literatura (TABELA 5).

Tabela 5. Caracterização da variante encontrada no gene *PTPN11*.

Notação HGVS	NM_002834.5:c.922A>G
Gene	<i>PTPN11</i>
Tipo de variante	SNV
Cromossomo	12
Posição	112,477,718
AA Referência	A
AA Alternativo	G
dbSNP	rs28933386
Transcrito	NM_002834.5
AA mudado	p.Asn308Asp

Notação HGVS	NM_002834.5:c.922A>G
Nucleotídeo	c.922A>G
Éxon	8
Herança	ND
Zigosidade	Heterozigoto
Efeito	Não sinônimo
Contagem de Alelos no gnomAD	12
Frequência alélica no gnomAD	0.000007443
Frequência alélica estimada	0.00000124
REVEL	0.838
CADD	24.5
Splice AI	0.02
Literatura	+
Condição (OMIM e herança)	Síndrome de Noonan (OMIM #163950; AD)
ClinVar	Patogênica e provavelmente patogênica

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

Mutações no gene *PTPN11* foram relatadas na literatura na síndrome de Noonan, essa condição autossômica dominante caracterizada pela baixa estatura, dismorfismos faciais, problemas cardíacos, pescoço pequeno e criptorquidismo nos homens. O fenótipo é semelhante ao apresentado pela paciente (TABELA 6).

Tabela 6. Características clínicas da síndrome de Noonan de pacientes com alterações no gene *PTPN11*.

Características clínicas da síndrome de Noonan	PTPN11 (N=50)*	Caso 19
Atraso no desenvolvimento	9	-
Dificuldades de alimentação	13	+
Incapacidade de prosperar na infância	ND	+

Características clínicas da síndrome de Noonan	PTPN11 (N=50)*	Caso 19
Baixa estatura (início pós-natal)	37	+
Perda auditiva neurossensorial	10	ND
Cabelos grossos e cacheados ou cabelos finos e ralos	19	ND
Linha fina posterior baixa	30	ND
Macrocefalia relativa	25	ND
Rosto triangular (com a idade)	ND	+
Orelhas baixas	36	+
Sobrancelha esparsa	30	-
Anormalidades oculares	8	+
Ptose	46	ND
Hipertelorismo	46	ND
Fissuras palpebrais inclinadas	37	ND
Epicanto	22	+
Filtro profundamente sulcado	13	-
Picos altos da borda do lábio superior	45	ND
Paladar alto e arqueado	40	ND
Má oclusão dentária	ND	+
Micrognatia	25	+
Excesso de pele nugal	9	ND
Pescoço curto e alado	25	-
Defeito cardíaco congênito	41	+
Cardiomiopatia hipertrófica obstrutiva	7	ND
Defeitos do septo atrial	30	ND
Defeitos do septo ventricular	5	ND
Estenose da válvula pulmonar	21	ND
Persistência do canal arterial	3	ND
Insuficiência mitral	4	ND
Regurgitação tricúspide	2	ND
Outros problemas cardíacos	6	+
Deformidade torácica	33	ND
Pectus carinatum superiormente	12	ND
Pectus excavatum inferiormente	16	ND

Características clínicas da síndrome de Noonan	PTPN11 (N=50)*	Caso 19
Tumores	5	ND
Anormalidade renal	3	ND
Defeitos de coagulação	2	ND

*Xi et al., 2019; ND= não descrito.

4.2.4. *GJAI*- Caso 22

O exoma do caso 22 identificou uma mutação no gene *GJAI*, NM_000165.5:c.1126C>T. Essa variante não sinônima está presente em baixa frequência na população e por se tratar de uma variante não sinônima foi realizada a análise de predição computacional e essa indicou que a variante é provavelmente patogênica (TABELA 7).

Tabela 7. Caracterização da variante encontrada no gene *GJAI*.

Notação HGVS	NM_000165.5:c.1126C>T
Gene	<i>GJAI</i>
Tipo de variante	SNV
Cromossomo	6
Posição	121.447.972
AA Referência	C
AA Alternativo	T
dbSNP	rs1212579631
Transcrito	NM_000165.5
AA mudado	p.Arg376Trp
Nucleotídeo	c.1126C>T
Éxon	2
Herança	ND
Zigossidade	Heterozigoto
Efeito	Não sinônimo
Contagem de Alelos no gnomAD	7
Frequência alélica no gnomAD	0,000004339

Frequência alélica estimada	6,80E-07
REVEL	0,61
CADD	27,6
Splice AI	0
Literatura	+
Condição (OMIM e herança)	Displasia Oculodentodigital (OMIM #164200; AD)
ClinVar	VUS

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

Mutações no gene *GJAI* está relacionada com a displasia oculodentodigital (DODD) e variante NM_000165.5:c.1126C>T já foi relatada na literatura na DODD. Além disso, a paciente possui sinais clínicos semelhantes a DODD (TABELA 8).

Tabela 8. Características clínicas da DODD.

Características clínicas	Casos de ODDD*	Caso 22
Deficiência intelectual	7/161	+
Microcornea	55/161	ND
Microftalmia	21/161	ND
Glaucoma	26/161	ND
Anomalias da íris	31/161	ND
Características de crânio-face	105/161	+
Dentes	69/161	+
Problemas cardíacos	6/161	ND
Membros	118/161	+

*Huang et al., 2015; ND: não descrito.

4.2.5. KAT6B- Caso 9

O exoma do caso 9 revelou a variante NM_012330.4:c.3519_3523dup. A adição de cinco nucleotídeos e resulta em um *frameshift*. Essa variante é provavelmente patogênica, se encontra no gene *KAT6B* e esta ausente na população (TABELA 9).

Tabela 9. Caracterização da variante encontrada no gene *KAT6B*.

Notação HGVS	NM_012330.4:c.3519_3523dup
Gene	<i>KAT6B</i>
Tipo de variante	Indel
Cromossomo	10
Posição	75,025,101
AA Referência	G
AA Alternativo	GAGCCT
dbSNP	ND
Transcrito	NM_012330.4
AA mudado	p.Thr1175Serfs*17
Nucleotídeo	c.3519_3523dup
Éxon	10
Herança	ND
Zigossidade	Heterozigoto
Efeito	Não sinônimo
Contagem de Alelos no gnomAD	0
Frequência alélica no gnomAD	ND
Frequência alélica estimada	ND

Notação HGVS	NM_012330.4:c.3519_3523dup
REVEL	-
CADD	-
Splice AI	0.03
Literatura	ND
Condição (OMIM e herança)	Síndrome Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson (OMIM #603736; AD)
ClinVar	ND

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

O gene *KAT6B* está relacionado com duas síndromes, a Genitopatelar (OMIM 606170) e a Síndrome Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson (SBBYSS). Ambas as condições são autossômicas dominantes e possuem características clínicas semelhantes. O paciente 9 possui características clínicas semelhantes a síndrome de SBBYSS (TABELA 10) e não possui alterações em genital e em patela.

Tabela 10. Características clínicas da síndrome de SBBYSS.

Características clínicas	Síndrome SBBYSS*	Caso 9
Gênero		M
Microcefalia	+	+
Occipital proeminente	+	ND
Fácies dismórficas	NR	+
Micrognatia	+	+

Características clínicas	Síndrome SBBYSS*	Caso 9
Orelhas baixas	+	ND
Orelhas anguladas posteriormente	+	ND
Blefarofimose	+	ND
Epicanto inverso	+	ND
Ponte nasal plana	+	+
Nariz bulboso	+	+
Fissura orofacial	+	ND
Dentes pequenos	+	ND
Cardiomiopatia dilatada	+	ND
Defeitos cardíacos estruturais	+	ND
Criptorquidia	+	ND
Clinodactilia do quinto dedo	+	ND
Retardo psicomotor grave	ND	+
Hipotonia	+	+
Desenvolvimento intelectual prejudicado, leve a grave	ND	+
Marcos motores atrasados	+	+
Fala prejudicada	+	+
Hipotireoidismo	+	ND

*As características clínicas foram retiradas do OMIM; ND= não descrito.

4.2.6. *NAAI5*-Caso 4

O exoma do caso 4 identificou uma variante provavelmente patogênica NM_057175.5:c.2133T>A no gene *NAAI5*, essa variante resulta em um *stop gain*, que produz uma proteína truncada. Além de estar ausente na população (TABELA 11).

Tabela 11. Caracterização das variantes encontradas nos genes *NAAI5*.

Notação HGVS	NM_057175.5:c.2133T>A
Gene	<i>NAAI5</i>
Tipo de variante	SNV
Cromossomo	4
Posição	139,378,832
AA Referência	T
AA Alternativo	A
dbSNP	ND
Transcrito	NM_057175.5
AA mudado	p.Cys711Ter
Nucleotídeo	c.2133T>A
Éxon	17
Herança	ND
Zigossidade	Heterozigoto
Efeito	<i>Stop gain</i>
Contagem de Alelos no gnomAD	0

Notação HGVS	NM_057175.5:c.2133T>A
Frequência alélica no gnomAD	ND
Frequência alélica estimada	ND
REVEL	-
CADD	38
Splice AI	0.14
Literatura	ND
Condição (OMIM e herança)	Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 50, com anormalidades comportamentais (OMIM # 617787; AD)
ClinVar	ND

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

O gene *NAAL5* é conhecido por causar Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 50, com anormalidades comportamentais (MRD50) (OMIM 617787), um distúrbio autossômico cujas características clínicas se assemelham ao fenótipo do paciente 4 (TABELA 12).

Tabela 12. Características clínicas da MRD50.

Características clínicas de MRD50*	Caso 4
Gênero	M

Características clínicas de MRD50*	Caso 4
Baixa estatura (em alguns pacientes)	+
Atraso no crescimento	+
Faces dismórficas, inespecíficas, variáveis (em alguns pacientes)	+
Filtro amplo	+
Deficiência auditiva (em alguns pacientes)	ND
Sobrancelhas espessas	-
Fissuras palpebrais inclinadas para baixo	ND
Estrabismo (em alguns pacientes)	-
Astigmatismo (em alguns pacientes)	ND
Deficiência visual cortical (raro)	ND
Síndrome do QT longo (em alguns pacientes)	ND
Dificuldades de alimentação	-
Disfagia (em alguns pacientes)	ND
Atraso do desenvolvimento	+
Desenvolvimento intelectual prejudicado, variável	+
Atraso do motor	+
Hipotonia	+
Atraso de fala	+
Discurso limitado	ND
Convulsões (em alguns pacientes)	ND

Características clínicas de MRD50*	Caso 4
RM anormal (em alguns pacientes)	ND
Transtorno do espectro do autismo	ND
Características autistas	ND
Problemas comportamentais	+
Distúrbio do sono	ND

*As características clínicas foram retiradas do OMIM; ND= não descrito.

4.2.7. *MED13L*- Caso 5

O exoma do caso 5 identificou uma variante *frameshift* no gene *MED13L*. A NM_015335.5:c.3857dup leva a adição de um nucleotídeo que altera a matriz leitura e não foi relatada nos bancos de dados populacionais (TABELA 13).

Tabela 13. Caracterização da variante encontrada no gene *MED13L*.

Notação HGVS	NM_015335.5:c.3857dup
Gene	<i>MED13L</i>
Tipo de variante	Indel
Cromossomo	12
Posição	115,991,096
AA Referência	C
AA Alternativo	CA
dbSNP	ND
Transcrito	NM_015335.5
AA mudado	p.Asp1287Glyfs*2
Nucleotídeo	c.3857dup
Éxon	17
Herança	ND
Zigossidade	Heterozigoto
Efeito	<i>Frameshift</i>

Notação HGVS	NM_015335.5:c.3857dup
Contagem de Alelos no gnomAD	0
Frequência alélica no gnomAD	ND
Frequência alélica estimada	ND
REVEL	-
CADD	-
Splice AI	0.25
Literatura	ND
Condição (OMIM e herança)	Desenvolvimento intelectual prejudicado e características faciais distintas com ou sem defeitos cardíacos (6 OMIM #16789; AD)
ClinVar	ND

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

O gene *MED13L* foi relacionado a uma condição chamada de Desenvolvimento intelectual prejudicado e características faciais distintas com ou sem defeitos cardíacos (MRFACD), tal fenótipo é semelhante ao caso 5 (TABELA 14).

Tabela 14. Características clínicas da MRFACD.

Características Clínicas da MRFACD	Casos da literatura	Caso 5
Gênero		M
Atraso de desenvolvimento ou deficiência intelectual	70/70	ND
Atraso na fala	69/70	ND
Hipotonia	47/67	ND

Problemas de coordenação	21/61	ND
Defeitos congênitos do coração	12/64	+
Características do autismo	16/69	ND
Ressonância magnética cerebral anormal	27/59	ND
Convulsões	10/63	ND
Problemas comportamentais	17/52	ND
Estrabismo	4/25	-
Assimetria de face	ND	+
Braquicefalia	ND	ND
Plagiocefalia	ND	ND
<i>Frontal bossing</i>	ND	ND
Face triangular	ND	-
Estreitamento bitemporal	8/33	ND
Sobrancelhas horizontais	8/34	ND
Orelhas grandes	ND	+
Orelhas de inserção baixa	17/33	ND
Fissuras palpebrais ascendentes	27/66	ND
Hipertelorismo	ND	+
Testa larga/proeminente	17/22	+
Ponta nasal bulbosa	51/68	+
Ponte nasal deprimida/plana	20/34	+
Boca aberta hipotônica	ND	ND
Macrostomia	15/35	ND
Macroglossia	9/33	ND

*Dawidziuk et al., 2021 ou 2020; ND= não descrito.

4.2.8. Caso 12- *TRRAP*

No caso 12, o exoma identificou uma mutação do gene *TRRAP*. A variante é não sinônima, NM_001375524.1:c.2759A>G e foi observada em baixa frequência na população (TABELA 14).

Tabela 15. Caracterização da variante encontrada no gene *TRRAP*.

Notação HGVS	NM_001375524.1:c.2759A>G
Gene	<i>TRRAP</i>
Tipo de variante	SNV
Cromossomo	7
Posição	98,921,888
AA Referência	A
AA Alternativo	G
dbSNP	rs1789812683
Transcrito	NM_001375524.1
AA mudado	p.Gln920Arg
Nucleotídeo	c.2759A>G
Éxon	21
Herança	ND
Zigosidade	Heterozigoto
Efeito	Não sinônimo
Contagem de Alelos no gnomAD	1
Frequência alélica no gnomAD	6.20e-7
Frequência alélica estimada	ND
REVEL	0.248
CADD	20.2
Splice AI	0.01
Literatura	ND
Condição (OMIM e herança)	Atraso no desenvolvimento com ou sem face dismórficas e autismo (OMIM #618454; AD)
ClinVar	ND

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

Mutações nesse gene foram relacionadas a uma condição cujo fenótipo é semelhante ao do paciente. O Atraso no desenvolvimento com ou sem face dismórficas e autismo (DEDDFA) é um distúrbio autossômico dominante (TABELA 16).

Tabela 16. Características clínicas da síndrome de DEDDFA.

Características clínicas	Casos da literatura de DEDDFA (n=24)*	Caso 12
Atraso global no desenvolvimento	100%	+
Deficiência intelectual	85%	+
Dismorfismos faciais	79%	+
Transtorno do espectro do autismo	21%	ND
Microcefalia (<-2,5 DP)	29%	+
Baixa estatura	30%	+
Hipotonia	33%	+
Dificuldades de alimentação	33%	+
Convulsões	21%	ND
Fissura labiopalatina	21%	ND
Hipoplasia cerebelar	33%	ND
Anormalidades cerebrais	33%	ND
Malformações cardíacas	66%	+
Malformações renais	29%	ND
Malformações genitais	21%	ND

Deficiência auditiva	12%	ND
Deficiência visual	17%	ND
Filtro curto	ND	+
Epicanto	ND	+
Ponte nasal deprimida	ND	+
Nariz curto	ND	+
Boca grande	ND	+
Atraso na fala	ND	+

*Cognè et al., 2019 e OMIM; DN= não descrito

4.2.9. Caso 17- *RFX7*

O exoma do caso 17 indicou a presença de uma mutação no gene *RFX7*. A mutação NM_022841.7:c.812G>T é não sinônima, esta presente na população em baixa frequência e a predição computacional sugere que é patogênica (TABELA 17).

Tabela 17. Caracterização da variante encontrada no gene *RFX7*.

Notação HGVS	NM_022841.7:c.812G>T
Gene	<i>RFX7</i>
Tipo de variante	SNV
Cromossomo	15
Posição	56,098,375
AA Referência	C
AA Alternativo	A
dbSNP	rs750353636

Notação HGVS	NM_022841.7:c.812G>T
Transcrito	NM_022841.7
AA mudado	p.Gly271Val
Nucleotídeo	c.812G>T
Éxon	9
Herança	ND
Zigossidade	Heterozigoto
Efeito	Não sinônimo
Contagem de Alelos no gnomAD	9
Frequência alélica no gnomAD	0.000005688
Frequência alélica estimada	0.0000025
REVEL	0.253
CADD	33
Splice AI	0.42
Literatura	ND
Condição (OMIM e herança)	Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 71, com anormalidades comportamentais (OMIM #620330)
ClinVar	ND

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; ND= não descrito

Esse gene está relacionado com o Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 71, com anormalidades comportamentais (MRD71), cujo fenótipo possui semelhanças ao fenótipo da paciente 17 (TABELA 18).

Tabela 18. Características clínicas do transtorno MRD71.

Características Clínicas do MRD71	Caso 17
Gênero	F
Macrocefalia	-
Microcefalia	+
Plagiocefalia	ND
Braquicefalia	ND
Dismorfismos faciais	+
<i>Frontal bossing</i>	ND
Hipoplasia Malar	+
Micrognatia	+
Filtro longo	+
Orelhas proeminentes	+
Orelhas rotadas posteriormente	ND
Telecanto	ND
Fissuras palpebrais viradas para cima	ND
Atrofia ótica	ND
Nistagmo	ND
Ponta nasal larga	-
Arco do palato alto	ND
Lábio superior fino	+
Dificuldades alimentares	+
Criptorquidismo	-
Hiperlaxidade articular	ND
Clinodactilia	+

Características Clínicas do MRD71	Caso 17
Dedos longos	ND
Atraso global no desenvolvimento	+
Hipotonia	+
Atraso motor	ND
Atraso de fala	+
Deficiência intelectual	+
Convulsões	-
Movimentos Hiperkinéticos	ND
Anormalidades na imagem cerebral	ND
Transtorno do espectro do autismo	ND
TDAH	+
Agressão	ND
Hipersensibilidade	ND
Desregulação emocional	ND
Mudanças de humor	ND
Automutilação	ND
Ansiedade	+
Distúrbios do sono	ND

*As características clínicas foram retiradas do OMIM; ND= não descrito.

4.2.10. *CLIP2*- Caso 10

O exoma do caso 10 identificou uma variante não sinônima, que está presente na população e a predição computacional é provavelmente benigna (TABELA 19).

Tabela 19. Caracterização da variante do gene *CLIP2*.

Notação HGVS	NM_003388.5:c.445C>A
Gene	<i>CLIP2</i>
Tipo de variante	SNV
Cromossomo	7
Posição	74.338.770
AA Referência	C
AA Alternativo	A
dbSNP	rs200574175
Transcrito	NM_003388.5
AA mudado	p.Pro149Thr
Nucleotídeo	c.445C>A
Éxon	3
Herança	ND
Zigossidade	Heterozigoto
Efeito	Não sinônimo
Contagem de Alelos no gnomAD	339
Frequência alélica no gnomAD	0.0002108
Frequência alélica estimada	0,004566
REVEL	0,284
CADD	21,5
Splice AI	0
Literatura	ND
Condição (OMIM e herança)	-
ClinVar	VUS

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; VUS: *variant of uncertain significance*; ND= não descrito

Esse gene está localizado na região crítica da SWB e o paciente possui o fenótipo da condição, com escore da AAP igual a 8 (TABELA 20).

Tabela 20. Características clínicas da síndrome de Williams-Beuren.

Características da síndrome de Williams-Beuren	Caso 10
Gênero	M
Atraso no desenvolvimento	+
Limitação ou frouxidão articular	+
Personalidade excessivamente amigável	+
Ansiedade	+
Problema visuoespacial	ND
Hipersensibilidade ao som	+
Atraso na aquisição da fala, seguido de fala excessiva	+
Voz rouca	+
Deficiência de crescimento/altura e peso	-
Dificuldade de alimentação	+
Vômito ou refluxo gastroesofágico	+
Cólica prolongada > irritabilidade 4m	ND
Constipação crônica	+
Hérnia umbilical ou inguinal	+
Problemas cardiovasculares	-
Problemas respiratórios	-
Otite recorrente	-
Problemas musculoesqueléticos	ND
Problemas renais	-
Hipertensão	+
Hipercalcemia	-
Hipercalciúria	ND
Microcefalia	+
Testa Alargada	-

Características da síndrome de Williams-Beuren	Caso 10
Lóbulos das orelhas proeminentes	-
Orelhas grandes e salientes	-
Estreitamento bitemporal	+
Sobrancelha larga	+
Plenitude periorbital	+
Estrabismo (presente ou passado)	+
Padrão de íris rendada estrelada	+
Epicanto ou ponte nasal plana	-
Filtro longo	+
Nariz curto ou narinas antevertidas	+
Ponta nasal bulbosa ou cheia	-
Hipoplasia malar	+
Bochechas cheias	+
Boca grande	-
Lábios carnudos e proeminentes	-
Anomalias dentárias	-
Queixo pequeno	-
Clinodactilia do 5º dígito	+
Hálux valgo	ND
Hipoplasia ungueal	ND
AAP (>3)	8

ND=não descrito.

4.2.11. Casos sem hipótese diagnóstica molecular

4.2.11.1. Casos complexos

Os casos complexos são os casos 1, 3 e 20. Nesses casos foram analisadas todas as variantes geradas a partir dos filtros e mais de uma variante de interesse clínico foi identificada, e descritas na Tabela 21, 22 e 23.

Tabela 21. Caracterização das variantes encontradas no caso 1.

Caso 1		
Notação HGVS	NM_001374828.1:c.2753G>T	NM_001278939.2:c.1382G>C
Gene	<i>ARID1B</i>	<i>ELN</i>
Tipo de variante	SNV	SNV
Cromossomo	6	7
Posição	157,133,199	74,057,405
AA Referência	G	G
AA Alternativo	T	C
dbSNP	rs138934947	rs1011146056
Transcrito	NM_001374828.1	NM_001278939.2
AA mudado	p.Gly918Val	p.Gly461Ala
Nucleotídeo	c.2753G>T	c.1382G>C
Éxon	7	22
Herança	Paterna	Materna
Zigossidade	Heterozigoto	Heterozigoto
Efeito	Não sinônima	Não sinônima
Contagem de Alelos no gnomAD	3	45
Frequência alélica no gnomAD	0.000001874	0.00002977
Frequência alélica estimada	0.00000448	0.0003254
REVEL	0.472	0.136
CADD	32	14.53
Splice AI	0.25	0.1
Literatura	ND	ND
Condição (OMIM e herança)	Síndrome de Coffin-Siris (OMIM #135900; AD)	Cutis laxa, autossômica dominante (OMIM #123700; AD) Estenose aórtica supralvalvar (OMIM #185500; AD)
ClinVar	ND	VUS

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; VUS: *variant of uncertain significance*; ND= não descrito.

Tabela 22. Caracterização das variantes encontradas no caso 3.

Notação HGVS	Caso 3	
	NM_017528.5:c.190A>G	NM_030665.4:c.1340A>G
Gene	<i>BUD23</i>	<i>RAI1</i>
Tipo de variante	SNV	SNV
Cromossomo	7	17
Posição	73,686,824	17,794,288
AA Referência	A	A
AA Alternativo	G	G
dbSNP	rs952219068	rs1159066427
Transcrito	NM_017528.5	NM_030665.4
AA mudado	p.Thr64Ala	p.Asn447Ser
Nucleotídeo	c.190A>G	c.1340A>G
Éxon	4	3
Herança	ND	ND
Zigossidade	Heterozigoto	Heterozigoto
Efeito	Não sinônima	Não sinônima
Contagem de Alelos no gnomAD	0	4
Frequência alélica no gnomAD	ND	0.00000248
Frequência alélica estimada	ND	0.00002255
REVEL	0.369	0.245
CADD	14.05	16.8
Splice AI	0	0
Literatura	ND	ND

Caso 3		
Notação HGVS	NM_017528.5:c.190A>G	NM_030665.4:c.1340A>G
Condição (OMIM e herança)	-	Síndrome de Smith-Magenis (OMIM #182290; AD)
ClinVar	ND	VUS

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; VUS: *variant of uncertain significance*; ND= não descrito.

Tabela 23. Caracterização das variantes encontradas no caso 20.

Notação HGVS	Caso 20			
	NM_030665.4:c.21G>T	NM_001379200.1:c.1310G>C	NM_001374828.1:c.4834C>T	NM_016628.5:c.475A>T
Gene	<i>RAI1</i>	<i>TBX1</i>	<i>ARID1B</i>	<i>WAC</i>
Tipo de variante	SNV	SNV	SNV	SNV
Cromossomo	17	22	6	10
Posição	17,792,969	19,766,662	157,201,059	28,589,829
AA Referência	G	G	C	A
AA Alternativo	T	C	T	T
dbSNP	ND	ND	rs1467542976	ND
Transcrito	NM_030665.4	NM_001379200.1	NM_001374828.1	NM_016628.5
AA mudado	p.Arg7Ser	p.Gly437Ala	p.Pro1612Ser	p.Lys159Ter
Nucleotídeo	c.21G>T	c.1310G>C	c.4834C>T	c.475A>T
Éxon	3	7	18	5
Herança	ND	ND	ND	ND
Zigossidade	Heterozigoto	Heterozigoto	Heterozigoto	Heterozigoto
Efeito	Não sinônima	Não sinônima	Não sinônima	<i>stop gain</i>
Contagem de Alelos no gnomAD	0	1	2	0
Frequência alélica no gnomAD	ND	6.44E-07	0.000001239	ND

Caso 20

Notação HGVS	NM_030665.4:c.21G>T	NM_001379200.1:c.1310G>C	NM_001374828.1:c.4834C>T	NM_016628.5:c.475A>T
Frequência alélica estimada	ND	ND	0.00000365	ND
REVEL	0.228	0.371	0.152	-
CADD	26.2	23	19.61	37
Splice AI	0.01	0	0	0
Literatura	ND	ND	ND	ND
Condição (OMIM e herança)	Síndrome de Smith-Magenis (OMIM #182290; AD)	Síndrome de DiGeorge (OMIM #188400; AD); Síndrome Velocardiofacial (OMIM #192430; AD)	Síndrome de Coffin-Siris (OMIM #135900; AD)	Síndrome de Desanto-Shinawi (OMIM #616708; AD)
ClinVar	ND	ND	ND	ND

AA: aminoácido; AD: autossômico dominante; SNV: *single nucleotide variant*; VUS: *variant of uncertain significance*; ND= não descrito

As características clínicas da SWB que foram identificadas nesses casos, quando esta afecção estava sendo investigada encontram-se na Tabela 24.

Tabela 24. Características clínicas da SWB dos casos complexos.

Características da síndrome de Williams-Beuren	Caso 1	Caso 3	Caso 20
Gênero	M	M	M
Atraso no desenvolvimento	+	+	+
Limitação ou frouxidão articular	+	+	+
Personalidade excessivamente amigável	-	+	+
Ansiedade	+	+	+
Problema visuoespacial	ND	ND	ND
Hipersensibilidade ao som	ND	ND	+
Atraso na aquisição da fala, seguido de fala excessiva	-	-	+
Voz rouca	-	+	+
Deficiência de crescimento/altura e peso	-	+	+
Dificuldade de alimentação	-	+	+
Vômito ou refluxo gastroesofágico	-	-	ND
Cólica prolongada > irritabilidade 4m	ND	ND	ND
Constipação crônica	-	-	-
Hérnia umbilical ou inguinal	-	-	-
Problemas cardiovasculares	-	-	+

Características da síndrome de Williams-Beuren	Caso 1	Caso 3	Caso 20
Problemas respiratórios	-	-	+
Otite recorrente	-	+	+
Problemas musculoesqueléticos	ND	ND	+
Problemas renais	-	-	-
Hipertensão	-	-	-
Hipercalcemia	+	-	ND
Hipercalciúria	ND	ND	ND
Microcefalia	-	+	+
Testa Alargada	+	+	+
Lóbulos das orelhas proeminentes	-	+	ND
Orelhas grandes e salientes	+	+	+
Estreitamento bitemporal	+	+	-
Sobrancelha larga	-	-	-
Edema periorbital	+	+	-
Estrabismo (presente ou passado)	+	+	+
Padrão de íris rendada estrelada	-	+	+
Epicanto ou ponte nasal plana	+	+	+
Filtro longo	+	+	+
Nariz curto ou narinas antevertidas	+	+	+
Ponta nasal bulbosa ou cheia	+	+	+
Hipoplasia malar	+	+	+

Características da síndrome de Williams-Beuren	Caso 1	Caso 3	Caso 20
Bochechas proeminentes	+	+	+
Boca grande	+	+	+
Lábios cheios e proeminentes	+	+	+
Anomalias dentárias	+	+	+
Micrognatia	+	+	+
clinodactilia do 5º dígito	ND	-	+
Hálux valgo	ND	-	ND
Hipoplasia ungueal	-	+	ND
AAP (>3)	5	6	7

4.2.12.2. Casos para análises mais aprofundadas.

Em alguns casos, como os casos 6, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 18 e 21, todas as variantes geradas a partir dos filtros foram analisadas e nenhuma variante provavelmente patogênica foi observada, principalmente para doenças autossômicas dominantes. Assim, esses casos seguirão sendo estudados.

5. DISCUSSÃO

A técnica da FISH é um dos exames padrão ouro para diagnóstico laboratorial da SWB. Dos pacientes com diagnóstico clínico da SWB, 96% possuem o exame da FISH (+); porém 4% destes são FISH (-).

O presente trabalho procurou elucidar o diagnóstico de 35 casos com FISH (-). No transcorrer do estudo 13 pacientes saíram do grupo amostral por diversas razões. Assim, o estudo foi realizado com um grupo amostral 22 casos. Nestes pacientes foram realizados o exoma, por Sequenciamento de Nova Geração (SNG).

Foram encontradas mutações que explicavam o fenótipo em dez pacientes. Três casos foram considerados de diagnóstico complexos, por apresentarem mais de uma variante patogênica ou provavelmente patogênica. Por fim, em nove pacientes não foi possível localizar mutações patogênicas ou provavelmente patogênicas nas análises dos programas Franklin e IGV.

As mutações patogênicas e provavelmente patogênicas correlacionadas a fenótipos clínicas foram:

Síndrome de Coffin-Siris (SCS, OMIM#135900): é uma afecção autossômica dominante, caracterizada por atraso de desenvolvimento, dismorfismos faciais, hipoplasia de quinto dígito, unhas hipoplásicas, hipotonia, hipertrichose e escassez de cabelo no couro cabeludo. (SCHRIER VERGANO; SANTEN; WIECZOREK, 2013). Essa síndrome é causada por mutações em heterozigose nos genes do complexo *BAF* (*Brahma/BRG1-associated* fator): *ARID1A*, *ARID1B*, *ARID2*, *DPF2*, *SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCC2*, *SMARCE1*, *SOX11* e *SOX4* (VASKO; DRIVAS; SCHRIER VERGANO, 2021).

A SCS possui diversas características clínicas e faciais que se sobrepõe com as observadas na SWB (FIGURA X e XX).

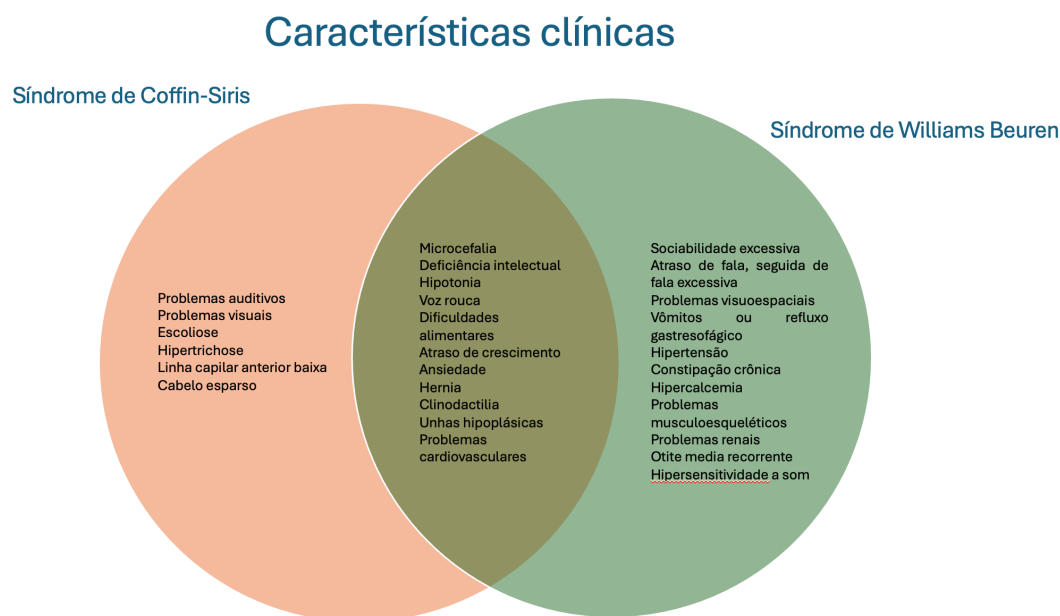


Figura 2. Diagrama de Venn com as características clínicas da síndrome de Williams-Beuren e da síndrome de Coffin-Siris.

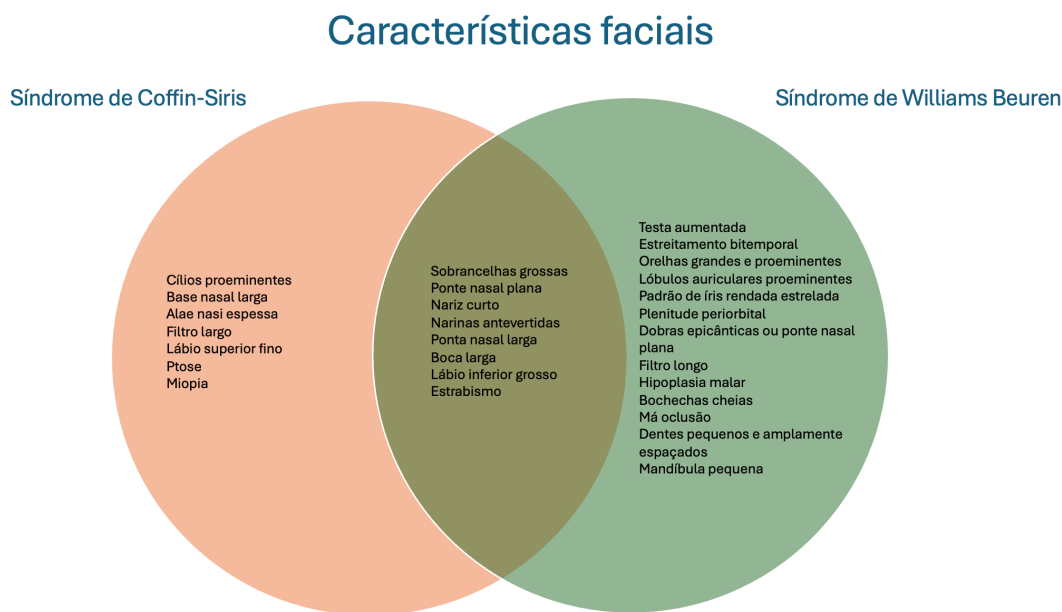


Figura 3. Diagrama de Venn com as características faciais da síndrome de Williams-Beuren e da síndrome de Coffin-Siris.

No grupo amostral o paciente 2 tem a mutação em heterozigose, NM_001374828.1:c.5715dup no gene *ARID1B* (OMIM #614556), que resulta em proteína truncada, p.Lys1906Ter. Essa mutação está localizada no éxon 20, onde se localiza várias variantes patogênicas que já foram relatadas (VASKO; DRIVAS; SCHRIER VERGANO, 2021).

O fenótipo da SCS e o caso 2 se sobrepõem nos seguintes sinais clínicos: deficiência intelectual, atraso de desenvolvimento, hipotonia, unhas hipoplásicas, voz rouca e nos dismorfismos faciais, testa grande, sobrancelhas espessas, cílios longos, ponte nasal plana, ponta nasal larga, filtro proeminente, boca grande com lábio inferior espesso e lábio superior fino e micrognatia.

No caso 16 o exoma revelou uma mutação em heterozigose em outro gene relacionado a SCS, NM152641.4:c.103A>T em *ARID2* (OMIM #609539). Essa mutação resulta em um códon de parada no éxon 2 desse gene, que leva a uma proteína truncada, p.Lys35Ter.

Assim como o caso 02, o paciente 16 possui diversos sinais clínicos que combinam com a SCS entre eles: ansiedade, deficiência intelectual, atraso de desenvolvimento, atraso na fala, hipotonia, infecções frequentes, voz rouca e os dismorfismos faciais, testa grande e alta, sobrancelhas espessas, ptose, ponta nasal larga, filtro proeminente, boca grande e micrognatia

Assim, a hipótese diagnóstica de síndrome de Coffin-Siris foi estabelecida para ambos os casos, 02 e 16.

Síndrome de Arboleda-Tham (SARTH, MIM #616268): é uma doença genética causada por mutações em *KAT6A* (OMIM # 601408). Esse gene pertence à família *MYST* de histonas acetil transferases e possui um domínio *MYST* altamente conservado (Avv..., 2007). As variantes patogênicas no gene *KAT6A* já foram relatadas na literatura e fenótipo analisado por Kennedy, 2019. O exoma do caso 13 identificou uma mutação heterozigota não sinônima, NM_006766.5:c.499T>C (p.Tyr167His). Essa mutação é no éxon 2. Por se tratar de uma mutação não sinônima foi realizada a análise de predição computacional e esta sugere que a mutação é patogênica.

O fenótipo do paciente é compatível com o descrito para esta síndrome. Incluindo microcefalia, atraso de desenvolvimento, deficiência intelectual, hipotonia, atraso na fala, ponta nasal larga, lábio superior fino, constipação, defeito cardíaco congênito e infecções recorrentes.

Devido a essa sobreposição de sinais e a presença dessa mutação provavelmente patogênica, a hipótese diagnóstica para o paciente 13 é a síndrome Arboleda-Tham.

Síndrome de Noonan (SN, OMIM #163950): é uma patologia caracterizada por dismorfismos faciais, baixa estatura e diversos tipos de cardiopatias, além dessas características a deficiência intelectual também pode ser encontrada.

O gene *PTPN11* (OMIM #176876) codifica uma proteína que faz parte da via de sinalização *RAS-MAPK* (*RAS* mitogen activate protein kinase), e é muito conservada (Pawson et al., 1999; Tajan et al., 2015). Mutações em *PTPN11* são as mais observadas nos portadores da SN (Tartaglia et al., 2001; Tartaglia et al., 2002). O exoma da paciente 19 identificou a mutação NM_002834.5:c.922A>G (p.Asn308Asp) em heterozigose no éxon 8 do gene *PTPN11*. Essa mutação foi relatada na literatura em pacientes diagnosticados com a SN (Tartaglia et al., 2002; Kosaki et al., 2002; Jongmans et al., 2005; Li et al. 2019; Orlova et al., 2024).

O fenótipo da paciente se sobrepõe ao fenótipo da SN, ela possui baixa estatura, dificuldades alimentares, orelhas baixas, anomalias oculares, epicanto, má oclusão dentária, micrognatia e cardiopatia congênita.

Portanto, em conjunto com o fenótipo da paciente, a mutação patogênica confirmada pelas análises sugere a síndrome de Noonan.

Displasia oculodentodigital (DODD, OMIM#164200): é uma displasia autossômica dominante que é resultado de mutações no *Gap junction alpha 1* (*GJA1*, OMIM #121014) (Paznekas et al., 2003; Shibayama et al., 2005). A DODD é caracterizada por alterações oculares, como microftalmia, microcornea, atrofia do nervo óptico, estrabismo; anomalias dentárias, como microdontia, hipoplasia, hipodontia; e alterações de membros, como a clinodactilia, sindactilia,

hipotelorismo ou hipertelorismo. A paciente possui alterações dentárias e de membros (Cella et al., 2006).

O caso 22 apresenta os seguintes sinais deficiência intelectual, características faciais, alterações dentárias e de membros.

Assim, devido a essa sobreposição de sinais clínicos e a presença dessa mutação, a hipótese diagnóstica do paciente 22 é a displasia Oculodentodigital.

Apesar de não ter alterações oculares relatadas, a hipótese diagnóstica de DODD para esse caso foi feita, pois a primeira hipótese diagnóstica era a SWB e nessa condição não é realizada uma investigação profunda para as alterações oculares. A fim de corroborar com diagnóstico iremos solicitar uma investigação para alterações oculares.

Síndrome Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson (SSBBYS, OMIM #603736): essa afecção autossômica dominante ocorre quando há mutações patogênicas no gene *KAT6B* (OMIM #605880). Este gene codifica uma enzima histona acetil transferase. A mutação encontrada no caso 9, NM_012330.4:c.3519_3523dup (p.Thr1175Serfs*17), a duplicação com adição de cinco nucleotídeos que resulta em um *frameshift* que leva a produção de uma proteína truncada.

Os sinais clínicos da SBBYSS são: polegares longos/dedões dos pés longos, face imóvel em forma de máscara, blefarofimose/ptose, anomalias do ducto lacrimal, hipoplasia/agenesia patelar, defeito cardíaco congênito, anomalias dentárias, perda auditiva, anomalias da tireoide, fenda palatina, anomalias genitais, hipotonia, atraso global no desenvolvimento/deficiência intelectual (Lemire et al., 2012; Lonardo et al., 2019).

As características observadas no caso 9 são: hipotonia, faces dismórficas, ponte nasal plana, nariz bulboso, micrognatia, atraso motor, atraso global no desenvolvimento, deficiência intelectual e microcefalia.

Devido a sobreposição de fenótipos e a mutação identificada no paciente, foi sugerida a síndrome de Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson como hipótese diagnóstica.

Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 50, com anomalias comportamentais (MRD50, OMIM #617787): essa afecção foi descrita em pacientes que possuem alterações no gene *NAA15* (OMIM #608000). Esse gene é uma das subunidades auxiliares do complexo NatA, que são um grupo de acetiltransferases N-terminais (Deng et al., 2019; Dörfel et al., 2017; Feng et al., 2016; Knorr et al., 2019; Weidenhausen et al., 2021).). O exoma do paciente 4 identificou a mutação NM_057175.5:c.2133T>A, essa alteração resulta em um *stop gain*, p.Cys711Ter.

O transtorno é marcado por deficiência intelectual, atraso na fala e motor, além de anomalias comportamentais. Podem ter dismorfismos craniofaciais e anomalias cardíacas congênitas (Cheng et al., 2019). O paciente 4 possui deficiência intelectual, atraso de desenvolvimento, atraso motor e de fala, hipotonia, problemas comportamentais, baixa estatura e atraso de crescimento, além de faces dismórficas.

Portanto, a hipótese diagnóstica do caso 4 é o Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 50, com anomalias comportamentais.

Desenvolvimento intelectual prejudicado e características faciais distintas com ou sem defeitos cardíacos (OMIM #616789): essa condição está associada a presença de variantes patogênicas no gene *MED13L* (OMIM #608771). Esse gene codifica uma subunidade do complexo que funciona como um coativador transcricional (Adegbola et al., 2015). O exoma do caso 5 identificou uma mutação em heterozigose cuja adição de um nucleotídeo, resulta em um *frameshift*, NM_015335.5:c.3857dup (p.Asp1287Glyfs*2).

A afecção é caracterizada pela deficiência intelectual, braquicefalia, *frontal bossing*, alterações capilares, orelhas de inserção baixa, hipertelorismo, hipotonia, hipotonia facial com expressão caída e boca aberta, criptorquidia ou micropênis e comportamento autista e/ou hiperativo. Em alguns as cardiopatias podem ser encontradas (Adegbola et al., 2015).

O paciente 5 apresenta em seu fenótipo as seguintes características: cardiopatias, assimetria de face, orelhas grandes, hipertelorismo, testa larga e proeminente, ponte nasal deprimida e ponta nasal bulbosa.

Pela combinação de sinais clínicos semelhantes e a presença da mutação provavelmente patogênica. A hipótese diagnóstica neste caso é o desenvolvimento intelectual prejudicado e características faciais distintas com ou sem defeitos cardíacos.

Atraso no desenvolvimento com ou sem fácies dismórfica e autismo (OMIM #618454): é um transtorno autossômico dominante causado por mutações heterozigóticas no gene *TRRAP*. Esse gene funciona como parte de um complexo coativador multiprotéico com atividade de histona acetiltransferase (REF). No caso 12, o exoma identificou a mutação não sinônima, NM_001375524.1:c.2759A>G, p.Gln920Arg.

As principais características clínicas dessa afecção incluem o atraso do desenvolvimento, deficiência intelectual, atraso na fala e faces dismórficas, como fissuras palpebrais inclinadas, hipertelorismo, orelhas de implantação baixa e ponte nasal larga ou deprimida (Cogne et al.2019).

O caso 12 apresenta os seguintes sinais clínicos: atraso global do desenvolvimento, deficiência intelectual, atraso na fala, microcefalia, baixa estatura, hipotonia, dificuldades alimentares, cardiopatias e dismorfismos faciais. Desse último podemos citar epicanto, filtro curto, ponte nasal deprimida, nariz curto e boca grande.

Assim, para o caso 12 foi sugerido como hipótese diagnóstica a condição conhecida por Atraso no desenvolvimento com ou sem fácies dismórfica e autismo.

Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 71, com anormalidades comportamentais (OMIM #620330): é causada por mutação heterozigótica no gene *RFX7* (OMIM #612660). Esse gene pertence a família de fatores de transcrição do fator regulador X (FRX) (Aftab et al., 2008). O exoma do caso 17 identificou a mutação não sinônima NM_022841.7:c.812G>T, p.Gly271Val.

Esse distúrbio é caracterizado pelo atraso global no desenvolvimento, hipotonia, atraso na fala, manifestações comportamentais e características dismórficas (Harris et al., 2021).

O caso 17 apresenta atraso global de desenvolvimento e deficiência intelectual, ansiedade, atraso de fala, hipotonia, dificuldades alimentares, microcefalia, orelhas proeminentes, hipoplasia malar, filtro longo, lábio superior fino e micrognatia.

A sobreposição clínica do fenótipo do paciente e a presença da mutação em *RFX7*, sugere-se que a hipótese diagnóstica é o Transtorno do desenvolvimento intelectual, autossômico dominante 71, com anormalidades comportamentais.

No caso 10, o exoma identificou uma mutação não sinônima em um dos genes da região crítica da SWB. A mutação NM_003388.5:c.445C>A, p.Pro149Thr no *CLIP2* (OMIM #603432), ela foi observada em heterozigose. Esse gene normalmente é deletado na SWB, e nenhuma condição clínica foi associada com esse gene. Estudos sugerem que a deleção desse gene, junto com os genes *GTF2I*, *GTF2IRD1* e *LIMK1*, causaria o perfil cognitivo da SWB (Euteneuer et al. 2014; van Hagen et al., 2007). Os genes *CLIP2*, *GTF2IRD1* e *GTF2I* estão próximos na região crítica da SWB, na porção mais telomérica da região. Alguns estudos sugerem que deleções de *GTF2I* e *GTF2IRD1* podem estar relacionadas às características craniofaciais, a deficiência intelectual e alguns aspectos cognitivos (Dai et al. 2010; Antonell et al., 2010; Fusco et al., 2014). Assim, podemos supor que a presença dessa mutação em *CLIP2* pode alterar a leitura dos genes que estão após ele, e tal situação poderia levar a um fenótipo que lembra a SWB.

No caso 18, o exoma identificou a presença em heterozigose da mutação NM_000821.7:c.938_939del (p.Pro313Argfs*33). Essa mutação no gene *GGCX* (OMIM #137167)

que já foi descrita na literatura como patogênica em um estudo sobre hipertensão da artéria pulmonar (Na Zhu et al., 2019). Esse gene também está relacionado a duas patologias, Distúrbio semelhante ao pseudoxantoma elástico com deficiência de múltiplos fatores de coagulação (OMIM#610842) e Deficiência combinada de Fatores de coagulação dependentes de vitamina K, (OMIM #277450). O fenótipo do paciente não era semelhante a nenhuma das condições citadas.

Dos casos considerados complexos:

O exoma do caso 1 identificou duas variantes em genes que estão relacionados a condições que possuem fenótipos que se sobrepõem ao do paciente.

A mutação não sinônima, NM_001374828.1:c.2753G>T (p.Gly918Val) no éxon 7 do gene *ARID1B*. Essa mutação foi observada em baixíssima frequência na população, gnomADv.4.1 e a análise de predição computacional sugere que é patogênica.

O gene *ARID1B* está relacionado com a etiologia de Coffin-Siris. As características clínicas do paciente que se sobrepõe são: atraso global do desenvolvimento, deficiência intelectual, hipotonia, escoliose, estreitamento bitemporal, epicanto, estrabismo, edema periorbitário, ponte nasal deprimida, filtro longo, bochechas proeminentes, boca grande, dentes pequenos, hipoplasia de esmalte dentário e micrognatia.

A outra mutação identificada é no principal gene da região crítica da SWB, o gene da *ELN* (OMIM # 130160). A mutação NM_001278939.2: c.1382G>C (p.Gly461Ala). Esse gene está no meio da região crítica da SWB e normalmente é deletado nessa condição. Além da SWB, o gene da *ELN* também está associado a outras patologias, a Cutis laxa, autossômica dominante (OMIM #123700) e a Estenose Aórtica Supravalvar (OMIM #185500). Mas o paciente não possui características clínicas compatíveis com essas afecções. Enquanto para a SWB, ele possui o fenótipo da síndrome, além de um escore AAP de 5.

O exoma do paciente 3 identificou duas variantes, uma no gene *RAI1* (OMIM #607642) e outra no gene *BUD23* (OMIM #615733). Este gene, já foi chamado de *WBSCR22*, porque está localizado na região 1.2Mb da região crítica da SWB, próximo do gene *STX1A*. A mutação NM_017528.5:c.190A>G (p.Thr64Ala) é não sinônima e não foi encontrada em no gnomAD v.4.1. Esse gene não foi relacionado a outras condições, a não ser a SWB. Para essa afecção o paciente apresenta as faces típicas da síndrome, além de outras características como a sociabilidade excessiva e o escore da AAP igual a seis.

A variante do gene *RAI1* também é não sinônima, NM_030665.4:c.1340A>G (p.Asn447Ser), essa variante está localizada no éxon 3 desse gene. Mutações patogênicas no gene *RAI1* resulta na

síndrome de Smith-Magenis (OMIM #182290), essas mutações patogênicas normalmente são observadas no éxon 3 de *RAII*. Essa síndrome é caracterizada por faces dismórficas, hipotonia, atraso no desenvolvimento, comprometimento cognitivo e de fala, distúrbios do sono, acessos de raiva e impulsividade, a rouca e profunda (GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. 2001 Oct 22 [updated 2022 Mar 10]).

O paciente 3 apresentou ansiedade, deficiência intelectual, microcefalia, ponte nasal deprimida, retardo de crescimento, hipotonia, micrognatia, estrabismo, voz rouca, dificuldades de alimentação, boca larga, filtro longo, simpatia excessiva, mandíbula pequena e anormalidade do sistema imunológico.

Por fim, o exoma do paciente 20 identificou quatro variantes: NM_030665.4:c.21G>T (p.Arg7Ser) em *RAII* (OMIM #607642); NM_001374828.1:c.4834C>T (p.Pro1612Ser) em *ARID1B* (OMIM #614556); NM_016628.5:c.475A>T (p.Lys159*) em *WAC* (OMIM #615049); e NM_001379200.1:c.1310G>C (p.Gly437Ala) em *TBX1* (OMIM # 602054).

A variante em *RAII* é não sinônima e se encontra do no início do éxon 3, não foi encontrada no gnomAD e a predição computacional sugere que a variante é patogênica. E o fenótipo do paciente é compatível.

Assim como a anterior, a variante do gene *ARID1B* também é não sinônima, ela está no éxon 18 deste gene e foi observada em baixa frequência na população. A predição computacional sugere que a variante é provavelmente benigna. Mas o fenótipo do paciente se sobrepõe a diversas características da síndrome.

A variante NM_016628.5:c.475A>T (p.Lys159*) em *WAC* é um *stop gain* e está localizada no éxon 5 desse gene, e resulta em uma proteína truncada. Estudos apontam que o gene *WAC* está envolvido no processamento de RNA (Xu and Arnaout, 2002) e que mutações patogênicas nesse gene causam a síndrome de Desanto-Shinawi (OMIM #616708). Esta condição é caracterizada por atraso global no desenvolvimento, faces dismórficas, anomalias gastrointestinais e oculares, e problemas comportamentais (DeSanto et al., 2015).

A última variante identificada é no gene *TBX1* que se encontra na região que está deletada na síndrome de DiGeorge (OMIM #188400) e na síndrome velocardiofacial (OMIM #192430), mas estudo recentes também apontam que mutações de ponto nesse gene também podem causar ambas as condições. Elas se sobrepõem também no fenótipo. Pode apresentar distúrbios de imunodeficiência, faces dismórficas, doenças coronarianas, hipoparatiroidismo, hipocalcemia, problemas cognitivos e comportamentais (Cuneo et al., 2001; Hacıhamdioğlu et al., 2015).

A variante, NM_001379200.1:c.1310G>C, é não sinônima e esta localizada no éxon 7. Ela está ausente na população, gnomAD v.4.1. Já a predição computacional sugere que a variante é provavelmente benigna.

O paciente 20 apresenta os seguintes sinais clínicos: atraso no desenvolvimento, hipotonia, sociabilidade excessiva, ansiedade, hipersensibilidade ao som, atraso na aquisição da fala, seguido de fala excessiva, voz rouca, deficiência de crescimento, dificuldade de alimentação, problemas cardiovasculares e respiratórios, otites recorrentes, problemas musculoesqueléticos e faces dismórficas.

Assim, o fenótipo do paciente se sobrepõe às características presentes na síndrome de Smith-Magenis, na síndrome Coffin-Siris, na síndrome de DeSanto, síndrome de DiGeorge e Velocardiofacial.

6.CONCLUSÃO

O NGS foi fundamental para podermos elucidar e compreender a sobreposição de sinais clínicos de várias síndromes com a SWB. Nesse contexto chama bastante atenção a presença de dois casos da síndrome de Coffin-Siris (2/22). Assim este diagnóstico deve ser o primeiro a ser considerado nos casos de SWB FISH (-).

Os outros oito casos com hipótese molecular de síndromes já descritas devem incluir a SWB no diagnóstico diferencial.

Os doze casos (três de diagnóstico complexo e nove casos sem hipótese diagnóstica) requerem estudos mais aprofundados para a determinação etiológica das alterações clínicas apresentadas pelos pacientes.

O diagnóstico clínico e molecular é a premissa para um aconselhamento genético preciso.

7. REFERÊNCIAS

- AAP. Health Care Supervision for Children with Williams Syndrome. **PEDIATRICS**, v. 107, n. 5, p. 1192–1204, 2001.
- ADEGBOLA, A. *et al.* Redefining the MED13L syndrome. **European Journal of Human Genetics**, v. 23, n. 10, p. 1308–1317, 22 out. 2015.
- AFTAB, S. *et al.* Identification and characterization of novel human tissue-specific RFX transcription factors. **BMC evolutionary biology**, v. 8, p. 226, 1 ago. 2008.
- ANTONELL, A. *et al.* Partial 7q11.23 deletions further implicate GTF2I and GTF2IRD1 as the main genes responsible for the Williams-Beuren syndrome neurocognitive profile. **Journal of Medical Genetics**, v. 47, n. 5, p. 312–320, Maio 2010.
- AVVAKUMOV, N.; C.T., J. The MYST family of histone acetyltransferases and their intimate links to cancer. **Oncogene**, v. 26, n. 37, p. 5395–5407, 13 ago. 2007.
- BAUMER, A. *et al.* High level of unequal meiotic crossovers at the origin of the 22q11.2 and 7q11.23 deletions, **Human Molecular Genetics**. v.7, n.5, p.887-894, 1998.
- BAY.S, M. *et al.* Mutational Mechanisms of Williams-Beuren Syndrome Deletions. **American Journal of Human Genetic**, v.73, n.1, p.131-151, 2003.
- BELLUGI, U. *et al.* Linking Cognitive Neuroscience and Molecular Genetics: New Perspectives from Williams Syndrome, **Journal of Cognitive Neuroscience**, v.12, p.1-6, 2000.
- BEUREN, A.; APITZ, J.; HARMJANZ, D. Supravalvular Aortic Stenosis in Association with Mental Retardation and a Certain Facial Appearance. **Circulation**, v. 26, n. 6, p. 1235 LP – 1240, 1962.
- BI, W. *et al.* Detection of ~1Mb microdeletions and microduplications in a single cell using custom oligonucleotide arrays. **Prenatal Diagnosis**, v. 32, n. 1, p. 10–20, 2012.
- BOUCHIREB, K. *et al.* Clinical features and management of arterial hypertension in children with Williams-Beuren syndrome. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 25, n. 2, p. 434–438, fev. 2010.
- CAMPO, M. DEL *et al.* Hemizygosity 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. 533–542, 2006.

- CHENG, H. *et al.* Phenotypic and biochemical analysis of an international cohort of individuals with variants in NAA10 and NAA15. **Human Molecular Genetics**, v. 28, n. 17, p. 2900–2919, 1 set. 2019.
- COGN., B. *et al.* Missense Variants in the Histone Acetyltransferase Complex Component Gene TRRAP Cause Autism and Syndromic Intellectual Disability. **American Journal of Human Genetics**, v. 104, n. 3, p. 530–541, 7 mar. 2019.
- COURDIER, C. *et al.* Antenatal ultrasound features of isolated recurrent copy number variation in 7q11.23 (Williams syndrome and 7q11.23 duplication syndrome). **Prenatal Diagnosis**, v. 43, n. 6, p. 734–745, 1 jun. 2023.
- CURRAN, M. E. *et al.* The Elastin Gene Is Disrupted by a Translocation Associated with Supravalvular Aortic Stenosis. **Cell**, v.73, n.1, p.159-168, 1993.
- DAI, L.; BELLUGI, U.; CHEN, X. Is it Williams Syndrome? *GTF2IRD1* implicated in Visual-Spatial Construction and *GTF2I* in Sociability Revealed by High Resolution Arrays. **American Journal of Medical Genetics**, n. 3, p. 302–314, 2010.
- DE SOUSA LIMA STRAFACCI, A. *et al.* Growth assessment in children with Williams-Beuren syndrome: a systematic review. **Journal of Applied Genetics**, v. 61, n. 2, p. 205–212, 2020.
- DESANTO, C. *et al.* WAC loss-of-function mutations cause a recognisable syndrome characterized by dysmorphic features, developmental delay and hypotonia and recapitulate 10p11.23 microdeletion syndrome. **Journal of medical genetics**, v. 52, n. 11, p. 754–761, nov. 2015.
- DUTLY, F.; SCHINZEL, A. Unequal interchromosomal rearrangements may result in elastin gene deletions causing the Williams-Beuren syndrome. **Human Molecular Genetics**, v.5, n.12, p.1893-1998, 1996.
- ERONEN, M. *et al.* Cardiovascular manifestations in 75 patients with Williams syndrome. **Journal of Medical Genetics**, v.39, n.8, p.554-558, 2002.
- EUTENEUER, J. *et al.* Molecular and phenotypic characterization of atypical Williams – Beuren syndrome. **Clinical genetics**, n. 5, p. 487–491, 2014.
- EWART, A K. *et al.* Hemizygosity at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome. **Nature genetics**, v. 5, n. 1, p. 11–16, 1993.
- 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.

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.

HACIHAMDIOĞLU, B.; HACIHAMDIOĞLU, D.; DELIL, K. 22q11 deletion syndrome: current perspective. **The application of clinical genetics**, v. 8, p. 123–132, 2015.

HARRIS, H. K. *et al.* Disruption of RFX family transcription factors causes autism, attention deficit/hyperactivity disorder, intellectual disability, and dysregulated behavior. **Genetics in Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1028–1040, 1 jun. 2021.

HELENA DE SOUZA, D. *et al.* Fluorescent in situ hybridization (FISH) as a diagnostic tool for Williams-Beuren syndrome. **Human and Medical Genetics**, v.30, n.1, 2007.

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

HONJO, R. S. *et al.* Williams-beuren syndrome: A clinical study of 55 Brazilian patients and the diagnostic use of MLPA. **BioMed Research International**, 2015.

HUANG, X. *et al.* A novel truncation mutation in GJA1 associated with open angle glaucoma and microcornea in a large Chinese family. **Eye (Basingstoke)**, v. 29, n. 7, p. 972–977, 11 jul. 2015.

HUANG, R. *et al.* Prenatal diagnosis of Williams-Beuren syndrome by ultrasound and chromosomal microarray analysis. **Molecular Cytogenetics**, v. 15, n. 1, 2022.

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

KAPLAN, P. *et al.* Contractures in Patients with Williams Syndrome. **Pediatrics**, v.85, n.5, p.895-899, 1989

KENNEDY, J. *et al.* KAT6A Syndrome: genotype–phenotype correlation in 76 patients with pathogenic KAT6A variants. **Genetics in Medicine**, v. 21, n. 4, p. 850–860, 1 abr. 2019.

KOZEL, B. A. *et al.* Williams syndrome. **Nature Reviews Disease Primers**, v.42, n.7, 2021.

KRUSZKA, P. *et al.* Williams–Beuren syndrome in diverse populations. **American Journal of Medical Genetics, Part A**, v. 176, n. 5, p. 1128–1136, 2018.

KU, C. S. *et al.* Exome sequencing: Dual role as a discovery and diagnostic tool. **Annals of Neurology**, v. 71, n. 1, p. 5–14, 2012.

- 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.
- LI, X. *et al.* Molecular and phenotypic spectrum of Noonan syndrome in Chinese patients. **Clinical Genetics**, v. 96, n. 4, p. 290–299, 1 out. 2019.
- LOPEZ-RANGEL, E. *et al.* Williams Syndrome in Adults. **American Journal of Medical Genetics**, v.44, n.6, p720-729, 1992.
- 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.
- LV, X. *et al.* Prenatal diagnosis of 7q11.23 microdeletion: Two cases report and literature review. **Medicine (United States)**, v. 102, n. 43, p. E34852, 2023.
- MAKWANA, R. *et al.* A Natural History of NAA15-related Neurodevelopmental Disorder Through Adolescence. **medRxiv** [preprint]; 22 abr. 2024.
- MARTIN, N. D. T. *et al.* New height, weight and head circumference charts for British children with Williams syndrome. **Archives of Disease in Childhood**, v. 92, n. 7, p. 598–601, 2007.
- MCMAHON, S. B. *et al.* The novel ATM-related protein TRRAP is an essential cofactor for the c-Myc and E2F oncoproteins. **Cell**, v. 94, n. 3, p. 363–374, 7 ago. 1998.
- MERLA, G. *et al.* Copy number variants at Williams-Beuren syndrome 7q11.23 region. **Human Genetics**, v.128, n.1, p3-26, 2010.
- MERVIS, C. B. *et al.* The Williams Syndrome Cognitive Profile. **Brain and Cognition**, v. 44, n. 3, p. 604–628, 2000.
- MORRIS, C. A. *et al.* Natural history of Williams syndrome: Physical characteristics. **The Journal of Pediatrics**, v. 113, n. 2, p. 318–326, ago. 1988.
- MORRIS, C.; THOMAS, I.; GREENBERG, F. Williams Syndrome: Autosomal dominant inheritance. **American Journal of Medical Genetics**, v. 47, p. 478–481, 1993.
- Morris CA. Williams Syndrome. 1999 Apr 9 [Updated 2023 Apr 13]. **GeneReviews®** [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1249/>
- 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. 321–325, 2001.

- ORLOVA, A. *et al.* Spectrum of Mutations in PTPN11 in Russian Cohort. **Genes**, v. 15, n. 3, 1 mar. 2024.
- PANI, A. M. *et al.* Genome rearrangements detected by SNP microarrays in individuals with intellectual disability referred with possible Williams syndrome. **PLoS ONE**, v. 5, n. 8, 2010.
- PAWSON, T.; SAXTON, T. M. Signaling networks--do all roads lead to the same genes? **Cell**, v. 97, n. 6, p. 675–678, 11 jun. 1999.
- PAZNEKAS, W. A. *et al.* Connexin 43 (GJA1) mutations cause the pleiotropic phenotype of oculodentodigital dysplasia. **American journal of human genetics**, v. 72, n. 2, p. 408–418, fev. 2003.
- PEREZ JURADO, L. A. *et al.* Molecular Definition of the Chromosome 7 Deletion in Williams Syndrome and Parent-of-Origin Effects on Growth. **American journal of human genetics**, v.59, n.4, p.781-792, 1996.
- POBER, B. R. Williams–Beuren Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 3, p. 239–252, 2010.
- PREUS, M. The Williams syndrome: objective definition and diagnosis. **Clinical Genetics**, v.25, n.5, p.422-428.
- RABBANI, B.; TEKIN, M.; MAHDIEH, N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. **Journal of Human Genetics**, v. 59, n. 1, p. 5–15, 2014.
- RIEGEL, M. *et al.* Molecular cytogenetic evaluation of chromosomal microdeletions: the experience of a public hospital in Southern Brazil. **Clinical & Biomedical Research**, v. 34, n. 4, p. 357–365, 2014.
- ROBINSON, W. P. *et al.* Delineation of 7q11.2 Deletions Associated with Williams-Beuren Syndrome and Mapping of a Repetitive Sequence to within and to Either Side of the Common Deletion. **GENOMICS**, v.34, n.1, p.17-23, 1996.
- SCHMETZ, A. *et al.* Delineation of the adult phenotype of Coffin–Siris syndrome in 35 individuals. **Human Genetics**, v. 143, n. 1, p. 71–84, 2024.
- VERGANO, S. *et al.* Coffin-Siris Syndrome. 2013 Apr 4 [updated 2021 Aug 12]. **GeneReviews**[®][Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024. PMID: 23556151.
- SCHUBERT, C. The genomic basis of the Williams - Beuren syndrome. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.66, n.7, p.1178-1197, 2009.

SERRANO-JU.REZ, C. A. *et al.* Neuropsychological Genotype–Phenotype in Patients with Williams Syndrome with Atypical Deletions: A Systematic Review. **Neuropsychology Review**, v.33, n.4, p.891-911, 2022.

SHENDURE, J. The beginning of the end for microarrays? **Nature Methods**, v. 5, n. 7, p. 585–587, 2008.

SHIBAYAMA, J. *et al.* Functional characterization of connexin43 mutations found in patients with oculodentodigital dysplasia. **Circulation research**, v. 96, n. 10, p. e83-91, 27 maio 2005.

Smith, A. *et al.* Smith-Magenis Syndrome. 2001 Oct 22 [updated 2022 Mar 10]. **GeneReviews**[®] [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2024. PMID: 20301487.

SMOOT, L. *et al.* Medical overview and genetics of Williams-Beuren syndrome. **Progress in Pediatric Cardiology**, v. 20, n. 2, p. 195–205, 2005.

STANLEY, T. L.; LEONG, A.; POBER, B. R. Growth, body composition, and endocrine issues in Williams syndrome. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v.28, n.1, p.64-74, 2021.

STROMME P, BJORNSTAD PG, Ramstad K. Prevalence Estimation of Williams Syndrome. **Journal of Child Neurology**, v.17, n.4, p.269-271, 2002.

STRAFACCI, A. DE S. L. *et al.* Brazilian growth charts for Williams–Beuren Syndrome at ages 2 to 18 years. **Jornal de Pediatria**, jan. 2024.

SUGAYAMA SM, *et al.* Williams Syndrome: development of a new scoring system for clinical diagnosis. **Clinics** (Sao Paulo), v.62, n.2, p.159-166, 2007.

TAJAN, M. *et al.* SHP2 sails from physiology to pathology. **European journal of medical genetics**, v. 58, n. 10, p. 509–525, out. 2015.

TARTAGLIA, M. *et al.* Mutations in PTPN11, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome. **Nature Genetics**, v. 29, n. 4, p. 465–468, 2001.

TARTAGLIA, M. *et al.* PTPN11 Mutations in Noonan Syndrome: Molecular Spectrum, Genotype-Phenotype Correlation, and Phenotypic Heterogeneity. **American Journal of Human Genetics**, v.70, n.6, p. 1555-1563, 2002.

THOMAS, N. S. *et al.* Parental and chromosomal origins of microdeletion and duplication syndromes involving 7q11.23, 15q11-q13 and 22q11. **European Journal of Human Genetics**, v. 14, n. 7, p. 831–837, jul. 2006.

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, 1 set. 2007.

VASKO, A.; DRIVAS, T. G.; SCHRIER VERGANO, S. A. Genotype-phenotype correlations in 208 individuals with coffin-siris syndrome. **Genes**, v. 12, n. 6, 1 jun. 2021.

WANG, M. S. *et al.* Molecular and clinical correlation study of Williams-Beuren syndrome: No evidence of molecular factors in the deletion region or imprinting affecting clinical outcome. **American Journal of Medical Genetics**, v. 86, n. 1, p. 34–43, 1999.

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

WILLIAMS, JCP; BARRAT-BOYERS, BG; LOWE, J. Supravalvular aortic stenosis. **Circulation**, v. 24, p. 1311–1318, 1961.

XU, G. M.; ARNAOUT, M. A. WAC, a novel WW domain-containing adapter with a coiled-coil region, is colocalized with splicing factor SC35. **Genomics**, v. 79, n. 1, p. 87–94, jan. 2002.

ZHU, N. *et al.* Novel risk genes and mechanisms implicated by exome sequencing of 2572 individuals with pulmonary arterial hypertension. **Genome Medicine**, v. 11, n. 1, 14 nov. 2019.

8. ANEXOS

8.1. Anexo I. Ficha de Anamnese da SWB



FICHA DE ANAMNESE GENÉTICO-CLÍNICA*

Síndrome de Williams-Beuren

DATA DE HOJE: ____/____/____

1. IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____

Idade: _____ Nasc.: ____/____/____ Local de nasc.: _____

RG-HC: _____ SAG: _____

Mãe: _____

Idade: _____ Profissão: _____ Escolaridade: _____

Pai: _____

Idade: _____ Profissão: _____ Escolaridade: _____

Separados: ()SIM ()NÃO

Endereço: _____

Bairro: _____ CEP: _____

Cidade: _____ Estado: _____

Telefone(s): () _____ Res. () _____ Cel.

Telefone para recado: () _____ Com: _____

ENCAMINHAMENTO:

Médico: _____

Instituição: _____ Especialidade: _____

Profissional (não médico): _____ Especialidade: _____

2. ANTECEDENTES GESTACIONAIS:

Pré-natal: ()SIM ()NÃO - Início: _____ meses Duração da gravidez: _____

Início dos movimentos fetais: _____ meses Intensidade: _____

Ganho de peso com a gravidez: _____ kg PA: _____

() Hemorragia - Período: _____

() Febre - Período: _____

() Contágio () Edema () Convulsões () Polidrâmnio () Oligodrâmnio

Enfermidades agudas/crônicas: _____

Fatores físicos/químicos: _____

Obs.: _____

3. PARTO:

() Hospitalar () Domiciliar () Outro – Especificar: _____

() Normal () Cesariana

Obs.: _____

4. CONDIÇÕES DO RN

Peso: _____ g (%) Comprimento: _____ cm (%) PC: _____ cm (%)

PT: _____ cm (%) APGAR _____ / _____ / _____ Chorou: ()SIM ()NÃO

Cianose: _____ Sucção: _____ Tônus: _____

()Icterícia: ()Fototerapia ()Exsanguineotransusão

Permanência na maternidade: _____ dias Febre: _____ Convulsões _____

Obs.: _____

5. EVOLUÇÃO PEDIÁTRICA

Firmou cabeça: _____ Sorriso social: _____ Sentou: COM apoio _____ e SEM apoio _____ Andou: _____ 1ºs Palavras: _____ Frases: _____

Fechou fontanela: _____ Controle (esfintariano): Urinário: _____ Fecal: _____

Escolaridade: _____

Doenças próprias da Infância: _____

Complicações: _____

Convulsões (quantos episódios, tempo de duração, descrição): _____

Obs.: _____

6. ANTECEDENTES FAMILIAIS

Deficiência mental: ()SIM ()NÃO - Qual: _____

Casos semelhantes na família: ()SIM ()NÃO - Parentesco: _____

Caso de malformação na família: ()SIM ()NÃO - Qual: _____

Parentesco: _____

Casos de alguma outra doença na família: ()SIM ()NÃO - Qual: _____

Parentesco: _____

Consangüinidade entre os pais? ()Tipo: _____

O casal deseja mais filhos? ()SIM ()NÃO

Método contraceptivo utilizado: ()Anticoncepcional: ()Oral ()Injetável - Qual: _____

()Dispositivo intrauterino ()Preservativos ()Laqueadura ()Vasectomia

HEREDOGRAMA

EXAME FÍSICO

1. BIOMETRIA

Peso: _____g () Estatura: _____cm () Seg. inf.: _____cm Seg. sup.: _____cm

Envergadura: _____cm PT: _____cm () PC: _____cm () DII: _____mm ()

DIE: _____mm () $DIP: 0,7 + (0,59 \times DII) + (0,41 \times DIE) =$ _____mm ()

Fontanelas: Anterior: _____cm Posterior: _____cm AP: _____cm BP: _____cm

IC: $\frac{BP \times 100}{AP} =$ _____cm

AP

CARACTERÍSTICAS DA SWB
Idade ao 1º Atendimento
Motivo da Consulta
EVOLUÇÃO:
Atraso DNPM / DM
Hipotonia
Sociabilidade Excessiva
Hiperatividade
Loquacidade
Voz grave
Deficiência de crescimento
Dificuldade Alimentar
Vômitos
Constipação Intestinal
Hérnia inguinal e/ou umbilical
Problemas cardíacos especifícarem
Problemas respiratórios especifícarem
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 especificarem
Bochechas proeminentes
Micrognatismo
Clinodactilia de 5º dígito
Halux valgo
Hipoplasia unguial
Hipercalcemia

Exames Solicitados e Resultados de Exames:

Atendido por: _____

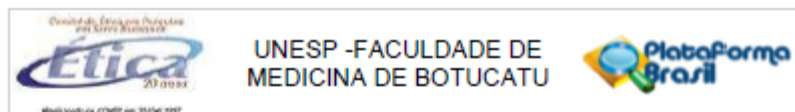
8.2. Anexo II. Sistemas de pontuação utilizados para o diagnóstico clínico da SWB.

American Academy of Pediatrics			
Crescimento			
	Pós-termo > 41 semanas	Constipação crônica	3 score =
	Cólica prolongada > 4 m irritabilidade	Vômitos ou refluxo gastroencefálico	1 ponto
	Déficit de crescimento < p 5		
Comportamento e desenvolvimento			
	Personalidade amigável	Atraso de fala, excesso de fala	3 score =
	Problema visuo-espacial	Ansiedade	1 ponto
	Hiperacusia	Deficiência mental	
Craniofacial			
	Estreitamento bitemporal	Sobrancelhas largas	8 score = 3 pontos
	Epicaneto 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 supravalvular	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 =
	Pescoço longo ou ombro caído	Limitação articular ou frouxidão	2 pontos
	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			

LOWERY		
CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS	PONTOS	
Facies Típicos	3	
DM/ADNPM	1	
EASV	2	
Cardiopatía que não EASV	1	
Hérnia inguinal	1	
Hipercalcemia	2	
TOTAL	10	

SUGAYAMA		
CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS	PONTOS	
Baixo peso ao nascimento	3	
Dificuldade alimentares	3	
Obstipação	3	
Fáceis típico	3	
EASV	3	
DM	3	
Personalidade amigável	3	
Estrabismo	2	
ADNPM	2	
Dificuldade de ganho de peso	1	
Outra cardiopatía que não EASV	1	
Hipertensão arterial	1	
Contraturas articulares	1	
Hiperacusia	1	
Hipoplasia ungueal	1	
TOTAL	31	

8.3. Anexo III. Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams-Beuren e com exame de FISH (-)

Pesquisador: Danilo Moretti Ferreira

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 2

CAAE: 56874416.0.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Genética

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

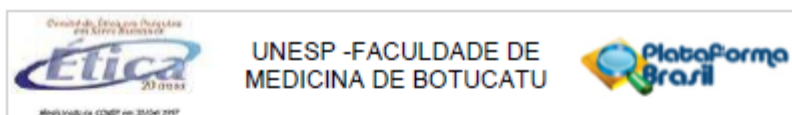
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.370.344

Apresentação do Projeto:

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 multisistêmico. 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 caracterizam a síndrome de Williams-Beuren (SWB). A etiologia genética compreendem uma região de genes de cópia única, com cerca de 28 genes, ligadas a duas regiões repetitivas (LCR – Low Copy Repeats). O diagnóstico clínico, dado pela técnica da hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), pode não detectar o principal gene envolvido na síndrome (ELN), entretanto outras possibilidades podem falhar a detecção: a deleção pode não englobar o ELN; ou a deleção pode ter ocorrido em genes adjacentes à ELN na região 7q11.23; ou as características semelhante à SWB podem se manifestar por influência ambiental, ou pode apresentar uma mutação de ponto em outros genes da região crítica da SWB, ou o indivíduo pode possuir outra síndrome, ou mesmo pode ter sido diagnosticado erroneamente. Em vista disso, esse trabalho pretende realizar um

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 13.618-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capelup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.370.344

diagnóstico laboratorial correto de pacientes com diagnóstico clínico de SWB e exame de FISH (-) através de hierarquização de testes moleculares excludentes com maior rendimento, partindo de um diagnóstico diferencial para síndrome de Ailaglie por FISH, seguido pela técnica de amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação

(MLPA), hibridização genômica comparativa em microarranjos (aCGH) e, por fim, realizando um sequenciamento de nova geração (SNG) de exomas de cinco genes ligados ao comportamento.

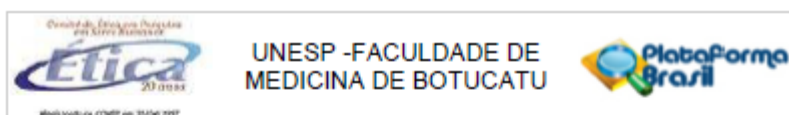
Serão incluídos 20 indivíduos que possuem registro junto ao Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) do Departamento de Genética do Instituto de Biociências (IBB) da UNESP de Botucatu-SP. Culturas temporárias de linfócitos serão realizadas com

linfócitos do sangue periférico para obtenção de cromossomos metafásicos. Com isso a técnica de FISH (Hibridização in situ por fluorescência) será realizada utilizando uma sonda para deleção do gene JAG1 na Síndrome de Ailaglie (AGS) para região 20p12. Para cada indivíduo, 20 metafases serão analisadas e foto documentadas em um microscópio de fluorescência (OLYMPUS BX61). As análises serão efetuadas pela presença ou ausência da hibridização, dada pela emissão ou não da fluorescência. A obtenção do DNA genômico, que será utilizado nas demais técnicas, será obtida a partir do sangue total. Após a extração, as amostras de DNA serão quantificadas em espectrofotômetro (NanoDrop 8000 - Thermo Fisher Scientific) e serão armazenadas em freezer (-20°C) para usos futuros. A técnica de MLPA (amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação), que permite detectar o número de cópias das sequências dos oito genes em uma única reação. A técnica de aCGH (hibridização genômica comparativa em microarranjos) consiste na comparação de dois genomas, amostra e referência (1:1), pela técnica de hibridização, com um resolução de 5 a 10 Mb. Essa técnica verifica alterações no número de cópias (CNV) de cada cromossomo em uma única reação. Um painel customizado com exomas de cinco genes (LIMK1, GTF2I, GTF2IRD1, CLIP2, FZD9) envolvidos com o comportamento será desenhado e a reação de sequenciamento será realizada utilizando-se a plataforma MiSeq (Illumina®) a partir de uma estratégia de sequenciamento por síntese. Para cada exame proposto, se os mesmos forem positivos, um aconselhamento genético será elaborado pelo responsável do SAG-IBB a fim de informar os pacientes e seus familiares sobre a natureza, herança e implicações genéticas com intuito de auxiliá-los a respeito dos cuidados médicos e riscos para gerações futuras.

Objetivo da Pesquisa:

Fornecer diagnóstico clínico de 20 pacientes com suspeita clínica de síndrome de Williams-Beuren

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.518-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capelup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.370.344

(SWB) com sinais clínicos confirmados por escore clínico APP não apresentaram a deleção da região 7q11.23 na análise citogenética - exame de FISH (Hibridização In situ por fluorescência) negativo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Descrito no projeto e nos termos apresentados.

Riscos:

A coleta de sangue pode causar algum desconforto físico e existe uma chance de ocorrer uma mancha roxa (hematoma) na região da coleta que desaparecerá bem rapidamente.

Benefícios:

Para cada exame proposto, se os mesmos forem positivos, um aconselhamento genético será elaborado pelo responsável do Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) do Departamento de Genética do Instituto de Biociências (IBB) a fim de informar os pacientes e seus familiares sobre a natureza, herança e implicações genéticas com intuito de auxiliá-los a respeito dos cuidados médicos e riscos para gerações futuras.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Cronograma do estudo adequado, com início previsto para 2018.

Pesquisa seguindo os critérios da ética em pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados Termos de consentimento para o participante ou responsável e termo de assentimento - linguagem clara e com preceitos éticos seguidos.

Inclui os riscos e benefícios, o material a ser coletado, e solicita autorização para armazenamento do mesmo, em banco próprio do SAG.

Termos de autorização para o estudo apresentados adequadamente.

Recomendações:

Aprovação, sem necessidade de envio à CONEP.

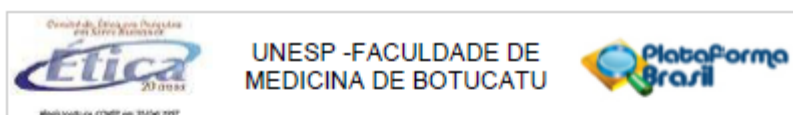
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP em reunião ordinária de 06/11/2017, APROVA os documentos abaixo enviados na forma de "EMENDA", sem necessidade de envio à CONEP.

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capelup@fmb.unesp.br



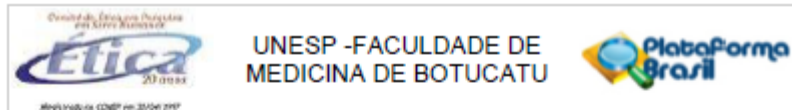
Continuação do Parecer: 2.370.344

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1000251_E1.pdf	09/10/2017 19:43:53		Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_2017.pdf	05/10/2017 20:59:02	Danilo Moretti Ferreira	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_responsaveis_2017.pdf	05/10/2017 20:58:51	Danilo Moretti Ferreira	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maiores_de_18_anos_2017.pdf	05/10/2017 20:58:37	Danilo Moretti Ferreira	Acelto
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_2017.pdf	05/10/2017 20:58:09	Danilo Moretti Ferreira	Acelto
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	08/06/2016 15:38:57	Priscila Medeiros	Acelto
Orçamento	Orcamento.docx	08/06/2016 15:37:10	Priscila Medeiros	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaoSAG.pdf	08/06/2016 15:27:37	Priscila Medeiros	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaoIB.pdf	08/06/2016 15:25:47	Priscila Medeiros	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa.pdf	08/06/2016 15:24:09	Priscila Medeiros	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEresponsaveis2016.doc	08/06/2016 15:14:48	Priscila Medeiros	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento_2016.doc	08/06/2016 15:12:47	Priscila Medeiros	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maiores_de_18_anos_2016.doc	08/06/2016 15:11:47	Priscila Medeiros	Acelto

Situação do Parecer:

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
 Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
 UF: SP Município: BOTUCATU
 Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capelup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.370.344

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 08 de Novembro de 2017

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.518-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capelup@fmb.unesp.br

8.4. Anexo IV. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para menores de 18 anos.



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE.

Gostaríamos de saber se você, que apresenta um (a) filho (a) com resultado de FISH (-) para a Síndrome de Williams-Beuren (SWB), permite a participação do (a) mesmo (a) no projeto de pesquisa intitulado **“Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams- Beuren e com exame de FISH (-)”** que será conduzido pelo Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira do Serviço de Aconselhamento Genético (SAG) – IBB.

Gostaríamos que vocês soubessem que:

Participar deste projeto é uma opção pessoal, podendo participar ou não;

Caso vocês decidirem não participar ou desistirem de participar a qualquer momento seu filho (a) não perderão nenhum benefício ou tratamento que estiverem fazendo nesta instituição;

A qualquer momento vocês terão a liberdade de buscar junto aos responsáveis pelo projeto, esclarecimentos de qualquer natureza, inclusive os relativos à metodologia do trabalho;

Você receberá uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);

O presente trabalho tem por objetivo fornecer um diagnóstico clínico fidedigno aos pacientes que apresentam sinais clínicos compatíveis com a SWB mas não apresentam deleção do gene da elastina, conforme análise-citogenético padrão ouro (FISH). Este projeto de pesquisa pretende buscar um diagnóstico através da hierarquização de testes laboratoriais excludentes.

Caso vocês autorizem a participação do (a) seu filho (a) gostaríamos de informar-lhes que:

Serão coletados 5ml de sangue do (a) paciente, nos quais será utilizado nos seguintes exames: técnica de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), técnica de amplificação de múltiplas sondas dependentes de ligação (MLPA), hibridização genômica comparativa em microarranjos (aCGH) e sequenciamento de nova geração (SNG).

A coleta de sangue pode causar algum desconforto físico e existe uma chance de ocorrer uma mancha roxa (hematoma) na região da coleta que desaparecerá bem rapidamente.

O material biológico (DNA) do (a) paciente que não for utilizado será armazenado em nossos bancos de estoque e poderá ser usado em futuras pesquisas de genes, relacionados com a Síndrome de Williams-Beuren, diante de novo TCLE, desde que seja autorizado por vocês.

Vocês estarão colaborando para aumentar os nossos conhecimentos sobre os casos de diagnóstico clínico para a Síndrome de Williams-Beuren com FISH (-).

Os resultados deste estudo talvez não sejam de benefício imediato para você ou sua família.

Os resultados poderão demorar meses para ficarem prontos.

Assim que existam resultados, laudos de aconselhamento genético serão emitidos e explicados detalhadamente a você pelo responsável do SAG, Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira.

Os resultados deverão ser publicados em revistas científicas que circulem entre os profissionais da saúde que tenham interesse nesta área inclusive com fotos descritivas do (a) paciente.

Sempre que ocorrerem publicações científicas a sua identidade e do (a) seu filho (a) será mantida em absoluto sigilo.

Somente pesquisadores envolvidos com o projeto terão acesso aos dados completos, não sendo permitido, em nenhuma hipótese, o acesso dos dados por terceiros. Todo material é codificado tendo, cada participante, recebido um número de registro no SAG.

Todos os resultados de exames de FISH, MLPA, aCGH e SNG estarão disponíveis no prontuário do (a) paciente, seu filho (a), no SAG de Botucatu.

Eu, _____

Portador do R.G. Nº _____

Autorizo a participação do seu filho (a) no projeto de pesquisa “**Triagem de alterações genéticas em indivíduos com diagnóstico clínico de Síndrome de Williams-Beuren e com exame de FISH (-)**”. Declaro haver recebido as devidas explicações sobre o referido projeto, estar ciente sobre os itens acima mencionados e a participação é voluntário por opção própria.

Autorizo a manutenção do DNA de meu filho (a) no Banco de DNA do SAG.

Não autorizo a manutenção do DNA de meu filho (a) no Banco de DNA do SAG.

Assinatura do responsável

Data: __/____/____

Nome do paciente: __ Endereço:

Prof. Dr. Danilo Moretti-Ferreira

Fone: (14) 3880-0376 / 9754-5963

Endereço: Rubião Junior S/N – UNESP – Campus de Botucatu - Depto. de Genética – Serviço de Aconselhamento Genético

Botucatu/SP – CEP: 18618 000 sag@ibb.unesp.br

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do fone (14) 3880-1608/3880-1609 ou pelo endereço Chácara Butignoli s/n, Rubião Júnior - Botucatu - São Paulo CEP: 18618-970 (Próximo a FAMESP). Horário de funcionamento das 08:00 às 11:30/ 13:30 às 17:00.

8.5.Anexo V. Fotografias do grupo amostral.

Caso: 01

DBDF (SAG 6928), sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/dm, hipotonia, hiperatividade, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital leve, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábio inferior grosso, anomalias dentarias hipoplasia de esmalte e microdontia, micrognatismo, hipercalcemia. . A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou 2 mutações NM_001374828.1:c.2753G>T (p.Gly918Val) no gene ARID1B, NM_001278939.2:c.1382G<C (p.Gly416Ala) no gene ELN.

Caso: 02

JSM (SAG 7708) nascido em 10/07/99, sexo masculino. Exame físico: altura 1,37, peso 32kg, envergadura 133, PC 52. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/ dm, hipotonia, voz grave, deficiência de crescimento, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, íris estrelada, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, lábio inferior grosso, bochechas proeminentes, micrognatismo, hipoplasia ungueal. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_001374828.1:c.5715dup (p.Lys1906Ter) no gene ARID1B, NM_152641.4:.103A>T (p.Lys35Ter) no gene ARID2.

Caso: 03

PGBR (SAG: 7894) nascido em 23/12/2000, sexo masculino. Gestação: 9 meses, parto normal, peso 3200, firmou a cabeça com 4 meses, sentou-se sem apoio com 7 meses, andou com 1,4 anos. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/ dm, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, voz grave, deficiência de crescimento, dificuldade alimentar, otites de repetição, 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 dentarias, bochechas proeminentes, hipoplasia ungueal. . A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou 2 mutações NM_017528.5:c.190A>G (p.Thr64Ala)no gene BUD23, NM_030665.4:c.1340A>G (p.Asn447Ser) no gene RAI1.

Caso: 04

PVBF (SAG: 7969) nascido em 04/05/1978, sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, deficiência mental, atraso DNPM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, constipação intestinal, bronquite, otites de repetição, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, íris estrelada, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, anomalias dentarias, bochechas proeminentes, micrognatismo, A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_057175.5:c.2133T>A (p.Gly271Val) no gene *NAA15*.

Caso: 05

NBRS (SAG: 7992) nascido em 04/05/1978, sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, vômitos, constipação intestinal, hernia inguinal/ umbilical, comunicação interatrial, bronquite, otites de repetição, fronte alargada, orelhas grandes em abano, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, maloclusão dentaria, micrognatismo e prognatia, A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_015335.5:c.3857dup (p.Asp1287Glyfs*2) no gene *MED13L*.

Caso: 06

MESB (SAG: 8029) nascido em 21/09/2013, sexo feminino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/ DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, otites de repetição, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, lábio inferior grosso, diástases dentarias, bochechas proeminentes, micrognatismo, A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23.

Caso: 07

AFNP (SAG: 8042) nascido em 20/02/2003, sexo feminino. A avaliação genética clínica revelou, deficiência mental, atraso DNPM/DM, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, vômitos, constipação intestinal, fronte alargada, edema periorbital, estrabismo, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, anomalias dentarias, bochechas proeminentes, micrognatismo, A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23.

Caso: 08

AAFS (SAG: 8066) nascido em 30/12/2006, sexo masculino. Exame físico: altura: 1,23, peso 22,5, PC 49,5A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, voz grave, deficiência de crescimento, dificuldade alimentar, constipação intestinal, hernia inguinal E, otites de repetição, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, estrabismo, íris estrelada, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábio inferior grosso, bochechas proeminentes, micrognatismo. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23.

Caso: 09

MBS (SAG: 8093) nascido em 31/01/2002, sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, constipação intestinal, bronquite, otites de repetição, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, íris estrelada, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, anomalias dentárias, bochechas proeminentes, micrognatismo, A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da VYSIS® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_012330.4:c.3519dup (p.Thr1175Serfs*17) no gene *KAT6B*.

Caso: 10

MLG (SAG: 8174), sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, dificuldade alimentar, vômitos, constipação intestinal, hernia inguinal/ umbilical, microcefalia, edema periorbital ,estrabismo convergente, íris estrelada, filtro nasal longo, bochechas proeminentes levemente, micrognatismo e retrognatismo, clinodactilia de 5 dígito, halux valgo. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da LIVE® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_003388.5:c.445C>A (p.Pro149Thr) no gene *CLIP2*.

Caso: 11

PSSL (SAG: 8224) nascido em 28/09/11, sexo masculino. Gestação: 9 meses, início dos movimentos fetais 7, intensidade boa, parto cesariana, nasceu com 2750, comprimento 53, firmou a cabeça com 5 meses, sentou-se sem apoio com 6 meses. Exame físico: altura 95, peso 15kg, envergadura 96, PC46. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, dificuldade alimentar, vômitos, constipação intestinal, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábio inferior grosso, bochechas proeminentes, micrognatismo, clinodactilia de 5º dígito, hipoplasia ungueal. . A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23.

Caso: 12

GRFL (SAG: 8227) nascido em 20/03/2003, sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, dificuldade alimentar, constipação intestinal, estenose aórtica supra valvar, otites de repetição, microcefalia, orelhas grandes em abano, edema periorbital, íris estrelada, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, maloclusão, micrognatismo. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_001375524.1:c.2759^a>G (p.G11920Arg) no gene *TRRAP*.

Caso: 13

JPMS (SAG: 8330) nascido em 22/02/2002, sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, voz grave, deficiência de crescimento, constipação intestinal, hernia inguinal/ umbilical bilateral e umbilical, sopro, otites de repetição, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, anomalias dentarias diástases, bochechas proeminentes, micrognatismo, A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular NGS (exoma) detectou a mutação. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_006766.5:c.499T>C (p.Tyr167His) no gene *KAT6A*.

Caso: 14

IVV (SAG: 8366). sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva quando pequeno, hiperatividade ate 10 anos, loquacidade, voz grave, constipação intestinal, fluxo regurgitante mitral, insuficiência de tricúspide e pulmonar discreta, quando pequeno quadros gripais, otites de repetição quando pequeno 2 vezes, refluxo urinário à direita, orelhas grandes em abano, edema periorbital, íris estrelada, anomalias dentarias dentes tortos e alteração da mordida, clinodactilia do 5 dígito, hipoplasia ungueal. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23.

Caso: 15

AVCO (SAG: 8410) nascido em 08/02/2006, sexo feminino, Gestação 9 meses, parto normal, peso 3140, firmou a cabeça com 5 meses, sentou-se sem apoio aos 9 meses, andou com 3 anos. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, constipação intestinal, refluxo urinário, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, íris estrelada, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, diástases dentárias, bochechas proeminentes, micrognatismo, hipoplasia ungueal. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da LIVE não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23.

Caso: 16

(SAG: 8437)

A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM sociabilidade excessiva, voz grave, constipação crônica, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábio inferior grosso, bochechas proeminentes, micrognatismo. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou 2 mutações NM_00137428.1:c.571dup (p.Lys1906Terl) no gene *AR11B*, NM_152641.4103A>T (p.Lys35Ter) no gene *ARID2*.

Caso: 17

ASF (SAG: 8445) nascido em 20/10/2010, sexo feminino, A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, dificuldade alimentar, vômitos, constipação intestinal, comunicação intraventricular já operada, sinusite, hipertensão arterial, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, anomalias dentárias, bochechas proeminentes, hipoplasia ungueal. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_002284.7:c.812G>T (p.Gly271Val) no gene *RFX7*.

Caso: 18

JNO (SAG: 8475) nascido em 28/04/2008, sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, constipação intestinal, hernia inguinal/ umbilical, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, maloclusão + diástases dentarias, bochechas proeminentes, micrognatismo, clinodactilia do 5 dígito. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23

Caso: 19

RCBBS (SAG: 8478) nascido em 04/05/1978, sexo feminino. A avaliação genética clínica revelou, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, deficiência de crescimento, constipação intestinal, prolapso de valva mitral, pressão baixa, microcefalia, orelhas grandes em abano, edema periorbital, estrabismo, íris pontilhada, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, maloclusão, bochechas proeminentes, micrognatismo, A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_002834.5:c.922A>G (p.Asn380Asp) no gene *PTPN11*.

Caso: 20

PGBR (SAG: 8508) nascido em 02/05/10, sexo masculino. Primeiro filho de casal não consanguíneo e sem antecedentes pessoais ou familiares relevantes. A tia possui a guarda legal do menor. A avaliação genética clínica revelou, atraso desenvolvimento neuropsicomotor/deficiência mental, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, hiperacusia, epilepsia, deficiência de crescimento, dificuldade alimentar, dificuldade de ganho de peso, renite, sopro cardíaco e persistência do canal arterial, otites de repetição, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, estrabismo, íris estrelada, sobrancelhas esparsas, ponte nasal baixa, nariz curto ou narinas antevertidas, hipoplasia malar, filtro nasal longo, boca grande, lábio inferior grosso, diástases e maloclusão dentárias, bochechas proeminentes, micrognatismo, pescoço longo ou ombro caído, clinodactilia de 5º dígito e limitação articular ou frouxidão. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da CYTOCELL® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou 4 mutações NM_00030665.4:c.21G>T (p.Arg7Ser) no gene RA11, NM_001379200.1:c.1310G>C (p.Gly437Ala) no gene TBX1, NM_001374828.1:c.4834C>T (p.Pro1612Ser) no gene ARID1B, NM_016628.5:c.475A>T (p.Lys159Ter) no gene WAC.

Caso: 21

PPS (SAG: 8681) nascido em 24/10/2020, sexo masculino. A avaliação genética clínica revelou, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, hiperatividade, loquacidade, voz grave, dificuldade alimentar engasga com facilidade, vômitos frequentes, constipação intestinal, hernia inguinal/ umbilical, espessamento supravalvar aórtica, dificuldade na respiração, mãe relata muita cera, porem sem inflamação, microcefalia, fronte alargada, orelhas grandes em abano, edema periorbital, íris estrelada, ponte nasal baixa, filtro nasal longo, boca de carpa, lábia inferior grosso, lábio superior fino, anomalias dentarias dentes pequenos e espaçados, bochechas proeminentes, micrognatismo clinodactilia de 5 dígito, hipercalcemia. A análise citogenética revelou cariótipo masculino 46,XY. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da LIVE® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular MLPA utilizando o kit SALSA P029, MRC-Holland não detectou a microdeleção em 7q11.23.

Caso: 22

PVBF (SAG: 8691) nascido em 05/09/2000, sexo feminino. A avaliação genética clínica revelou, deficiência mental, atraso DNPM/DM, hipotonia, sociabilidade excessiva, sobrelhas largas, edema periorbital, lábio inferior grosso, anomalias dentárias dentes pequenos e espaçados, bochechas proeminentes, nariz curto ou narinas antevertidas, hipoplasia malar, boca de carpa, queixo pequeno, nariz bulboso, má oclusão. A análise citogenética revelou cariótipo feminino 46,XX. A análise citogenética molecular (FISH) utilizando a sonda da LIVE® não detectou a deleção 7q11.23. A análise molecular por exoma detectou a mutação NM_000165.5:c.1126C>T (p.Arg376Trp) no gene *GJAI*.