



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

ANA JULIA DA CUNHA LEITE D'ÁVILA

Investigação genômica em pacientes com deficiência intelectual ou  
atraso global do desenvolvimento assistidos na rede pública de saúde  
do Estado de Goiás

GOIÂNIA  
©2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

## **TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES**

### **E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

#### **1. Identificação do material bibliográfico**

[ ] Dissertação      [x ] Tese

#### **2. Nome completo do autor**

Ana Julia da Cunha Leite D'Ávila

#### **3. Título do trabalho**

Investigação genômica em pacientes com deficiência intelectual ou atraso global do desenvolvimento assistidos na rede pública de saúde do Estado de Goiás

#### **4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)**

Concorda com a liberação total do documento [ ] SIM      [ x ] NÃO<sup>1</sup>

**[1]** Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

**a)** consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

**b)** novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por **Aparecido Divino da Cruz, Usuário Externo**, em 09/03/2022, às 08:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **ANA JULIA DA CUNHA LEITE DAVILA, Discente**, em 10/03/2022, às 09:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2731589** e o código CRC **6BDF251A**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

### 1. Identificação do material bibliográfico

☐ Dissertação      ☒ Tese

### 2. Nome completo do autor

Ana Julia da Cunha Leite D'Ávila

### 3. Título do trabalho

Investigação genômica em pacientes com deficiência intelectual ou atraso global do desenvolvimento assistidos na rede pública de saúde do Estado de Goiás

### 4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM      ☐ NÃO<sup>1</sup>

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
  - b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
- O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por **ANA JULIA DA CUNHA LEITE DAVILA, Discente**, em 18/04/2022, às 14:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Aparecido Divino da Cruz, Usuário Externo**, em 18/04/2022, às 19:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2840232** e o código CRC **C31018EA**.

---

**Referência:** Processo nº 23070.009227/2022-14

SEI nº 2840232

ANA JULIA DA CUNHA LEITE D'ÁVILA

Investigação genômica em pacientes com deficiência intelectual ou atraso global do desenvolvimento assistidos na rede pública de saúde do Estado de Goiás

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Goiás (UFG), como requisito para obtenção do título de Doutora em Genética e Biologia Molecular.  
Área de concentração: Genética e Biologia Molecular

**Orientador:** Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz  
**Co-Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lysa Bernardes Minasi

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do  
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

D'Ávila, Ana Julia da Cunha Leite

Investigação genômica em pacientes com deficiência intelectual ou  
atraso global do desenvolvimento assistidos na rede pública de  
saúde do Estado de Goiás [manuscrito] / Ana Julia da Cunha Leite  
D'Ávila. - 2022.

59 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz; co-orientadora  
Dra. Lysa Bernardes Minasi.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de  
Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Genética e  
Biologia Molecular, Goiânia, 2022.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Taxa de diagnóstico. 2. Sequenciamento. 3. CMA. I. Cruz,  
Aparecido Divino da, orient. II. Título.

CDU 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**ATA DE DEFESA DE TESE**

Ata Nº 35 da sessão de Defesa de Tese de **Ana Julia da Cunha Leite D'Ávila** que confere o título de Doutor(a) em **Genética e Biologia Molecular**, na área de concentração em **Genética e Biologia Molecular**.

Ao/s **vinte e um dias do mês de fevereiro de 2022**, a partir da(s) **16h00**, por videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada "**Investigação genômica em pacientes com deficiência intelectual ou atraso global do desenvolvimento assistidos na rede pública de saúde do Estado de Goiás**". Os trabalhos foram instalados pelo(a) Orientador(a), Professor(a) Doutor(a) **Aparecido Divino da Cruz (PUC-GO)** com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor(a) Doutor(a) **Daniela de Melo e Silva (ICB/UFG)**, membro titular interno; Professor(a) Doutor(a) **Claudio Carlos da Silva (PUC-GO)**, membro titular externo; Professor(a) Doutor(a) **Thais Cidália Vieira Gigonzac (PUC-GO)**, membro titular externo; Professor(a) Doutor(a) **Emília Oliveira Alves Costa (PUC-GO)**, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido(a) o(a) candidato(a) **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo(a) Professor(a) Doutor(a) **Aparecido Divino da Cruz**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, ao(s) **vinte e um dias do mês de fevereiro de 2022**.

**TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA**



Documento assinado eletronicamente por **Thais Cidália Vieira Gigonzac, Usuário Externo**, em 03/03/2022, às 17:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Emília Oliveira Alves Costa, Usuário Externo**, em 03/03/2022, às 17:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Aparecido Divino da Cruz, Usuário Externo**, em 03/03/2022, às 18:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cláudio Carlos da Silva, Usuário Externo**, em 03/03/2022, às 22:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

eletrônica

2020.



Documento assinado eletronicamente por **Daniela De Melo E Silva, Professor do Magistério Superior**, em 04/03/2022, às 14:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2732760** e o código CRC **16909DA0**.

Referência: Processo nº 23070.009227/2022-14

SEI nº 2732760

*Dedico essa tese à minha mãe, Aparecida.  
Ao meu grande amor e parceiro de vida, Mateus.  
E aos meus queridos pacientes.*

## Agradecimentos

Primeiramente a *Deus*, por ser luz em meu caminho. Por me guiar nos momentos difíceis e por me conduzir ao seu propósito.

Ao Prof. *Aparecido D. da Cruz (Peixoto)* meu querido orientador, por sua amizade, pelo seu incentivo, por toda dedicação e por sempre ter uma palavra amiga e um abraço carinhoso quando precisamos.

À minha querida co-orientadora e amiga *Profa. Lysa Bernades Minasi*, pela sua amizade, confiança e apoio em todos os momentos. Dividir minha vida acadêmica e pessoal com você faz com que a jornada seja mais leve.

Aos queridos *pacientes e suas famílias* que colaboraram voluntariamente e dividiram suas histórias comigo e com os colaboradores desse estudo, meu muito obrigado.

À *Dra. Irene Plaza Pinto* por seu apoio na realização da CMA e pelo auxílio na análise e interpretação dos dados e, principalmente, pelos momentos nos quais dividimos a bancada e compartilhamos bons momentos. A sua amizade, incentivo e dedicação durante esses anos me fizeram uma estudante e profissional melhor.

Aos meus colegas de doutorado, *Lorraynne Guimarães, Samara Socorro, Calebe B. Campos, e Marina Machado*. Obrigada por dividirem as alegrias e tristezas da vida acadêmica por todos esses anos.

À toda *Equipe do Núcleo de Pesquisas Replicon*, que direta ou indiretamente fazem parte do sucesso desse trabalho.

Ao meu amor, *Mateus D'Ávila Carvalho*, meu maior incentivador e meu parceiro. A sua ajuda, conselhos e apoio durante esses anos foram meu ponto de equilíbrio. Você é meu lar. Contar com seu abraço no final do dia me dá coragem para sempre seguir em frente.

À minha querida mãe *Aparecida Maria da Cunha*, você é luz na minha vida. Seu amor me impulsiona a ser mais forte e sempre ir na direção certa.

À toda *minha família*, por todo apoio e amor. Muito do que sou, devo a vocês.

À toda equipe do *Genome Diagnostics Laboratory at the Radboud University Medical Center*, pela realização e análise do WES, em especial à *Dra. Nicole De Leew*.

Aos *Professores* do Programa de Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal de Goiás pelos seus conhecimentos compartilhados.

À *CAPES, FAPEG e CNPq* pela bolsa de estudos e fomento à pesquisa, que garantiram a conclusão do curso e a consecução deste estudo.

## SUMARIO

### RESUMO

### ABSTRACT

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO GERAL.....                                                                       | 5  |
| 1.1 Definição e Prevalência da Deficiência Intelectual e Atraso Global do Desenvolvimento..... | 5  |
| 1.2 Classificação e Etiologia da DI/AGD.....                                                   | 7  |
| 1.3 Testes Genéticos Recomendados Para DI/AGD.....                                             | 10 |
| 2. JUSTIFICATIVA.....                                                                          | 16 |
| 3. OBJETIVOS.....                                                                              | 17 |
| 3.1 Objetivo Geral.....                                                                        | 17 |
| 3.2 Objetivos Específicos.....                                                                 | 17 |
| 4. RESULTADOS.....                                                                             | 18 |
| 4.1 Manuscrito.....                                                                            | 18 |
| Introduction.....                                                                              | 21 |
| Materials and Methods.....                                                                     | 22 |
| Results.....                                                                                   | 25 |
| Discussion and Conclusion.....                                                                 | 28 |
| Acknowledgments.....                                                                           | 32 |
| References.....                                                                                | 34 |
| Supporting Information.....                                                                    | 40 |
| 4.2 Proposta de Fluxograma para a Atendimento de Pacientes com DI/AGD/ACM.....                 | 44 |
| 5. CONCLUSÃO.....                                                                              | 45 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....                                                                  | 46 |
| 7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....                                                               | 47 |
| 8. APÊNDICE.....                                                                               | 54 |
| 8.1 Apêndice 1 - TCLE dos Pais.....                                                            | 54 |
| 8.2 Apêndice 2 - TCLE dos Filhos.....                                                          | 56 |
| 9. ANEXO.....                                                                                  | 58 |
| 9.1 Anexo 1 – Aceite do Comitê de ética e pesquisa - PUC Goiás.....                            | 58 |
| 9.2 Anexo 2 – Lista dos genes analisados .....                                                 | 59 |

## **LISTA DE FIGURAS**

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>FIGURA 1:</b> Porcentagem de pessoas com DI por regiões brasileiras e a distribuição das pessoas acometidas por DI pelo sexo..... | 7  |
| <b>FIGURA 2:</b> Proposta de fluxograma de atendimento para pacientes com DI/AGD afim de identificar a etiologia genética da DI..... | 44 |

## **LISTA DE QUADROS**

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>QUADRO 1:</b> Principais comparações entre as metodologias de diagnóstico genômico..... | 15 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## RESUMO

A Deficiência Intelectual (DI) é uma condição clínica complexa e heterogênea que afeta cerca de 1 a 3% de crianças e adolescentes em todo o mundo, e que pode ser causada por uma variedade de fatores ambientais e/ou genéticos. Há uma diversidade de variantes genéticas humanas já identificadas para a DI, desde variantes pequenas a variantes estruturais maiores que afetam milhares a milhões de nucleotídeos. O cariótipo por bandeamento GTG e a análise cromossômica por microarray (CMA) são frequentemente usados para identificar as causas genéticas da DI, especialmente, nos casos em que a avaliação clínica indica a forma sindrômica da DI. O uso de tecnologias de sequenciamento de nova geração para o diagnóstico genético da DI, permitiu ampliar a detecção de novas mutações e novos genes associados a DI. O objetivo desse estudo foi realizar o sequenciamento total de exoma com análise por painéis de genes para deficiência intelectual, em pacientes que apresentaram cariótipo sem alterações estruturais e ou numéricas e não apresentaram variações no número de cópias (CNVS) patogênicas na CMA. Foi avaliado no estudo uma coorte retrospectiva com 369 pacientes de ambos os sexos com indicação clínica de DI e/ou atraso global do desenvolvimento. Foram coletadas amostras de sangue periférico para a realização das análises citogenéticas e do sequenciamento genético. O bandeamento GTG foi realizado para todos os pacientes seguindo o protocolo padrão. A CMA foi realizada para os pacientes que não apresentaram alterações estruturais e/ou numéricas no cariótipo. O DNA genômico foi isolado dos pacientes e de seus pais biológicos afim de determinar origem das CNVs encontradas. Os casos que não receberam diagnóstico após a realização do cariótipo e CMA, foram encaminhados para o sequenciamento de exoma com análise por painel de genes para deficiência intelectual que englobava 1.252 genes. Com o cariótipo foi possível a identificação de alterações cromossômicas em 34,7% (128/369) dos pacientes. A CMA foi realizada em 83 pacientes que apresentaram resultados sem alteração no cariótipo (46,XX ou 46,XY) apresentando uma taxa de diagnóstico de 21,7% (18/83). O sequenciamento de exoma para genes alvo foi realizado em 19 trios de famílias que apresentaram resultados negativos nas metodologias anteriores. A análise do painel de genes em dados do exoma, identificou mutações em 63,1% (12/19) dos casos, dos quais 75% (9/12) eram variantes patogênicas, 8,3% (1/12) provavelmente patogênica e em 16,7% (2/2) VUS. Do total das variantes identificadas, 75% (9/12) eram mutações *de novo* e 25% (3/12) apresentavam mutações herdadas de pais saudáveis. As variantes mais prevalentes foram mutações do tipo *missense* (66,7%) seguidas por mutações do tipo *nonsense* 16,7%), *frameshift* (8,3%) e CNV

de perda (8,3%). Com as três metodologias aplicadas foi possível identificar as causas genéticas da DI em 42,3% (156/369) dos pacientes. Em conclusão, nossos resultados mostram diferentes metodologias que podem ser usadas para o diagnóstico genético da DI e que o sequenciamento de exoma com análise por painel de genes, fornece uma eficiente estratégia de diagnóstico quando combinada com rastreamento clínico e laboratorial.

**Palavras-Chaves:** Taxa de diagnóstico. Sequenciamento. CMA.

## ABSTRACT

Intellectual Disability (ID) is a complex and heterogeneous clinical condition that affects about 1 to 3% of children and adolescents worldwide, and that can be caused by a variety of environmental and/or genetic factors. There are a variety of human genetic variants already identified for ID, from small variants to larger structural variants that affect thousands to millions of nucleotides. GTG banding karyotyping and microarray chromosome analysis (CMA) are often used to identify the genetic causes of ID, especially in cases Where the clinical evaluation indicates the syndromic form of ID. The use of next generation sequencing technologies for the diagnosis of ID has made it possible to expand the detection of new mutations and new genes associated with ID. The aim of this study was to perform total exome sequencing with gene panel analysis for intellectual disability, in patients who presented karyotype without structural and/or numerical alterations and did not present pathogenic copy number variations (CNVs) in the CMA. A retrospective cohort of 369 patients of both sexes with clinical indications of DI and/or global developmental delay was evaluated in the study. Peripheral blood samples were collected to perform cytogenetic analysis and gene sequencing. GTG banding was performed for all patients following the standard protocol. CMA was performed for patients who did not present structural and/or numerical alterations in the karyotype. Genomic DNA was isolated from patients and their biological parents in order to determine the origin of the CNVs found. Cases that were not diagnosed after performing the karyotype and CMA were referred for exome sequencing with gene panel analysis for intellectual disability, which encompassed 1,252 genes. With the karyotype, it was possible to identify chromosomal alterations in 34.7% (128/369) of the patients. CMA was performed in 83 patients who had results with no alterations in karyotype (46,XX or 46,XY) with a diagnosis rate of 21.7% (18/83). Exome sequencing for target genes was performed in 19 trios of families that had negative results in previous methodologies. Gene panel analysis of exome data identified mutations in 63.1% (12/19) of cases, of which 75% (9/12) were pathogenic variants, 8.3% (1/12) probably pathogenic and in 16.7% (2/2) VUS. Of the total variants identified, 75% (9/12) were *de novo* mutations and 25% (3/12) had mutations inherited from healthy parents. The most prevalent variants were *missense*-type mutations (66.7%) followed by *nonsense*-type mutations 16.7%), *frameshift* (8.3%) and loss CNV (8.3%). With the three methodologies applied, it was possible to identify the genetic causes of ID in 42.3% (156/369) of the patients. In conclusion, our results show different methodologies that can be used for the genetic

diagnosis of ID and that exome sequencing with gene panel analysis provides an efficient diagnostic strategy when combined with clinical and laboratory screening.

**Keywords:** Yield Diagnostic. Sequencing. CMA.

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

## 1.1. DEFINIÇÃO E PREVALÊNCIA DA DEFICIÊNCIA INTELECTUAL E ATRASO GLOBAL DO DESENVOLVIMENTO

O termo Deficiência Intelectual (DI) surgiu no início do século XXI e sofreu ao longo dos anos influências históricas, médica, jurídica, psicológica, sociológica, antropológica e pedagógica (SOUZA, 2011). Previamente à denominação atual, foram usadas diversas terminologias que atualmente são consideradas pejorativas e que foram gradualmente substituídas pelo termo DI. Estas denominações incluíam: retardado mental, deficiência mental, idiotia, imbecilidade, debilidade mental, dentre outros (BEZERRA *et al.*, 2015).

A Associação Americana de Deficiência Intelectual e de Desenvolvimento – *American Association on Intellectual and Developmental Disabilities* (AAIDD) – define a DI como uma desordem que se inicia antes dos 18 anos de idade e que resulta em limitações nas capacidades mentais gerais, raciocínio, lógica (funcionamento intelectual) e prejuízos nas habilidades sociais, conceituais e atividades diárias (comportamento adaptativo) das pessoas (AAIDD, 2021).

Já para a Organização Mundial de Saúde (OMS), a DI é um sinal típico de transtornos do neurodesenvolvimento que tem origem na infância e persiste por toda a vida. É caracterizada por uma diminuição do funcionamento cognitivo e do comportamento adaptativo levando a incapacidade de adaptação para com as atividades cotidianas (OMS, 2021).

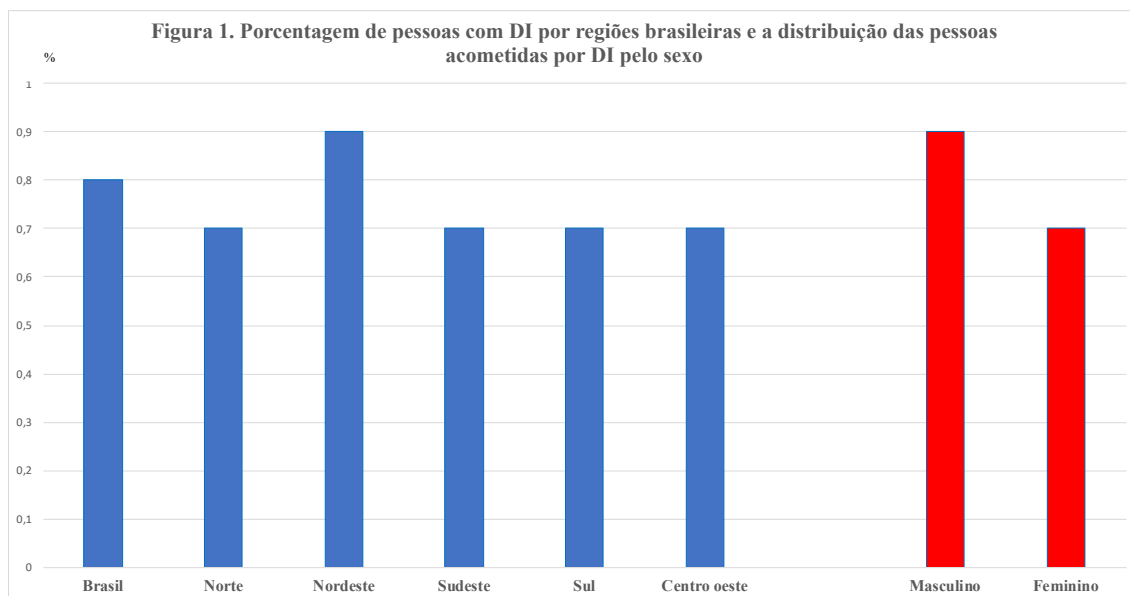
A DI é caracterizada por um escore do Quociente de Inteligência (QI) menor ou igual a 70 e por comprometimento cognitivo (aprendizado e raciocínio) e dificuldades com comportamentos adaptativos (atividades do dia a dia, comunicação) que surgem antes dos 18 anos de idade (KAUFMAN; AYUB; VINCENT, 2010; VASUDEVAN e SURI., 2017). É considerada uma desordem crônica que pode ocorrer com outros transtornos do neurodesenvolvimento, como por exemplo autismo, déficit de atenção e hiperatividade, depressão e, frequentemente, pode estar associada como parte de síndromes de malformações que afeta outros órgãos e funções (CHIURAZZI e PIROZZI., 2016).

As primeiras indicações da DI podem ocorrer na primeira infância. Porém, o diagnóstico clínico só é possível acima dos 5 anos de idade, quando os testes de QI podem ser aplicados e os resultados avaliados de forma confiável (STOJANOVIC *et al.*, 2020).

Antes dos 5 anos de idade, quando se tem um atraso significativo em 2 ou mais domínios (cognitivo, motor, linguagem e comunicação, social e emocional), o termo clinicamente adequado é Atraso Global do Desenvolvimento (AGD) (BROWN *et al.*, 2020). Embora os atrasos nos pacientes com AGD possam ser transitórios, acredita-se que dois terços das crianças confirmariam o diagnóstico de DI após os 5 anos de idade (PURUGGANAN, 2018).

Em todo o mundo cerca de 1 a 3 % das crianças e adolescentes são afetadas pela deficiência intelectual cujas causas podem ser ambientais, genéticas e/ou multifatoriais (PREIKŠAITIENĖ *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2019; BRUEL *et al.*, 2020). A DI possui uma alta prevalência em países de baixa renda o que pode ser explicado por uma saúde pública precária e dependendo da cultura, um maior índice de consanguinidade parental, desnutrição materna e pré-natal inadequado (CARNEIRO, 2016; CHIURAZZI e PIROZZI, 2020). Estima-se uma prevalência maior de DI em homens. A proporção de homens para mulheres com a DI é de 2:1 e o risco de recorrência para uma família que possui uma criança com deficiência intelectual grave é estimado entre 3% e 9% (MCKENZIE *et al.*, 2016; PATEL *et al.*, 2018).

No Brasil, segundo dados do IBGE, em uma releitura do censo de 2010, 12,7 milhões de brasileiros possuem algum tipo de deficiência (visual, auditiva, intelectual e motora). A DI tem uma prevalência de 0,8% na população em geral, sendo que 0,5% possui a DI desde o nascimento e os outros 0,3% adquiriu a DI devido a outros tipos de doenças ou por acidente. A proporção de homens afetados foi maior que a de mulheres sendo de 0,9% e 0,7%, respectivamente. Na região Centro-Oeste do Brasil, 0,7% da população apresentava DI pelo censo de 2010 (PNS/IBGE, 2013; Brasil, 2019). A proporção de DI por regiões do território nacional pode ser observada na Figura 1.



**Fonte:** Adaptado do IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, PNS, 2013.

## 1.2. CLASSIFICAÇÃO E ETIOLOGIA DA DI/AGD

A quinta edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) é um sistema criado para classificar e diagnosticar os transtornos mentais, que define a DI por déficits intelectuais caracterizados por um QI abaixo de 70 e por déficits adaptativos que causam prejuízo as habilidades sociais e cotidianas e que ambos tenham início durante o período de desenvolvimento (até os 18 anos de idade). Com base no comportamento adaptativo, o DSM-5 classifica a DI em: leve, moderada, grave e profunda (APA., 2014; QUACH *et al.*, 2020).

O teste de QI é usado para medir o funcionamento intelectual e seus resultados são usados como um dos critérios de diagnóstico e avaliação de indivíduos com DI no mundo inteiro. O escore é obtido através de testes que avaliam as capacidades cognitivas do indivíduo comparadas ao seu grupo etário (BARETTO, 2015). Este teste fornece um valor numérico que permite categorizar o indivíduo baseado na média da população geral (100) (BULAYEVA *et al.*, 2015). Baseado nos testes de QI, a DI pode ser dividida em leve (55-70), moderada (40 – 55), grave (25 – 40) e profunda (<25). Porém, para estudos epidemiológicos se usa uma divisão mais simples: DI leve com um QI variando de 50 a 70 e DI severa com o QI <50, sendo deficiência intelectual leve a mais prevalente, acometendo cerca de 75% dos indivíduos reconhecidos por terem DI (CHIURAZZI e PIROZZI, 2016, PATEL *et al.*, 2018).

Em alguns casos, não é possível realizar a avaliação da gravidade da deficiência intelectual por testes padronizados. Nesses casos, então, o diagnóstico é realizado com base em análises e achados clínicos. Nos casos quando não se consegue determinar a gravidade ou esta pode evoluir ao longo do tempo, o diagnóstico clínico da DI é feito sem especificar o grau da gravidade (PATEL *et al.*, 2018).

Clinicamente, a DI pode ser classificada como *sindrômica* quando o paciente apresenta outras manifestações clínicas além da DI (características *dismórficas*, *neurológicas* ou *sistêmicas*) e *DI não sindrômica* quando não há presença de outros sinais clínicos (CARNEIRO, 2016; IBARLUZEA *et al.*, 2020). Apesar das suas diferenças clínicas, as DI *sindrômica* e *não sindrômica* compartilham características *neurológicas* comuns como: *autismo*, *epilepsia*, *transtorno de déficit de atenção e hiperatividade* e *anomalias comportamentais* (AGHA *et al.*, 2014; POWIS e OLIVER, 2014).

A DI é uma condição clínica complexa e heterogênea e que pode ser causada por fatores *genéticos*, *ambientais* ou *multifatoriais* (REDIN *et al.*, 2014). As causas ambientais podem incluir complicações ao nascimento como *asfixia perinatal*, *hipóxia*, *traumas* e *problemas sociais* que afetam o complexo *materno-fetal* como o consumo abusivo de *álcool*, *tabaco*, de *drogas lícitas* e *ilícitas*, *desnutrição materna* etc. (PURI, TUTEJA e VERMA, 2016). Alguns outros fatores como *infecções congênicas* e *doenças infecciosas*, incluindo *meningite*, *sarampo*, *rubéola*, *toxoplasmose* e *citomegalovírus*, podem prejudicar o desenvolvimento intelectual resultando em DI (ARMATAS, 2009; KARAM *et al.*, 2015). Recentemente, *infecções congênicas* causadas pelo *Zica vírus* têm sido associadas com casos de *microcefalia* e outras *anormalidades cerebrais* em recém-nascidos, que provavelmente podem levar a DI (PURUGGANAN, 2018).

A *deficiência intelectual leve* normalmente está relacionada com causas *multifatoriais* associadas a fatores ambientais externos como o *nível de educação materna*, *acesso à educação* e à *saúde básica*, podendo resultar em *déficits intelectuais* e *adaptativos* (TOMAC *et al.*, 2017; MELO, 2018). Já a *DI grave*, sugerem-se que a grande maioria dos casos estão associados as causas *genéticas* como *doenças monogênicas* ou *anomalias cromossômicas* (MILLER *et al.*, 2010; RODRÍGUEZ-REVENGA *et al.*, 2013; ROSENBERG *et al.*, 2006).

As causas *genéticas* da DI podem incluir alterações *cromossômicas microscópicas* ou *submicroscópicas*, *CNVs – copy numbers variants* – e *mutações gênicas* (HAN *et al.*, 2018; ASPROMONTE *et al.*, 2019; DELUCA *et al.*, 2020). As *anomalias cromossômicas numéricas* ou *estruturais* respondem por cerca de 12% a 15% dos casos de DI, sendo a

Síndrome de Down (OMIM190685) a mais comum. Síndromes causadas por microdeleções como Síndrome de Prader-Willi (OMIM176270) – deleção paterna em 15q11.2, Síndrome de Angelman (OMIM105830) – deleção materna em 15q11.2, Síndrome de Williams-Beuren (OMIM194050) – deleção 7q11.2, Síndrome DiGeorge ou da deleção de 22q (OMIM188400) – deleção em 22q11 e Síndrome de Smith-Magenis (OMIM182290) – deleção em 17p11.2 – respondem por 5% dos casos de DI (PURI *et al.*, 2016). Já alterações monogênicas podem ser responsáveis por cerca de 10% dos indivíduos com DI, destacando nesse grupo a Síndrome do X Frágil (OMIM300624), que é responsável por cerca de 5% desses casos (MELO *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019).

Alterações cromossômicas e mutações em genes já associados à DI podem explicar o distúrbio na metade dos pacientes e as anormalidades cromossômicas e disrupções gênicas contribuem para as diferentes formas de DI colaborando para a sua diversidade fenotípica (NAJMABADI *et al.*, 2011), sugerindo que muito desses genes distribuídos pelos cromossomos tem a sua função ligada ao desenvolvimento cerebral e/ou funções neurológicas (YAMAMOTO *et al.*, 2019).

O diagnóstico genético da DI se iniciou com a descoberta do cromossomo 21 extra na Síndrome de Down (SD) e um cromossomo X marcador para a Síndrome do X-Frágil (VISSERS *et al.*, 2016). A Síndrome de Down é a causa mais comum da deficiência intelectual, causada por uma alteração cromossômica numérica na qual se observa microscopicamente o cromossomo 21 em trissomia. Em 95% dos casos, a SD é causada pela trissomia livre do cromossomo 21, em 4% a 5% dos casos por translocações não balanceadas envolvendo o cromossomo 21 e outro cromossomo, geralmente o cromossomo 14, e em cerca de 1% é atribuído a casos de mosaicismo. A prevalência da SD é influenciada pela idade materna na concepção e ocorre em 1 em 800 nascimentos em todo o mundo. No Brasil, estima-se que a cada 700 nascimentos 1 é portador da Síndrome de Down totalizando em torno de 270 mil pessoas com a síndrome no país (PURUGGANAN., 2018; ANTONARAKIS *et al.*, 2020; BULL., 2020; FBASD., 2021).

A Síndrome do X-Frágil é a causa mais comum de deficiência intelectual masculina transmitida maternalmente, que se manifesta como uma condição dominante com expressividade variável e penetrância incompleta. É responsável por cerca de 0,5% a 1,2% dos casos de DI e afeta cerca de 1:5.000 mil homens (VISSERS *et al.*, 2016). Causada por uma expansão da repetição de uma sequência de trinucleotídeos CGG na região promotora do gene *FMRI- Fragile X-linked Mental Retardation Type 1*. Quando a expansão de trinucleotídeos ultrapassa 200 repetições CGG a proteína FMRP deixa de

ser produzida nas células. Apesar da sua incidência ser mais comum em homens, pode ser diagnosticada em mulheres de forma mais branda (PURI *et al.*, 2016; PURUGGANAN., 2018; BUENO *et al.*, 2019; TEJADA *et al.*, 2020).

A deficiência intelectual ligada ao X é uma desordem fenotipicamente e geneticamente heterogênea, que ocorre predominantemente em homens, podendo ser classificada em síndrômica ou não síndrômica (MUTHUSAMY *et al.*, 2017; SCHWARTZ e BOCCUTO., 2016). Devido à alta prevalência de DI em pacientes do sexo masculino, por muito tempo o cromossomo X esteve associado à DI, resultando na identificação de >150 genes ligados a DI nesse cromossomo (CHIURAZZI e PIROZZI., 2020; DELUCA *et al.*, 2020). Essas pesquisas também revelaram que somente cerca de 10-12% da DI nos homens afetados é devido a alterações no cromossomo X, enquanto os demais casos podem ser causados por defeitos genéticos nos cromossomos autossômicos e igualmente devido a efeitos ambientais adversos (HARRIPAUL *et al.*, 2017).

A DI autossômica dominante é causada por mutações heterozigóticas, ou seja, quando um indivíduo é portador de um alelo mutante e um alelo normal em um determinado gene (ILYAS *et al.*, 2020). Em sua grande maioria, as mutações heterozigóticas podem ser explicadas por mutações *de novo*, as quais respondem por cerca de 55% dos casos de DI grave (VISSERS *et al.*, 2016; STOJANOVIC *et al.*, 2020).

A DI autossômica recessiva inclui um grupo de doenças geneticamente heterogêneas que podem ocorrer de forma síndrômica ou não síndrômica e estima-se a existência de cerca de 400 genes relacionados à DI autossômica recessiva. Acredita-se que essa quantidade de genes é subestimada e há necessidade de mais pesquisas voltadas para DI recessiva a fim de compreender a fisiopatologia e a patogenicidade envolvida nessas condições (REUTER *et al.*, 2017; ILYAS *et al.*, 2020). Variantes autossômicas recessivas tem importância na etiologia da DI pois podem permanecer ocultas na população na forma heterozigótica. Estima-se que em 13% - 24% dos casos de DI, mesmo em populações não consanguíneas, são devidos a causas autossômicas recessivas (HARRIPAUL *et al.*, 2018).

### **1.3. TESTES GENÉTICOS RECOMENDADOS PARA DI/AGD**

Os pacientes com atraso global de desenvolvimento ou DI, Transtorno do Espectro Autista (TEA) e anomalias congênitas múltiplas (ACM) tem uma alta prevalência na

população mundial. Um diagnóstico etiológico definitivo é de grande importância pois pode-se melhorar a eficácia do tratamento e a qualidade de vida dos afetados, um melhor controle dos sintomas e atenção as complicações já conhecidas. Além de oportunizar o aconselhamento genético adequado para a família. As novas tecnologias possibilitaram a identificação de novos genes relacionados com a DI/AGD, resultando em um aumento na taxa de rendimento diagnóstico dos testes genéticos fazendo com que mais de 800 genes sejam reconhecidos por estarem envolvidos na patogênese das DI sindrômica e não sindrômica (LIAO *et al.*, 2019).

A citogenética por bandeamento GTG, por mais de 35 anos, foi o padrão ouro na detecção de anomalias cromossômicas em pacientes com DI/AGD. A análise por bandeamento GTG era realizada em todos os casos que apresentam dimorfismos faciais ou características fenotípicas de alguma desordem cromossômica permitindo a detecção de alterações cromossômicas numéricas e/ou estruturais com uma resolução maior que 5 a 10 Mb. O cariótipo possui uma taxa de diagnóstico em torno de 3% a 15% dos casos de DI ou AGD. Devido à sua capacidade de resolução, o cariótipo não é útil na detecção de microdeleções e microduplicações frequentemente envolvidas com a etiologia da DI e do AGD (PURI *et al.*, 2016; REIS, 2017; WANG *et al.*, 2019).

Mais de 80% das alterações cromossômicas encontradas na DI são submicroscópicas e não detectadas pelo cariótipo. O desenvolvimento de novas técnicas como a CMA – *Chromosomal Microarray Analysis* – representou uma integração entre as técnicas de cariótipo por bandeamento GTG e técnicas moleculares. A CMA foi recomendada como teste de diagnóstico de primeira escolha para pacientes com DI, AGD, TEA e/ou ACM devido a sua capacidade em detectar variação no número de cópias (ESPECHE *et al.*, 2020; KIM *et al.*, 2019; PFUNDT *et al.*, 2017; SANSOVIĆ *et al.*, 2017).

CNVs detectadas na CMA são pequenos segmentos de DNA presentes no genoma com tamanhos que variam de 50pb a até megabases e podem ocorrer por meio de deleções ou duplicações segmentais e serem herdadas ou *de novo* (BASS e SKUSE, 2018; DHARMADHIKARI *et al.*, 2019; ILYAS *et al.*, 2020; PFUNDT *et al.*, 2017). A importância clínica das CNVs é determinada por padrões de herança, tamanho da CNV encontrada, a quantidade de genes deletados ou duplicados, consequência funcional da interrupção do gene e a presença da CNV em bancos de dados de populações saudáveis (WOLFE *et al.*, 2017).

As CNVs são classificadas de acordo com os consensos propostos por Miller *et al.* (2010), Battaglia *et al.* (2013), pelas diretrizes do Colégio Americano de Genética Médica (ACMG) – *American College of Medical Genetics* (KEARNEY *et al.*, 2011) e pelas diretrizes Europeias para análise citogenômica constitucional (SILVA *et al.*, 2019), atualizadas por Riggs *et al.* (2020). No geral, são classificadas como patogênicas, provavelmente patogênicas, variantes de significado clínico incerto (VUS – *Variant of Uncertain Significance*), provavelmente benignas e benignas (RAMOS-FUENTES *et al.*, 2020).

A taxa de diagnóstico do CMA varia entre 10% a 20% dos casos de DI/AGD (KAMATH *et al.*, 2020). Pereira *et al.* (2014) realizaram CMA para 15 trios de famílias com indicação clínica de DI/AGD no Brasil Central. Uma triagem inicial com cariótipo foi realizada e não foram detectadas alterações numéricas ou estruturais e com a CMA identificaram CNVs patogênicas em 22% dos casos sendo possível identificar a etiologia da DI nesses pacientes. Já Chaves *et al.* (2019), estudando 420 pacientes com DI/AGD no Sul do Brasil, identificou 96 CNVs patogênicas em 18% dos indivíduos.

Apesar da alta taxa de diagnóstico para DI, a CMA possui algumas limitações como a incapacidade em detectar translocações balanceadas, mutações pontuais, variações de único nucleotídeo (SNVs), que também contribuem para a manifestação da DI e do AGD (RAMOS-FUENTES *et al.*, 2020; MALINOWSKI *et al.*, 2020).

Com o advento das tecnologias de Sequenciamento de Nova Geração – *Next generation sequencing* (NGS) – foi possível analisar um grande número de genes ou até mesmo todo o genoma em menos tempo e com um custo reduzido por corrida. O uso do NGS na prática clínica facilita a compreensão dos mecanismos da doença e permite estabelecer diagnósticos moleculares e descobrir novos genes causativos de doenças raras (BRUEL *et al.*, 2020; HAN e LEE., 2020; MAHLER *et al.*, 2019).

Com o uso do sequenciamento de nova geração a identificação de genes e mutações quem levam à DI cresceu bastante nos últimos anos e a introdução do sequenciamento do exoma na prática clínica tem ajudado a identificar mutações autossômicas *de novo* em 15% a 55% dos pacientes com DI e mutações bialélicas relacionadas com DI autossômica recessiva em 25% dos casos (HARRIPAUL *et al.*, 2017).

Atualmente as três metodologias de NGS mais usadas no diagnóstico da DI são: Sequenciamento Total do Genoma – *Whole Genome Sequencing* (WGS),

Sequenciamento Total do Exoma – *Whole Exome Sequencing* (WES) e Sequenciamento por painel de genes ou sequenciamento direcionado - *Targeted gene panels* (TGP).

WGS tem a capacidade de sequenciar todo o genoma e identificar variantes raras nas regiões entre os genes. Sua prática é mais comum em pesquisas ou em pacientes que já foram triados por outras metodologias de sequenciamento. O uso dessa tecnologia permite encontrar todas as formas de variações genômicas e é útil na descoberta de novos genes causativos de doenças (BASS e SKUSE, 2018). Alguns estudos relatam a identificação de variantes potencialmente patogênicas em até 60% dos casos de DI grave/profunda (GILISSEN *et al.*, 2014; HAN e LEE, 2020).

O WES sequencia a porção codificadora das proteínas denominada de éxons, correspondente a ~1% a 2% do genoma. WES frequentemente é indicado aos pacientes que apresentam fenótipos complexos sem indicativo de síndromes conhecidas, já tiveram um diagnóstico negativo para doenças monogênicas ou anomalias cromossômicas e ausência de CNVs, se tornando útil na identificação de novas síndromes genéticas (RICHARDSON, 2020). As vantagens do WES é justamente o fato de sequenciar todo o exoma em uma única corrida o que permite a análise e interpretação de mutações em novos genes e a possibilidade de reinterpretação conforme novas associações genéticas são definidas. O foco em apenas uma pequena fração do genoma reduz os custos e diminui a quantidade de dados gerados, quando se compara com o WGS, diminuindo assim, a chance de achados incidentais (KUPERBERG *et al.*, 2016; LADUCA *et al.*, 2017).

O TGP é a possibilidade de combinar uma indicação clínica a um gene candidato, colaborando com o entendimento das correlações genótipo-fenótipo associadas a cada gene (BRUEL *et al.*, 2020). A aplicação do TGP na pesquisa e para o diagnóstico de doenças clínicas permite a descoberta de variantes raras que ocorrem em baixa frequência alélica e a identificação de mutações gênicas semelhantes e compartilhadas em um grupo de indivíduos que apresentam o fenótipo da DI (TOPPER, OBER e DAS, 2011). Além do mais, o foco em um conjunto de genes previamente conhecidos aumenta a sensibilidade e especificidade analítica (HAN e LEE, 2020).

Os painéis de genes específicos para a DI contêm centenas de genes já previamente relacionados à DI e o tamanho desses painéis são regulados pela incidência de mutações em genes específicos entre pacientes de uma coorte e a diversidade clínica do grupo testado, além da infraestrutura de bioinformática e a experiência clínica do centro de diagnóstico (BRUEL *et al.*, 2020; CHIURAZZI e PIROZZI, 2020).

As variantes genéticas podem ser classificadas baseadas nas diretrizes criadas entre as associações profissionais holandesa e inglesa - Associação de Diagnóstico Laboratorial de Genética Clínica (VKGL) – *Association of Clinical Genetic Laboratory Diagnostics* e Associação para Ciência Genética Clínica (ACGS) - *Association for Clinical Genetic Science*. Essas variantes são classificadas em cinco classes: claramente não patogênica, improvável de ser patogênica, significado clínico incerto (VUS), provavelmente patogênica e claramente patogênica (WALLIS *et al.*, 2013). Já o Colégio Americano de Genética Médica recomenda a classificação das variantes em patogênica, provavelmente patogênica, significado clínico incerto, provavelmente benigna e benigna (RICHARDS *et al.*, 2015).

O Sequenciamento Total do Exoma ou painel de genes possui um rendimento diagnóstico maior que o da CMA em torno de 25% a 40% dos casos (BORLOT *et al.*, 2019). O estudo piloto de Mahler *et al.* (2019) com 50 crianças com suspeita de doenças neurológicas inespecíficas na infância, realizou o WES e obteve uma taxa de diagnóstico de 42% (21/50). Sequenciamento de exoma em trios (pai, mãe e filho) é de importância para a identificação dos modos de herança bem como mutações novas. Estima-se a taxa de diagnóstico do WES em trio entre 13-35% para crianças com DI grave (PEKELES *et al.*, 2019; HARIPAUL *et al.*, 2017).

Diversos estudos têm demonstrado uma taxa de diagnóstico para sequenciamento de painel de genes variando entre 21% a 55% como o estudo de PEKELES *et al.* (2019) no qual realizou o TGP em quatro painéis diferentes, em uma coorte de 48 pacientes e obteve uma taxa de diagnóstico de 21%. O estudo de Anazi *et al.* (2017) realizou o TGP em 226 indivíduos com DI e obteve uma taxa de diagnóstico de 45%. Stojanovic *et al.* (2020) realizando o TGP em 88 crianças com DI/AGD moderada ou grave com ou sem anomalias congênitas múltiplas, teve um rendimento diagnóstico de 55%. Sugerindo que as taxas de diagnóstico do TGP são bem próximas as do WES.

Devido a heterogeneidade clínica da DI, a determinação da etiologia genética da DI é de grande importância para o indivíduo com a condição e para toda a família. Além da possibilidade de identificar as causas genéticas dessa condição, o diagnóstico precoce auxilia na previsão do prognóstico, na antecipação de comorbidades e permite um aconselhamento genético mais específico e estimativa de risco de recorrência para os pais e outros membros da família (HAN e LEE, 2020; PEKELES *et al.*, 2019).

Para um melhor entendimento das tecnologias de diagnóstico para DI, apresentamos no quadro 1, as comparações entre as metodologias citadas acima.

**Quadro 1:** Comparações entre as metodologias de diagnóstico genômico.

| Metodologia                                                                   | Cobertura / Resolução                                                                                                               | Vantagem                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Limitações                                                                                                                                                                                                                                                                | Taxa de diagnóstico |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>Cariótipo</b>                                                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Alterações cromossômicas (&gt;5 – 10 MB);</li> <li>- Aneuploidias cromossômicas</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Baixo custo;</li> <li>- Amplamente utilizado;</li> <li>- Detecta grandes alterações estruturais e numéricas cromossômicas.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Necessita de células viáveis e de cultura celular;</li> <li>- Baixa resolução;</li> <li>- Não detecta microdeleções/microduplicações.</li> </ul>                                                                                 | 3% - 15%            |
| <b>CMA</b>                                                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Alterações com &gt;50pb</li> </ul>                                                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Resolução &gt; 100x maior que o cariótipo;</li> <li>- Detecta CNVs de perda ou ganho de material genético.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Não detecta alterações balanceadas e mutações pontuais;</li> <li>- Baixa detecção de mosaicismo;</li> <li>- Possibilidade de detectar <u>VUs</u>.</li> </ul>                                                                     | 10% – 20%           |
| <b>Sequenciamento por painel de genes ou Sequenciamento direcionado (TGP)</b> | Genes de interesse                                                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Possui maior profundidade de cobertura nas regiões de interesse;</li> <li>- Custo reduzido quando comparado com o Sequenciamento de exoma ou genoma;</li> <li>- Menor risco de achados incidentais.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Não identifica novos genes associados a um fenótipo;</li> <li>- Com a descoberta de novos genes para a mesma condição, os painéis ficam desatualizados;</li> <li>- Análise genética restrita as regiões selecionadas.</li> </ul> | 21% a 55%           |
| <b>Sequenciamento Total do Exoma (WES)</b>                                    | Exons e regiões intrônicas flangeadoras de todos os genes                                                                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Abrange toda a região codificadora;</li> <li>- Possibilidade de identificar novos genes associados a um fenótipo.</li> <li>- Identifica SNVs, Indels, variantes estruturais e CNVs em regiões codificadoras;</li> <li>- Menor custo quando comparado com o WGS;</li> <li>- Maior número de amostras analisadas por corrida;</li> <li>- Menor quantidade de variantes genéticas identificadas e menor quantidade de dados gerados.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menor cobertura quando comparado com o sequenciamento direcionado;</li> <li>- Possibilidade de identificar achados incidentais;</li> <li>- Analisa somente a região codificadora do genoma.</li> </ul>                           | 25% – 40%           |
| <b>Sequenciamento Total do Genoma (WGS)</b>                                   | Toda as regiões codificantes e não codificantes no genoma humano                                                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Possui melhor cobertura, quando comparado ao Sequenciamento de Exoma;</li> <li>- Abrange regiões não codificantes do genoma.</li> <li>- Identifica SNVs, indels, variantes estruturais e CNVs em regiões codificantes e não codificantes.</li> </ul>                                                                                                                                                                                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Alto custo, quando comparado as outras técnicas de NGS;</li> <li>- Maior possibilidade de identificar achados incidentais;</li> <li>- Maior dificuldade na interpretação dos dados.</li> </ul>                                   | ~60%                |

**Fonte:** Weise *et al.*, 2019; Narayanan *et al.*, 2020; Lalonde *et al.*, 202

## 2. JUSTIFICATIVA

A DI é um transtorno do neurodesenvolvimento que afeta cerca de 1% a 3% de crianças e adolescentes em todo o mundo (BRUEL *et al.*, 2020). É uma condição clínica complexa e heterogênea que pode ser causada por fatores ambientais, genéticos ou multifatorial (PREIKŠAITIENĖ *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2019).

Devido a sua condição clínica e a diversidade fenotípica, cerca de 50% dos pacientes com DI permanecem sem um diagnóstico etiológico (BRUEL *et al.*, 2020). O uso de técnicas como o cariótipo por bandeamento GTG e CMA conseguem diagnosticar cerca de 15% e 20% dos casos de DI, respectivamente (PURI *et al.*, 2016; KAMATH *et al.*, 2020).

Com o uso do sequenciamento de nova geração houve um aumento na identificação de genes e mutações que causam a DI (HARRIPAUL *et al.*, 2017). O uso do sequenciamento de exoma com análise por painéis de genes específicos para a DI é uma possibilidade da adequação da metodologia de investigação para o diagnóstico de crianças afetadas, contribuindo para uma melhor compreensão das causas genéticas da DI possibilitando a elucidação dessa doença multifatorial e o aumento do rendimento diagnóstico.

Adicionalmente, a identificação da etiologia da DI oportunizará o aconselhamento genético adequado e um planejamento mais apropriado, gerando melhorias na saúde geral e na qualidade de vida do paciente e das famílias afetadas.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral:**

Realizar o sequenciamento completo de exoma com análise por painel de genes para deficiência intelectual em pacientes com indicação clínica de deficiência intelectual (DI) e ou atraso global do desenvolvimento, de ambos os sexos, oriundos da rede pública de saúde do Estado de Goiás que apresentaram cariótipo sem alteração estrutural e/ou numérica e não apresentaram CNVs patogênicas na CMA.

#### **3.2 Objetivos específicos:**

- Realizar a triagem dos casos negativos após a realização dos testes de cariótipo e CMA;
- Identificar mutações pontuais ou SNVs nos pacientes com DI/AGD;
- Classificar a patogenicidade das variantes genômicas identificadas;
- Identificar a taxa de diagnóstico do sequenciamento completo de exoma por painéis de genes específicos;
- Propor um fluxograma de atendimento incluindo ferramentas tecnológicas e metodológicas atualizadas ao Sistema Único de Saúde (SUS) para a elucidação diagnóstica da DI/AGD.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 MANUSCRITO

O manuscrito foi submetido à Revista PlosOne.

PONE-D-21-36396

Diagnostic yield of patients with undiagnosed intellectual disability using karyotype, microarray analysis, whole exome sequencing from Central Brazil  
PLOS ONE

Dear Dr. Minasi,

Thank you for submitting your manuscript entitled 'Diagnostic yield of patients with undiagnosed intellectual disability using karyotype, microarray analysis, whole exome sequencing from Central Brazil' to PLOS ONE. Your assigned manuscript number is PONE-D-21-36396.

We will now begin processing your manuscript and may contact you if we require any further information. You will receive an update once your manuscript passes our in-house technical check; you can also check the status of your manuscript by logging into your account at <https://www.editorialmanager.com/pone/>.

If during submission you selected the option for your manuscript to be posted on the bioRxiv preprint server (<http://biorxiv.org>), we will be assessing the manuscript for suitability shortly. If suitable, your preprint will be made publicly available on bioRxiv and you will receive an email confirmation from them when it has posted. Please check your response to this question and email us as soon as possible at [plosone@plos.org](mailto:plosone@plos.org) if it has been answered incorrectly. Further information about our partnership with bioRxiv to facilitate the rapid availability of life sciences research is available at <http://journals.plos.org/plosone/s/preprints>.

If you have any inquiries or other comments regarding this manuscript please contact [plosone@plos.org](mailto:plosone@plos.org).

Thank you for your support of PLOS ONE.

Kind regards,  
PLOS ONE

**Diagnostic yield of patients with undiagnosed intellectual disability,  
global developmental delay and multiples congenital anomalies using  
karyotype, microarray analysis, whole exome sequencing from Central  
Brazil**

**The genome diagnostic yield in patients with undiagnosed ID, GDD  
and MCA from Central Brazil**

Ana Julia da C. Leite<sup>1,2</sup>, Irene P. Pinto<sup>2</sup>, Nico Leijsten<sup>4</sup>, Martina H. A. Ruiterkamp-Versteeg<sup>4</sup>, Rolph Pfundt<sup>4</sup>, Nicole de Leeuw<sup>4</sup>, Aparecido D. da Cruz<sup>1,2,3</sup>, Lysa B. Minasi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Genetics and Molecular Biology Graduate Program, Federal University of Goiás, Goiânia, GO. Brazil.

<sup>2</sup> Replicon Research Group, Master Program in Genetics, School of Medical and Life Science, Pontifical Catholic University of Goiás, Goiânia, Goiás. Brazil.

<sup>3</sup> Human Cytogenetics and Molecular Genetics Laboratory, State Health Secretary of Goiás, Pontifical Catholic University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil.

<sup>4</sup> Radboud University Medical Center, Department of Human Genetics, University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen. Netherlands.

\*Corresponding author

Email: [minasilb@gmail.com](mailto:minasilb@gmail.com) (LBM)

## Abstract

Intellectual Disability (ID) is a neurodevelopmental disorder that affects approximately 3% of children and adolescents worldwide. It is a heterogeneous and multifactorial clinical condition. Several methodologies have been used to identify the genetic causes of ID and in recent years new generation sequencing techniques, such as exome sequencing, have enabled an increase in the detection of new pathogenic variants and new genes associated with ID. The aim of this study was to evaluate exome sequencing with analysis of the ID gene panel as a tool to increase the diagnostic yield of patients with ID/GDD/MCA in Central Brazil, together with karyotype and CMA tests. A retrospective cohort study was carried out with 369 patients encompassing both sexes. Karyotype analysis was performed for all patients. CMA was performed for patients who did not present structural and or numerical alterations in the karyotype. Cases that were not diagnosed after performing karyotyping and CMA were referred for exome sequencing using a gene panel for ID that included 1,252 genes. The karyotype identified chromosomal alterations in 34.7% (128/369). CMA was performed in 83 patients who had normal karyotype results resulting in a diagnostic yield of 21.7% (18/83). Exome sequencing with analysis of the ID gene panel was performed in 19 trios of families that had negative results with previous methodologies. With the ID gene panel analysis, we identified mutations in 63.1% (12/19) of the cases of which 75% (9/12) were pathogenic variants, 8.3% (1/12) likely pathogenic and in 16.7% (2/12) it concerned a Variant of Uncertain Significance. With the three methodologies applied, it was possible to identify the genetic cause of ID in 42.3% (156/369) of the patients. In conclusion, our studies show the different methodologies that can be useful in diagnosing ID/GDD/MCA and that whole exome sequencing followed by gene panel analysis, when combined with clinical and laboratory screening, is an efficient diagnostic strategy.

## Introduction

Intellectual Disability (ID) is a complex, heterogeneous and multifactorial neurodevelopmental disorder characterized by cognitive impairment and difficulties in adaptive behaviour. ID can occur in isolation or associated with other clinical conditions beginning before the age of 18. The worldwide prevalence of children and adolescents with ID is estimated at around 3% [1,2]. The genetic etiology of ID may include chromosomal abnormalities, submicroscopic chromosomal rearrangements, copy number variations (CNVs), and gene mutations. To date, a myriad of mutations in more than 1,000 genes have been associated with ID phenotypes [1,3, 4].

Several technologies have been used in an attempt to identify the genetic causes of ID. For many years, the karyotype has been the gold standard for detecting numerical and/or structural chromosomal alterations with  $\geq 5$ –10Mb in size. Chromosome Microarray Analysis (CMA) has become the first-tier clinical test to detect CNVs in patients with ID, global developmental delay (GDD), autism spectrum disorder (ASD), and Multiple Congenital Anomalies (MCA). However, despite of all available technologies, around 50% of cases remain undiagnosed [5-7].

Next Generation Sequencing (NGS) has been shown to be efficient in revealing new gene mutations and discrete genomic variations thereby increasing the genetic diagnostic yield of ID. NGS has become a powerful tool to aid in the elucidation of the genetic etiology of ID in a wide range of clinical applications and scenarios [8]. When used in pediatric populations with neurodevelopmental disorders, exome sequencing provides a molecular diagnostic yield of nearly 25% and has been progressively applied for molecular diagnosis in clinical settings [6]. Additionally, WES can be indicated for patients with genetic disorders and unspecific clinical characteristics and multiple genetic conditions, allowing less time “on the odyssey” in search of a definitive diagnosis [9,10].

The putatively positive effect of different technical strategies for the genetic diagnosis in a Brazilian ID cohort would provide a new perspective of diagnosis that could lead to the inclusion of these technologies in the protocols of the Brazilian Public Health System, which is responsible for regulating the use of genetic testing nationwide. Herein, we report the results of a study designed to evaluate the WES with analysis of the ID gene panel as a tool to increase the diagnostic yield of ID in a cohort of patients from Central Brazil with Intellectual Disability/Global Developmental Delay/Multiple Congenital Anomalies in addition to G-band Karyotyping and CMA approaches.

## **Materials and Methods**

### **Sampling**

This is a retrospective cross-sectional study, from 2013 to 2017, which included a representative subset of a population composed by 369 patients with ID, GDD with or without MCA. The patients included in the study were physically examined and clinically diagnosed with ID, GDD or MCA by assistant physicians from the state public health service of Goiás. Subsequently, were referred to Replicon Research Group and the Laboratory of Human Cytogenetic and Molecular Genetics for karyotyping and CMA testing. The efficient screening of patients by the attending physicians and by the team of geneticists of the laboratories increased the number of patients assisted by our laboratory. In addition, our laboratory is the only public genetic services from Goiás, so most patients who need to undergo diagnostic genetic tests are referred to us.

Subsequently, a subset of cases with uneventful karyotype and CMA results were sent to the Genome Diagnostics Laboratory at the Radboud University Medical Center in Nijmegen, the Netherlands to be further tested by WES using an ID gene panel. The study

was approved by the Research Ethics Committee from PUC Goiás, Brazil, under protocol code number 3.205.591. The patients' parents voluntarily signed an informed consent form approved by the local Ethics Committee. The study was performed under the guidelines of the Declaration of Helsinki.

In the current study, a loss of follow-up for a subset of patients was observed over time, especially among those with a normal karyotype and CMA. We tried to recontact those families to explain about the risks and benefits of genetic testing. However, contacting was unsuccessful for a group of patients, mostly due to changes in the family's telephone number, residency address, death of the child, and / or death of a biological parent. Moreover, some families simply declined the invitation to participate in the current study and refused to sign an informed consent. So, they were excluded from the cohort undergoing gene testing with a panel especially designed for ID, GDD with or without MCA.

## **Karyotyping and Chromosomal Microarray Analysis**

Peripheral blood samples were used for cytogenetic analyses. GTG banding at 550 bands was performed for all patients following standardized procedures, and chromosome analyses were done using the IKAROS® software (Metasystems Corporation, Altussheim, Germany).

Genomic DNA was isolated from the peripheral blood samples using Illustra Blood Genomic Prep Mini Spin Kit (GE Healthcare Life Sciences, Piscataway, New Jersey, USA), following the manufacturer's instructions. The CMA was carried out on patients whose karyotype showed no numerical and structural alterations. CMA was also performed in the biological parents of all cases in order to establish the origin of rearrangements. In the current study, the GeneChip® CytoScanHD™ array

(ThermoFisher Scientific, USA) was the array of choice due to its excellent coverage of the human genome with 1.9 million non-polymorphic probes combined with 750,000 SNP probes. CMAS was carried out according to the manufacturer's recommendations. Chromosomal analyses were performed using the Chromosome Analysis Suite 3.0 (ChAS®) software (ThermoFisher Scientific, USA) based on the genome reference hg19/GRCh37, using a filter with 50 markers for gains and 25 markers for losses both with size  $\geq 100$  kb. CNVs were classified according to their nature, based on previously published international consensus and guidelines [11-14].

For both technologies the results were reported according to the International System for Human Cytogenomic Nomenclature [15].

## **Whole Exome Sequencing (WES) followed by Target Gene Panel analysis**

The target gene panel (TGP) analysis was performed on cases who had not received a diagnosis from either karyotype or CMA and their biological parents. Isolated DNA samples were sent for exome sequencing followed by TGP analysis according to De Ligt and colleagues [16]. The intellectual disability gene panel encompassing 1,252 genes (version DG-2.16) available at Diagnostics Nijmegen Laboratory and based on the last genome build reference available (hg19/GRCh37) and exome wide CNV analysis. Preparation and enrichment of genomic DNA were done using Agilent SureSelectXT Human All Exon 50Mb kit. Exome sequencing was performed on the HiSeq 2500 System platform (Illumina, USA), providing 20x coverage of  $> 94\%$  of targeted bases. The variants found were classified according to the Association of Clinical Genetic

Laboratory Diagnostics (VKGL) and Association for Clinical Genetic Science (ACGS) [17].

## Results

The cohort of 369 patients comprised 52.6% (194/369) females and 47.4% (175/369) males with ID/GDD with or without MCA. Of these, 93.2% (344/369) were under the age of 18 years old, while 6.8% (25/369) were  $\geq 18$  years old. The Figure 1 shows the testing workflow and the number of patients in the study.

GTG banding karyotypes of 34.7% (128/369) patients showed structural and/or numerical alterations, of which the vast majority, 81.2% (104/128), were diagnosed with Down Syndrome. The remainder 65.3% (241/369) of cases showed no visible aberration in their karyotypes.

After initial karyotype screening, CMA was not performed in 42.8% (158/369) of the patients due to loss of follow-up in the cohort. Therefore, CMA was performed in 83 patients with no visible alterations in their karyotype. The reports included pathogenic CNVs in 21.7% (18/83) patients, 10.8% (9/83) of patients presented likely pathogenic CNVs, 21.7% (18/83) of patients exhibited variant of uncertain significance (VUS) CNVs, and 45.8% (38/83) of patients showed no detectable alterations in the CMA (S1 Table).

The TGP analysis on exome data was performed in 50% (19/38) patients without a diagnosis from either GTG-banding or CMA and their biological parents. This was not possible for the other half of the patients due to loss of follow-up. We identified variants in an intellectual disability gene in 63.1% (12/19) of patients. The variants correspond to 75% (9/12) pathogenic variants, 8.3% (1/12) likely pathogenic variant and 16.7% (2/12)

VUS. Of the total of variants identified, 75% (9/12) were *de novo* variants and 25% (3/12) presented inherited variants from an unaffected carrier parent. The most prevalent variants were *missense* variants (66.7%), followed by *nonsense* variants (16.7%), a *frameshift* variant (8.3%), and a copy number loss (8.3%) (Table 1).

The diagnostic yields achieved for the three different tests were 34.7% (128/369), 21.7% (18/83), and 52.6% (10/19) for karyotype, CMA, and WES, respectively. To reach a diagnosis, for CMA only pathogenic variants we considered, while for WES, pathogenic and likely pathogenic variants were considered. In the current study, combining a clinical screening and three different genomic methodologies, we obtained an overall diagnostic rate of 42.3% (156/369) for the ID/GDD/MCA cases.

Table 1. Summary of the molecular results of cases with ID/GDD/MCA investigated with a target gene panel exome sequencing

| Case | Sex | Gene           | Genomic position                                                                                                                    | Inheritance | Mutation type       | Origin                         | Zygosity     | Classification of variants | Syndrome                                                                          | #OMIM  |
|------|-----|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------|--------------------------------|--------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 001  | F   | <i>MECP2</i>   | ChrX(GRCh37):g.153296082_153296116del;<br>NM_004992.3:c.1163_1197del; p.(Pro388fs)                                                  | X-linked    | Frameshift          | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Rett Syndrome                                                                     | 312750 |
| 002  | F   | <i>DDX3X</i>   | ChrX(GRCh37):g.41202509T>G; NM_001193416.2:c.584T>G;<br>p.(Ile195Ser)                                                               | X-linked    | Missense            | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Intellectual developmental disorder, X-linked, syndrome                           | 300958 |
| 003  | M   | —              | Negative*                                                                                                                           | —           | —                   | —                              | —            | —                          | —                                                                                 | —      |
| 004  | M   | —              | Negative*                                                                                                                           | —           | —                   | —                              | —            | —                          | —                                                                                 | —      |
| 005  | M   | <i>TRAPPC9</i> | Chr8(GRCh37):g.140744221C>T; NM_031466.6:c.3573+1G>A (r.spl.?)<br>Chr8(GRCh37):g.141285764del; NM_031466.6:c.2565del (p.(Thr856fs)) | AR          | Nonsense            | Inherited Pat<br>Inherited Mat | Heterozygous | Likely pathogenic          | Mental retardation, autosomal recessive 13; MRT13                                 | 613192 |
| 006  | F   | <i>SOS1</i>    | Chr2(GRCh37):g.39249914C>T; NM_005633.3:c.1655G>A (p.Arg552Lys))                                                                    | AD          | Missense            | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Noonan Syndrome 4                                                                 | 610733 |
| 007  | M   | <i>DNMT3A</i>  | seq[GRCh37] del(2)(p23.2p23.2)dn<br>Chr2:g.(25387621_25457148) (25462167-25462322)del                                               | AD          | CNV<br>partial Loss | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Tatton-Brown–Rahman Syndrome                                                      | 615879 |
| 008  | F   | —              | Negative*                                                                                                                           | —           | —                   | —                              | —            | —                          | —                                                                                 | —      |
| 009  | M   | <i>NALCN</i>   | Chr13(GRCh37):g.101881844A>G; NM_001350748.1:c.1526T>C<br>(p.(Leu509Ser))                                                           | AD          | Missense            | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Congenital contractures of the limbs and face, hypotonia, and developmental delay | 616266 |
| 010  | M   | <i>PTPN1</i>   | Chr12(GRCh37):g.112915455T>C; NM_002834.4; c.854T>C;<br>p.(Phe285Ser)                                                               | AD          | Missense            | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Noonan Syndrome - 1                                                               | 163950 |
| 011  | F   | —              | Negative*                                                                                                                           | —           | —                   | —                              | —            | —                          | —                                                                                 | —      |
| 012  | M   | <i>MED12</i>   | ChrX(GRCh37):g.70348547A>G; NM_005120.2:c.3454A>G<br>(p.(Ile1152Val))                                                               | X-linked    | Missense            | Inherited Mat                  | Hemizygous   | VUS                        | **                                                                                | —      |
| 013  | M   | —              | Negative*                                                                                                                           | —           | —                   | —                              | —            | —                          | —                                                                                 | —      |
| 014  | F   | —              | Negative*                                                                                                                           | —           | —                   | —                              | —            | —                          | —                                                                                 | —      |
| 015  | F   | <i>PPP1CB</i>  | Chr2(GRCh37):g.28999810C>G; NM_206876.1:c.146C>G; p.Pro49Arg                                                                        | AD          | Missense            | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Noonan syndrome-like disorder with loose anagen hair 2                            | 617506 |
| 016  | M   | <i>SYT1</i>    | Chr12(GRCh37):g.79842738T>C; NM_001135805.1:c.1103T>C<br>(p.(Ile368Thr))                                                            | AD          | Missense            | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Baker-Gordon Syndrome                                                             | 618218 |
| 017  | F   | <i>SYNGAP1</i> | Chr6(GRCh37):g.33409095C>T; NM_006772.2:c.2059C>T (p.(Arg687*))                                                                     | AD          | Nonsense            | <i>de novo</i>                 | Heterozygous | Pathogenic                 | Mental retardation, autosomal dominant 5; MRD5                                    | 612621 |
| 018  | F   | —              | Negative*                                                                                                                           | —           | —                   | —                              | —            | —                          | —                                                                                 | —      |
| 019  | M   | <i>FLNA</i>    | ChrX(GRCh37):g.153581453T>G; NM_001456.3:c.6118A>C;<br>p.(Ser2040Arg)                                                               | X-linked    | Missense            | Inherited Mat                  | Hemizygous   | VUS                        | **                                                                                | —      |

—=not applicable; AR=autosomal recessive; AD=autosomal dominant; CNV=copy number variation; Mat=maternal; Pat=paternal; VUS=variant of uncertain significance. \* Negative means that no mutation was found using gene panel exome sequencing. \*\*At present, no syndrome has yet been associated with the identified variant.

## Discussion

In our cohort of 369 patients with ID/GDD/MCA, karyotyping was efficient to identify numerical and/or structural alterations in nearly 1:3 patients. This high diagnostic rate observed in our cohort could be due to the effective clinical triage of our ID patients and the fact that prenatal diagnoses is rarely done throughout the public health system in Brazil. Moreover, Down Syndrome (DS) was the most prevalent aneuploidy in our cohorts, consistent with several other previous observations that DS is responsible for the largest proportion of chromosomal findings reported by the karyotype [18], which has also been the leading cause of this phenotypic trait among children [19-21].

Despite its limited resolution, the G-banded karyotype has been the gold standard for detecting genetic rearrangements in patients with ID/GDD for over 35 years [22]. GTG banding is considered the first-tier test performed in individuals who present with craniofacial dysmorphisms or syndromic features and families who have a history of chromosomal disorders or recurrent miscarriages [23]. Regardless of this methodology being continuously used in patients with ID/GDD, our results showed a significant percentage (65.3%) of patients without numerical and/or structural aberrations, indicating the limited usefulness of this methodology, especially because of the heterogeneous aetiology of ID/GDD, which depends on populational variations, disease classification and the availability of diagnostic facilities. Nevertheless, as pointed out by Sadek and Mohamed [18], the G-banded karyotyping remains a useful tool with ID/GD with or without dysmorphic traits, especially in countries with limited resources and unequal access to the public service providers.

Since 2010, the CMA has been considered the first-tier clinical diagnostic approach for individuals with idiopathic ID/GDD, ASD, and / or MCA due to its capacity to detect CNVs across the genome with ten times greater resolution and higher diagnostic yield than GTG banding [11, 22,24]. In the current study, CMA alone yielded a proper diagnosis for

approximately 1:5 children with ID/GDD/MCA, which has been in accordance to previous studies [11, 22, 25, 26].

However, in 67.4% of patients, we could not determine the genomic alterations that could explain patients' ID/GDD/MCA. Considering this, we aimed for NGS technologies as they have been reported useful in clinical practices and provide a substantial opportunity to improve the diagnosis in ID/GDD [27].

The TGP analysis using exome sequencing data was performed in 19 trios after no karyotype and CMA alterations were found. The ID gene panel lead to a diagnostic yield of 52.6%, where twelve affected individuals have pathogenic, likely pathogenic, and uncertain clinical significance variants in the following genes: *DDX3X*, *DNMT3A*, *FLNA*, *MECP2*, *MED12*, *NALCN*, *PPP1CB*, *PTPN11*, *SOS1*, *SYNGAP1*, *SYT1*, and *TRAPPC9*. Based on our findings, we associated these mutations with the patient's phenotypes, and the approach demonstrated itself as a powerful method to enhance the diagnostic yield of cases harboring traits of ID/GDD.

It is important to note the high heterogeneity found in our cohort, where each case presented a (likely) pathogenic variant in a different gene, resulting in 12 different mutated genes. We also observed a high rate of *de novo* mutations among pathogenic variants, corresponding to 75% (9/12) of the cases, corroborating previously reports that a significant number of mutations in ID/GDD patients are *de novo* events [1, 24, 28-31].

Furthermore, 25% of individuals were males with autosomal recessive or X-linked variants inherited from an unaffected carrier parent. Two male patients had a maternally inherited variant, one patient with a *MED12* gene variant, and another a variant in the *FLNA* gene. Variants in the *MED12* gene have been described as associated with X-linked disorders such as Opitz-Kaveggia Syndrome [OMIM #305450], Lujan-Fryns Syndrome [OMIM #309520], and Ohdo Syndrome, X-linked [OMIM #300895] [32]. The *MED12* gene-specific

variant found in our patient has not been reported before in the literature nor in the Genome Aggregation Database (GnomAD) (<http://gnomad.broadinstitute.org>) and in the Database of Genomic Variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (DECIPHER). Also, the pathogenicity and clinical relevance of this variant are as yet unclear. Pathogenic variants in the *FLNA* gene [OMIM \*300017] are associated with numerous syndromes with broadly variable clinical features. Thus, it is unclear whether this variant found in our patient is pathogenic. Segregation analysis in maternal family members for both patients' families would help to further determine the pathogenicity and clinical relevance of these variants.

In another male patient born to non-consanguineous parents we identified a homozygous pathogenic variant in the *TRAPPC19* gene inherited from both his mother and father who are heterozygous for this variant. This pathogenic variant has already been described as causative for mental retardation, autosomal recessive 13 [OMIM #613192].

Moreover, additional interesting finding was an interstitial heterozygous loss of ~5Kb in 2p23.2 that was not identified by CMA approach because of its small size. This deletion results in the loss of the last four exons of the *DNMT3A* gene. A similar partial deletion involving the last three exons was described by Hamdan and colleagues [33]. Together, these results shed light about the importance to report variants that have not been reported before and the attention for small copy number variants that can cause haploinsufficiency.

Using the intellectual disability gene panel on exome data, with great sensitivity and specificity, allowed us genotype-phenotype correlations for different genes related to ID/GDD/MCA. However, the genetic diagnostic was not reached for 36.8% of patients in our study. From them, whole genome or whole exome sequencing could be the next step, despite the possibility of failing to arrive at the genomic diagnosis due to the complexity and heterogeneity of ID/GDD/MCA.

Several cohorts have been described the diagnostic yield of target exome sequencing in individuals with ID ranging from 21% - 55.7%. Pেকেles and colleagues [30] conducted a study with a cohort of 48 patients using four different panels and obtained a diagnostic rate of 21%. Yamamoto and colleagues [34] with a cohort of 133 patients obtained a diagnosis rate of 29.3%. In a study with 4.813 genes and 106 patients, Gieldon and colleagues [35] reports a diagnostic rate of 34%. Stojanovic and colleagues [36] in their study with 88 children with moderate to severe ID / GDD obtained a diagnostic rate of 55.7% using a panel with 4.813 genes. Other studies based on WES or WGS suggest a diagnostic rate ranging between 8% to 60% depending on the selection criteria [37]. According to Martínez and colleagues [38], the similar diagnostic yield between target gene panel and WES/WGS would make these methodologies equivalent from the diagnostic point of view.

Overall, due to combination of clinical and methodological screening for ID, we had a diagnostic rate of 42.3% (156/369) with a net yield of 96.3% (185/192) as for those who agreed to perform the three genetic tests only 7 cases remained undiagnosed. Our study highlights the limitation of the Brazilian Public Health System, especially in the scenario of intellectual diseases. Many patients do not receive their molecular diagnosis due to the loss of follow-up or even a lack of unified medical records. Thus, our results revealed the urgency for a better organization of public health systems to reduce the loss of follow-up in the cohort of people with ID/GDD. We also emphasize that the combined use of GTG karyotyping, CMA, and TGP for the ID/GDD diagnosis was appropriate and cost-effective. However, the limited sample size and patients' loss during the study might weaken our conclusions. Further studies should be conducted with a larger cohort of patients to add strength to the conclusions in order to establish a national protocol for molecular diagnosis of ID/DGG patients in Brazil under the act and policies of the national Unified Health System.

In conclusion, the systematic combination of different methodologies proved useful for the genetic diagnoses of ID/GDD especially in scenarios of public health care where access to the services is limited by lack of equity and funds are scarce. We highlight the TGP proved to be an efficient strategy, with a reasonably high yield of in undiagnosed ID/GDD patients, higher than previous reports [29]. Our results showed that TGP should be considered a second-tier powerful strategy for the diagnosis of cases with ID/GDD after a negative result of CMA and prior to the analysis of whole exome. Moreover, following these steps, besides been cost-effective for developing countries, it would prevent the identification of genes considered medically unactionable especially in countries where decision-analytic policy models aren't fully developed and would minimize the negative ethical impacts and improve patient-provider communication and shared decision making. On the other hand, we accentuate the importance of adequately choosing the target genes for a specific ID/DGG panel because with the advances of sequencing technology new ID/DGG genes are being constantly identified and should be aggregated into the panels. Finally, adequate clinical and laboratory screening, helped not only to elucidate the genetic etiology of ID/GDD/MCA, but also improved familial non-directive genetic counselling in a public health service setting.

## **Acknowledgments**

We are grateful to each patient and their families for taking part in the study. This study received financial support from CNPq (Edital 031/564465/2010-10), FAPEG (2011.6002.19.1847.1134-03), FAPEG (04/2017), and CAPES (07/2018). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. The authors received no specific funding for this work.

## Author Contributions

**Conceptualization:** Ana Julia da C. Leite, Irene P. Pinto, Aparecido D. da Cruz, and Lysa B. Minasi.

**Data curation:** Martina H. A. Ruiterkamp-Versteeg, Nico Leijsten, Rolph Pfundt, and Nicole de Leeuw.

**Formal Analysis:** Ana Julia da C. Leite, Irene P. Pinto, Aparecido D. da Cruz, Lysa B. Minasi, Martina H. A. Ruiterkamp-Versteeg, Nico Leijsten, Rolph Pfundt, and Nicole de Leeuw.

**Investigation:** Ana Julia da C. Leite, Irene P. Pinto, Aparecido D. da Cruz, Lysa B. Minasi, Martina H. A. Ruiterkamp-Versteeg, Nico Leijsten, Rolph Pfundt, and Nicole de Leeuw.

**Methodology:** Ana Julia da C. Leite, Irene P. Pinto, Aparecido D. da Cruz, Lysa B. Minasi, Martina H. A. Ruiterkamp-Versteeg, Nico Leijsten, Rolph Pfundt, and Nicole de Leeuw.

**Supervision:** Lysa B. Minasi.

**Writing – Original Draft Preparation:** Ana Julia da C. Leite.

**Writing – Review & Editing:** Ana Julia da C. Leite, Irene P. Pinto, Aparecido D. da Cruz, Lysa B. Minasi, Martina H. A. Ruiterkamp-Versteeg, Nico Leijsten, Rolph Pfundt, and Nicole de Leeuw.

## References

1. Aspromonte MC, Bellini M, Gasparini A, Carraro M, Bettella E, Polli R, et al. Characterization of intellectual disability and autism comorbidity through gene panel sequencing. *Human mutation*. 2019;40(9):1346–63.
2. Ibarluzea N, Hoz AB de la, Villate O, Llano I, Ocio I, Martí I, et al. Targeted Next-Generation Sequencing in Patients with Suggestive X-Linked Intellectual Disability. *Genes*. 2020;11(1):51.
3. Han JY, Jang JH, Park J, Lee IG. Targeted next-generation sequencing of Korean patients with developmental delay and/or intellectual disability. *Frontiers in Pediatrics*. 2018;6:391.
4. De Luca C, Race V, Keldermans L, Bauters M, Van Esch H. Challenges in molecular diagnosis of X-linked Intellectual disability. *British Medical Bulletin*. 2020;133(1):36–48.
5. Pfundt R, Del Rosario M, Vissers LE, Kwint MP, Janssen IM, De Leeuw N, et al. Detection of clinically relevant copy-number variants by exome sequencing in a large cohort of genetic disorders. *Genetics in Medicine*. 2017;19(6):667–75.
6. Dharmadhikari AV, Ghosh R, Yuan B, Liu P, Dai H, Al Masri S, et al. Copy number variant and runs of homozygosity detection by microarrays enabled more precise molecular diagnoses in 11,020 clinical exome cases. *Genome medicine*. 2019;11(1):30.
7. Ali MA, Hassan AM, Saafan MA, Abdelmagid AA. Additive Diagnostic Yield of Homozygosity Regions Identified During Chromosomal microarray Testing in Children with Developmental Delay, Dysmorphic Features or Congenital Anomalies. *Biochemical Genetics*. 2020;58(1):74–101.
8. Han JY, Lee IG. Genetic tests by next-generation sequencing in children with developmental delay and/or intellectual disability. *Clinical and experimental pediatrics*. 2020;63(6):195.
9. Vrijenhoek T, Middelburg EM, Monroe GR, van Gassen KL, Geenen JW, Hövels AM, et al. Whole-exome sequencing in intellectual disability; cost before and after a diagnosis. *European Journal of Human Genetics*. 2018;26(11):1566–71.

10. Srivastava S, Love-Nichols JA, Dies KA, Ledbetter DH, Martin CL, Chung WK, et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genetics in Medicine*. 2019;21(11):2413–21.
11. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *The American Journal of Human Genetics*. 2010;86(5):749–64.
12. Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genetics in Medicine*. 2011;13(7):680–5.
13. Battaglia A, Doccini V, Bernardini L, Novelli A, Loddo S, Capalbo A, et al. Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features. *European Journal of Paediatric Neurology*. 2013;17(6):589–99.
14. Silva M, de Leeuw N, Mann K, Schuring-Blom H, Morgan S, Giardino D, et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *European Journal of Human Genetics*. 2019;27(1):1–16.
15. Simons, A McGowan-Jordan J, Schmid M. ISCN 2016: an international system for human cytogenetic nomenclature (2016). Karger Medical and Scientific Publishers; 2016.
16. De Ligt J, Willemsen MH, Van Bon BW, Kleefstra T, Yntema HG, Kroes T, et al. Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(20):1921–9.
17. Wallis Y, Payne S, McAnulty C, Bodmer D, Sistermans E, Robertson K, et al. Practice guidelines for the evaluation of pathogenicity and the reporting of sequence variants in clinical

molecular genetics. Association for Clinical Genetic Science and the Dutch Society of Clinical Genetic Laboratory Specialists. 2013.

18. Sadek AA, Mohamed MA. Yield of karyotyping in children with developmental delay and/or dysmorphic features in Sohag University Hospital, Upper Egypt. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2018;19(3), 253-259.

19. Bertelli MO, Munir K, Harris J, Salvador-Carulla L. “Intellectual developmental disorders”: reflections on the international consensus document for redefining “mental retardation-intellectual disability” in ICD-11. *Advances in mental health and intellectual disabilities*. 2016.

20. Kruszka P, Porras AR, Sobering AK, Ikolo FA, La Qua S, Shotelersuk V, et al. Down syndrome in diverse populations. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2017;173(1):42–53.

21. Purugganan O. Intellectual disabilities. 2018.

22. Wang R, Lei T, Fu F, Li R, Jing X, Yang X, et al. Application of chromosome microarray analysis in patients with unexplained developmental delay/intellectual disability in South China. *Pediatrics & Neonatology*. 2019;60(1):35–42.

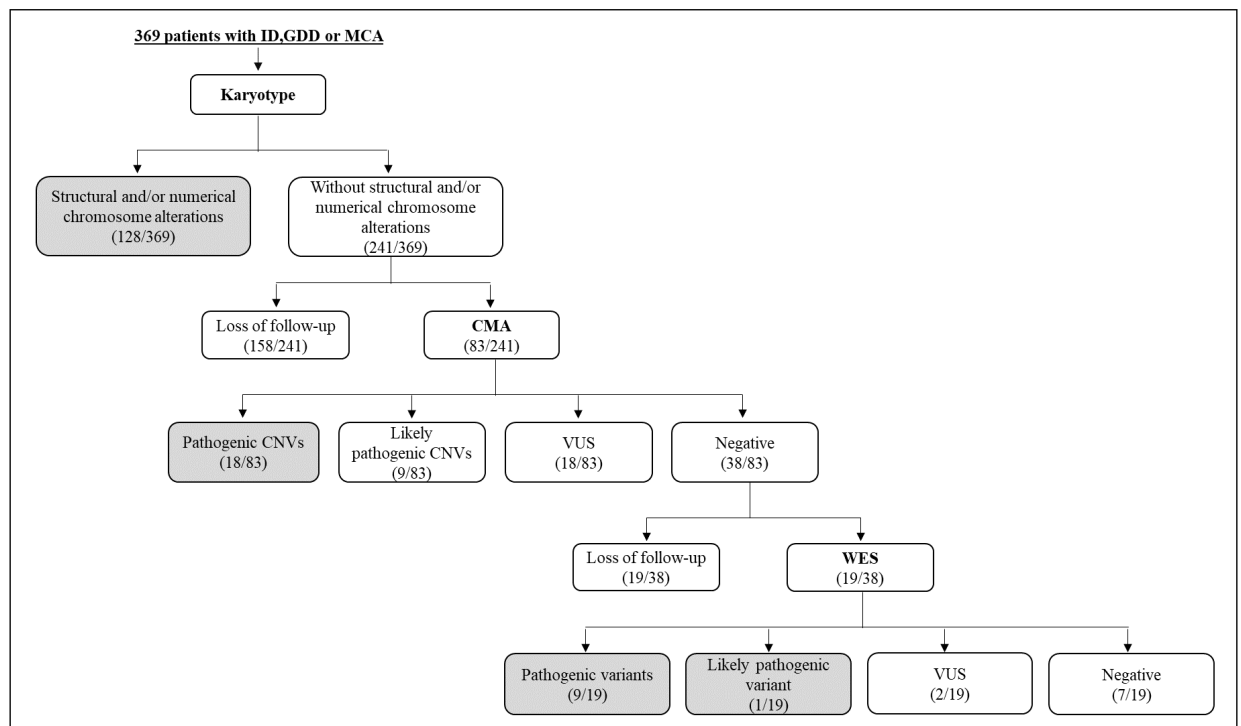
23. Puri RD, Tuteja M, Verma I. Genetic approach to diagnosis of intellectual disability. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2016;83(10):1141–9.

24. Hu T, Zhang Z, Wang J, Li Q, Zhu H, Lai Y, et al. Chromosomal Aberrations in Pediatric Patients with Developmental Delay/Intellectual Disability: A Single-Center Clinical Investigation. *BioMed research international*. 2019;2019.

25. Pereira RR, Pinto IP, Minasi LB, de Melo AV, e Cunha DM da C, Cruz AS, et al. Screening for intellectual disability using high-resolution CMA technology in a retrospective cohort from Central Brazil. *PloS one*. 2014;9(7):e103117.

26. Chaves TF, Baretto N, de Oliveira LF, Ocampos M, Barbato IT, Anselmi M, et al. copy number Variations in a Cohort of 420 Individuals with Neurodevelopmental Disorders From the South of Brazil. *Scientific reports*. 2019;9(1):1–20.
27. Chiurazzi P, Kiani AK, Miertus J, Barati S, Manara E, Paolacci S, et al. Genetic analysis of intellectual disability and autism. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*. 2020;91(Suppl 13).
28. Bowling KM, Thompson ML, Amaral MD, Finnila CR, Hiatt SM, Engel KL, et al. Genomic diagnosis for children with intellectual disability and/or developmental delay. *Genome medicine*. 2017;9(1):43.
29. Borlot F, de Almeida BI, Combe SL, Andrade DM, Filloux FM, Myers KA. Clinical utility of multigene panel testing in adults with epilepsy and intellectual disability. *Epilepsia*. 2019;60(8):1661–9.
30. Pekeles H, Accogli A, Boudrahem-Addour N, Russell L, Parente F, Srour M. Diagnostic yield of intellectual disability gene panels. *Pediatric neurology*. 2019;92:32–6.
31. Benson KA, White M, Allen NM, Byrne S, Carton R, Comerford E, et al. A comparison of genomic diagnostics in adults and children with epilepsy and comorbid intellectual disability. *European Journal of Human Genetics*. 2020;1–12.
32. Rubinato E, Rondeau S, Giuliano F, Kossorotoff M, Parodi M, Gherbi S, et al. MED12 missense mutation in a three-generation family. Clinical characterization of MED12-related disorders and literature review. *European Journal of Medical Genetics*. 2020;63(3):103768.
33. Hamdan FF, Myers CT, Cossette P, Lemay P, Spiegelman D, Laporte AD, et al. High rate of recurrent de novo mutations in developmental and epileptic encephalopathies. *The American Journal of Human Genetics*. 2017;101(5):664–85.
34. Yamamoto T, Imaizumi T, Yamamoto-Shimajima K, Lu Y, Yanagishita T, Shimada S, et al. Genomic backgrounds of Japanese patients with undiagnosed neurodevelopmental disorders. *Brain and Development*. 2019;41(9):776–82.

35. Gieldon L, Mackenroth L, Kahlert A-K, Lemke JR, Porrmann J, Schallner J, et al. Diagnostic value of partial exome sequencing in developmental disorders. *PLoS one*. 2018;13(8):e0201041.
36. Stojanovic JR, Miletic A, Peterlin B, Maver A, Mijovic M, Borlja N, et al. Diagnostic and clinical utility of clinical exome sequencing in children with moderate and severe global developmental delay/intellectual disability. *Journal of child neurology*. 2020;35(2):116–31.
37. Lindstrand A, Eisfeldt J, Pettersson M, Carvalho CM, Kvarnung M, Grigelioniene G, et al. From cytogenetics to cytogenomics: whole-genome sequencing as a first-line test comprehensively captures the diverse spectrum of disease-causing genetic variation underlying intellectual disability. *Genome medicine*. 2019;11(1):68.
38. Martínez F, Caro-Llopis A, Roselló M, Oltra S, Mayo S, Monfort S, et al. High diagnostic yield of syndromic intellectual disability by targeted next-generation sequencing. *Journal of medical genetics*. 2017;54(2):87–92.



**Fig 1.** Diagram of the testing workflow and number of cases in each step for the genetic diagnosis of ID, GDD and MCA from Central Brazil. The highlighted rectangles indicate the total of cases for which diagnoses were reached.

Supplementary table - Clinical and molecular features of patients investigated with CMA.

| Case | Clinical features* | Age (yo) | Sex | CNV  | Size (Mb) | Microarray nomenclature                                | Selected OMIM Morbid Genes**                                                                                                            | Origin        | Interpretation | Syndrome                                | #OMIM  |
|------|--------------------|----------|-----|------|-----------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------|-----------------------------------------|--------|
| 001  | GDD, SS            | 9        | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 002  | GDD                | 11       | M   | Gain | 3.68      | arr[GRCh37] 17p11.2(16,769,800_20,446,820)x3 dn        | <i>COPS3, SMC9, RAI1, SMC5, TOM1L2, LRRC48, ATPAF2, DRG2, MTO15A, ALKBH5, FLII, SMC8, SHMT1, USP32P2, CCDC144B, B9D1, MFAP4, RNF112</i> | de novo       | Pathogenic     | Potocki-Lupski syndrome                 | 610883 |
| 003  | GDD                | 17       | M   | Gain | 0.67      | arr[GRCh37] 7q31.32(122,366,542_123,036,250)x3 pat     | <i>CADPS2</i>                                                                                                                           | Inherited pat | VUS            | ***                                     | ***    |
| 004  | GDD, SS, MS        | 2        | M   | Gain | 0.52      | arr[GRCh37] 12q13.13q13.2(54,462,464_54,980,062)x3 dn  | ***                                                                                                                                     | de novo       | VUS            | ***                                     | ***    |
| 005  | GDD, MS            | 9        | M   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 006  | GDD                | 11       | F   | Loss | 4.18      | arr[GRCh37] Xq27.3q28(144,580,614_148,757,072)x1 dn    | <i>CXorf1/TMEM257, FMRI, TMEM185A, IDS</i>                                                                                              | de novo       | Pathogenic     | Fragile X syndrome                      | 300624 |
| 007  | GDD, MS, MCA       | 4        | F   | Gain | 59.41     | arr[GRCh37] 18q11.1q23(18,608,373_78,014,123)x2-3 dn   | 18q Partial Trisomy                                                                                                                     | de novo       | Pathogenic     | ID/MCA non syndromic                    | ***    |
|      |                    |          |     | Gain | 25.72     | arr[GRCh37] Xp22.33p21.3(168,546_25,887,307)x3 dn      | <i>NLGN4X, AP1S2, NHS, CDKL5, RPS6KA3, MBTPS2, SMS, ARX</i>                                                                             | de novo       | Pathogenic     |                                         |        |
| 008  | GDD, SS            | 25       | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 009  | GDD, MS, ALS       | 10       | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 010  | GDD, MS            | 9        | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 011  | GDD, BD, MS        | 8        | F   | Loss | 10.89     | arr[GRCh37] 1p31.3p31.1(68,693,129_79,580,916)x1 dn    | <i>AK5</i>                                                                                                                              | de novo       | Pathogenic     | ID/MCA non syndromic                    | ***    |
| 012  | GDD                | 6        | M   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 013  | GDD                | 16       | M   | Gain | 1.43      | arr[GRCh37] 7q11.23(72,718,277_74,147,166)x3 dn        | <i>TRIM50, FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, MLXIP, VPS37D, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, CLIP2, GTF2IRD1, GTF2I</i>        | de novo       | Pathogenic     | WBS Duplication syndrome                | 609757 |
| 014  | GDD, SS            | 14       | M   | Gain | 0.34      | arr[GRCh37] 22q11.23q12.1(25,656,237_25,994,326)x3 mat | ***                                                                                                                                     | Inherited mat | LP             | Chromosome 22q11.2 duplication syndrome | 608363 |
| 015  | GDD, MS            | 8        | F   | Gain | 0.14      | arr[GRCh37] Xq28(152,720,466_152,860,955)x3 mat        | <i>ATP2B3</i>                                                                                                                           | Inherited mat | VUS            | ***                                     | ***    |
| 016  | GDD, MS            | 5        | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 017  | GDD                | 8        | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 019  | ALS                | 8        | M   | Gain | 0.12      | arr[GRCh37] Xp22.33(390,150_515,617)x3 dn              | ***                                                                                                                                     | de novo       | VUS            | ***                                     | ***    |
| 020  | ALS                | 6        | M   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                     | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 021  | GDD                | 1        | M   | Gain | 0.36      | arr[GRCh37] Xq28(153,792,708_154,149,474)x2 mat        | <i>DKC1</i>                                                                                                                             | Inherited mat | LP             | Hoyeraal-Hreidarsson Syndrome           | 305000 |

Supplementary table - Clinical and molecular features of patients investigated with CMA. (cont.)

| Case | Clinical features* | Age (yo) | Sex | CNV  | Size (Mb) | Microarray nomenclature                                | Selected OMIM Morbid Genes**                                                                                                                                         | Origin         | Interpretation | Syndrome                               | #OMIM  |
|------|--------------------|----------|-----|------|-----------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------------------------------|--------|
| 022  | GDD                | 12       | F   | Loss | 0.75      | arr[GRCh37] 22q11.21(20,716,902_21,465,662)x1 pat      | <i>ZNF74, SCARF2, MED15, SNAP29, CRKL, LZTR1, SLC7A4</i>                                                                                                             | Inherited pat  | LP             | DiGeorge Syndrome                      | 188400 |
| 023  | SS, GDD, MS, MCA   | 1        | F   | Loss | 3.86      | arr[GRCh37] 4p16.3(68,345_3,926,333)x1 dn              | <i>ZNF141, IDUA, LETM1, WHSC1, NELFA/WHSC2</i>                                                                                                                       | <i>de novo</i> | Pathogenic     | Wolf-Hirschhorn Syndrome               | 194190 |
|      |                    |          |     | Loss | 1.55      | arr[GRCh37] 4p16.3p16.2(4,177,795_5,724,404)x1 dn      | <i>MSX1, STK32B, C4orf6, EVC2, EVC</i>                                                                                                                               | <i>de novo</i> | Pathogenic     |                                        |        |
|      |                    |          |     | Gain | 4.21      | arr[GRCh37] 9p24.3p24.2(203,861_4,416,073)x3 dn        | <i>DOCK8, KANK1, SMARCA2, VLDLR</i>                                                                                                                                  | <i>de novo</i> | Pathogenic     |                                        |        |
| 024  | GDD                | 3        | M   | Loss | 15.35     | arr[GRCh37] 4q34.1q35.2(175,611,686_190,957,473)x1 dn  | <i>GLRA3, TRAPPC11</i>                                                                                                                                               | <i>de novo</i> | VUS            | ***                                    | ***    |
| 025  |                    | 9        | M   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 026  | GDD,MS,MCA         | 6        | F   | Loss | 15.39     | arr[GRCh37] 13q32.3q34(99,712,845_115,107,733)x1 dn    | <i>ZIC2, PCCA, NALCN, FGF14, LIG4, COL4A1, COL4A2, UPF3A</i>                                                                                                         | <i>de novo</i> | Pathogenic     | ID/MCA non syndromic                   | ***    |
| 027  | GDD, ALS           | 23       | M   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 028  | GDD, MS            | 2        | M   | Gain | 0.16      | arr[GRCh37] 8p23.3(1,586,553_1,748,941)x3 mat          | <i>CLN8</i>                                                                                                                                                          | Inherited mat  | VUS            | ***                                    | ***    |
| 029  | GDD                | 4        | F   | Gain | 0.40      | arr[GRCh37] 1q21.1(145,382,123_145,786,290)x3 pat      | <i>RBM8A, PEX11B</i>                                                                                                                                                 | Inherited pat  | LP             | Chromosome 1q21.1 duplication syndrome | 612475 |
| 030  | GDD,MS,MCA         | 11m      | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 031  | GDD                | 1        | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 032  | GDD                | 1        | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 033  | GDD                | 9        | M   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 034  | GDD                | 4        | M   | Loss | 1.59      | arr[GRCh37] 1p32.3(53,894,316_55,487,208)x1 dn         | <i>DHCR24</i>                                                                                                                                                        | <i>de novo</i> | Pathogenic     | Desmosterolosis                        | 602398 |
| 035  | GDD                | 16       | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 036  | GDD                | 15       | M   | Loss | 2.88      | arr[GRCh37] 22q11.21(18,916,842_1,800,797)x1 dn        | <i>DGCR5, DGCR9, DGCR10, DGCR2, DGCR11, DGCR14, GSC2, CLTCL1, HIRA, MRPL40, CLDN5, GP1BB, TBX1, GNB1L, ARVCF, DGCR8, DGCR6L, ZNF74, MED15, SNAP29, LZTR1, SLC7A4</i> | <i>de novo</i> | Pathogenic     | DiGeorge Syndrome                      | 188400 |
| 037  | MS,SUA             | 1m       | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 038  | GDD,MS             | 9        | M   | Gain | 1.92      | arr[GRCh37] 1q21.1q21.2(145,895,746_147,819,294)x3 pat | <i>HYDIN2</i>                                                                                                                                                        | Inherited pat  | LP             | ID/MCA non syndromic                   | ***    |
|      |                    |          |     | Gain | 0.19      | arr[GRCh37] 5p13.2(37,188,412_37,387,467)x3 pat        | <i>C5orf42</i>                                                                                                                                                       | Inherited pat  | LP             |                                        |        |
| 039  | GDD,MS             | 3        | F   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 040  | GDD                | 3        | M   | NAF  | ***       | ***                                                    | ***                                                                                                                                                                  | ***            | Negative       | ***                                    | ***    |
| 041  | GDD,MS,MCA         | 2        | F   | Gain | 0.16      | arr[GRCh37] Xq26.3(134,687,985_134,848,809)x3 mat      | ***                                                                                                                                                                  | Inherited mat  | VUS            | ***                                    | ***    |
| 042  | GDD, Microcephaly  | 6        | F   | Loss | 8.2       | arr[GRCh37] 6q26q27(162,708,065_170,919,482)x1 dn      | <i>BRP44L, RNASET2, TBP</i>                                                                                                                                          | <i>de novo</i> | Pathogenic     | ID/MCA non syndromic                   | ***    |

Supplementary table - Clinical and molecular features of patients investigated with CMA. (cont.)

| Case | Clinical features* | Age (yo) | Sex | CNV  | Size (Mb) | Microarray nomenclature                                 | Selected OMIM Morbid Genes** | Origin        | Interpretation | Syndrome                                     | #OMIM  |
|------|--------------------|----------|-----|------|-----------|---------------------------------------------------------|------------------------------|---------------|----------------|----------------------------------------------|--------|
| 043  | GDD                | 18       | F   | Loss | 0.56      | arr[GRCh37] 17q21.31(43,648,662_44,212,416)x1 dn        | <i>KANSL1</i>                | de novo       | Pathogenic     | Koolen-De Vries syndrome                     | 610443 |
| 044  | GDD,MS             | 16       | M   | Gain | 0.17      | arr[GRCh37] 9p13.3(34,211,171_34,385,700)x3 mat         | ***                          | Inherited mat | LP             | ID/MCA non syndromic                         | ***    |
| 045  | GDD,MS,MCA,SS      | 15       | M   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 046  | GDD                | 1        | F   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 047  | GDD                | 18       | F   | Loss | 0.28      | arr[GRCh37] 21q11.2(15,006,457_15,285,841)x1 mat        | ***                          | Inherited mat | VUS            | ***                                          | ***    |
| 048  | GDD                | 4        | M   | Gain | 0.45      | arr[GRCh37] 5q35.2q35.3(176,382,009_176,832,993)x3 dn   | <i>NSD1</i>                  | de novo       | Pathogenic     | Sotos syndrome                               | 117550 |
| 049  | GDD,MS             | 13       | M   | Loss | 0.12      | arr[GRCh37] 6p25.3(254,253_375,828)x1 dn                | ***                          | de novo       | LP             | ID/MCA non syndromic                         | ***    |
| 050  | GDD                | 7        | M   | Loss | 0.25      | arr[GRCh37] 21q11.2(15,006,457_15,255,326)x1 dn         | ***                          | de novo       | VUS            | ***                                          | ***    |
| 051  | GDD,MS,MCA         | 2        | F   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 052  | GDD,MCA            | 10m      | M   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 053  | GDD                | 8        | M   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 054  | GDD,MS             | 10       | M   | Loss | 0.13      | arr[GRCh37] 3p24.2(26,039,618_26,170,698)x1 mat         | ***                          | Inherited mat | VUS            | ***                                          | ***    |
| 055  | GDD                | 7        | M   | Gain | 0.12      | arr[GRCh37] 15q21.2(50,740,346_50,861,547)x3 mat        | <i>USP8</i>                  | Inherited mat | VUS            | ***                                          | ***    |
| 056  | GDD,DBEA,MCA       | 12       | M   | Loss | 1.40      | arr[GRCh37] 16p11.2(32,511,178_33,912,324)x1 dn         | ***                          | de novo       | VUS            | ***                                          | ***    |
| 057  | GDD                | 7        | F   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 058  | GDD                | 18       | M   | Gain | 0.13      | arr[GRCh37] 17q12(34,946,326_35,074,571)x3              | ***                          | NA            | VUS            | ***                                          | ***    |
| 059  | GDD                | 6        | M   | Loss | 0.27      | arr[GRCh37] 22q11.23q12.1(25,656,237_25,930,479)x1 dn   | ***                          | de novo       | LP             | Chromosome 22q11.2 deletion syndrome, distal | 611867 |
| 060  | GDD                | 11m      | F   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 061  | GDD,MCA            | 12       | F   | Gain | 0.84      | arr[GRCh37] Xp22.33(784,157_1,622,815)x3 mat            | ***                          | Inherited mat | VUS            | ***                                          | ***    |
| 062  | GDD                | 12       | F   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 063  | GDD,MS,DBEA        | 22       | F   | Loss | 0.51      | arr[GRCh37] 17q21.31(43,703,801_44,212,416)x1 dn        | <i>KANSL1</i>                | de novo       | Pathogenic     | Koolen-De Vries syndrome                     | 610443 |
| 064  | GDD                | 4        | F   | Gain | 0.69      | arr[GRCh37] 22q11.22q11.23(22,962,196_23,652,512)x3 mat | ***                          | Inherited mat | LP             | ID/MCA non syndromic                         | ***    |
| 065  | GDD                | 9m       | M   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 066  | GDD,MS,BD          | 26       | F   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 067  | GDD,MS             | 2        | M   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |
| 068  | GDD                | 10       | M   | NAF  | ***       | ***                                                     | ***                          | ***           | Negative       | ***                                          | ***    |

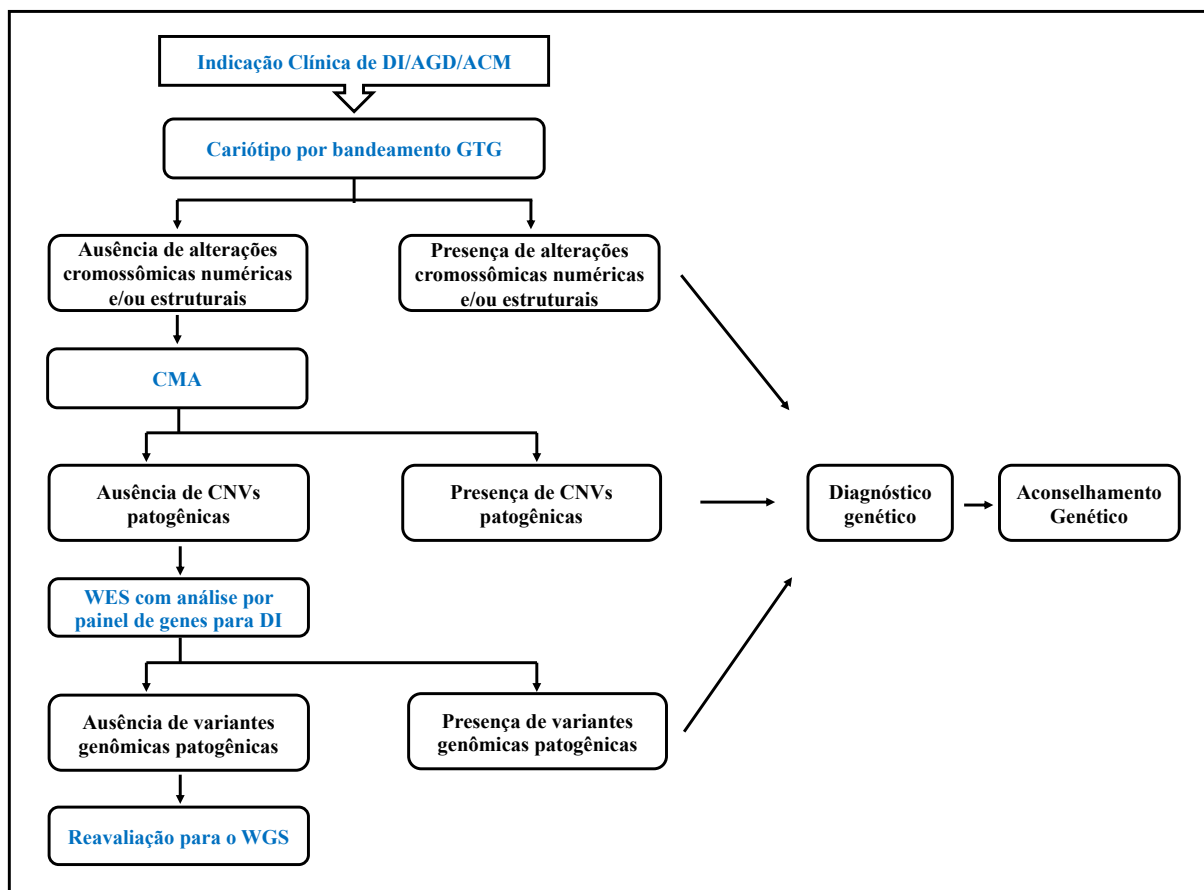
Supplementary table - Clinical and molecular features of patients investigated with CMA. (cont.)

| Case | Clinical features* | Age (yo) | Sex | CNV  | Size (Mb) | Microarray nomenclature                            | Selected OMIM Morbid Genes**                                                                                                                                          | Origin        | Interpretation | Syndrome                                | #OMIM  |
|------|--------------------|----------|-----|------|-----------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------|-----------------------------------------|--------|
| 069  | GDD,MS             | 5        | M   | NAF  | ***       | ***                                                | ***                                                                                                                                                                   | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 070  | GDD                | 8        | F   | NAF  | ***       | ***                                                | ***                                                                                                                                                                   | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 071  | GDD,MS             | 2        | F   | Gain | 0.90      | arr[GRCh37] 3p26.3(585,118_1,480,555)x4 mat        | <i>CNTN6</i>                                                                                                                                                          | Inherited mat | VUS            | ***                                     | ***    |
|      |                    |          |     | Gain | 0.11      | arr[GRCh37] 12q24.22(117,648,219_117,753,672)x3 dn | <i>NOS1</i>                                                                                                                                                           | de novo       | VUS            |                                         |        |
| 072  | GDD                | 14       | F   | NAF  | ***       | ***                                                | ***                                                                                                                                                                   | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 073  | GDD                | 6        | M   | NAF  | ***       | ***                                                | ***                                                                                                                                                                   | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 074  | GDD                | 23       | M   | Gain | 0.23      | arr[GRCh37] 10q26.3(135,024,951_135,252,347)x3     | <i>ECHS1</i>                                                                                                                                                          | NA            | VUS            | ***                                     | ***    |
|      |                    |          |     | Loss | 0.11      | arr[GRCh37] 14q32.2(99,063,155_99,174,192)x1       | ***                                                                                                                                                                   | NA            | VUS            |                                         |        |
| 075  | GDD                | 17       | F   | NAF  | ***       | ***                                                | ***                                                                                                                                                                   | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 076  | GDD                | 10       | M   | NAF  | ***       | ***                                                | ***                                                                                                                                                                   | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 077  | GDD                | 12       | F   | NAF  | ***       | ***                                                | ***                                                                                                                                                                   | ***           | Negative       | ***                                     | ***    |
| 078  | GDD,MCA            | 8m       | M   | Gain | 0.11      | arr[GRCh37] 2p25.3(1,741,827_1,850,859)x3          | <i>PXDN, MYT1L</i>                                                                                                                                                    | NA            | VUS            | ***                                     | ***    |
| 079  | GDD,MCA            | 68d      | M   | Gain | 70.77     | arr[GRCh37] 9p24.3q21.11(203,861_70,974,662)x4     | 9p24.3q21.11 tetrasomy                                                                                                                                                | NA            | Pathogenic     | GDD/MCA non syndromic                   | ***    |
| 080  | GDD,MS,MCA,SS      | 10       | M   | Gain | 12.9      | arr[GRCh37] 11q12.1q13.3(56,928,391_69,867,039)x3  | <i>TMEM216, SCYL1, NRXN2, RNASEH2C, PACS1, BBS1, SPTBN2</i>                                                                                                           | NA            | Pathogenic     | Joubert syndrome 2                      | 608091 |
| 081  | GDD,DBEA           | 2        | M   | Gain | 0.22      | arr[GRCh37] Xq26.3(134,748,665_134,966,528)x2      | ***                                                                                                                                                                   | NA            | VUS            | ***                                     | ***    |
| 082  | GDD,MS             | 26a      | F   | Loss | 2.5       | arr[GRCh37] 22q11.21(18,916,842_21,465,659)x1      | <i>DGCR5, DGCR9, DGCR10, DGCR2, DGCR11, DGCR14, GSC2, CLTCL1, HIRA, MRPL40, CLDN5, GP1BB, TBX1, GNB1L, ARVCF, DGCR8, DGCR6L, ZNF74, MED15, SNAP29, LZTR1 e SLC7A4</i> | NA            | Pathogenic     | DiGeorge Syndrome                       | 188400 |
| 083  | GDD, MS            | 7a       | F   | Gain | 1.75      | arr[GRCh37] 22q11.1q11.21(16,888,899_18,644,773)x4 | <i>CECR7, CECR6, CECR5, CECR1, CECR3, CECR2, SLC25A18</i>                                                                                                             | NA            | Pathogenic     | Chromosome 22q11.2 duplication syndrome | 608363 |
| 084  | GDD, SS            | 2a       | F   | Loss | 1.99      | arr[GRCh37] 15q26.3(100,432,397_102,429,112)x1     | <i>ADAMTS17, LINS1</i>                                                                                                                                                | NA            | Pathogenic     | GDDD/MCA non syndromic                  | ***    |

\* SS=Short Stature; GDD=Global Developmental Delay; MS=Multiple Stigmas, MCA=Multiple Congenital Anomalies, ALS= Autism Like Symptoms; BD=Behavior Disorders; DBEA=Disturbance of brain electrical activity; SUA=Single Umbilical Artery; LP=likely pathogenic; VUS= Variant of uncertain significance; NA= No available; \*\* Genes related to ID/Autism; \*\*\* Not applicable.

## 4.2 PROPOSTA DE FLUXOGRAMA PARA O ATENDIMENTO DE PACIENTES COM DI/AGD/ACM

Baseado nos nossos resultados e nas taxas de rendimento diagnóstico obtidos pelas metodologias utilizadas, propomos um fluxograma de atendimento para o diagnóstico genético para os pacientes com indicação clínica de DI/AGD e ACM na rede pública de saúde.



**Figura 2:** Proposta de fluxograma de atendimento para pacientes com DI/AGD/ACM visando a identificação da etiologia genética da DI.

## 5. CONCLUSÃO

A deficiência intelectual é uma condição clinicamente e geneticamente heterogênea. Estudos e estratégias de diagnóstico são de grande importância para se obter uma maior elucidação das causas genéticas, possibilitando uma melhor conduta terapêutica e um manejo adequado para cada paciente. As metodologias utilizadas nesse estudo demonstraram ser estratégias eficientes e eficazes para o diagnóstico genético da DI/AGD, permitindo as seguintes conclusões:

- O cariótipo e o CMA apresentaram uma taxa de diagnóstico de 34,7% e 21,7%, respectivamente, propiciando às famílias um diagnóstico genético para as condições fenotípicas de seus filhos/as.;
- O sequenciamento completo de exoma, com análise por painel de genes, mostrou uma taxa de diagnóstico de 52,6%, sendo recomendado seu uso para os pacientes com DI/AGD e ACM que passaram por triagem clínica e triagem citogenômica adequada;
- Foi possível demonstrar uma heterogeneidade genética da DI/AGD e ACM, visto que foram encontrados no coorte analisado 12 diferentes genes mutados;
- Foram observadas mutações *de novo* em 75% dos casos;
- Combinando triagem clínica e metodológica, foi obtida uma taxa de diagnóstico genético global de 42,3%, permitindo uma melhor estratégia no acompanhamento e no tratamento desses pacientes, proporcionando um maior entendimento das causas genéticas da DI/AGD e ACM;
- Considerando a taxa global de diagnóstico genético identificada no presente estudo, recomendamos que seja adotado nas políticas públicas um fluxograma de atendimento de pacientes com DI/AGD e ACM (Figura 2) para o diagnóstico genético.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos estudos apresentaram uma taxa de rendimento diagnóstico do cariótipo de 34,7%, superior aos outros estudos analisados neste trabalho. Essa taxa superestimada do cariótipo pode estar relacionada ao viés de triagem clínica, devido ao fato do laboratório Replicon/Lagene ser o único do Estado de Goiás a realizar o teste de cariótipo pelo Sistema Único de Saúde.

É importante ressaltar que ainda há, no SUS, uma assistência escassa para a população com distúrbios do neurodesenvolvimento. Apesar de, no sistema público de saúde, os testes genéticos estarem teoricamente disponíveis para a população, na prática os mesmos não são ofertados de forma adequada, causando angústia e insatisfação nos pacientes e seus familiares, uma vez que muitos ficam sem o diagnóstico genético.

O acesso limitado aos serviços públicos de saúde em genética adicionado à ausência de recursos e à desigualdade na oferta desses serviços podem ter sido a causa da falta de diagnóstico genético da deficiência intelectual na infância em 7% dos pacientes com DI/AGD e ACM que participaram desse estudo. Ademais, é sabido que quanto mais cedo ocorrer a identificação das causas etiológicas da DI, mais adequados serão o manejo do paciente e a conduta terapêutica, proporcionando um melhor prognóstico, e um aconselhamento genético eficaz que atenda às necessidades dos pacientes e das famílias.

Foi observada neste estudo, uma alta porcentagem de perda de segmentos (42,8%), que pode ter ocorrido devido à alguns fatores como a desistência dos pais em darem continuidade aos testes genéticos, por estarem satisfeitos com os resultados negativos ou por não quererem mais saber se a condição de seus filhos e filhas foi devido à algum fator genético, ou ao fato do sistema público de saúde não reconhecer esses indivíduos com desordens do neurodesenvolvimento, dificultando assim o contato com os pacientes e/ou os familiares.

Finalmente, uma adequada conduta, para minimizar a perda de seguimento, seria a utilização de prontuários unificados, onde permitiria um rastreamento eficiente desses pacientes, demonstrando a importância de um olhar mais atento para esta população e da construção de novas políticas públicas que consigam atender de forma apropriada os indivíduos com DI/AGD e ACM.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGHA, Z. *et al.* Exome sequencing identifies three novel candidate genes implicated in intellectual disability. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2014.

American Association on Intellectual and Developmental Disabilities (AAIDD). Disponível em: <https://aaid.org/intellectual-disability>. Acesso em: 02/01/2021.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION - APA (tradução: Maria Inês Corrêa Nascimento et al.). Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. 5. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: **Artmed**, 2014.

ANAZI, S. *et al.* Clinical genomics expands the morbid genome of intellectual disability and offers a high diagnostic yield. **Molecular psychiatry**, v. 22, n. 4, p. 615-624, 2017.

ANTONARAKIS, Stylianos E. et al. Down syndrome. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, n. 1, p. 1-20, 2020.

ARMATAS, V. Mental retardation: Definitions, etiology, epidemiology and diagnosis. **Journal of Sport and Health Research**, v. 1, n. 2, p. 112–122, 2009.

ASPROMONTE, Maria C. *et al.* Characterization of intellectual disability and autism comorbidity through gene panel sequencing. **Human mutation**, v. 40, n. 9, p. 1346-1363, 2019.

BARETTO, Nathacha. **Análise de CNVs e indicação clínica em indivíduos com deficiência intelectual e outros distúrbios do desenvolvimento diagnosticados por CGH Array**. Dissertação de Mestrado. 2015. UFSC.

BASS, Nick; SKUSE, David. Genetic testing in children and adolescents with intellectual disability. **Current Opinion in Psychiatry**, v. 31, n. 6, p. 490-495, 2018.

BATTAGLIA, Agatino; *et al.* Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features. **European Journal of Paediatric Neurology**, v. 17, n. 6, p. 589-99, 2013.

BEZERRA, Milene Ferreira; MARTINS, Paulo César Ribeiro. A concepção de deficiência intelectual ao longo da história. **Interfaces da Educação**, v. 1, n. 3, p. 73-83, 2015.

BORLOT, Felipe *et al.* Clinical utility of multigene panel testing in adults with epilepsy and intellectual disability. **Epilepsia**, v. 60, n. 8, p. 1661-1669, 2019.

- BROWN, Kelly A.; PARIKH, Sonia; PATEL, Dilip R. Understanding basic concepts of developmental diagnosis in children. **Translational Pediatrics**, v. 9, n. Suppl 1, p. S9, 2020.
- BRUEL, Ange-Line *et al.* Next-Generation Sequencing approaches and challenges in the diagnosis of developmental anomalies and intellectual disability. **Clinical Genetics**, 2020.
- BUENO, Laryssa R.; SCHAUREN, Juliana S. Testes Genéticos No Diagnóstico Da Síndrome do X-Frágil. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia E Saúde**, v. 12, n. 23, p. 46-55, 2019.
- BULL, Marilyn J. Down syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 24, p. 2344-2352, 2020.
- BULAYEVA, Kazima *et al.* Genomic structural variants are linked with intellectual disability. **Journal of Neural Transmission**, v. 122, n. 9, p. 1289-1301, 2015.
- CARNEIRO, Thaise Nayane Ribeiro. **Identificação da etiologia da deficiência intelectual esporádica por sequenciamento de exomas de afetados e seus pais**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2016.
- CHAVES, Tiago Fernando *et al.* copy number Variations in a Cohort of 420 Individuals with Neurodevelopmental Disorders From the South of Brazil. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-20, 2019.
- CHIURAZZI, Pietro; PIROZZI, Filomena. Advances in understanding–genetic basis of intellectual disability. **F1000Research**, v. 5, 2016.
- DE LUCA, Chiara *et al.* Challenges in molecular diagnosis of X-linked Intellectual disability. **British medical bulletin**, v. 133, n. 1, p. 36-48, 2020.
- DHARMADHIKARI, Avinash V. *et al.* Copy number variant and runs of homozygosity detection by microarrays enabled more precise molecular diagnoses in 11,020 clinical exome cases. **Genome medicine**, v. 11, n. 1, p. 30, 2019.
- ESPECHE, Lucía Daniela *et al.* Implementation of chromosomal microarrays in a cohort of patients with intellectual disability at the Argentinean public health system. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 9, p. 6863-6878, 2020.
- GILISSEN, Christian *et al.* Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. **Nature**, v. 511, n. 7509, p. 344-347, 2014.
- HAN, Ji Yoon *et al.* Targeted next-generation sequencing of Korean patients with developmental delay and/or intellectual disability. **Frontiers in pediatrics**, v. 6, p. 391, 2018.

- HAN, Ji Yoon; LEE, In Goo. Genetic tests by next-generation sequencing in children with developmental delay and/or intellectual disability. **Clinical and experimental pediatrics**, v. 63, n. 6, p. 195, 2020.
- HARRIPAUL, Ricardo *et al.* Mapping autosomal recessive intellectual disability: combined microarray and exome sequencing identifies 26 novel candidate genes in 192 consanguineous families. **Molecular psychiatry**, v. 23, n. 4, p. 973-984, 2018.
- HARRIPAUL, Ricardo *et al.* The use of next-generation sequencing for research and diagnostics for intellectual disability. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 7, n. 3, p. a026864, 2017.
- IBARLUZEA, Nekane *et al.* Targeted Next-Generation Sequencing in Patients with Suggestive X-Linked Intellectual Disability. **Genes**, v. 11, n. 1, p. 51, 2020.
- ILYAS, Muhammad *et al.* The genetics of intellectual disability: advancing technology and gene editing. **F1000Research**, v. 9, 2020.
- KAMATH, Vandana *et al.* Utility of Chromosomal Microarray in Children with Unexplained Developmental Delay/Intellectual Disability. **Fetal and Pediatric Pathology**, p. 1-11, 2020.
- KARAM, S. M. *et al.* Genetic causes of intellectual disability in a birth cohort: A population-based study. **American Journal of Medical Genetics. Part A**, v. 167, n. 6, p. 1204–1214, 2015.
- KAUFMAN, L.; AYUB, M.; VINCENT, J. B. The genetic basis of non-syndromic intellectual disability: A review. **Journal of Neurodevelopmental Disorders**, v. 2, n. 4, p. 182–209, 2010.
- KEARNEY, Hutton; *et al.* American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. **Genetics in Medicine**, v. 13, n. 17, p. 680, 2011.
- KIM, Young-Eun; KI, Chang-Seok; JANG, Mi-Ae. Challenges and considerations in sequence variant interpretation for Mendelian disorders. **Annals of laboratory medicine**, v. 39, n. 5, p. 421, 2019.
- KUPERBERG, Maya *et al.* Utility of whole exome sequencing for genetic diagnosis of previously undiagnosed pediatric neurology patients. **Journal of child neurology**, v. 31, n. 14, p. 1534-1539, 2016.
- LADUCA, Holly *et al.* Exome sequencing covers > 98% of mutations identified on targeted next generation sequencing panels. **Plos one**, v. 12, n. 2, p. e0170843, 2017.
- LIAO, Li-Hong *et al.* Diagnosis of intellectual disability/global developmental delay via genetic analysis in a central region of China. **Chinese medical journal**, v. 132, n. 13, p. 1533, 2019.

- MAHLER, Elisa A. *et al.* Exome Sequencing in Children: Undiagnosed Developmental Delay and Neurological Illness. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 116, n. 12, p. 197, 2019.
- MALINOWSKI, Jennifer *et al.* Systematic evidence-based review: outcomes from exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability. **Genetics in Medicine**, p. 1-19, 2020.
- MCKENZIE, Katherine *et al.* Systematic review of the prevalence and incidence of intellectual disabilities: current trends and issues. **Current Developmental Disorders Reports**, v. 3, n. 2, p. 104-115, 2016.
- MELO, Débora Gusmão *et al.* Investigação etiológica nas situações de deficiência intelectual ou atraso global do desenvolvimento. **Saúde e Desenvolvimento Humano**, v. 6, n. 3, p. 73-85, 2018.
- MILLER, D. T. *et al.* Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. **American Journal of Human Genetics**, v. 86, n. 5, p. 749–764, 2010.
- Ministério da Saúde (MS) - Departamento de ações programadas e Estratégicas. Coordenação Geral de Saúde da Pessoa com Deficiência. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/cpd/arquivos/cinthia-ministerio-da-saude>. 2019. Acessado em: 10/10/2020.
- MUTHUSAMY, Babylakshmi *et al.* Next-generation sequencing reveals novel mutations in X-linked intellectual disability. **Omics: a journal of integrative biology**, v. 21, n. 5, p. 295-303, 2017.
- NAJMABADI, Hossein *et al.* Deep sequencing reveals 50 novel genes for recessive cognitive disorders. **Nature**, v. 478, n. 7367, p. 57-63, 2011.
- PATEL, Dilip R. *et al.* Intellectual disability: definitions, evaluation and principles of treatment. **Pediatric Medicine**, v. 1, n. 11, p. 10.21037, 2018.
- PEKELES, Heather *et al.* Diagnostic yield of intellectual disability gene panels. **Pediatric neurology**, v. 92, p. 32-36, 2019.
- PEREIRA, Rodrigo Roncato *et al.* Screening for intellectual disability using high-resolution CMA technology in a retrospective cohort from Central Brazil. **PloS one**, v. 9, n. 7, p. e103117, 2014.
- Pesquisa Nacional de Saúde (PNS): 2013: ciclos de vida: Brasil e grandes regiões / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE, p. 23, 2015.

- PFUNDT, Rolph *et al.* Detection of clinically relevant copy-number variants by exome sequencing in a large cohort of genetic disorders. **Genetics in Medicine**, v. 19, n. 6, p. 667-675, 2017.
- POWIS, L.; OLIVER, C. The prevalence of aggression in genetic syndromes: A review. **Research in Developmental Disabilities**, v. 35, n. 5, p. 1051–1071, 2014.
- PREIKŠAITIENĖ, E. *et al.* Identification of genetic causes of congenital neurodevelopmental disorders using genome wide molecular technologies. **Acta medica Lituanica**, v. 23, n. 2, p.73–85, 2016.
- PURI, R. D.; TUTEJA, M.; VERMA, I. C. Genetic Approach to Diagnosis of Intellectual Disability. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 83, n. 10, p. 1141–1149, 2016.
- PURUGGANAN, Oscar. **Intellectual disabilities**. 2018.
- QUACH, Tam T. *et al.* Intellectual disability: dendritic anomalies and emerging genetic perspectives. **Acta Neuropathologica**, p. 1-20, 2020.
- RAMOS-FUENTES, Feliciano *et al.* Genetic Diagnosis of Rare Diseases: Past and Present. **Advances in Therapy**, p. 1-9, 2020.
- REIS, Fabiana Gonçalves. Investigações genéticas em doenças raras: uma contribuição positiva das tecnologias genômicas. Tese de doutorado. 2017.
- REUTER, Miriam S. *et al.* Diagnostic yield and novel candidate genes by exome sequencing in 152 consanguineous families with neurodevelopmental disorders. **JAMA psychiatry**, v. 74, n. 3, p. 293-299, 2017.
- RICHARDS, Sue *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in medicine**, v. 17, n. 5, p. 405-423, 2015.
- RICHARDSON, Ellen. **The Utility of Whole Exome Sequencing in Patients with Intellectual Disability and Developmental Delay as a First-Tier Diagnostic Testing Strategy**. Tese de Doutorado. University of South Carolina. 2020
- RIGGS, Erin Rooney *et al.* Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). **Genetics in Medicine**, v. 22, n. 2, p. 245-257, 2020.

RODRÍGUEZ-REVENGA, Laia *et al.* A parallel study of different array-CGH platforms in a set of Spanish patients with developmental delay and intellectual disability. **Gene**, v. 521, n. 1, p. 82-86, 2013.

ROSENBERG, Carla *et al.* Array-CGH detection of micro rearrangements in mentally retarded individuals: clinical significance of imbalances present both in affected children and normal parents. **Journal of medical genetics**, v. 43, n. 2, p. 180-186, 2006.

SANSOVIĆ, I. *et al.* Chromosomal microarray in clinical diagnosis: a study of 337 patients with congenital anomalies and developmental delays or intellectual disability. **Croatian Medical Journal**, v. 58, n. 3, p. 231-238, 2017.

SCHWARTZ, Charles E.; BOCCUTO, Luigi. Genetics of X-linked intellectual disability. In: Neuronal and synaptic dysfunction in autism spectrum disorder and intellectual disability. **Academic Press**, 2016. p. 25-41.

SILVA, Marisa: *et al.* European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. **European Journal of Human Genetics**, v. 27, p. 1 – 16, 2019.

SOUSA, Carlos Henrique Gomes; STAMPA, I. T. **Pessoa Com Deficiência Intelectual-Desafios para inclusão nas empresas de grande porte do Pólo Industrial de Manaus/AM**. 2011. Tese de Doutorado. PUC-Rio.

STOJANOVIC, Jelena Ruml *et al.* Diagnostic and Clinical Utility of Clinical Exome Sequencing in Children With Moderate and Severe Global Developmental Delay/Intellectual Disability. **Journal of Child Neurology**, v. 35, n. 2, p. 116-131, 2020.

TEJADA, María Isabel; IBARLUZEA, Nekane. Non-syndromic X linked intellectual disability: Current knowledge in light of the recent advances in molecular and functional studies. **Clinical Genetics**, 2020.

TOPPER, Scott; OBER, Carole; DAS, Soma. Exome sequencing and the genetics of intellectual disability. **Clinical genetics**, v. 80, n. 2, p. 117-126, 2011.

VASUDEVAN, Pradeep; SURI, Mohnish. A clinical approach to developmental delay and intellectual disability. **Clinical Medicine**, v. 17, n. 6, p. 558, 2017.

VISSERS, Lisenka ELM; GILISSEN, Christian; VELTMAN, Joris A. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. **Nature Reviews Genetics**, v. 17, n. 1, p. 9-18, 2016.

WALLIS, Yvonne *et al.* Practice guidelines for the evaluation of pathogenicity and the reporting of sequence variants in clinical molecular genetics. **Association for Clinical Genetic Science and the Dutch Society of Clinical Genetic Laboratory Specialists**, 2013.

WANG, Rongyue *et al.* Application of chromosome microarray analysis in patients with unexplained developmental delay/intellectual disability in South China. **Pediatrics & Neonatology**, v. 60, n. 1, p. 35-42, 2019.

WOLFE, Kate *et al.* Chromosomal microarray testing in adults with intellectual disability presenting with comorbid psychiatric disorders. **European Journal of Human Genetics**, v. 25, n. 1, p. 66-72, 2017.

World Health Organization (WHO). Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>. Acesso em: 02/01/2021.

YAMAMOTO, Toshiyuki *et al.* Genomic backgrounds of Japanese patients with undiagnosed neurodevelopmental disorders. **Brain and Development**, v. 41, n. 9, p. 776-782, 2019.

## 8. APÊNDICE

### 8.1 – APÊNDICE 1 – TCLE DOS PAIS

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), do Projeto de Pesquisa sob o título “**Sequenciamento de Nova Geração de genes candidatos em crianças e adolescentes com deficiência intelectual**”. Meu nome é **Lysa Bernardes Minasi**, sou membro da equipe de pesquisa deste projeto, **Doutora em Biologia Celular e Molecular**. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias e em todas as páginas, sendo a primeira via de guarda e confidencialidade da equipe de pesquisa e a segunda via ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins. Em caso de recusa, você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável Dra. Lysa Bernardes Minasi, nos telefones: (62) 3946-1043, ou através do email **minasilb@gmail.com**. Em caso de dúvida sobre a ética aplicada a pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, localizado na Avenida Universitária, N° 1069, Setor Universitário, Goiânia – Goiás, telefone: (62) 3946-1512, funcionamento: 8h as 12h e 13h as 17h de segunda a sexta-feira. O Comitê de Ética em Pesquisa é uma instância vinculada à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) que por sua vez é subordinado ao Ministério da Saúde (MS). O CEP é responsável por realizar a análise ética de projetos de pesquisa, sendo aprovado aquele que segue os princípios estabelecidos pelas resoluções, normativas e complementares.

O projeto de pesquisa tem como objetivo realizar um exame genético, denominado de sequenciamento de nova geração, em pacientes com menos de 18 anos de idade e com indicação médica de Deficiência Intelectual. Por ser um exame caro e de difícil acesso pela população, o projeto de pesquisa oferece a oportunidade da realização do exame genético e com isso auxiliar no diagnóstico da deficiência intelectual. As alterações genéticas são uma das principais causas da deficiência intelectual podendo ser passadas de pai ou mãe para os filhos ou podem ser devido a uma alteração genética que não foi passada pelos pais. Considerando esta informação, será necessário realizar sua coleta de sangue, após sua adesão e assinatura do TCLE, para verificar se a alteração genética encontrada em seu filho foi transmitida ou não. Previamente à coleta de sangue, será aplicado um questionário para obter informações clínicas adicionais sobre seu filho, com objetivo de auxiliar na interpretação das alterações genéticas identificadas. Todos os esclarecimentos e explicações de como ocorrerá a pesquisa, a aplicação do questionário e a coleta de sangue serão realizadas no Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC Goiás, localizado na Rua 235, nº 40, setor leste universitário, Área 4, Bloco L da PUC Goiás. A coleta de sangue será realizada por profissionais treinados para esse procedimento, havendo um risco médio com um desconforto durante a coleta de sangue, ou seja, dor no local da coleta e mal-estar. Você será orientado (a), após o procedimento da coleta, pressionar por 2 minutos o local da coleta de sangue para evitar que fique roxo ou inchado. Se após pressionado o braço o local ficar roxo ou inchado é recomendável que se coloque gelo. É assegurado ao participante da pesquisa o acompanhamento e assistência imediata, integral e gratuita quando necessário. O laboratório onde

ocorrerá a coleta de sangue possui uma equipe com diferentes profissionais da área da saúde e que poderão oferecer total assistência caso você necessite. Os benefícios da participação neste projeto de pesquisa são a oferta de um exame genético de última geração que irá possibilitar o diagnóstico do seu filho (a) com a deficiência intelectual. Portanto, com o resultado, o médico poderá concluir o diagnóstico do seu filho (a) com deficiência intelectual, além de ajudar no entendimento da causa e da chance de acontecer novamente na família esta condição da deficiência intelectual. Indiretamente, este estudo contribuirá para atualização de bancos de dados mundiais, pois nestes bancos de dados será depositada a informação se a alteração genética encontrada foi herdada dos pais ou não. Esta informação auxilia o entendimento das causas genéticas da deficiência intelectual. Ao final da pesquisa, os participantes terão total acesso aos resultados encontrados. Caso o médico da família ache necessário, ou você solicite à equipe do projeto de pesquisa, será oferecido o serviço gratuito de aconselhamento genético que poderá auxiliar no entendimento da condição genética identificada. O projeto de pesquisa em questão terá a duração de 4 anos e você tem plena liberdade de recusar sua participação e de retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma, bem como são assegurados o sigilo das informações confidenciais ao Pesquisador (a) e outrem por ele designado. Não há pagamento ou ressarcimento na participação da pesquisa e são garantidos indenização perante aos eventuais danos decorrentes da pesquisa. Ao finalizar a pesquisa, os dados gerados no estudo estarão sob a guarda do pesquisador (a) responsável por um período de 5 anos.

### **Declaração do Pesquisador**

Eu, pesquisador responsável por este estudo, esclareço que cumprirei as informações acima. Você terá acesso, se necessário, a assistência integral e gratuita por danos diretos e indiretos, imediatos ou tardios devido a sua participação nesse estudo; e que suas informações serão tratadas com confidencialidade e sigilo. Você pode sair do estudo quando quiser, sem qualquer penalização. Se tiver algum custo por participar da pesquisa, será ressarcido; e em caso de dano decorrente do estudo, terá direito a indenização, conforme decisões judiciais que possam suceder.

### **Declaração do Participante**

Eu \_\_\_\_\_, abaixo assinado, discuti com a pesquisadora Dra. Lysa Bernardes Minasi sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de assistência, confidencialidade e esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é voluntária e isenta de despesas e que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício.

Goiânia, \_\_\_\_, de \_\_\_\_\_, de 201\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Data

## 8.2 APÊNDICE 2 – TCLE DOS FILHOS

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), do Projeto de Pesquisa sob o título **“Sequenciamento de Nova Geração de genes candidatos em crianças e adolescentes com deficiência intelectual”**. Meu nome é **Lysa Bernardes Minasi**, sou membro da equipe de pesquisa deste projeto, **Doutora em Biologia Celular e Molecular**. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, este documento deverá ser assinado em duas vias e em todas as páginas, sendo a primeira via de guarda e confidencialidade da equipe de pesquisa e a segunda via ficará sob sua responsabilidade para quaisquer fins. Em caso de recusa, você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida **sobre a pesquisa**, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável, Dra. Lysa Bernardes Minasi, nos telefones: (62) 3946-1443, ou através do email **minasilb@gmail.com**. Em caso de dúvida **sobre a ética aplicada a pesquisa**, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, localizado na Avenida Universitária, N° 1069, Setor Universitário, Goiânia – Goiás, telefone: (62) 3946-1512, funcionamento: 8h as 12h e 13h as 17h de segunda a sexta-feira. O Comitê de Ética em Pesquisa é uma instância vinculada à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) que por sua vez é subordinado ao Ministério da Saúde (MS). O CEP é responsável por realizar a análise ética de projetos de pesquisa, sendo aprovado aquele que segue os princípios estabelecidos pelas resoluções, normativas e complementares.

O projeto de pesquisa tem como objetivo realizar um exame genético, denominado de sequenciamento de nova geração, em pacientes com menos de 18 anos de idade e com indicação médica de Deficiência Intelectual. Por ser um exame caro e de difícil acesso pela população, o projeto de pesquisa oferece a oportunidade da realização do exame genético e com isso auxiliar no diagnóstico da deficiência intelectual. As alterações genéticas são uma das principais causas da deficiência intelectual podendo ser passadas de pai ou mãe para os filhos ou podem ser devido a uma alteração genética que não foi passada pelos pais. Portanto, será necessário a coleta de sangue do paciente com deficiência intelectual após adesão e assinatura pelos pais e/ou responsáveis do TCLE. Todos os esclarecimentos e explicações de como ocorrerá a pesquisa e a coleta de sangue serão realizadas no Núcleo de Pesquisas Replicon da PUC Goiás, localizado na Rua 235, nº 40, setor leste universitário, Área 4, Bloco L da PUC Goiás. A coleta de sangue será realizada por profissionais treinados para esse procedimento, havendo um risco médio com um desconforto durante a coleta de sangue, ou seja, dor no local da coleta e mal-estar. Será orientado aos pais ou responsáveis pelos participantes do estudo que após o procedimento da coleta, o local deve ser pressionado por 2 minutos para evitar que no local da coleta de sangue fique roxo ou inchado. Se após pressionado o braço o local ficar roxo ou inchado é recomendável que se coloque gelo. É assegurado ao participante da pesquisa o acompanhamento e assistência imediata, integral e gratuita quando necessário. O laboratório onde ocorrerá a coleta de sangue possui uma equipe com diferentes profissionais da área da saúde e que poderão oferecer total assistência caso o participante da pesquisa necessite. Os benefícios da participação neste projeto de pesquisa são a oferta de um exame genético de última geração que irá possibilitar o

diagnóstico dos pacientes com a deficiência intelectual. Portanto, com o resultado, o médico poderá definir o diagnóstico dos participantes com deficiência intelectual, além de ajudar no entendimento da causa e da chance de acontecer novamente na família esta condição da deficiência intelectual. Indiretamente, este estudo contribuirá para atualização de bancos de dados mundiais auxiliando no entendimento das causas genéticas da deficiência intelectual. Ao final da pesquisa, os participantes terão total acesso aos resultados encontrados bem como esses dados poderão ser úteis no diagnóstico da Deficiência Intelectual. Caso o médico ache necessário ou a família solicite à equipe do projeto de pesquisa será oferecido o serviço gratuito de aconselhamento genético para a família que poderá auxiliar no entendimento da alteração genética identificada. O projeto de pesquisa em questão terá a duração de 4 anos e o participante do estudo e seus responsáveis tem plena liberdade de recusar sua participação ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma, bem como são assegurados o sigilo das informações confidenciais ao Pesquisador (a) e outrem por ele designado. Não há pagamento ou ressarcimento na participação da pesquisa e são garantidos indenização perante aos eventuais danos decorrentes da pesquisa. Ao finalizar a pesquisa, os dados gerados no estudo estarão sob a guarda do pesquisador (a) responsável por um período de 5 anos.

#### **Declaração do Pesquisador**

Eu, pesquisador responsável por este estudo, esclareço que cumprirei as informações acima. Você terá acesso, se necessário, a assistência integral e gratuita por danos diretos e indiretos, imediatos ou tardios devido a sua participação nesse estudo; e que suas informações serão tratadas com confidencialidade e sigilo. Você pode sair do estudo quando quiser, sem qualquer penalização. Se tiver algum custo por participar da pesquisa, será ressarcido; e em caso de dano decorrente do estudo, terá direito a indenização, conforme decisões judiciais que possam suceder.

#### **Declaração do Participante**

Eu \_\_\_\_\_, abaixo assinado, discuti com a **Dra. Lysa Bernardes Minasi** sobre a decisão do meu filho (a) em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de assistência, confidencialidade e esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é voluntária e isenta de despesas e que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício.

Goiânia, \_\_\_\_, de \_\_\_\_\_, de 201\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável legal

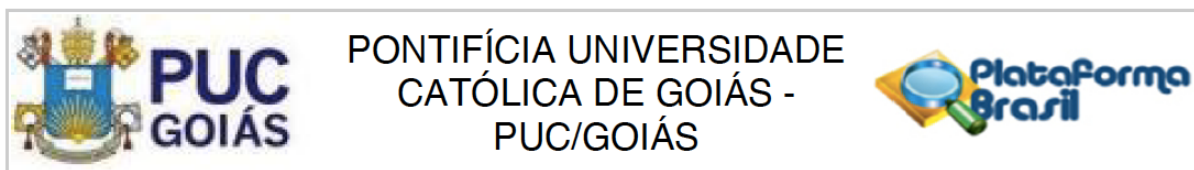
\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Data

## 9. ANEXO

### 9.1 – ACEITE DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA DA PUC GOIÁS



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Sequenciamento de Nova Geração de genes candidatos em crianças e adolescentes com deficiência intelectual.

**CAAE:** 04114917.0.0000.0037

**Instituição Proponente:** Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC/Goiás

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.205.591

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

## **9.2 ANEXO 2 – LISTA DE GENES ANALISADOS NO PAINEL PARA DEFICIÊNCIA INTELECTUAL**

A versão do painel (DG-2.16) e a lista dos genes analisados pode ser verificada em:

<https://order.radboudumc.nl/en/products/wes-intellectual-disability>