BRVUSES: BANCO DE REAVALIAÇÃO DE VARIANTES GENÉTICAS DE SIGNIFICADO INCERTO DO ESPÍRITO SANTO

Guilherme Queiroz Gama[1]*, Lauziene Andrade Soares[1], Maria do Carmo de Souza Rodrigues[2], Julia Lourenço de Oliveira[1], Maira Trancozo[1], Flávia de Paula[1], Leticia Vervloet, Paula Zago[2], Maria Rita dos Santos e Passos Bueno[3], Bruno Guimarães Marcarini[3] , Flávia Imbroisi Valle Errera

[1] Universidade Federal do Espírito Santo - UFES.
[2] Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes - HUCAM UFES.
[3] Centro de Estudos do Genoma Humano e Células -Tronco (CEGH-CEL).

*guilherme.gama@edu.ufes.br

HUMANA

Palavras-Chave: Doenças Raras, Diagnóstico, Banco de dados, Genética

INTRODUÇÃO

As doenças raras (DR) afetam até 65 pessoas por 100 mil habitantes e somam mais de 7.000 tipos conhecidos, atingindo cerca de 400 milhões de indivíduos em todo o mundo (OMS, 2025; Nguengang *et al.,* 2020). Estima-se que cerca de 16 milhões de pessoas convivam com DR no Brasil e 280 mil no ES. As DR são crônicas, degenerativas e de difícil diagnóstico. Cerca de 80% têm origem genética e podem manifestar-se em qualquer fase da vida, o que torna o diagnóstico preciso, via exame genético, essencial (Ministério da Saúde, 2024; Jorde *et al.*, 2017).

O avanço do sequenciamento de DNA de nova geração (NGS), uma consequência do Projeto Genoma Humano, revolucionou a genética médica ao permitir a análise desde genes únicos até o genoma completo. O uso do NGS potencializou o diagnóstico das DR, ampliando a detecção de variantes genéticas causadoras de DR (Roy et al., 2014). As variantes podem ser de diferentes tipos, como substituição, deleção, inserção e expansão, dentre outras, e precisam passar por um processo de classificação.

A padronização da análise, interpretação e classificação de variantes é um desafio. Com o objetivo de uniformizar as análises e os resultados, o *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) e a *Association for Molecular Pathology* (AMP) publicaram, em 2015, uma diretriz amplamente adotada para a classificação de variantes, que categoriza os diferentes tipos de variantes genéticas em cinco grupos: patogênicas (P), provavelmente patogênicas (LP), de significado incerto (VUS), provavelmente benignas (LB) e benignas (B) (Richards et al., 2015).

Um número expressivo de variantes têm sido identificado, particularmente das de significado incerto (VUS), ou seja, aquelas que a ciência não consegue ainda classificar como sendo causadoras de doenças. Nessa situação, a interpretação clínica fica inconclusiva, impossibilitando qualquer conduta médica. Estima-se que até 58,8% dos exames apresentem VUS, e 31,3% dos casos reclassificados demandam modificações na conduta terapêutica após a reclassificação. (SoRelle *et al.*, 2019; Quiat *et al.*, 2020; Andreis *et al.,* 2023; Costa *et al.*, 2020). Em média, o tempo para uma VUS ser reclassificada pode variar de 2 a 10 anos, atrasando significativamente o diagnóstico definitivo de uma DR. Assim, as VUS consistem num dos principais desafios da genética humana na atualidade. A obtenção de diagnóstico possibilita a expansão do fenótipo, com maior compreensão da doença, tratamentos individualizados, mais eficazes e com menos efeitos adversos (Pandey & Gupta, 2024).

Ainda, a enorme complexidade na interpretação das variantes genéticas, especialmente das VUS, aliada à escassez de dados genéticos de populações sub-representadas, especialmente do sul global, ressaltam a necessidade de formação de profissionais qualificados em análise genética e mais iniciativas em genômica (Walsh et al., 2024).

Uma ferramenta de grande relevância é a bioinformática, com ou sem o suporte da inteligência artificial (IA). Todavia, essa área ainda carece de profissionais capacitados para a interpretação adequada das variantes genéticas. Nesse contexto, o BRVusES (*Bank for Revaluation of Variants with Uncertain Significance in Espírito Santo*), vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica (PPGBiq) da UFES, foi concebido e estruturado com o propósito de integrar o conhecimento técnico-científico de ponta à promoção de impacto social, com o objetivo de aumentar a taxa de diagnóstico de DR por meio do acompanhamento e da reanálise das VUS identificadas em exames genéticos de pacientes com DR atendidos em serviços de Genética.

MÉTODOS

A amostra está sendo constituída por VUS reportadas em exames genéticos dos pacientes com DR atendidos no ambulatório de genética do HUCAM/UFES, inicialmente. O banco de dados utilizado foi criado de forma interprofissional e previamente curado por médicos, que conduziram uma avaliação crítica das perguntas com potencial de contribuir para o diagnóstico clínico dos pacientes. Os profissionais receberam via convite eletrônico na plataforma *Google Forms,* um formulário para avaliação e resposta. Entretanto, o banco de dados definitivo na plataforma *RedCAP* (*Research Eletronic Data Capture*), para gerenciamento seguro dos dados da pesquisa está em elaboração. Todas as análises têm sido conduzidas no Laboratório do Grupo de Pesquisa de Genética Molecular e Biotecnologia de Doenças Comuns e Raras (campus Goiabeiras/UFES), de acordo com os critérios propostos pela *ACMG/AMP* (2015), seguindo dois processos: i) com o auxílio da inteligência artificial *Franklin*, e ii) por análise manual, utilizando diferentes bases de dados e portais de bioinformática.

O projeto integra ensino, pesquisa e extensão em Genética Humana e Médica, com colaboração da USP, fortalecendo a troca interinstitucional, a interdisciplinaridade e a formação técnico-científica voltada para atuação interprofissional. A proposta é interdisciplinar pois envolve Genética, Bioquímica, Estatística, Química, Computação, Evolução e também Interprofissional, uma vez que há integração entre médicos, biólogos, biomédicos, e farmacêuticos.

Esta iniciativa é autorizada pelo comitê de ética e pesquisa (CAAE 89223825.7.0000.5071) e registrada no PROEX UFES(5039).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Oito estudantes de graduação e pós-graduação foram treinados. Foram recebidos no BRVusES os dados clínicos e genéticos de 14 pacientes com resultado do exame de DNA inconclusivo, dos quais 9 (64.29%) do sexo masculino e 5 (35.71%) do sexo feminino, com idade variando de 3 a 53 anos (média de 22,57 anos), mostrando o quão tardio tem sido o diagnóstico das DR. A maioria dos pacientes apresentou fenótipo com alterações neuromusculares.

Foram identificadas 29 variantes nos exames dos pacientes analisados. Dessas, 24 foram classificadas como VUS e foram encaminhadas ao BRVusES para o processo de revisão. As cinco (17,24%) variantes restantes classificadas como P ou LP foram identificadas em dois pacientes distintos, ambas acompanhadas por uma VUS nos resultados dos seus exames genéticos. Todas as VUS recebidas são do tipo missense.

Por meio de análises utilizando a IA *Franklin*, foi possível a reclassificação de 6 das VUS recebidas (25%), das quais: 2/6 (33.33%) foram reclassificadas como P, 3/6 (50%) como LP e 1/6 (16.67%) como benigna. A estratégia possibilitou a reclassificação das VUS recebidas, sendo a maioria reclassificada para LP/P. Pacientes com reclassificação para LP/P receberão novo

aconselhamento genético e completamente distinto do que foi reclassificado para B.

Das VUS recebidas, 18 (75%) VUS identificadas em 11 pacientes diferentes permanecem sem reclassificação, mas em acompanhamento, e esses pacientes continuam com diagnóstico inconclusivo. Embora os avanços trazidos pelas ferramentas de IA sejam promissores, ainda há lacunas quanto à falta de dados genômicos mais amplos e representativos, da população brasileira. Essas limitações corroboram com a necessidade da análise humana altamente qualificada e especializada. Dessa forma, tanto a curadoria manual quanto análises complementares, como da segregação da variante em outras pessoas da família, são fundamentais para a correta interpretação das variantes.

Três casos ilustram a relevância da reclassificação de VUS para o diagnóstico de DR. No primeiro caso, um paciente de 10 anos com suspeita de Distrofia Muscular de Emery-Dreifuss apresentou uma VUS do tipo missense no gene *LMNA* (c.1354G>T, p.Val452Phe), que codifica a lâmina nuclear A/C. Embora inicialmente interpretada como VUS, nossas análises indicaram fortes evidências para reclassificação como LP, devido à localização em um domínio funcional essencial, com presença de variantes semelhantes patogênicas e baixa frequência populacional.

No segundo caso, uma paciente de 37 anos, filha de pais consanguíneos, apresentou leucodistrofia e outras alterações neurológicas associadas à VUS *GJC2*:c.108C>G:p.(Ile36Met) em homozigose, previamente reportada apenas na Itália. A reavaliação funcional in silico dessa variante, junto com a análise de segregação do trio pai, mãe e probanda, permitiu correlacionar o genótipo ao fenótipo da Pelizaeus-Merzbacher-like Disease 1 (PELD1), contribuindo para o diagnóstico e possibilitando ajuste na conduta clínica, bem como da curadoria do gene para o fenótipo..

O terceiro caso envolveu uma paciente de 16 anos, com quadro clínico complexo com comprometimento imunológico, incluindo leucopenia recorrente, infecções e manifestações autoimunes. O exoma revelou variantes relevantes em *ELOVL4, MMP20* e *HFE*, além de uma VUS em *PRKCD,* sugerindo um erro inato da imunidade do espectro *ALPS-like/PRKCD-related disease*. E??

Esses três casos e outros acompanhados e avaliados pelo BRVusES ilustram como a reanálise contínua das VUS é fundamental para melhorar a acurácia diagnóstica, definir condutas e promover avanços no conhecimento genético e clínico das DR.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A reanálise contínua de VUS tem impacto direto na conclusão do diagnóstico de DR. A experiência inicial do BRVusES mostra-se como um serviço pioneiro e reforça a importância e necessidade de iniciativas similares, inclusive em âmbito nacional. Além dos dados quantitativos gerados, desconhecidos no Brasil e no ES, os resultados incluem a redução da incerteza diagnóstica para famílias atendidas, treinamento de profissionais e estudantes, a criação de um protocolo para retorno de resultados genômicos reavaliados, bem como a criação de materiais educativos para os pacientes e familiares do HUCAM/UFES. O envolvimento ativo do corpo discente e docente têm favorecido a formação prática em bioinformática, a análise crítica da literatura científica voltada à avaliação do impacto de variantes genéticas, além de proporcionar contato direto com demandas reais do SUS. Assim, essa iniciativa demonstra o potencial transformador de ações construídas a partir das demandas dos serviços públicos, unindo teoria e prática e fortalecendo o compromisso social da universidade em promover maior equidade no acesso a diagnósticos de precisão e cuidados personalizados.

AGRADECIMENTOS:

Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo - FAPES. Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes - HUCAM; Proex- Universidade do Espírito Santo - UFES; Centro de Estudos do Genoma Humano e Células - Tronco (CEGH-CEL); Universidade de São Paulo - USP;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREIS TF, *et al,* **Challenges in periodic revision of genetic testing results: Comparison of the main classification guidelines and report of a retrospective analysis involving BRCA1/BRCA2 variants of uncertain significance.** Gene. 2023 Apr 30;862:147281. doi: 10.1016/j.gene.2023.147281. Epub 2023 Feb 10. PMID: 36775216.

COSTA S, *et al.* **Impact of Genetic Variant Reassessment on the Diagnosis of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy Based on the 2010 Task Force Criteria.** Circ Genom Precis Med. 2021 Feb;14(1):e003047. doi: 10.1161/CIRCGEN.120.003047. Epub 2020 Nov 24. PMID: 33232181.

JORDE, Lynn B. **Genética Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2017. E-book. p.237. ISBN 9788595151659. Disponível em: https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788595151659/.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Brasil, ; **Entendendo as Doenças Raras** https://blog.mendelics.com.br/classificacao-variantes-patogenicas-acmg/; acessado em 20 de abril de 2024

PANDEY, A., & GUPTA, S. P. (2024). **Personalized Medicine: A Comprehensive Review**. *Oriental Journal of Chemistry*, *40*(4), 933–944. https:////doi.org/10.13005/ojc/400403

QUIAT D, *et al*. **Retrospective analysis of clinical genetic testing in pediatric primary dilated cardiomyopathy: testing outcomes and the effects of variant reclassification.** J Am Heart Assoc 2020;9:e016195.

RICHARDS S, *et al.* **ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology.** Genet Med. 2015 May;17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30. Epub 2015 Mar 5. PMID: 25741868; PMCID: PMC4544753.

ROY, S *et al*. **Automating Next-Generation Sequencing Result Interpretation and Reporting Workflow in a Clinical Laboratory**, The Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 16, No. 1, January 2014

SORELLE JA, *et al.* **Clinical Utility of Reinterpreting Previously Reported Genomic Epilepsy Test Results for Pediatric Patients**. JAMA Pediatr. 2019 Jan 1;173(1):e182302. doi: 10.1001/jamapediatrics.2018.2302. Epub 2019 Jan 7. PMID: 30398534; PMCID: PMC6583457.

WALSH, *et al*. (2024) - WALSH N, *et al*. **Variant reclassification and clinical implications**. J Med Genet. 2024 Feb 21;61(3):207-211. doi: 10.1136/jmg-2023-109488. PMID: 38296635.