

Síndrome de Shwachman-Diamond: Limitações do Sequenciamento do Exoma Completo para Identificação de Variantes no Gene *SBDS*

Lucas Galiza Cerdeira Gonzalez¹, Bianca Abdala¹, Daltro Castelar Júnior¹, Júlia Valeriano de Almeida¹, Maria Eduarda Gomes¹, Naiara Gomes¹, Paula Bergamo de Almeida Silva¹, Sandra Vitória Thuler Pimentel¹, Ana Laura da Costa Medeiros¹, Heloisa Griesse Luciano dos Santos¹, Ruth Elisa Sued Paulino¹, Anneliese Barth¹, Patrícia Correia¹, Juan Clinton Llerena Jr¹, Sayonara Gonzalez¹;

1-INSTITUTO FERNANDES FIGUEIRA (IFF-FIOCRUZ)/SERVIÇO DE REFERÊNCIA PARA DOENÇAS RARAS - SRDR/IFF/FIOCRUZ

INTRODUÇÃO

A síndrome de Shwachman-Diamond (OMIM#260400) (SSD) é uma condição de herança autossômica recessiva, caracterizada por síndrome disabsortiva, alterações esqueléticas e anormalidades hematológicas.^{1,2} Variantes patogênicas no gene *SBDS* (*SBDS* ribosome maturation factor) são a principal causa genética associada à SSD.² O sequenciamento do exoma completo por fragmentos curtos, é amplamente utilizado para a detecção de variantes no gene *SBDS*, mas pode apresentar limitações devido ao alto grau de homologia de sequência entre o gene *SBDS* e o seu pseudogene *SBDSP1*, aumentando a probabilidade de desalinhamento das leituras no processo de mapeamento.

^{1,2}

OBJETIVO

No presente estudo, foi realizado o sequenciamento do exoma completo de um paciente com sintomas sugestivos de SSD, incluindo diarreia crônica e insuficiência pancreática exócrina, déficit de crescimento e suspeita de microcefalia primária, com o objetivo de identificar variantes causais.

METODOLOGIA

Após a obtenção do TCLE (5.079.483), o DNA genômico foi isolado a partir de sangue periférico e o sequenciamento do exoma completo foi realizado. A biblioteca genômica foi construída utilizando o *Illumina Exome V2.0* (200 ciclos) seguida do sequenciamento na plataforma *NovaSeq 6000* (Illumina). O processamento e a análise dos dados foram conduzidos no *webserver* Varstation e as variantes foram classificadas de acordo com as diretrizes do ACMG/ClinGen.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A priorização de variantes causais possibilitou a identificação de uma alteração patogênica de *splicing* (c.258+2T>C) no gene *SBDS* (Figura 1), com frequência alélica sugestiva de homozigose. Apesar de nenhuma outra variante ter sido chamada com base no *pipeline* de processamento de variantes, a análise manual do arquivo de alinhamento de sequências (formato BAM) no IGV revelou a presença de algumas leituras contendo as variantes c.183_184TA>CT e c.201A>G (5 leituras de 106) (Figura 1), as quais foram descartadas pelo *software* por serem consideradas de baixa qualidade.

A coocorrência em heterozigose composta do alelo c.258+2T>C (Figura 2) com um alelo contendo as variantes c.183_184TA>CT e c.201A>G (Figura 2) foi previamente associada ao fenótipo de SSD.^{1,2} Relatos anteriores indicam que a presença simultânea dessas alterações em uma mesma leitura compromete o mapeamento correto ao *locus* do gene *SBDS*, resultando no alinhamento preferencial das leituras ao pseudogene *SBDSP1*.

^{1,2} Esse evento dificulta a determinação da zigosidade da variante c.258+2T>C e contribui para a subdetecção das variantes c.183_184TA>CT e c.201A>G.^{1,2} Assim, a determinação precisa da zigosidade e da fase dessas variantes requer o uso de metodologias ortogonais, como o sequenciamento pelo método de Sanger.^{1,2}

CONCLUSÃO

Os achados aqui descritos evidenciam as limitações do sequenciamento de exoma por leitura curta na detecção de variantes patogênicas em genes com pseudogenes, como o gene *SBDS*. Tal fato aumenta o risco de resultados falso-negativos, indicando a necessidade de metodologias complementares, a fim de evitar erros diagnósticos e garantir um manejo clínico adequado.

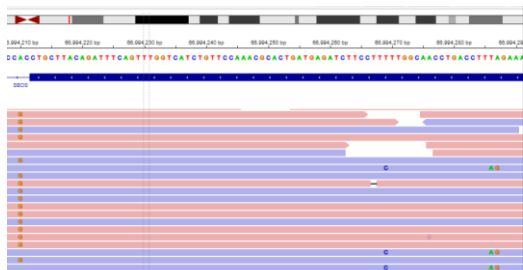


Figura 1: IGV do paciente avaliado no nosso serviço.

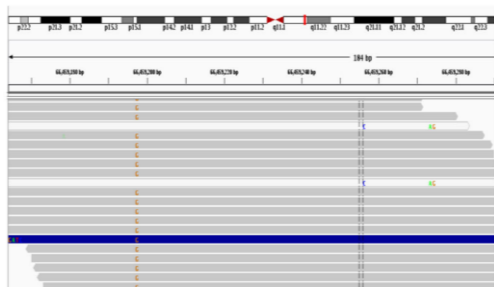


Figura 2: IGV do paciente da literatura.

REFERÊNCIAS

- 1-Yamada M, Uehara T, Suzuki H, et al. Shortfall of exome analysis for diagnosis of Shwachman Diamond syndrome: Mismatching due to the pseudogene SBDSP1. Am J Med Genet Part A. 2020;1-6. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61598>
- 2-Lee H, Lee JA, Lee H, Lee JS, Ko JM, Kim MJ, Seong MW. Variant Allele Frequency of Pseudogene-Related Variants in Short-read Next-Generation Sequencing Data May Misdetermine Genetic Diagnosis: A Case of Shwachman-Diamond Syndrome. Ann Lab Med. 2023 Nov 1;43(6):638-641. doi: 10.3343/alm.2023.43.6.638. Epub 2023 Jun 30. PMID: 37387500; PMCID: PMC10345175.