

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR**

**IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÕES  
GERMINATIVAS EM PACIENTES COM CÂNCER  
PAPILÍFERO FAMILIAR DE TIREOIDE  
ATRAVÉS DE ANÁLISE DE EXOMA**

**Débora Chaves Moraes Ribeiro**

**Orientador: Prof. Luiz Armando Cunha de Marco**

**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Luciana Bastos Rodrigues**

**Belo Horizonte**

**2018**

**IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÕES  
GERMINATIVAS EM PACIENTES COM CÂNCER  
PAPILÍFERO FAMILIAR DE TIREOIDE  
ATRAVÉS DE ANÁLISE DE EXOMA**

**Débora Chaves Moraes Ribeiro**

**Débora Chaves Moraes Ribeiro**

**IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÕES  
GERMINATIVAS EM PACIENTES COM CÂNCER  
PAPILÍFERO FAMILIAR DE TIREOIDE  
ATRAVÉS DE ANÁLISE DE EXOMA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em  
Medicina Molecular da Universidade Federal de Minas  
Gerais, como requisito para qualificação no doutorado em  
Medicina Molecular

Área de concentração: *Medicina Molecular*

Linha de pesquisa: *Oncologia*

Orientador: *Prof. Dr. Luiz Armando Cunha de Marco*  
Co-Orientadora: *Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luciana Bastos Rodrigues*

Belo Horizonte  
Faculdade de Medicina da UFMG

2018

R484i Ribeiro, Débora Chaves Moraes.  
Identificação de mutações germinativas em pacientes com Câncer Papilífero Familiar de Tireoide através de Análise de Exoma [manuscrito]. / Débora Chaves Moraes Ribeiro. - - Belo Horizonte: 2018.  
125f.: il.  
Orientador (a): Luiz Armando Cunha de Marco.  
Coorientador (a): Luciana Bastos Rodrigues.  
Área de concentração: Medicina Molecular.  
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Câncer Papilífero da Tireoide. 2. Exoma. 3. Peptidilprolil Isomerase de Interação com NIMA. 4. Domínios de Homologia à Plecstrina. 5. Receptores Purinérgicos P2X5. 6. Dissertação Acadêmica. I. Marco, Luiz Armando Cunha de. II. Rodrigues, Luciana Bastos. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WQ 205

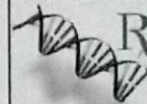
Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697

---



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR



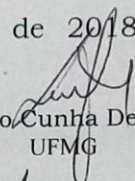
## FOLHA DE APROVAÇÃO


### IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÕES GERMINATIVAS EM PACIENTES COM CÂNCER PAPILÍFERO FAMILIAL DE TIREÓIDE ATRAVÉS DE ANÁLISE DE EXOMA

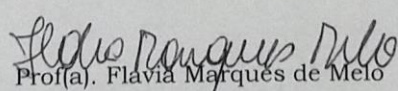
### DEBORA CHAVES MORAES RIBEIRO

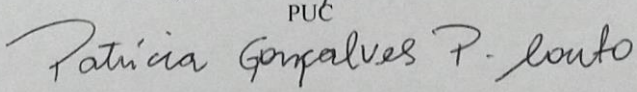
Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA MOLECULAR, como requisito para obtenção do grau de Doutor em MEDICINA MOLECULAR, área de concentração MEDICINA MOLECULAR.

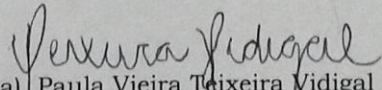
Aprovada em 21 de dezembro de 2018, pela banca constituída pelos

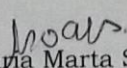
  
Prof(a). Luiz Armando Cunha De Marco - Orientador  
UFMG

  
Prof(a). Luciana Bastos Rodrigues – Co-orientadora  
UFMG

  
Prof(a). Flávia Marques de Melo  
PUC

  
Prof(a). Patricia Gonçalves Pereira Couto  
Laboratório Hermes Pardini

  
Prof(a). Paula Vieira Teixeira Vidigal  
UFMG

  
Prof(a). Maria Marta Sarquis Soares  
UFMG

Belo Horizonte, 21 de dezembro de 2018.

*Dedico esse trabalho aos meus pais, ao Eugênio Ribeiro, ao João Guilherme, as minhas irmãs e ao Eduardo Galo. A eles, toda minha admiração, amor e gratidão.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as oportunidades de aprendizado e crescimento, e pela beleza e grandiosidade da vida;

Aos meus pais, meus grandes exemplos de integridade, superação, virtude e compaixão, agradeço, com toda admiração e gratidão, pela convivência, força, amor, paciência, carinho e cuidado;

Ao Eugênio, meu grande companheiro, pessoa extremamente virtuosa, agradeço pelo apoio, força, amor, pelos questionamentos e sorrisos;

Ao professor Luiz Armando Cunha de Marco, pela orientação, pela confiança, pela compreensão e paciência nos momentos que se fizeram necessários, e pelas admiráveis seriedade e dedicação para com a formação dos alunos;

À Mariana Costa Rossette, pela amizade, e por ter acreditado no meu sonho e me dado a oportunidade de desenvolver pesquisa na área da medicina;

À professora Luciana Rodrigues, por todas as contribuições, apoio, orientações e pela dedicação aos trabalhos que realiza;

Aos pesquisadores Helena Sarubi, Flávia Melo, Patrícia Couto, Franciele Bianchini e Pedro Azevedo pelas leituras sugeridas, pelos debates e ensinamentos;

Aos colegas e amigos do laboratório de Medicina Molecular da UFMG, em especial à Helia Tenza, Alexandre Magno e Daniela Valadão pela agradável convivência e aprendizados;

A todos os alunos de Iniciação Científica que colaboraram para a realização das pesquisas, em especial aos alunos: Fabiana Versiani, Izabela Paim, e Luiz Felipe Lima pela dedicação e comprometimento;

À banca examinadora agradeço por aceitarem o convite;

A todos os meus familiares e amigos, agradeço pela motivação e afeto;

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de doutorado, que permitiu a minha formação no curso e o desenvolvimento dessa pesquisa.



## RESUMO

O câncer de tireoide é o tumor maligno mais comum do sistema endócrino e representa 2,1% dos diagnósticos de câncer em todo o mundo. O carcinoma papilífero da tireoide (PTC) corresponde a mais de 80% dos casos desse tumor e é predominantemente esporádico. Casos de PTC hereditários consistem em 5%, tendem a ter início mais precoce, além de maiores riscos de metástase e de recorrência. O PTC familiar é uma doença geneticamente heterogênea, cuja patogênese não está associada às variantes observadas no carcinoma papilífero de tireoide esporádico. Assim, ainda permanecem desconhecidas as alterações moleculares associadas à carcinogênese da tireoide na maioria das famílias acometidas pelo PTC. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar a base genética de PTC em três famílias brasileiras (Famílias A, B e C) compostas por dois ou mais parentes de primeiro grau com o fenótipo do tumor de tireoide. Mutações germinativas foram pesquisadas em pelo menos um integrante de cada família utilizando-se o sequenciamento completo do exoma, enquanto o sequenciamento de Sanger foi utilizado para validação das mutações encontradas nos exomas e para genotipagem dos genes candidatos nos outros indivíduos de cada família. Foram identificadas sete variantes que podem estar associadas à suscetibilidade para PTC familiar. Dentre as variantes candidatas, foram observadas duas na Família A (p.D283N no gene *ANXA3* e p.Y157S no gene *NTN4*), uma na Família B (p.G172W no gene *SERPINA1*), quatro na Família C (p.G188S no gene *FKBP10*, p.R937C no gene *PLEKHG5*, p.L32Q no gene *P2RX5*, e p.Q76\* no gene *SAPCD1*). Essas mutações foram validadas pelo Sequenciamento de Sanger e também estavam presentes nos demais membros das respectivas famílias. Não foram validadas variantes candidatas comuns a todas as famílias. Mais estudos são necessários para a compreensão do papel exato dessas variantes, bem como a avaliação da presença destas mutações em outras famílias com PTC.

**Palavras-chave:** câncer papilífero familiar de tireoide; exoma; *FKBP10*; *PLEKHG5*; *P2RX5*; *SAPCD1*; *ANXA3*; *NTN4*; *SERPINA1*

## ABSTRACT

Thyroid cancer is the most common malignant tumor of the endocrine system and accounts for 2.1% of cancer diagnoses worldwide. Papillary thyroid carcinoma (PTC) accounts for more than 80% of cases of this tumor and is predominantly sporadic. Hereditary PTC consists of 5% of the cases and tend to have an earlier onset, besides greater risks of metastasis and recurrence. Familial PTC is a genetically heterogeneous disease whose pathogenesis is not associated with the observed variants in sporadic papillary thyroid carcinoma. Thus, the molecular alterations associated with thyroid carcinogenesis in most families affected by PTC remain unknown. In this context, the objective of this study was to determine the genetic basis of PTC in three Brazilian families (Families A, B and C) composed of two or more first degree relatives that have the thyroid tumor phenotype. Germline mutations were screened in at least one member of each family using complete exome sequencing, while Sanger sequencing was used to validate the mutations found in exomes and to genotype candidate genes in the other individuals of each family. Seven variants that may be associated with susceptibility to PTC have been identified. Among the candidate variants, two in Family A were detected (p.D283N in the *ANXA3* gene and p.Y157S in the *NTN4* gene), apart from one in Family B (p.G172W in the *SERPINA1* gene) and four in Family C (p.G188S in the gene *FKBP10*, p.R937C in the *PLEKHG5* gene, p.L32Q in the *P2RX5* gene, and p.Q76\* in the *SAPCD1* gene). These mutations were validated by the Sanger Sequencing and were also present in the other members of the respective families. Candidate variants that were common to all families were not validated. More studies are needed to understand the exact role of these variants, as well as to evaluate the presence of these mutations in other families with PTC.

**Keywords:** Familial papillary thyroid carcinoma; exoma; *FKBP10*; *PLEKHG5*; *P2RX5*; *SAPCD1*; *ANXA3*; *NTN4*; *SERPINA1*

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1</b>	<b>TIREOIDE</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2</b>	<b>CÂNCER DE TIREOIDE</b> .....	<b>16</b>
1.2.1	<i>Patogênese do câncer tireoide</i> .....	21
1.2.2	<i>Alterações genéticas no PTC esporádico</i> .....	22
1.2.3	<i>Alterações genéticas no PTC familiar não síndrômico</i> .....	27
1.2.4	<i>Diagnóstico e tratamento do câncer papilífero de tireoide</i> .....	31
<b>1.3</b>	<b>ANÁLISE DE EXOMA COMO FERRAMENTA NA ELUCIDAÇÃO DA CARCINOGENESE</b> .....	<b>35</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>38</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b>IDENTIFICAÇÃO DOS PACIENTES E DOS CONTROLES</b> .....	<b>39</b>
<b>3.2</b>	<b>EXTRAÇÃO DE DNA DE LEUCÓCITOS DE SANGUE PERIFÉRICO</b> .....	<b>41</b>
<b>3.3</b>	<b>EXTRAÇÃO DE DNA DE TECIDO TUMORAL INCLUÍDO EM PARAFINA</b> .....	<b>41</b>
<b>3.4</b>	<b>SEQUENCIAMENTO DO EXOMA</b> .....	<b>42</b>
<b>3.5</b>	<b>ANÁLISE DO SEQUENCIAMENTO COMPLETO DO EXOMA ATRAVÉS DE BIOINFORMÁTICA</b> .....	<b>43</b>
3.5.1	<i>Alinhamento e detecção de variantes candidatas</i> .....	43
3.5.2	<i>Mutações encontradas em ambos os programas Ingenuity Variant Analysis™ e Mendel, MD com potencial associação ao desenvolvimento de câncer familiar papilífero de tireoide</i> .....	47
<b>3.6</b>	<b>VALIDAÇÃO DAS VARIANTES CANDIDATAS SELECIONADAS</b> .....	<b>48</b>
<b>3.7</b>	<b>AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DAS VARIANTES VALIDADAS NA POPULAÇÃO CONTROLE E EM OUTROS MEMBROS DAS FAMÍLIAS ESTUDADAS</b> .....	<b>52</b>
<b>3.8</b>	<b>AVALIAÇÃO DAS VARIANTES VALIDADAS COM BASE SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO DE VARIANTES SEGUNDO A ESCOLA AMERICANA DE GENÉTICA E GENÔMICA MÉDICA (ACMG)</b> .....	<b>52</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>54</b>
<b>4.1</b>	<b>CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES</b> .....	<b>54</b>
<b>4.2</b>	<b>RESULTADOS DOS SEQUENCIAMENTOS COMPLETOS DOS EXOMAS</b> .....	<b>55</b>
4.2.1	<i>Família A</i> .....	55
4.2.2	<i>Família B</i> .....	57
4.2.3	<i>Família C</i> .....	59
4.2.4	<i>Equivalência entre as Famílias A, B e C</i> .....	62
4.2.5	<i>Análise nas Famílias A, B e C das mutações previamente descritas na literatura como associadas a patogênese de PTC familiar</i> .....	62
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO E CONCLUSÃO</b> .....	<b>63</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>68</b>
<b>7</b>	<b>APÊNDICE</b> .....	<b>81</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Microscopia da glândula tireoide, na qual se observam as pequenas esferas denominadas folículos tireoidianos (F) preenchidos de colóide. (Fonte: Junqueira <i>et al.</i> , 2017). .....	13
Figura 2: Mecanismos de retroalimentação na síntese dos hormônios tireoidianos. (Fonte: Brasileiro, 2016) .....	14
Figura 3: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018, exceto pele não melanoma. (Fonte: INCA, 2017). .....	17
Figura 4: Modelo estocástico de progressão dos carcinomas derivados do epitélio folicular de tireoide. (Fonte: Chmielik <i>et al.</i> , 2018, modificado).....	22
Figura 5: Modelo de formação dos carcinomas de tireoide a partir de células-tronco. (Fonte: Chmielik <i>et al.</i> , 2018. modificado).....	22
Figura 6: Eventos moleculares no câncer de tireoide associados a alterações no gene <i>BRAF</i> e rearranjo no gene <i>RET</i> .....	24
Figura 7: Etapas sequenciais da técnica de <i>WES</i> . (Fonte: Bamshad <i>et al.</i> , 2011, modificado) 37	
Figura 8: Heredogramas das famílias com PTC estudadas no presente trabalho: a) Família A, b) Família B e .....	40
<b>Figura 9:</b> Heredograma da Família A e genótipos associados ao fenótipo de PTC. Círculos e quadrados representam indivíduos femininos e masculinos, respectivamente. O probando é indicado por seta preta. Os membros falecidos são representados por linhas diagonais. (A) Heredograma da Família A, a qual apresenta membros afetados por câncer papilífero de tireoide. (B) Eletroferogramas das mutações germinativas de sentido trocado identificadas em heterozigose nos casos II.2, III.1, III.2 e III.3 da Família A. ....	57
<b>Figura 10:</b> Heredograma da Família B e genótipo associado ao fenótipo de PTC. Círculos e quadrados representam indivíduos femininos e masculinos, respectivamente. O probando é indicado por seta preta. Os membros falecidos são representados por linhas diagonais. (A) Heredograma da Família B, a qual apresenta membros afetados por câncer papilífero de tireoide. (B) Eletroferograma da mutação germinativa de sentido trocado identificadas em heterozigose nos casos II.1, I.2 e (a confirmar) II.2. ....	59
<b>Figura 11:</b> Heredograma da Família C e genótipos associados ao fenótipo de PTC. Círculos e quadrados representam indivíduos femininos e masculinos, respectivamente. O probando é indicado por seta preta. Os membros falecidos são representados por linhas diagonais. (A) Heredograma da Família C, a qual apresenta membros afetados por câncer papilífero de tireoide. (B) Eletroferogramas das mutações germinativas de sentido trocado ou sem sentido identificadas em heterozigose nos casos I.2, II.1 e II.2 da Família C. ....	61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Descrição das plataformas disponíveis no mercado para análise de expressões gênicas e/ou mutações nos marcadores moleculares do câncer de tireoide. ....	27
Tabela 2: Variantes germinativas envolvidas na carcinogênese do câncer papilífero familiar de tireoide.....	29
Tabela 3: Classificação de Bethesda (ano 2017) para exames citológicos de tireoide.....	32
Tabela 4: Parâmetros utilizados na classificação TNM/AJCC de câncer papilífero, folicular, pouco diferenciados e anaplásicos de tireoide.....	34
Tabela 5: Descrição dos estádios dos carcinomas de tireoide. ....	35
<b>Tabela 6:</b> Sequência dos filtros empregados nos programas <i>Ingenuity Variant Analysis</i> <sup>TM</sup> e Mendel, MD.....	46
<b>Tabela 7:</b> Escores das ferramentas utilizadas para análise do efeito das mutações identificadas. ....	48
Tabela 8: Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificar as variantes candidatas identificadas no sequenciamento do exoma paciente II.2 da Família A. ....	49
Tabela 9: Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificar a variante candidata identificada no sequenciamento do exoma do paciente II.1 da Família B.....	49
Tabela 10: Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificar a variante candidata identificada em comum nos sequenciamentos dos exomas dos pacientes II.2 da Família A, II.1 da Família B, I.2. e II.1 da Família C. ....	49
Tabela 11: Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificar as variantes candidatas identificadas nos pacientes I.2 e II.1 da Família C. ....	50
<b>Tabela 12:</b> Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificação do éxon 15 do gene <i>BRAF</i> . ....	52
<b>Tabela 13:</b> Critérios para classificação de variantes patogênicas ou possivelmente patogênicas segundo Richards <i>et al.</i> (2015). ....	53
<b>Tabela 14:</b> Dados clínicos dos pacientes analisados integrantes das Famílias A, B e C que apresentam PTC.....	55
Tabela 15: Análise do efeito funcional das mutações encontradas na Família A usando as ferramentas <i>Provean</i> , <i>Polyphen2</i> , <i>SIFT</i> e <i>CADD</i> .....	56

Tabela 16: Fatores empregados na seleção de genes/mutações potencialmente associados ao desenvolvimento de CPT na Família A.....	56
Tabela 17: Análise do efeito funcional da mutação encontrada na Família B usando as ferramentas <i>Provean</i> , <i>Polyphen2</i> , <i>SIFT</i> e <i>CADD</i> .....	58
Tabela 18: Fatores avaliados para seleção de genes/mutações potencialmente associados ao	58
Tabela 19: Análise do efeito funcional das mutações encontradas na Família C usando as ferramentas <i>Provean</i> , <i>Polyphen2</i> , <i>SIFT</i> e <i>CADD</i> .....	60
Tabela 20: Fatores avaliados para seleção de genes/mutações potencialmente associados ao desenvolvimento de CPT na Família C.....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>T3</b>	tri-iodotironina
<b>T4</b>	tiroxina
<b>NIS</b>	simportador sódio-iodo
<b>TPO</b>	enzima tireoperoxidase
<b>TSH</b>	hormônio estimulante da tireóide
<b>TTR</b>	transtirretina
<b>MTC</b>	carcinoma medular de tireoide
<b>NMTC</b>	carcinoma não medular de tireoide
<b>DTC</b>	tumores diferenciados de tireoide
<b>ATC</b>	carcinoma anaplásico de tireoide
<b>PTC</b>	carcinoma papilífero da tireoide
<b>FNMTC</b>	carcinomas não medulares familiares de tireóide
<b><i>BRAF</i></b>	proto-oncogene <i>BRAF</i>
<b>MAPK</b>	proteínas quinase ativadas por mitógenos
<b>RET/PTC</b>	translocação RET/PTC
<b><i>TERT</i></b>	gene da Transcriptase reversa da telomerase
<b><i>RAS</i></b>	proto-oncogene <i>RAS</i>
<b>Raf</b>	proteína Raf quinase
<b>MEK</b>	quinase ativadora da MAP quinase
<b>PI3K/Akt</b>	via de sinalização celular PI3K/Akt
<b>RFG</b>	gene RFG
<b><i>NTRK</i></b>	gene <i>NTRK</i>
<b><i>PAX8/PPAR<math>\gamma</math></i></b>	rearranjo dos genes <i>PAX8/PPAR<math>\gamma</math></i>
<b>miRNA</b>	micro RNA
<b><i>SRGAP1</i></b>	gene <i>SRGAP1</i>
<b>*MIM</b>	símbolo usado no banco de dados OMIM para designar genes
<b><i>TTF-1/NKX2.1</i></b>	gene do fator de transcrição da tireoide
<b><i>FOXE1</i></b>	gene <i>FOXE1</i>
<b><i>HABP2</i></b>	gene <i>HABP2</i>

<b><i>SRRM2</i></b>	gene <i>SRRM2</i>
<b><i>MAP2K5</i></b>	gene <i>MAP2K5</i>
<b>TCO</b>	Locus TCO do cromossomo humano
<b>MNG1</b>	Locus MNG1 do cromossomo humano
<b>US</b>	Ultrassom
<b>CAAF</b>	citologia aspirativa com agulha fina
<b><sup>131</sup>I</b>	iodo radioativo
<b>sistema TNM/AJCC</b>	sistema TNM de estadiamento de câncer segundo o Comitê Americano de Câncer

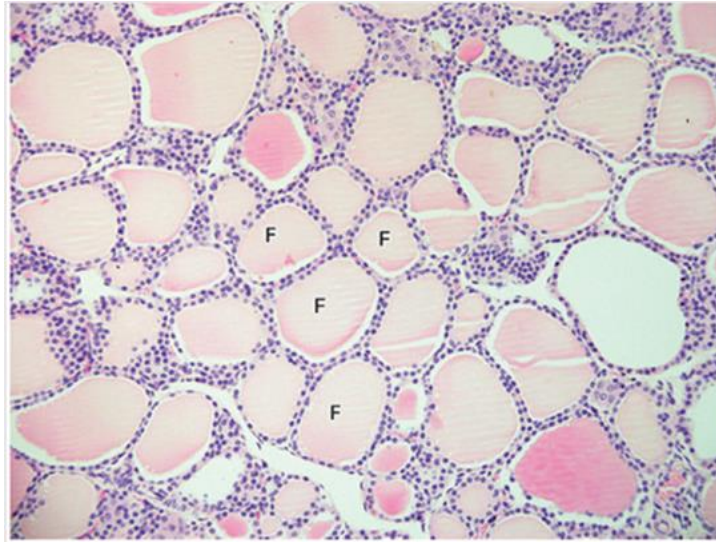


# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Tireoide

A tireoide é uma glândula endócrina cuja função é a de sintetizar os hormônios calcitonina, tiroxina (T4) e tri-iodotironina (T3) (Junqueira *et al.*, 2017). A glândula apresenta em média 20 a 30g, sendo composta por dois lobos laterais, cada um deles de, aproximadamente, 4cm X 2cm X 4cm. Situa-se na porção anterior do pescoço, profundamente aos músculos esternotireoideo e esterno-hióideo, e é acessível à palpação, sobretudo quando sofre hiperplasia ou contém nódulos (Brasileiro, 2016). A glândula cobre a superfície anterolateral da traqueia, e as porções laterais e inferiores das cartilagens cricóide e tireoide. Possui uma base (ou pólo inferior) na altura da sétima vértebra cervical, e um ápice (ou pólo superior) no nível da quinta vértebra cervical (Moore, 2014; Porto, 2014). A tireoide é revestida por uma cápsula de tecido conjuntivo frouxo que envia septos para o parênquima (Porto, 2014; Junqueira *et al.*, 2017). Microscopicamente são identificadas ao longo de toda a extensão da glândula pequenas esferas de 0,2 a 0,9 mm de diâmetro, denominadas folículos tireoidianos. Estes são compostos por células foliculares (tireócitos) organizadas em uma única camada de epitélio simples, e são preenchidos por colóide rico em hormônios tireoidianos T3 e T4 (Junqueira *et al.*, 2017).

Nos folículos tireoideanos pode ser encontrada também outro tipo de célula, a célula parafolicular ou célula C. Entretanto, mais comumente as células C formam agrupamentos isolados entre esses folículos (Figura 1). As células parafoliculares produzem o hormônio calcitonina, cujo efeito principal é inibir a reabsorção de tecido ósseo e, em consequência, diminuir o nível de cálcio no plasma (Junqueira *et al.*, 2017).

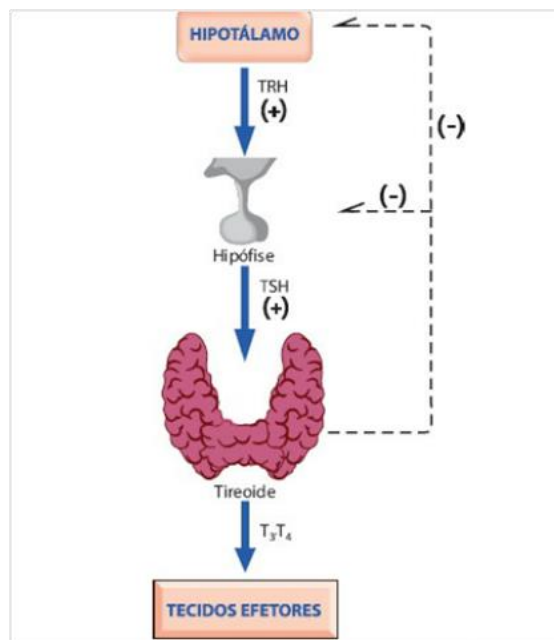


**Figura 1:** Microscopia da glândula tireoide, na qual se observam as pequenas esferas denominadas folículos tireoidianos (F) preenchidos de colóide. (Fonte: Junqueira *et al.*, 2017).

A síntese e a secreção dos hormônios T3 e T4 na tireoide transcorrem nas seguintes etapas principais: 1) iodeto circulante é transportado para o interior dos tireócitos através de transporte ativo mediado pelo simportador sódio-iodo (NIS); 2) o iodeto captado é liberado para a luz folicular através da pendrina; 3) o iodeto é oxidado e organificado (ou seja, os resíduos tirosina da tireoglobulina são iodados) com a participação da enzima tireoperoxidase (TPO) na presença do cofator peróxido de hidrogênio; 4) no colóide presente na luz folicular iodotirosinas se acoplam formando T3 e T4; 5) gotículas do coloide são internalizadas nos tireócitos e caminham para o polo basal dessas células, onde sofrem ação enzimática que resulta na liberação dos hormônios tireoidianos T3 (com maior atividade biológica) e T4 para os tecidos periféricos. Nestes, o T4 é então convertido em T3 pela ação de desiodinases (Wajchenberg *et al.*, 2014).

Diversos mecanismos estão associados ao equilíbrio dos níveis de T3 e de T4 no organismo (Porto, 2014; Wajchenberg *et al.*, 2014). O crescimento celular e a mitogênese, bem como a produção e liberação dos hormônios T3 e T4 para o sistema circulatório são regulados positivamente pelo hormônio estimulante da tireoide (TSH). Este hormônio, produzido pela adeno-hipófise, tem sua síntese inibida pelos hormônios tireoidianos

(*feedback* negativo) circulantes (Porto, 2014). T3 é o principal hormônio tireoidiano que gera *feedback negativo*, regulando a expressão gênica de TSH e do hormônio liberador da tireotrofina (TRH). A secreção de TSH também é inibida por somatostatina, dopamina, agonistas dopaminérgicos como a bromocriptina e glicocorticoides. A síntese de TSH é, por sua vez, estimulada pelo TRH produzido no hipotálamo (Wajchenberg *et al.*, 2014) (Figura 1Figura 2).



**Figura 2:** Mecanismos de retroalimentação na síntese dos hormônios tireoidianos. (Fonte: Brasileiro, 2016)

Cerca de 95% dos hormônios T3 e T4 circulantes encontram-se unidos às proteínas transportadoras denominadas globulina transportadora de tiroxina (TBG), transtirretina (TTR) e albumina. Porém, a fração de hormônio circulante livre é a única com capacidade de ingressar nas células e exercer seus efeitos (Junqueira *et al.*, 2017). Em condições normais, os valores séricos do TSH variam entre 0,5 mUI/ℓ e 5,5 mUI/ℓ, enquanto os níveis de T4 livre sérica ficam em torno de 0,7 a 1,9 ng/dL (Wajchenberg *et al.*, 2014).

De acordo com Wajchenberg *et al.* (2014) e com Junqueira *et al.* (2017), T3 se liga a receptores nucleares específicos nas células-alvo para então promover:

- I) controle da expressão de genes transcricionais;
- II) mudanças na expressão celular de determinadas proteínas, com consequente resposta funcional nos tecidos-alvo;
- III) aumento da utilização celular de glicose nos tecidos extra-hepáticos;
- IV) estímulo da neoglicogênese hepática;
- V) estímulo da síntese proteica e do consumo de oxigênio no organismo;
- VI) aumento do número de mitocôndrias nas células;
- VII) aumento da absorção de carboidratos no intestino;
- VIII) regulação do metabolismo de lipídios;
- IX) influenciam o desenvolvimento do sistema nervoso durante a vida fetal, e o crescimento somático e do desenvolvimento do esqueleto pós-natal.

A tireoide é um órgão extremamente vascularizado por uma extensa rede capilar sanguínea e linfática que envolve os folículos (Junqueira *et al.*, 2017). As artérias que irrigam a glândula tireoide correspondem as artérias tireoideas superior (originária da carótida externa) e inferior (ramo do tronco tireocervical). Dez por cento da população humana têm ainda uma pequena artéria tireoidea imã, originada geralmente no tronco braquiocefálico. A drenagem é realizada pelas veias tireoidianas superiores, médias e inferiores, as quais formam um plexo na face anterior da traqueia. As duas primeiras terminam na veia jugular interna; a inferior drena para as veias braquiocefálicas (Moore, 2014).


Os vasos linfáticos da tireoide, por sua vez, seguem para linfonodos ascendentes mediais (pré-laríngeos), descendentes mediais (pré-traqueais) e descendentes laterais (paratraqueais). Os linfonodos pré-laríngeos drenam para os cervicais profundos

superiores, enquanto os linfonodos pré e paratraqueais drenam para os linfonodos cervicais profundos inferiores. Alguns desses vasos linfáticos podem ainda drenar para os linfonodos braquiocefálicos ou para o ducto torácico. Com relação à inervação, a glândula apresenta nervos vasomotores derivados dos gânglios simpáticos cervicais superiores, médios e inferiores. Desse modo, a secreção endócrina da glândula é controlada, conforme descrito previamente, hormonalmente pela hipófise (Moore, 2014; Porto, 2014).

## **1.2 Câncer de tireoide**

O câncer de tireoide é o tumor maligno mais comum do sistema endócrino e representa 2,1% dos diagnósticos de câncer em todo o mundo. Nas últimas décadas houve mundialmente uma elevação da incidência desse tumor, a qual passou a ser de 4,6 casos por 100.000 indivíduos em 1974-1977 para 14,4 casos por 100.000 indivíduos em 2010-2013 (Kitahara, Sosa 2016; La Vecchia, Negri, 2017). Essa mudança está associada ao aumento da longevidade da população, das oportunidades de diagnóstico, e da exposição a fatores de risco ambientais, em especial a radiação ionizante (Kitahara, Sosa, 2016; Nikiforov *et al.*, 2016).

É aproximadamente quatro vezes mais prevalente em mulheres do que em homens, e ocupa a oitava posição no *ranking* dos cânceres que acometem a população feminina no mundo (INCA, 2017). No Brasil, para o ano de 2018 foram estimados 9.610 novos casos de câncer de tireoide, e destes, 8.040 casos eram esperados para ocorrerem em mulheres. Com isso, no ano de 2018, o câncer de tireoide seria o quinto mais incidente na população feminina brasileira (Figura 3), e o 13º mais incidente na população masculina brasileira (com 1.570 casos estimados para os homens) (INCA, 2017).

	Localização Primária	Casos	%
<b>Mulheres</b> 	Mama Feminina	59.700	29,5%
	Cólon e Reto	18.980	9,4%
	Colo do Útero	16.370	8,1%
	Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
	Glândula Tireoide	8.040	4,0%
	Estômago	7.750	3,8%
	Corpo do Útero	6.600	3,3%
	Ovário	6.150	3,0%
	Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
	Leucemias	4.860	2,4%

**Figura 3:** Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018, exceto pele não melanoma. (Fonte: INCA, 2017).

O câncer proveniente das células da tireoide pode ser classificado em carcinoma medular de tireoide (MTC), que se origina das células parafoliculares, bem como em carcinoma não medular (NMTC), o qual se desenvolve a partir das células foliculares e corresponde a cerca de 90% dos casos (Wajchenberg *et al.*, 2014). A classificação citopatológica de nódulos/tumores de tireoide é definida pelo Sistema Bethesda (descrito no item 1.2.4). O carcinoma medular de tireoide pode ser esporádico ou hereditário, o qual está associado a outras neoplasias endócrinas (feocromocitoma, hiperparatireoidismo), a líquen amiloide cutâneo em região interescapular, ganglioneuromas ou fácies típicas, ou história familiar de primeiro grau de portadores da neoplasia e/ou de mutação no RET (Wajchenberg *et al.*, 2014). Metástases linfonodais cervicais são encontradas em 50% dos casos, e metástases à distância, em 20%. Por conseguinte, nos pacientes com maior disseminação da doença, a taxa de sobrevivência de 10 anos é de 15 a 45%, enquanto a dos indivíduos com MTC restrito a taxa é de 95% (Maia *et al.*, 2014). A apresentação clínica mais comum do tumor esporádico corresponde a nódulo tireoidiano único, enquanto no MTC hereditário é geralmente multicêntrico. O diagnóstico tende a ser tardio (geralmente entre 60 e 70 anos) nas formas esporádicas do tumor (Kato *et al.*, 2015).

Os NMTC podem ser tumores diferenciados (DTC) foliculares, DTC papilíferos, tumores anaplásicos ou tumores pobremente diferenciados (Cibas, Ali, 2017). Os DTC totalizam 80% dos casos totais de câncer de tireoide, enquanto os tumores anaplásicos e os pouco diferenciados correspondem, respectivamente a 2% e a 1% dos pacientes afetados. Cerca de 5% a 10% dos casos de tumor de tireoide são causados por células de origem não tireoidiana (linfomas de tireoide, sarcomas, lesões metastáticas, teratomas e endoteliomas) (Wajchenberg *et al.*, 2014; Cibas, Ali, 2017). Metástases para a tireoide ocorrem raramente, sendo as mais comuns de melanoma, câncer de mama, hipernefroma, câncer de pulmão e câncer de cabeça e pescoço (Brasileiro, 2016).

O carcinoma anaplásico (ATC) é um dos tumores sólidos mais agressivos que afetam os seres humanos. A taxa de sobrevida de 10 anos para pacientes com esse tumor é de menos de 5%, sendo que a sobrevida média é de 3 a 5 meses após o diagnóstico (Nagaiah *et al.*, 2011). Cerca da metade dos pacientes com esse tumor tiveram DTC previamente ou têm câncer diferenciado de tireoide coexistente. É mais frequente em mulheres acima dos 50 anos, e geram comumente invasão local e metástases nos pulmões, pleura, ossos e cérebro (Wajchenberg *et al.*, 2014). As manifestações clínicas dos ATC correspondem a massa cervical anterior (de consistência dura e crescimento muito rápido), que na maioria das vezes está associada a sintomas de invasão de estruturas vizinhas (disfagia, estridor inspiratório, dor), e metastização ganglionar e à distância. Sintomas sistêmicos incluem anorexia, perda de peso, e, como consequência de metástases pulmonares, dispnéia (Nagaiah *et al.*, 2011).

O carcinoma folicular de tireoide representa cerca de 15% dos carcinomas diferenciados. Tem maior prevalência em áreas deficientes da ingestão de iodo, e pico de incidência na quinta década de vida. Raramente acarreta em metástases em linfonodos cervicais. Porém, pode gerar metástases à distância em 15-20% dos casos, em especial no

pulmão e em ossos (Wajchenberg *et al.*, 2014; Cipriani *et al.*, 2015). O carcinoma folicular de tireoide geralmente se manifesta como nódulo encapsulado único (com ou sem hemorragia nodular), embora possa se apresentar como nódulo recente em bócio de longa data (Wajchenberg *et al.*, 2014, Katoh *et al.*, 2015). A sobrevida em 10 anos nesses cânceres pode variar de 46% a 97%, dependendo do grau de invasão capsular ou vascular (Cipriani *et al.*, 2015). A variante oncocítica do carcinoma folicular, por exemplo, tem crescimento rápido, grande potencial de invasão vascular e ampla disseminação hematogênica, levando a frequentes metástases pulmonares e pleurais, além de comprometimento dos linfonodos regionais e dos feixes musculares próximos das cadeias linfonodais da região tireoidiana (Brasileiro, 2016). Nesse sentido, os fatores associados a pior prognóstico no carcinoma folicular são idade, invasão vascular, metástases (Ito *et al.*, 2007; Wajchenberg *et al.*, 2014).

O carcinoma papilífero da tireoide (PTC) representa mais de 80% dos casos de carcinomas diferenciados, incide principalmente em indivíduos entre 30 a 50 anos e é mais comum entre as mulheres (Rahbari *et al.*, 2010). Apresenta-se como lesão nodular única ou múltipla, sólida (tumor primário) ou cística (metástase), com ou sem cápsula, e às vezes com hemorragia ou necrose. Microscopicamente observa-se que é constituído por papilas formadas por camada única de células cúbicas, sustentadas por eixo conjuntivo vascularizado (Brasileiro, 2016). Mitoses são raramente identificadas nessas células, as quais possuem núcleos arredondados (maiores do que os das células foliculares) e com aspecto de vidro fosco. Outros achados desse tumor são as células cúbicas com membranas nucleares (olho da órfã Annie) e as estruturas calcificadas no estroma denominadas os corpos psamomatosos (Katoh *et al.*, 2015; Seok *et al.*, 2018).

São descritas diversas variantes para o carcinoma papilífero de tireoide, as quais diferem morfológicamente e em seus prognósticos. A variante clássica é a mais



comumente diagnosticada. Em segundo lugar em prevalência estão as variantes mais agressivas, com potencial de infiltração e maior potencial de disseminação. Elas correspondem a variante folicular, variante esclerosante difusa, variante de células altas, e variante de células claras (Khanafshar, Lloyd, 2011). Outras variantes identificadas são denominadas microcarcinoma papilífero, variante macrofolicular, variante de células claras, variante Warthin-Like, carcinoma papilífero da tireoide com estroma fasceíte nodular, e variante oncocítica (ou células de Hurthle). Esta possui comprometimento biológico e prognóstico semelhante ao do carcinoma papilífero clássico: em geral crescimento é lento e taxa de sobrevida em 10 anos é de 95% (Brasileiro, 2016).

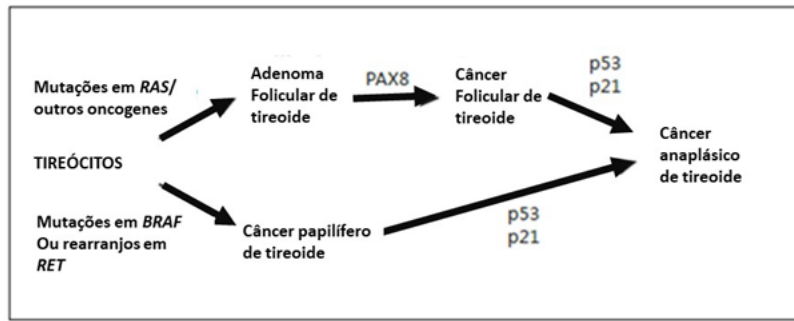
Na apresentação da doença, metástases nos linfonodos cervicais são identificadas em 25% dos pacientes e não se associam a um pior prognóstico. Invasão extratireoidiana é observada em 20% dos pacientes, enquanto 5% têm metástase à distância, principalmente no pulmão (Wajchenberg *et al.*, 2014). O pior prognóstico está associado à presença de pelo menos um dos seguintes fatores: idade mais avançada no diagnóstico, lesões aderentes às estruturas vizinhas, metástases invasivas cervicais ou à distância, e variantes celulares de carcinoma papilífero mais agressivas (DeLellis *et al.*, 2004).

Cerca de 95% de todos os casos de câncer de tireoide são esporádicos, associados a alterações genéticas somáticas, enquanto 5% dos casos são hereditários (Xing, 2013; Zang & Xing, 2016). Casos de carcinoma não medular de tireoide em dois ou mais parentes de primeiro grau são caracterizados como carcinomas não medulares familiares de tireoide (FNMTC). Os carcinomas papilíferos familiares de tireoide correspondem, assim a um tipo de FNMTC e são reconhecidos como uma entidade distinta do câncer papilífero de tireoide esporádico. Podem ser síndrômicos (5% dos casos), o que inclui a doença de Cowden, polipose adenomatosa familiar e complexo de Carney, ou não síndrômicos (95% dos casos) (Fallah *et al.*, 2013; Yang, Ngeow, 2016). Embora

controversas, pesquisas recentes de comparação entre cânceres esporádicos e os FNMTC não síndrômicos demonstraram que os últimos estão associados a menor sobrevida dos pacientes, tendo em vista que esses FNMTC correspondem a tumores que tendem a ser mais multifocais, mais agressivos, com invasões extra-tireoidianas, metástases linfonodais, com início mais precoce, e com maior risco de recorrência (Wang *et al.*, 2015). A maioria dos casos de carcinomas não medulares familiares de tireoide corresponde a carcinoma papilífero de tireoide familiar (Nose, 2011), o qual é tema da presente tese.

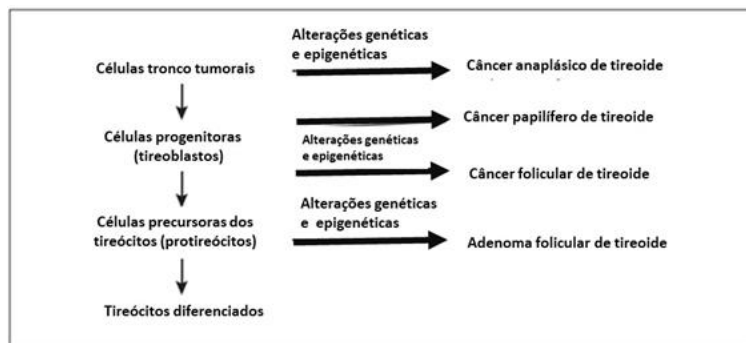
### **1.2.1 Patogênese do câncer tireoide**

Existem duas grandes hipóteses apresentadas para explicar os processos de formação e de heterogeneidade do tumor de tireoide (Chmielik *et al.*, 2018). O modelo estocástico descrito por Namba *et al.* (1990) estabelece que os tumores são monoclonais, ou seja, originados de um clone que sofre alterações genéticas e epigenéticas e vence a barreira do controle da proliferação celular, tornando-se imortal. Desse clone surgem descendentes (subclones) com capacidade variada de sobreviver, de invadir tecidos e de metastatizar. De acordo com essa teoria, os carcinomas foliculares de tireoide (FTC) e os PTC derivam-se, respectivamente, de adenoma folicular e de tireócitos, e os tumores pouco diferenciados e os indiferenciados se desenvolvem a partir de PTCs e de FTCs (Figura 4). Dentre as limitações do modelo estocástico está o fato de alterações genéticas característica de tumores da tireoide diferenciados não estarem presentes no ATC (Chmielik *et al.*, 2018).



**Figura 4:** Modelo estocástico de progressão dos carcinomas derivados do epitélio folicular de tireoide. (Fonte: Chmielik *et al.*, 2018, modificado)

A outra hipótese, descrita por Takano (2014), admite que diferentes linhagens tumorais se originem a partir de células-tronco. Estas passam por transformações genéticas e epigenéticas e geram tumores anaplásicos e também células multipotentes progenitoras denominadas tireoblastos, que podem facilmente evoluir para PTC ou FTC (Figura 5). Tumores benignos originam, por sua vez, de células precursoras dos tireócitos (protireócitos).



**Figura 5:** Modelo de formação dos carcinomas de tireoide a partir de células-tronco. (Fonte: Chmielik *et al.*, 2018, modificado)

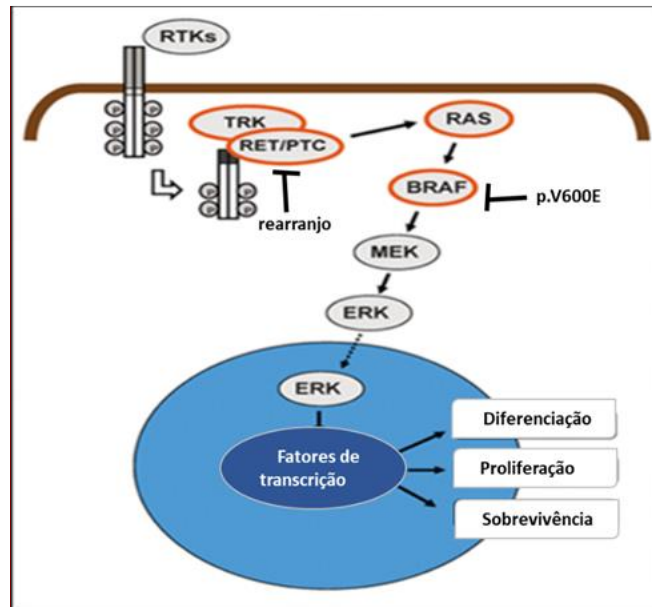
### 1.2.2 Alterações genéticas no PTC esporádico

Eventos moleculares envolvidos no processo de carcinogênese do câncer papilífero de tireoide esporádico têm sido recentemente esclarecidos. Até o momento, sabe-se que a mutação p.V600E no gene *BRAF* e o rearranjo do gene *RET* configuram como as alterações genéticas mais frequentemente associadas ao desenvolvimento do tumor (Chmielik *et al.*, 2018; D’Cruz *et al.*, 2018). Outras variantes moleculares como

mutações em *TERT* e os rearranjos *NTRK1* são encontradas nos PTC, mas em frequência muito menor (Wajchenberg *et al.*, 2014).

A variante p.V600E no gene *BRAF* gera a ativação constitutiva da proteína BRAF e, conseqüentemente, da via MAPK, o que desencadeia a proliferação celular (Figura 6) (Wajchenberg *et al.*, 2014; Chmielik *et al.*, 2018). É encontrada em 29% a 83% dos casos de PTC, e tem prevalência maior nas formas mais agressivas, intermediária na forma clássica e menor na forma variante folicular (Wajchenberg *et al.*, 2014). Nos estágios mais avançados do câncer papilífero de tireoide pode ocorrer concomitância dessa variante com outras alterações genéticas (Zhou *et al.*, 2014).

A mutação no gene *BRAF* é associada as maiores taxas de recorrência da doença e mortalidade, principalmente nos pacientes com idade superior a 45 anos (Livhits, Yeah, 2018). Registros da mutação p.V600E no gene *BRAF* são raros e inexistentes em câncer de tireoide folicular e em nódulos tireoidianos benignos, respectivamente (Wajchenberg *et al.*, 2014). Essa variante configura-se, desse modo, como um marcador razoavelmente específico para PTC. Com isso, para tratamento de pacientes com CPT já estão disponíveis terapias alvo da via molecular do gene *BRAF*, o que será detalhado no Item 1.2.4 da presente tese (Chmielik *et al.*, 2018).



**Figura 6:** Eventos moleculares no câncer de tireoide associados a alterações no gene *BRAF* e rearranjo no gene *RET*.

A frequência de ocorrência dos rearranjos *RET/PTC* em tumores de tireoide varia de acordo com a idade, diferentes áreas geográficas, exposição à radiação, e desencadeia a ativação do proto-oncogene *RET* (Wajchenberg *et al.*, 2014). Enquanto 33% dos pacientes italianos com câncer papilífero de tireoide apresentam o rearranjo *RET/PTC*, este é observado apenas em 3% a 9% dos japoneses com PTC. Por outro lado, tem-se relatado a presença de *RET/PTC* em cerca de 60% das amostras de câncer papilífero de tireoide provenientes de crianças expostas à radiação em Chernobyl ou à radiação externa para o tratamento de doenças benignas da cabeça e pescoço. Ademais, a porcentagem de casos positivos para rearranjos de *RET/PTC* é muito maior nos indivíduos jovens (Wajchenberg *et al.*, 2014).

Em geral, o proto-oncogene *RET* não é expresso em células foliculares de tireoide, mas pode ser ativado pelo rearranjo com genes justapostos após quebras no DNA geradas, por exemplo, por incidência de radiação na tireoide (Wajchenberg *et al.*, 2014). *RET* codifica uma tirosina quinase receptora da membrana celular que sofre sublocalização para o citoplasma em função do rearranjo e estimula, então, cascatas de fosforilação,

incluindo aquelas envolvendo Raf/Ras/MEK/MAPK e PI3K/Akt, culminando na proliferação, sobrevivência celular, e angiogênese (Figura 6) (Wajchenberg *et al.*, 2014). Neoplasias da tireoide resultantes de exposição à radiação ionizante têm predomínio do rearranjo entre os genes *RET* e *RFG*, o que acarreta no desenvolvimento mais precoce e com maior agressividade do tumor (Brasileiro, 2016).

De acordo com o estudo de Geraldo *et al.* (2012), a mutação p.V600E no gene *BRAF* e os rearranjos RET/PTC, através da ativação da via MAPK, elevam a expressão de microRNAs (miR)-146b, os quais aumentam a migração, a invasão celular, e a resistência a quimioterápicos (Chou *et al.*, 2013). Outros microRNAs relacionados a carcinogênese de células foliculares da tireoide são os miR-221, -222 e -181b (Pallante *et al.*, 2006).

As mutações p.C228T e p.C250T na região promotora do gene Transcriptase Reversa da Telomerase Humana (*TERT*) encontradas em 11,3% das amostras de PTC resultam na proteção contra a senescência (Bae *et al.*, 2016). A prevalência dessas mutações em *TERT* são, em média, de 17,1%, 43,2% e 40,1% no carcinoma folicular, carcinoma pouco diferenciado e carcinoma anaplásico de tireoide, respectivamente. Essas variantes, entretanto, não são encontradas em tumores benignos da glândula (Gandolfi *et al.*, 2015; Liu, Xing, 2016).

Liu, Xing (2016) identificaram mutações em *BRAF* em coexistência com mutações em *TERT* em 3,2% das 342 amostras de PTC avaliadas. Essa associação foi identificada em pacientes mais velhos, e em tumores de maiores dimensões e de estágios mais avançados. Ren *et al.* (2018) não encontraram significância estatística entre a presença de mutações nesses dois genes e a ocorrência de metástases linfonodais em PTC. Xing *et al.* (2014), por sua vez, observaram ainda que a coexistência de *TERT* p.C228T e *BRAF* p.V600E está relacionada com maior recorrência de câncer papilífero de tireoide.

Dentre os subtipos de carcinoma papilífero de tireoide, as mutações em *RAS* são geralmente restritas a variante folicular, ocorrendo em 30-45% dos pacientes com esse tumor. Nos adenomas foliculares benignos são observadas em 20-25% dos casos, e nos carcinomas anaplásicos ocorrem em 10-25%. O gene *RAS* codifica proteínas de membrana envolvidas na transdução de sinais nas vias MAPK e PI3K-AKT e, assim, participam da diferenciação, proliferação e sobrevivência celular (Howel *et al.*, 2013). Mesmo que a histologia indique maior agressividade, tumores com mutações no gene *RAS* possuem gravidade limitada, porque não se associam a maior extensão extra-tireoidiana, e a metástases linfáticas regionais ou distantes (Insilla *et al.*, 2017). Assim, a presença de mutações somente em *RAS* são encontradas em tumores altamente curáveis e com bom prognóstico (Howel *et al.*, 2013).

Outras alterações moleculares observadas nos carcinomas papilíferos esporádico são: a) rearranjos no gene *NTRK*, em 2% a 26% das amostras de PTC, que estimulam as cascatas de sinalização MAPK e Akt e estão associadas a maior dimensão dos tumores, estágio mais avançado, e invasão linfovascular (Amatu *et al.*, 2016; Sciavolino, 2016); b) o rearranjo dos genes *PAX8/PPAR $\gamma$* , em 38% dos casos de variante folicular de câncer papilífero de tireoide, e que gera a formação de uma oncoproteína denominada PFPF proteína de fusão *PAX8-PPAR $\gamma$*  (D'Cruz *et al.*, 2018; Raman, Koenig, 2014); e c) mutação no gene *EIF1AX*, em até 5% dos casos de PTC, associada a progressão tumoral (Acquaviva *et al.*, 2018).

Até o momento, a elucidação molecular é recomendada para complementar análises ultrassonográficas e citopatológicas na investigação do câncer de tireoide. Essa ferramenta contribui para diagnóstico de tumores em nódulos considerados indeterminados na citopatologia, os quais correspondem a até 15 a 20% do total analisado (D'Cruz *et al.*, 2018). Nesse sentido, já estão disponíveis plataformas de avaliação de

expressões gênicas e/ou mutações dos marcadores moleculares do câncer de tireoide (Tabela 1) (D´Cruz *et al.*, 2018). Ressalta-se que estas ferramentas ainda têm limitações e são de altíssimo custo para o paciente e para o sistema público de saúde (Perez, 2018).

**Tabela 1:** Descrição das plataformas disponíveis no mercado para análise de expressões gênicas e/ou mutações nos marcadores moleculares do câncer de tireoide.

	miRInform test <sup>1</sup>	Thyroseq <sup>2</sup>
<b>Método empregado</b>	PCR multiplex para detecção de: -mutações nos genes <i>BRAF</i> , <i>RAS</i> , <i>HRAS</i> , e <i>NRAS</i> -translocações RET/PTC1, RET/PTC3, e PAX8/PPAR $\gamma$ )	Sequenciamento de nova geração (NGS) para detectar: - mutações pontuais nos genes <i>AKT1</i> , <i>BRAF</i> , <i>NRAS</i> , <i>HRAS</i> , <i>KRAS</i> , <i>PTEN</i> , <i>TP53</i> , <i>TSHR</i> , <i>GNAS</i> , <i>CTNNB1</i> , <i>RET</i> , <i>PIK3CA</i> , <i>TERT</i> ; - translocações nos genes <i>RET</i>
<b>Resultado fornecido</b>	Mutações gênicas específicas ou translocações	Mutações gênicas específicas ou translocações
<b>Indicação</b>	Tumores malignos	Tumores malignos (exemplo PTC)
<b>Observações</b>	Sensibilidade de 79% para PTC	Altos valores preditivos negativos e positivos

Fonte: <sup>1</sup>Zhang *et al.* (2012); <sup>2</sup>Nikiforova *et al.* (2013).

### 1.2.3 Alterações genéticas no PTC familiar não síndrômico

Tumores de pacientes com câncer papilífero familiar de tireoide têm sido avaliados para se elucidar as alterações genéticas germinativas e as mudanças na expressão de miRNA associadas à patogênese dessa neoplasia. Até o momento, foram identificadas mutações germinativas em seis genes candidatos, prioritariamente a partir do sequenciamento completo do exoma e/ou do sequenciamento tipo Sanger de genes relacionados a carcinogênese. Desse modo, o desenvolvimento de FNMTC já foi relacionado a mutações em: *SRGAP1* (MIM \*606523) (He *et al.*, 2013), *TITF-1/NKX2.1* (MIM \*600635) (Ngan *et al.*, 2009), *FOXE1* (MIM \*602617) (Pereira *et al.*, 2015), *HABP2* (MIM \*603924) (Gara *et al.*, 2015; Tomsic, Chapelle, 2015; Tomsic *et al.*, 2016), *SRRM2* (MIM \*606032) (Tomsic *et al.*, 2015) e *MAP2K5* (MIM\*602520) (Ye *et al.*, 2019). Entretanto, o papel da mutação p.G534E no gene *HABP2* na patogênese de câncer papilífero familiar de tireoide tem sido questionado, tendo em vista a ausência dessa mutação em várias famílias com PTC hereditário (Zhao *et al.*, 2015; Alzahrani *et al.*, 2016), a ocorrência de segregação incompleta da variante em famílias esse fenótipo (Ruiz-Ferrer *et al.*, 2016; Weeks *et al.*, 2016; Pinheiro *et al.*, 2017), ou devido a elevada



incidência da mutação (até 8,7%) em indivíduos hígidos (Carvajal-Carmona *et al.*, 2016; Tomsic *et al.*, 2016). Por sua vez, a associação de agressividade clinicopatológica dos casos de PTC familiar com mutações somáticas nos genes *TERT* (MIM \*187270) e *BRAF* (MIM \*164757) foi reconhecida por Marques *et al.* (2017). A Tabela 2 apresenta um sumário dos genes e suas variantes germinativas, já descritos, envolvidos na carcinogênese do câncer papilífero familiar de tireoide, a frequência encontrada das mesmas e as principais funções das proteínas sintetizadas pelos genes.

Os locus cromossômicos 1q21, 6q22 (Suh *et al.*, 2009), 8p23.1-p22 (Cavaco *et al.*, 2008), MNG1 (McKay *et al.*, 1999), TCO (McKay *et al.*, 1999) e 8q24 (He *et al.*, 2009) são também relacionados à suscetibilidade para o PTC familiar, embora ainda permanecem desconhecidos os genes candidatos dessas regiões cromossômicas (Yang, Ngeow, 2016). Por sua vez, estudos *in vitro* indicam a participação de miRNAs na evolução de PTC familiar, sendo eles o miR-886-3p e o miR-20a. Esses micro-RNAs encontram-se menos expressos nos tumores, o que contribui para o aumento da proliferação e migração celular (Xiong *et al.*, 2011).

**Tabela 2:** Variantes germinativas envolvidas na carcinogênese do câncer papilífero familiar de tireoide.

Gene	Função da proteína sintetizada pelo gene	Mutações germinativas identificadas em FNMTc	Frequência encontrada		Referências	Impacto da mudança da sequência de aminoácidos (ferramenta utilizada para análise do impacto)
			Famílias com FNMTc estudadas (nº total de famílias estudadas)	Controles		
<b>SRGAP1</b>	Inibe a ativação de Cdc42, a qual participa da progressão da fase G1 do ciclo celular, da migração celular e da angiogênese. <sup>1</sup>	p.R617C (c.1849C>T, rs114817817)	2,94% (n=24)	0%	He <i>et al.</i> (2013)	-Deletério (Polyphen e Provean)
<b>TTF-1/NKX2.1</b>	É um fator de transcrição que controla a expressão da tireoglobulina (Tg), tireoperoxidase (TPO), e o receptor de TSH (TSHR). É fundamental na regulação do desenvolvimento e na manutenção do estado diferenciado das células da tireoide. <sup>2</sup>	p.A339V (c.1016C>T)	100% (n=2)	0%	Ngan <i>et al.</i> (2009)	-Possivelmente deletério (Polyphen) -Benigno (Provean)
<b>FOXE1</b>	É um repressor da transcrição de Tg e TPO, através da inibição da atividade transcricional do NKX2-1. <sup>3</sup> Regula, por diferentes vias de sinalização (ex. TGFβ), a expressão da proteína WNT5, importante reguladora da proliferação, diferenciação e mobilidade celular. <sup>4</sup>	p.A248G (c.743C>G, rs538912281)	1,67 (n=60)	0%	Pereira <i>et al.</i> (2015)	-Benigno (Polyphen e Provean)
<b>HABP2</b>	Participa da repressão da migração e da proliferação celular. <sup>5</sup>	G534E (c.1601G>A, rs7080536)	0% a 100% (n=1 a n=28)	8,7%	Gara <i>et al.</i> (2015); Tomsic, Chapelle (2015); Tomsic <i>et al.</i> (2016); Zhao <i>et al.</i> (2015); Zhang, Xing (2016); Weeks <i>et al.</i> , (2016)	-Deletério (Polyphen e Provean)
<b>SRRM2</b>	Participa da formação de spliceossomos que realizam splicing-alternativo <sup>6</sup>	p.S346F (c.1037C>T, rs149019598)	100% (n=1)	0%	Tomsic <i>et al.</i> , 2015	-Possivelmente deletério (Polyphen) -Deletério (Provean)
<b>MAP2K5</b>	Regula processos celulares incluindo proliferação, sobrevivência celular, diferenciação e apoptose, via, por exemplo, regulação do oncogene c-Jun, e estímulo de proteínas de controle do ciclo celular. <sup>8</sup>	p.A321T (c.G961A) e p.M367T (c.T1100C)	2,94% <sup>7</sup> (n=34)	0%	Ye <i>et al.</i> , 2019	-Possivelmente deletério (Polyphen) -Benigno (Provean)

<sup>1</sup>Yadav, Narayan (2014); <sup>2</sup> Batista (2015); <sup>3</sup>Zannini *et al.* (1997); <sup>4</sup>Katoh, Katoh (2009); <sup>5</sup>Gara *et al.* (2015); <sup>6</sup>Tomsic *et al.* (2015); <sup>7</sup>Frequência encontrada para cada uma das mutações; <sup>8</sup>Hoang *et al.* (2017)

#### 1.2.4 Diagnóstico e tratamento do câncer papilífero de tireoide

Conforme descrito no Item 1.2, a manifestação clínica mais comum do câncer de tireoide é a presença de um nódulo na glândula (Brasileiro, 2016). De acordo com Wajchenberg *et al.* (2014), os principais achados sugestivos de malignidade dos nódulos são:

- nódulos fixados às estruturas subjacentes (traqueia e músculos);
- nódulos sem mobilidade à deglutição;
- presença de linfonodomegalia cervical;
- história de irradiação (a qual aumenta em 4 vezes a probabilidade de câncer);
- história familiar positiva para câncer de tireoide;
- nódulo com crescimento rápido, em semanas ou meses, dispneia, disfagia, tosse crônica ou alteração da voz;
- nódulos em indivíduos jovens (< 20 anos) e em idosos.

Ultrassom (US) da tireoide deve ser realizada em todos os pacientes com nódulo na glândula, para se compreender a quantidade, dimensão, localização, vascularização e ecogenicidade dos nódulos (Cibas, Ali, 2017). No US, observa-se que os nódulos malignos: a) possuem todo o contorno ou parte dele sem boa diferenciação com o parênquima tireoidiano adjacente; b) se apresentam como lesões sólidas (em 68% dos casos aproximadamente); c) são hipoecogênicos; d) podem apresentar microcalcificações (corpos psamomatosos do carcinoma papilífero). Ao Doppler, o padrão de fluxo intranodular está mais associado a carcinomas malignos, enquanto o fluxo periférico está associado a lesões benignas (Wajchenberg *et al.*, 2014). Alterações moleculares em genes específicos (como *BRAF* e *RAS*) ou rearranjos gênicos (como *RET/PTC* e *PAX8-PPAR-gama*) podem também ser úteis na definição de malignidade (Cibas, Ali, 2017). Porém, não há marcadores moleculares identificados para todos os tipos de câncer de tireoide. Exames laboratoriais como as dosagens séricas de TSH e de T4 livre, por

sua vez, não acrescentam muito ao diagnóstico do nódulo da tireoide, pois geralmente estão normais. Exceção é observada quando o paciente apresenta hiper ou hipotireoidismo associados (Wajchenberg *et al.*, 2014).

Para o diagnóstico definitivo, é necessária a realização de citologia aspirativa com agulha fina (CAAF) do nódulo, por meio de punção do nódulo guiada pela US (Cibas, Ali, 2017). A CAAF permite o diagnóstico de carcinomas papilífero, medular e anaplásico, e é um método seguro, eficiente e relativamente atraumático (Wajchenberg *et al.*, 2014). A classificação da CAAF é realizada com base no sistema Bethesda (Cibas, Ali, 2017), apresentado na Tabela 3.

**Tabela 3:** Classificação de Bethesda (ano 2017) para exames citológicos de tireoide.

Classe de Bethesda	Significado	Risco de malignidade
I	Insatisfatório	1-4%
II	Benigno	0-3%
III	Atipia ou lesão folicular de significado indeterminado	5-15%
IV	Suspeito para neoplasia folicular	15-30%
V	Suspeito de malignidade	60-75%
VI	Maligno <i>Carcinoma Papilífero da Tireoide</i> <i>Carcinoma pouco diferenciado</i> <i>Carcinoma Medular da Tireoide</i> <i>Carcinoma indiferenciado (anaplásico)</i> <i>Carcinoma de células escamosas</i> <i>Carcinoma com características mistas (especificar)</i> <i>Carcinoma metastático</i> <i>Linfoma não-Hodgkin</i> <i>Outros</i>	97-99%

Fonte: Cibas, Ali (2017)

Nódulos classificados como V ou VI de Bethesda devem receber sempre tratamento cirúrgico, o qual corresponde a tireoidectomia total (casos mais agressivos) ou subtotal (casos mais brandos) com ou sem a dissecação linfonodal terapêutica. Por sua vez, nódulos das classes I, III ou IV podem ser acompanhados, e recomenda-se a repetição da CAAF dentro de 3 a 6

meses. Pode-se manter essa rotina caso os nódulos das classes I, III ou IV tenham menos de 2 cm e não apresentem aspectos sugestivos de malignidade. Porém, indica-se a cirurgia caso haja suspeita clínica ou ultrassonográfica de malignidade ou, ainda, quando o nódulo for >2 cm (Cibas, Ali, 2017). As cirurgias para tratamento de carcinoma diferenciado de tireoide podem ser seguidas da ablação do tecido remanescente ou tratamento de metástases com iodo radioativo (<sup>131</sup>I), além da terapêutica substitutiva com levotiroxina (Wajchenberg *et al.*, 2014).

O avanço no conhecimento dos mecanismos moleculares envolvidos na patogênese do câncer de tireoide tem possibilitado o desenvolvimento de novas terapêuticas dirigidas aos pacientes com carcinoma avançado ou metastático e refratário à terapêutica convencional. No momento, os quimioterápicos aprovados para PTC refratário a tratamento convencional são o Sorafenib e o Lenvatinib. Esses fármacos agem como inibidores das proteínas BRAF e/ou RET da via MAPK, contribuindo para a redução da proliferação celular (Valerio *et al.*, 2017).

Os critérios analisados para definição do estadiamento pós-operatório e na estimativa do prognóstico do paciente são: tamanho do tumor, invasão extratireoidiana, e metástases linfonodais a distância, conforme classificação do sistema TNM/AJCC (Tabela 4); e a idade do paciente. A descrição do estadiamento é apresentada na Tabela 5.

**Tabela 4:** Parâmetros utilizados na classificação TNM/AJCC de câncer papilífero, folicular, pouco diferenciados e anaplásicos de tireoide.

T - Tumor primário		N - Linfonodos regionais	
TX	O tumor primário não pode ser avaliado.	NX	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados.
T0	Não ha evidencia de tumor primário.	N0	Ausência de metástase em linfonodos regionais.
T1	Tumor com 2 cm ou menos em sua maior dimensão, limitado a tireoide.	N0a	Exames citológicos confirmam que os linfonodos não apresentam metástases
T1a	Tumor com ≤1 cm em sua maior dimensão, limitado a tireoide.	N0b	Exames radiológicos ou clínicos sem evidência de metástase em linfonodos regionais.
T1b	Tumor com >1 e ≤2 cm em sua maior dimensão, limitado a tireoide.	N1	Metástase em linfonodos regionais.
T2	Tumor com mais de 2 cm até 4 cm em sua maior dimensão, limitado a tiroide.	N1a	Metástase (unilaterais ou bilaterais) no nível VI ou VII (linfonodos pre-traqueal e paratraqueal, incluindo pre-laríngeo e o de Delphian).
T3	Tumor com > 4 cm em sua maior dimensão, limitado a tiroide, com extensão extra tireoidiana mínima (atingindo até músculos cervicais).	N1b	Metástase em outro linfonodo cervical unilateral, bilateral ou contralateral, ou em linfonodo retro faríngeo.
T3a	Tumor com > 4 cm em sua maior dimensão, limitado a tiroide.	<b>M - Metástase a distância</b>	
T3b	Tumor de qualquer tamanho, com extensão extra tireoidiana mínima (atingindo até músculos cervicais).	MX	A presença de metástase a distância não pode ser avaliada
T4	Tumor com extensão extra tireoidiana maior.	M0	Ausência de metástase a distância.
T4a	Tumor que se estende além da capsula da tiroide e invade qualquer uma das seguintes estruturas: tecido subcutâneo mole, laringe, traqueia, esôfago e nervo laríngeo recorrente.	M1	Metástase a distância.
T4b	Tumor que invade fascia pre-vertebral, vasos mediastinais ou arteria carotida adjacente.	-----	-----
Nota: Todas as categorias podem ser subdivididas em tumor solitário (s) ou multifocal (m)		-----	

Fonte: Tuttle *et al.* (2017).

**Tabela 5:** Descrição dos estádios dos carcinomas de tireoide.

	Estádio	T	N	M
<b>Tumor papilífero ou folicular em pacientes com idade &lt; 55 anos</b>	Estádio I	Qualquer T	Qualquer N	M0
	Estádio II	Qualquer T	Qualquer N	M1
<b>Tumor papilífero ou folicular em pacientes com idade ≥55 anos, ou tumor medular</b>	Estádio I	T1	N0	M0
	Estádio II	T2	N0	M0
	Estádio III	T3	N0	M0
		T1, T2, T3	N1a	M0
	Estádio IVA	T1, T2, T3	N1b	M0
		T4a	N0, N1	M0
	Estádio IVB	T4b	Qualquer N	M0
Estádio IVC	Qualquer T	Qualquer N	M1	

Fonte: Tuttle *et al.* (2017).

Recorrências de tumores de tireoide ocorrem comumente nos primeiros 10 anos após o diagnóstico, apesar de existirem casos de recorrência até 20 anos após o diagnóstico. Por isso, há recomendação de seguimento anual do paciente durante toda a sua vida. O monitoramento do paciente inclui dosagens de tireoglobulina sérica e US cervical. Valores detectáveis de tireoglobulina sérica após tireodectomia total indicam recorrência do tumor ou presença de metástases (Wajchenberg *et al.*, 2014).

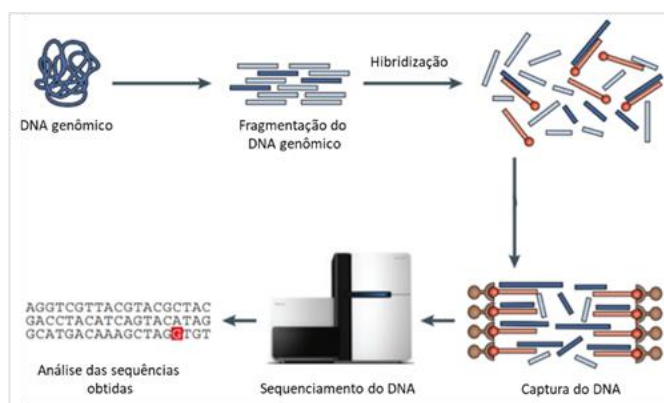
### **1.3 Análise de exoma como ferramenta na elucidação da carcinogênese**

Estima-se que 85% das mutações com predisposição para doenças ocorram nos éxons, regiões dos genes que correspondem a aproximadamente 2% do genoma humano e são codificadoras de proteínas (Choi *et al.*, 2009). Assim, é um consenso atual que mutações em éxons de oncogenes, de genes supressores de tumor, de genes anti-apoptóticos, e de genes de reparo de lesões no DNA configuram como alterações associadas à carcinogênese (Brasileiro, 2016; Foad, Aanei, 2017).



A principal técnica para determinação de sequências nucleotídicas (e conseqüentemente de mutações gênicas) até o início dos anos 2000 correspondia ao sequenciamento tradicional do tipo Sanger. Esta possibilitou que fossem sequenciados os três bilhões de nucleotídeos do genoma humano pela primeira vez, sendo que o custo por base sequenciada foi de um dólar (\$1,00) e o período para conclusão do sequenciamento foi de cerca de dez anos (Human *et al.*, 2001). Na última década foram elaboradas técnicas que permitiram o sequenciamento de diversos genomas humanos em menores períodos de tempo e com menor custo. Insere-se nesse contexto o Sequenciamento Completo do Exoma (WES). O primeiro estudo a utilizar essa técnica visando a identificação de genes associados ao desenvolvimento de doenças foi publicado por Ng *et al.* (2008). Desde então, centenas de outros trabalhos sobre essa temática já foram publicados. No ano de 2018, o preço do sequenciamento completo do exoma de um indivíduo encontrava-se na faixa de U\$ 555 a U\$ 5,169 dólares (Schwarze *et al.*, 2018).

A técnica utilizada para se obter o sequenciamento total do exoma consiste em várias etapas em série, sendo elas: a fragmentação do DNA genômico, hibridização dos fragmentos de interesse através de sondas específicas, captura das sondas hibridizadas com as regiões de interesse, amplificação dos fragmentos de DNA, o sequenciamento por síntese (*sequencing by synthesis*) de cada fragmento por meio de plataforma (Figura 7). O método de WES tem o potencial para contribuir para a compreensão desde doenças que estão supostamente associadas a herança monogênica, até aquelas relacionadas a grande heterogeneidade genética (Bamshad *et al.*, 2011).



**Figura 7:** Etapas sequenciais da técnica de WES. (Fonte: Bamshad *et al.*, 2011, modificado)

A técnica de sequenciamento completo do exoma trouxe contribuições também para o conhecimento de mutações envolvidas no desenvolvimento de câncer papilífero familiar de tireoide (Gara *et al.*, 2015; Tomsic *et al.*, 2015; Weeks *et al.*, 2016; Ye *et al.*, 2019). Sabe-se atualmente que o PTC familiar é uma doença geneticamente heterogênea, e que a patogênese desse câncer não está associada às variantes observadas no carcinoma papilífero de tireoide esporádico. Destaca-se que ainda permanecem desconhecidas as alterações moleculares associadas à carcinogênese da tireoide na maioria das famílias acometidas pelo PTC. Portanto, faz-se necessário a realização de mais estudos que possibilitem a compreensão das bases moleculares envolvidas nesse tumor. À luz dessas evidências, o presente estudo buscou avaliar, através do sequenciamento completo do exoma, mutações germinativas em três famílias brasileiras cujo fenótipo de PTC estava presente em pelo menos três parentes de primeiro grau.

## 2 OBJETIVOS

Identificar alterações genéticas germinativas que possam estar associadas ao desenvolvimento de carcinoma papilífero familiar, a partir do sequenciamento total dos exomas de integrantes de três famílias de pacientes brasileiros diagnosticados com esse tumor. Para tanto, foram considerados os seguintes objetivos específicos:

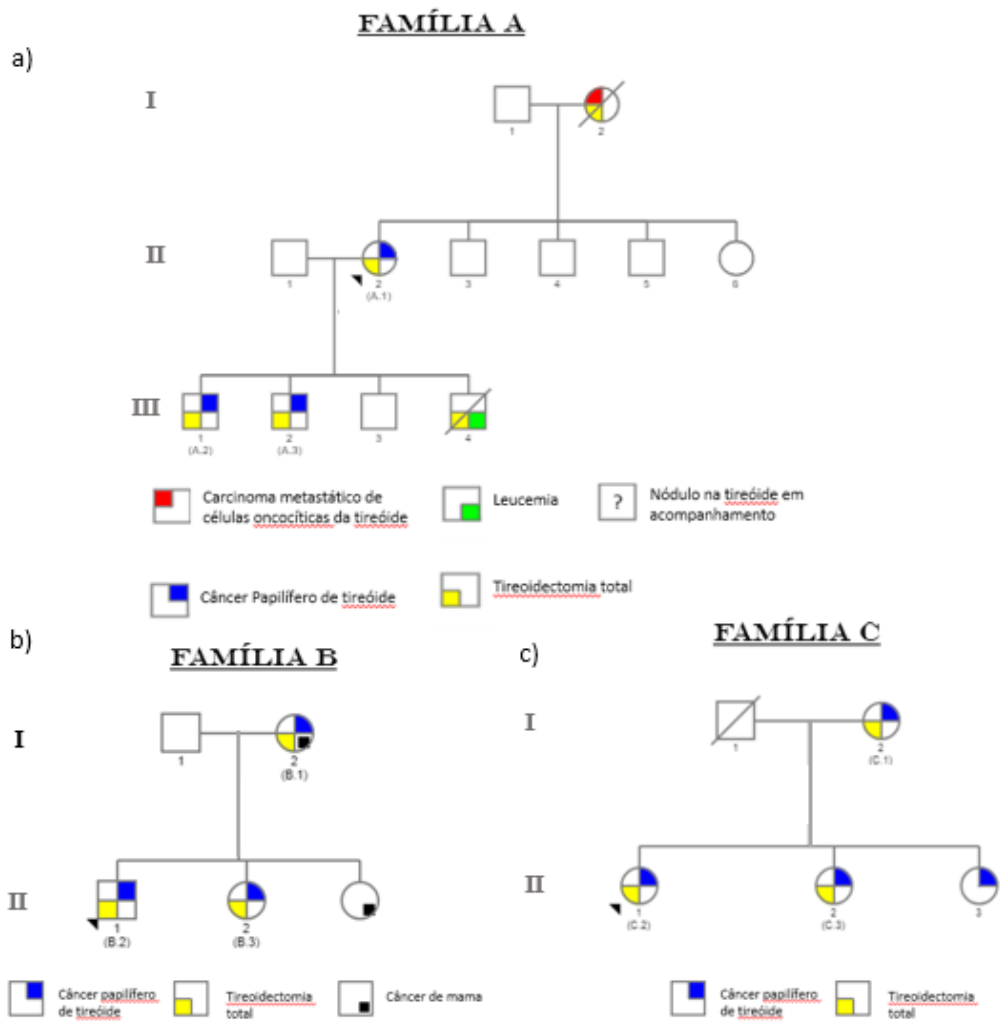
- Realizar o sequenciamento do exoma de pelo menos um dos integrantes de cada uma das três famílias de pacientes diagnosticados com PTC familiar;
- Analisar nos programas *Variant Analysis* (Ingenuity®) e Mendel (MD) os dados obtidos nos sequenciamentos dos exomas para identificar as alterações genéticas candidatas, particulares de cada família ou presentes em todas elas;
- Analisar a patogenicidade e a prevalência das alterações genéticas candidatas em vários programas e bancos de dados atualizados;
- Avaliar as funções das proteínas sintetizadas pelos genes identificados com as variantes candidatas;
- Realizar o sequenciamento de Sanger para validar as variantes candidatas identificadas em comum pelos dois programas;
- Avaliar, nos outros membros das famílias, a presença das alterações genéticas validadas para investigar a segregação das variantes;

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 *Identificação dos pacientes e dos controles***

Para o estudo foram selecionados nove indivíduos brasileiros com câncer papilífero de tireoide, pertencentes a três famílias (Família A, Família B e Família C) compostas por dois ou mais parentes de primeiro grau afetados por câncer papilífero de tiroide (Figura 8). As informações clínicas e o histórico familiar dos pacientes foram obtidos com a colaboração da Dra. Maria Marta Sarquis Soares do Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal de Minas Gerais, do Dr. Adalto Versiani Soares endocrinologista do Hospital Felício Rocho e da Dra Paula Raton.

Para o grupo controle do estudo foram selecionados aleatoriamente noventa e oito indivíduos idosos sem histórico de neoplasia, residentes em Belo Horizonte. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. Todos os participantes da pesquisa assinaram o termo de consentimento informado previamente ao início dos estudos.



**Figura 8:** Heredogramas das famílias com PTC estudadas no presente trabalho: a) Família A, b) Família B e c) Família C .

### **3.2 Extração de DNA de leucócitos de sangue periférico**

O DNA genômico presente nos leucócitos do sangue periférico dos nove pacientes e dos controles foi extraído, no primeiro semestre do ano de 2018, utilizando-se o método de Lahiri, Nurnberger (1991), com algumas modificações. As amostras de sangue foram transferidas para tubos de 50 mL, ao qual a solução TKM1 (Tris-HCl 10 mM; KCl 10 mM; MgCl<sub>2</sub> 10 mM; EDTA 4 mM) foi adicionada. Em seguida, 500 µL de Triton X-100 foram acrescentados à solução, com a finalidade de promover a hemólise. Após agitação vigorosa da mistura contida no tubo de 50 mL, esta foi centrifugada a 1.255 g por 15 minutos, a 4°C. Após centrifugação, o sobrenadante, repleto de restos de hemácias, foi removido; e o precipitado, contendo leucócitos, foi lavado com a solução TKM1. Neste passo, foi realizada uma centrifugação a 475g por 10 minutos, a 4°C. Novamente, o sobrenadante foi descartado e o precipitado, contendo leucócitos, mantido no tubo. Nesta etapa, 1.600 µL de TKM2 (Tris-HCl 10 mM; KCl 10 mM; MgCl<sub>2</sub> 10 mM; EDTA 33 mM; NaCl 400 mM) foram adicionados ao precipitado, juntamente com 100 µL SDS 10% – tendo sido este utilizado para promover a lise de leucócitos. Em seguida, o tubo foi mantido a 55°C, em banho-maria, por 20 minutos. Após o período de incubação, 900 µL de NaCl (6 M) foram adicionados, com a função de promover a precipitação de proteínas. Foi realizada uma última centrifugação de 15 minutos, a 21.800g, a 4°C. Desta vez, o sobrenadante, contendo DNA, foi transferido para um novo tubo, com 5 mL de álcool a 100%. Neste momento, houve a visualização do DNA, e este foi lavado em álcool 70%, secado e transferido para tubo contendo o tampão de eluição TE (Tris-HCl 10 mM; EDTA 1 mM, pH 7.0-8.0). As amostras permaneceram armazenadas a -20°C durante todo o período da pesquisa.

### **3.3 Extração de DNA de tecido tumoral incluído em parafina**

Para o estudo foi possível obter amostras tumorais apenas de um indivíduo afetado (membro da Família C). As amostras do tumor estavam incluídas em blocos de parafinas.

Assim, para a extração de DNA foi utilizando o kit comercial QIAamp DNA FFPE Tissue (QIAGEN Biotecnologia Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) de acordo com as normas do fabricante. Foram realizados quatro cortes histológicos de 10µm, aos quais foram misturados a 180 µL de tampão ATL e 20 µL de solução de proteinase K, seguido de incubação overnight a 56°C, sob leve agitação. Posteriormente, adicionaram-se a amostra 400 µL de tampão AL e etanol (1:1 v/v) e homogeneizou-se vigorosamente. O lisado foi cuidadosamente transferido para uma coluna acoplada a tubo de dois mililitros. Realizou-se uma centrifugação (8000 rpm, 1 min.) e o filtrado foi descartado. A coluna foi lavada em duas etapas, utilizando-se 500 µL dos tampões AW1 e AW2, separadamente. Em cada etapa realizou-se uma centrifugação (8000 rpm, 1 min.) sendo o filtrado foi descartado. Ao final da 2ª lavagem uma nova centrifugação foi realizada (14000 rpm, 3 min.). A eluição do DNA ligado à coluna foi realizada se adicionado 50 µL de tampão ATE e incubando à temperatura ambiente por 10 min, seguida de centrifugação (14.000 rpm, 1 min.); esta etapa foi repetida 2 vezes, os eluídos foram misturados e armazenados a -20°C para análise posterior. As amostras fixadas em formol também foram submetidas a estas mesmas etapas de procedimento.

A quantidade e a qualidade do DNA extraído foram verificadas por meio de leituras em espectrofotômetro NanoDrop ND-2000 (Thermofisher Waltham, MA, USA).

### **3.4 Sequenciamento do exoma**

Amostras de DNA de quatro indivíduos (II.1 – da Família A, II.1– da Família B, I.2 e II.1 – da Família C) integrantes de três famílias com PTC familiar (Figura 8) foram preparadas e submetidas a sequenciamento completo do exoma. O processo empregado consistiu nas seguintes etapas (Bamshad *et al.*, 2011):

1º) fragmentação do DNA genômico (fragmentos de 100pb a 200pb) e ligação de adaptadores nas extremidades dos fragmentos;

2º) desnaturação e amplificação dos fragmentos de DNA, formando várias cópias de fita simples de cada fragmento;

3º) hibridização dos fragmentos de interesse através de sondas específicas;

4º) captura das sondas hibridizadas com as regiões de interesse;

5º) amplificação dos fragmentos de DNA de interesse, formando várias cópias de fita simples de cada fragmento;

6º) sequenciamento por síntese (*sequencing by synthesis*) de cada fragmento no por meio da plataforma Illumina® HiSeq2000 (Hayward, CA).

### **3.5 Análise do sequenciamento completo do exoma através de bioinformática**

#### 3.5.1 Alinhamento e detecção de variantes candidatas

Os arquivos VCF das sequências de exomas geradas no aparelho HiSeq2000 (*Illumina*®) para os indivíduos II.2 da Família A, II.1 da Família B, e I.2 e II.1 da Família C foram analisados a partir dos programas *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup> ([www.ingenuity.com/variants](http://www.ingenuity.com/variants)) e Mendel, MD (<http://mendel.medicina.ufmg.br> (Cardenas *et al.*, 2017)). Nesses programas foram realizados o alinhamento das sequências capturadas com o genoma humano de referência GRCh37. E para as análises foi empregado o método de filtragem de variantes em sequência.

Nas análises em ambos os programas foram excluídas as variantes identificadas com baixa profundidade de leitura (*read depth*  $\leq 20$ ), que estivessem em posições de baixa qualidade de sequenciamento (*call quality*  $\leq 40$ ), e que apresentassem frequência alélica superior a 1,0% nos seguintes bancos de dados: projeto de 1000 genomas ([www.1000genomes.org](http://www.1000genomes.org)), Complete Genomics (<http://www.completegenomics.com/public-data/>), e exomes do NHLBI ESP (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>).



### 3.5.1.1 Análises a partir do programa *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup>

Usando o programa *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup> foram realizadas quatro análises separadamente (Tabela 7):

- Análise 1i: para avaliação do exoma do paciente II.2 da Família A,
- Análise 2i: para avaliação do exoma do paciente II.1 da Família B,
- Análise 3i: para avaliação conjunta dos exomas dos pacientes I.2 e II.1 da Família C,
- Análise 4i: para avaliação em conjunto dos exomas desses quatro pacientes.

Em todas as quatro análises foram empregados filtros para detecção de variantes que seguissem os seguintes critérios: estivessem associadas a ganho ou perda de função; fossem homozigotas ou heterozigotas; corresponderem a mutações do tipo sem sentido (nonsense), de sentido trocado (missense), de mudança da matriz de leitura (*frameshift*), ou indels; e fossem identificadas como possivelmente ou provavelmente patogênicas pelo programa *Polyphen-2* (Choi *et al.*, 2012), e como patogênicas pelos programas *SIFT*, *PROVEAN* e *CADD* (Dong *et al.*, 2015). Na última etapa, foi utilizado o filtro biológico do *Ingenuity*, para avaliação de possíveis mutações nos exomas que pudessem ter sido relacionadas previamente a câncer papilífero de tireoide.

A partir das Análises 1i e 2i foram selecionadas as variantes específicas para o paciente II.2 da Família A e as exclusivas do paciente II.1 da Família B, respectivamente. A partir da Análise 3i identificou-se as variantes comuns aos pacientes I.2 e II.1 da Família C. Por fim, as variantes comuns a todos os exomas foram obtidas na Análise 4i.

### 3.5.1.2 Análises a partir do programa *Mendel, MD*

Usando o programa *Mendel, MD* também foram realizadas quatro análises distintas (Tabela 6):

- Análise 1m: para avaliação do exoma do paciente II.2 da Família A,

- Análise 2m: para avaliação do exoma do paciente II.1 da Família B,
- Análise 3m: para avaliação conjunta dos exomas dos pacientes I.2 e II.1 da Família C,
- Análise 4m: para avaliação em conjunto de todos dos exomas.

Os filtros utilizados no programa Mendel, MD permitiram a detecção de variantes que seguissem os seguintes critérios: estivessem presentes em éxons; estivessem associadas a ganho ou perda de função; fossem homozigotas ou heterozigotas; corresponderem a mutações do tipo sem sentido, de sentido trocado, *frameshift*, ou indels; e fossem identificadas como possivelmente ou provavelmente patogênicas pelo programa *Polyphen-2* e como patogênicas pelos programas *SIFT*, e *CADD* (Dong *et al.*, 2015). As variantes específicas para o paciente II.2 da Família A e as exclusivas do paciente II.1 da Família B foram identificadas a partir das Análises 1m e 2m, respectivamente. A partir da Análise 3m identificou-se as variantes comuns aos pacientes I.2 e II.1 da Família C. Por fim, as variantes comuns a todos os exomas foram obtidas na Análise 4m.

**Tabela 6:** Sequência dos filtros empregados nos programas *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup> e Mendel, MD

Programa	<i>Ingenuity Variant Analysis</i> <sup>TM</sup>		Mendel, MD	
Análise	Análises 1i e 2i	Análises 3i e 4i	Análises 1m e 2m	Análises 3m e 4m
<b>1º Filtro</b>	selecionar variantes com <i>read depth</i> ≥ 20 e <i>call quality</i> ≥ 40		selecionar variantes com <i>read depth</i> ≥ 20 e <i>call quality</i> ≥ 40	
<b>2º Filtro</b>	selecionar as variantes que são observadas com frequência alélica menor que 1% no <i>1000 Genome Project</i> , no <i>ExAC</i> , no <i>NHLBI ESP exomes</i> e no <i>Allele Frequency Community</i>		selecionar as variantes que são observadas com frequência alélica menor que 1% no <i>1000 Genome Project</i> , e no <i>dbSNP</i> ; e apresentem escore entre 0 a 0,05 no <i>SIFT</i> , 0,5 a 1,0 no <i>Polyphen</i>	
<b>3º Filtro</b>	selecionar as variantes que apresentem os fenótipos patogênico, possivelmente patogênico, e com fenótipo incerto; OU que estejam associadas a mutações com ganho de função estabelecida na literatura, pelo <i>BSIFT</i> , e pelo <i>Ingenuity</i> , sejam provenientes de rearranjo gênico, ou que estejam presentes em sítios de ligação de microRNA; OU que apresentem inserções ou deleções de sequências de DNA.		selecionar as variantes em <i>frameshift</i> , indel, sem sentido ou sentido trocado.	
<b>4º Filtro</b>	selecionar as variantes que estejam em homozigose ou heterozigose; e que estejam presentes somente no <u>exoma do paciente II.2 da Família A (Análise 1i)</u> /somente no <u>exoma do paciente II.1 da Família B (Análise 2i)</u>	selecionar as variantes que estejam em homozigose ou heterozigose; e que estejam presentes em comum nos <u>exomas dos pacientes I.2 e II.1 da Família C (Análise 3i)</u> /em comum nos <u>exomas dos pacientes II.2 da Família A, II.1 da Família B, e I.2 e II.1 da Família C (Análise 4m)</u>	selecionar as variantes que estejam em homozigose ou heterozigose; e que estejam presentes somente no <u>exoma do paciente II.2 da Família A (Análise 1m)</u> /somente no <u>exoma do paciente II.1 da Família B (Análise 2m)</u>	selecionar as variantes que estejam em homozigose ou heterozigose; e que estejam presentes em comum nos <u>exomas dos pacientes I.2 e II.1 da Família C (Análise 3m)</u> /em comum nos <u>exomas dos pacientes II.2 da Família A, II.1 da Família B, e I.2 e II.1 da Família C (Análise 4m)</u>
<b>5º Filtro</b>	selecionar as variantes que já tenham sido relacionadas ao desenvolvimento, proliferação e migração de câncer Papilífero de tireoide.		selecionar as variantes que geram impacto grande ou moderado	

3.5.2 Mutações encontradas em ambos os programas *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup> e Mendel, MD com potencial associação ao desenvolvimento de câncer familiar papilífero de tireoide

3.5.2.1 Identificação das mutações encontradas em ambos os programas *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup> e Mendel, MD

Foram realizadas comparações dos resultados obtidos nos programas *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup> e Mendel, MD. Em seguida foram selecionadas as variantes identificadas: a) conjuntamente nas análises 1i e 1m do exoma do paciente II.2 da Família A; b) conjuntamente nas análises 2i e 2m do exoma do paciente II.1 da Família B; c) conjuntamente nas análises 3i e 3m dos exomas dos pacientes I.2 e II.1 da Família C; e d) conjuntamente nas análises 4i e 4m dos exomas de todos os quatro pacientes.

3.5.2.2 Análise dos genes que apresentaram mutações

A possível associação entre a tumorigênese da tireoide e as variantes candidatas selecionadas foram analisadas quanto:

- a função dos genes e das vias às quais se relacionam, usando-se os bancos de dados *Genecards* (<http://www.genecards.org/>), *OMIM* (<https://www.omim.org/>) e *UniProt* (<http://www.uniprot.org/>);

- a presença no banco de dados *COSMIC* (<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>): para as mutações que já estavam incluídas no *COSMIC* foi pesquisada a quais tipos de câncer elas estavam relacionadas;

- a presença das mutações no banco de dados *Ensembl*: para as mutações que já estavam incluídas no *Ensembl* foram pesquisados suas frequências de ocorrência nas populações e o fenótipo associado a cada mutação. Destaca-se que as duas últimas informações em geral não estavam disponíveis no *Ensembl*;

- aos efeitos das mutações observadas nos modelos animais inseridos nos bancos de dados *Mouse Genome Informatics - MGI* (<http://www.informatics.jax.org>) e *HomoloGene* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene>);

- a seus efeitos carcinogênicos descritos em publicações disponíveis no Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>);

- a seus potenciais deletérios, usando-se as ferramentas computacionais *SIFT*, *Polyphen* e *Provean* e *CAAD*. Os escores das ferramentas utilizadas estão apresentados na Tabela 7. Nessa etapa, foram selecionadas as mutações preditas deletérias.

Após essas análises, foram geradas quatro listas de genes candidatos finais, sendo que os genes selecionados estão descritos nas (Tabelas 8 a 11 do Item 3.6).

**Tabela 7:** Escores das ferramentas utilizadas para análise do efeito das mutações identificadas.

Tipo de substituição	Escore das ferramentas			
	<i>SIFT</i>	<i>Polyphen</i>	<i>Provean</i>	<i>CAAD</i>
<b>Substituições que são preditas intolerantes ou deletérias<sup>1</sup></b>	< 0,05	> 0,43	< 2,5	>15
<b>Substituições que são preditas benignas ou não deletérias</b>	> 0,05	< 0,43	> 2,5	<15

<sup>1</sup> Na ferramenta Polyphen as mutações com potencial nocivo são classificadas em possivelmente deletérias e provavelmente deletérias.

### **3.6 Validação das variantes candidatas selecionadas**

A validação das mutações selecionadas como potencialmente causadoras de câncer papilífero de tireoide familiar foi realizada pela técnica de sequenciamento bi-direcional padrão de Sanger (Sanger & Coulson, 1975).

As seqüências alvo dos genes selecionados (contendo os éxons onde se localizam as mutações) foram obtidas no banco de dados *Ensembl* (<http://www.ensembl.org>). Conjuntos de iniciadores específicos para a amplificação dessas seqüências foram desenhados utilizando-se o programa Primer3 v.4.0 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>) (Tabelas 8 a 11).

As variantes descritas nas Tabelas 8, 9 e 11 foram avaliadas, respectivamente, no DNA extraído do sangue dos paciente II.2 da Família A, II.1 da Família B, e I.2 e II.1 da Família C.

Por sua vez, a mutação apresentada na Tabela 10 foi avaliada nos DNAs de todos esses pacientes.

**Tabela 8:** Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificar as variantes candidatas identificadas no sequenciamento do exoma paciente II.2 da Família A.

Gene	Primer	Temperatura de anelamento	Tamanho do produto amplificado	
<b>ANXA3</b> (Éxon 12)	Forward (5'→3')	TGTTGCTTTGTGACCAATGACA	62°C	230
	Reverse (5'→3')	AGATGGGTAGAGAAGGGCAAA		
<b>GPR35</b> (Éxon2)	Forward (5'→3')	ctgccccagGACCATGAAT	62°C	195
	Reverse (5'→3')	TTGGTCATGTAGATGCGGGT		
<b>NTN4</b> (Éxon 2)	Forward (5'→3')	TTCCGGTTTCCTCGCACAT	62°C	316
	Reverse (5'→3')	TGTAGAGTTAAACAGGTGCCCT		

**Tabela 9:** Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificar a variante candidata identificada no sequenciamento do exoma do paciente II.1 da Família B.

Gene	Primer	Temperatura de anelamento	Tamanho do produto amplificado	
<b>SERPINA1</b> (Éxon 4)	Forward (5'→3')	ACTCCTCCGTACCCTCAACC	62°C	235pb
	Reverse (5'→3')	AAGCTCCTTGACCAAATCCA		

**Tabela 10:** Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificar a variante candidata identificada em comum nos sequenciamentos dos exomas dos pacientes II.2 da Família A, II.1 da Família B, I.2. e II.1 da Família C.

Gene	Primer	Temperatura de anelamento	Tamanho do produto amplificado	
<b>CDC27</b> (Éxon 14)	Forward (5'→3')	TCTTCCAGAGAGCTATCCAA	62°C	235pb
	Reverse (5'→3')	AGTACCAGCACCATCAATAC		

**Tabela 11:** Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificar as variantes candidatas identificadas nos pacientes I.2 e II.1 da Família C.

Gene	Primer	Temperatura de anelamento	Tamanho do produto amplificado	
<b>DCC</b> (éxon 8)	Forward (5' → 3')	GCGACACCTCTGATAGCCTC	62°C	299pb
	Reverse (5' → 3')	AGCCTCTCCAAAGTTCCTGC		
<b>FKBP10</b>	Forward (5' → 3')	GAACTCTGAGACCTCCACGC	62°C	359pb
	Reverse (5' → 3')	TAGGTGTCATAAGTGCCGCC		
<b>GGT1</b> (éxon6)	Forward (5' → 3')	CCACATGGCAGGATGCACT	62°C	244pb
	Reverse (5' → 3')	CCCAAACCCTTTATGCCACG		
<b>KMT2C</b> (éxon 14)	Forward (5' → 3')	CAGAAAGAAAATTCTGAACT	55°C	238pb
	Reverse (5' → 3')	TAAGAGCTGAAGGGTAATTAT		
<b>MAP2K3</b> (éxon 8)	Forward (5' → 3')	CTATGCAGAGCATGGCACCT	60°C	171pb
	Reverse (5' → 3')	ATCGTCTTGCCACAGAGTC		
<b>P2RX5</b> (éxon 1)	Forward (5' → 3')	GCCTGTCGCTGTTCTGACTA	62°C	228pb
	Reverse (5' → 3')	CCCAGCTACCGGGAAAACC		
<b>PFKFB2</b> (éxon11)	Forward (5' → 3')	TATTTGGGATGGGGCTGGTG	62°C	218pb
	Reverse (5' → 3')	CTCAGCAAGGGTCTAGGCAG		
<b>PLEKHG5</b> (éxon 21)	Forward (5' → 3')	CAGGAGGGCAGAGGGTATAA	60°C	489pb
	Reverse (5' → 3')	TTAGACTTGAGCAGGTGGGG		
<b>PTPRH</b> (éxon 16)	Forward (5' → 3')	GGGATCAACTAAAGGCCCCC	60°C	171pb
	Reverse (5' → 3')	TCCATGCAGTTGGTCAGCAT		
<b>SAPCD1</b> (éxon2)	Forward (5' → 3')	GCAGGCTCTGGAGAGAGAAC	62°C	289pb
	Reverse (5' → 3')	ACACTTGGTGGCATCCTGTC		
<b>SPHK1</b> (éxon 8)	Forward (5' → 3')	GGGGCTTCATTGCTGATGTG	60°C	204pb
	Reverse (5' → 3')	CAAGGTGTGCATCTACCGGG		
<b>SVIL</b> (éxon22)	Forward (5' → 3')	AGATTGACGTCTCCGTGGC	62°C	353pb
	Reverse (5' → 3')	AAAAATCTTTAAAGTCTAGGTGCG		

A reação padrão utilizada para a realização das PCR seguiu os seguintes parâmetros: 100ng de DNA; 2,5µL de Tampão 10x; 2,5µL de dNTPs (0.2mM); 0,5µL de cada par de iniciadores (10pmol/mL), 0,5µL de Taq DNA polimerase (0.625U), e água ultrapura para completar o volume final de 25 µL. Os produtos foram amplificados em termociclador, utilizando-se as seguintes etapas: desnaturação a 94°C por 3 minutos, e, 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento que variou entre 60°C a 62°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos. Ao término dos ciclos, as reações passaram por uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

A purificação dos produtos amplificados foi realizada com o kit de purificação Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega Corporation, Madison, WI). Amostras purificadas foram submetidas a eletroforese em gel de poliacrilamida 6,5%. A visualização dos produtos amplificados foi possível através da coloração do gel de poliacrilamina, a partir da coloração com solução de nitrato de prata (10.5g AgNO<sub>3</sub>, q.s.p 100mL H<sub>2</sub>O, formaldeído 37%, q.s.p 50mL de água destilada), seguida de revelação em solução de carbonato de sódio (3g de NaCO<sub>3</sub>, q.s.p 100mL H<sub>2</sub>O, 75mL de formaldeído 100% e 20mL de tiosulfato de sódio 10mg/mL).

Os produtos de PCR purificados foram utilizados para reações de sequenciamento realizadas utilizando-se BigDye Terminator v.3.1 cycle sequencing kit, seguindo as instruções do fabricante (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA). As reações de sequenciamento ocorreram em termociclador, utilizando-se as seguintes etapas: desnaturação a 96°C por 3 minutos; 25 ciclos de desnaturação a 96°C por 10 segundos, anelamento a 50°C por 5 segundos, extensão a 60°C por 4 minutos. A purificação dos produtos das reações de sequenciamento foi realizada por precipitação com Etanol/EDTA/Acetato de Sódio. As sequências foram obtidas em sequenciador ABI 3130 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA) e analisadas utilizando-se o programa Sequencher v.5.4.6.



### 3.7 Avaliação da presença das variantes validadas na população controle e em outros membros das famílias estudadas

Para validar a associação das mutações candidatas com a patogênese do câncer papilífero familiar de tireoide, as variantes selecionadas foram sequenciadas (de acordo com os métodos descritos no Item 3.6) em amostras de DNA de outros integrantes das Famílias A, B e C acometidos pela doença. Posteriormente, as variantes foram analisadas nos 98 indivíduos controles (idosos brasileiros sem histórico de câncer), a fim de confirmar que as variantes não configuram como polimorfismos na população brasileira. As variantes candidatas observadas especificamente na Família A também foram genotipadas (de acordo com os métodos descritos no Item 3.6) em outro membro família, o qual está em acompanhamento médico por ser portador de nódulo na tireoide. Ademais, as mutações candidatas identificadas na Família C foram sequenciadas no DNA extraído de tecido tumoral (fixado em parafina) do paciente I.2 da Família C, com base nos métodos descritos no Item 3.6. Esses métodos foram empregados também para a análise da mutação p.V600E (do gene *BRAF*) na amostra do tumor do paciente paciente I.2 da Família C e os conjuntos de iniciadores utilizados para essa análise estão apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12:** Conjuntos de iniciadores utilizados para amplificação do éxon 15 do gene *BRAF*.

Gene	Primer	Temperatura de anelamento	Tamanho do produto amplificado
<b><i>BRAF</i></b> (Éxon 15)	Forward (5'→3')	55°C	179pb
	Reverse (5'→3')		

### 3.8 Avaliação das variantes validadas com base sistema de classificação de variantes segundo a Escola Americana de Genética e Genômica Médica (ACMG)

As mutações validadas em cada uma das famílias A, B e C com câncer papilífero de tireóide foram analisadas conforme os critérios de classificação de variantes da ACMG, os quais

encontram-se descritos no trabalho de Richards *et al.* (2015). O sistema desses autores se baseia em diversas informações sobre as variantes, como por exemplo, o efeito na proteína, a posição no transcrito, a presença e segregação na família. Compreendem-se como as variantes com potencial patogênico no sistema de classificação da ACMG as: muito fortemente potencialmente patogênicas (PVS1), fortemente potencialmente patogênica (PS1 a PS4), moderadamente potencialmente patogênica (PM1 a PM 6) ou com potencial patogênico de suporte (PP1 a PP5). As variantes classificadas como patogênicas ou possivelmente patogênicas no sistema de classificação da ACMG correspondem as que se enquadram em dois ou mais dos critérios de potencial patogênico, conforme detalhado na Tabela 13.

**Tabela 13:** Critérios para classificação de variantes patogênicas ou possivelmente patogênicas segundo Richards *et al.* (2015).

Variantes classificadas como patogênicas segundo Richards <i>et al.</i> (2015).	Variantes classificadas como possivelmente patogênicas segundo Richards <i>et al.</i> (2015).
<p><b>1- Que sejam enquadradas no grupo das variantes muito fortemente potencialmente patogênicas (PVS1) E que também sejam enquadradas em:</b></p> <p><b>a. um ou mais dos critérios das variantes fortemente potencialmente patogênica (PS); OU</b></p> <p><b>b. dois ou mais dos critérios de variantes moderadamente potencialmente patogênicas (PM); OU</b></p> <p><b>c. um ou mais dos critérios de variantes moderadamente potencialmente patogênicas (PM) E em um ou mais dos critérios de variantes com potencial patogênico de suporte (PP); OU</b></p> <p><b>d. dois ou mais dos critérios de variantes de potencial patogênico de suporte (PP). OU</b></p> <p><b>2- Que sejam enquadradas em dois ou mais dos critérios do grupo das variantes fortemente potencialmente patogênicas (PS); OU</b></p> <p><b>3- Que sejam enquadradas em um dos critérios do grupo das variantes fortemente potencialmente patogênicas (PS) E que sejam enquadradas em:</b></p> <p><b>a. três ou mais dos critérios no grupo das variantes moderadamente potencialmente patogênicas (PM); OU</b></p> <p><b>b. dois ou mais dos critérios das variantes moderadamente potencialmente patogênicas (PM) E em dois ou mais critérios das variantes que tenham potencial patogênico de suporte (PP); OU</b></p>	<p><b>1- Que sejam enquadradas no grupo das muito fortemente potencialmente patogênicas (PVS1) E também sejam enquadradas em pelo menos um dos critérios do grupo das moderadamente potencialmente patogênicas (PM). OU</b></p> <p><b>2- Que sejam enquadradas no grupo das fortemente potencialmente patogênicas em um dos critérios (PS) E também sejam enquadradas em dois ou mais dos critérios do grupo das moderadamente potencialmente patogênicas (PM). OU</b></p> <p><b>3- Que sejam enquadradas em um dos critérios do grupo das variantes fortemente potencialmente patogênicas (PS) E também sejam enquadradas em dois ou mais critérios no grupo das variantes de potencial patogênico de suporte (PP). OU</b></p> <p><b>4- Que sejam enquadradas em três ou mais dos critérios do grupo das variantes moderadamente potencialmente patogênicas (PM). OU</b></p> <p><b>5- Que sejam enquadradas em dois dos critérios do grupo das moderadamente potencialmente patogênicas (PM) E em dois ou mais critérios das variantes que tenham potencial patogênico de suporte (PP). OU</b></p> <p><b>6- Que sejam enquadradas em um dos critérios do grupo das variantes moderadamente potencialmente patogênicas (PM) E em dois ou mais critérios das variantes que tenham potencial patogênico de suporte (PP). OU</b></p>

---

c. um dos critérios das variantes moderadamente potencialmente patogênicas (PM) E em quatro dos critérios das variantes que tenham potencial patogênico de suporte (PP).	
--	--

---

## 4 RESULTADOS

### 4.1 *Características clínicas dos pacientes*

O probando II.2 da Família A (Figura 9) foi diagnosticado com PTC aos 32 anos de idade. A história familiar desse paciente para tumores incluiu: a mãe, que desenvolveu carcinoma metastático de células oncocíticas de tireóide; um filho falecido por leucemia; dois outros filhos, casos III.1 e III.2 (Figura 9), diagnosticados com PTC aos 39 e 36 anos, respectivamente. Ademais, há outro filho do probando, o caso III.3 (Figura 9), que está com 36 anos de idade, não apresenta fenótipo de câncer, mas está em acompanhamento médico devido a presença de nódulo na tireóide (Figura 9). Assim, com relação a Família A, no presente estudo foram analisados os casos II.2 a III.3 (Figura 9) Na Tabela 14 são apresentados os dados clínicos dos pacientes II.2 a III.2 da Família A (Figura 9). As informações sobre o caso III.3 da Família A (Figura 9) não foram incluídas na Tabela 14 tendo em vista que o nódulo na tireoide desse paciente não foi associado até o momento à PTC.

O caso índice II.1 da Família B (Figura 10) apresentou PTC multinodular aos 43 anos de idade. Sua irmã (caso II.2) e sua mãe (caso I.2) (Figura 10) foram diagnosticadas com carcinoma papilífero de tireoide aos 22 e 70 anos de idade, respectivamente. A mãe e outra irmã do paciente II.1 foram diagnosticadas com câncer de mama. Os dados clínicos dos pacientes I.2, II.1 e II.2 da Família B estão apresentados na Tabela 14.

O probando Caso II.1 da Família C (Figura 11) foi diagnosticado com PTC aos 18 anos de idade. Sua história familiar engloba a sua mãe (caso I.2, Figura 11), diagnosticada com PTC aos 67 anos de idade, e mais duas irmãs. Uma delas (caso II.2, Figura 11) recebeu o diagnóstico de PTC aos 45 anos de idade. Na Tabela 14 são descritos os dados clínicos dos casos I.2, II.1 e II.2 da Família C.

Todos os pacientes das Famílias A, B e C receberam tratamento cirúrgico (tireoidectomia completa). Nenhum dos pacientes teve exposição a raios X na cabeça ou no pescoço antes de desenvolver os tumores. Os heredogramas das Famílias A, B e C estão representados nas Figuras 9 a 11.

**Tabela 14:** Dados clínicos dos pacientes analisados integrantes das Famílias A, B e C que apresentam PTC.

Família	Caso	Idade ao diagnóstico	Gênero	Dimensão do tumor	Tipo histológico do PTC	Invasão perineural	Extensão extratireoidea	Metastase linfonodal
Família A	II.2 (probando)	32 anos	Feminino	2,0 cm	Folicular	SI	SI	SI
	III.1	39 anos	Masculino	0,5 cm	Clássico Folicular	SI	SI	SI
	III.2	36 anos	Masculino	0,3 cm	Clássico	Não	Não	Não
Família B	I.2	70 anos	Feminino	1,6 cm	SI	SI	Sim	Sim
	II.1 (probando)	43 anos	Masculino	0,5 a 1,5 cm	Clássico	SI	Sim	Não
	II.2	22 anos	Feminino	1,5 cm	Clássico	SI	Não	Sim
Família C	I.2	65 anos	Feminino	0,95 cm	Folicular	Não	Não	Não
	II.1 (probando)	18 anos	Feminino	SI	SI	SI	SI	SI
	II.2	45 anos	Feminino	0,90 cm	Clássico	Não	Não	Não

Legenda: SI= Sem informação

## 4.2 Resultados dos sequenciamentos completos dos exomas

### 4.2.1 Família A

O sequenciamento completo do exoma do paciente II.2 da Família A (Figura 9) resultou na amplificação de 49.402 variantes em 17.359 genes. A profundidade média de leitura de cada base foi de 138x e a qualidade média do sequenciamento foi de 1.379. Após exclusão das variantes com frequência alélica  $\geq 1\%$  e aplicação dos demais filtros detalhados no Item 3.5.1.1, um total de 458 genes com mutações *frameshift*, sem sentido, de sentido trocado ou *in-frame* foram identificadas pelo programa *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup> (Tabela Suplementar 1). Empregando-se os critérios de seleção de variantes descritos no Item 3.5.1.2,

foram detectadas 155 genes com mutações *frameshift*, sem sentido, de sentido trocado ou *in-frame* no programa Mendel, MD (Tabela Suplementar 2). No total, 39 variantes em 39 genes foram encontradas em comum aos dois programas. Todos estes genes e variantes foram analisados com base em seus papéis biológicos, conforme descrito no Item 3.5.2.2, para que fosse então possível se determinar aqueles que poderiam estar associados ao desenvolvimento de PTC na Família A. Desse modo, as variantes identificadas nos genes *ANXA3* (MIM #106490), *NTN4* (MIM #610401), *GPR35* (MIM #602646) e *CDC27* (MIM #116946) foram selecionadas. Na

Tabela 15 são apresentadas estas mutações, bem como o efeito funcional de cada uma delas. Somente as mutações p.D283N/c.1226G>A\**ANXA3* e p.Y157S/c.919A>C\**NTN4* foram validadas via Sequenciamento de Sanger. Até a conclusão deste trabalho essas mutações não haviam sido previamente descritas na literatura.

**Tabela 15:** Análise do efeito funcional das mutações encontradas na Família A usando as ferramentas *Provean*, *Polyphen2*, *SIFT* e *CADD*

Gene	Chr	Base alterada	Aminoácido alterado	<i>Provean</i>	<i>SIFT</i>	<i>Polyphen2</i>	<i>CADD</i>
<i>CDC27</i>	17	Cga/Tga	p.R631*	SI	SI	SI	SI
<i>ANXA3</i>	4	Gac/Aac	p.D283N	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério
<i>GPR35</i>	2	taC/taG	p.Y57*	SI	SI	SI	SI
<i>NTN4</i>	12	tAt/tCt	p.Y157S	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério

Legenda: SI=sem informação.

Na Tabela 16 são apresentados os resultados sucintos das pesquisas realizadas (conforme descrito no Item 3.5.2.1 e no Item 3.8) sobre os genes *ANXA3* e *NTN4*, bem como sobre suas variantes validadas no indivíduo II.2 da família A (indicado na Figura 9).

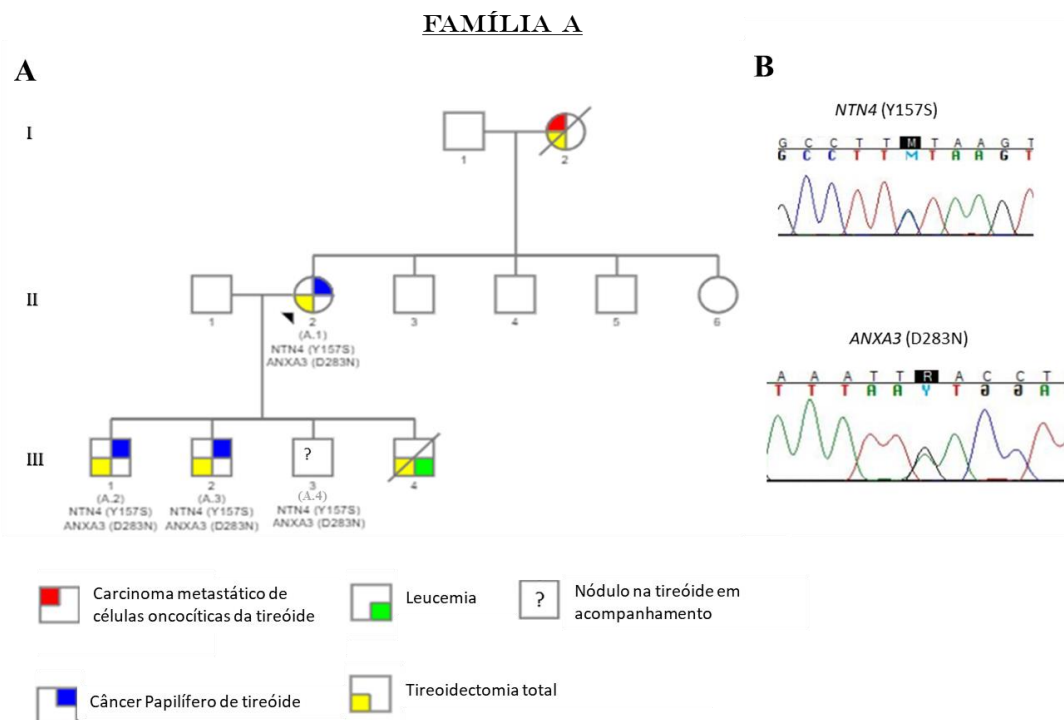
**Tabela 16:** Fatores empregados na seleção de genes/mutações potencialmente associados ao desenvolvimento de CPT na Família A.

Genes (variantes)	<i>ANXA3</i> (p.D283N)	<i>NTN4</i> (p.Y157S)
<b>Critérios avaliados</b>		
Há na literatura estudos de alteração da expressão desse gene em tumores?	Sim	Sim
A proteína sintetizada por esse gene participa do reparo do DNA, rearranjo gênico, da angiogênese ou do controle da proliferação celular?	Sim	Sim

A mutação tem potencial deletério? <sup>1</sup>	Sim	Sim
A mutação já foi descrita em algum tipo de câncer?	Não	Não
A mutação tem MAF <1%?	SI	Si
Há modelos animais que avaliam o efeito da mutação identificada nesse gene?	Não	Não
Classificação da variante segundo critérios de Richards <i>et al.</i> (2015).	Moderadamente potencialmente patogênica (PM2) E com dois critérios potenciais patogênicos de suporte (PP1+PP3).	

Legenda: SI=sem informação; <sup>1</sup>=Em pelo menos duas das seguintes ferramentas: *Provean*, *Polyphen2*, *SIFT* e *CADD*.

No presente estudo, as variantes germinativas p.D283N no gene ANXA3 e p.Y157S no gene NTN4 também foram identificadas nos outros três membros da Família A (Casos III.1, III.2 e III.3, identificados na Figura 9) e estavam ausentes nos 98 controles saudáveis.



**Figura 9:** Heredograma da Família A e genótipos associados ao fenótipo de PTC. Círculos e quadrados representam indivíduos femininos e masculinos, respectivamente. O probando é indicado por seta preta. Os membros falecidos são representados por linhas diagonais. (A) Heredograma da Família A, a qual apresenta membros afetados por câncer papilífero de tireóide. (B) Eletroferogramas das mutações germinativas de sentido trocado identificadas em heterozigose nos casos II.2, III.1, III.2 e III.3 da Família A.

#### 4.2.2 Família B

A partir do sequenciamento completo do exoma do paciente II.1 da Família B (Figura 10) foram detectadas 49.338 variantes em 17.478 genes. A média da qualidade do sequenciamento foi de 1.472 e a profundidade média de leitura foi de 130x por base. A partir das análises descritas nos Item 3.5.1.1 para detecção de genes com mutações *frameshift*, sem

sentido, de sentido trocado ou *in-frame*, foram identificadas essas variantes em 69 genes pelo programa *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup> e em 155 genes pelo programa Mendel, MD. Foram observadas apenas duas variantes potencialmente deletérias em comum dentre as identificadas pelos dois programas, sendo elas localizadas nos genes *CDC27* (MIM #116946) e *SERPINA1* (MIM # 107400). Na Tabela 17 são apresentados os efeitos funcionais dessas variantes.

**Tabela 17:** Análise do efeito funcional da mutação encontrada na Família B usando as ferramentas *Provean*, *Polyphen2*, *SIFT* e *CADD*

Gene	Chr	Base alterada	Aminoácido alterado	<i>Provean</i>	<i>SIFT</i>	<i>Polyphen2</i>	<i>CADD</i>
<b><i>CDC27</i></b>	17	Cga/Tga	p.R631*	SI	SI	SI	SI
<b><i>SERPINA1</i></b>	14	Ggg/Tgg	p.G172W	Neutro	Deletério	Deletério	Neutro

Legenda: SI=sem informação.

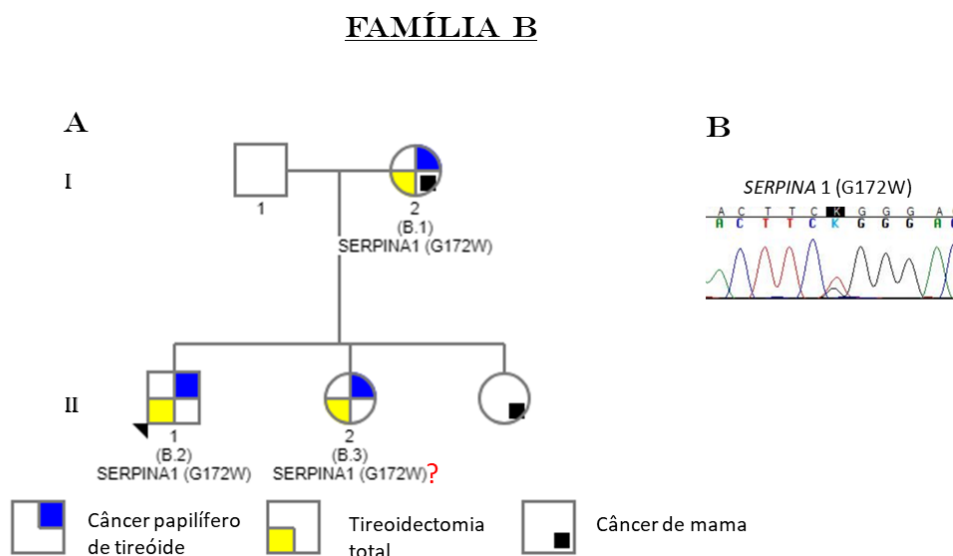
A mutação p.R631\* no gene *CDC27* não foi validada. Com o uso do método Sanger de sequenciamento validou-se a variante p.G172W/c.1087G>T\**SERPINA1* no paciente II.1 da Família B e foi observado que a mutação está presente também no caso I.2 da Família B (Figura B), mas está ausente nos 95 controles saudáveis. Na Tabela 18 é apresentada a síntese dos resultados sucintos das pesquisas realizadas (com base no Item 3.5.2.1 e no Item 3.8) sobre o gene *SERPINA1* e a variante identificada nesse gene.

**Tabela 18:** Fatores avaliados para seleção de genes/mutações potencialmente associados ao desenvolvimento de CPT na Família B.

Genes (variantes)	<i>SERPINA1</i> (p.G172W)
<b>Critérios avaliados</b>	
Há na literatura estudos de alteração da expressão desse gene em tumores?	Sim
A proteína sintetizada por esse gene participa do reparo do DNA, rearranjo gênico, da angiogênese ou do controle da proliferação celular?	Sim
A mutação tem potencial deletério? <sup>1</sup>	Sim
A mutação já foi descrita em algum tipo de câncer?	Não
A mutação tem MAF <1%?	Sim
Há modelos animais que avaliam o efeito da mutação identificada nesse gene?	Não
Classificação da variante segundo critérios de Richards <i>et al.</i> (2015).	Moderadamente potencialmente patogênica (PM2) E com um critério

Legenda: <sup>1</sup>=Em pelo menos duas das seguintes ferramentas: *Provean*, *Polyphen2*, *SIFT* e *CADD*.

Até o presente momento, não confirmou-se a presença da mutação no paciente II.2 da Família B. A frequência alélica dessa variante na população mundial, de acordo com o banco de dados *ExAC* (<http://exac.broadinstitute.org/>) é de 4.280e-04.



**Figura 10:** Heredograma da Família B e genótipo associado ao fenótipo de PTC. Círculos e quadrados representam indivíduos femininos e masculinos, respectivamente. O probando é indicado por seta preta. Os membros falecidos são representados por linhas diagonais. (A) Heredograma da Família B, a qual apresenta membros afetados por câncer papilífero de tireóide. (B) Eletroferograma da mutação germinativa de sentido trocado identificadas em heterozigose nos casos II.1, I.2 e (a confirmar) II.2.

#### 4.2.3 Família C

O sequenciamento completo do exoma dos casos I.2 (mãe) e II.1 (filha) da Família C (Figura 11) resultou em 57.436 variantes em 15.060 genes. A média da qualidade do sequenciamento foi de 1.022 e a profundidade média de leitura foi de 138x por base. Usando o método de filtragem de variantes no programa *Ingenuity Variant Analysis<sup>TM</sup>*, foram identificadas mutações *frameshift*, sem sentido, de sentido trocado ou *in-frame* em 188 genes compartilhados por ambos os pacientes. Análise semelhante usando o programa *Mendel,MD* possibilitou a detecção de variantes em 127 genes comuns aos dois pacientes.



A comparação dos resultados de ambas as análises resultou na identificação de 13 mutações sem sentido, de sentido trocado com efeito funcional deletério, ou *frameshift* em 13 genes, sendo eles: *CDC27* (MIM #116946), *DCC* (MIM #120470), *FKBP10* (MIM #607063), *GGT1* (MIM #612346), *KM2TC* (MIM #606833), *MAP2K3* (MIM #602315), *P2RX5* (MIM #602836), *PFKFB2* (MIM #171835), *PLEKHG5* (MIM #611101), *PTPRH* (MIM #602510), *SAPCD1*, *SPHK1* (MIM #603730), *SVIL* (MIM #604126). Os potenciais deletérios das variantes identificadas estão descritos na Tabela 19.

**Tabela 19:** Análise do efeito funcional das mutações encontradas na Família C usando as ferramentas *Provean*, *Polyphen2*, *SIFT* e *CADD*

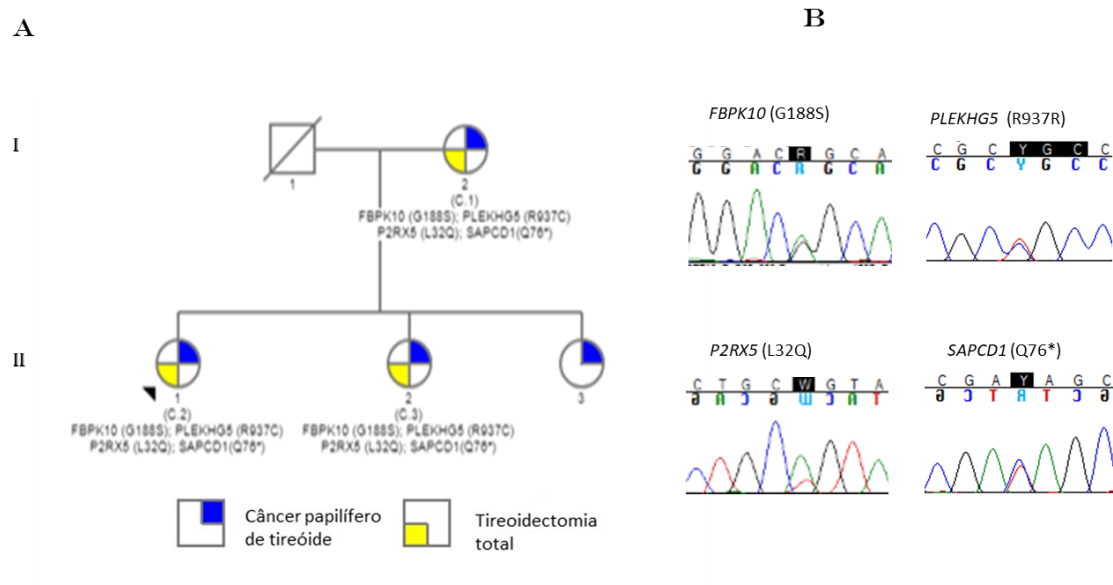
Gene	Chr	Base alterada	Aminoácido alterado	<i>Provean</i>	<i>SIFT</i>	<i>Polyphen2</i>	<i>CADD</i>
<i>CDC27</i>	17	Cga/Tga	p.R631*	SI	SI	SI	SI
<i>DCC</i>	18	aCg/aTg	p.T463M	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério
<i>FKBP10</i>	17	Ggc/Agc	p.G188S	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério
<i>GGT1</i>	22	Ggc/Agc	p.G84S	Deletério	Deletério	Possivelmente deletério	Deletério
<i>KMT2C</i>	7	Caa/Taa	p.Q755*	SI	SI	SI	Deletério
<i>MAP2K3</i>	17	gGc/gAc	p.G202D	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério
<i>P2RX5</i>	17	cTg/cAg	p.L32Q	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério
<i>PFKFB2</i>	1	Cgg/Tgg	p.R343W	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério
<i>PLEKHG5</i>	1	Cgc/Tgc	p.R939C	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério
<i>PTPRH</i>	19	Cag/Tag	p.Q887*	SI	SI	SI	Deletério
<i>SAPCD1</i>	6	Cag/Tag	p.Q76*	SI	SI	SI	Deletério
<i>SPHK1</i>	17	cg/c	p.R285fs*17	SI	SI	SI	SI
<i>SVIL</i>	10	cTc/cGc	p.L1374R	Deletério	Deletério	Deletério	Deletério

Legenda: SI=sem informação; \*Em pelo menos duas das seguintes ferramentas: *Provean*, *Polyphen2*, *SIFT* e *CADD*.

As variantes nos genes *DCC*, *FKBP10*, *MAP2K3*, *PLEKHG5*, *P2RX5*, *SAPCD1*, *SPHK1* foram validadas, mas apenas as mutações nos genes *FKBP10* (p.G188S/c.666G>A), *PLEKHG5* (p.R937C/c.2880G>T), *P2RX5* (p.L32Q/c.494T>A) e *SAPCD1* (p.Q76\*/c.285C>T) foram identificadas (em heterozigose) em todos os três membros afetados da Família C (Figura 11) e na amostra de tumor do caso II.1 da Família C. Nenhum dos 95 controles saudáveis continha essas quatro mutações. A frequência alélica total de cada

uma dessas variantes na população mundial, de acordo com o banco de dados *ExAC* (<http://exac.broadinstitute.org/>), é de: 1.65e-05 para a mutação p.G188S no gene *FKBP10*, 4.007e-05 para p.R937C no gene *PLEKHG5*, 4.12e-03 para p.L32Q no gene *P2RX5* e 9.14e-04 para p.Q76\* no gene *SAPCD1*. A amostra de DNA tumoral não apresentou mutação no gene *BRAF*.

### FAMÍLIA C



**Figura 11:** Heredograma da Família C e genótipos associados ao fenótipo de PTC. Círculos e quadrados representam indivíduos femininos e masculinos, respectivamente. O probando é indicado por seta preta. Os membros falecidos são representados por linhas diagonais. (A) Heredograma da Família C, a qual apresenta membros afetados por câncer papilífero de tireóide. (B) Eletroferogramas das mutações germinativas de sentido trocado ou sem sentido identificadas em heterozigose nos casos I.2, II.1 e II.2 da Família C.

Na Tabela 20 é apresentada a síntese dos resultados sucintos das pesquisas realizadas (com base no Item 3.5.2.1 e no Item 3.8) sobre os genes e as quatro variantes correlacionadas ao desenvolvimento de CPT na Família C.

**Tabela 20:** Fatores avaliados para seleção de genes/mutações potencialmente associados ao desenvolvimento de CPT na Família C.

Genes (variantes)	<i>SAPCD1</i> (p.Q76*)	<i>FKBP10</i> (p.G188S)	<i>P2RX5</i> (p.L32Q)	<i>PLEKHG5</i> (p.R937C)
<b>Critérios avaliados</b>				
Há na literatura estudos de alteração da expressão desse gene em tumores?	Sim	Sim	Sim	Sim
A proteína sintetizada por esse gene participa do reparo do DNA, rearranjo gênico, da angiogênese ou do controle da proliferação celular?	SI	Sim	Sim	Sim
A mutação tem potencial deletério? <sup>1</sup>	Sim	Sim	Sim	Sim
A mutação já foi descrita em algum tipo de câncer?	Sim	Não	Não	Sim
A mutação tem MAF <1%?	Sim	Sim	Sim	Sim
Há modelos animais que avaliam o efeito da mutação identificada nesse gene?	Não	Não	Não	Não
<b>Classificação da variante segundo critérios de Richards <i>et al.</i> (2015).</b>	Patogênica (PVS1 + PM2 + PP1 + PP3)	Moderadamente potencialmente patogênica (PM2) <i>E</i> com três critérios potenciais patogênicos de suporte (PP1+PP2+PP3)		

Legenda: SI=sem informação; <sup>1</sup>=Em pelo menos duas das seguintes ferramentas: *Provean*, *Polyphen2*, *SIFT* e *CADD*.

#### 4.2.4 Equivalência entre as Famílias A, B e C

Apenas uma variante candidata potencialmente deletéria, a mutação p.R631\* no gene *CDC27*, foi encontrada em comum nos Casos II.2 da Família A, II.1 da Família B, I.2 e II.1 da Família C. No entanto, conforme descrito nos Itens 4.2.1 a 4.2.3 essa mutação não foi validada nesses pacientes.

#### 4.2.5 Análise nas Famílias A, B e C das mutações previamente descritas na literatura como associadas a patogênese de PTC familiar

As variantes nos genes *SRGAP1*, *TITF-1/NKX2.1*, *FOXE1*, *HABP2*, *SRRM2* e *MAP2K5* previamente descritas na literatura não foram encontrados nos exomas dos casos II.2 da Família A, II.1 da Família B, I.2 II.1 da Família C.

## 5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

As variantes p.Q149H e p.R617C (gene *SRGAP1*), p.S346F (gene *SRRM2*), p.G496V e p.T1170I (gene *PARP4*), p.A339V (gene *TITF-1/NKX2.1*), p.A248G (gene *FOXE1*), p.G534E (gene *HABP2*), e p.A321T e p.M367T (gene *MAP2K5*) já foram associadas ao fenótipo de FNMTTC (Ngan *et al.*, 2009; He *et al.*, 2013; Gara *et al.*, 2015; Pereira *et al.*, 2015; Tomsic *et al.*, 2015; Tomsic, Chapelle, 2015; Tomsic *et al.*, 2016; Ye *et al.*, 2019). Entretanto, a prevalência de famílias com PTC portadoras dessas mutações é, em geral, baixa. Com isso, a patogênese do câncer papilífero familiar de tireóide permanece pouco esclarecida.

No presente estudo, as variantes descritas na literatura não foram encontradas nas Famílias A, B e C. Através da análise de co-segregação, ausência das mutações nos controles, potencial patogênico e a frequência mundial das mutações, foram identificadas sete mutações germinativas candidatas a participarem do desenvolvimento de câncer papilífero familiar de tireóide nas três famílias estudadas. Dentre as variantes candidatas foram observadas, duas na Família A (p.D283N no gene *ANXA3* e p.Y157S no gene *NTN4*), uma na Família B (p.G172W no gene *SERPINA1*), quatro na Família C (p.G188S no gene *FKBP10*, p.R937C no gene *PLEKHG5*, p.L32Q no gene *P2RX5*, e p.Q76\* no gene *SAPCD1*). Porém, destaca-se que não há modelos biológicos ou outros estudos publicados na literatura que tenham validado previamente o impacto das variantes candidatas no desenvolvimento de tumores.

O gene *ANXA3*, localizado na região 4q13-q22 do cromossomo humano, codifica proteínas Anexina A3 (*ANXA3*), as quais são proteínas ligadas a fosfolipídios dependentes de cálcio. Essas proteínas estão envolvidas no transporte de membranas, em outras atividades dependentes de calmodulina, e no controle da expressão de proteínas que regulam as cinases dependentes de ciclina (Zhou *et al.*, 2017). *ANXA3* desempenha, assim, um papel na proliferação celular, apoptose, metástase e resistência a medicamentos (Du *et al.*, 2018).

Descobertas recentes demonstram que a expressão de *ANXA3* está aumentada em câncer de mama (Du *et al.*, 2018), pulmão (Liu *et al.*, 2009), fígado (Pan *et al.*, 2015) e em câncer de ovário resistente à cisplatina (Yan *et al.*, 2010). Esses estudos sugerem que a superexpressão de *ANXA3* pode estar associada ao tamanho do tumor, estágio do tumor, mau prognóstico e resistência à quimioterapia (Liu *et al.*, 2009; Yan *et al.*, 2010; Pan *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2017; Du *et al.*, 2018). Em contrapartida, ensaios *in vitro* e *in vivo* demonstraram aumento da proliferação de células de câncer de mama, tireoide e próstata frente à redução da expressão de *ANXA3* (Kollerrmann *et al.*, 2008; Jung *et al.*, 2010; Du *et al.*, 2018). Desse modo, *ANXA3* pode ter funções oncogênicas e supressoras de tumor, dependendo dos tipos de células e tecidos tumorais. Identificamos no presente estudo a variante germinativa p.D283L em heterozigose no gene *ANXA3* em familiares com câncer papilífero de tireoide. Porém, ainda não está claro como essa mutação pode estar envolvida no desenvolvimento do tumor da tireoide.

O gene Netrin-4 (*NTN4*), localizado no cromossomo 12q22, sintetiza as proteínas NTN4 componentes da membrana celular (Lambert *et al.*, 2012). Evidências recentes sugerem que NTN4 pode desempenhar um papel importante no câncer de mama (Xu *et al.*, 2017), no câncer de estômago (Lv *et al.*, 2015), no glioblastoma (Hu *et al.*, 2012), no neuroblastoma (Villanueva *et al.*, 2018) e no melanoma (Jayachandran *et al.*, 2016). Estudos indicam que baixas concentrações de NTN4 contribuem para a proliferação de células tumorais (Hu *et al.*, 2012; Eveno *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2017), e altas concentrações de proteínas NTN4 inibem o crescimento do tumor e a angiogênese (Nacth *et al.*, 2009; Eveno *et al.*, 2011; Lv *et al.*, 2012). Nesse sentido, é observada a redução da expressão de NTN4 no câncer de próstata (Latil *et al.*, 2003), de mama (Esseghir *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2017), de colo do útero (Zhang *et al.*, 2013), e no melanoma (Jayachandran *et al.*, 2016). Entretanto, Lv *et al.* (2012) observaram aumento da expressão de NTN4 em amostras de câncer de estômago.

O gene *SERPINA1*, sintetiza a proteína a SERPINA1, também conhecida como  $\alpha$ 1-Anti Tripsina. Esta é uma inibidora de protease, como as serina proteases (Kwon *et al.*, 2015). A SERPINA1 é altamente expressa no câncer colorretal (Kwon *et al.*, 2015), no carcinoma de células escamosas da pele (Farshchian *et al.*, 2011), e no carcinoma papilífero de tireoide (Vierlinger *et al.*, 2011). Kwon *et al.* (2015) observaram que a invasão celular e a migração no câncer colorretal têm associação com a regulação positiva de fibronectina por SERPINA1. Por outro lado, Chan *et al.* (2015) observaram que o aumento dos níveis de SERPINA1 é um preditor de sobrevida em pacientes com câncer de mama ER + e ER +/HER2 +.

O gene *SAPCD1* situa-se no cromossomo 6 e é associado ao reparo do DNA (Matta *et al.*, 2013; Jackson *et al.*, 2016). A mutação *nonsense* p.Q76\* identificada no gene *SAPCD1* causa a perda de mais de 10% da proteína sintetizada pelo gene, e tem a prevalência inferior a 1% na população mundial. Essa mutação foi identificada também por Liu *et al.* (2018) em pacientes com câncer de pulmão, mas o efeito biológico da variante ainda não foi descrito. Matta *et al.* (2013) observaram que a proteína SAPCD1 encontra-se menos expressa no câncer de mama, porém, a causa da redução da expressão não foi estudada. Desse modo, mais estudos funcionais são necessários para a compreensão da mutação e da proteína.

O gene *PLEKHG5* (também conhecido como *TECH* ou *Syx*) localiza-se na região 1p36 do cromossomo humano, a qual é associada a rearranjos gênicos em vários tipos de câncer (Maystadt *et al.*, 2007; Garnaas *et al.*, 2009). A mutação p.R937C no *PLEKHG5* já foi identificada em amostras de carcinoma do trato urinário e está descrita nas bases de dados *Ensembl* e *Cosmic*. Mutações de perda de função da proteína sintetizada pelo gene *PLEKHG5* (por exemplo, p.Thr663Met e p.Gly820Arg) diminuem a ativação de NFkB e têm sido associadas a doença do neurônio motor inferior e à doença de Charcot-Marie-Tooth (Maystadt *et al.*, 2007; Kim *et al.* al., 2013), fenótipos claramente não apresentados pelos integrantes das famílias estudadas na presente pesquisa.

O gene *P2RX5* codifica o receptor P2RX5, o qual é canal iônico controlado por adenosina-5'-trifosfato-ATP atua em vias de sinalização celulares (Burnstock, Di Virgillio, 2013). Os receptores P2RX5, ativados pelo ATP, promovem a inibição do crescimento das células cancerígenas (Burnstock, Di Virgillio, 2013; Di Virgilio, Adinolfi, 2017). O aumento da expressão de P2RX5 foi detectada em câncer de bexiga (Sterle *et al.*, 2014) e em leucemia aguda pediátrica (Chong *et al.*, 2010).

O gene *FKBP10* (situado no cromossomo 17) sintetiza a proteína FKBP10 (ou FKBP65), que pertence à família FKBP de enzimas com atividade de peptidil-prolil cis-trans isomerase (Romano *et al.*, 2015). Essa proteína localiza-se no retículo endoplasmático e tem atividade de chaperona (Quinn *et al.*, 2013). Ge *et al.* (2016) descobriram que a FKBP10 está presente em níveis mais elevados em células de câncer renal do que em células não tumorais, induzindo a progressão do ciclo celular, proliferação celular, migração e invasão. Nesse sentido, o aumento de FKBP10 também tem sido associado ao câncer colorretal, de pulmão e de próstata (Olesen *et al.*, 2005; Tomlins *et al.*, 2005; Ramadori *et al.*, 2015). Entretanto, Quinn *et al.* (2013) identificaram a redução da expressão de FKBP10 em carcinomas epiteliais de ovário, e estudos adicionais são necessários para decifrar com precisão o papel da FKBP10 no desenvolvimento do câncer. Mutações em FKBP10 estão associadas a osteogênese imperfeita autossômica recessiva, síndrome de Bruck e síndrome de Kuskokwim, fenótipos não presentes nos membros da Família C. Por sua vez, há atualmente 191 mutações pontuais não-sinônimas em vários tumores listados no banco de dados *COSMIC*. No entanto, a mutação p.G188S encontrada no presente estudo não aparece nesse banco de dados.

Em conclusão, os resultados do presente estudo demonstram a utilidade da aplicação do seqüenciamento completo de exoma para identificação de genes relacionados a predisposição de tumores. Nesse sentido, as variantes p.G188S no gene *FKBP10*, p.R937C no gene *PLEKHG5*, p.L32Q no gene *P2RX5*, no gene *SAPCD1* (p.Q76\*), p. D283N no gene *ANXA3*,

p. Y157S no gene *NTN4* e p.G172W no gene *SERPINA1* podem estar associadas a suscetibilidade para câncer de tireoide não-medular familiar nas famílias descritas. Mais estudos são necessários para a compreensão do papel exato dessas variantes, bem como avaliação da presença destas mutações em outras famílias com PTC.



## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acquaviva G, Visani M, Repaci A *et al.* Molecular pathology of thyroid tumours of follicular cells: a review of genetic alterations and their clinicopathological relevance. *Histopathology*. 2018;72(1):6-31.

Alzahrani AS, Murugan AK, Qasem E, Al-Hindi H. HABP2 gene mutations do not cause familial or sporadic non-medullary thyroid cancer in a highly inbred middle eastern population. *Thyroid*. 2016;26(5):667-671.

Amatu A, Sartore-Bianchi A, Siena S. NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types. *ESMO Open*. 2016;1(2):e000023.

Bae JS, Kim Y, Jeon S, *et al.* Clinical utility of TERT promoter mutations and ALK rearrangement in thyroid cancer patients with a high prevalence of the BRAF V600E mutation. *Diagn Pathol*. 2016; 11(21):1-10.

Bamshad M. J. *et al.* Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nature reviews. Genetics*, Nature Publishing Group. 2011;12(11): 745-55.

Batista, F. A. Análise do perfil de expressão dos genes TTF-1, FOXE1, PAX8 e DREAM em pacientes com nódulos tiroidianos. (Dissertação de Mestrado). Campinas: Universidade Estadual de São Paulo; 2015.

Brasileiro GF. *Bogliolo patologia*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2016.

Burnstock G, Di Virgillio F. Purinergic signalling and cancer. *Purinergic Signalling*. 2013;9(4): 491-540.

Cardenas CRG. *et al.* Mendel,MD: a user-friendly open-source web tool for analyzing WES and WGS in the diagnosis of patients with Mendelian disorders. *PLoS Comput. Biol*. 2017; 13: e1005520.

Carvajal-Carmona LG, Tomlinson I, Sahasrabudhe R. RE: HABP2 G534E Mutation in Familial Nonmedullary Thyroid Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2016; 108(6): djv415.

Cavaco BM, Batista PF, Sobrinho LG & Leite V. Mapping a new familial thyroid epithelial neoplasia susceptibility locus to chromosome 8p23.1-p22 by high-density single-nucleotide polymorphism genome-wide linkage analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008; 93:4426-4430.

Chan HJ, Li H, Liu Z, Yuan Y-C, Mortimer J, Chen S. SERPINA1 is a direct estrogen receptor target gene and a predictor of survival in breast cancer patients. *Oncotarget*. 2015; 6(28):25815-25827.

Chmielik E, Rusinek D, Oczko-Wojciechowska M, Jarzab M, Krajewska J, Czarniecka A, Jarzab B. Heterogeneity of Thyroid Cancer. *Pathobiology*. 2018;85(1-2):117-129.

Choi M, Scholl UI, Ji W, *et al*. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(45):19096-19101.

Choi Y. *et al*. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS One*. 2012;7: e46688.

Chong JH, Zheng GG, Zhu XF, Guo Y, Wang L, Ma CH, Liu SY, Xu LL, Lin YM, Wu KF. Abnormal expression of P2X family receptors in Chinese pediatric acute leukemias. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;391:498-504.

Chou CK, Yang KD, Chou FF, Huang CC, Lan YW, Lee YF, Kang HY, Liu RT. Prognostic implications of miR-146b expression and its functional role in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(2): E196-205.

Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid*. 2017;27(11):1341-1346.

Cipriani NA, Nagar S, Kaplan SP, White MG, Antic T, Sadow PM, Aschebrook-Kilfoy B, Angelos P, Kaplan EL, Grogan RH. Follicular Thyroid Carcinoma: How Have Histologic Diagnoses Changed in the Last Half-Century and What Are the Prognostic Implications? *Thyroid*. 2015;25(11):1209-16.

DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU. Pathology and Genetics: Tumors of Endocrine Organs. WHO classification of Tumors. Lyon: IARC Press; 2004.

Di Virgilio F, Adinolfi E. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. *Oncogene*. 2017; 36 (3): 293-303.

Dong C. *et al.* Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Hum. Mol. Genet* . 2015;24:2125–2137.

Du R, Liu B, Zhou L, Wang D, He X, Xu X, Zhang L, Niu C, Liu S. Downregulation of annexin A3 inhibits tumor metastasis and decreases drug resistance in breast cancer. *Cell Death Dis*. 2018;9(2):126-137.

D'Cruz AK, Vaish R, Vaidya A, Nixon IJ, Williams MD, Vander Poorten V, López F, Angelos P, Shaha AR, Khafif A, Skalova A, Rinaldo A, Hunt JL, Ferlito A. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2018; 275(6):1375-1384.

Esseghir S, Kennedy A, Seedhar P, Nerurkar A, Poulson R, Reis-Filho JS, Isacke CM. Identification of NTN4, TRA1, and STC2 as prognostic markers in breast cancer in a screen for signal sequence encoding proteins. *Clin Cancer Res*. 2007; 13:3164-3173.

Eveno C, Broqueres-You D, Feron JG, Rampanou A, Tijeras-Raballand A, Ropert S, Leconte L, Levy BI & Pocard M: Netrin-4 delays colorectal cancer carcinomatosis by inhibiting tumor angiogenesis. *Am J Pathol*. 2011;178: 1861-1869.

Eveno C, Contreres JO, Hainaud P, Nemeth J, Dupuy E and Pocard M: Netrin-4 overexpression suppresses primary and metastatic colorectal tumor progression. *Oncol Rep*. 2013;29:73-78.

Fallah M, Pukkala E, Tryggvadottir L, Olsen JH, Tretli S, Sundquist K, Hemminki K. Risk of thyroid cancer in first-degree relatives of patients with non-medullary thyroid cancer by histology type and age at diagnosis: a joint study from five Nordic countries. *J Med Genet*. 2013;50(6):373-82.

Farshchian M, Kivisaari A, Ala-Aho R, Riihila P, Heljasvaara R, Kahari VM. Serpin peptidase inhibitor clade A member 1 (SerpinA1) is a novel biomarker for progression of cutaneous squamous cell carcinoma. *The American journal of pathology*. 2011; 179:1110-1119.

Foad YA, Aanei C. Revisiting the hallmarks of cancer. *Am J Cancer Res*. 2017;7(5):1016-1036.

Gandolfi G, Ragazzi M, Frasoldati A, Piana S, Ciarrocchi A, Sancisi V. TERT promoter mutations are associated with distant metastases in papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol*. 2015;172(4):403-13.

Gara SK, Jia L, Merino MJ, Agarwal SK, Zhang L, Cam M, Patel D & Kebebew E. Germline HBP2 mutation causing familial nonmedullary thyroid cancer. *New England Journal of Medicine*. 2015;373:448-455.

Ge Y, Xu A, Zhang M, Xiong H, Fang L, Zhang X, Liu C, Wu S. FK506 binding protein 10 is overexpressed and promotes renal cell carcinoma. *Urol Int*. 2016;98(2):169-176.

Geraldo MV, Fuziwara CS, Friguglietti CU, Costa RB, Kulcsar MA, Yamashita AS, *et al*. MicroRNAs miR-146-5p and let-7f as prognostic tools for aggressive papillary thyroid carcinoma: a case report. *Arq Bras Endocrinol*. 2012;56(8):552-557.

He H, Bronisz A, Liyanarachchi S, Nagy R, Li W, Huang Y, Akagi K, Saji M, Kula D, Wojcicka A, *et al*. SRGAP1 is a candidate gene for papillary thyroid carcinoma susceptibility. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2013;98:E973–E980.

He H, Nagy R, Liyanarachchi S, Jiao H, Li W, Suster S, Kere J & de la Chapelle A. A susceptibility locus for papillary thyroid carcinoma on chromosome 8q24. *Cancer Research*. 2009;69:625-631.

Howell GM, Hodak SP, Yip L. RAS mutations in thyroid cancer. *Oncologist*. 2013;18(8):926-32.

Hu Y, Ylivinkka I, Chen P, Li L, Hautaniemi S, Nyman TA, Keski-Oja J, Hyytiainen M. Netrin-4 promotes glioblastoma cell proliferation through integrin beta4 signaling. *Neoplasia*. 2012;

14:219–227. Human I. *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001; 409(6822):860-921.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Rio de Janeiro: INCA; 2017.

Insilla AC, Proietti A, Borrelli N, *et al.* TERT promoter mutations and their correlation with BRAF and RAS mutations in a consecutive cohort of 145 thyroid cancer cases. *Oncol Lett*. 2017;15(3):2763-2770.

Ito Y, Hirokawa M, Higashiyama T, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, *et al.* Prognosis and prognostic factors of follicular carcinoma in Japan: importance of postoperative pathological examination. *World J Surg*. 2007;31:1417-1424.

Junqueira LC, Carneiro J, Abrahamsohn P. *Histologia básica: texto e atlas*. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017.

Jackson IL., Zhang Y, Bentzen SM, Hu J, Zhang A, Vujaskovic Z. Pathophysiological mechanisms underlying phenotypic differences in pulmonary radioresponse. *Sci Rep*. 2016;7:46782.

Jayachandran A, Prithviraj P, Lo P-H, *et al.* Identifying and targeting determinants of melanoma cellular invasion. *Oncotarget*. 2016;7(27):41186-41202.

Jung, E. J. *et al.* Decreased annexin A3 expression correlates with tumor progression in papillary thyroid cancer. *Proteom. Clin. Appl*. 2010;4:528–537.

Katoh M, Katoh M. Transcriptional mechanisms of WNT5A based on NF-kappaB, Hedgehog, TGFbeta, and Notch signaling cascades. *Int J Mol Med*. 2009;23:763-769.

Katoh H, Yamashita K, Enomoto T, Watanabe M. Classification and general considerations of thyroid cancer. *Ann. Clin. Pathol*. 2015;3:1045.

Khanafshar E, Lloyd RV. The spectrum of papillary thyroid carcinoma variants. *Adv Anat Pathol.* 2011;18(1):90-97.

Kim HJ, Hong YB, Park JM, *et al.* Mutations in the PLEKHG5 gene is relevant with autosomal recessive intermediate Charcot-Marie-Tooth disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8:104.

Kitahara CM, Sosa JA. The changing incidence of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol.* 2016;12(11):646-653.

Kollerrmann J, *et al.* Expression and prognostic relevance of annexin A3 in prostate cancer. *Eur. Urol.* 2008;54:1314-1323.

Kwon CH, Park HJ, Choi JH *et al.* Snail and serpinA1 promote tumor progression and predict prognosis in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2015;6(24):20312-20326.

Lahiri DK, Nurnberger JIIr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991;19(19):5444.

Lambert E, Coissieux MM, Laudet V, Mehlen P. Netrin-4 acts as a pro-angiogenic factor during zebrafish development. *The Journal of biological chemistry.* 2012; 287:3987-3999.

Latil A, Chene L, Cochant-Priollet B, Mangin P, Fournier G, Berthon P, Cussenot O. Quantification of expression of netrins, slits and their receptors in human prostate tumors. *Int J Cancer.* 2003;103:306-315.

La Vecchia C, Negri E. The thyroid cancer epidemic: overdiagnosis or a real increase? *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(6):318-319.

Liu YF, *et al.* Quantitative proteomic analysis of metastasis-associated proteins in human primary lung adenocarcinoma. *Prog. Biochem. Biophys.* 2009;36:448-457.

Liu Y, *et al.* Rare Variants in Known Susceptibility Loci and Their Contribution to Risk of Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology.* Epub ahead of print. 2018. Liu R, Xing M. TERT promoter mutations in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2016;23(3):R143-55.

Livhits MJ, Yeah MW. Patient Age Is Associated with Papillary Thyroid Cancer Mortality Only in Patients with BRAF V600E Mutation. *Clin Thyroidol* 2018;30:53-55.

Lv B, Song C, Wu L, *et al.* Netrin-4 as a biomarker promotes cell proliferation and invasion in gastric cancer. *Oncotarget*. 2014;6(12):9794-9806.

Matta J, Morales L, Dutil J, Bayona M, Alvarez C, Suarez E. Differential expression of DNA repair genes in Hispanic women with breast cancer. *Mol Cancer Biol*. 2013;1(1):54.

Maystadt I, Rezsöházy R, Barkats M, Duque S, Vannuffel P, Remacle S, Lambert B, Najimi M, Sokal E, Munnich A, *et al.* The nuclear factor kappaB-activator gene PLEKHG5 is mutated in a form of autosomal recessive lower motor neuron disease with childhood onset, *Am. J. Hum. Genet*. 2007;81:67-76.

McKay J, Williamson J, Lesueur F, Stark M, Duffield A, Canzian F, Romeo G & Hoffman L. At least three genes account for familial papillary thyroid carcinoma: TCO and MNG1 excluded as susceptibility loci from a large Tasmanian family. *European Journal of Endocrinology*. 1999;141:122-125.

Moore KL. *Anatomia orientada para a clínica*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

Nacht M, St Martin TB, Byrne A, Klinger KW, Teicher BA, Madden SL, Jiang Y. Netrin-4 regulates angiogenic responses and tumor cell growth. *Exp Cell Res*. 2009; 315:784-794.

Namba H, Rubin SA, Fagin JA. Point mutations of ras oncogenes are an early event in thyroid tumorigenesis. *Mol Endocrinol*. 1990;4:1474-1479.

Ng, P. C. *et al.* Genetic variation in an individual human exome. *PLoS genetics*. 2008;4(8): e1000160.

Nagaiah G, Hossain A, Mooney CJ, Parmentier J, Remick SC. Anaplastic thyroid cancer: a review of epidemiology, pathogenesis, and treatment. *J Oncol*. 2011; 2011:542358.

Ngan ESW, Lang BHH, Liu T, Shum CKY, So M-T, Lau DKC, Leon TYY, Cherny SS, Tsai SY, Lo C-Y, *et al.* A germline mutation (A339V) in thyroid transcription factor-1 (TTF-

1/NKX2.1) in patients with multinodular goiter and papillary thyroid carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 2009;101:162-175.

Nikiforov *et al.* Nomenclature revision for encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma: a paradigm shift to reduce overtreatment of indolent tumors. *JAMA Oncol*. 2016; 2(8):1023-1029.

Nikiforova MN, Wald AI, Roy S, Durso MB, Nikiforov YE. Targeted next-generation sequencing panel (ThyroSeq) for detection of mutations in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(11):E1852-1860.

Nose V. Familial thyroid cancer: a review. *Mod Pathol*. 2011;Suppl 2:S19-33.

Olesen, *et al.* Human FK506 binding protein 65 is associated with colorectal cancer. *Mol Cell Proteomics*. 2005; 4 (4): 534-44.

Pallante P, Visone R, Ferracin M, *et al.* MicroRNA deregulation in human thyroid papillary carcinomas. *Endocr Relat Cancer*. 2006;13(2):497-508.

Pan QZ, *et al.* Annexin A3 promotes tumorigenesis and resistance to chemotherapy in hepatocellular carcinoma. *Mol. Carcinog*. 2015;54: 598–607.

Maia AL, Siqueira DR, Kulcsar MAV, Tincani, AJ, Mazeto GMFS, Maciel LM Z. Diagnóstico, tratamento e seguimento do carcinoma medular de tireoide: recomendações do Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*.2014;58(7):667-700.

Pereira J, da Silva J, Tomaz R, Pinto A, Bugalho M, Leite V & Cavaco B. Identification of a novel germline FOXE1 variant in patients with familial non-medullary thyroid carcinoma (FNMTC). *Endocrine*.2015;49:204-214.

Peres KC. Estudo do papel de TGF- $\beta$  no carcinoma diferenciado da tireoide. (Dissertação De Mestrado). Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2018.



Pinheiro M, Drigo SA, Tonhosolo R, *et al.* HABP2 p.G534E variant in patients with family history of thyroid and breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8(25):40896-40905.

Porto CC. *Semiologia Médica*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2014.

Quinn, *et al.* FKBP10/FKBP65 expression in high-grade ovarian serous carcinoma and its association with patient outcome. *International Journal of oncology*. 2013;43(3): 912-920.

Ramadori G, Konstantinidou G, Venkateswaran N, Biscotti T, Morlock L, Galié M, Williams N, Luchetti M, Santinelli A, Scaglioni PP, Coppari R. Diet-induced unresolved ER stress hinders KRAS-driven lung tumorigenesis. *Cell Metab*. 2015;6(1):117-25.

Raman P, Koenig RJ. Pax-8–PPAR- $\gamma$  fusion protein in thyroid carcinoma. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2014;10(10):616-623.

Ren H, Shen Y, Hu D, *et al.* Co-existence of BRAF V600E and TERT promoter mutations in papillary thyroid carcinoma is associated with tumor aggressiveness, but not with lymph node metastasis. *Cancer Manag Res*. 2018;10:1005-1013. Rahbari R, Zhang L, Kebebew E. Thyroid cancer gender disparity. *Future Oncol*. 2010;6(11):1771-1779.

Richards S, Aziz N, Bale S, *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. *Genet Med*. 2015;17(5):405-424.

Romano, *et al.* Pleiotropic roles in cancer biology for multifaceted proteins FKBP. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1850(10):2061-2068.

Ruiz-Ferrer M, Fernández RM, Navarro E, Antiñolo G, Borrego S. G534E Variant in HABP2 and nonmedullary thyroid cancer. *Thyroid*. 2016; 26:987-988.

Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol*. 1975;94(3):441-448.

Schwarze K, Buchanan J, Taylor JC, Wordsworth S. Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature. *Genet Med.* 2018; 20(10):1122-1130.

Sciavolino PJ. NTRK Fusions in Papillary Thyroid Cancer: Expanding Targetable Treatment Options. *Target. Oncol.* 2016.

Seok AY, Hyun JA, Younghye YC, Yeon KS. *Annals of Diagnostic Pathology* Nuclear features of papillary thyroid carcinoma: Comparison of Core needle biopsy and thyroidectomy specimens. 2018; 32:35-40

Sterle I, Zupančič D, Romih R. Correlation between urothelial differentiation and sensory proteins P2X3, P2X5, TRPV1, and TRPV4 in normal urothelium and papillary carcinoma of human bladder. *Biomed. Res. Int.* 2014:1-9.

Suh I, Filetti S, Vriens MR, Guerrero MA, Tumino S, Wong M, Shen WT, Kebebew E, Duh Q-Y & Clark OH. Distinct loci on chromosome 1q21 and 6q22 predispose to familial nonmedullary thyroid cancer: a SNP array-based linkage analysis of 38 families. *Surgery.* 2009; 146:1073-1080.

Takano T. Fetal cell carcinogenesis of the thyroid: a modified theory based on recent evidence. *Endocr J.* 2014; 61:311-320.

Tomsic JHH, Akagi K, *et al.* A germline mutation in SRRM2, a splicing factor gene, is implicated in papillary thyroid carcinoma predisposition. *Scientific Reports.* 2015;5:10566.

Tomsic JHH, Chapelle A. HAP2 Mutation and nonmedullary thyroid cancer. *New England Journal of Medicine.* 2015;373:2086.

Tomsic J, Fultz R, Liyanarachchi S, He H, Senter L, de la Chapelle A. HAP2 G534E variant in papillary thyroid carcinoma. *PLoS ONE.* 2016;11:e0146315.

Tuttle RM, Haugen B, Perrier ND. Updated American Joint Committee on Cancer/Tumor-Node-Metastasis Staging System for Differentiated and Anaplastic Thyroid Cancer (Eighth Edition): What Changed and Why? *Thyroid.* 2017;27(6):751-756.

Tomlins *et al.*, Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*. 2005;310(5748):644-648.

Valerio L, Pieruzzi L, Giani C, Agate L, Bottici V, Lorusso L, Cappagli V, Puleo L, Matrone A, Viola D, Romei C, Ciampi R, Molinaro E, Elisei R. Targeted Therapy in Thyroid Cancer: State of the Art. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2017;29(5):316-324.

Vierlinger K, Mansfeld MH, Koperek O, Nohammer C, Kaserer K, Leisch F. Identification of SERPINA1 as single marker for papillary thyroid carcinoma through microarray meta analysis and quantification of its discriminatory power in independent validation. *BMC medical genomics*. 2011;4:30.

Villanueva, Andrea A.; Sofía Puvogel, Pablo Lois, Ernesto Muñoz-Palma, Manuel Ramírez Orellana, Fabiana Lubieniecki, Fernando Casco Claro, Iván Gallegos, Javier García-Castro, Pilar Sanchez-Gomez, Vicente A. Torres & Verónica Palma (2018) The Netrin-4/Laminin  $\gamma$ 1/Neogenin-1 complex mediates migration in SK-N-SH neuroblastoma cells. *Cell Adh Migr*. 2018;30:1-8.

Wajchenberg BL, Lerario AC, Betti RTB. *Tratado de endocrinología clínica*. 2. ed. São Paulo: AC Farmacêutica; 2014.

Wang X, Cheng W, Li J, Su A, Wei T, Liu F, Zhu J. Endocrine tumours: familial nonmedullary thyroid carcinoma is a more aggressive disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Endocrinol*. 2015;172(6):R253-262.

Weeks AL, Wilson SG, Ward L, Goldblatt J, Hui J, Walsh JP. HABP2 germline variants are uncommon in familial nonmedullary thyroid cancer. *BMC Med Genet*. 2016;17(1):60.

Xing M. Molecular pathogenesis and mechanisms of thyroid cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(3):184-99.

Xing M, Liu R, Liu X, Murugan AK, Zhu G, Zeiger MA, Pai S, Bishop J. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. *J Clin Oncol*. 2014; 32:2718–2726.

Xu X, Yan Q, Wang Y, *et al.* NTN4 is associated with breast cancer metastasis via regulation of EMT-related biomarkers. *Oncol Rep.* 2017;37:449-457

Yadav SS, Narayan G. Role of ROBO4 signalling in developmental and pathological angiogenesis. *Biomed Res Int.* 2014:1-9

Yan, X. *et al.* Increased expression of annexin A3 is a mechanism of platinum resistance in ovarian cancer. *Cancer Res.* 2010;70:1616-1624.

Yang S, Ngeow J. Familial non-medullary thyroid cancer: unraveling the genetic maze. *Endocrine-Related Cancer.* 2016;23(12):R577-R595.

Ye F., Gao H., Xiao L., Zuo Z., Liu Y., Zhao Q., Chen H., Feng W., Fu B., Sun L., Jiang X., He D., Jiang H., Yang M., Li L., Chen F., Liu X., Li S., Li Z., Jiang Y., Cheng L., Bu H. Whole exome and target sequencing identifies MAP2K5 as novel susceptibility gene for familial non-medullary thyroid carcinoma. *Int J Cancer.* 2019;144(6):1321-1330.

Zannini M, Avantiaggiato V, Biffali E, *et al.* TTF-2, a new forkhead protein, shows a temporal expression in the developing thyroid which is consistent with a role in controlling the onset of differentiation. *EMBO J.* 1997;16(11):3185-3197.

Zhang T, Xing M. HABP2 G534E Mutation in Familial Nonmedullary Thyroid Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2016;108(6):djv415.

Zhang J, Zheng F, Yu G, Yin Y, Lu Q. miR-196a targets netrin 4 and regulates cell proliferation and migration of cervical cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;440:582-588.

Zhao X, Li X, Zhang X. HABP2 Mutation and Nonmedullary Thyroid Cancer. *N Engl J Med.* 2015;373(21):2084.

Zhou T, Li Y, Yang L, *et al.* Silencing of ANXA3 expression by RNA interference inhibits the proliferation and invasion of breast cancer cells. *Oncol Rep.* 2017;37:388-98.

Zou M, Baitei EY, Alzahrani AS, BinHumaid FS, Alkhafaji D, Al-Rijjal RA, Meyer BF, Shi Y. Concomitant RAS, RET/PTC, or BRAF mutations in advanced stage of papillary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 2014; 24(8):1256-1266.

**7 APÊNDICE**

**Tabela suplementar 1:** Mutações de mudança da matriz de leitura (*frameshift*), sem sentido (*nonsense*), de sentido trocado (*missense*), e inserções ou deleções que não provocam alteração na matriz de leitura (*in-frame*) identificadas no indivíduo X.X da Família A pelo programa *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup>

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
1	16532498	ARHGFE19	ENSG00000142632	p.P460L	gGt/gAt	missense
1	57422484	C8B	ENSG00000021852	p.G55R; p.G65R; p.R65R; p.G117R	Gga/Aga	missense
1	40533347	CAP1	ENSG00000131236	p.S256A; p.S255A	Tca/Aca	missense
1	223813586	CAPN8	ENSG00000203697	p.S245Y	tCc/tAc	missense
1	15812432	CELA2B	ENSG00000215704	p.Q177R	cAg/cGg	missense
1	109812606	CELSR2	ENSG00000143126	p.T2387A	Acc/Gcc	missense
1	150940625	CERS2	ENSG00000143418	p.E106A; p.E115A	gAg/gCg	missense
1	86900372	CLCA2	ENSG00000137975	p.Q306E	Cag/Gag	missense
1	207851554	CRIL	ENSG00000197721	p.R97C	Cgt/Tgt	missense
1	110466709	CSF1	ENSG00000184371	p.F191S; p.F489S; p.F373S	tTc/tCc	missense
1	100672060	DBT	ENSG00000137992	p.S384G	Agt/Ggt	missense
1	1271576	DVLI	ENSG00000107404	p.Q653H; p.Q678H; p.Q427H	caG/caC	missense
1	169484767	F5	ENSG00000198734	p.M2148T; p.M2153T	aTg/aCg	missense
1	169519049	F5	ENSG00000198734	p.Q534R	cGa/cAa	missense
1	161599693	FCGR3B	ENSG00000162747	p.N48S; p.N100S; p.N101S; p.N65S	aAt/aGt	missense
1	240255569	FMN2	ENSG00000155816	p.G59del	ggcggc/ggc	in-frame
1	156565049	GPATCH4	ENSG00000160818	p.F362fs?; p.F357fs?	acT/acCGT	frameshift
1	236717926	HEATR1	ENSG00000119285	p.E1936G; p.E2017G	gAa/gGa	missense
1	91859795	HFM1	ENSG00000162669	p.I117V	Att/Gtt	missense
1	22191454	HSPG2	ENSG00000142798	p.A1503V; p.A1504V	gCg/gTg	missense
1	22200473	HSPG2	ENSG00000142798	p.G1230S; p.G1231S	Ggc/Agc	missense
1	156526387	IQGAP3	ENSG00000183856	p.V410L	Gtg/Ctg	missense
1	156526444	IQGAP3	ENSG00000183856	p.R391G	Aga/Gga	missense
1	27278521	KDF1	ENSG00000175707	p.T78I	aCv/aTt	missense
1	152681680	LCE4A	ENSG00000187170	p.C48_G49insCSSGGC	TGT/TGCTGTAGCTCTGGGGCTGT	in-frame
1	15323488	LOR	ENSG00000203782	p.G27_G28dupGG	C/CGGCGGT	in-frame
1	46493460	MAST2	ENSG00000086015	p.I659M; p.I505M; p.I666M; p.I297M	atT/atG	missense
1	93580581	MTF2	ENSG00000143033	p.C140S; p.C38S	tCc/tGc	missense
1	1684347	NADK	ENSG00000008130	p.E358dup; p.E445dup; p.E590dup; p.E413dup	C/CCCT	in-frame
1	183532580	NCF2	ENSG00000116701	p.H389Q; p.H308Q; p.H344Q	caG/caT	missense
1	888659	NOC2L	ENSG00000188976	p.I300V	Atc/Gtc	missense
1	145281408	NOTCH2NL; AC239799.1	ENSG00000270629	p.P113L	cTv/cCt	missense
1	145281543	NOTCH2NL; AC239799.1	ENSG00000270629	p.T158I	aCc/aTc	missense
1	145281633	NOTCH2NL; AC239799.1	ENSG00000270629	p.P188H	cCc/cAc	missense
1	248059779	OR2W3	ENSG00000238243	p.A300fs?	G/GA	frameshift
1	43223489	P3H1	ENSG00000117385	p.G349R	Gga/Aga	missense
1	62330080	PATJ	ENSG00000132849	p.I870M	atT/atG	missense
1	154918547	PBXIP1	ENSG00000163346	p.R535*; p.R506*; p.R380*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
1	144866643	PDE4DIP	ENSG00000178104	p.R1760C; p.R1761C; p.R1952C; p.R2003C; p.R1867C; p.R2004C; p.R1933C; p.R2029C	Cgc/Tgc	missense
1	120285546	PHGDH	ENSG00000092621	p.A399T	Gcc/Acc	missense
1	182554557	RNASEL	ENSG00000135828	p.R462Q	cGa/cAa	missense

**Tabela suplementar 1:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
1	31905889	<i>SERINC2</i>	ENSG00000168528	p.Q372dup; p.Q368dup; p.Q377dup; p.Q313dup	A/ACAG	<i>in-frame</i>
1	245927360	<i>SMYD3</i>	ENSG00000185420	p.M331V; p.M390V	Atg/Gtg	<i>missense</i>
1	85009894	<i>SPATA1</i>	ENSG00000122432	p.K265E	Aaa/Gaa	<i>missense</i>
1	16260803	<i>SPEN</i>	ENSG00000065526	p.V2690M	Gtg/Atg	<i>missense</i>
1	158615292	<i>SPTA1</i>	ENSG00000163554	p.R1330I	aGa/aTa	<i>missense</i>
1	33161212	<i>SYNC</i>	ENSG00000162520	p.V163M; p.M163V	Atg/Gtg	<i>missense</i>
1	1269554	<i>TAS1R3</i>	ENSG00000169962	p.C757R	Tgc/Cgc	<i>missense</i>
1	223283910	<i>TLR5</i>	ENSG00000187554	p.F822L	Ctc/Ttc	<i>missense</i>
1	12175729	<i>TNFRSF8</i>	ENSG00000120949	p.R186C; p.R297C	Tgt/Cgt	<i>missense</i>
1	186316488	<i>TPR</i>	ENSG00000047410	p.S960N	aGc/aAc	<i>missense</i>
1	216348764	<i>USH2A</i>	ENSG00000042781	p.R1486K	aGg/aAg	<i>missense</i>
1	55541174	<i>USP24</i>	ENSG00000162402	p.V2468A	gTa/gCa	<i>missense</i>
1	55638075	<i>USP24</i>	ENSG00000162402	p.T226I	aCt/aTt	<i>missense</i>
1	116226658	<i>VANGLI</i>	ENSG00000173218	p.E345A; p.E347A	gAg/gCg	<i>missense</i>
2	69741854	<i>AAK1</i>	ENSG00000115977	p.K509Q	Caa/Aaa	<i>missense</i>
2	100343557	<i>AFF3</i>	ENSG00000144218	p.S358N; p.S383N	aAt/aGt	<i>missense</i>
2	73675227	<i>ALMS1</i>	ENSG00000116127	p.S482_L483insP; p.S524_L525insP	T/TCTC	<i>in-frame</i>
2	73675669	<i>ALMS1</i>	ENSG00000116127	p.V629G; p.V671G; p.V673G	gTa/gGa	<i>missense</i>
2	73716810	<i>ALMS1</i>	ENSG00000116127	p.S2576N; p.S2532N; p.S2574N	aGt/aAt	<i>missense</i>
2	73717103	<i>ALMS1</i>	ENSG00000116127	p.D2674H; p.D2630H; p.D2672H	Gat/Cat	<i>missense</i>
2	73828538	<i>ALMS1</i>	ENSG00000116127	p.R4031K; p.R4029K; p.R3987K	aGg/aAg	<i>missense</i>
2	21231524	<i>APOB</i>	ENSG00000084674	p.P2739L	cCa/cTa	<i>missense</i>
2	21232803	<i>APOB</i>	ENSG00000084674	p.I2313V	Att/Gtt	<i>missense</i>
2	21235475	<i>APOB</i>	ENSG00000084674	p.Y1422C	tAt/tGt	<i>missense</i>
2	21250914	<i>APOB</i>	ENSG00000084674	p.A618V	gCt/gTt	<i>missense</i>
2	71163086	<i>ATP6V1B1</i>	ENSG00000116039	p.M1T	aTg/aCg	<i>start loss</i>
2	32667182	<i>BIRC6</i>	ENSG00000115760	p.V1332L	Gtt/Ctt	<i>missense</i>
2	220405321	<i>CHPF</i>	ENSG00000123989	p.Q371R; p.Q209R	cAa/cGa	<i>missense</i>
2	189863424	<i>COL3A1</i>	ENSG00000168542	p.P668T	Cct/Act	<i>missense</i>
2	189875421	<i>COL3A1</i>	ENSG00000168542	p.H1050Q; p.H1353Q	caT/caG	<i>missense</i>
2	116525960	<i>DPPI10</i>	ENSG00000175497	p.V401I; p.V405I	Gta/Ata	<i>missense</i>
2	55056572	<i>EML6</i>	ENSG00000214595	p.I269V	Atc/Gtc	<i>missense</i>
2	187626996	<i>FAM171B</i>	ENSG00000144369	p.M643V	Atg/Gtg	<i>missense</i>
2	216235089	<i>FNI</i>	ENSG00000115414	p.V2080I; p.V2170I; p.V2024I; p.V2051I; p.V2261I; p.V2230I	Gtc/Atc	<i>missense</i>
2	216272900	<i>FNI</i>	ENSG00000115414	p.T817P	Acg/Ccg	<i>missense</i>
2	241569447	<i>GPR35</i>	ENSG00000178623	p.Y26*; p.Y57*	taC/taG	<i>nonsense: stop gain</i>
2	242203916	<i>HDLBP</i>	ENSG00000115677	p.S97A; p.S61A	Tct/Gct	<i>missense</i>
2	129075877	<i>HS6ST1</i>	ENSG00000136720	p.D87E	gaC/gaA	<i>missense</i>
2	187466845	<i>ITGAV</i>	ENSG00000138448	p.R95C; p.R49C	Cgc/Tgc	<i>missense</i>
2	170003432	<i>LRP2</i>	ENSG00000081479	p.I4210L	Atc/Ctc	<i>missense</i>



**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
2	33585796	<i>LTBP1</i>	ENSG00000049323	p.V1052A; p.V1010A; p.V1378A; p.V997A	gTg/gCg	missense
2	202557702	<i>MPP4</i>	ENSG00000082126	p.G44S	Ggc/Agc	missense
2	47739551	<i>MSH2</i>	ENSG00000095002	p.Q915R	cAa/cGa	missense
2	152531077	<i>NEB</i>	ENSG00000183091	p.Y1301H	Tat/Cat	missense
2	152536498	<i>NEB</i>	ENSG00000183091	p.K1027N	aaA/aaT	missense
2	206581033	<i>NRP2</i>	ENSG00000118257	p.R123K	aGg/aAg	missense
2	220417266	<i>OBSL1</i>	ENSG00000124006	p.R1767Q; p.R1675Q	cGa/cAa	missense
2	220421417	<i>OBSL1</i>	ENSG00000124006	p.E1273D; p.E1365D	gaG/gaC	missense
2	198950240	<i>PLCL1</i>	ENSG00000115896	p.V667I		missense
2	179309165	<i>PRKRA</i>	ENSG00000180228	p.P14L; p.P102L; p.P116L; p.P127L	cTv/cCt	missense
2	20403794	<i>SDCI</i>	ENSG00000115884	p.L136Q	Gta/Ata	missense
2	231865090	<i>SPATA3</i>	ENSG00000173699	p.I93T; p.I104T	aTv/aCt	missense
2	228855866	<i>SPHKAP</i>	ENSG00000153820	p.S1603R; p.S1574R	agC/agG	missense
2	10045024	<i>TAF1B</i>	ENSG00000115750	p.V282I	GTA/ATA	missense
2	179650408	<i>TTN</i>	ENSG00000155657	p.T811I; p.T765I	aCa/aTa	missense
2	219319657	<i>USP37</i>	ENSG00000135913	p.L979S; p.L885S	tTg/tCg	missense
2	185802211	<i>ZNF804A</i>	ENSG00000170396	p.T697dup	C/CACA	in-frame
3	186338564	<i>AHSG</i>	ENSG00000145192	p.R318C; p.R317C; p.R316C; p.R289C	Cgc/Tgc	missense
3	122003832	<i>CASR</i>	ENSG00000036828	p.E934Q; p.E1011Q; p.E1021Q	Gag/Cag	missense
3	121825197	<i>CD86</i>	ENSG00000114013	p.V179I; p.V103I; p.V185I; p.V73I	Gtt/Att	missense
3	9908935	<i>CIDEC</i>	ENSG00000187288	p.R85C	Cgt/Tgt	missense
3	122044169	<i>CSTA</i>	ENSG00000121552	p.K10N	aaA/aaC	missense
3	58183636	<i>DNASE1L3</i>	ENSG00000163687	p.R176C; p.R206C	Cgc/Tgc	missense
3	58109162	<i>FLNB</i>	ENSG00000136068	p.D1157N; p.D988N	Gac/Aac	missense
3	69230061	<i>FRMD4B</i>	ENSG00000114541	p.S947L; p.S599L	tCg/tTg	missense
3	69245454	<i>FRMD4B</i>	ENSG00000114541	p.T48A; p.T396A	Acg/Gcg	missense
3	46007846	<i>FYCO1</i>	ENSG00000163820	p.E994K	Gag/Aag	missense
3	46008983	<i>FYCO1</i>	ENSG00000163820	p.R615W	Cgg/Tgg	missense
3	81643167	<i>GBE1</i>	ENSG00000114480	p.I334V; p.I293V	Att/Gtt	missense
3	33055721	<i>GLB1</i>	ENSG00000170266	p.C521R; p.C491R; p.C390R	Tgc/Cgc	missense
3	14547182	<i>GRIP2</i>	ENSG00000144596	p.P935L; p.P838L; p.P843L	cTv/cCt	missense
3	14551444	<i>GRIP2</i>	ENSG00000144596	p.V751A; p.V659A; p.V654A	gTv/gCt	missense
3	14555216	<i>GRIP2</i>	ENSG00000144596	p.H532R; p.H537R; p.H629R	gTg/gCg	missense
3	14555811	<i>GRIP2</i>	ENSG00000144596	p.V499A; p.V591A; p.V494A	cAc/cGc	missense
3	10264480	<i>IRAK2</i>	ENSG00000134070	p.L392V	Ctg/Gtg	missense
3	119434527	<i>MAATS1</i>	ENSG00000183833	p.P81A; p.P187A; p.P207A; p.A207P; p.P145A	Cca/Gca	missense
3	182925404	<i>MCF2L2</i>	ENSG00000053524	p.T902A	Acc/Gcc	missense
3	183017858	<i>MCF2L2</i>	ENSG00000053524	p.N414D	Aat/Gat	missense
3	179096508	<i>MFN1</i>	ENSG00000171109	p.P523R	cCt/cGt	missense
3	124646705	<i>MUC13</i>	ENSG00000173702	p.P61_F62insS	A/AAAG	in-frame
3	195489009	<i>MUC4</i>	ENSG00000145113	p.A4821S; p.A4769S; p.A585S; p.A534S	Agt/Cgt	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
3	175345143	NAALADL2	ENSG00000177694	p.P622R	cCc/cGc	missense
3	67579602	SUCLG2	ENSG00000172340	p.E79K	Gaa/Aaa	missense
3	12192751	SYN2	ENSG00000157152	p.R233C	Cgt/Tgt	missense
3	12229015	SYN2	ENSG00000157152	p.H505R	cAt/cGt	missense
3	12232074	SYN2	ENSG00000157152	p.R566G	Aga/Gga	missense
3	133485133	TF	ENSG00000091513	p.I448V	Ata/Gta	missense
3	167068256	ZBBX	ENSG00000169064	p.K160N; p.K131N	aaA/aaT	missense
4	7802227	AFAP1	ENSG00000196526	p.S403C	iCt/tGt	missense
4	79525488	ANXA3	ENSG00000138772	p.D244N; p.D283N	Gat/Aat	missense
4	102839287	BANK1	ENSG00000153064	p.A353T; p.A383T; p.A368T; p.A250T	Gca/Aca	missense
4	102965043	BANK1	ENSG00000153064	p.C620R; p.C650R; p.C635R; p.C517R	Tgt/Cgt	missense
4	81967188	BMP3	ENSG00000152785	p.L205F	Ctc/Ttc	missense
4	122742217	CCNA2	ENSG00000145386	p.I163V	Ata/Gta	missense
4	187542755	FAT1	ENSG00000083857	p.N1664S; p.N1662S	aAc/aGc	missense
4	89385130	HERC5	ENSG00000138646	p.C302S	iGt/tCt	missense
4	3109095	HTT	ENSG00000197386	p.A231V; p.A233V	gCt/gTt	missense
4	3215835	HTT	ENSG00000197386	p.Y2309H; p.Y2311H	Tac/Cac	missense
4	3234980	HTT	ENSG00000197386	p.V2788I; p.V2786I	Gtc/Atc	missense
4	187179210	KLKB1	ENSG00000164344	p.W503R	Tgg/Cgg	missense
4	178281754	NEIL3	ENSG00000109674	p.G520R	Ggg/Agg	missense
4	135121066	PABPC4L	ENSG00000254535	p.H370P; p.H428P	cAc/cCc	missense
4	135121601	PABPC4L	ENSG00000254535	p.V250I; p.V192I	Gtt/Att	missense
4	95539267	PDLIM5	ENSG00000163110	p.A242T; p.A374T; p.A20T; p.A236T; p.A345T	Gct/Act	missense
4	187004074	TLR3	ENSG00000164342	p.L135F; p.L412F	Ctc/Ttc	missense
4	115589302	UGT8	ENSG00000174607	p.I368M	atA/atG	missense
4	76720885	USO1	ENSG00000138768	p.L522P; p.L533P; p.S471P; p.S482P	ttT/ttC	missense
5	156918850	ADAM19	ENSG00000135074	p.G660D	gGc/gAc	missense
5	148206473	ADRB2	ENSG00000169252	p.Q27E; p.E27Q	Gaa/Caa	missense
5	77523335	AP3B1	ENSG00000132842	p.A84S; p.A133S	AgT/Cgt	missense
5	40955561	C7	ENSG00000112936	p.S389T	aGt/aCt	missense
5	110820136	CAMK4	ENSG00000152495	p.Q268R; p.Q465R	cAa/cGa	missense
5	86695274	CCNH	ENSG00000134480	p.V196A; p.V270A; p.V217A	gTt/gCt	missense
5	156747669	CYFIP2	ENSG00000055163	p.Y374C; p.Y510C	tAt/tGt	missense
5	176885178	DBN1	ENSG00000113758	p.S553P; p.S599P; p.S555P; p.S285P	Tcc/Ccc	missense
5	140905989	DIAPH1	ENSG00000131504	p.R1061W; p.R1105W; p.R1096W	Agg/Tgg	missense
5	149406271	HMGXB3	ENSG00000113716	p.A488V; p.A456V; p.A734V	gCt/gTt	missense
5	75923307	IQGAP2	ENSG00000145703	p.K85E; pp.K532E; p.K482E	Aag/Gag	missense
5	135258030	LECT2	ENSG00000145826	p.M128K	aTg/aAg	missense
5	135258105	LECT2	ENSG00000145826	p.P103L	cTt/cCt	missense
5	112439941	MCC	ENSG00000171444	p.K127R; p.K380R; p.K190R	aAg/aGg	missense
5	125939409	PHAX	ENSG00000164902	p.R82C	Cgc/Tgc	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
5	177422876	<i>PROPI</i>	ENSG00000175325	p.S20S; p.N20S	aAc/aGc	missense
5	145439647	<i>SH3RF2</i>	ENSG00000156463	p.R592R; p.W592R	Tgg/Cgg	missense
5	138713959	<i>SLC23A1</i>	ENSG00000170482	p.A425A; p.S421A; p.A421A; p.S425A	Tct/Gct	missense
5	33954511	<i>SLC45A2</i>	ENSG00000164175	p.T329T; p.S221G	Agc/Ggc	missense
6	151674116	<i>AKAP12</i>	ENSG00000131016	p.E1531dup; p.E1433dup; p.E1426dup	GAT/GAGGAT	in-frame
6	136582537	<i>BCLAF1</i>	ENSG00000029363	p.R873C; p.R875C; p.R702C; p.R824C; p.R826C	Cgc/Tgc	missense
6	136599393	<i>BCLAF1</i>	ENSG00000029363	p.S209C; p.S207C	tCc/tGc	missense
6	136599822	<i>BCLAF1</i>	ENSG00000029363	p.G66A; p.G64A	gGa/gCa	missense
6	33144068	<i>COL11A2</i>	ENSG00000204248	p.I621F; p.I728F; p.I642F	Att/Ttt	missense
6	75797302	<i>COL12A1</i>	ENSG00000111799	p.G3054S; p.G2982S; p.G3058S; p.G1894S; p.G1869S	Ggc/Agc	missense
6	106991361	<i>CRYBG1</i>	ENSG00000112297	p.L1643P; p.L1235P	cTa/cCa	missense
6	30862423	<i>DDR1</i>	ENSG00000204580	p.S514S; p.S496S; p.P469L	cCg/cTg	missense
6	38773293	<i>DNAH8</i>	ENSG00000124721	p.G807E; p.G1024E	gGa/gAa	missense
6	38980081	<i>DNAH8</i>	ENSG00000124721	p.I4488V; p.I4271V	Ata/Gta	missense
6	32549396	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.G197A	gGa/gCa	missense
6	32549424	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.V188M	Gtg/Atg	missense
6	32549531	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.Y152C	tAt/tGt	missense
6	32549582	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.T135N	aCt/aAt	missense
6	32549583	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.T135A	Acc/Gcc	missense
6	32551935	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.Y107*	taC/taG	stop gain
6	32552048	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.D70N	Gac/Aac	missense
6	32487158	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.T214fs*17	G/GCA	frameshift
6	32487189	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.V204L	Gtt/Ctt	missense
6	32487209	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.G197A	gGt/gCt	missense
6	32489731	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.Y107*	taC/taG	nonsense: stop gain
6	32489733	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.Y107D	Tac/Gac	missense
6	32497905	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.R33*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
6	160469510	<i>IGF2R</i>	ENSG00000197081	p.L817V	Ctg/Gtg	missense
6	160494409	<i>IGF2R</i>	ENSG00000197081	p.R1619G; p.G1619G	Agg/Ggg	missense
6	137325847	<i>IL20RA</i>	ENSG00000016402	p.V148I; p.V259I; p.V210I	Gta/Ata	missense
6	129807629	<i>LAMA2</i>	ENSG00000196569	p.A2583V; p.V2587A; p.A2586V; p.V2583A; p.A2587V	gTa/gCa	missense
6	112508770	<i>LAMA4</i>	ENSG00000112769	p.A276E; p.A283E	gCa/gAa	missense
6	160969629	<i>LPA</i>	ENSG00000198670	p.M1679T	aTg/aCg	missense
6	31477681	<i>MICB</i>	ENSG00000204516	p.T351A; p.T340A; p.T383A	Act/Gct	missense
6	97677118	<i>MMS22L</i>	ENSG00000146263	p.T281M; p.T564M; p.T524M	aCg/aTg	missense
6	41303831	<i>NCR2</i>	ENSG00000096264	p.Q20R	cAa/cGa	missense
6	17633033	<i>NUP153</i>	ENSG00000124789	p.S836C; p.S794C; p.S867C	TCT/TGT	missense
6	31601735	<i>PRRC2A</i>	ENSG00000204469	p.R1563Q	cCa/cAa	missense
6	31602967	<i>PRRC2A</i>	ENSG00000204469	p.R1740H	cGt/cAt	missense
6	31604591	<i>PRRC2A</i>	ENSG00000204469	p.P2006S	Cct/Tct	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
6	160543148	<i>SLC22A1</i>	ENSG00000175003	p.R61C	Cgc/Tgc	missense
6	160560881	<i>SLC22A1</i>	ENSG00000175003	p.M420del		in-frame
6	110760008	<i>SLC22A16</i>	ENSG00000004809	p.M409T; p.M375T	Cgc/Tgc	missense
6	31760653	<i>VARS</i>	ENSG00000204394	p.R181H	cGt/cAt	missense
6	33254665	<i>WDR46</i>	ENSG00000227057	p.V287A; p.V341A	gTt/gCt	missense
7	940181	<i>ADAP1</i>	ENSG00000105963	p.G169S; p.G146S; p.G252S; p.G241S	Ggc/Agc	missense
7	36447349	<i>ANLN</i>	ENSG00000011426	p.S295dup		in-frame
7	90233553	<i>CDK14</i>	ENSG00000058091	p.T38S	aCc/aGc	missense
7	151945007	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.G838S	Gga/Agg	missense
7	151970856	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.T316S	Acc/Tcc	missense
7	151970877	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.P309S	Cct/Tct	missense
7	151970931	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.L291F	Ctt/Ttt	missense
7	107616188	<i>LAMB1</i>	ENSG00000091136	p.P379S; p.P403S	Ccg/Tcg	missense
7	25267963	<i>NPVF</i>	ENSG00000105954	p.I32M	atG/atC	missense
7	135304273	<i>NUP205</i>	ENSG00000155561	p.E1356Q	Gaa/Caa	missense
7	32209425	<i>PDE1C</i>	ENSG00000154678	p.S94P	Cca/Tca	missense
7	45217015	<i>RAMP3</i>	ENSG00000122679	p.W56R	Tgg/Cgg	missense
7	103194245	<i>RELN</i>	ENSG00000189056	p.F1944C	tTc/tGc	missense
7	101944171	<i>SH2B2</i>	ENSG00000160999	p.G113C; p.G156C	Ggc/Tgc	missense
8	144332012	<i>AC138696.1; ZFP41</i>	ENSG00000264668	p.M1T	aTg/aCg	start loss
8	39080632	<i>ADAM32</i>	ENSG00000197140	p.T361S; p.T368S; p.T467S		missense
8	17918934	<i>ASAH1</i>	ENSG00000104763	p.V221A; p.V181A; p.V262A; p.V240A; p.V225A; p.V246A; p.V139A; p.V244A; p.V217A; p.V227A p.V88_D89insNV; p.V49_D50insNV	gTc/gCc	
8	86126827	<i>C8orf59</i>	ENSG00000176731			in-frame
8	10530218	<i>C8orf74</i>	ENSG00000171060	p.L15F	Ctt/Ttt	missense
8	145150832	<i>CYC1</i>	ENSG00000179091	p.M76V	Atg/Gtg	missense
8	7698603	<i>DEFB104A</i>	ENSG00000176782	p.R36C		missense
8	1626460	<i>DLGAP2</i>	ENSG00000198010	p.T792dup; p.T791dup; p.T698dup		in-frame
8	27373865	<i>EPHX2</i>	ENSG00000120915	p.R255Q; p.R234Q; p.R104Q; p.R287Q; p.R221Q	cGg/cAg	missense
8	144946818	<i>EPPK1</i>	ENSG00000261150	p.D177N; p.D202N	Gac/Aac	missense
8	144811338	<i>FAM83H</i>	ENSG00000180921	p.Q201H		missense
8	124824826	<i>FAM91A1</i>	ENSG00000176853	p.C800Y	tGt/tAt	missense
8	143922620	<i>GML</i>	ENSG00000104499	p.R54C	Cgc/Tgc	missense
8	143746088	<i>JRK</i>	ENSG00000234616	p.W463fs*9		frameshift
8	6338306	<i>MCPH1</i>	ENSG00000147316	p.T682N	aCc/aAc	missense
8	145223288	<i>MROH1</i>	ENSG00000179832	p.A38V; p.V38V	gCg/gTg	missense
8	101721812	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.R329C; p.R342C; p.R349C; p.R374C		missense
8	101721817	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.E340G; p.E327G; p.E347G; p.E372G		missense
8	101721839	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.V340L; p.V333L; p.V365L; p.V320L		missense
8	101721899	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.E345*; p.E313*; p.E300*; p.E320*		stop gain
8	101724606	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.T274I; p.T294I; p.T319I; p.T287I		missense
8	77895865	<i>PEX2</i>	ENSG00000164751	p.C184R	Tgt/Cgt	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
8	145001031	<i>PLEC</i>	ENSG00000178209	p.H1349R; p.H1459R; p.H1326R; p.H1345R; p.H1300R; p.H1322R; p.H1308R; p.H1290R	cAc/cGc	missense
8	145009085	<i>PLEC</i>	ENSG00000178209	p.R307C; p.R417C; p.R258C; p.R248C; p.R303C; p.R266C; p.R284C; p.R280C	Cgc/Tgc	missense
8	99170404	<i>POPI</i>	ENSG00000104356	p.L994V	Ctg/Gtg	missense
8	48805816	<i>PRKDC</i>	ENSG00000253729	p.F1244fs*2886; p.F1244fs*2855		frameshift
8	52321243	<i>PXDNL</i>	ENSG00000147485	p.M981V	Atg/Gtg	missense
8	52321660	<i>PXDNL</i>	ENSG00000147485	p.C842R	Cgt/Tgt	missense
8	10480549	<i>RP1L1</i>	ENSG00000183638	p.Q55*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
8	144890873	<i>SCRIB</i>	ENSG00000180900	p.V593E; p.V674E	gTg/gAg	missense
8	101206459	<i>SPAG1</i>	ENSG00000104450	p.K353_S354insD		in-frame
8	22974450	<i>TNFRSF10C</i>	ENSG00000173535	p.I229T	aTc/aCc	missense
8	30620840	<i>UBXN8</i>	ENSG00000104691	p.*209fs*63; p.*172fs*63; p.*168fs*63; p.*249fs*63		frameshift
8	100286553	<i>VPS13B</i>	ENSG00000132549	p.K881N		missense
9	139913239	<i>ABCA2</i>	ENSG00000107331	p.H584P; p.H614P; p.H583P	cAc/cCc	missense
9	136131289	<i>ABO</i>	ENSG00000175164	p.V275M; p.V277M	Gtg/Atg	missense
9	136131472	<i>ABO</i>	ENSG00000175164	p.F216I; p.F214I		missense
9	136135238	<i>ABO</i>	ENSG00000175164	p.R63H		missense
9	136136770	<i>ABO</i>	ENSG00000175164	p.F36V; p.V36F		missense
9	38396065	<i>ALDH1B1</i>	ENSG00000137124	p.R107L	cGc/cTc	missense
9	20866974	<i>FOCAD</i>	ENSG00000188352	p.T718S; p.T154S	aGt/aCt	missense
9	21141323	<i>IENW1</i>	ENSG00000177047	p.M83V	Atg/Gtg	missense
9	107515214	<i>NIPSNAP3A</i>	ENSG00000136783	p.R100Q	cGg/cAg	missense
9	112900341	<i>PALM2-AKAP2; AKAP2</i>	ENSG00000243444	p.E842_A843dupEA; p.E611_A612dupEA; p.E700_A701dupEA		in-frame
9	78936492	<i>PCSK5</i>	ENSG00000099139	p.K1320E	Aag/Gag	missense
9	36087738	<i>RECK</i>	ENSG00000122707	p.C101G; p.C229G	Cgt/Tgt	missense
9	86615956	<i>RM11</i>	ENSG00000178966	p.H19Y	Cat/Tat	missense
9	116060124	<i>RNF183</i>	ENSG00000165188	p.Q114R	cAa/cGa	missense
9	116060221	<i>RNF183</i>	ENSG00000165188	p.A82T	Gcc/Acc	missense
9	2191309	<i>SMARCA2</i>	ENSG00000080503	p.D1528E; p.D1546E; p.D192E; p.D232E; p.D210E; p.D1470E; p.D234E; p.D216E; p.D204E	gaC/gaG	
9	27183463	<i>TEK</i>	ENSG00000120156	p.Q346P; p.Q303P; p.Q199P	cAg/cCg	missense
9	132580901	<i>TORIA</i>	ENSG00000136827	p.D216H	Gat/Cat	missense
9	117166338	<i>WHRN</i>	ENSG00000095397	p.H401Q; p.H369Q; p.H752Q	caG/caC	missense
9	88937852	<i>ZCCHC6</i>	ENSG00000083223	p.K814del; p.K937del; p.K226del		in-frame
10	101544447	<i>ABCC2</i>	ENSG00000023839	p.Y39F	tAc/tTc	missense
10	115805056	<i>ADRB1</i>	ENSG00000043591	p.G389R	Gga/Cga	missense
10	81926702	<i>ANXA11</i>	ENSG00000122359	p.R230C; p.R197C	Cgc/Tgc	missense
10	61552692	<i>CCDC6</i>	ENSG00000108091	p.P470T	Ccc/Acc	missense
10	32974969	<i>CCDC7</i>	ENSG00000216937	p.I732V	Ata/Gta	missense
10	33123824	<i>CCDC7</i>	ENSG00000216937	p.G1117A	gGa/gCa	missense
10	33137551	<i>CCDC7</i>	ENSG00000216937	p.M1267T	aTg/aCg	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
10	33143396	CCDC7	ENSG00000216937	p.V1364I	Gtt/Att	missense
10	86273249	CCSER2	ENSG00000107771	p.S246P; p.S819P; p.I848T; p.I832T	Tca/Cca	missense
10	73501556	CDH23	ENSG00000107736	p.A1580T; p.A1575T	Gcc/Acc	missense
10	95262981	CEP55	ENSG00000138180	p.T99A	Aca/Gca	missense
10	105824333	COL17A1	ENSG00000065618	p.T210M	aCg/aTg	missense
10	12111090	DHTKD1	ENSG00000181192	p.F20L	Ttc/Ctc	missense
10	129245684	DOCK1	ENSG00000150760	p.A1793T; p.A1814T	Gcg/Acg	missense
10	129249662	DOCK1	ENSG00000150760	p.A1857T; p.A1878T	Gcg/Acg	missense
10	5790420	FAM208B	ENSG00000108021	p.V1679A; p.A1679A	gTc/gCc	missense
10	48438495	GDF10	ENSG00000266524	p.Q72H	caC/caG	missense
10	100179851	HPS1	ENSG00000107521	p.Q570R; p.Q483R; p.Q279R; p.Q447R; p.Q603R; p.Q516R; p.Q480R	cAa/cGa	missense
10	7605078	ITIH5	ENSG00000123243	p.*718fs?; p.*932fs?		frameshift
10	98742225	LCOR	ENSG00000196233	p.L670F; p.L360F	Ctt/Ttt	missense
10	98742750	LCOR	ENSG00000196233	p.I845L; p.I535L	Atc/Ctc	missense
10	90429652	LIPF	ENSG00000182333	p.T171A; p.T161A; p.T138A; p.T128A	Act/Gct	missense
10	129905896	MKI67	ENSG00000148773	p.E1043V; p.E1403V	gAg/gTg	missense
10	13166076	OPTN	ENSG00000123240	p.K316E; p.K322E	Aaa/Gaa	missense
10	72300885	PALD1	ENSG00000107719	p.R646W	Cgg/Tgg	missense
10	48389841	RBP3	ENSG00000265203	p.R346H	cGt/cAt	missense
10	102684380	SLF2	ENSG00000119906	p.S541Y	tCc/tAc	missense
10	88719789	SNCG	ENSG00000173267	p.R83G	Cgt/Ggt	missense
10	97192324	SORBS1	ENSG00000095637	p.L61P; p.L29P	cTt/cCt	missense
11	108141988	ATM	ENSG00000149311	p.S978P	Tct/Cct	missense
11	60893235	CD5	ENSG00000110448	p.A471V; p.A414V	gCt/gTt	missense
11	88045583	CTSC	ENSG00000109861	p.I153T	aTa/aCa	missense
11	94699507	CWC15	ENSG00000150316	p.I171fs*60	AAT/AAAT	frameshift
11	111853106	DIXDC1	ENSG00000150764	p.L272fs*413; p.L61fs*413	AGC/AGCC	frameshift
11	6567895	DNHD1	ENSG00000179532	p.L1912_R1913insHALL	CGC/CATGCCCTACTGC	in-frame
11	108380335	EXPH5	ENSG00000110723	p.N1967D; p.N1960D	Aat/Gat	missense
11	108464209	EXPH5	ENSG00000110723	p.R19G; p.R12G	Agg/Ggg	missense
11	46760622	F2	ENSG00000180210	p.R521Q; p.R544Q; p.R560Q	cGa/cAa	missense
11	102738793	MMP12	ENSG00000262406	p.L211fs*14	AAC/AAAC	frameshift
11	1993975	MRPL23	ENSG00000214026	p.R162S	Cgt/AgT	missense
11	1212813	MUC5AC	ENSG00000215182	p.S4482T	aGt/aCt	missense
11	1212825	MUC5AC	ENSG00000215182	p.T4486I	aCt/aTt	missense
11	1213259	MUC5AC	ENSG00000215182	p.C4631G	Tgt/Ggt	missense
11	1213275	MUC5AC	ENSG00000215182	p.W4636*	tGg/tAg	nonsense: stop gain
11	1213281	MUC5AC	ENSG00000215182	p.D4638A	gAt/gCt	missense
11	1213284	MUC5AC	ENSG00000215182	p.V4639A	gTc/gCc	missense
11	1213293	MUC5AC	ENSG00000215182	p.P4642L	cCc/cTc	missense
11	1213302	MUC5AC	ENSG00000215182	p.G4645V	gGt/gTt	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
11	1213460	<i>MUC5AC</i>	ENSG00000215182	p.E4698K	Gaa/Aaa	missense
11	1213539	<i>MUC5AC</i>	ENSG00000215182	p.C4724S	tGt/tCt	missense
11	1213556	<i>MUC5AC</i>	ENSG00000215182	p.G4730S	Ggt/Agt	missense
11	1213566	<i>MUC5AC</i>	ENSG00000215182	p.V4733G	gTc/gGc	missense
11	1216316	<i>MUC5AC</i>	ENSG00000215182	p.L5091fs*66	G/GC	frameshift
11	1216440	<i>MUC5AC</i>	ENSG00000215182	p.V5132A	gTa/gCa	missense
11	1216491	<i>MUC5AC</i>	ENSG00000215182	p.L5149P	cTa/cGa	missense
11	113103996	<i>NCAM1</i>	ENSG00000149294	p.L576W; p.V550V; p.L540W; p.L550W	fTg/Tgg	missense
11	17333663	<i>NUCB2</i>	ENSG00000070081	p.S303N	aAt/aGt	missense
11	72945341	<i>P2RY2</i>	ENSG00000175591	p.P46L	cCt/cTt	missense
11	20529886	<i>PRMT3</i>	ENSG00000185238	p.S508Np.S446N	aGt/aAt	missense
11	36595600	<i>RAG1</i>	ENSG00000166349	p.R249H; p.H249R	cAc/cGc	missense
11	66837965	<i>RHOD</i>	ENSG00000173156	p.C134R; p.C68R	Tgc/Cgc	missense
11	18290874	<i>SAA1</i>	ENSG00000173432	p.V75A	gTg/gCg	missense
11	116728630	<i>SIK3</i>	ENSG00000160584	p.P1136R; p.P1076R; p.P917R	cCt/cGt	missense
11	62848487	<i>SLC22A24</i>	ENSG00000197658	p.Y501*	taT/taG	stop gain
11	62886800	<i>SLC22A24</i>	ENSG00000197658	p.R172G	Cgg/Ggg	missense
11	133714522	<i>SPATA19</i>	ENSG00000166118	p.A50V	gCt/gTt	missense
11	88911696	<i>TYR</i>	ENSG00000077498	p.S192Y	tCc/tAc	missense
11	67765163	<i>UNC93B1</i>	ENSG00000110057	p.S297fs*302	A/AG	frameshift
11	67770499	<i>UNC93B1</i>	ENSG00000110057	p.L129I	Cta/Ata	missense
11	118949331	<i>VPS11</i>	ENSG00000160695	p.A650V; p.A660V	gCt/gTt	missense
11	10876353	<i>ZBED5</i>	ENSG00000236287	p.Q47R	cAa/cGa	missense
12	9248233	<i>A2M</i>	ENSG00000175899	p.D539D; p.D489D; p.N639D; p.D639D	Aat/Gat	missense
12	9004892	<i>A2ML1</i>	ENSG00000166535	p.D850E; p.D359E	gaC/gaA	missense
12	109696884	<i>ACACB</i>	ENSG00000076555	p.N2156S; p.N822S	aAc/aGc	missense
12	88523494	<i>CEP290</i>	ENSG00000198707	p.E277Q	Gaa/Caa	missense
12	122817580	<i>CLIP1</i>	ENSG00000130779	p.S819P; p.S895P; p.S516P; p.S930P; p.S941P	Tct/Cct	missense
12	48367976	<i>COL2A1</i>	ENSG00000139219	p.G1336S; p.G1405S	Ggc/Agc	missense
12	113618755	<i>DDX54</i>	ENSG00000123064	p.K94dup	A/ACTT	in-frame
12	93196422	<i>EEA1</i>	ENSG00000102189	p.K810Q	Aaa/Caa	missense
12	50754563	<i>FAM186A</i>	ENSG00000185958	p.K187Q	Aaa/Caa	missense
12	117383320	<i>FBXW8</i>	ENSG00000174989	p.R192Q; p.R126Q	cGa/cAa	missense
12	120575549	<i>GCN1</i>	ENSG00000089154	p.Y2155D	Tat/Gat	missense
12	121437114	<i>HNF1A</i>	ENSG00000135100	p.R221Q	cGg/cAg	missense
12	49420081	<i>KMT2D</i>	ENSG00000167548	p.N5223S	aAc/aGc	missense
12	53186088	<i>KRT3</i>	ENSG00000186442	p.R375G	Cgt/Ggt	missense
12	52827740	<i>KRT75</i>	ENSG00000170454	p.P117A	Ccc/Gcc	missense
12	40657700	<i>LRRK2</i>	ENSG00000188906	p.N551K	aaC/aaA	missense
12	40702911	<i>LRRK2</i>	ENSG00000188906	p.R1398H	cGt/cAt	missense
12	112471090	<i>NAA25</i>	ENSG00000111300	p.L915I	Cta/Ata	missense
12	124824721	<i>NCOR2</i>	ENSG00000196498	p.S1827_G1829dupSSG; p.S1837_G1839dupSSG	C/CGCCGCTGCT	in-frame

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
12	96180832	<i>NTN4</i>	ENSG00000074527	p.Y120S; p.Y157S	tAt/tCt	missense
12	56722060	<i>PAN2</i>	ENSG00000135473	p.I179L; p.L179L	Ata/Cta	missense
12	48144925	<i>RAPGEF3</i>	ENSG00000079337	p.R193G; p.R151G	Aga/Gga	missense
12	131283152	<i>STX2</i>	ENSG00000111450	p.N235S; p.N161S; p.N106S	aA/aGt	missense
12	71533534	<i>TSPAN8</i>	ENSG00000127324	p.G73A	gGa/gCa	missense
12	132403161	<i>ULK1</i>	ENSG00000177169	p.T816A	Act/Gct	missense
13	32906729	<i>BRCA2</i>	ENSG0000013961	p.N372H	Aat/Cat	missense
13	32929387	<i>BRCA2</i>	ENSG0000013961	p.V2466A	gTa/gCa	missense
13	110839550	<i>COL4A1</i>	ENSG00000187498	p.T555P	Aca/Cca	missense
13	103527849	<i>ERCC5; BIVM-ERCC5</i>	ENSG00000134899	p.G1278R; p.G1507R; p.G286R; p.G1053R	Gga/Aga	missense
13	103527930	<i>ERCC5; BIVM-ERCC5</i>	ENSG00000134899	p.G1534R; p.G1080R; p.G1305R; p.G313R	Gga/Cga	missense
13	103528002	<i>ERCC5; BIVM-ERCC5</i>	ENSG00000134899	p.D337H; p.D1104H; p.D1558H; p.D1329H	Gat/Cat	missense
13	33628138	<i>KL</i>	ENSG00000133116	p.F352V	Ttt/Gtt	missense
13	29898768	<i>MTUS2</i>	ENSG00000132938	p.Q952P	cAg/cCg	missense
13	77635306	<i>MYCBP2</i>	ENSG00000005810	p.T4307R; p.T4345R	aCg/aGg	missense
13	42301395	<i>VWA8</i>	ENSG00000102763	p.R898K	aGg/aAg	missense
14	23548783	<i>ACIN1</i>	ENSG00000100813	p.R606_S607dupRS; p.R646_S647dupRS; p.R588_S589dupRS	A/AGAACGT	in-frame
14	23549379	<i>ACIN1</i>	ENSG00000100813	p.A447P; p.A389P; p.A407P	Gct/Cct	missense
14	23777374	<i>BCL2L2-PABPN1; BCL2L2</i>	ENSG00000129473	p.Q133R	cAa/cGa	missense
14	101198417	<i>DLK1</i>	ENSG00000185559	p.R101G	Agg/Ggg	missense
14	50101682	<i>DNAAF2</i>	ENSG00000165506	p.E62D	gaG/gaC	missense
14	93276654	<i>GOLGA5</i>	ENSG00000066455	p.F350L	Ttt/Ctt	missense
14	63784407	<i>GPHB5</i>	ENSG00000179600	p.F53fs*79	A/AG	frameshift
14	103934488	<i>MARK3</i>	ENSG00000075413	p.F331S; p.F410S; p.F394S; p.F433S	tTt/tCt	missense
14	50298962	<i>NEMF</i>	ENSG00000165525	p.S257C	Agc/Tgc	missense
14	23240713	<i>OXA1L</i>	ENSG00000155463	p.S422dup; p.S395dup; p.S482dup; p.S406dup	T/TAGC	in-frame
14	39650234	<i>PNN</i>	ENSG00000100941	p.T441S	Acc/Tcc	missense
14	24646406	<i>REC8</i>	ENSG00000100918	p.E229dup	G/GGAA	in-frame
14	21790040	<i>RPGRIP1</i>	ENSG00000092200	p.A547S; p.A520S; p.A189S	Gct/Tct	missense
14	61124940	<i>SIX1</i>	ENSG00000126778	p.MIT	aTg/aCg	start loss
14	68220861	<i>ZFYVE26</i>	ENSG00000072121	p.T2352I; p.T198I	aTc/aCc	missense
15	89398605	<i>ACAN</i>	ENSG00000157766	p.S930I	aGc/aTc	missense
15	89398631	<i>ACAN</i>	ENSG00000157766	p.S939T	Tct/Act	missense
15	40477831	<i>BUB1B</i>	ENSG00000156970	p.R349Q; p.R363Q; p.Q349R	cAa/cGa	missense
15	75499861	<i>C15orf39</i>	ENSG00000167173	p.G491D; p.D491G	gGc/gAc	missense
15	49048567	<i>CEP152</i>	ENSG00000103995	p.W960R; p.W867R	Tgg/Cgg	missense
15	75982271	<i>CSPG4</i>	ENSG00000173546	p.G379S	Ggc/Cgc	missense
15	75982492	<i>CSPG4</i>	ENSG00000173546	p.T305M	aCg/aTg	missense
15	75982513	<i>CSPG4</i>	ENSG00000173546	p.I298T	aTc/aCc	missense
15	75982581	<i>CSPG4</i>	ENSG00000173546	p.N275K	aaC/aaG	missense



**Tabela suplementar 1:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
15	22969232	<i>CYFIP1</i>	ENSG00000273749	p.G389S; p.G790S; p.G260S; p.G786S; p.G820S; p.G698S; p.G854S	Ggc/Agc	missense
15	40308859	<i>EIF2AK4</i>	ENSG00000128829	p.G1306C	Ggc/Tgc	missense
15	48807637	<i>FBN1</i>	ENSG00000166147	p.C472Y	tGc/tAc	missense
15	78780104	<i>IREB2</i>	ENSG00000136381	p.I580T	aTt/aCt	missense
15	40914177	<i>KNL1</i>	ENSG00000137812	p.M598T; p.M572T	aTg/aCg	missense
15	43817404	<i>MAP1A</i>	ENSG00000166963	p.D1483N; p.D1245N	Gat/Aat	missense
15	42028820	<i>MGA</i>	ENSG00000174197	p.Y1453C	tAt/tGt	missense
15	52689631	<i>MYO5A</i>	ENSG00000197535	p.E362D	gaA/gaC	missense
15	101910550	<i>PCSK6</i>	ENSG00000140479	p.S570F	tCt/tTt	missense
15	71952899	<i>THSD4</i>	ENSG00000187720	p.D35N; p.D395N	Gac/Aac	missense
15	90170237	<i>TICRR</i>	ENSG00000140534	p.R1884C; p.R1885C	Cgc/Tgc	missense
16	16173232	<i>ABCC1</i>	ENSG00000103222	p.G671V; p.G345V	gGt/gTt	missense
16	20441053	<i>ACSM5</i>	ENSG00000183549	p.P352R	cCt/cGt	missense
16	19548116	<i>CCP110</i>	ENSG00000103540	p.M375I	aCt/aTt	missense
16	70548297	<i>COG4</i>	ENSG00000103051	p.T162I	aCt/aTt	missense
16	4412008	<i>CORO7-PAM16; CORO7</i>	ENSG00000103426	p.G299A; p.G519A; p.G434A; p.G501A	gGg/gCg	missense
16	1718110	<i>CRAMP1</i>	ENSG00000007545	p.P1084S	Cct/Tct	missense
16	2282256	<i>E4F1</i>	ENSG00000167967	p.R167H	cGc/cAc	missense
16	22269867	<i>EEF2K</i>	ENSG00000103319	p.Q361R	cAa/cGa	missense
16	67235672	<i>ELMO3</i>	ENSG00000102890	p.R369C; p.R203C; p.R352C	Cgc/Tgc	missense
16	28513403	<i>IL27</i>	ENSG00000197272	p.L119P	cTg/cCg	missense
16	27373964	<i>ILAR</i>	ENSG00000077238	p.C271R; p.C431R; p.C416R	Tgc/Cgc	missense
16	3293888	<i>MEFV</i>	ENSG00000103313	p.R436G; p.G436R	Gga/Aga	missense
16	334543	<i>PDIA2</i>	ENSG00000185615	p.T119R	aCg/aGg	missense
16	70172890	<i>PDPR</i>	ENSG00000090857	p.R25C; p.R427C; p.R327C	Cgt/Tgt	missense
16	88782217	<i>PIEZO1</i>	ENSG00000103335	p.R310C; p.F2454F	Cgt/Tgt	missense
16	88789666	<i>PIEZO1</i>	ENSG00000103335	p.E1467_Q1468dupEQ	G/GCCTGCT	in-frame
16	71981414	<i>PKD1L3</i>	ENSG00000277481	p.R1232fs*502	C/CTTTG	frameshift
16	71988106	<i>PKD1L3</i>	ENSG00000277481	p.V903I	Gtc/Atc	missense
16	72007399	<i>PKD1L3</i>	ENSG00000277481	p.V593M	Gtg/Atg	missense
16	72011181	<i>PKD1L3</i>	ENSG00000277481	p.H571Q	caC/caG	missense
16	4933939	<i>PPL</i>	ENSG00000118898	p.Q1573E; p.Q1571E	Caa/Gaa	missense
16	4938160	<i>PPL</i>	ENSG00000118898	p.R819S; p.R817S	agA/agC	missense
16	4945687	<i>PPL</i>	ENSG00000118898	p.L335M; p.L333M	Ctg/Atg	missense
16	30779716	<i>RNF40</i>	ENSG00000103549	p.Q515R; p.Q615R; p.Q575R	cAa/cGa	missense
16	56904587	<i>SLC12A3</i>	ENSG00000070915	p.A264G; p.A263G	gCc/gGc	missense
16	3656625	<i>SLX4</i>	ENSG00000188827	p.R204C	Cgc/Tgc	missense
16	12145791	<i>SNX29</i>	ENSG00000048471	p.G279A	gGg/gCg	missense
16	3726075	<i>TRAP1</i>	ENSG00000126602	p.S206F; p.S50F; p.S259F	tCc/tTc	missense
16	23160474	<i>USP31</i>	ENSG00000103404	p.G40C	Ggc/Tgc	missense
16	2049640	<i>ZNF598</i>	ENSG00000167962	p.M637T; p.M582T	aTg/aCg	missense
16	30566693	<i>ZNF764</i>	ENSG00000169951	p.R349H; p.R350H	cGc/cAc	missense

**Tabela suplementar 1:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
17	35478362	ACACA	ENSG00000278540	p.H2061R	cAc/cGc	missense
17	35984410	DDX52	ENSG00000278053	p.M403V	Atg/Gtg	missense
17	40257055	DHX58	ENSG00000108771	p.N461S	aAt/aGt	missense
17	48452978	EME1	ENSG00000154920	p.K137_P138insQ	A/AAGC	in-frame
17	80543997	FO XK2	ENSG00000141568	p.Q499H	caA/caT	missense
17	648186	GEMIN4	ENSG0000017940	p.R1033C; p.R1022C	Cgc/Tgc	missense
17	649547	GEMIN4	ENSG0000017940	p.A579G; p.A568G	gCc/gGc	missense
17	39890715	HAP1	ENSG00000173805	p.S58T	Tcc/Acc	missense
17	65104743	HELZ	ENSG00000198265	p.A1531V; p.A1530V	gCt/gTt	missense
17	65212042	HELZ	ENSG00000198265	p.V74M	Gtg/Atg	missense
17	41165493	IFI35	ENSG00000068079	p.M126V; p.M128V	Atg/Gtg	missense
17	21319069	KCNJ12	ENSG00000184185	p.E139K	Gag/Aag	missense
17	21319087	KCNJ12	ENSG00000184185	p.G145S	Ggc/Agc	missense
17	21319121	KCNJ12	ENSG00000184185	p.P156L	cCg/cTg	missense
17	21319436	KCNJ12	ENSG00000184185	p.R261H	cGc/cAc	missense
17	21319439	KCNJ12	ENSG00000184185	p.I262S	aTc/aGc	missense
17	7752523	KDM6B	ENSG00000132510	p.K973Q	Aag/Cag	missense
17	39659194	KRT13	ENSG00000171401	p.T298A	Acc/Gcc	missense
17	39659913	KRT13	ENSG00000171401	p.A187V	gCg/gTg	missense
17	39670912	KRT15	ENSG00000171346	p.G421G; p.A421G; p.A256G	gCc/gGc	missense
17	39139370	KRT40	ENSG00000204889	p.T153M	aCg/aTg	missense
17	18397608	LGALS9C	ENSG00000171916	p.A234T; p.R333H; p.R300H; p.A246T	Cgt/AGt	missense
17	18137141	LLGL1	ENSG00000131899	p.S148G	Agc/Ggc	missense
17	21204210	MAP2K3	ENSG00000034152	p.Q73*; p.Q102*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
17	21215557	MAP2K3	ENSG00000034152	p.R293H; p.R264H	cGt/cAt	missense
17	21217513	MAP2K3	ENSG00000034152	p.V339M; p.V310M	Gtg/Atg	missense
17	60766224	MRC2	ENSG00000011028	p.Q25R	cAg/cGg	missense
17	60766269	MRC2	ENSG00000011028	p.T40M	aCg/aTg	missense
17	4574751	PELP1	ENSG00000141456	p.T1126S; p.T1176S; p.T902S	Aca/Tca	missense
17	26676135	POLDIP2	ENSG00000004142	p.R303H; p.R321H	cGc/cAc	missense
17	17696755	RAI1	ENSG00000108557	p.P165T	Ccc/Acc	missense
17	78298938	RNF213	ENSG00000173821	p.N1045D; p.N1094D	Aat/Gat	missense
17	78302157	RNF213	ENSG00000173821	p.Q1133K; p.Q1182K	Caa/Aaa	missense
17	78319136	RNF213	ENSG00000173821	p.S2383N; p.S2334N	aGt/aAt	missense
17	75494705	SEPT9	ENSG00000184640	p.M557V; p.M325V; p.M558V; p.M569V; p.M352V; p.M464V; p.M412V; p.M576V	Atg/Gtg	missense
17	15532430	TRIM16; AC005324.3	ENSG00000221926	p.P95L	cCa/cTa	missense
17	73518203	TSEN54	ENSG00000182173	p.K347N	Tat/Cat	missense
18	43833701	C18orf25	ENSG00000152242	p.S313_G314insA; p.S252_G253insA	T/TCTG	in-frame
18	66504459	CCDC102B	ENSG00000150636	p.K153N	aaa/aaT	missense
18	71740743	FBXO15	ENSG00000141665	p.Y496H; p.Y420H	Tat/Cat	missense
18	22020543	IMPACT	ENSG00000154059	p.L151V	Ctt/Gtt	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
18	21511089	LAMA3	ENSG00000053747	p.S1225G; p.S1169G; p.S2778G; p.G2834G; p.S2834G;	Agc/Ggc	missense
18	58039368	MC4R	ENSG00000166603	p.N72S	aAc/aGc	missense
18	33779855	MOCOS	ENSG00000075643	p.I170I; p.T170I	aCc/aTc	missense
18	33779896	MOCOS	ENSG00000075643	p.S184G	AgT/Ggt	missense
18	33780020	MOCOS	ENSG00000075643	p.H225R	cAc/cCc	missense
18	33785093	MOCOS	ENSG00000075643	p.V358M	Gtg/Atg	missense
18	77227476	NFATC1	ENSG00000131196	p.H634R	cAt/cGt	missense
19	8669931	ADAMTS10	ENSG00000142303	p.T134S	aCc/aGc	missense
19	2251817	AMH	ENSG00000104899	p.V515A	gTc/gCc	missense
19	10692264	APIM2	ENSG00000129354	p.V149M	Gtg/Atg	missense
19	47823038	CSAR1	ENSG00000197405	p.D2N	Gac/Aac	missense
19	47823871	CSAR1	ENSG00000197405	p.K279N	aaG/aaT	missense
19	46520026	CCDC61	ENSG00000104983	p.Q389R; p.Q209R	cAa/cGa	missense
19	43860255	CD177	ENSG00000204936	p.M205R	atg/ccc	missense
19	42085873	CEACAM21	ENSG00000007129	p.M198V; p.M70V	Atg/Gtg	missense
19	4442999	CHAF1A	ENSG00000167670	p.S950A	Tcg/Gcg	missense
19	11358799	DOCK6	ENSG00000130158	p.P250L	cCa/cTa	missense
19	8168545	FBN3	ENSG00000142449	p.G1614S	Ggc/Agc	missense
19	40424269	FCGBP	ENSG00000275395	p.G645E	gGa/gAa	missense
19	4310561	FSD1	ENSG00000105255	p.R153L	cGt/cTt	missense
19	55790886	HSPBP1	ENSG00000133265	p.G28_G30dupGGG; p.G74_G76dupGGG	A/AGCCGCCGCC	in-frame
19	5135392	KDM4B	ENSG00000127663	p.K744E; p.K710E	Aag/Gag	missense
19	55358655	KIR2DS4	ENSG00000221957	p.Y220C; p.Y237C	tAc/tGc	missense
19	55358658	KIR2DS4	ENSG00000221957	p.M238T; p.M221T	aTg/aCg	missense
19	54966579	LENG8	ENSG00000167615	p.P249R; p.P286R	cCt/cGt	missense
19	9049322	MUC16	ENSG00000181143	p.T10770I	aCc/aTc	missense
19	9061560	MUC16	ENSG00000181143	p.T8629M	aCg/aTg	missense
19	9069792	MUC16	ENSG00000181143	p.S5885F	tCc/tTc	missense
19	9075346	MUC16	ENSG00000181143	p.I4034F	Att/Ttt	missense
19	9084197	MUC16	ENSG00000181143	p.T2540P	Act/Cct	missense
19	9084481	MUC16	ENSG00000181143	p.G2445D	gGc/gAc	missense
19	9084953	MUC16	ENSG00000181143	p.V2288L	Gtg/Ttg	missense
19	9085643	MUC16	ENSG00000181143	p.S2058P	Tct/Cct	missense
19	9086269	MUC16	ENSG00000181143	p.H1849R	cAt/cGt	missense
19	9088772	MUC16	ENSG00000181143	p.R1015G	Agg/Ggg	missense
19	9089838	MUC16	ENSG00000181143	p.A660dup	A/AGCC	in-frame
19	5892954	NDUFA11	ENSG00000174886	p.T221A	Act/Gct	missense
19	54313707	NLRP12	ENSG00000142405	p.F402L	ttC/ttG	missense
19	36342212	NPHS1	ENSG00000161270	p.E117K	Gag/Aag	missense
19	50881820	NR1H2	ENSG00000131408	p.Q175dup; p.Q78dup	A/AAAC	in-frame
19	50881822	NR1H2	ENSG00000131408	p.Q175dup; p.Q78dup	A/ACAG	in-frame
19	54599231	OSCAR	ENSG00000170909	p.P130S	Ccg/Tcg	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
19	44001379	<i>PHLDB3</i>	ENSG00000176531	p.Q239R	cAa/cGa	missense
19	4524016	<i>PLIN5</i>	ENSG00000214456	p.R306W	Cgg/Tgg	missense
19	10224526	<i>PPAN-P2RY11; P2RY11</i>	ENSG00000243207	p.P520L	cCc/cTc	missense
19	49376582	<i>PPP1R15A</i>	ENSG00000087074	p.R31H	cGc/cAc	missense
19	55699454	<i>PTPRH</i>	ENSG00000080031	p.K645E; p.K823E	Aag/Gag	missense
19	49232226	<i>RASIP1</i>	ENSG00000105538	p.R601C	Cgc/Tgc	missense
19	10132318	<i>RDH8</i>	ENSG00000080511	p.Y297H	Tat/Cat	missense
19	33486992	<i>RHPN2</i>	ENSG00000131941	p.Y454D	Tac/Gac	missense
19	33490585	<i>RHPN2</i>	ENSG00000131941	p.Q378*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
19	36486445	<i>SDHAF1</i>	ENSG00000205138	p.C90S	tGc/tCc	missense
19	3595794	<i>TBXA2R</i>	ENSG0000006638	p.Y179H	Tat/Cat	missense
19	7573098	<i>TEX45</i>	ENSG00000198723	p.Y434N	Tac/Aac	missense
19	57642782	<i>USP29</i>	ENSG00000131864	p.Y913*	taC/taG	nonsense: stop gain
19	51835892	<i>VSIG10L</i>	ENSG00000186806	p.Q860fs?	T/TG	frameshift
19	44047826	<i>XRCC1</i>	ENSG00000073050	p.N576Y; p.N545Y	Aat/Tat	missense
19	44377357	<i>ZNF404</i>	ENSG00000176222	p.G337S	Ggt/Agt	missense
19	44377669	<i>ZNF404</i>	ENSG00000176222	p.H233Y	Cat/Tat	missense
20	31022959	<i>ASXL1</i>	ENSG00000171456	p.L815P; p.L810P	cCg/cTg	missense
20	6759115	<i>BMP2</i>	ENSG00000125845	p.R190S	agA/agT	missense
20	47253150	<i>PREX1</i>	ENSG00000124126	p.K1340E	Aag/Gag	missense
20	3682126	<i>SIGLEC1</i>	ENSG00000088827	p.R464H	cGc/cAc	missense
21	37650373	<i>DOPEY2</i>	ENSG00000142197	p.R1938H	cGc/cAc	missense
21	47558473	<i>FTCD</i>	ENSG00000160282	p.P450A;	Cct/Gct	missense
21	46314907	<i>ITGB2</i>	ENSG00000160255	p.Q297H; p.Q354H	caT/caA	missense
21	31812772	<i>KRTAP15-1</i>	ENSG00000186970	p.L43M	Ctg/Atg	missense
21	26978950	<i>MRPL39</i>	ENSG00000154719	p.S31P	Tca/Cca	missense
21	38528987	<i>TTC3</i>	ENSG00000182670	p.R614H; p.R924H; p.R946H; p.R202H	cGt/cAt	missense
22	17687992	<i>ADA2</i>	ENSG00000093072	p.R129W; p.R171W; p.R51W	Cgg/Tgg	missense
22	29727886	<i>AP1B1</i>	ENSG00000100280	p.T777A; p.T770A; p.T750A	Acc/Gcc	missense
22	36123083	<i>APOL5</i>	ENSG00000128313	p.T323M	aCg/aTg	missense
22	37581422	<i>CIQTNF6</i>	ENSG00000133466	p.P42R	cCt/cGt	missense
22	19189003	<i>CLTCL1</i>	ENSG00000070371	p.V1201fs*19	A/AC	frameshift
22	19197949	<i>CLTCL1</i>	ENSG00000070371	p.R1046C	Cgc/Tgc	missense
22	45923827	<i>FBLN1</i>	ENSG00000077942	p.Q141R; p.Q179R	cAg/cGg	missense
22	46704676	<i>GTSE1</i>	ENSG00000075218	p.T200A	Acc/Gcc	missense
22	46709881	<i>GTSE1</i>	ENSG00000075218	p.S341N	aGt/aAt	missense
22	46719100	<i>GTSE1</i>	ENSG00000075218	p.D482E	gaC/gaG	missense
22	46722400	<i>GTSE1</i>	ENSG00000075218	p.W525R	Tgg/Cgg	missense
22	35463162	<i>ISX</i>	ENSG00000175329	p.S28G	Agc/Ggc	missense
22	51043278	<i>MAPK8IP2</i>	ENSG00000008735	p.S517N	aGc/aAc	missense
22	50546622	<i>MOV10L1</i>	ENSG00000073146	p.T147M; p.T167M	aCg/aTg	missense
22	50546666	<i>MOV10L1</i>	ENSG00000073146	p.R162C; p.R182C	Cgc/Tgc	missense

**Tabela suplementar 1: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
22	37387257	<i>TEX33</i>	ENSG00000185264	p.Y269C; p.Y184C	tAt/tGt	<i>missense</i>
22	38121652	<i>TRIOBP</i>	ENSG00000100106	p.P1030R	cCa/cGa	<i>missense</i>
22	22868497	<i>ZNF280A</i>	ENSG00000169548	p.L486F	ttG/ttC	<i>missense</i>
22	22869123	<i>ZNF280A</i>	ENSG00000169548	p.N271D; p.D278N	Gac/Aac	<i>missense</i>
X	47426172	<i>ARAF</i>	ENSG00000078061	p.L234R; p.L231R	cTc/cGc	<i>missense</i>
X	135861653	<i>ARHGEF6</i>	ENSG00000129675	p.C57R	Tgt/Cgt	<i>missense</i>
X	40460040	<i>ATP6AP2</i>	ENSG00000182220	p.W24R	TGG/CGG	<i>missense</i>
X	129147079	<i>BCORL1</i>	ENSG00000085185	p.F111L	Ttc/Ctc	<i>missense</i>
X	79943569	<i>BRWD3</i>	ENSG00000165288	p.K1288R	aAg/aGg	<i>missense</i>
X	35969297	<i>CFAP47</i>	ENSG00000165164	p.V236M	Gtg/Atg	<i>missense</i>
X	36371719	<i>CFAP47</i>	ENSG00000165164	p.F2925Y	tTt/tAt	<i>missense</i>
X	31496350	<i>DMD</i>	ENSG00000198947	p.R208Q	cGg/cAg	<i>missense</i>
X	32380996	<i>DMD</i>	ENSG00000198947	p.R404H; p.R1737H; p.R401H; p.R1622H; p.R1745H; p.R1741H	cGc/cAc	<i>missense</i>
X	32503194	<i>DMD</i>	ENSG00000198947	p.D878G	gAt/gGt	<i>missense</i>
X	26157220	<i>MAGEB18</i>	ENSG00000176774	p.P40S	Cct/Tct	<i>missense</i>
X	49021537	<i>MAGIX</i>	ENSG00000269313	p.V114L; p.V106L	Ctc/Gtc	<i>missense</i>
X	55289774	<i>PAGE3</i>	ENSG00000204279	p.N35D	Aat/Gat	<i>missense</i>
X	105278361	<i>SERPINA7</i>	ENSG00000123561	p.L303F	ttG/ttT	<i>missense</i>
X	101395780	<i>TCEAL6</i>	ENSG00000204071	p.Q175fs?	T/TG	<i>frameshift</i>
X	154456747	<i>VBPI</i>	ENSG00000155959	p.M118V; p.M123V	Atg/Gtg	<i>missense</i>
X	119387833	<i>ZBTB33</i>	ENSG00000177485	p.D194dup	C/CTGA	<i>in-frame</i>
X	47306954	<i>ZNF41</i>	ENSG00000147124	p.I703L; p.I749L; p.I705L; p.I739L; p.I781L; p.I773L; p.I741L; p.I653L	Cta/Ata	<i>missense</i>

**Tabela suplementar 2:** Mutações de mudança da matriz de leitura (*frameshift*), sem sentido (*nonsense*), de sentido trocado (*missense*), e inserções ou deleções que não provocam alteração na matriz de leitura (*in-frame*) identificadas no indivíduo X.X da Família A pelo programa *Mendel*

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
1	200842341	<i>GPR25</i>	ENSG00000170128	p.F59S	tTt/tCt	<i>missense</i>
1	201178819	<i>IGFN1</i>	ENSG00000163395	p.A1600T	Gca/Aca	<i>missense</i>
1	117142700	<i>IGSF3</i>	ENSG00000143061	p.S651I	aGc/aTc	<i>missense</i>
1	228564499	<i>OBSCN</i>	ENSG00000154358	p.E8612K	Gag/Aag	<i>missense</i>
1	228504586	<i>OBSCN</i>	ENSG00000154358	p.H5445D	Cac/Gac	<i>missense</i>
1	248224633	<i>OR2L3</i>	ENSG00000198128	p.Y217C	tAt/tGt	<i>missense</i>
1	248637046	<i>OR2T3</i>	ENSG00000196539	p.C132Y	tGc/tAc	<i>missense</i>
1	248737167	<i>OR2T34</i>	ENSG00000183310	p.R298C	Cgc/Tgc	<i>missense</i>
1	248651959	<i>OR2T5</i>	ENSG00000203661	p.R24*	Cga/Tga	<i>nonsense: stop gain</i>
1	154918547	<i>PBXIP1</i>	ENSG00000163346	p.R535*	Cga/Tga	<i>nonsense: stop gain</i>
1	156786487	<i>SH2D2A</i>	ENSG00000027869	p.L5Q	cTg/cAg	<i>missense</i>
1	232649821	<i>SIPAIL2</i>	ENSG00000116991	p.R422K	aGg/aAg	<i>missense</i>
1	206516261	<i>SRGAP2</i>	ENSG00000163486	p.R21W	Cgg/Tgg	<i>missense</i>
1	206566922	<i>SRGAP2</i>	ENSG00000163486	p.E154D	gag/gaT	<i>missense</i>
1	16071015	<i>TMEM82</i>	ENSG00000162460	p.A233T	Gcc/Acc	<i>missense</i>
2	96610410	<i>ANKRD36C</i>	ENSG00000174501	p.N486Y	Aat/Tat	<i>missense</i>
2	131672630	<i>ARHGEF4</i>	ENSG00000136002	p.R41*	Cga/Tga	<i>nonsense: stop gain</i>
2	179733939	<i>CCDC14I</i>	ENSG00000163492	p.D767N	Gac/Aac	<i>missense</i>
2	3751481	<i>DCDC2C</i>	ENSG00000214866	p.L10R	cTg/cGg	<i>missense</i>
2	187626996	<i>FAM171B</i>	ENSG00000144369	p.M643V	Atg/Gtg	<i>missense</i>
2	241569447	<i>GPR35</i>	ENSG00000178623	p.Y57*	taC/taG	<i>nonsense: stop gain</i>
2	129075877	<i>HS6ST1</i>	ENSG00000136720	p.D87E	gaC/gaA	<i>missense</i>
2	231973666	<i>HTR2B</i>	ENSG00000135914	p.W337*	tgG/tgA	<i>nonsense: stop gain</i>
2	187466845	<i>ITGAV</i>	ENSG00000138448	p.R95C	Cgc/Tgc	<i>missense</i>
2	88327431	<i>KRCC1</i>	ENSG00000172086	p.K218Q	Aag/Cag	<i>missense</i>
2	44586706	<i>PREPL</i>	ENSG00000138078	p.K50M	aAg/aTg	<i>missense</i>
2	179309165	<i>PRKRA</i> COSM646523, COSM4592387	ENSG00000180228	p.P127L	cCt/cTt	<i>missense</i>
2	85663647	<i>SH2D6</i>	ENSG00000152292	p.V157E	gTg/gAg	<i>missense</i>
2	3469449	<i>TRAPPC12</i>	ENSG00000171853	p.G587S	Ggc/Agc	<i>missense</i>
3	37458926	<i>C3orf35</i>	ENSG00000198590	p.G57S	Ggc/Agc	<i>missense</i>
3	122044169	<i>CSTA</i>	ENSG00000121552	p.K10N	aaA/aaC	<i>missense</i>
3	137816662	<i>DZIP1L</i>	ENSG00000158163	p.N177D	Aat/Gat	<i>missense</i>
3	129120623	<i>EFCAB12</i>	ENSG00000172771	p.L511P	cTg/cCg	<i>missense</i>
3	48415154	<i>FBXW12</i>	ENSG00000164049	p.A82G	gCa/gGa	<i>missense</i>
3	121489286	<i>IQCB1</i>	ENSG00000173226	p.L568P	cTt/cCt	<i>missense</i>
3	77614215	<i>ROBO2</i>	ENSG00000185008	p.I598T	aTc/aCc	<i>missense</i>
3	75786256	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.K840*	Aaa/Taa	<i>nonsense: stop gain</i>
3	75786252	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.P841H	cCc/cAc	<i>missense</i>
3	75786243	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.C844Y	tGt/tAt	<i>missense</i>
3	75786225	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.T850I	aCt/aTt	<i>missense</i>
3	75786211	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.S855P	Tca/Cca	<i>missense</i>

**Tabela suplementar 2:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
3	75786175	ZNF717	ENSG00000227124	p.E867*	Gaa/Taa	nonsense: stop gain
3	75786516	ZNF717	ENSG00000227124	p.T753N	aCc/aAc	missense
3	75786518	ZNF717	ENSG00000227124	p.H752Q	caT/caG	missense
3	75786817	ZNF717	ENSG00000227124	p.G653*	Gga/Tga	nonsense: stop gain
3	75786827	ZNF717	ENSG00000227124	p.C649*	tgT/tgA	nonsense: stop gain
3	75786916	ZNF717	ENSG00000227124	p.E620*	Gaa/Taa	nonsense: stop gain
3	75786919	ZNF717	ENSG00000227124	p.Y619N	Tat/Aat	missense
3	75786991	ZNF717	ENSG00000227124	p.E595K	Gaa/Aaa	missense
3	75786993	ZNF717	ENSG00000227124	p.N594I	aAt/aTt	missense
3	75787015	ZNF717	ENSG00000227124	p.G587S	Ggc/Agc	missense
3	75787490	ZNF717	ENSG00000227124	p.C428*	tgT/tgA	nonsense: stop gain
3	75787511	ZNF717	ENSG00000227124	p.K421N	aaG/aaT	missense
3	75787516	ZNF717	ENSG00000227124	p.E420Q	Gaa/Caa	missense
3	75787519	ZNF717	ENSG00000227124	p.G419W	Ggg/Tgg	missense
3	75787576	ZNF717	ENSG00000227124	p.C400R	Tgt/Cgt	missense
3	75787584	ZNF717	ENSG00000227124	p.C397F	tGt/tTt	missense
3	75787620	ZNF717	ENSG00000227124	p.H385R	cAt/cGt	missense
3	75787770	ZNF717	ENSG00000227124	p.G335E	gGg/gAg	missense
3	75788028	ZNF717	ENSG00000227124	p.S249*	tCa/tGa	nonsense: stop gain
3	75788130	ZNF717	ENSG00000227124	p.G215V	gGg/gTg	missense
3	75788260	ZNF717	ENSG00000227124	p.G172W	Ggg/Tgg	missense
3	75786337	ZNF717	ENSG00000227124	p.P813S	Cca/Tca	missense
3	75790466	ZNF717	ENSG00000227124	p.P80T	Cca/Aca	missense
3	75790838	ZNF717	ENSG00000227124	p.W36*	tGg/tAg	nonsense: stop gain
3	75788432	ZNF717	ENSG00000227124	p.Q114H	caA/caT	missense
3	75786298	ZNF717	ENSG00000227124	p.K826E	Aag/Gag	missense
3	75786288	ZNF717	ENSG00000227124	p.L829P	cTc/cCc	missense
3	75786278	ZNF717	ENSG00000227124	p.H832Q	caT/caG	missense
3	75786261	ZNF717	ENSG00000227124	p.G838E	gGg/gAg	missense
4	79525488	ANXA3	ENSG00000138772	p.D283N	Gac/Aac	missense
4	155254454	DCHS2	ENSG00000197410	p.V470G	gTc/gGc	missense
4	190878563	FRG1	ENSG00000109536	p.A148D	gCt/gAt	missense
4	4190595	OTOP1	ENSG00000163982	p.P592A	Cct/Gct	missense
4	4190577	OTOP1	ENSG00000163982	p.R598G	Cga/Gga	missense
4	4190576	OTOP1	ENSG00000163982	p.R598P	cGa/cCa	missense
5	56777916	ACTBL2	ENSG00000169067	p.R207W	Cgg/Tgg	missense
5	77523335	AP3BI	ENSG00000132842	p.A133S	Gca/Tca	missense
5	68588160	CCDC125	ENSG00000183323	p.E318D	gaA/gaC	missense
5	140905989	DIAPH1	ENSG00000131504	p.R1106W	Cgg/Tgg	missense
5	150945843	FAT2	ENSG00000086570	p.E884K	Gaa/Aaa	missense
5	90041434	GPR98	ENSG00000164199	p.G3599A	gGt/gCt	missense
6	135639715	AHL1	ENSG00000135541	p.S1123F	tCc/tTc	missense
6	145948629	EPM2A	ENSG00000112425	p.E307K	Gaa/Aaa	missense

**Tabela suplementar 2:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
6	167440092	<i>FGFR1OP</i>	ENSG00000213066	p.S326*	tCa/tAa	nonsense: stop gain
6	32549582	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.T135N	aCc/aAc	missense
6	32549424	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.V188M	Gtg/Atg	missense
6	32549531	<i>HLA-DRB1</i>	ENSG00000196126	p.Y152C	tAt/tGt	missense
6	32487209	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.G197A	gGa/gCa	missense
6	32487189	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.V204L	Gtg/Ctg	missense
6	32497905	<i>HLA-DRB5</i>	ENSG00000198502	p.R33*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
6	88240542	<i>RARS2</i>	ENSG00000146282	p.F244Y	tTt/tAt	missense
6	167786686	<i>TCP10</i>	ENSG00000203690	p.A318T	Gct/Act	missense
6	31760653	<i>VAR5</i>	ENSG00000204394	p.R181H	cGc/cAc	missense
6	170034574	<i>WDR27</i>	ENSG00000184465	p.T684M	aCg/aTg	missense
7	7420436	<i>COL28A1</i>	ENSG00000215018	p.E755*	Gag/Tag	nonsense: stop gain
7	102417753	<i>FAM185A</i>	ENSG00000222011	p.Y297D	Tat/Gat	missense
7	151970877	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.P309S	Cct/Tct	missense
7	100552738	<i>MUC3A</i>	ENSG00000169894	p.Q497*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
7	142458511	<i>PRSS1</i>	ENSG00000204983	p.G49V	gGt/gTt	missense
7	142458531	<i>PRSS1</i>	ENSG00000204983	p.Q56*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
7	142458523	<i>PRSS1</i>	ENSG00000204983	p.I53N	aTc/aAc	missense
7	142247271	<i>TRBV7-3</i>	ENSG00000211714	p.P62L	cCa/cTa	missense
7	142247380	<i>TRBV7-3</i>	ENSG00000211714	p.T26S	Acc/Tcc	missense
8	7698603	<i>DEFB104A</i>	ENSG00000176782	p.R36C	Cgt/Tgt	missense
8	144940706	<i>EPPK1</i>	ENSG00000227184	p.R2239H	cGc/cAc	missense
8	145747902	<i>LRRC24</i>	ENSG00000254402	p.G500E	gGa/gAa	missense
8	142504935	<i>MROH5</i>	ENSG00000226807	p.A171T	Gct/Act	missense
8	101721899	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.E345*	Gaa/Taa	nonsense: stop gain
8	101724606	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.T319I	aCa/aTa	missense
8	101721839	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.V365L	Gta/Tta	missense
8	101721817	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.E372G	gAa/gGa	missense
8	101721812	<i>PABPC1</i>	ENSG00000070756	p.R374C	Cgc/Tgc	missense
8	110453028	<i>PKHD1L1</i>	ENSG00000205038	p.T1349N	aCc/aAc	missense
8	52321660	<i>PXDNL</i>	ENSG00000147485	p.C842R	Tgt/Cgt	missense
8	10480549	<i>RP1L1</i>	ENSG00000183638	p.Q55*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
8	8235297	<i>SGK223</i>	ENSG00000182319	p.R208C	Cgc/Tgc	missense
8	8234904	<i>SGK223</i>	ENSG00000182319	p.D339N	Gac/Aac	missense
8	87230034	<i>SLC7A13</i>	ENSG00000164893	p.R282*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
8	7320265	<i>SPAG11B</i>	ENSG00000164871	p.R60W	Cgg/Tgg	missense
8	38682833	<i>TACCI</i>	ENSG00000147526	p.C479S	Tgt/AgT	missense
8	100286553	<i>VPS13B</i>	ENSG00000132549	p.K881N	aaA/aaT	missense
9	33385750	<i>AQP7</i>	ENSG00000165269	p.G214R	Ggg/Agg	missense
9	115249377	<i>C9orf147</i>	ENSG00000230185	p.V36D	gTc/gAc	missense
9	37746714	<i>FRMPD1</i>	ENSG00000070601	p.T1562M	aCg/aTg	missense
9	86530427	<i>KIF27</i>	ENSG00000165115	p.C27F	tGt/tTt	missense
9	125512861	<i>OR1L6</i>	ENSG00000171459	p.H281Q	caC/caA	missense



Tabela suplementar 2: continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
9	12552039	<i>OR5C1</i>	ENSG00000148215	p.K276N	aaG/aaT	missense
9	33797951	<i>PRSS3</i>	ENSG00000010438	p.M166L	Atg/Ctg	missense
9	36087738	<i>RECK</i>	ENSG00000122707	p.C229G	Tgc/Ggc	missense
9	131418941	<i>WDR34</i>	ENSG00000119333	p.A22V	gCg/gTg	missense
10	99093692	<i>FRAT2</i>	ENSG00000181274	p.G213E	gGg/gAg	missense
10	48438495	<i>GDF10</i>	ENSG00000107623	p.Q72H	caG/caC	missense
10	98799785	<i>SLIT1</i>	ENSG00000187122	p.R753W	Cgg/Tgg	missense
11	108141988	<i>ATM</i>	ENSG00000149311	p.S978P	Tct/Cct	missense
11	46760622	<i>F2</i>	ENSG00000180210	p.R560Q	cGa/cAa	missense
11	12315863	<i>MICALCL</i>	ENSG00000133808	p.W295*	tgG/tgA	nonsense: stop gain
11	12316119	<i>MICALCL</i>	ENSG00000133808	p.E381K	Gag/Aag	missense
11	1016890	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.P1971S	Cca/Tca	missense
11	1017069	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.T1911M	aCg/aTg	missense
11	1017041	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.Y1920*	taC/taA	nonsense: stop gain
11	1016802	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.H2000L	cAc/cTc	missense
11	1016910	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.T1964I	aCa/aTa	missense
11	7063792	<i>NLRP14</i>	ENSG00000158077	p.V179M	Gtg/Atg	missense
11	48347014	<i>OR4C3</i>	ENSG00000176547	p.W174*	tgG/tgA	nonsense: stop gain
11	48347067	<i>OR4C3</i>	ENSG00000176547	p.P192L	cCc/cTc	missense
11	48387630	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.G130R	Gga/Aga	missense
11	48387978	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.K14*	Aaa/Taa	nonsense: stop gain
11	48387900	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.Q40*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
11	48387098	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.V307G	gTg/gGg	missense
11	48387107	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.N304S	aAc/aGc	missense
11	48387164	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.S285F	tCt/tTt	missense
11	48387201	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.R273*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
11	48387206	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.Y271C	tAc/tGc	missense
11	48387335	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.C228F	tGt/tTt	missense
11	48387850	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.Y56*	taC/taA	nonsense: stop gain
11	5906289	<i>OR52E4</i>	ENSG00000180974	p.A256E	gCa/gAa	missense
11	56000530	<i>OR5T2</i>	ENSG00000181718	p.N44K	aaT/aaA	missense
11	124266758	<i>OR8B3</i>	ENSG00000196661	p.L164F	Ctt/Ttt	missense
11	56468699	<i>OR9G1</i>	ENSG00000174914	p.V279E	gTg/gAg	missense
11	67198936	<i>RPS6KB2</i>	ENSG00000175634	p.Y136C	tAt/tGt	missense
11	64856388	<i>TMEM262</i>	ENSG00000187066	p.N39T	aAc/aCc	missense
11	67766704	<i>UNC93B1</i>	ENSG00000110057	p.P209L	cCg/cTg	missense
12	124333367	<i>DNAH10</i>	ENSG00000197653	p.V1896M	Gtg/Atg	missense
12	124363852	<i>DNAH10</i>	ENSG00000197653	p.E2687G	gAg/gGg	missense
12	3763475	<i>EFCAB4B</i>	ENSG00000130038	p.R317W	Cgg/Tgg	missense
12	104698487	<i>EID3</i>	ENSG00000255150	p.I259V	Ata/Gta	missense
12	10588530	<i>NKG2-E</i>	ENSG00000205809	p.R19P	cGg/cCg	missense
12	122670741	<i>LRRC43</i>	ENSG00000158113	p.T139I	aCc/aTc	missense
12	96180832	<i>NTN4</i>	ENSG00000074527	p.Y157S	tAt/tCt	missense

**Tabela suplementar 2:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
12	131283152	<i>STX2</i>	ENSG00000111450	p.N235S	aAt/aGt	missense
12	56397802	<i>SUOX</i>	ENSG00000139531	p.P210L	cCc/cTc	missense
12	6562652	<i>TAPBPL</i>	ENSG00000139192	p.H112L	cAt/cTt	missense
12	58350653	<i>XRCC6BP1</i>	ENSG00000166896	p.R241W	Cgg/Tgg	missense
13	32971119	<i>BRCA2</i>	ENSG00000139618	p.K3196E	Aaa/Gaa	missense
13	24895631	<i>CIQTNF9</i>	ENSG00000240654	p.C243S	Tgc/Agc	missense
13	37678727	<i>CSNK1A1L</i>	ENSG00000180138	p.G223*	Gga/Tga	nonsense: stop gain
13	25671292	<i>PABPC3</i>	ENSG00000151846	p.T319I	aCa/aTa	missense
14	65032130	<i>PPP1R36</i>	ENSG00000165807	p.K109E	Aaa/Gaa	missense
15	49048567	<i>CEP152</i>	ENSG00000103995	p.W960R	Tgg/Cgg	missense
15	75982513	<i>CSPG4</i>	ENSG00000173546	p.I298T	aTc/aCc	missense
15	75982492	<i>CSPG4</i>	ENSG00000173546	p.T305M	aCg/aTg	missense
15	101593236	<i>LRRK1</i>	ENSG00000154237	p.V1267M	Gtg/Atg	missense
16	4412008	<i>CORO7-PAM16</i>	ENSG00000103426	p.G519A	gGg/gCg	missense
16	12798607	<i>CPPED1</i>	ENSG00000103381	p.C197R	Tgc/Cgc	missense
16	57601982	<i>GPR114</i>	ENSG00000159618	p.V346L	Gtc/Ctc	missense
16	70172890	<i>PDPR</i>	ENSG00000090857	p.R427C	Cgc/Tgc	missense
16	24920259	<i>SLC5A11</i>	ENSG00000158865	p.D498N	Gac/Aac	missense
16	23160474	<i>USP31</i>	ENSG00000103404	p.G40C	Ggc/Tgc	missense
16	30566693	<i>ZNF764</i>	ENSG00000169951	p.R350H	cGc/cAc	missense
16	31447564	<i>ZNF843</i>	ENSG00000176723	p.G203R	Ggg/Agg	missense
17	45214558	<i>CDC27</i>	ENSG00000004897	p.R631*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
17	80543997	<i>FOXK2</i>	ENSG00000141568	p.Q499H	caA/caC	missense
17	73143671	<i>HN1</i>	ENSG00000189159	p.G93R	Gga/Aga	missense
17	21319786	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.E378K	Gag/Aag	missense
17	21319069	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.E139K	Gag/Aag	missense
17	21319087	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.G145S	Ggc/Agc	missense
17	21319436	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.R261H	cGc/cAc	missense
17	21319439	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.I262S	aTc/aGc	missense
17	7760574	<i>LSMD1</i>	ENSG00000183011	p.W56*	tgG/tgA	nonsense: stop gain
17	45669359	<i>NPEPPS</i>	ENSG00000141279	p.F433C	tTt/tGt	missense
17	79428608	<i>RP11-1055B8.7</i>	ENSG00000171282	p.P2307S	Ccc/Tcc	missense
17	36365080	<i>RP11-1407O15.2</i>	ENSG00000174093	p.R172P	cGc/cCc	missense
17	36361764	<i>RP11-1407O15.2</i>	ENSG00000174093	p.P194R	cCt/cGt	missense
17	36352489	<i>RP11-1407O15.2</i>	ENSG00000174093	p.F433C	tTt/tGt	missense
18	30350987	<i>AC012123.1</i>	ENSG00000228835	p.P77S	Ccg/Tcg	missense
18	58039368	<i>MC4R</i>	ENSG00000166603	p.N72S	aAc/aGc	missense
19	15473030	<i>AKAP8</i>	ENSG00000105127	p.R398H	cGt/cAt	missense
19	36049278	<i>ATP4A</i>	ENSG00000105675	p.T496P	Acc/Ccc	missense
19	41630642	<i>CYP2F1</i>	ENSG00000197446	p.I328N	aTc/aAc	missense
19	51378085	<i>KLK2</i>	ENSG00000167751	p.G52D	gGt/gAt	missense
19	54783385	<i>LILRB2</i>	ENSG00000131042	p.E158V	gAa/gTa	missense
19	46417748	<i>NANOS2</i>	ENSG00000188425	p.H68Q	caC/caA	missense

**Tabela suplementar 2:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
19	54606446	<i>NDUFA3</i>	ENSG00000170906	p.A12G	gCc/gGc	<i>missense</i>
19	36303332	<i>PRODH2</i>	ENSG00000250799	p.R177W	Cgg/Tgg	<i>missense</i>
19	3019741	<i>TLE2</i>	ENSG00000065717	p.R109C	Cgc/Tgc	<i>missense</i>
19	58118371	<i>ZNF530</i>	ENSG00000183647	p.C493Y	tGc/tAc	<i>missense</i>
19	23329266	<i>ZNF730</i>	ENSG00000183850	p.H474Y	Cat/Tat	<i>missense</i>
20	29628237	<i>FRG1B</i>	ENSG00000149531	p.A80D	gCt/gAt	<i>missense</i>
20	29632660	<i>FRG1B</i>	ENSG00000149531	p.E159*	Gag/Tag	<i>nonsense: stop gain</i>
20	29628328	<i>FRG1B</i>	ENSG00000149531	p.II10M	atC/atG	<i>missense</i>
20	29632673	<i>FRG1B</i>	ENSG00000149531	p.L163P	cTt/cCt	<i>missense</i>
20	47770594	<i>STAU1</i>	ENSG00000124214	p.T74A	Act/Gct	<i>missense</i>
21	37650373	<i>DOPEY2</i>	ENSG00000142197	p.R1938H	cGc/cAc	<i>missense</i>
22	45309788	<i>PHF21B</i>	ENSG00000056487	p.R249W	Cgg/Tgg	<i>missense</i>
22	46657900	<i>PKDREJ</i>	ENSG00000130943	p.R440S	agG/agC	<i>missense</i>
22	24579157	<i>SUSD2</i>	ENSG00000099994	p.G70V	gGa/gTa	<i>missense</i>
X	135861653	<i>ARHGEF6</i>	ENSG00000129675	p.C57R	Tgt/Cgt	<i>missense</i>
X	55172630	<i>FAM104B</i>	ENSG00000182518	p.Q80*	Cag/Tag	<i>nonsense: stop gain</i>
X	55185656	<i>FAM104B</i>	ENSG00000182518	p.R9I	aGa/aTa	<i>missense</i>
X	149639713	<i>MAMLD1</i>	ENSG00000013619	p.R598H	cGt/cAt	<i>missense</i>
X	70149594	<i>SLC7A3</i>	ENSG00000165349	p.A85V	gCc/gTg	<i>missense</i>
X	152710845	<i>TREX2</i>	ENSG00000183479	p.L58Q	cTg/cAg	<i>missense</i>

**Tabela suplementar 3:** Mutações de mudança da matriz de leitura (*frameshift*), sem sentido (*nonsense*), de sentido trocado (*missense*), e inserções ou deleções que não provocam alteração na matriz de leitura (*in-frame*) identificadas no indivíduo X.X da Família B pelo programa *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup>

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
1	11856378	<i>MTHFR</i>	ENSG00000188157	p.A222V; p.A263V	gCc/gTc	<i>missense</i>
1	19408294	<i>UBR4</i>	ENSG00000127481	p.P3fs*27	ccG/ccGC	<i>frameshift</i>
1	31905889	<i>SERINC2</i>	ENSG00000168528	p.Q372dup; p.Q368dup; p.Q377dup; p.Q313dup		<i>in-frame</i>
1	46476587	<i>MAST2</i>	ENSG00000086015	p.D395E; p.D234E; p.D388E	gaT/gaG	<i>missense</i>
1	46493460	<i>MAST2</i>	ENSG00000086015	p.L659M; p.L505M; p.L666M; p.L297M	atT/atG	<i>missense</i>
1	120539331	<i>NOTCH2</i>	ENSG00000134250	p.G225R	Gga/Cga	<i>missense</i>
1	120612003	<i>NOTCH2</i>	ENSG00000134250	p.P6fs*27	ccG/ccGC	<i>frameshift</i>
1	160654758	<i>CD48; ALI21985.1</i>	ENSG00000117091	p.E102Q	Gag/Cag	<i>missense</i>
1	235594073	<i>TBCE</i>	ENSG00000284770	p.V92A; p.V205A	gTa/gCa	<i>missense</i>
2	1499927	<i>TPO</i>	ENSG00000115705	p.T552P; p.T725P; p.T668P	Act/Cct	<i>missense</i>
2	1520676	<i>TPO</i>	ENSG00000115705	p.V847A; p.V803A; p.V790A; p.V674A	gTg/gCg	<i>missense</i>
2	190670539	<i>PMS1</i>	ENSG00000064933	p.L164fs*4	ctT/ctTA	<i>frameshift</i>
2	216235089	<i>FN1</i>	ENSG00000115414	p.V2080I; p.V2170I; p.V2024I; p.V2051I; p.V2261I; p.V2230I; p.V2049I; p.V2114I; p.V2139I;	Gtc/Atc	<i>missense</i>
2	216272900	<i>FN1</i>	ENSG00000115414	p.T817P; p.P817P	Acg/Ccg	<i>missense</i>
2	218568732	<i>DIRC3</i>	ENSG00000231672	p.V114L	GTc/GTg	<i>missense</i>
2	218604247	<i>DIRC3</i>	ENSG00000231672	p.F55C	tTt/tGt	<i>missense</i>
3	41831203	<i>ULK4</i>	ENSG00000168038	p.A413T; p.A715T	Gct/Act	<i>missense</i>
3	41841716	<i>ULK4</i>	ENSG00000168038	p.S338A; p.S640A	Tcc/Gcc	<i>missense</i>
3	41925398	<i>ULK4</i>	ENSG00000168038	p.A542T; p.A240T	Gct/Act	<i>missense</i>
3	69230061	<i>FRMD4B</i>	ENSG00000114541	p.S947L; p.S599L	tCg/tTg	<i>missense</i>
3	69245454	<i>FRMD4B</i>	ENSG00000114541	p.T48A; p.T396A	Acg/Gcg	<i>missense</i>
3	111828423	<i>C3orf52</i>	ENSG00000114529	p.G144S	Acg/Gcg	<i>missense</i>
3	113373930	<i>USF3</i>	ENSG00000176542	p.V2200A	gTg/gCg	<i>missense</i>
4	55593464	<i>KIT</i>	ENSG00000157404	p.M537L; p.M541L	Atg/Ctg	<i>missense</i>
4	72618296	<i>GC</i>	ENSG00000145321	p.H445R; p.H464R	cAc/cGc	<i>missense</i>
4	88898941	<i>SPP1</i>	ENSG00000118785	p.A24V	gCc/gTc	<i>missense</i>
4	110901198	<i>EGF</i>	ENSG00000138798	p.M666I; p.M708I	atG/atA	<i>missense</i>
4	122742217	<i>CCNA2</i>	ENSG00000145386	p.I163V	Ata/Gta	<i>missense</i>
5	68531253	<i>CDK7</i>	ENSG00000134058	p.T22I	aCc/aTc	<i>missense</i>
5	80149981	<i>MSH3</i>	ENSG00000113318	p.Q949R	CAG/CGG	<i>missense</i>
6	3010390	<i>NQO2</i>	ENSG00000124588	p.L47F	Ctt/Ttt	<i>missense</i>
6	31322303	<i>HLA-B</i>	ENSG00000234745	p.C349S	Tgt/Cgt	<i>missense</i>
6	31322980	<i>HLA-B; AL671883.3</i>	ENSG00000234745	p.V306I	Gtc/ATCtc	<i>missense</i>
6	31324154	<i>HLA-B; MIR6891; AL671883.3</i>	ENSG00000234745	p.H137Y	Cat/Tat	<i>missense</i>
6	32609126	<i>HLA-DQA1</i>	ENSG00000234745	p.F41S	tTt/tCt	<i>missense</i>
6	36645696	<i>CDKN1A; DINOL</i>	ENSG00000124762	p.D28G	gAv/gTt	<i>missense</i>
7	1132483	<i>C7orf50; GPER1</i>	ENSG00000146540	p.S373R	Agt/Ggt	<i>missense</i>
7	1133305	<i>GPER1; C7orf50</i>	ENSG00000164850	p.L167V	Ctg/Gtg	<i>missense</i>
7	6026942	<i>PMS2</i>	ENSG00000122512	p.T298K; p.T485K; p.T350K; p.T294K; p.T382K; p.T379K; p.T174K; p.T433K	aCg/aAg	<i>missense</i>

**Tabela suplementar 3: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
7	87049345	<i>ABCB4</i>	ENSG00000005471	p.R788Q	cGg/cAg	missense
8	52321243	<i>PXDNL</i>	ENSG00000147485	p.M981V	Atg/Gtg	missense
8	133900252	<i>TG</i>	ENSG00000042832	p.S734A	Tct/Gct	missense
8	133909974	<i>TG</i>	ENSG00000042832	p.M1028V	Atg/Gtg	missense
8	133920518	<i>TG</i>	ENSG00000042832	p.D1312G	gAt/gGt	missense
8	134125682	<i>TG</i>	ENSG00000042832	p.R2530Q; p.R663Q	cGa/cAa	missense
9	20866974	<i>FOCAD</i>	ENSG00000188352	p.T718S; p.T154S	aGt/aCt	missense
9	20988426	<i>FOCAD</i>	ENSG00000188352	p.K1668E; p.K1104E	Aag/Gag	missense
9	27183463	<i>TEK</i>	ENSG00000120156	p.Q346P; p.Q303P; p.Q199P	cAg/cCg	missense
9	98270531	<i>PTCH1</i>	ENSG00000185920	p.G38V	gGt/gTt	missense
9	130616621	<i>ENG</i>	ENSG00000106991	p.T5M	aCg/aTg	missense
10	43610119	<i>RET</i>	ENSG00000165731	p.G691S; p.G437S	Ggt/Agt	missense
11	35229673	<i>CD44</i>	ENSG00000026508	p.I436T; p.I230T; p.I479T	aTa/aCa	missense
11	67258391	<i>AIP</i>	ENSG00000110711	p.Q307R	cGg/cAg	missense
11	108183167	<i>C11orf65; ATM</i>	ENSG00000166323	p.N1983S	aGt/aAt	missense
11	118939939	<i>VPS11; AP003392.6</i>	ENSG00000160695	p.Y65fs*868; p.Y75fs*868		frameshift
11	118940957	<i>VPS11</i>	ENSG00000160695	p.A162G; p.A152G	gCc/gTc	missense
11	118949331	<i>VPS11</i>	ENSG00000160695	p.A650V; p.A660V	gCv/gTt	missense
11	124267148	<i>OR8B3</i>	ENSG00000284609	p.V34I	Gtc/Atc	missense
12	40619082	<i>AC079630.1; LRRK2</i>	ENSG00000188906	p.R50H	cGc/cAc	missense
12	52639302	<i>KRT7; KRT7-AS</i>	ENSG00000135480	p.G364A	gGc/gCc	missense
12	54797042	<i>AC079313.2; AC079313.1; ITGA5</i>	ENSG00000161638	p.Q615K	Caa/Aaa	missense
12	121600253	<i>P2RX7</i>	ENSG00000089041	p.Y155H	Tat/Cat	missense
12	121605355	<i>P2RX7</i>	ENSG00000089041	p.R270H	cGt/cAt	missense
12	121615103	<i>P2RX7</i>	ENSG00000089041	p.A348T	Gct/Act	missense
12	121622520	<i>P2RX7</i>	ENSG00000089041	p.N568I	aAc/aTc	missense
13	25021245	<i>TPTE2P6; PARP4</i>	ENSG00000205822	p.V1065A	gTg/gCg	missense
13	25068808	<i>TPTE2P6; PARP4</i>	ENSG00000205822	p.F215Y	tTt/tAt	missense
13	32929387	<i>BRCA2</i>	ENSG00000139618	p.V2466A	gTa/gCa	missense
13	103527849	<i>ERCC5; BIVM-ERCC5</i>	ENSG00000134899	p.G1278R; p.G1507R; p.G286R; p.G1053R	Gga/Cga	missense
13	103527930	<i>ERCC5; BIVM-ERCC5</i>	ENSG00000134899	p.G1534R; p.G1080Rp.G1305R; p.G313R	Gga/Cga	missense
14	94849061	<i>SERPINA1</i>	ENSG00000197249	p.G172W	Ggg/Tgg	missense
15	31294714	<i>TRPM1</i>	ENSG00000134160	p.E1397*; p.E1375*; p.E1414*	Gaa/Taa	nonsense: stop gain
15	31369123	<i>TRPM1</i>	ENSG00000134160	p.M1T; p.M40T; p.M23T	aTg/aCg	missense; start loss
16	2814950	<i>SRRM2</i>	ENSG00000167978	p.S1474F	tCt/tTt	missense
16	3645607	<i>SLX4</i>	ENSG00000188827	p.L671S	tTg/tCg	missense
16	3647692	<i>SLX4</i>	ENSG00000188827	p.N457K	aaT/aaG	missense
16	3656625	<i>SLX4</i>	ENSG00000188827	p.R204C	Cgc/Tgc	missense
16	10995933	<i>CIITA</i>	ENSG00000179583	p.R174G; p.R175G	Gga/Aga	missense
17	7579472	<i>TP53</i>	ENSG00000141510	p.P72R; p.P33R	cCc/cGc	missense
17	39684321	<i>KRT19</i>	ENSG00000171345	p.A60G	gCc/gGc	missense
17	41222975	<i>BRCA1</i>	ENSG00000012048	p.M548I; p.M1605I; p.M143I; p.M510I; p.M1673I; p.M1652I	atG/atA	missense

**Tabela suplementar 3: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
17	41244936	<i>BRCA1</i>	ENSG00000012048	p.P871L; p.P824L	cCg/cTg	<i>missense</i>
17	48712705	<i>ABCC3</i>	ENSG00000108846	p.G59R	Ggg/Agg	<i>missense</i>
17	48712711	<i>ABCC3</i>	ENSG00000108846	p.L61V	CTG/GTG	<i>missense</i>
19	37644370	<i>ZNF585A</i>	ENSG00000196967	p.Q144L; p.Q89L	cAg/cTg	<i>missense</i>
19	40421537	<i>FCGBP</i>	ENSG00000196967	p.P795L	cCt/cTt	<i>missense</i>
19	45912490	<i>CD3EAP; ERCC1</i>	ENSG00000117877	p.K430del; p.K428del		<i>in-frame</i>
20	10622501	<i>JAG1</i>	ENSG00000101384	p.P871R	cCa/cGa	<i>missense</i>
20	39797465	<i>PLCG1; MIR6871</i>	ENSG00000124181	p.I813T	aTc/aCc	<i>missense</i>
20	57428947	<i>GNAS</i>	ENSG00000087460	p.R147K; p.R146K	aGg/aAGg	<i>missense</i>
22	22842957	<i>ZNF280B</i>	ENSG00000275004	p.E256A	gAa/gCa	<i>missense</i>
22	45075738	<i>PRR5</i>	ENSG00000186654	p.M20T	aTg/aCg	<i>missense</i>

**Tabela suplementar 4:** Mutações de mudança da matriz de leitura (*frameshift*), sem sentido (*nonsense*), de sentido trocado (*missense*), e inserções ou deleções que não provocam alteração na matriz de leitura (*in-frame*) identificadas no indivíduo X.X da Família B pelo programa *Mendel*

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
1	94140375	BCAR3	ENSG00000137936	p.R38C	Cgc/Tgc	missense
1	1861581	Clorf222	ENSG00000142609	p.G352V	gGg/gTg	missense
1	220178617	EPRS	ENSG00000136628	p.L679T	aTa/aCa	missense
1	118165603	FAM46C	ENSG00000183508	p.R38Q	cGa/cAa	missense
1	152280736	FLG	ENSG00000143631	p.H2209R	cAt/cGt	missense
1	171168497	FMO2	ENSG00000094963	p.F166S	tTc/tCc	missense
1	117142700	IGSF3	ENSG00000143061	p.S651I	aGc/aTc	missense
1	117146585	IGSF3	ENSG00000143061	p.R449C	Cgc/Tgc	missense
1	117156459	IGSF3	ENSG00000143061	p.D254N	Gat/Aat	missense
1	117156585	IGSF3	ENSG00000143061	p.Q212*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
1	159898074	IGSF9	ENSG00000085552	p.R1035Q	cGg/cAg	missense
1	33237674	KIAA1522	ENSG00000162522	p.S965Y	tCc/tAc	missense
1	201286736	PKP1	ENSG00000081277	p.L295V	Ctc/Gtc	missense
1	16255754	SPEN	ENSG00000065526	p.P1007T	Cca/Aca	missense
1	206516261	SRGAP2	ENSG00000163486	p.R21W	Cgg/Tgg	missense
1	234599631	TARBP1	ENSG00000059588	p.Q451*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
1	212976085	TATDN3	ENSG00000203705	p.R101W	Cgg/Tgg	missense
1	85592353	WDR63	ENSG00000162643	p.I758L	Att/Ctt	missense
2	96610410	ANKRD36C	ENSG00000174501	p.N486Y	Aat/Tat	missense
2	21234674	APOB	ENSG00000084674	p.R1689H	cGc/cAc	missense
2	153575221	ARL6IP6	ENSG00000177917	p.Y28C	tAt/tGt	missense
2	30987041	CAPN13	ENSG00000162949	p.A219G	gCg/gGg	missense
2	44016824	DYNC2L1I	ENSG00000138036	p.D95A	gAc/gCc	missense
2	11761089	GREB1	ENSG00000196208	p.R1368Q	cGg/cAg	missense
2	241727475	KIF1A	ENSG00000130294	p.I119T	aTc/aCc	missense
2	228195473	MFF	ENSG00000168958	p.P57L	cCg/cTg	missense
2	152402457	NEB	ENSG00000183091	p.V6841G	gTg/gGg	missense
2	28772887	PLB1	ENSG00000163803	p.Y340C	tAt/tGt	missense
2	167094638	SCN9A	ENSG00000169432	p.N1257S	aAt/aGt	missense
2	88383996	SMYD1	ENSG00000115593	p.P100H	cCc/cAc	missense
2	120005612	STEAP3	ENSG00000115107	p.R294C	Cgc/Tgc	missense
2	108998301	SULT1C4	ENSG00000198075	p.R85*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
2	128474815	WDR33	ENSG00000136709	p.P928L	cCa/cTa	missense
2	31598325	XDH	ENSG00000158125	p.R508Q	cGg/cAg	missense
3	123019001	ADCY5	ENSG00000173175	p.D956N	Gac/Aac	missense
3	48681040	CELSR3	ENSG00000008300	p.N2751H	Aac/Cac	missense
3	196812562	DLG1	ENSG00000075711	p.F609C	tTt/tGt	missense
3	52476768	SEMA3G	ENSG00000010319	p.R91W	Cgg/Tgg	missense
3	75787770	ZNF717	ENSG00000227124	p.G335E	gGg/gAg	missense
3	75788028	ZNF717	ENSG00000227124	p.S249*	tCa/tGa	nonsense: stop gain
3	75786211	ZNF717	ENSG00000227124	p.S855P	Tca/Cca	missense

**Tabela suplementar 4: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
3	75786225	ZNF717	ENSG00000227124	p.T850I	aCt/aTt	missense
3	75786243	ZNF717	ENSG00000227124	p.C844Y	iGt/iAt	missense
3	75786244	ZNF717	ENSG00000227124	p.C844S	Tgt/AgT	missense
3	75786252	ZNF717	ENSG00000227124	p.P841H	cCc/cAc	missense
3	75786256	ZNF717	ENSG00000227124	p.K840*	Aaa/Taa	nonsense: stop gain
3	75786261	ZNF717	ENSG00000227124	p.G838E	gGg/gAg	missense
3	75786278	ZNF717	ENSG00000227124	p.H832Q	caT/caG	missense
3	75786288	ZNF717	ENSG00000227124	p.L829P	cTc/cCc	missense
3	75786298	ZNF717	ENSG00000227124	p.K826E	Aag/Gag	missense
3	75786337	ZNF717	ENSG00000227124	p.P813S	Cca/Tca	missense
3	75786501	ZNF717	ENSG00000227124	p.Y758F	tAt/tTt	missense
3	75786516	ZNF717	ENSG00000227124	p.T753N	aCc/aAc	missense
3	75786518	ZNF717	ENSG00000227124	p.H752Q	caT/caG	missense
3	75786827	ZNF717	ENSG00000227124	p.C649*	tgT/tgA	nonsense: stop gain
3	75786916	ZNF717	ENSG00000227124	p.E620*	Gaa/Taa	nonsense: stop gain
3	75786919	ZNF717	ENSG00000227124	p.Y619N	Tat/Aat	missense
3	75786991	ZNF717	ENSG00000227124	p.E595K	Gaa/Aaa	missense
3	75786993	ZNF717	ENSG00000227124	p.N594I	aAt/aTt	missense
3	75787015	ZNF717	ENSG00000227124	p.G587S	Ggc/Agc	missense
3	75787490	ZNF717	ENSG00000227124	p.C428*	tgT/tgA	nonsense: stop gain
3	75787620	ZNF717	ENSG00000227124	p.H385R	cAt/cGt	missense
3	75788432	ZNF717	ENSG00000227124	p.Q114H	caA/caT	missense
3	75788130	ZNF717	ENSG00000227124	p.G215V	gGg/gTg	missense
3	75787511	ZNF717	ENSG00000227124	p.K421N	aaG/aaT	missense
3	75787516	ZNF717	ENSG00000227124	p.E420Q	Gaa/Caa	missense
3	75787519	ZNF717	ENSG00000227124	p.G419W	Ggg/Tgg	missense
3	75787576	ZNF717	ENSG00000227124	p.C400R	Tgt/Cgt	missense
3	75787584	ZNF717	ENSG00000227124	p.C397F	tGt/tTt	missense
4	153874672	FHDC1	ENSG00000137460	p.R174W	Cgg/Tgg	missense
4	190862205	FRG1	ENSG00000109536	p.L14H	cTc/cAc	missense
4	190878563	FRG1	ENSG00000109536	p.A148D	gCt/gAt	missense
4	48542386	FRYL	ENSG00000075539	p.D2093E	gaT/gaG	missense
4	145041664	GYPA	ENSG00000170180	p.Y39D	Tac/Gac	missense
4	144801585	GYPE	ENSG00000197465	p.Y39D	Tac/Gac	missense
4	8293193	HTRA3	ENSG00000170801	p.V269M	Gtg/Atg	missense
4	4190595	OTOPI	ENSG00000163982	p.P592A	Cct/Gct	missense
4	4190576	OTOPI	ENSG00000163982	p.R598P	cGa/cCa	missense
4	4190577	OTOPI	ENSG00000163982	p.R598G	Cga/Gga	missense
4	20715142	PACRGL	ENSG00000163138	p.L197V	Ctg/Gtg	missense
4	169433157	PALLD	ENSG00000129116	p.L168V	Ctg/Gtg	missense
4	95578650	PDLIM5	ENSG00000163110	p.R542W	Cgg/Tgg	missense
4	104640337	TACC2	ENSG00000169836	p.I166L	Atc/Ctc	missense
5	178581161	ADAMTS2	ENSG00000087116	p.R424H	cGc/cAc	missense



**Tabela suplementar 4: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
5	55471984	ANKRD55	ENSG00000164512	p.Y103N	Tac/Aac	missense
5	39341303	C9	ENSG00000113600	p.P141T	Ccc/Acc	missense
5	10992686	CTNND2	ENSG00000169862	p.R1063H	cGc/cAc	missense
5	176931871	DOK3	ENSG00000146094	p.R229H	cGc/cAc	missense
5	61779923	IP011	ENSG00000086200	p.V410L	Gtc/Ctc	missense
5	1243727	SLC6A18	ENSG00000164363	p.P397T	Ccg/Acg	missense
5	157053610	SOX30	ENSG00000039600	p.N667S	aAt/aGt	missense
5	123979994	ZNF608	ENSG00000168916	p.D1356N	Gac/Aac	missense
6	32729613	HLA-DQB2	ENSG00000232629	p.E63G	gAg/gGg	missense
6	32497910	HLA-DRB5	ENSG00000198502	p.D31G	gAc/gGc	missense
6	32497913	HLA-DRB5	ENSG00000198502	p.G30V	gGg/gTg	missense
6	111587310	KIAA1919	ENSG00000173214	p.L182*	tTa/tAa	nonsense: stop gain
6	39328259	KIF6	ENSG00000164627	p.E665G	gAg/gGg	missense
6	31681586	LY6G6E	ENSG00000255552	p.G2S	Ggc/Agc	missense
6	138893045	NHSL1	ENSG00000135540	p.K2E	Aaa/Gaa	missense
6	154411211	OPRM1	ENSG00000112038	p.R274C	Cgt/Tgt	missense
6	32803106	TAP2	ENSG00000204267	p.T257I	aCc/aTc	missense
6	41011370	TSPO2	ENSG00000112212	p.Y83C	tAt/tGt	missense
6	31762990	VARS	ENSG00000204394	p.S2C	tCc/tGc	missense
6	133078886	VNN2	ENSG00000112303	p.S46F	tCt/tTt	missense
7	102417753	FAM185A	ENSG00000222011	p.Y297D	Tat/Gat	missense
7	100552738	MUC3A	ENSG00000169894	p.Q497*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
7	6803602	RSPH10B2	ENSG00000169402	p.T148M	aCg/aTg	missense
7	100170596	SAP25	ENSG00000205307	p.T35M	aCg/aTg	missense
7	12683937	SCIN	ENSG00000006747	p.P586A	Cca/Gca	missense
7	142247271	TRBV7-3	ENSG00000211714	p.P62L	cCa/cTa	missense
7	142247380	TRBV7-3	ENSG00000211714	p.T26S	Acc/Tcc	missense
7	76144456	UPK3B	ENSG00000243566	p.R284K	aGa/aAa	missense
8	22475050	CCAR2	ENSG00000158941	p.L655V	Ctg/Gtg	missense
8	61748826	CHD7	ENSG00000171316	p.Y1325H	Tac/Cac	missense
8	7698610	DEFB104A	ENSG00000176782	p.R38Q	cGg/cAg	missense
8	101724606	PABPC1	ENSG00000070756	p.T319I	aCa/aTa	missense
8	101721817	PABPC1	ENSG00000070756	p.E372G	gAa/gGa	missense
8	101721839	PABPC1	ENSG00000070756	p.V365L	Gta/Tta	missense
8	101721812	PABPC1	ENSG00000070756	p.R374C	Cgc/Tgc	missense
8	101721899	PABPC1	ENSG00000070756	p.E345*	Gaa/Taa	nonsense: stop gain
9	135117355	NTNG2	ENSG00000196358	p.V490M	Gtg/Atg	missense
9	125551226	ORS1	ENSG00000148215	p.N5K	aaC/aaG	missense
9	33797951	PRSS3	ENSG00000010438	p.M166L	Atg/Ctg	missense
9	2645067	VLDLR	ENSG00000147852	p.V433M	Gtg/Atg	missense
10	61029710	FAM13C	ENSG00000148541	p.N272S	aAc/aGc	missense
10	15106413	OLAH	ENSG00000152463	p.Y158C	tAc/tGc	missense
10	55780062	PCDH15	ENSG00000150275	p.D881Y	Gat/Tat	missense

**Tabela suplementar 4:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
10	103899047	<i>PPRC1</i>	ENSG00000148840	p.A261V	gCc/gTc	missense
10	29779847	<i>SVIL</i>	ENSG00000197321	p.L1374R	cTc/cGc	missense
10	123844974	<i>TACC2</i>	ENSG00000138162	p.G987R	Ggg/Cgg	missense
11	46637660	<i>HARB1</i>	ENSG00000180423	p.R43Q	cGg/cAg	missense
11	31484817	<i>IMMP1L</i>	ENSG00000148950	p.R3C	Cgt/Tgt	missense
11	1017316	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.P1829T	Cca/Aca	missense
11	1017363	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.G1813A	gGt/gCt	missense
11	1017152	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.I1883M	atC/atG	missense
11	1016910	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.T1964I	aCa/aTa	missense
11	1016890	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.P1971S	Cca/Tca	missense
11	1017069	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.T1911M	aCg/aTg	missense
11	1017041	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.Y1920*	taC/taA	nonsense: stop gain
11	1017036	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.T1922I	aCt/aTt	missense
11	1016957	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.R1948S	agA/agC	missense
11	19961224	<i>NAV2</i>	ENSG00000166833	p.E707A	gAa/gCa	missense
11	6942921	<i>OR2D3</i>	ENSG00000178358	p.I230T	aTt/aCt	missense
11	48347014	<i>OR4C3</i>	ENSG00000176547	p.W174*	tgG/tgA	nonsense: stop gain
11	48347067	<i>OR4C3</i>	ENSG00000176547	p.P192L	cCc/cTc	missense
11	48387206	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.Y271C	tAc/tGc	missense
11	48387978	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.K14*	Aaa/Taa	nonsense: stop gain
11	48387335	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.C228F	tGt/tTt	missense
11	48387107	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.N304S	aAc/aGc	missense
11	48387201	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.R273*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
11	48387164	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.S285F	tCt/tTt	missense
11	48387098	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.V307G	gTg/gGg	missense
11	5410769	<i>OR51M1</i>	ENSG00000184698	p.Y47*	taC/taG	nonsense: stop gain
11	56468699	<i>OR9G1</i>	ENSG00000174914	p.V279E	gTg/gAg	missense
11	7716825	<i>OVCH2</i>	ENSG00000183378	p.A424T	Gct/Act	missense
11	118498729	<i>PHLDB1</i>	ENSG0000019144	p.T397R	aCa/aGa	missense
11	62038540	<i>SCGB2A2</i>	ENSG00000110484	p.M81I	atG/atA	missense
11	62984850	<i>SLC22A25</i>	ENSG00000196600	p.R256*	Cga/Tga	stop_gained
11	1857480	<i>SYT8</i>	ENSG00000149043	p.L175R	cTc/cGc	missense
12	88483048	<i>CEP290</i>	ENSG00000198707	p.R1266C	Cgc/Tgc	missense
12	64061882	<i>DPY19L2</i>	ENSG00000177990	p.E98*	Gaa/Taa	nonsense: stop gain
12	10588530	<i>KLRC2</i>	ENSG00000205809	p.R19P	cGg/cCg	missense
12	53097083	<i>KRT77</i>	ENSG00000189182	p.G46C	Ggt/Tgt	missense
12	57922164	<i>MBD6</i>	ENSG00000166987	p.G881R	Ggc/Cgc	missense
12	56626573	<i>SLC39A5</i>	ENSG00000139540	p.R130C	Cgt/Tgt	missense
12	109523509	<i>USP30</i>	ENSG00000135093	p.V443I	Gtc/Atc	missense
14	96730361	<i>BDKRB1</i>	ENSG00000100739	p.N114K	aaC/aaG	missense
14	56108429	<i>KTNI</i>	ENSG00000126777	p.K708I	aAa/aTa	missense
14	68191206	<i>RDH12</i>	ENSG00000139988	p.G29R	Gga/Aga	missense
14	94849061	<i>SERPINA1</i>	ENSG00000197249	p.G172W	Ggg/Tgg	missense

**Tabela suplementar 4:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
14	102918926	<i>TECPR2</i>	ENSG00000196663	p.T1201M	aCg/dTg	<i>missense</i>
14	68229060	<i>ZFYVE26</i>	ENSG00000072121	p.G2077R	Ggg/Agg	<i>missense</i>
15	43643979	<i>ADAL</i>	ENSG00000168803	p.L302I	Ctt/Att	<i>missense</i>
15	86687049	<i>AGBL1</i>	ENSG00000166748	p.R33W	Cgg/Tgg	<i>missense</i>
15	52404510	<i>BCL2L10</i>	ENSG00000137875	p.C138W	tgC/AgG	<i>missense</i>
15	49284874	<i>SECISBP2L</i>	ENSG00000138593	p.S958N	aGt/aAt	<i>missense</i>
15	74178447	<i>TBC1D21</i>	ENSG00000167139	p.V203A	gTg/gCg	<i>missense</i>
16	20471508	<i>ACSM2A</i>	ENSG00000183747	p.Y24*	taC/taG	<i>nonsense: stop gain</i>
16	71884820	<i>ATXNIL</i>	ENSG00000224470	p.R393C	Cgt/Tgt	<i>missense</i>
16	30904197	<i>BCL7C</i>	ENSG00000099385	p.R81*	Cga/Tga	<i>nonsense: stop gain</i>
16	70993639	<i>HYDIN</i>	ENSG00000157423	p.R2018H	cGc/cAc	<i>missense</i>
16	3614480	<i>NLRC3</i>	ENSG00000167984	p.T200I	aCc/aTc	<i>missense</i>
16	31087659	<i>ZNF646</i>	ENSG00000167395	p.P5H	cCc/cAc	<i>missense</i>
17	45258942	<i>CDC27</i>	ENSG00000004897	p.R30H	cGc/cAc	<i>missense</i>
17	45258960	<i>CDC27</i>	ENSG00000004897	p.A24G	gCg/gGg	<i>missense</i>
17	45214558	<i>CDC27</i>	ENSG00000004897	p.R631*	Cga/Tga	<i>nonsense: stop gain</i>
17	55957058	<i>CUEDC1</i>	ENSG00000180891	p.E126D	gaG/gaC	<i>missense</i>
17	21319786	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.E378K	Gag/Aag	<i>missense</i>
17	21319436	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.R261H	cGc/cAc	<i>missense</i>
17	21319087	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.G145S	Ggc/Agc	<i>missense</i>
17	21319439	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.I262S	aTc/aGc	<i>missense</i>
17	21319069	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.E139K	Gag/Aag	<i>missense</i>
17	43012248	<i>KIF18B</i>	ENSG00000186185	p.R176H	cGc/cAc	<i>missense</i>
17	8701222	<i>MFSD6L</i>	ENSG00000185156	p.S406L	tCg/tTg	<i>missense</i>
17	10212961	<i>MYH13</i>	ENSG00000006788	p.A1615S	Gcc/Tcc	<i>missense</i>
17	10350503	<i>MYH4</i>	ENSG00000264424	p.R1666G	Aga/Gga	<i>missense</i>
17	3975970	<i>ZZEF1</i>	ENSG00000074755	p.H1256Y	Cat/Tat	<i>missense</i>
18	56247025	<i>ALPK2</i>	ENSG00000198796	p.E328G	gAg/gGg	<i>missense</i>
19	49967718	<i>ALDH16A1</i>	ENSG00000161618	p.D459V	gAc/gTc	<i>missense</i>
19	1796869	<i>ATP8B3</i>	ENSG00000130270	p.Y532D	Tac/Gac	<i>missense</i>
19	47823549	<i>CSAR1</i>	ENSG00000197405	p.F172Y	tTc/tAc	<i>missense</i>
19	40376675	<i>FCGBP</i>	ENSG00000090920	p.A3916V	gCg/gTg	<i>missense</i>
19	9002597	<i>MUC16</i>	ENSG00000181143	p.D13407N	Gac/Aac	<i>missense</i>
19	16884009	<i>NWD1</i>	ENSG00000188039	p.G828A	gGa/gCa	<i>missense</i>
19	39908657	<i>PLEKHG2</i>	ENSG00000090924	p.G332V	gGg/gTg	<i>missense</i>
19	33281952	<i>TDRD12</i>	ENSG00000173809	p.P422L	cCg/cTg	<i>missense</i>
19	57838058	<i>ZNF543</i>	ENSG00000178229	p.W68*	tGg/tAg	<i>nonsense: stop gain</i>
19	53270257	<i>ZNF600</i>	ENSG00000189190	p.C251Y	tGt/tAt	<i>missense</i>
20	29632660	<i>FRG1B</i>	ENSG00000149531	p.E159*	Gag/Tag	<i>nonsense: stop gain</i>
20	16553877	<i>KIF16B</i>	ENSG00000089177	p.R15H	cGc/cAc	<i>missense</i>
20	60895806	<i>LAMA5</i>	ENSG00000130702	p.A2213T	Gct/Act	<i>missense</i>
21	46011315	<i>KRTAP10-6</i>	ENSG00000188155	p.R351C	Cgc/Tgc	<i>missense</i>
21	43955644	<i>SLC37A1</i>	ENSG00000160190	p.V112M	Gtg/Atg	<i>missense</i>

**Tabela suplementar 4: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
22	42523558	<i>CYP2D6</i>	ENSG00000100197	p.Y355C	tAc/tGc	<i>missense</i>
22	32302299	<i>DEPDC5</i>	ENSG00000100150	p.R1534Q	cGg/cAg	<i>missense</i>
22	42457056	<i>NAGA</i>	ENSG00000198951	p.E325K	Gaa/Aaa	<i>missense</i>
22	24579157	<i>SUSD2</i>	ENSG00000099994	p.G70V	gGa/gTa	<i>missense</i>
X	2835863	<i>ARSD</i>	ENSG00000006756	p.A282D	gCt/gAt	<i>missense</i>
X	2833638	<i>ARSD</i>	ENSG00000006756	p.G320D	gGc/gAc	<i>missense</i>
X	2836184	<i>ARSD</i>	ENSG00000006756	p.G175D	gGc/gAc	<i>missense</i>
X	2836211	<i>ARSD</i>	ENSG00000006756	p.L166Q	cTg/cAg	<i>missense</i>
X	2833605	<i>ARSD</i>	ENSG00000006756	p.W331*	tGg/tAg	<i>nonsense: stop gain</i>
X	55185656	<i>FAM104B</i>	ENSG00000182518	p.R9I	aGa/aTa	<i>missense</i>
X	55172630	<i>FAM104B</i>	ENSG00000182518	p.Q80*	Cag/Tag	<i>nonsense: stop gain</i>

**Tabela suplementar 5:** Mutações de mudança da matriz de leitura (*frameshift*), sem sentido (*nonsense*), de sentido trocado (*missense*), e inserções ou deleções que não provocam alteração na matriz de leitura (*in-frame*) identificadas no indivíduo X.X da Família C pelo programa *Ingenuity Variant Analysis*<sup>TM</sup>

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
1	7995096	<i>TNFRSF9</i>	ENSG00000049249	p.P174L	cCg/cTg	<i>missense</i>
1	22163463	<i>HSPG2</i>	ENSG00000142798	p.A3397V; p.A3396V	gCa/gTa	<i>missense</i>
1	36752697	<i>THRAP3</i>	ENSG00000054118	p.S289N	Gac/Aac	<i>missense</i>
1	89322983	<i>GTF2B</i>	ENSG00000137947	p.E241D	gaA/gaT	<i>missense</i>
1	101198111	<i>VCAM1</i>	ENSG00000162692	p.L493V; p.L463V; p.L555V	Cta/Gta	<i>missense</i>
1	109811735	<i>CELSR2</i>	ENSG00000143126	p.T2212M	aCg/aTg	<i>missense</i>
1	111783982	<i>CH3L2</i>	ENSG00000064886	p.R308W; p.R239W; p.R318W	Cgg/Tgg	<i>missense</i>
1	1425753	<i>ATAD3B</i>	ENSG00000160072	p.V485A; p.V439A	gTg/gCg	<i>missense</i>
1	144952255	<i>PDE4DIP</i>	ENSG00000178104	p.P221R; p.P155R; p.P123R; p.P158R; p.P292R	cCa/cGa	<i>missense</i>
1	161518214	<i>FCGR3A/FCGR3B</i>	ENSG00000203747	p.I211V; p.I210V; p.I106V; p.I105V	Atc/Gtc	<i>missense</i>
1	161518336	<i>FCGR3A/FCGR3B</i>	ENSG00000203747	p.S170N; p.S169N; p.S64N; p.S65N	aGc/aAc	<i>missense</i>
1	169768080	<i>Clorf112</i>	ENSG00000000460	p.D44E	gaC/gaA	<i>missense</i>
1	214813392	<i>CENPF</i>	ENSG00000117724	p.Q571E	Cag/Gag	<i>missense</i>
1	1647893	<i>CDK11A</i>	ENSG00000008128	p.K115_E116dup; p.K125_E126dup	C/CTTCTT	<i>in-frame</i>
1	1650797	<i>CDK11A</i>	ENSG00000008128	p.W109R; p.C109R	Tgg/Cgg	<i>missense</i>
1	184702008	<i>EDEM3</i>	ENSG00000116406	p.P192L	cCg/cTg	<i>missense</i>
1	184863330	<i>FAM129A</i>	ENSG00000135842	p.A66V	gCg/gTg	<i>missense</i>
1	11721281	<i>FBXO44</i>	ENSG00000132879	p.G240D	Ggt/gAt	<i>missense</i>
1	22202483	<i>HSPG2</i>	ENSG00000142798	p.P1019L; p.P1020L	cCg/cTg	<i>missense</i>
1	152681680	<i>LCE4A</i>	ENSG00000187170	p.C48_G49insCSSGGC	C/CAGCTCTGGGGGCTGCTGT	<i>in-frame</i>
1	145281408	<i>LOC100996763/NOTCH2 NL</i>	ENSG00000264343	p.P113L	cCc/cTc	<i>missense</i>
1	145281543	<i>LOC100996763/NOTCH2 NL</i>	ENSG00000264343	p.T158I	aCc/aTc	<i>missense</i>
1	145281633	<i>LOC100996763/NOTCH2 NL</i>	ENSG00000264343	p.P188H	cCc/cAc	<i>missense</i>
1	228444565	<i>OBSCN</i>	ENSG00000154358	p.V1600D; p.V1508D	gTc/gAc	<i>missense</i>
1	144865850	<i>PDE4DIP</i>	ENSG00000178104	p.D1910E; p.D1976E; p.D1804E; p.D1803E; p.D2072E; p.D2047E	gaC/gaA	<i>missense</i>
1	144866643	<i>PDE4DIP</i>	ENSG00000178104	p.R1867C; p.R2004C; p.R1933C; p.R1760C; p.R2029C; p.R1761C	Cgc/Tgc	<i>missense</i>
1	144918957	<i>PDE4DIP</i>	ENSG00000178104	p.E573V; p.E476V; p.E410V; p.E547V	gAa/gTa	<i>missense</i>
1	144931461	<i>PDE4DIP</i>	ENSG00000178104	p.L83Q	gAa/gTa	<i>missense</i>
1	144994658	<i>PDE4DIP</i>	ENSG00000178104	p.R162L; p.R25L; p.R91L; p.R28L	cGc/cTc	<i>missense</i>
1	145075683	<i>PDE4DIP</i>	ENSG00000178104	p.W60*		<i>nonsense: stop gain</i>
1	207242808	<i>PFKFB2</i>	ENSG00000123836	p.R343W	Cgg/Tgg	<i>missense</i>
1	6528318	<i>PLEKHG5</i>	ENSG00000171680	p.R929C; p.R860C; p.R937C; p.R916C; p.R939C	Cgc/Tgc	<i>missense</i>
1	203008174	<i>PPFIA4</i>	ENSG00000143847	p.R13P	cGc/cCc	<i>missense</i>
1	14106394	<i>PRDM2</i>	ENSG00000116731	p.P502dup; p.P703dup	A/ACTC	<i>in-frame</i>
2	26414216	<i>HADHA</i>	ENSG00000084754	p.R732Q	cGg/cAg	<i>missense</i>
2	26678082	<i>DRC1</i>	ENSG00000157856	p.Q716P	cAg/cCg	<i>missense</i>
2	37471114	<i>NDUFA7</i>	ENSG00000003509	p.Q166K; p.Q264K; p.Q237K; p.Q193K	Caa/Aaa	<i>missense</i>
2	43452755	<i>LINC01126; ZFP36L2</i>	ENSG00000152518	p.A63V	gCa/gTa	<i>missense</i>
2	71740897	<i>DYSF</i>	ENSG00000135636	p.A202E; p.A201E; p.A170E; p.A171E	gCg/gAg	<i>missense</i>

**Tabela suplementar 5: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	tipo de mutação
2	133402949	<i>LYPD1; GPR39</i>	ENSG00000183840	p.A378T	Gcg/Acg	missense
2	219754822	<i>WNT10A</i>	ENSG00000135925	p.G165R	Ggg/Agg	missense
2	129075877	<i>HS6ST1</i>	ENSG00000136720	p.D87E	gaC/gaA	missense
2	173337618	<i>ITGA6</i>	ENSG00000091409	p.G140S	Ggt/Agt	missense
2	223559987	<i>MOGAT1</i>	ENSG00000124003	p.A280fs*16	aGg/ag	frameshift
2	219611871	<i>TTLA</i>	ENSG00000135912	p.R707H	cGc/cAc	missense
2	179414162	<i>TTN</i>	ENSG00000155657	p.I29090V; p.I21858V; p.I21666V; p.I30731V; p.I21791V; p.I28163V	Ata/Gta	missense
3	183908978	<i>ABCF3</i>	ENSG00000161204	p.D502H	Gat/Cat	missense
3	56650054	<i>CCDC66</i>	ENSG00000180376	p.S606_K607insP; p.S572_K573insP	T/TCTC	in-frame
3	48463799	<i>PLXNB1</i>	ENSG00000164050	p.S454R	Agc/Cgc	missense
3	93611868	<i>PROS1</i>	ENSG00000184500	p.R355H; p.R387H	cGt/cAt	missense
3	184552487	<i>VPS8</i>	ENSG00000156931	p.H135R	cAc/cGc	missense
3	58145348	<i>FLNB</i>	ENSG00000136068	p.I2295T; p.I2350T; p.I2308T; p.I2319T	aTt/aCt	missense
3	38050886	<i>PLCD1</i>	ENSG00000187091	p.M516fs*53; p.M495fs*53	Atg/tg	frameshift
3	113187648	<i>SPICE1</i>	ENSG00000163611	p.V298M; p.V284M	Gtg/Atg	missense
3	101395629	<i>ZBTB11-AS1; ZBTB11</i>	ENSG00000066422	p.G44S	Ggc/AGC	missense
3	88189580	<i>ZNF654; CGGBP1</i>	ENSG00000163320	p.S709A; p.S808A; p.S921A; p.S647A	Tct/Gct	missense
4	79507417	<i>ANXA3</i>	ENSG00000138772	p.A106T	Gcg/Acg	missense
4	104061059	<i>CENPE</i>	ENSG00000138778	p.L2031F	Ctt/Ttt	missense
4	129809905	<i>SCLT1</i>	ENSG00000151466	p.Q645E	Caa/Gaa	missense
4	166159933	<i>KLHL2</i>	ENSG00000109466	p.E92G; p.E88G	gAg/gGg	missense
5	77425028	<i>AP3B1</i>	ENSG00000132842	p.V536E; p.V585E	gTa/gAa	missense
5	71492691	<i>MAP1B</i>	ENSG00000131711	p.Y1170C; p.Y1044C	tAc/tGc	missense
5	74652199	<i>HMGCR</i>	ENSG00000113161	p.I638V; p.I585V	Ata/Gta	missense
5	96341912	<i>LNPEP</i>	ENSG00000113441	p.P627S; p.P641S	Cct/Tct	missense
5	133561540	<i>PPP2CA</i>	ENSG00000113575	p.V5L	Gta/Cta	missense
5	133901939	<i>JADE2</i>	ENSG00000043143	p.G384V; p.G368V	gGc/gTc	missense
5	139931629	<i>SRA1</i>	ENSG00000213523	p.V110L	Gtg/Ctg	missense
5	156929816	<i>ADAM19</i>	ENSG00000135074	p.E435K	Gaa/Aaa	missense
5	176759170	<i>LMAN2</i>	ENSG00000169223	p.A330T	Gct/Act	missense
5	156479568	<i>HAVCR1</i>	ENSG00000113249	p.T160dup	C/CGTT	in-frame
5	156514189	<i>HAVCR2</i>	ENSG00000135077	p.P277L	cCc/eTc	missense
5	122365083	<i>PPIC</i>	ENSG00000168938	p.D50fs*6	Gat/at	frameshift
5	149360877	<i>SLC26A2</i>	ENSG00000155850	p.I574T	aTt/aCt	missense
5	139931628	<i>SRA1</i>	ENSG00000213523	p.V110delinsGL		in-frame
5	167858371	<i>WWC1</i>	ENSG00000113645	p.M734I	atG/atT	missense
6	136599822	<i>BCLAF1</i>	ENSG00000029363	p.G66A; p.G64A	gGa/gCAa	missense
6	30675997	<i>MDC1</i>	ENSG00000137337	p.G787R	Gga/Agg	missense
6	136589425	<i>BCLAF1</i>	ENSG00000029363	p.P758T; p.P585T; p.P756T	Cct/Act	missense
6	136590698	<i>BCLAF1</i>	ENSG00000029363	p.R697H; p.R526H; p.R699H	cGc/cAc	missense
6	136599489	<i>BCLAF1</i>	ENSG00000029363	p.S175N; p.S177N	aGt/aAt	missense
6	12122700	<i>HIVEP1</i>	ENSG00000095951	p.G891E	gGg/gAg	missense

**Tabela suplementar 5: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	tipo de mutação
6	29910717	<i>HLA-A</i>	ENSG00000206503	p.Q86R	cAg/cGg	missense
6	31238957	<i>HLA-C</i>	ENSG00000204525	p.L171W	tTg/tGg	missense
6	31239378	<i>HLA-C</i>	ENSG00000204525	p.D114A	gAc/gCc	missense
6	31239430	<i>HLA-C</i>	ENSG00000204525	p.A97T	Gct/Act	missense
6	31379817	<i>MICA</i>	ENSG00000204520	p.I139T; p.I236T; p.I98T	aTa/aCa	missense
6	154428666	<i>OPRM1</i>	ENSG00000112038	p.Q411*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
6	31731303	<i>SAPCD1; MSH5-SAPCD1</i>	ENSG00000228727	p.Q76*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
7	42005588	<i>GLI3</i>	ENSG00000106571	p.S1028I	aGc/aTc	missense
7	883107	<i>SUN1</i>	ENSG00000164828	p.A203V; p.A224V; p.A153V	gCg/gTg	missense
7	151945007	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.G838S	Ggt/Agt	missense
7	151945204	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.S772L	tCa/tTa	missense
7	151945256	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.Q755*	Caa/Taa	nonsense: stop gain
7	151970856	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.T316S	Acc/Tcc	missense
7	142983834	<i>LOC105375545; TMEM139; CASP2</i>	ENSG00000106144	p.P188L	Acc/TCcc	missense
7	100205706	<i>PCOLCE</i>	ENSG00000106333	p.A444P	Gct/Cct	missense
7	121653375	<i>PTPRZ1</i>	ENSG00000106278	p.D1431del	GGTGAT/GGT	in-frame
8	21767265	<i>DOK2</i>	ENSG00000147443	p.R112W; p.R266W	Cgg/Tgg	missense
8	10467589	<i>RP1L1</i>	ENSG00000183638	p.E1340G	gAa/gGa	missense
8	17541943	<i>MTUS1</i>	ENSG00000129422	p.K857T; p.K911T; p.K158T; p.K77T; p.K56T	GAA/GGA	missense
8	38162945	<i>NSD3</i>	ENSG00000147548	p.S754L	tCg/tTg	missense
8	41530332	<i>ANK1</i>	ENSG00000029534	p.V1587I; p.V1546I	Gtc/Atc	missense
8	17612931	<i>MTUS1</i>	ENSG00000129422	p.G129D	gGc/gAc	missense
8	81399567	<i>ZBTB10</i>	ENSG00000205189	p.M174I	atG/atA	missense
9	140777306	<i>CACNA1B; LOC100133077</i>	ENSG00000148408	p.N167K	aaC/aaA	missense
9	137716639	<i>COL5A1</i>	ENSG00000130635	p.T1631K	aCg/aAg	missense
9	377041	<i>DOCK8</i>	ENSG00000107099	p.I689S; p.I757S	aGc/aTc	missense
9	19096763	<i>HAUS6</i>	ENSG00000147874	p.M45V	Atg/Gtg	missense
9	131671142	<i>LRRC8A</i>	ENSG00000136802	p.V567M	Gtg/Atg	missense
9	134351730	<i>PRRC2B</i>	ENSG00000130723	p.L1405R	cTg/cGg	missense
9	139935163	<i>NPDC1</i>	ENSG00000107281	p.G195S	Ggt/Agt	missense
9	33794809	<i>PRSS3</i>	ENSG0000010438	p.S7N	aGt/aAt	missense
9	33794812	<i>PRSS3</i>	ENSG0000010438	p.G8V	gGc/gTc	missense
9	33797891	<i>PRSS3</i>	ENSG0000010438	p.N89Y; p.N82Y; p.N146Y; p.N103Y	gGc/gTCc	missense
9	33798017	<i>PRSS3</i>	ENSG0000010438	p.A131T; p.A188T; p.A145T; p.A124T	Gcc/Acc	missense
10	97748040	<i>CC2D2B</i>	ENSG00000188649	p.V774I	Gtu/Att	missense
10	125780759	<i>CHST15</i>	ENSG00000182022	p.P454A	Ccc/Gcc	missense
10	69672479	<i>SIRT1</i>	ENSG00000096717	p.E536K; p.E233K; p.E241K	Gaa/Aaa	missense
10	81371637	<i>SFTPA1</i>	ENSG00000122852	p.V34A; p.V19A	gTg/gCg	missense
10	121429394	<i>BAG3</i>	ENSG00000151929	p.R71Q	cGg/cAg	missense
10	129911856	<i>MKI67</i>	ENSG00000148773	p.E497D; p.E137D	gaG/gaT	missense
10	29779847	<i>SVIL</i>	ENSG00000197321	p.L1374R; p.L948R; p.L1064R; p.L980R	cTc/cGc	missense

**Tabela suplementar 5: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	tipo de mutação
11	62292882	AHNAK	ENSG00000124942	p.Q3003K	Caa/Aaa	missense
11	125830970	CDON	ENSG00000064309	p.I1244N; p.I1221N	aTc/aAc	missense
11	47772545	FNBP4	ENSG00000109920	p.L279V; p.L277V	Ata/Gta	missense
11	560683	RASSF7; LMNTD2	ENSG00000185522	p.E12K	Gag/Aag	missense
11	67816463	TCIRG1	ENSG00000110719	p.V558L; p.V342L	Gtg/Ctg	missense
11	71184678	NADSYN1	ENSG00000172890	p.Q204H	caA/caC	missense
11	76813926	OMP; CAPN5	ENSG00000149260	p.P14L	cCg/cTg	missense
11	124267148	OR8B2/OR8B3	ENSG00000284609	p.V34I	Gtc/Atc	missense
11	60689534	TMEM109	ENSG00000110108	p.A210V	gCc/gTc	missense
11	118939939	VPS11	ENSG00000160695	p.L75fs*32; p.L65fs*32	T/TC	frameshift
12	9258857	A2M	ENSG00000175899	p.R360Q; p.R260Q; p.R210Q	cGa/cAa	missense
12	7080212	EMG1; PHB2	ENSG00000215021	p.R42S	agG/agC	missense
12	7080212	EMG1; PHB2	ENSG00000215021	p.R42S	agG/agC	missense
12	122296608	HPD	ENSG00000158104	p.S5R	agT/agG	missense
12	123892186	KMT5A	ENSG00000183955	p.L275P; p.L332P; p.L224P; p.L302P	cTc/cCc	missense
12	52912909	KRT5	ENSG00000186081	p.D197E	gaC/gaA	missense
12	15793657	EPS8	ENSG00000151491	p.P601S	Cct/Tct	missense
12	68051420	DYRK2	ENSG00000127334	p.H172N; p.H245N	Cac/Aac	missense
12	123879666	KMT5A	ENSG00000183955	p.K13R; p.K91R; p.K64R; p.K121R	aAa/aGa	missense
12	123879668	KMT5A	ENSG00000183955	p.G92R; p.G122R; p.G65R; p.G14R	Ggt/Cgt	missense
12	123892095	KMT5A	ENSG00000183955	p.C302R; p.C272R; p.C194R; p.C245R	Tgt/CGgt	missense
12	124824721	NCOR2	ENSG00000196498	p.S1827_G1829dup; p.S1837_G1839dup	-/AGCAGCG	in-frame
12	80899901	PTPRQ	ENSG00000139304	p.Q791K	Caa/Aaa	missense
13	48528684	SUCLA2	ENSG00000136143	p.M271V	Atg/Gtg	missense
13	49281897	CYSLTR2	ENSG00000152207	p.R315K	aGa/aAa	missense
13	110866346	COLAA1	ENSG00000187498	p.P54L	cCg/cTg	missense
14	23548787	ACIN1	ENSG00000100813	p.S603_R604insHS; p.S643_R644insHS	C/CGTGAAT	in-frame
14	55604883	LGALS3	ENSG00000131981	p.G47R	Ggg/Agg	missense
14	74970041	LTBP2	ENSG00000119681	p.V1590A	gTc/gCc	missense
14	61924239	PRKCH	ENSG00000027075	p.V374I	Gta/Ata	missense
14	75277068	YLPM1	ENSG00000119596	p.V1725I	Gtt/Att	missense
15	59981515	BNIP2	ENSG00000140299	p.V42A	gTg/gCg	missense
15	41797721	LTK	ENSG00000062524	p.R439S; p.R569S; p.R508S	Cgc/Agc	missense
15	33445438	FMN1	ENSG00000248905	p.R560C	Cgt/Tgt	missense
15	33446160	FMN1	ENSG00000248905	p.R319Q	cGg/cAg	missense
15	41339697	INO80	ENSG00000128908	p.I882V	Att/Gtt	missense
15	43818926	MAP1A	ENSG00000166963	p.A1752V	gCc/gTc	missense
15	41865525	TYRO3	ENSG00000092445	p.V669L; p.V624L	Gtg/Ttg	missense
16	83214559	CDH13	ENSG00000140945	p.I190V	Ata/Gta	missense
16	89713096	CHMP1A	ENSG00000131165	p.H130Y	Tac/Cac	missense
16	2160312	PKD1	ENSG00000008710	p.S1619F	tCc/tTc	missense
16	11785220	TXNDC11	ENSG00000153066	p.A609V; p.A157V; p.A636V; p.A395V	gCg/gTg	missense
17	45214519	CDC27	ENSG00000004897	p.W644R; p.W638R; p.W637R; p.W577R	Tgg/Cgg	missense



**Tabela suplementar 5: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	tipo de mutação
17	45214527	<i>CDC27</i>	ENSG00000004897	p.Y574C; p.Y641C; p.Y635C; p.Y634C	tAt/Gt	missense
17	45214558	<i>CDC27</i>	ENSG00000004897	p.R625*; p.R624*; p.R564*; p.R631*	Cga/Tga	nonsense: stop gain
17	39974511	<i>FKBP10</i>	ENSG00000141756	p.G188S	Ggc/Agc	missense
17	21318867	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.M71I	atG/ata	missense
17	21319069	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.E139K	Gag/Aag	missense
17	21319087	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.G145S	Ggc/Agc	missense
17	21319121	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.P156L	cCg/cTg	missense
17	21319439	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.I262S	aTc/aGc	missense
17	21204210	<i>MAP2K3</i>	ENSG00000034152	p.Q73*; p.Q102*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
17	21207774	<i>MAP2K3</i>	ENSG00000034152	p.G173D; p.G202D	gAt/gGt	missense
17	21217513	<i>MAP2K3</i>	ENSG00000034152	p.V339M; p.V310M	Gtg/Atg	missense
17	3599205	<i>P2RX5; P2RX5-TAX1BP3</i>	ENSG00000083454	p.L32Q	cTg/cAg	missense
17	5289554	<i>NUP88; RABEP1</i>	ENSG00000029725	p.N733S; p.N749S	aAt/aGt	missense
17	7750903	<i>KDM6B</i>	ENSG00000132510	p.S433P	Tct/Cct	missense
17	40477064	<i>STAT3</i>	ENSG00000168610	p.V461L	Gtt/Ctt	missense
17	45214564	<i>CDC27</i>	ENSG00000004897	p.C622S; p.C629S; p.C623S; p.C562S	Tgt/Agt	missense
17	45904444	<i>MRPL10</i>	ENSG00000159111	p.R127W; p.R117W	Cgg/Tgg	missense
17	55183195	<i>AKAP1</i>	ENSG00000121057	p.R124C	Cgc/Tgc	missense
17	80684784	<i>FN3KRP</i>	ENSG00000141560	p.V223I	Gta/Ata	missense
17	71377042	<i>SDK2</i>	ENSG00000069188	p.E1585K	Gag/Aag	missense
17	74383108	<i>SPHK1</i>	ENSG00000176170	p.R199fs*17; p.R213fs*17; p.R285fs*17	cGt/ct	frameshift
17	5036205	<i>USP6</i>	ENSG00000129204	p.K66Q	Aaa/Caa	missense
18	13001512	<i>CEP192</i>	ENSG00000101639	p.G74A	gGg/gCg	missense
18	50683852	<i>DCC</i>	ENSG00000187323	p.T463M	aCg/aTg	missense
18	6949162	<i>LAMA1</i>	ENSG00000101680	p.V2832L	Gtc/Ctc	missense
18	9258088	<i>ANKRD12</i>	ENSG00000101745	p.K1585R; p.K1608R	aAa/aGa	missense
18	13029986	<i>CEP192</i>	ENSG00000101639	p.E459K	Gaa/Aaa	missense
19	49314261	<i>BCAT2</i>	ENSG00000105552	p.A2T	Acc/Gcc	missense
19	55790886	<i>HSPBP1</i>	ENSG00000133265	p.G74_G76dup; p.G28_G30dup	A/AGCCGCCGCC	in-frame
19	54745507	<i>LILRA6; LILRB3</i>	ENSG00000204577	p.M201I	atG/ata	missense
19	54745550	<i>LILRA6; LILRB3</i>	ENSG00000204577	p.T187N; p.N187T	aAc/aCCc	missense
19	55144710	<i>LILRB1</i>	ENSG00000104972	p.Q401L	cAg/cTg	missense
19	35758275	<i>LSR; USF2</i>	ENSG00000105698	p.R519dup; p.R500dup; p.R411dup; p.R451dup; p.R499dup	G/GGGA	in-frame
19	55697712	<i>PTPRH</i>	ENSG00000080031	p.Q709*; p.Q887*	Cag/Tag	nonsense: stop gain
19	10279006	<i>DNMT1</i>	ENSG00000130816	p.P252L; p.P268L; p.P147L	cCa/cTa	missense
19	16006361	<i>CYP4F2</i>	ENSG00000186115	p.S100G	Agt/Ggt	missense
19	44006342	<i>PHLDB3</i>	ENSG00000176531	p.G103R	Gga/Aga	missense
19	49298715	<i>BCAT2</i>	ENSG00000105552	p.I343F; p.I383F; p.I291F	Atc/Ttc	missense
19	44377357	<i>ZNF404</i>	ENSG00000176222	p.G337S	Ggt/Agt	missense
20	37378721	<i>ACTR5</i>	ENSG00000101442	p.M148I	atG/ata	missense
20	1895796	<i>SIRPA</i>	ENSG00000198053	p.L44S	tTg/TCg	missense

**Tabela suplementar 5: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	tipo de mutação
20	1895835	<i>SIRPA</i>	ENSG00000198053	p.A57V	gCg/gTg	missense
20	1592312	<i>SIRPB1</i>	ENSG00000101307	p.I42V	Ata/Gta	missense
20	34059927	<i>CEP250</i>	ENSG00000126001	p.A334V	gCg/gTg	missense
21	46876580	<i>COL18A1</i>	ENSG00000182871	p.T379M	aCg/aTg	missense
21	34948697	<i>SON</i>	ENSG00000159140	p.R444fs*8; p.R2416fs*8	agA/ag	frameshift
21	35893693	<i>RCAN1</i>	ENSG00000159200	p.M175I	atG/atA	missense
22	25010828	<i>GGT1</i>	ENSG00000100031	p.G84S (não é polimorfismo)	Ggc/Agc	missense
22	25010828	<i>GGT1</i>	ENSG00000100031	p.G84S	Ggc/Agc	missense
22	36685292	<i>MYH9</i>	ENSG00000100345	p.R1466W	Cgg/Tgg	missense
22	32586875	<i>RFPL2</i>	ENSG00000128253	p.R251C; p.R280C; p.R341C	Cgc/Tgc	missense
22	25435028	<i>KIAA1671</i>	ENSG00000197077	p.R644L	cGt/cTt	missense
22	29913033	<i>THOC5</i>	ENSG00000100296	p.I556V	Atc/Gtc	missense
22	41546158	<i>EP300</i>	ENSG00000100393	p.P925T	Cct/Act	missense
X	118603844	<i>SLC25A5; SLC25A5-AS1</i>	ENSG00000005022	p.L111R	cTc/cGc	missense
X	8764370	<i>FAM9A</i>	ENSG00000183304	p.A143T	Gca/Aca	missense
X	53459205	<i>HSD17B10</i>	ENSG00000072506	p.R116Q	cGa/cAa	missense
X	100615643	<i>BTK</i>	ENSG00000010671	p.A264V; p.A230V	gCg/gTg	missense
X	110574222	<i>DCX</i>	ENSG00000077279	p.A286S; p.A367S	Gca/Tca	missense
X	119387833	<i>ZBTB33</i>	ENSG00000177485	p.D194dup	C/CTGA	in-frame

**Tabela suplementar 6:** Mutações de mudança da matriz de leitura (*frameshift*), sem sentido (*nonsense*), de sentido trocado (*missense*), e inserções ou deleções que não provocam alteração na matriz de leitura (*in-frame*) identificadas no indivíduo X.X da Família C pelo programa *Mendel*

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
1	1647893	ADAMTS20	ENSG00000173157	p.Y1364N	Tac/Aac	missense
1	109811735	AFAP1L2	ENSG00000169129	p.L110LR	-/CGG	missense
1	214813392	AGBL4	ENSG00000186094	p.M338I	atG/atA	missense
1	149676508	ANKRD33	ENSG00000167612	p.R199Q	cGg/cAg	missense
1	117142700	ANKRD36	ENSG00000135976	p.L506P	cTa/cCa	missense
1	117142700	ANKRD36C	ENSG00000174501	p.N486Y	Aat/Tat	missense
1	117156585	ANKRD36C	ENSG00000174501	p.F490F?	-/T	frameshift
1	248616292	AP1S3	ENSG00000152056	p.R33W	Cgg/Tgg	missense
1	248637046	ARHGAP20	ENSG00000137727	p.R887W	Cgg/Tgg	missense
1	248801944	ATP8B4	ENSG00000104043	p.R20G	Cgt/Ggt	missense
1	248802366	BCLAF1	ENSG00000029363	p.P758T	Cct/Act	missense
1	158747043	C7orf31	ENSG00000153790	p.G527R	Ggt/Cgt	missense
1	207242808	C9orf50	ENSG00000179058	p.Q406H	caG/caT	missense
1	6528318	CACNA2D4	ENSG00000151062	p.A730V	gCg/gTg	missense
1	158589105	CATSPER2	ENSG00000166762	p.R517H	cGt/cAt	missense
1	206516261	CCDC158	ENSG00000163749	p.E513K	Gag/Aag	missense
1	101198111	CCN12	ENSG00000205089	p.F166S	rTc/tCc	missense
2	97830192	CD3EAP	ENSG00000117877	p.KK429K	AAG/-	missense
2	96610410	CDC27	ENSG00000004897	p.W644R	Tgg/Cgg	missense
2	96610395	CDC27	ENSG00000004897	p.R631*	Cga/Tga	nonsense
2	224642493	CDK11A	ENSG00000008128	p.R117KER	aga/aAAGAAa	frameshift
2	238289984	CELSR2	ENSG00000143126	p.T2212M	aCg/aTg	missense
2	129075877	CENPE	ENSG00000138778	p.L2031F	Ctt/Ttt	missense
2	42990225	CENPF	ENSG00000117724	p.Q571E	Caa/Gaa	missense
2	219528898	CEP41	ENSG00000106477	p.R136L	cGc/cTc	missense
2	241513621	COL18A1	ENSG00000182871	p.PPGP1361P	GGCCCCCA/-	frameshift
2	219611871	COL6A3	ENSG00000163359	p.D491H	Gac/Cac	missense
2	219754822	CRISPI	ENSG00000124812	p.A71T	Gct/Act	missense
3	52423486	CTC1	ENSG00000178971	p.R818Q	cGa/cAa	missense
3	58145348	DAAM2	ENSG00000146122	p.R633W	Cgg/Tgg	missense
3	12942850	DCC	ENSG00000187323	p.T463M	aCg/aTg	missense
3	184429133	DCP1B	ENSG00000151065	p.Q261QQ	caa/caGCAa	frameshift
3	38050885	DNAH1	ENSG00000114841	p.R3169G	Cgc/Ggc	missense
3	93611868	DNAH17	ENSG00000187775	p.R1344C	Cgt/Tgt	missense
3	185209413	FAM104B	ENSG00000182518	p.R9I	aGa/aTa	missense
3	75788150	FAM185A	ENSG00000222011	p.Y297D	Tat/Gat	missense
3	75788028	FAM216B	ENSG00000179813	p.M1V	Atg/Gtg	missense
3	75787645	FAM231D	ENSG00000203815	p.T147S	Acc/Tcc	missense
3	75787032	FAM53A	ENSG00000174137	p.E278D	gaG/gaC	missense
3	75786991	FAM9A	ENSG00000183304	p.A143T	Gca/Aca	missense
3	75786919	FCGBP	ENSG00000090920	p.A3916V	gCg/gTg	missense

**Tabela suplementar 6:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
3	7578627	<i>FGFBP1</i>	ENSG00000137440	p.S220A	Tct/Gct	missense
3	75786518	<i>FKBP10</i>	ENSG00000141756	p.G188S	Ggc/Agc	missense
3	75786314	<i>FLNB</i>	ENSG00000136068	p.I2350T	aTt/aCt	missense
3	75786288	<i>FRG1</i>	ENSG00000109536	p.I178M	atC/atG	missense
3	75786278	<i>FRG1</i>	ENSG00000109536	p.D218E	gaC/gaG	missense
3	75786261	<i>FRG1</i>	ENSG00000109536	p.H241Q	caT/caA	missense
3	75786256	<i>FRG1</i>	ENSG00000109536	p.A148D	gCt/gAt	missense
3	75786252	<i>FRG1</i>	ENSG00000109536	p.R106S	agA/agC	missense
3	75787516	<i>FRG1B</i>	ENSG00000149531	p.R39S	agA/agC	missense
3	75790466	<i>FRG1B</i>	ENSG00000149531	p.G59VG	ctt/cTTGt	frameshift
3	75786802	<i>GPR84</i>	ENSG00000139572	p.R378H	cGc/cAc	missense
3	75786501	<i>HAUS6</i>	ENSG00000147874	p.M45V	Atg/Gtg	missense
3	75786314	<i>HIVEP1</i>	ENSG00000095951	p.G891E	gGg/gAg	missense
3	75786288	<i>HPSE2</i>	ENSG00000172987	p.Y211H	Tat/Cat	missense
3	75786243	<i>HS6ST1</i>	ENSG00000136720	p.D87E	gaC/gaA	missense
3	75786211	<i>HYDIN</i>	ENSG00000157423	p.I390A	atT/at	missense
3	75788316	<i>IGLJ2</i>	ENSG00000211676	p.G21R?	-/A	frameshift
3	75788245	<i>IGLV5-48</i>	ENSG00000211647	p.Q106*	Cag/Tag	nonsense
3	75788130	<i>IGLV7-46</i>	ENSG00000211649	p.P15	tgC/tg	missense
3	75788366	<i>IGSF3</i>	ENSG00000143061	p.S651I	aGc/aTc	missense
4	122592742	<i>IGSF3</i>	ENSG00000143061	p.R449C	Cgc/Tgc	missense
4	122592742	<i>IGSF3</i>	ENSG00000143061	p.Q212*	Cag/Tag	nonsense
4	77288740	<i>IQSEC1</i>	ENSG00000144711	p.A993	Gcc/cc	missense
4	104061059	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.D173N	Gac/Aac	missense
4	104061059	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.L211F	Ctc/Ttc	missense
4	1656753	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.E378K	Gag/Aag	missense
4	15937598	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.I262S	aTc/aGc	missense
4	190876192	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.E139K	Gag/Aag	missense
4	190883001	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.T142N	aCc/aAc	missense
4	190883070	<i>KCNJ12</i>	ENSG00000184185	p.G145S	Ggc/Agc	missense
4	190876192	<i>NRG2-E</i>	ENSG00000205809	p.R19P	cGg/cCg	missense
4	4190576	<i>KMT2C</i>	ENSG00000055609	p.Q755*	Caa/Taa	nonsense
4	4190595	<i>KRTAP9-9</i>	ENSG00000198083	p.S161Y	tCc/tAc	missense
4	4190577	<i>LAMA1</i>	ENSG00000101680	p.V2832L	Gtg/Ttg	missense
4	183601761	<i>MAGEF1</i>	ENSG00000177383	p.D159ED	gat/gaGGAt	missense
5	132084106	<i>MALRD1</i>	ENSG00000204740	p.I472T	aTt/aCt	missense
5	149449542	<i>MAP1B</i>	ENSG00000131711	p.Y1170C	tAt/tGt	missense
5	71492691	<i>MAP2K3</i>	ENSG00000034152	p.G202D	gGc/gAc	missense
5	175811094	<i>METTL7B</i>	ENSG00000170439	p.P101L	cCc/cTc	missense
6	136589425	<i>MRPL10</i>	ENSG00000159111	p.R127W	Cgg/Tgg	missense
6	49815997	<i>MUC3A</i>	ENSG00000169894	p.Q497*	Cag/Tag	nonsense
6	49815997	<i>MUC3A</i>	ENSG00000169894	p.T380I	aCa/aTa	missense
6	39851789	<i>MUC3A</i>	ENSG00000169894	p.P443L	cCg/cTg	missense

Tabela suplementar 6: continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
6	39851789	<i>MUC3A</i>	ENSG00000228273	p.S207SS	ccc/cCCTcc	missense
6	12122700	<i>MUC3A</i>	ENSG00000169894	p.T380I	aCa/aTa	missense
6	31731303	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.P1829T	Cca/Aca	missense
6	31731303	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.T1964I	aCa/aTa	missense
7	25175785	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.Y1920*	taC/taA	nonsense
7	25175785	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.P1971S	Cca/Tea	missense
7	13004420	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.T1922I	aCu/aTt	missense
7	13004420	<i>MUC6</i>	ENSG00000184956	p.G1813A	gGu/gCt	missense
7	100550032	<i>MYH9</i>	ENSG00000100345	p.R1466W	Cgg/Tgg	missense
7	100552388	<i>NOP16</i>	ENSG00000048162	p.R195H?	cgt/cACgt	missense
7	100550032	<i>NPDC1</i>	ENSG00000107281	p.G273S	Ggt/Agt	missense
7	102235769	<i>NUDT15</i>	ENSG00000136159	p.R139H	cG/cAt	missense
7	142983834	<i>NUP133</i>	ENSG00000069248	p.L522	ctG/ct	missense
7	142247380	<i>OR10Q1</i>	ENSG00000180475	p.RNK298K	aGGAACAag/aag	missense
7	142247271	<i>OR2T2</i>	ENSG00000196240	p.S65I	aGc/aTc	missense
8	38162945	<i>OR2T3</i>	ENSG00000196539	p.C132Y	tGc/tAc	missense
9	19096763	<i>OR2T35</i>	ENSG00000177151	p.CVL203	tgCGTGCTG/tg	missense
9	19096763	<i>OR2T35</i>	ENSG00000177151	p.S65I	aGc/aTc	missense
9	139935163	<i>OR4C3</i>	ENSG00000176547	p.P192L	cCc/cTc	missense
9	33797951	<i>OR4C3</i>	ENSG00000176547	p.W174*	tgG/tgA	nonsense
10	116085784	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.V307G	gTg/gGg	missense
10	100503793	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.N304S	aAc/aGc	missense
10	100503793	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.S285F	tCu/tTt	missense
10	19612946	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.R273*	Cga/Tga	nonsense
10	19612946	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.Y271C	tAc/tGc	missense
10	29779847	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.K14*	Aaa/Taa	nonsense
11	110451011	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.C228F	tGu/tTt	missense
11	110451011	<i>OR4C5</i>	ENSG00000176540	p.Y271C	tAc/tGc	missense
11	1017363	<i>OR6N2</i>	ENSG00000188340	p.R128P	cGg/cCg	missense
11	1016910	<i>OR9G1</i>	ENSG00000174914	p.V279E	gTg/gAg	missense
11	1017316	<i>OTOPI</i>	ENSG00000163982	p.P592A	Cct/Gct	missense
11	57995449	<i>OTOPI</i>	ENSG00000163982	p.R598P	cGa/cCa	missense
11	57995449	<i>OTOPI</i>	ENSG00000163982	p.R598G	Cga/Gga	missense
11	48347067	<i>OXER1</i>	ENSG00000162881	p.Q365H	caG/caC	missense
11	48347014	<i>P2RX5-TAX1BP3</i>	ENSG00000083454	p.L32Q	cTg/cAg	missense
11	48387978	<i>PFKFB2</i>	ENSG00000123836	p.R343W	Cgg/Tgg	missense
11	48387206	<i>PKD1</i>	ENSG00000008710	p.S1619F	tCc/tTc	missense
11	48387978	<i>PLCD1</i>	ENSG00000187091	p.M516	Atg/tg	missense
11	48387206	<i>PLEKHG5</i>	ENSG00000171680	p.R939C	Cgc/Tgc	missense
11	48387164	<i>PRIM2</i>	ENSG00000146143	p.G304*	Gga/Tga	nonsense
11	48387098	<i>PROS1</i>	ENSG00000184500	p.R355H	cGt/cAt	missense
11	56468699	<i>PRSS3</i>	ENSG00000010438	p.M166L	Atg/Ctg	missense
11	120984368	<i>PTPRH</i>	ENSG00000080031	p.Q887*	Cag/Tag	nonsense

**Tabela suplementar 6:** continuação (...)

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
12	43821128	<i>RASA4</i>	ENSG00000105808	p.M352V	Atg/Gtg	missense
12	52283225	<i>RNF25</i>	ENSG00000163481	p.E388Q	Gaa/Caa	missense
12	1963174	<i>RNPEPL1</i>	ENSG00000142327	p.D113N	Gat/Aat	missense
12	2062323	<i>SAPCD1</i>	ENSG00000228727	p.Q76*	Cag/Tag	nonsense
12	54756503	<i>SDK2</i>	ENSG00000069188	p.E1585K	Gag/Aag	missense
12	56075840	<i>SKOR1</i>	ENSG00000188779	p.T401M	aCg/aTg	missense
12	11183642	<i>SPHK1</i>	ENSG00000176170	p.R285fs*17	cGt/ct	missense
12	122359397	<i>SPTA1</i>	ENSG00000163554	p.Q2146R	cAa/cGa	missense
13	43358204	<i>SRGAP2</i>	ENSG00000163486	p.R21W	Cgg/Tgg	missense
13	48619856	<i>SVIL</i>	ENSG00000197321	p.L1374R	cTc/cGc	missense
14	23548787	<i>TAS2R31</i>	ENSG00000256436	p.L98P	cTu/cTt	missense
15	50366353	<i>TECTA</i>	ENSG00000109927	p.R244H	cGc/cAc	missense
15	43924420	<i>TENM3</i>	ENSG00000218336	p.G569S	Ggc/Agc	missense
15	68119368	<i>TEX13A</i>	ENSG00000133149	p.D199	Gat/at	missense
16	70896015	<i>TMC5</i>	ENSG00000103534	p.P293R	cCt/cGt	missense
16	2160312	<i>TMEM139</i>	ENSG00000178826	p.P188L	cCt/cTt	missense
16	19455492	<i>TMEM41A</i>	ENSG00000163900	p.G236E	gGa/gAa	missense
16	1278767	<i>TPSB2</i>	ENSG00000197253	p.A238T	ctG/ctA	missense
16	22126736	<i>TRBV7-3</i>	ENSG00000211714	p.T26S	Acc/Tcc	missense
16	88599699	<i>TRBV7-3</i>	ENSG00000211714	p.P62L	cCa/cTa	missense
17	45214519	<i>TLL4</i>	ENSG00000135912	p.R707H	cGc/cAc	missense
17	45214519	<i>USP6</i>	ENSG00000129204	p.R68W	Cgg/Tgg	missense
17	8135066	<i>VCAM1</i>	ENSG00000162692	p.L555V	Cta/Gta	missense
17	13400075	<i>WHSC1L1</i>	ENSG00000147548	p.S754L	tCg/tTg	missense
17	21319285	<i>WNT10A</i>	ENSG00000135925	p.G165R	Ggg/Agg	missense
17	21319786	<i>ZFP36L2</i>	ENSG00000152518	p.A63V	gCa/gTa	missense
17	21319285	<i>ZNF284</i>	ENSG00000186026	p.Y33H	Tat/Cat	missense
17	21319087	<i>ZNF624</i>	ENSG00000197566	p.H574Y	Cat/Tat	missense
17	21207774	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.E420Q	Gaa/Caa	missense
17	21207774	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.H581R	cAt/cGt	missense
17	45904444	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.G587S	Ggc/Agc	missense
17	45904444	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.E595K	Gaa/Aaa	missense
17	3599205	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.P618L	cCc/cTc	missense
17	71377042	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.E620*	Gaa/Taa	nonsense
17	71377042	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.C649*	tgT/tgA	nonsense
17	74383109	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.Y758F	tAt/tTt	missense
17	74383109	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.K826E	Aag/Gag	missense
17	5036211	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.H832Q	caT/caG	missense
17	5036211	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.G838E	gGg/gAg	missense
17	16526480	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.K840*	Aaa/Taa	nonsense
18	50683852	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.C844Y	tGt/tAt	missense
18	50683852	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.T850I	aCt/aTt	missense
19	40376675	<i>ZNF717</i>	ENSG00000227124	p.P80T	Cca/Aca	missense

**Tabela suplementar 6: continuação (...)**

Cr.	Posição	Gene	N Ensembl	Alteração na sequência proteica	Alteração na sequência codificadora	Tipo de mutação
19	55697712	ZNF717	ENSG00000227124	p.G419W	Ggg/Tgg	missense
19	44585249	ZNF717	ENSG00000227124	p.Y619N	Tat/Aat	missense
20	29625873	ZNF717	ENSG00000227124	p.F376	tT/t	missense
20	29625925	ZNF717	ENSG00000227124	p.R658C	Cgc/Tgc	missense
21	46924425	ZNF717	ENSG00000227124	p.H752Q	caT/caG	missense
22	25010828	GGT1	ENSG00000100031	p.G84S	Ggc/Agc	missense
22	25010828	ZNF717	ENSG00000227124	p.L829P	cTc/cCc	missense
22	23241753	ZNF717	ENSG00000227124	p.P841H	cCc/cAc	missense
22	22707728	ZNF717	ENSG00000227124	p.S855P	Tca/Cca	missense
22	36685292	ZNF717	ENSG00000227124	p.G153E	gGa/gAa	missense
22	36685292	ZNF717	ENSG00000227124	p.G177R	Gga/Aga	missense
X	55185656	ZNF717	ENSG00000227124	p.T208T?	act/acCt	missense
X	55185656	ZNF717	ENSG00000227124	p.G215V	gGg/gTg	missense
X	8764370	ZNF717	ENSG00000227124	p.S249*	tCa/tGa	nonsense
X	8764370	ZNF717	ENSG00000227124	p.G260R	Gga/Aga	missense
X	104464281	ZNF717	ENSG00000227124	p.L136F	ttG/tT	missense