

EXOMA

Sequenciamento de Nova Geração das Regiões Codificantes do Genoma Humano

Embora os painéis genéticos baseados na técnica de sequenciamento de nova geração (NGS) sejam amplamente usados em ambientes clínicos, a adoção do sequenciamento do exoma completo (WES) e do sequenciamento do genoma completo (WGS) vem aumentando constantemente.

O exame EXOMA é o sequenciamento de Nova Geração (NGS) das regiões codificantes de proteínas do genoma (os éxons). O exoma humano corresponde a aproximadamente 2% do genoma, mas é onde cerca de 85% das variantes genéticas associadas a doenças humanas já descritas na literatura científica são encontradas. O resultado do sequenciamento completo do Exoma (WES) pode esclarecer cerca de 25% dos casos de sequenciamento exclusivo do paciente, podendo aumentar para mais de 30% quando o trio familiar (pai, mãe e filho (a) com a suspeita clínica) é investigado.

Uma das principais vantagens do WES é ser um exame economicamente viável para sequenciar um grande número de amostras e genes. O exame EXOMA apresenta menor custo em relação ao exame GENOMA e pode fornecer informações mais abrangentes do que o sequenciamento de um painel gênico ou de um gene isolado. Como o exoma completo é sequenciado, a quantidade de dados gerados é maior do que um painel, mas significativamente menor que o sequenciamento completo do genoma (WGS), o que pode resultar em custos acessíveis de sequenciamento e análise.

O sequenciamento do exoma costuma ser solicitado para casos que envolvem sintomas ou condições graves, raras e/ou inespecíficas, que em alguns casos, mesmo após realização outros exames genéticos, como por exemplo: Cariótipo, CHG-array e sequenciamento de painel gênico, permanecem sem esclarecimento.

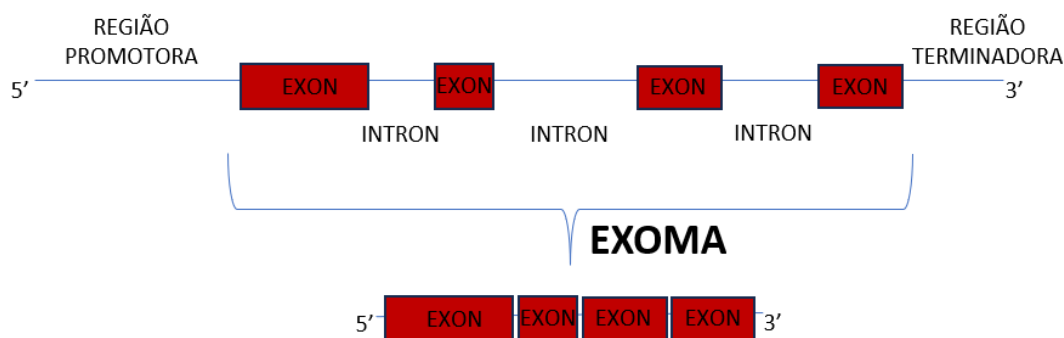
Já o exame GENOMA, que envolve a análise de todo o genoma humano, pode possibilitar uma taxa maior de fechamento de diagnóstico. Contudo, comparado com o exame EXOMA, o Exame GENOMA gera uma imensa quantidade de dados, e o custo de armazenamento e análise desses dados pode ser duas a três vezes maior do que o de um exoma. Atualmente, o WGS é mais utilizado quando variantes patogênicas não são detectadas por meio de sequenciamento por painel gênico ou sequenciamento do exoma completo (WES).

A escolha da abordagem NGS mais adequada para cada paciente é uma conduta clínica, o(s) médico(s) considera vários fatores, incluindo o histórico pessoal e familiar do paciente, os sinais e sintomas presentes, a possível (ou possíveis) suspeita(s) clínica(s), a realização de exames de análises clínicas, genéticos e/ou de imagens prévios, entre outros. De maneira simplificada, a escolha entre WES e WGS depende do motivo para investigação genética e dos recursos disponíveis para a realização do exame.

- DETALHANDO O EXOMA –

O que é o exame EXOMA completo (WES)?

Investigação da região codificante (exons) e regiões flanqueadoras dos exons (poucas bases nucleotídicas nas junções exon e intron ou exon e regiões promotora e terminadora) dos cerca de 22.000 genes que formam o genoma humano. Como ilustrado no esquema de um gene hipotético:



O método do exame EXOMA é o Sequenciamento de Nova Geração (NGS), no que ele consiste?

O DNA genômico é extraído do material biológico, o DNA é quantificado e verificada a sua qualidade. Em seguida é preparada a biblioteca de DNA, geralmente pelo método de enriquecimento seguido da captura das regiões alvos. O sequenciamento é realizado em plataforma específica.

Os dados gerados são alinhados ao Genoma de referência para análise bioinformática, como o GRCh38, por exemplo. A partir desse arquivo é realizada a chamada das variantes. A seleção dos genes ou variantes de interesse, e a interpretação das variantes identificadas são orientadas pelo pedido médico e pelas informações clínicas fornecidas no relatório médico. Por este motivo, o relatório médico detalhado é documento obrigatório para a realização desse exame.

No laudo do Lab Rede são reportadas as variantes patogênicas, provavelmente patogênicas e variantes de significado incerto (VUS) correlacionadas com a clínica do paciente, de acordo com os critérios do *College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) definidos em 2015 (PMID: 25741868). No entanto, como não há uma norma ou regra para os laudos dos achados em Exoma, esse processo pode variar entre os laboratórios que realizam o exame.

Podem ser identificados achados secundários (também conhecidos como achados incidentais), que não necessariamente estejam associados ao quadro clínico atual, novamente em relação ao Lab Rede, quando autorizado pelo paciente ou seu responsável legal através de assinatura prévia do termo de consentimento, são reportadas variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas em genes com relevância para conduta clínica e aconselhamento genético, que façam parte da lista de recomendação do ACMG que estiver vigente no momento da liberação do resultado.

Aplicações possíveis: Investigação de suspeita clínica com etiologia indefinida; investigação de sinais e sintomas que se sobrepõem e podem estar relacionadas a condições clínicas distintas; investigação de suspeita de doença rara; investigação de transtornos e déficits que possuam base genética; investigação de portador para aconselhamento genético pré-concepcional; entre outros.

Limitações: Não avalia regiões não codificantes; não analisa expansões de nucleotídeos (repetição de nucleotídeos em sequência); não analisa alterações cromossômicas como inversões e translocações; não é o exame recomendado para investigar genes que apresentem alta identidade de sequência (ex: Gene CYP21A2 que apresenta um pseudogene com mais de 96% de sequência gênica idêntica); a análise de números de cópias (CNVs) detecta variantes de ganho ou perda de material genético superiores a 30 Kbases; a análise do DNA mitocondrial apresenta limites de detecção referentes a técnica e ao tipo de amostra.

CURIOSIDADE - Já viu em um laudo de EXOMA a palavra “cobertura” de sequenciamento NGS? Sabe o que significa?

A **cobertura**, ou cobertura horizontal de um sequenciamento, corresponde a quantas vezes aquela sequência de interesse foi lida completamente. Ou seja, um sequenciamento de EXOMA com 98% da cobertura acima de 10x, quer dizer que 2% da região de interesse não alcançou a cobertura desejada (no caso, 10x).

Enquanto a **profundidade**, ou cobertura vertical, corresponde a quantidade média de leituras (*reads*), que cobrem uma determinada região. Como exemplificado nessa imagem do sequenciamento de um exon do gene *BRCA1* no visualizador IGV®.

