

3. ANÁLISE MOLECULAR DE DNA, PESQUISA DE MICRODELEÇÕES/MICRODUPLICAÇÕES POR FISH (FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION), INSTABILIDADE DE MICROSSATÉLITES (MSI), DETECÇÃO POR PCR, BLOCO DE PARAFINA

1. Cobertura obrigatória quando for solicitado por um geneticista clínico, puder ser realizado em território nacional e for preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. na assistência/tratamento/aconselhamento das condições genéticas contempladas nas Diretrizes de Utilização listadas abaixo ou disponibilizadas por meio de Nota Técnica, no endereço eletrônico www.ans.gov.br, quando seguidos os parâmetros definidos nestas diretrizes;
 - b. para as patologias ou síndromes listadas a seguir a cobertura de análise molecular de DNA não é obrigatória: ostecondromas hereditários múltiplos (exostoses hereditárias múltiplas); Neurofibromatose 1; e Fenilcetonúria.
 - c. na assistência/tratamento/aconselhamento das condições genéticas não contempladas nas Diretrizes dos itens a e b, quando o paciente apresentar sinais clínicos indicativos da doença atual ou história familiar e, permanecerem dúvidas acerca do diagnóstico definitivo após a anamnese, o exame físico, a análise de heredograma e exames diagnósticos convencionais.

OBS relativa apenas ao item c: Os exames realizados por técnicas de pesquisas em painel, tais como PCR Multiplex, CGH-Array (Hibridização Genômica Comparativa), MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), Sequenciamento de Nova Geração (NGS), Sequenciamento completo de todos os éxons do Genoma Humano (Exoma) e Sequenciamento do Genoma (Genoma), screening de risco pessoal ou de planejamento familiar em paciente assintomático quando desvinculado de história familiar, não estão contemplados no item "c".

OBS geral 1: Nas diretrizes de utilização abaixo são considerados:

Grau de parentesco	Denominação
parentes de primeiro grau	mãe, pai, filha, filho, irmã, irmão
parentes de segundo grau	avó, avô, neta, neto, tia, tio, sobrinha, sobrinho, meia-irmã, meio-irmão
parentes de terceiro grau	bisavó, bisavô, tia-avó, tio-avô, prima de primeiro grau, primo de primeiro grau, bisneta, bisneto, sobrinhaneta, sobrinhoneto

OBS geral 2: Para as diretrizes de utilização em que o método escalonado contemple a técnica CGH-Array (Hibridização Genômica Comparativa), a resolução mínima obrigatória é a densidade de 180k. No caso de plataformas que utilizem apenas SNP- array (Polimorfismo de um único nucleotídeo), a resolução mínima obrigatória é a densidade de 750k.

DIRETRIZES DE UTILIZAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS ANÁLISE MOLECULAR DE DNA, PESQUISA DE MICRODELEÇÕES E MICRODUPLICAÇÕES POR FISH - FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION E INSTABILIDADE DE MICROSSATÉLITES (MSI), DETECÇÃO POR PCR

1. ACONDROPLASIA/HIPOCONDROPLASIA
2. ADRENOLEUCODISTROFIA
3. AMILOIDOSE FAMILIAR (TTR)
4. ATAXIA DE FRIEDREICH
5. ATAXIAS ESPINOCEREBELARES (SCA)
6. ATROFIA MUSCULAR ESPINHAL – AME
7. CÂNCER DE MAMA E OVÁRIO HEREDITÁRIOS - GENES BRCA1 E BRCA2
8. COMPLEXO DA ESCLEROSE TUBEROSA

9. DEFICIÊNCIA DE ALFA 1 – ANTITRIPSINA
10. DISPLASIA CAMPOMÉLICA
11. DISTROFIA MIOTÔNICA TIPO I E II
12. DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENE/BECKER
13. DOENÇA DE HUNTINGTON
14. DOENÇAS RELACIONADAS AO COLÁGENO DO TIPO 2 (COL2A1), INCLUINDO DISPLASIA ESPÔNDILO-EPIFISÁRIA CONGÊNITA, DISPLASIA DE KNIEST, DISPLASIA ESPÔNDILO-EPI-METAFISÁRIA DO TIPO STRUDWICK, DISPLASIA PLATISPONDÍLICA DO TIPO TORRANCE, SÍNDROME DE STICKLER TIPO I
15. DOENÇAS RELACIONADAS AO COLÁGENO DO TIPO 3 (COL3A1), EHLERS-DANLOS TIPO IV E ANEURISMA AÓRTICO ABDOMINAL FAMILIAL (AAA)
16. DOENÇAS RELACIONADAS AO GENE FMR1 (SÍNDROME DO X FRÁGIL, SÍNDROME DE ATAXIA/TREMOR ASSOCIADOS AO X FRÁGIL - FXTAS E FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA - FOP)
17. FIBROSE CÍSTICA E DOENÇAS RELACIONADAS AO GENE CFTR
18. HEMOCROMATOSE
19. HEMOFILIA A
20. HEMOFILIA B
21. MUCOPOLISSACARIDOSE
22. NEOPLASIA ENDRÓCRINA MÚLTIPLA TIPO I-MEN1
23. NEOPLASIA ENDRÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 2A– MEN2A
24. OSTEOGÊNESE IMPERFEITA
25. POLIPOSE COLÔNICA
26. SÍNDROME CHARGE
27. SÍNDROME DE ANGELMAN E SÍNDROME DE PRADER-WILLI
28. SÍNDROME DE COWDEN
29. SÍNDROME DE HIPOFOSFATASIA
30. SÍNDROME DE LI-FRAUMENI
31. SÍNDROME DE LYNCH – CÂNCER COLORRETAL NÃO POLIPOSOS HEREDITÁRIO (HNPCC)
32. SÍNDROME DE MARFAN
33. SÍNDROME DE NOONAN
34. SÍNDROME DE RETT
35. SÍNDROME DE WILLIAMS-BEUREN
36. SÍNDROME DO CÂNCER GÁSTRICO DIFUSO HEREDITÁRIO

- 37. SÍNDROMES DE ANOMALIAS CROMOSSÔMICAS SUBMICROSCÓPICAS NÃO RECONHECÍVEIS CLINICAMENTE (ARRAY)
- 38. SÍNDROMES DE DELEÇÕES SUBMICROSCÓPICAS RECONHECÍVEIS CLINICAMENTE
- 39. TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

1. ACONDROPLASIA/HIPOCONDROPLASIA

- 1. Cobertura obrigatória para pacientes que apresentem baixa estatura desproporcionada quando restarem dúvidas diagnósticas acerca da doença apresentada após a investigação clínica e radiológica e for preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. achados clínicos e radiológicos sugestivos de Acondroplasia (macrocrania com fronte ampla e/ou rizomelia e/ou limitação da extensão dos cotovelos e/ou braquidactilia e/ou configuração das mãos em tridente e/ou geno varo e/ ou ossos tubulares curtos e/ou estreitamento da distância interpedicular da coluna espinhal e/ou hiperlordose lombar e/ou ilíacos arredondados e acetábulos horizontalizados e/ou incisura sacro isquiática pequena e/ou radiolusência femural proximal e/ou leves alterações metafisárias);
 - b. achados clínicos e radiológicos sugestivos de Hipochondroplasia (macrocrania com face relativamente normal e/ou rizomelia e/ou mesomelia e/ou limitação da extensão dos cotovelos e/ou leve frouxidão ligamentar e/ou mãos e dedos curtos e/ou geno varo e/ou hiperlordose lombar e/ou deficiência intelectual e/ou acantose nigricans e/ou epilepsia do lobo temporal e/ou osteoartrite em adultos e/ou encurtamento dos ossos longos com leve alteração metafisária e/ou braquidactilia e/ou estreitamento da distância interpedicular da coluna espinhal e/ou ilíacos encurtados e quadrados e/ou encurtamento do segmento distal da ulna, alongamento do segmento distal da fíbula e/ou teto do acetábulo raso).

Método de análise:

1. Em caso de achados clínicos e radiológicos sugestivos de Acondroplasia, realizar análise apenas das mutações específicas para Acondroplasia c.1138G>A e c.1138G>C no gene FGFR3.
2. Em caso de achados clínicos e radiológicos sugestivos de Hipocondroplasia, realizar análise apenas das mutações específicas para Hipocondroplasia c.1620C>A e c.1620C>G no gene FGFR3.

2. ADRENOLEUCODISTROFIA

1. Cobertura obrigatória para pacientes do sexo masculino com manifestações clínicas (forma cerebral infantil, adolescente e do adulto, adrenomieloneuropatia e doença de Addison) e diagnóstico bioquímico (dosagem de ácidos graxos de cadeia muito longa).
2. Cobertura obrigatória para pacientes do sexo feminino com manifestações clínicas de adrenomieloneuropatia com diagnóstico bioquímico (dosagem de ácidos graxos de cadeia muito longa) inconclusivo.
3. Cobertura obrigatória em crianças do sexo masculino assintomáticas, cuja mãe possua diagnóstico molecular confirmado de heterozigota para adrenoleucodistrofia.
4. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de mulheres assintomáticas (parentes de 1º, 2º e 3º graus do caso índice na família), com o diagnóstico molecular de adrenoleucodistrofia no caso índice na família.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já foi identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Para os casos não enquadrados no item anterior, realizar Sequenciamento de Nova Geração ou Sequenciamento bidirecional pelo método analítico de Sanger dos éxons do gene ABCD1.

3. AMILOIDOSE FAMILIAR (TTR)

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos que apresentem neuropatia autonômica ou sensório-motora lentamente progressiva com biópsia de tecido demonstrando depósito de substância amiloide, especificamente marcados com anticorpos anti-TTR e quando preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. bloqueio da condução cardíaca
 - b. cardiomiopatia
 - c. neuropatia
 - d. opacidade do corpo vítreo
2. Cobertura obrigatória para familiar assintomático de 1º grau ou 2º graus de caso confirmado através de diagnóstico molecular de amiloidose familiar (TTR) no caso índice na família.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já foi identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Análise da mutação VAL30MET no gene TTR.
3. Sequenciamento bidirecional pelo método analítico de Sanger dos éxons 2, 3 e 4 do gene TTR.

4. ATAXIA DE FRIEDREICH

1. Cobertura obrigatória para o diagnóstico de pacientes de ambos os sexos com ataxia progressiva e sem padrão de herança familiar autossômica dominante, quando preenchidos pelo menos dois dos seguintes critérios:
 - a. perda de propriocepção;
 - b. arreflexia;
 - c. disartria;

- d. liberação piramidal (Babinski);
- e. miocardiopatia;
- f. alterações eletroneuromiográficas;
- g. resistência à insulina ou diabetes;
- h. atrofia cerebelar em ressonância nuclear magnética.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Pesquisa de mutação dinâmica por expansão de trinucleotídeos GAA no íntron 1 do gene FXN por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em gel de agarose ou por eletroforese capilar.

5. ATAXIAS ESPINOCEREBELARES (SCA)

1. Cobertura obrigatória para indivíduos sintomáticos com ataxia de marcha associada ou não a outros sinais neurológicos (distonia, neuropatia periférica, parkinsonismo e alterações da movimentação ocular) independente da idade e com história familiar de herança autossômica dominante.
2. Cobertura obrigatória para indivíduos sintomáticos com ataxia de marcha associada ou não a outros sinais neurológicos (distonia, neuropatia periférica, parkinsonismo e alterações da movimentação ocular) independente da idade e sem história familiar desde que preencha todos os seguintes critérios:
 - a. doença de início insidioso e curso progressivo
 - b. início dos sintomas há mais de 6 meses
 - c. ressonância magnética de encéfalo que não sugira outra causa para a ataxia (esclerose múltipla, infecção de sistema nervoso central, tumores, mal formações cerebrais e/ou cerebelares, siderose superficial)
6. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético dos familiares de 1º, 2º ou 3º graus assintomáticos maiores de 18 anos quando o diagnóstico molecular do tipo de SCA tiver sido confirmado na família. No caso em que o diagnóstico molecular confirmar SCA do tipo 10 a cobertura para indivíduos assintomáticos não é obrigatória.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da expansão no gene específico.
2. Pesquisa de expansão CAG no gene ATXN3 (SCA3 ou Doença de Machado-Joseph) por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com análise de fragmentos por eletroforese capilar ou por PCR multiplex fluorescente.
3. Se item anterior for normal, pesquisar simultaneamente expansão de nucleotídeos CAG nos genes ATXN1, ATXN2, CACNA1A, ATXN7, e expansão de pentanucleotídeos ATTCT no gene ATXN10 (SCA1, SCA2, SCA6, SCA7 e SCA10, respectivamente) por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com análise de fragmentos por eletroforese capilar ou por PCR multiplex fluorescente.

REFERÊNCIAS:

1. Bird TD. Hereditary Ataxia Overview. 1998 Oct 28 [updated 2015 Mar 5]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, Smith RJH, Stephens K, editors. GeneReviews®. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1138/>
2. de Castilhos RM, Furtado GV, Gheno TC, Schaeffer P, Russo A, Barsottini O, Pedroso JL, Salarini DZ, Vargas FR, de Lima MA, Godeiro C, Santana-da-Silva LC, Toralles MB, Santos S, van der Linden H Jr, Wanderley HY, de Medeiros PF, Pereira ET, Ribeiro E, Saraiva-Pereira ML, Jardim LB; Rede Neurogenetica. Spinocerebellar ataxias in Brazil--frequencies and modulating effects of related genes. *Cerebellum*. 2014 ;13:17-28.
3. Sequeiros J, Martindale J, Seneca S, Giunti P, Kämäräinen O, Volpini V, Weirich H, Christodoulou K, Bazak N, Sinke R, Sulek-Piatkowska A, Garcia-Planells J, Davis M, Frontali M, Hämläinen P, Wieczorek S, Zühlke C, Saraiva-Pereira ML, Warner J, Leguern E, Thonney F, Quintáns Castro B, Jonasson J, Storm K, Andersson A, Ravani A, Correia L, Silveira I, Alonso I, Martins C, Pinto Basto J, Coutinho P, Perdigão A, Barton D, Davis M; European Molecular Quality Genetics Network. EMQN Best Practice Guidelines for molecular genetic testing of SCAs. *Eur J Hum Genet*. 2010 Nov;18:1173-6.

4. van de Warrenburg BP, van Gaalen J, Boesch S, Burgunder JM, Dürr A, Giunti P, Klockgether T, Mariotti C, Pandolfo M, Riess O. EFNS/ENS Consensus on the diagnosis and management of chronic ataxias in adulthood. Eur J Neurol. 2014 Apr;21(4):552-62.

6 ATROFIA MUSCULAR ESPINHAL – AME

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos que apresentem as formas congênitas de Atrofia Muscular Espinhal (artrogripose múltipla congênita ou neuropatia axonal congênita) com hipotonia grave e dependência de suporte respiratório.
2. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com quadro clínico de atrofia muscular espinhal do tipo I com início dos sintomas antes dos 6 meses de idade, apresentando hipotonia grave, quando preenchidos pelo menos dois dos seguintes critérios:
 - a. atraso grave do desenvolvimento motor
 - b. fasciculação da língua
 - c. tremor postural dos dedos
 - d. ausência de reflexos tendíneos
 - e. ausência de perda sensória
3. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com quadro clínico de atrofia muscular espinhal do tipo II com início dos sintomas entre 6 e 18 meses de idade, com hipotonia ou fraqueza muscular progressiva e quando presentes pelo menos dois dos seguintes critérios:
 - a. fasciculação da língua
 - b. tremor postural dos dedos
 - c. ausência de reflexos tendíneos
 - d. ausência de perda sensória
4. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com quadro clínico de atrofia muscular espinhal do tipo III com início dos sintomas após 18 meses

de idade com fraqueza muscular progressiva, quando presentes pelo menos dois dos seguintes critérios:

- a. fraqueza muscular simétrica proximal
- b. fasciculação da língua ou outros grupos musculares
- c. tremor postural dos dedos
- d. hiporreflexia
- e. câibras.

5. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com quadro clínico de atrofia muscular espinhal tipo IV com início dos sintomas na vida adulta e que apresentem eletroneuromiografia com denervação e redução da amplitude do potencial de ação motor, quando presentes pelo menos dois dos seguintes critérios:

- a. fraqueza muscular simétrica proximal
- b. fasciculação da língua ou outros grupos musculares
- c. tremor postural dos dedos
- d. hiporreflexia
- e. câibras.

6. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de indivíduos assintomáticos, com parentes de 1º ou 2º graus com diagnóstico molecular confirmado.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

Para pacientes enquadrados nos itens 1, 2, 3, 4 ou 5:

- 1. Realizar análise da deleção ou conversão do éxon 7 de ambas as cópias do gene SMN1 por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em gel de agarose ou por eletroforese capilar.
- 2. Realizar pesquisa de mutação por Sequenciamento de Nova Geração ou Sanger de toda região codificadora do gene SMN1 quando for diagnosticada heterozigose do éxon 7 do gene SMN1 e o paciente preencher pelo menos dois dos seguintes critérios:

- a. eletroneuromiografia revelando denervação e redução da amplitude do potencial de ação motor
- b. biópsia muscular com atrofia de fibras do grupo 1 e 2
- c. creatinoquinase em valores normais

Para pacientes enquadrados no item 6:

- 1. Realizar nos pais do paciente reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em gel de agarose ou por eletroforese capilar para testar a deleção ou conversão do éxon 7 do gene SMN1 para a deleção do éxon 7 do gene SMN1
- 2. Quando o resultado for negativo para a deleção do éxon 7, testar para a mutação familiar do gene SMN1 já detectada.

REFERÊNCIAS:

- 1. Scheffer H, Cobben JM, Gert Matthijs G, Wirth B. Best practice guidelines for molecular analysis in spinal muscular atrophy Eur J Human Genet (2001) 9, 484-491 www.nature.com/ejhg
- 2. Wang CH, Finkel RS, Bertini ES, Schroth M, Simonds A, Wong B, Aloysius A, Morrison L, Main M, Crawford TO, Trela A. Consensus Statement for Standard of Care in Spinal Muscular Atrophy J Child Neurol 2007 22: 1027 DOI: 10.1177/0883073807305788

7 . CÂNCER DE MAMA E OVÁRIO HEREDITÁRIOS - GENE BRCA1/BRCA2

- 1. Cobertura obrigatória para **mulheres** com diagnóstico atual ou prévio de **câncer de mama** quando preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a) Diagnóstico de câncer de mama em idade ≤ 35 anos
 - b) Diagnóstico de câncer de mama em idade ≤ 50 anos e mais um dos seguintes critérios:
 - I. um segundo tumor primário da mama (*);
 - II. ≥ 1 familiar de 1º, 2º e 3º graus com câncer de mama e/ou ovário

- c) Diagnóstico de câncer de mama em idade ≤ 60 anos se câncer de mama triplo negativo (Receptor de estrogênio (RE), Receptor de progesterona (RP) e Receptor HER2 negativos).
- d) Diagnóstico de câncer de mama em qualquer idade e mais um dos seguintes:
- I. ≥ 1 familiar de 1º, 2º e 3º graus com câncer de mama feminino em idade ≤ 50 anos
 - II. ≥ 1 familiar de 1º, 2º e 3º graus com câncer de mama masculino em qualquer idade
 - III. ≥ 1 familiar de 1º, 2º e 3º graus com câncer de ovário em qualquer idade
 - IV. ≥ 2 familiares de 1º, 2º e 3º graus do mesmo lado da família com câncer de mama em qualquer idade
 - V. ≥ 2 familiares de 1º, 2º e 3º graus do mesmo lado da família com câncer de pâncreas ou próstata (escore de Gleason > 7) em qualquer idade
- (*) No caso de câncer de mama bilateral ou duas neoplasias primárias na mesma mama (comprovado por laudos anatomo-patológicos), cada um dos tumores deve ser considerado independentemente.

2. Cobertura obrigatória para **mulheres** com diagnóstico atual ou prévio de **câncer de ovário** (tumor epitelial) em qualquer idade e independente da história familiar.
3. Cobertura obrigatória para **homens** com diagnóstico atual ou prévio de **câncer de mama** em qualquer idade e independente da história familiar.
4. Cobertura obrigatória para pacientes com **câncer de pâncreas** e ≥ 2 familiares de 1º, 2º e 3º graus do mesmo lado da família com câncer de mama e/ou ovário e/ou pâncreas ou próstata (escore de Gleason ≥ 7) em qualquer idade.
5. Cobertura obrigatória para pacientes com **câncer de próstata** (escore de Gleason ≥ 7) e ≥ 2 familiares de 1º, 2º e 3º graus do mesmo lado da família com câncer de mama e/ou ovário e/ou pâncreas ou próstata (escore de Gleason ≥ 7) em qualquer idade.

6. Cobertura obrigatória para teste das 3 mutações fundadoras Ashkenazi nos genes *BRCA1* e *BRCA2* em **pacientes de origem judaica Ashkenazi** quando preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. câncer de mama em qualquer idade e independente da história familiar,
 - b. câncer de ovário em qualquer idade e independente da história familiar,
 - c. câncer de pâncreas em qualquer idade com ≥ 1 familiar de 1º, 2º e 3º graus com câncer de mama, ovário, pâncreas ou próstata (escore Gleason ≥ 7)
7. Cobertura obrigatória para pacientes maiores de 18 anos, diagnosticados ou não com câncer, independente do sexo, quando houver mutação deletéria em *BRCA1* ou *BRCA2* em familiar de 1º, 2º e 3º graus.
8. Cobertura obrigatória para indivíduos com câncer de mama, mas com estrutura familiar limitada (ausência de 2 familiares de 1º, 2º ou 3º graus do sexo feminino em uma das linhagens – materna ou paterna - que tenha vivido além dos 45 anos de idade).

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já foi identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica. Para pacientes de origem judaica Ashkenazi nos quais a mutação familiar for uma mutação fundadora, está justificada a realização da análise das 3 mutações fundadoras Ashkenazi ao invés da análise somente da mutação familiar pela possibilidade da ocorrência de mais de uma mutação em genes *BRCA* em famílias Ashkenazi. Se a família for de origem judaica Ashkenazi e a mutação familiar não for uma das 3 mutações fundadoras, ainda assim justifica-se a realização do teste destas 3 mutações além da mutação que sabidamente segrega na família.
2. Nos casos de pacientes elencados nos itens 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 9 realizar o exame escalonado conforme descrito abaixo:
 - a. Sequenciamento de Nova Geração de toda região codificadora de *BRCA1* e *BRCA2*
 - b. Se o Sequenciamento de Nova Geração não estiver disponível iniciar com Sequenciamento bidirecional por Sanger no gene *BRCA1*, exceto para os casos

- que envolvam câncer de mama masculino ou câncer de pâncreas em que se inicia pelo gene *BRCA2*. Quando o primeiro sequenciamento for negativo, realizar o sequenciamento do outro gene (*BRCA2* ou *BRCA1*).
- c. Em caso de resultado negativo nos itens a ou b, realizar MLPA dos genes *BRCA1* e *BRCA2*.
3. Nos casos de pacientes enquadrados no item 7, realizar teste das 3 mutações fundadoras Ashkenazi nos genes *BRCA1* e *BRCA2*, a saber: *BRCA1* 185delAG (c.66_67delAG, p.Glu23fs), *BRCA1* 5382insC (c.5263insC, p.Gln1756fs), e *BRCA2* 6174delT (c.5946delT, p.Ser1982fs). Se nenhuma destas mutações for identificada e outros critérios de elegibilidade forem contemplados conforme descrito nos itens 1, 2, 3, 4, 5, 7 e 8, deve ser realizada a análise seguindo os critérios de análise escalona descrito para cada item.

OBS 1: Nos pacientes em que forem encontradas mutações patogênicas nos genes *BRCA1* ou *BRCA2*, mesmo que assintomáticos, a mastectomia e a salpingo-ooforectomia redutoras de risco, bem como a reconstrução das mamas são de cobertura obrigatória da mesma forma que a cobertura prevista para pacientes com diagnóstico de câncer, quando indicado pelo médico assistente.

OBS 2: Para fins desta DUT, tumores invasivos e *in situ* da mama serão considerados igualmente na definição "câncer de mama". Para fins desta DUT, serão incluídos na definição "câncer de ovário" os tumores epiteliais de ovário, trompas de falópio e tumores primários de peritônio.

REFERÊNCIAS:

1. [Carraro DM](#), [Koike Folgueira MA](#), [Garcia Lisboa BC](#), [Ribeiro Olivieri EH](#), [Vitorino Krepischki AC](#), [de Carvalho AF](#), [de Carvalho Mota LD](#), [Puga RD](#), [do Socorro Maciel M](#), [Michelli RA](#), [de Lyra EC](#), [Grosso SH](#), [Soares FA](#), [Achatz MI](#), [Brentani H](#), [Moreira-Filho CA](#), [Brentani MM](#). Comprehensive analysis of BRCA1, BRCA2 and TP53 germline mutation and tumor characterization: a portrait of early-onset breast cancer in Brazil. [PLoS One](#). 2013;8(3):e57581. doi: 10.1371/journal.pone.0057581. Epub 2013 Mar 1.

2. Couch FJ, Hart SN, Sharma P, Toland AE, Wang X, Miron P, Olson JE, Godwin AK, Pankratz VS, Olswold C, Slettedahl S, Hallberg E, Guidugli L, Davila JJ, Beckmann MW, Janni W, Rack B, Ekici AB, Slamon DJ, Konstantopoulou I, Fostira F, Vratimos A, Fountzilas G, Pelttari LM, Tapper WJ, Durcan L, Cross SS, Pilarski R, Shapiro CL, Klemp J, Yao S, Garber J, Cox A, Brauch H, Ambrosone C, Nevanlinna H, Yannoukakos D, Slager SL, Vachon CM, Eccles DM, Fasching PA. [Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer.](#) J Clin Oncol. 2015; 33(4):304-11. doi: 10.1200/JCO.2014.57.1414. Epub 2014 Dec 1.
3. Euhus DM, Robinson L. [Genetic predisposition syndromes and their management.](#) Surg Clin North Am. 2013; 93(2):341-62. doi: 10.1016/j.suc.2013.01.005. Epub 2013 Feb 11
4. Gadzicki D, Evans DG, Harris H, Julian-Reynier C, Nippert I, Schmidtke J, Tibbn A, van Asperen CJ, Schlegelberger B. Genetic testing for familial/hereditary breast cancer – comparison of guidelines and recommendations from the UK, France, the Netherlands and Germany. J Community Genet 2011; 2:53-69. Doi:10.1007/s12687-011-0042-4.
5. Greenup R, Buchanan A, Lorizio W, et al. Prevalence of BRCA mutations among women with triple-negative breast cancer (TNBC) in a genetic counseling cohort. *Ann Surg Oncol* 2013;20:3254–3258.
6. Leegte B, van der Hout AH, Deffenbaugh AM, Bakker MK, Mulder IM, ten Berge A, Leenders EP, Wesseling J, de Hullu J, Hoogerbrugge N, Ligtenberg MJ, Ardern-Jones A, Bancroft E, Salmon A, Barwell J, Eeles R, Oosterwijk JC. [Phenotypic expression of double heterozygosity for BRCA1 and BRCA2 germline mutations.](#) J Med Genet. 2005 42(3):e20.
7. Liede A, Karlan BY, Narod SA. Cancer risks for male carriers of germline mutations in BRCA1 or BRCA2: a review of the literature. *J Clin Oncol* 2004;22:735–742.
8. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Genetic/Familial High Risk Assessment: Breast and Ovarian. Version 2.2014. Disponível em URL: www.nccn.org
9. Acessado em: 15 de fevereiro de 2015.
10. NICE. National Institute for Health and Care Excellence. Familial breast cancer: Classification and care of people at risk of familial breast cancer and

- management of breast cancer and related risks in people with a family history of breast cancer. NICE Guideline CG 164. June 2013. Disponível em URL: <http://www.nice.org.uk/guidance/cg164>. Acessado em 14 de fevereiro de 2015.
11. Peixoto A, Santos C, Pinto P, Pinheiro M, Rocha P, Pinto C, Bizarro S, Veiga I, Principe AS, Maia S, Castro F, Couto R, Gouveia A, Teixeira MR. [The role of targeted BRCA1/BRCA2 mutation analysis in hereditary breast/ovarian cancer families of Portuguese ancestry](#). Clin Genet. 2014 Jun 10. doi: 10.1111/cge.12441. [Epub ahead of print].
 12. Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, et al. Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 2001;68:700–710.
 13. Walsh T, Casadei S, Lee MK, et al. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:18032–18037.
 14. Weitzel JN, Lagos VI, Cullinane CA, Gambol PJ, Culver JO, Blazer KR, Palomares MR, Lowstuter KJ, MacDonald DJ. Limited family structure and BRCA gene mutation status in single cases of breast cancer. *JAMA*. 2007;297:2587-95.

8 COMPLEXO DA ESCLEROSE TUBEROSA

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos que preenchem os critérios estabelecidos nos itens abaixo*:
 - a. Para pacientes que apresentem Esclerose Tuberosa Provável que preencham um critério do Grupo I e um critério do Grupo II.
 - b. Para pacientes que apresentem Esclerose Tuberosa Possível que preencham um critério do Grupo I ou pelo menos dois critérios do Grupo II.
- * Para pacientes que apresentem Esclerose Tuberosa Definitiva e que preencham dois critérios do Grupo I ou um critério do Grupo I e dois critérios do Grupo II, a cobertura do diagnóstico molecular não é obrigatória.

Grupo I (Sinais maiores):

- a. Angiofibromas faciais ou placa na fronte
- b. Fibromas ungueais ou periungueais não traumáticos
- c. Manchas hipomelanóticas (três ou mais)
- d. Nevus de tecido conjuntivo
- e. Múltiplos hamartomas nodulares de retina
- f. Tuber cortical
- g. Nódulo subependimário
- h. Astrocitoma subependimário de células gigantes
- i. Rabdomioma cardíaco
- j. Linfangiomiomatose
- k. Angiomiolipoma renal

Grupo II (Sinais menores):

- a. Múltiplas fossetas espalhadas no esmalte dentário
- b. Pólipos retais hamartomatosos
- c. Cistos ósseos
- d. Linhas de migração radial na substância branca cerebral
- e. Fibromas gengivais
- f. Hamartoma não renal
- g. Mancha acrômica na retina
- h. Lesões de pele em "confete"
- i. Cistos renais múltiplos

OBS: Quando Linfangiomiomatose e angiomiolipomas renais forem concomitantes eles serão considerados sinal clínico único.

2. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de indivíduos de ambos os sexos com parentes de 1º, 2º ou 3º graus com diagnóstico molecular confirmado.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tenha sido identificada na família,

- realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Realizar Sequenciamento de Nova Geração de toda região codificante dos genes TSC1 e TSC2.
 3. Quando não for possível realizar o Sequenciamento de Nova Geração, realizar o Sequenciamento por Sanger do gene TSC2. Se não for diagnosticada mutação patogênica através do Sequenciamento do gene TSC2, realizar o Sequenciamento por Sanger gene TSC1.
 4. Nos casos em que o diagnóstico não for estabelecido através dos itens acima, realizar MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) para o gene TSC2.
 5. Nos casos em que o diagnóstico não for estabelecido através do item anterior, realizar MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) para o gene TSC1.

REFERÊNCIAS:

1. Northrup H, Koenig MK, Au KS. Tuberous Sclerosis Complex. 1999 Jul 13 [Updated 2011 Nov 23]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1220/>

9 DEFICIÊNCIA DE ALFA 1 – ANTITRIPSINA

1. Cobertura obrigatória para pacientes com diagnóstico de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) ou doença hepática crônica ou paniculite necrosante ou vasculite com anticorpo anti-citoplasma de neutrófilos positivo (ANCA) ou bronquiectasia, quando preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. níveis plasmáticos diminuídos de Alfa-1 Antitripsina;
 - b. presença de inclusões intra-hepáticas positivas para ácido periódico-schiff (PAS);
 - c. presença de enfisema localizado em lobos inferiores em radiografia ou tomografia de tórax em pacientes com menos de 45 anos.

Método de análise:

1. Pesquisa das variantes S e Z por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em gel de agarose ou por eletroforese capilar do gene SERPINA1.

10 DISPLASIA CAMPOMÉLICA

1. Cobertura obrigatória para recém-nascidos e crianças que apresentem displasia óssea e encurtamento de membros, quando preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. alterações nos achados clínicos e radiológicos sugestivos (macrocrania com fronte ampla e/ou arqueamento do fêmur ou tíbia e/ou hipoplasia de escápula e/ou hipoplasia de púbis e/ou asas ilíacas estreitas e verticalizadas e/ ou deformidades de mãos e pés e/ou platispondilia cervical e/ou tórax estreito e/ou hipomineralização do esterno e/ou braquidactilia e/ou sequência de Pierre Robin);
 - b. sexo reverso ou genitália ambígua.

Método de análise:

1. Sequenciamento bidirecional pelo método analítico de Sanger dos três éxons e das regiões de transição éxon/íntron do gene SOX9.

11 DISTROFIA MIOTÔNICA TIPO I E II

1. Cobertura obrigatória para pacientes com fraqueza muscular ou miotonia que apresente a forma clássica ou tardia, com ou sem história familiar quando preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. Alterações eletroneuromiográficas;
 - b. Alterações eletrocardiográficas;
 - c. Alterações nos níveis de CK sérica;
 - d. Intolerância à glicose ou diabetes;
 - e. Hipogonadismo;
 - f. Catarata.

2. Cobertura obrigatória para pacientes com fraqueza muscular ou hipotonia grave sugestivos da forma infantil ou congênita, com história materna de Distrofia Miotônica.
3. Cobertura obrigatória para familiar assintomático de 1º grau ou 2º grau de caso confirmado através de diagnóstico molecular quando houver previsão de procedimento cirúrgico com anestesia geral.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Pesquisa de mutação dinâmica por expansão de trinucleotídeos CTG no íntron 1 do gene DMPK por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em gel de agarose ou eletroforese capilar ou Método de Southern Blot.
2. No caso de pacientes com a forma clássica ou tardia em que o diagnóstico não tenha sido confirmado através do item acima, realizar pesquisa de mutação dinâmica por expansão de repetições CCTG no íntron 1 do gene ZNF9 por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em gel de agarose ou eletroforese capilar ou Método de Southern Blot.

12 DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE/BECKER

1. Cobertura obrigatória para indivíduos do sexo masculino, sintomáticos (fraqueza muscular proximal com CK total elevada e/ou ENMG [eletroneuromiografia] alterada, com ou sem biópsia muscular), para pesquisar o gene distrofina.
2. Para o aconselhamento genético dos familiares de 1º, 2º ou 3º graus do lado materno e do sexo feminino em risco (possibilidade de ser portadora – doença recessiva ligada ao X), quando preenchido pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. Quando o caso índice tiver diagnóstico molecular estabelecido;
 - b. Quando o caso índice for falecido, mas tiver diagnóstico clínico e laboratorial estabelecido, mesmo sem diagnóstico molecular

Método de análise utilizado de forma escalonada:

Para o item 1:

- a. Para pesquisa de deleções ou duplicações: PCR multiplex ou MLPA para éxons do gene DMD. Deleções de um éxon simples devem ser confirmadas por um procedimento independente.
- b. Apenas se não esclarecido pelos anteriores, Sequenciamento de Nova Geração ou Sequenciamento Completo bidirecional por Sanger das regiões codificantes de todo o gene DMD.

Para o item 2:

- a. No caso da mutação ter sido identificada na família, realizar somente a análise específica desta mutação (deleção, duplicação ou análise do éxon específico)
- b. No caso de parente falecido com Distrofia Muscular de Duchenne ou Becker sem análise molecular, a investigação deve ser escalonada conforme descrito a seguir:

I. Pesquisa da mãe portadora obrigatória (mãe do caso índice):

- a. Para pesquisa de deleções ou duplicações: PCR multiplex ou MLPA para éxons do gene DMD. Deleções de um éxon simples devem ser confirmadas por um procedimento independente.
- b. Apenas se não esclarecido pelos anteriores, Sequenciamento de Nova Geração ou Sequenciamento Completo bidirecional por Sanger das regiões codificantes de todo o gene DMD.

II. Caso a mãe portadora obrigatória (mãe do caso índice) for falecida, realizar a pesquisa na mulher em risco:

- a. Para pesquisa de deleções ou duplicações: PCR multiplex ou MLPA para éxons do gene DMD. Deleções de um éxon simples devem ser confirmadas por um procedimento independente.
- b. Apenas se não esclarecido pelos anteriores, Sequenciamento de Nova Geração ou Sequenciamento Completo bidirecional por Sanger das regiões codificantes de todo o gene DMD.

13 DOENÇA DE HUNTINGTON

1. Cobertura obrigatória para indivíduos sintomáticos com presença de pelo menos 2 dos seguintes critérios:
 - a. coreia progressiva ou distonia
 - b. distúrbios psiquiátricos (mudanças na personalidade ou declínio cognitivo ou depressão) independente da faixa etária.
 - c. história familiar de coreia progressiva sugestiva de herança autossômica dominante.
2. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de indivíduos sintomáticos que apresentem familiares de 1º, 2º ou 3º graus com diagnóstico de doença de Huntington confirmados por análise molecular.
3. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de indivíduos assintomáticos acima de 18 anos, em risco, que apresentem familiares de 1º, 2º ou 3º graus confirmados por análise molecular.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Pesquisa de expansões de trinucleotídeos CAG por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com análise de fragmentos por eletroforese capilar do gene HTT.

REFERÊNCIAS:

1. Saft C, Leavitt BR, Epplen JT. Clinical utility gene card for: Huntington's disease European Journal of Human Genetics (2014) 22, doi:10.1038/ejhg.2013.206; published online 9 October 2013
2. Warby SC, Graham RK, Hayden MR. Huntington Disease. 1998 Oct 23 [updated 2014 Dec 11]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, Smith RJH, Stephens K, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2014. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1305/>

14 DOENÇAS RELACIONADAS AO COLÁGENO DO TIPO 2 (COL2A1), INCLUINDO DISPLASIA ESPÔNDILO-EPIFISÁRIA CONGÊNITA, DISPLASIA DE KNIEST, DISPLASIA ESPÔNDILO-EPI-METAFISÁRIA DO TIPO STRUDWICK, DISPLASIA PLATISPONDÍLICA DO TIPO TORRANCE, SÍNDROME DE STICKLER TIPO I

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos que apresentem características clínico-radiológicas sugestivas de displasia esquelética por collagenopatia do tipo 2 e baixa estatura desproporcionada (abaixo do percentil 5) com tronco curto quando preenchidos pelo menos 2 critérios do Grupo I e pelo menos 3 critérios do Grupo II.

Grupo I (Critérios clínicos):

- a. Alta miopia, acima de 6DP.
- b. Hipoplasia de terço médio de face com órbita rasa.
- c. Fenda palatina ou úvula bífida.
- d. Perda auditiva.

Grupo II (Critérios radiológicos):

- a. Atraso de ossificação da epífise proximal da cabeça femoral e do púbis nos lactentes.
- b. Platispondilia com defeitos de ossificação anterior.
- c. Hipoplasia de processo odontóide de C2.
- d. Graus variados de irregularidade epifisária ou metafisária e de encurtamento dos ossos longos.
- e. Atraso de ossificação da pélvis, com tetos acetabulares horizontalizados, achatamento da cabeça femoral e coxa vara.
- f. Atraso de ossificação dos ossos do carpo e tarso.

2. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com até 28 dias de

vida que apresentem baixa estatura desproporcionada (abaixo do percentil 5) com tronco curto quando preenchidos pelo menos 4 critérios do Grupo II.

Grupo II (Critérios radiológicos):

- a. Atraso de ossificação da epífise proximal da cabeça femoral e do púbis nos lactentes.
 - b. Platispondilia com defeitos de ossificação anterior.
 - c. Hipoplasia de processo odontóide de C2.
 - d. Graus variados de irregularidade epifisária ou metafisária e de encurtamento dos ossos longos.
 - e. Atraso de ossificação da pélvis, com tetos acetabulares horizontalizados, achatamento da cabeça femoral e coxa vara.
 - f. Atraso de ossificação dos ossos do carpo e tarso.
3. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de indivíduos de ambos os sexos com parentes de 1º, 2º ou 3º graus com diagnóstico molecular confirmado.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tiver sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Realizar Sequenciamento de Nova Geração ou Sanger de toda região codificante do gene COL2A1.

REFERÊNCIAS:

1. OMIM: <http://omim.org/entry/120140>
2. Terhal PA et al. A Study of the Clinical and Radiological Features in a Cohort of 93 Patients with a COL2A1 Mutation Causing Spondyloepiphyseal Dysplasia Congenita or a Related Phenotype. Am J Med Genet A. 2015 Mar;167(3):461-75.

15 DOENÇAS RELACIONADAS AO COLÁGENO DO TIPO 3 (COL3A1), EHLERS-DANLOS TIPO IV E ANEURISMA AÓRTICO ABDOMINAL FAMILIAL (AAA)

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos que apresentem características sugestivas de síndrome de Ehlers-Danlos (EDS) tipo IV, sem deformidades esqueléticas quando preenchido 1 critério do Grupo I e pelo menos 2 critérios do Grupo II.*

Grupo I:

- a. Rotura arterial
- b. Rotura intestinal
- c. Rotura uterina durante gravidez
- d. História familiar de EDS tipo IV

Grupo II:

- a. Pele fina e translúcida
- b. Dismorfismos faciais característicos (lábios e filtro nasogeniano finos, queixo pequeno, nariz afilado, olhos grandes)
- c. Acrogeria
- d. Fístula arteriovenosa em carótida
- e. Hiperextensibilidade de pequenas articulações
- f. Rotura muscular ou tendínea
- g. Varizes precoces
- h. Pneumotórax ou pneumohemotorax
- i. Hematomas espontâneos ou após trauma mínimo
- j. Luxações ou subluxações articulares crônicas
- k. Pés equinovaros
- l. Recessão gengival

* Para pacientes que preencham dois critérios do Grupo I a cobertura do diagnóstico molecular não é obrigatória.

2. Cobertura obrigatória para parentes de 1º, 2º, e 3º graus de ambos os sexos sem necessidade de quadro clínico, quando já tiver sido identificada mutação no caso índice

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Realizar Sequenciamento de Nova Geração ou Sequenciamento por Sanger de toda região codificante do gene COL3A1.

REFERÊNCIAS:

1. <http://www.nature.com/ejhg/journal/v21/n1/pdf/ejhg2012162a.pdf>
2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1494/>

16 DOENÇAS RELACIONADAS AO GENE FMR1 (SÍNDROME DO X FRÁGIL, SÍNDROME DE ATAXIA/TREMOR ASSOCIADOS AO X FRÁGIL - FXTAS E FALÊNCIA OVARIANA PREMATURA - FOP)

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com deficiência intelectual ou atraso do desenvolvimento neuropsicomotor ou autismo apresentando pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. história familiar positiva de deficiência intelectual na linhagem materna;
 - b. características físicas ou comportamentais sugestivas da síndrome do X frágil.
2. Cobertura obrigatória para pacientes do sexo feminino com falência ovariana antes dos 40 anos (prematura) sem causa definida e após realização de cariótipo, dosagem de LH e FSH.
3. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com mais de 50 anos de idade com quadro de ataxia cerebelar progressiva e tremor de intenção

com história familiar positiva de doenças relacionadas ao FMR1 e cujas causas comuns não genéticas de ataxia tenham sido excluídas.

4. Cobertura obrigatória para familiar assintomático de 1º, 2º ou 3º graus de caso confirmado através de diagnóstico molecular.
5. Cobertura obrigatória para familiar assintomático de 1º, 2º ou 3º graus de caso confirmado clinicamente, quando o caso índice for falecido sem confirmação molecular.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Pesquisa de mutação dinâmica por expansão de trinucleotídeos CGG no gene FMR1 por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) por polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição em gel de agarose ou por eletroforese capilar.
2. Em caso de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) sugestivo de mutação completa ou pré-mutação grande, confirmar por Método de Southern blot ou eletroforese capilar.

17 FIBROSE CÍSTICA E DOENÇAS RELACIONADAS AO GENE CFTR

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com manifestações clínicas de Fibrose Cística e pelo menos dois testes bioquímicos duvidosos ou normais realizados em dias diferentes (dosagem de Cloro no suor normais ou limítrofes <60meq/l).
2. Cobertura obrigatória para recém-nascido com teste de triagem neonatal alterado para fibrose cística (hipertripsinemia - IRT) em pelo menos duas dosagens realizadas em dias diferentes.
3. Cobertura obrigatória para pacientes do sexo masculino com cariótipo normal e azoospermia obstrutiva confirmada através de pelo menos dois

espermogramas realizados em dias diferentes e exame de imagem que demonstre agenesia de ductos deferentes.

4. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de indivíduos assintomáticos e sem história de pai ou mãe com Fibrose Cística, quando o parceiro/cônjuge tiver diagnóstico bioquímico ou molecular de Fibrose Cística.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que as mutações nos dois alelos do gene CFTR já tiverem sido identificadas na família, realizar apenas a pesquisa destas mutações específicas.
2. Nos casos em que a mutação genética ainda não foi identificada na família, realizar análise da mutação DF508 no gene CFTR.
3. Para os pacientes enquadrados no item 2, caso tenham uma ou nenhuma mutação DF508 realizar Sequenciamento bidirecional pelo método de Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene CFTR.
4. Para os pacientes enquadrados no itens 1, 3 ou 4, caso tenham uma ou nenhuma mutação DF508 realizar painel para fibrose cística com pelo menos as seguintes mutações G542X, S549R, G551D, Q552X no gene CFTR. No caso do exame anterior ser negativo, realizar painel de pelo menos 32 mutações para o sexo feminino e 32 mutações e pesquisa variantes poliT no intron 8 para o sexo masculino.

REFERÊNCIAS:

1. Moskowitz SM, MD Chmiel JF, , Stern DL, , Cheng E, , Cutting GR,. CFTR-Related Disorders Includes: Congenital Absence of the Vas Deferens, Cystic Fibrosis. Thorax. 2006 Jul; 61(7): 627–635.
2. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, Sinaasappel M.Can Fam Physician. 2012 Dec; 58(12): 1341–1345.
3. Schram CA. Atypical cystic fibrosis -Identification in the primary care setting. Eur J Hum Genet. 2009 Jan;17(1):51-65.
4. Dequeker E1, Stuhmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, Claustres M, Cuppens H, des Georges M, Ferec C, Macek M, Pignatti PF, Scheffer H, Schwartz

- M, Witt M, Schwarz M, Girodon E. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders--updated European recommendations. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012 December; 2(12)
5. Ferec C, Cutting GR. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice J Cyst Fibros. 2008 May; 7(3): 179–196.
 6. Castellani HC, Cuppens MM, Cassiman JJr, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael BM, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, J. Dodge, Doull I, Farrell P, Ferec C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhmann M, Tzetis M, Zielenski J, Elborn JS Genet Med. 2008 December; 10(12): 851–868.
 7. Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, Cheng E, Gibson RL, Marshall SG, Garry R, Cutting GR. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders Expert Rev Mol Diagn. 2014 Jun;14(5):605-22 <http://www.uptodate.com/contents/cystic-fibrosis-clinical-manifestations-and-diagnosis?topicKey=PEDS%2F6367&elapsedTimeMs=0&view=print&displayedView=full> (acesso em 09/03/2015)
 8. Grosu DS, Hague L, Chelliserry M, Kruglyak KM, Lenta R, Klotzle B, San J, Goldstein WM, Moturi S, Devers P, Woolworth J, Peters E, Elashoff B, Stoerker J, Wolff DJ, Friedman KJ, Highsmith WE, Lin E, Ong FS. Clinical investigational studies for validation of a next-generation sequencing in vitro diagnostic device for cystic fibrosis testing.

18 HEMOCROMATOSE

1. Cobertura obrigatória para confirmação diagnóstica em pacientes nos quais as causas secundárias de sobrecarga de ferro tiverem sido excluídas e haja persistência de índice de saturação de transferrina maior que 45% em pelo menos duas dosagens.

Método de análise:

1. Detecção de mutações nos alelos C282Y e H63D do gene HFE por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com ou sem polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP) ou PCR multiplex.

19 HEMOFILIA A

1. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético, de pacientes do sexo masculino e com diagnóstico bioquímico de hemofilia no caso em que parentes de 1º e 2º graus do sexo feminino da linhagem materna tenham desejo de engravidar.
2. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético dos familiares do sexo feminino em risco (possibilidade de ser portadora assintomática – doença recessiva ligada ao X), apenas a partir do diagnóstico molecular do caso índice.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. No caso da forma grave de hemofilia, realizar:
 - a. PCR longa (Long-range PCR) ou PCR inversa (Inverse-shifting IS-PCR) para a detecção da inversão do íntron 22.
 - b. Sequenciamento Nova Geração dos 26 éxons do gene F8.
 - c. Nos casos em que o Sequenciamento Nova Geração não estiver disponível, realizar o Sequenciamento bidirecional por Sanger dos 26 éxons do gene F8.
3. No caso da forma leve ou moderada de hemofilia, realizar o Sequenciamento bidirecional por Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos 26 éxons do gene F8.

20. HEMOFILIA B

1. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético, de pacientes do sexo masculino e com diagnóstico bioquímico de hemofilia no caso em que parentes

de 1º e 2º graus do sexo feminino da linhagem materna tenham desejo de engravidar.

2. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético dos familiares do sexo feminino em risco (possibilidade de ser portadora assintomática de doença recessiva ligada ao X), apenas a partir do diagnóstico molecular do caso índice.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Nos casos em que a mutação genética ainda não foi identificada na família, realizar Sequenciamento de Nova Geração ou Sequenciamento bidirecional por Sanger dos 8 éxons do gene F9.

21. MUCOPOLISSACARIDOSE

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com diagnóstico enzimático de mucopolissacaridose I (alfa-L-iduronidase- gene IDUA) para aconselhamento genético de parentes de 1º e 2º graus com desejo de engravidar com finalidade de diagnóstico pré-natal.
2. Cobertura obrigatória para pacientes do sexo masculino com diagnóstico enzimático de mucopolissacaridose II (iduronato-2- sulfatase/gene IDS) para aconselhamento genético de parentes da linhagem materna de 1º, 2º e 3º graus com desejo de engravidar.
3. Cobertura obrigatória para aconselhamento genético de mulheres assintomáticas com história familiar de parentes de 1º, 2º e 3º graus do sexo masculino com mucopolissacaridose II e mutação patogênica identificada.

4. Cobertura obrigatória de feto de ambos os sexos em risco para mucopolissacaridose tipo I, quando a mutação do caso índice for conhecida.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. No caso em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa de mutação específica.
2. Para os casos do item 1 dos critérios de elegibilidade, realizar o Sequenciamento bidirecional por Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene correspondente à mucopolissacaridose de acordo com análise enzimática identificada.
3. Para MPS II, caso o Sequenciamento bidirecional pelo método analítico de Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene IDS não detecte alterações, realizar MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) ou Hibridização Comparativa para pesquisa de deleções do cromossomo X.
4. Para mulheres em risco de serem portadoras de MPS II, com Sequenciamento bidirecional pelo método analítico de Sanger, Sequenciamento de Nova Geração e MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) normais, realizar pesquisa de rearranjo entre o gene IDS e o pseudogene IDS2.

22. NEOPLASIA ENDRÓCRINA MÚLTIPLA TIPO I-MEN1

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos, que apresentem pelo menos 2 critérios do Grupo I com ou sem história familiar de MEN1 :
Grupo I:
 - a. Tumores das glândulas paratireóides
 - b. Tumores da glândula pituitária
 - c. Tumores endócrinos bem diferenciados do trato gastro-entero-pancreático
2. Cobertura obrigatória para aconselhamento genético de pacientes assintomáticos, familiares de 1º, 2º ou 3º graus de caso índice com diagnóstico molecular de MEN1 .

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Nos casos em que a mutação genética ainda não foi identificada na família, realizar Sequenciamento por Nova Geração do gene MEN1.
3. Se não for possível o item 2, realizar o Sequenciamento bidirecional por Sanger dos éxons do gene MEN1.
4. Para os casos onde os itens 2 ou 3 não forem conclusivos, realizar MLPA.

23. NEOPLASIA ENDRÓCRINA MÚLTIPLA TIPO 2A– MEN2A

1. Cobertura obrigatória para pacientes com diagnóstico de câncer medular de tireóide com ou sem história familiar.
2. Cobertura obrigatória para pacientes que preencham pelo menos um dos critérios do Grupo I e do Grupo II *:

Grupo I:

Pacientes com diagnóstico de:

- a. Feocromocitoma
- b. Neuromas de mucosas
- c. Hiperparatireoidismo
- d. Hábito marfanóide.

Grupo II:

Parentes de 1º e 2º graus com diagnóstico de:

- a. Carcinoma medular de tireóide
- b. Feocromocitoma
- c. Neuromas de mucosas
- d. Hiperparatireoidismo
- e. Hábito marfanóide

*exceto em pacientes que apresentem apenas hábito marfanóide isoladamente nos Grupos I e II.

3. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de familiares de 1º, 2º e 3º graus após o diagnóstico molecular do caso índice.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Sequenciamento bidirecional pelo método analítico de Sanger dos éxons 5, 8, 10, 11, 13, 14, 15 e 16 do gene *RET* ou Sequenciamento de Nova Geração do gene *RET*.

OBS: Nos pacientes assintomáticos em que forem encontradas mutações no gene *RET* a tireoidectomia profilática é de cobertura obrigatória, quando indicada pelo médico assistente.

REFERÊNCIAS:

1. Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar – Câncer Medular de Tireóide: Tratamento – 31/01/2011.

24. OSTEOGÊNESE IMPERFEITA

1. Cobertura obrigatória para pacientes sintomáticos com quadro clínico e radiológico sugestivo de alguma das formas de apresentação da doença com ou sem histórico familiar, com dosagem sérica de cálcio e fósforo normais e fosfatase alcalina normal ou aumentada quando os seus genitores ou o indivíduo sintomático tenham desejo de engravidar.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Pesquisa da mutação única c-14C-T por Sequenciamento bidirecional pelo método analítico de Sanger da região 5'UTR do gene IFITM5, apenas nos casos em que houver calcificação da membrana interóssea do antebraço ou perna, deslocamento da cabeça do rádio ou calo ósseo hiperplásico.
2. Realizar Sequenciamento de Nova Geração envolvendo os genes *COL1A1*, *COL1A2*, *CRTAP*, *LEPR1* e *PPIB*.
3. No caso de não estar disponível o Sequenciamento de Nova Geração, realizar Sequenciamento por Sanger de maneira escalonada, conforme descrito abaixo:
 - I- Sequenciamento por Sanger do gene *COL1A1*
 - II- Caso não seja encontrada alteração patogênica no item I, realizar Sequenciamento por Sanger do gene *COL1A2*

25. POLIPOSE COLÔNICA

1. Cobertura obrigatória para pacientes com a forma clássica de polipose colônica caracterizada pela presença de mais de 100 pólipos, quando excluído o diagnóstico de Síndrome Lynch a partir de critérios clínicos, endoscópicos e histopatológicos, e nos quais o diagnóstico molecular seja necessário para avaliação de risco da prole.
2. Cobertura obrigatória para pacientes com a forma não clássica de polipose colônica caracterizada pela presença de 10-100 pólipos, quando excluído o diagnóstico de Síndrome Lynch a partir de critérios clínicos, endoscópicos e histopatológicos, e nos quais o diagnóstico molecular seja necessário para avaliação de risco da prole.
3. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de familiares de 1º, 2º e 3º graus após o diagnóstico molecular de mutação patogênica no gene *APC* no caso índice.
4. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de irmãos e irmãs de pacientes que já tenham mutação patogênica identificada no gene *MUTYH*.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Nos casos não enquadrados no item acima, realizar o Sequenciamento de Nova Geração dos éxons dos genes *APC* e *MUTYH* ou, se este não estiver disponível, Sequenciamento bidirecional por Sanger dos exons de *APC* seguido de Sequenciamento bidirecional por Sanger dos éxons de *MUTYH* (se o teste de *APC* for negativo).
3. Nos casos em que o diagnóstico não for estabelecido através do item anterior, realizar MLPA (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification) do gene *APC*.
4. Nos casos com câncer colorretal e/ou polipose colônica em 2 ou mais irmãos(ãs), sem evidência de câncer colorretal e/ou polipose colônica em outras gerações, ou nos casos isolados de câncer colorretal e/ou polipose colônica em que os pais são consangüíneos, realizar inicialmente Sequenciamento de Nova Geração ou Sequenciamento Sanger dos éxons de *MUTYH*.

OBS: Nos pacientes com polipose adenomatosa, a colectomia é de cobertura obrigatória, quando indicada pelo médico assistente.

26. SÍNDROME CHARGE

1. Cobertura obrigatória pacientes de ambos os sexos com cariótipo normal e com pelo menos 2 características maiores e pelo menos 2 características menores da síndrome CHARGE.

Características maiores:

- a) microftalmia ou coloboma ocular (coloboma de íris e/ou retina e/ou coróide e/ou disco)
- b) atresia ou estenose de coana (uni ou bilateral)
- c) disfunção de nervo craniano (hiposmia e/ou anosmia e/ou paralisia facial e/ou hipoplasia do nervo auditivo e/ou dificuldade de deglutição com aspiração)

- d) alterações de orelha característica de CHARGE (orelha displásica, malformações ossiculares em orelha média, malformação de Mondini, anormalidades do osso temporal, ausência ou hipoplasia de canais semicirculares)

Características menores:

- a) hipoplasia genital ou hipogonadismo hipogonadotrófico
- b) atraso do desenvolvimento neuropsicomotor
- c) malformação cardiovascular
- d) déficit de crescimento
- e) fenda orofacial
- f) fístula traqueoesofágica
- g) dismorfismos faciais

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Excluir anomalias cromossômicas no cariótipo
2. Pesquisa de mutação no gene CHD7 por Sequenciamento bidirecional por Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração

Referência: GeneReviews: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1117/>

27. SÍNDROME DE ANGELMAN E SÍNDROME DE PRADER-WILLI

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com atraso do desenvolvimento e manifestações clínicas sugestivas da doença (fenótipo) de Síndrome de Angelman ou Síndrome de Prader-Willi.
2. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de familiar de 1º grau assintomático do caso índice com diagnóstico molecular de mutação no gene UBE3A (para Síndrome de Angelman).

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos de Síndrome de Angelman em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica no gene UBE3A.
2. Para confirmação diagnóstica em pacientes sintomáticos com suspeita de Síndrome de Angelman ou Síndrome de Prader-Willi, realizar teste de metilação da região cromossômica do gene SNRPN (15q11.2):
 - a. Se metilação alterada, realizar FISH (Hibridação In Situ Fluorescente) ou MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) para pesquisa de deleção da região 15q11.2
 - b. Se FISH (Hibridação In Situ Fluorescente) ou MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) forem normais, realizar Análise de Microssatélites para pesquisa de dissomia uniparental da região 15q11.2.
3. Para confirmação diagnóstica em pacientes sintomáticos com suspeita de Síndrome de Angelman e teste de metilação normal, realizar a pesquisa de mutações nos éxons do UBE3A por Sequenciamento bidirecional pelo método analítico de Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene UBE3A.

28. SÍNDROME DE COWDEN

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com macrocefalia e pelo menos um dos seguintes critérios:
 - a. Pelo menos dois triquilemomas comprovados por biópsia.
 - b. Pelo menos um câncer do espectro da Síndrome de Cowden (câncer de mama, câncer de endométrio, câncer de tireoide folicular).
 - c. Pelo menos uma lesão benigna típica da Síndrome de Cowden (múltiplos hamartomas gastrointestinais, ganglioneuromas, pigmentação macular da glândula do pênis, triquilemomas, múltiplas queratoses palmo-plantares, papilomatose de mucosa oral, inúmeras pápulas faciais).

- d. Pelo menos três das lesões menores da Síndrome de Cowden (Carcinoma de células renais, Câncer de cólon, Câncer de tireóide papilífero, ≥ 3 Acantoses esofágicas glicogênicas, lipomas, lipomatose testicular, adenoma de tireoide, nódulo de tireoide ou bócio multinodular de tireoide, anomalias vasculares incluindo múltiplas anomalias venosas intracranianas de desenvolvimento, Déficit cognitivo com $QI \leq 75$, transtorno do espectro autista).
 - e. Com diagnóstico de transtorno do espectro autista.
-
- 2. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com diagnóstico atual ou prévio de pelo menos três lesões benignas ou malignas da Síndrome de Cowden (câncer de mama, câncer de endométrio, câncer de tireoide folicular, múltiplos hamartomas gastrointestinais, ganglioneuromas, pigmentação macular da glândula do pênis, triquilemomas, múltiplas queratoses palmo-plantares, papilomatose de mucosa oral, inúmeras pápulas faciais).
 - 3. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com diagnóstico atual ou prévio de pelo menos quatro dos critérios menores da Síndrome de Cowden (Carcinoma de células renais, Câncer de cólon, Câncer de tireóide papilífero, ≥ 3 Acantoses esofágicas glicogênicas, lipomas, lipomatose testicular, adenoma de tireoide, nódulo de tireoide ou bócio multinodular de tireoide, anomalias vasculares incluindo múltiplas anomalias venosas intracranianas de desenvolvimento, Déficit cognitivo com $QI \leq 75$, transtorno do espectro autista).
 - 4. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com um câncer do espectro da Síndrome de Cowden (câncer de mama, câncer de endométrio, câncer de tireoide folicular) e mais três das lesões menores da Síndrome de Cowden (Carcinoma de células renais, Câncer de cólon, Câncer de tireóide papilífero, ≥ 3 Acantoses esofágicas glicogênicas, lipomas, lipomatose testicular, adenoma de tireoide, nódulo de tireoide ou bócio multinodular de tireoide, anomalias vasculares incluindo múltiplas anomalias venosas intracranianas de desenvolvimento, Déficit cognitivo com $QI \leq 75$, transtorno do espectro autista).

5. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com diagnóstico atual ou prévio de uma lesão benigna típica da Síndrome de Cowden (múltiplos hamartomas gastrointestinais, ganglioneuromas, pigmentação macular da glândula do pênis, triquilemomas, múltiplas queratoses palmo-plantares, papilomatose de mucosa oral, inúmeras pápulas faciais) e mais três das lesões menores da Síndrome de Cowden (Carcinoma de células renais, Câncer de cólon, Câncer de tireoide papilífero, ≥ 3 Acantoses esofágicas glicogênicas, lipomas, lipomatose testicular, adenoma de tireoide, nódulo de tireoide ou bócio multinodular de tireoide, anomalias vasculares incluindo múltiplas anomalias venosas intracranianas de desenvolvimento, Déficit cognitivo com $QI \leq 75$, transtorno do espectro autista).
6. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com diagnóstico de Bannayan-Riley-Ruvalcaba ou doença de Lhermitte-Duclos no adulto.
7. Cobertura obrigatória para indivíduos maiores de 18 anos, diagnosticados ou não com câncer, com ou sem achados clínicos da Síndrome de Cowden, independente do sexo, quando houver mutação deletéria em PTEN em familiar de 1º, 2º ou 3º graus.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Sequenciamento bidirecional pelo método de Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene PTEN.
2. Se o item anterior for negativo, realizar MLPA.
3. Se os itens anteriores forem negativos, investigar mutações na região promotora do gene por Sequenciamento bidirecional pelo método de Sanger.

REFERÊNCIAS

1. Euhus DM, Robinson L. Genetic predisposition syndromes and their management. Surg Clin North Am. 2013; 93(2):341-62. doi: 10.1016/j.suc.2013.01.005. Epub 2013 Feb 11.

2. Hampel H, Bennett RL, Buchanan A, Pearlman R, Wiesner GL. A practice guideline from the American College of Medical Genetics and Genomics and the National Society of Genetic Counselors: referral indications for cancer predisposition assessment. *Genet Med*. 2015 Jan;17(1):70-87. doi: 10.1038/gim.2014.147. Epub 2014 Nov 13.
4. Jelsig AM1, Qvist N, Brusgaard K, Nielsen CB, Hansen TP, Ousager LB. Hamartomatous polyposis syndromes: a review. *Orphanet J Rare Dis*. 2014 Jul 15;9:101. doi: 10.1186/1750-1172-9-101.
5. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Genetic/Familial High Risk Assessment: Breast and Ovarian. Version 2.2014. Disponível em URL: www.nccn.org . Acessado em: 15 de fevereiro de 2015.
6. Pilarski R, Burt R, Kohlman W, Pho L, Shannon KM, Swisher E. Cowden syndrome and the PTEN hamartoma tumor syndrome: systematic review and revised diagnostic criteria. *J Natl Cancer Inst*. 2013 Nov 6;105(21):1607-16. doi: 10.1093/jnci/djt277. Epub 2013 Oct 17.

29. SÍNDROME DE HIPOFOSFATASIA

1. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de pacientes sintomáticos com quadro clínico e radiológico compatível com alguma das formas de apresentação da doença com ou sem histórico familiar, com dosagem sérica de fosfatase alcalina diminuída, quando os seus genitores ou o indivíduo sintomático desejarem uma gestação.

Método analítico:

1. Sequenciamento bidirecional por Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene TNSAP.

30. SÍNDROME DE LI-FRAUMENI

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com diagnóstico atual ou prévio de sarcoma antes dos 45 anos e história familiar de câncer em um familiar de 1º grau antes dos 45 anos e mais um caso de câncer em um familiar de 1º ou 2º graus do mesmo lado da família com câncer antes dos 45 anos ou sarcoma em qualquer idade.
2. Cobertura obrigatória para pacientes com diagnóstico atual ou prévio de tumor característico da Síndrome de Li-Fraumeni (Sarcoma de partes moles, osteossarcoma, tumor de Sistema Nervoso Central, câncer de mama, carcinoma adrenocortical, leucemia, adenocarcinoma de pulmão) antes dos 46 anos quando preenchido um dos seguintes critérios:
 - b. Diagnóstico de outro tumor primário no mesmo indivíduo típico da Síndrome de Li-Fraumeni (Sarcoma de partes moles, osteossarcoma, tumor de SNC, câncer de mama, carcinoma adrenocortical, leucemia, adenocarcinoma de pulmão).
 - c. Um familiar de 1º ou 2º graus com câncer antes dos 56 anos.
 - d. Um familiar de 1º ou 2º graus com múltiplos tumores primários característicos da Síndrome de Li-Fraumeni (Sarcoma de partes moles, osteossarcoma, tumor de Sistema Nervoso Central, câncer de mama, carcinoma adrenocortical, leucemia, adenocarcinoma de pulmão). Se o caso índice tiver sido diagnosticado com câncer de mama, o familiar deverá ter desenvolvido outro tumor do espectro Li-fraumeni diferente de câncer de mama.
3. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com diagnóstico atual ou prévio de carcinoma adrenocortical em qualquer idade.
4. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com diagnóstico atual ou prévio de carcinoma de plexo coróide em qualquer idade.
5. Cobertura obrigatória para pacientes com diagnóstico de câncer de mama \leq 35 anos de idade.

6. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético dos familiares de 1º ou 2º grau assintomáticos quando o diagnóstico molecular de Síndrome de Li-Fraumeni tiver sido confirmado na família.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

Para pacientes enquadrados nos itens 1, 2, 3 e 4:

1. Análise da mutação específica p.R337H no gene TP53.
2. Se o item anterior for negativo, realizar Sequenciamento bidirecional por Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene TP53.
3. Se o item anterior for negativo, realizar pesquisa de rearranjos por MLPA.

Para pacientes enquadrados no item 5:

1. Para pacientes enquadrados no item 5, deve-se realizar inicialmente a pesquisa de mutação dos genes BRCA1 e BRCA2 conforme método escalonado descrito na diretriz específica de BRCA1 e BRCA2.
2. Caso os exames anteriores sejam negativos, realizar a mutação específica p.R337H no gene TP53.
3. Se o item anterior for negativo, realizar Sequenciamento bidirecional por Sanger ou Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene TP53.

31. SÍNDROME DE LYNCH – CÂNCER COLORRETAL NÃO POLIPOSO HEREDITÁRIO (HNPCC)

1. Cobertura obrigatória para pacientes com câncer colorretal que preencham um dos Critérios de Bethesda listados abaixo:
 - a. Paciente diagnosticado com câncer colorretal com menos de 50 anos;
 - b. Presença de pelo menos 2 tumores colorretais sincrônicos, metacrônicos ou pelo menos 2 outras neoplasias extracolônicas associadas à Síndrome de Lynch (HNPCC) diagnosticadas em qualquer idade;

- c. Paciente diagnosticado com câncer colorretal com instabilidade de microssatélites de alto grau (MSI-H) diagnosticado com menos de 60 anos;
 - d. Paciente diagnosticado com câncer colorretal com um ou mais parentes de 1º grau acometidos por neoplasias associadas à Síndrome de Lynch (HNPCC), sendo uma destas diagnosticada antes dos 50 anos;
 - e. Paciente diagnosticado com câncer colorretal com dois ou mais parentes de 1º grau acometidos por neoplasias associadas à Síndrome de Lynch (HNPCC) independentemente da idade.
2. Cobertura obrigatória para pacientes com diagnóstico de tumores do espectro da Síndrome de Lynch (adenocarcinoma colorretal, adenocarcinoma de endométrio, carcinoma urotelial [ureter e de pelve-renal], adenocarcinoma de ovário, adenocarcinoma gástrico; câncer de intestino delgado; glioblastoma; adenocarcinoma sebáceo; câncer do trato biliar e câncer de pâncreas) desde que preenchidos todos os critérios de Amsterdam II para a história familiar.
- Critérios de Amsterdam II :
- a. Três membros do mesmo lado da família, dois dos quais sejam parentes de 1º grau, com câncer do espectro da S. Lynch (conforme descrito acima),
 - b. Duas gerações sucessivas acometidas;
 - c. Um desses familiares com câncer diagnosticado com menos de 50 anos;
 - d. Excluído o diagnóstico de polipose adenomatosa familiar.
3. Cobertura obrigatória para mulheres com adenocarcinoma de endométrio diagnosticado com 50 anos ou menos, mesmo que isoladamente e independente de história familiar.
4. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de familiares de 1º, 2º e 3º graus após o diagnóstico molecular de mutação patogênica no caso índice.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação já foi identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. No caso de pacientes enquadrados nos critérios 1 e 3:
 - a. Realização de Pesquisa de Instabilidade de Microssatélites (PIM) e Imunohistoquímica (IHQ) para MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2;
 - b. No caso de instabilidade alta (2 de 5 marcadores), considerar que há deficiência do sistema MMR; se houver perda de MSH2 ou MSH6 na IHQ, realizar Sequenciamento de Nova Geração ou se não for possível realizar Sanger para estes genes especificamente;
 - c. Se resultado da investigação do item anterior for negativo, realizar MLPA para *MSH2* e *MSH6*;
 - d. No caso de instabilidade alta (2 de 5 marcadores), considerar que há deficiência do sistema MMR; se houver perda de MLH1 ou PMS2 na IHQ, realizar pesquisa da mutação V600E do gene *BRAF* ou metilação do promotor do gene *MLH1* no tumor para diferenciar instabilidade de origem somática ou hereditária;
 - e. Se o resultado da investigação descrita no item d for negativa, realizar Sequenciamento Sanger ou NGS do gene *MLH1*;
 - f. Se resultado da investigação do item anterior for negativo, realizar MLPA para *MLH1*;
 - g. Nos casos de ausência conjunta das proteínas *MSH2* e *MSH6*; iniciar com sequenciamento de *MSH2* e na ausência de mutações por sequenciamento, realizar MLPA para pesquisa de rearranjos em *MSH2* e *EPCAM*;
 - h. Se as duas análises do subitem g forem negativas, realizar sequenciamento de MSH6.
3. No caso de pacientes enquadrados no critério 2:
 - a. Realizar Sequenciamento de Nova Geração envolvendo os genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* e *EPCAM*.

- b. No caso de não estar disponível o Sequenciamento de Nova Geração, realizar Sequenciamento por Sanger de maneira escalonada, conforme descrito abaixo:
- I - Sequenciamento por Sanger do gene *MLH1*;
 - II - Caso não seja encontrada alteração patogênica no item I, realizar Sequenciamento por Sanger do gene *MSH2*;
 - III - Caso não seja encontrada alteração patogênica nos itens I e II, realizar Sequenciamento por Sanger do gene *MSH6*.
- c. Se nenhuma mutação deletéria for identificada em nenhum dos genes acima, realizar MLPA para os genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*.

REFERÊNCIAS:

1. Gould-Suarez M1, El-Serag HB, Musher B, Franco LM, Chen GJ. Cost-effectiveness and diagnostic effectiveness analyses of multiple algorithms for the diagnosis of Lynch syndrome. *Dig Dis Sci*. 2014 Dec;59(12):2913-26.
2. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Genetic/Familial High Risk Assessment: Colorectal . Version 2.2014. Disponível em URL: www.nccn.org. Acessado em: 19 de fevereiro de 2015.

32. SÍNDROME DE MARFAN

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com escore sistêmico ≤ 7 quando preenchido apenas um dos critérios abaixo (caso o paciente preencha ambos os critérios abaixo, a cobertura do diagnóstico molecular não é obrigatória):
 - a. Luxação de cristalino
 - b. Dilatação da raiz da aorta com ecocardiograma que demonstre escore $Z \geq 2$ em pacientes acima de 20 anos ou $Z \geq 3$ em pacientes abaixo de 20 anos

Cálculo do Escore Sistêmico:

Sinal do punho e do polegar – 3 (punho ou polegar – 1)	
Peito carenado – 2 (peito escavado ou assimetria de tórax – 1)	
Deformidade dos pés – 2 (pés planos – 1)	
Pneumotórax – 2	
Ectasia dural – 2	
Protrusão acetabular – 2	
Relação Segmento Superior/Segmento Inferior reduzida e Relação Envergadura/Estatura aumentada e escoliose leve – 1	
Escoliose ou cifose toracolombar – 1	
Extensão reduzida do cotovelo – 1	
Características faciais (3/5) – 1 (dolicocefalia, enoftalmia, fendas palpebrais com inclinação para baixo, hipoplasia malar, retrognatia)	
Estrias na pele – 1	
Miopia > 3 dpt – 1	
Prolapso de valva mitral (todos os tipos) – 1	

Total = 20 pontos; escore ≥ 7 indica envolvimento sistêmico; SS/SI = razão do segmento superior/segmento inferior

2. Cobertura obrigatória para indivíduos assintomáticos em risco de herdarem a mutação e de desenvolverem a Síndrome Marfan que apresentem familiares de 1º, 2º ou 3º graus confirmados por análise molecular.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação genética já tenha sido identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Pesquisa de mutação no gene FBN1 por Sequenciamento de Nova Geração
3. Se não for possível realizar o Sequenciamento de Nova Geração, realizar o Sequenciamento bidirecional por Sanger
4. Nos casos em que o diagnóstico não for estabelecido através do item anterior, realizar MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) para o gene FBN1.

REFERÊNCIAS:

1. Escore sistêmico: <http://www.marfan.org/dx/score>. Acessado em 19 de março de 2015
2. Arslan-Kirchner M, Arbustini E, Boileau C, Child A, Collod-Beroud G, De Paepe A, Epplen J, Jondeau G, Loeys B, Faivre L. Clinical utility gene card for: Marfan syndrome type 1 and related phenotypes [FBN1]. Eur J Hum Genet. 2010 Sep;18(9). doi: 10.1038/ejhg.2010.42. Epub 2010 Apr 7.

33. SÍNDROME DE NOONAN

1. Cobertura obrigatória para pacientes do sexo feminino com ou sem histórico familiar da doença, quando o paciente apresentar manifestações clínicas sugestivas da doença e excluída a Síndrome de Turner.
2. Cobertura obrigatória para pacientes do sexo masculino com ou sem histórico familiar da doença, quando o paciente apresentar manifestações clínicas sugestivas da doença.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Realizar Sequenciamento de Nova Geração envolvendo os genes *PTPN11*, *SOS1*, *RAF1*, *RIT1* e *KRAS*.
2. No caso de não estar disponível o Sequenciamento de Nova Geração, realizar Sequenciamento por Sanger de maneira escalonada, conforme descrito abaixo:
 - a. Sequenciamento bidirecional por Sanger dos éxons do gene *PTPN11*.
 - b. Sequenciamento bidirecional por Sanger dos éxons do gene *SOS1*.
 - c. Sequenciamento bidirecional por Sanger dos éxons do gene *RAF1*.
 - d. Sequenciamento bidirecional por Sanger dos éxons do gene *RIT1*.
 - e. Sequenciamento bidirecional por Sanger dos éxons do gene *KRAS*.

34. SÍNDROME DE RETT

1. Cobertura obrigatória para pacientes do sexo feminino e que apresentem inicialmente um período de desenvolvimento normal e um período de regressão do desenvolvimento neuropsicomotor seguido por recuperação parcial ou estabilização e que se enquadrem em um dos itens abaixo:
 - a. Para as pacientes com Síndrome de Rett Clássica que preencham todos os critérios do Grupo I e nenhum dos critérios do Grupo II;
 - b. Para as pacientes com Síndrome de Rett Atípica que preencham pelo menos 2 critérios do Grupo I e 5 do Grupo III.

Grupo I (Critérios principais):

- Perda total ou parcial de habilidades manuais intencionais adquiridas ao longo do desenvolvimento.
- Perda total ou parcial de fala ou habilidades de comunicação adquiridas ao longo do desenvolvimento, como a lalação.
- Alterações de marcha: dispraxia ou ausência da habilidade
- Movimentos estereotipados de mão.

Grupo II (Critérios de exclusão):

- Diagnóstico prévio de lesão cerebral secundária a trauma perinatal ou pós-natal, doenças neurometabólicas ou infecções com sequelas neurológicas.
- Desenvolvimento neuropsicomotor com atraso importante nos primeiros 6 meses de vida, sem aquisição de marcos de desenvolvimento.

Grupo III (Critérios de apoio):

- Distúrbios respiratórios (apnéia e/ou hiperpnéia) quando a paciente encontra-se acordada
- Bruxismo quando a paciente encontra-se acordada
- Distúrbios de padrão de sono
- Tônus muscular alterado
- Distúrbios vasomotores periféricos
- Cifose e/ou escoliose
- Déficit de crescimento
- Mãos e pés pequenos e frios
- Risos ou gritos sem motivação aparente

- Pouca resposta a estímulos dolorosos
- Comunicação intensa com o olhar

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Realizar Sequenciamento de Nova Geração ou Sanger de toda região codificante do gene MECP2;
2. Caso não tenha sido identificada mutação patogênica no item anterior, realizar análise de deleções e duplicações no gene MECP2 por MLPA.

REFERÊNCIAS:

1. Neul JL, Kaufmann WE, Glaze DG, Christodoulou J, Clarke AJ, Bahi-Buisson N, Leonard H, Bailey ME, Schanen NC, Zappella M, Renieri A, Huppke P, Percy AK. Rett syndrome: revised diagnostic criteria and nomenclature. *Ann Neurol*. 2010;68:944–50. [PMC free article] [PubMed]. Acesso em 31 de março de 2015
2. Northrup H, Koenig MK, Au KS. Tuberous Sclerosis Complex. 1999 Jul 13 [Updated 2011 Nov 23]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1220/>.
3. Orphanet http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=778. Acesso em 31 de março de 2015

35.SÍNDROME DE WILLIAMS-BEUREN

1. Cobertura obrigatória para pacientes com suspeita de Williams-Beuren (del7q11) que apresentem manifestações clínicas sugestivas da doença (fenótipo).

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Preferencialmente por MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), ou FISH (Hibridação In Situ Fluorescente) quando o MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) não estiver disponível.
2. No caso em que o diagnóstico não tenha sido confirmado através da Hibridação in situ fluorescente (FISH), realizar MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

36. SÍNDROME DO CÂNCER GÁSTRICO DIFUSO HEREDITÁRIO

1. Cobertura obrigatória para indivíduos de ambos os sexos com diagnóstico de câncer gástrico difuso e com pelo menos um familiar de 1º, 2º ou 3º graus com câncer gástrico difuso, sendo um deles com diagnóstico em idade ≤ 50 anos.
2. Cobertura obrigatória para indivíduos de ambos os sexos com diagnóstico de câncer gástrico difuso com pelo menos dois familiares de 1º ou 2º graus com câncer gástrico difuso em qualquer idade.
3. Cobertura obrigatória para indivíduos de ambos os sexos com diagnóstico de câncer gástrico difuso em idade ≤ 40 anos.
4. Cobertura obrigatória para indivíduos de ambos os sexos com diagnóstico de câncer gástrico difuso e um caso de carcinoma de mama do tipo lobular sendo pelo menos um deles diagnosticado em idade ≤ 50 anos.
5. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético dos familiares de 1º, 2º ou 3º graus assintomáticos quando o diagnóstico molecular de Síndrome do Câncer Gástrico Difuso Hereditário tiver sido confirmado na família.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Nos casos em que a mutação já foi identificada na família, realizar apenas a pesquisa da mutação específica.
2. Sequenciamento de Nova Geração dos éxons do gene CDH1.
3. Nos casos em que o Sequenciamento de Nova Geração não estiver disponível, realizar o Sequenciamento bidirecional por Sanger do gene CDH1.
4. Nos casos em que o diagnóstico não for estabelecido através dos itens anteriores, realizar MLPA (Multiple Ligation Dependent Probe Amplification) do gene CDH1.

REFERÊNCIAS:

1. Fitzgerald RC, Hardwick R, Huntsman D, Carneiro F, Guilford P, Blair V, Chung DC, Norton J, Ragnauth K, Van Krieken JH, Dwerryhouse S, Caldas C; International Gastric Cancer Linkage Consortium. Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research. J Med Genet. 2010 Jul;47(7):436-44.
2. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, Seruca R, Carneiro F. Familial gastric cancer: genetic susceptibility, pathology, and implications for management. Lancet Oncol. 2015 Feb;16(2):e60-e70.

37. SÍNDROMES DE ANOMALIAS CROMOSSÔMICAS SUBMICROSCÓPICAS NÃO RECONHECÍVEIS CLINICAMENTE (ARRAY)

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com cariótipo normal e suspeita clínica de anomalias cromossômicas submicroscópicas quando preenchidos pelo menos dois dos seguintes critérios:
 - a. Deficiência intelectual ou atraso neuropsicomotor;
 - b. Presença de pelo menos uma anomalia congênita maior ou pelo menos três menores;
 - c. Baixa estatura ou déficit pondero-estatural.
2. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com cariótipo alterado quando preenchidos um dos seguintes critérios:

- a. Cromossomo marcador;
- b. Translocações ou inversões cromossômicas aparentemente balanceadas identificadas pelo cariótipo com fenótipo anormal;
- c. Presença de material cromossômico adicional de origem indeterminada;
- d. Presença de alteração cromossômica estrutural (para determinar tamanho e auxiliar na correlação genótipo-fenótipo).

3. Cobertura obrigatória para aconselhamento genético dos pais em que tenha sido identificada uma variante de significado incerto no CGH-Array (Hibridização Genômica Comparativa) ou SNP-array (Polimorfismo de um único nucleotídeo) no caso índice.

4. Cobertura obrigatória para aconselhamento genético dos pais em que tenha sido identificada uma variação no CGH-Array (Hibridização Genômica Comparativa) por provável micro-rearranjo (translocação equilibrada ou inversões) no caso índice.

Método de análise utilizado de forma escalonada:

Nos pacientes enquadrados nos itens 1 e 2 e 3:

- 1. Realizar CGH- Array (Hibridização Genômica Comparativa) ou SNP-array (Polimorfismo de um único nucleotídeo) do caso índice.
- 2. Em caso de se identificar uma variante de significado incerto, a cobertura será obrigatória de CGH- Array (Hibridização Genômica Comparativa) ou SNP-array (Polimorfismo de um único nucleotídeo) dos pais do caso índice.

Nos pacientes (pais do caso índice) enquadrados no item 4:

- 1. Realizar cariótipo.
- 2. Nos casos em que o diagnóstico não for confirmado através do item anterior, realizar FISH (Hibridação In Situ Fluorescente).

38. SÍNDROMES DE DELEÇÕES SUBMICROSCÓPICAS RECONHECÍVEIS CLINICAMENTE

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com suspeita clínica de Wolf-Hirschhorn (del4p) ou Cri du Chat (del5p) ou Deleção 1p36 ou Smith-Magenis (del17p11) ou Deleção 22q11 ou Miller-Dieker (del17p13) ou WAGR(del11p13), quando preenchidos todos os seguintes critérios:
 - a. apresente cariótipo normal;
 - b. manifestações clínicas sugestivas da doença (fenótipo).
2. Cobertura obrigatória para o aconselhamento genético de familiar com cariótipo normal e que possuam parentes de 1º e 2º graus com diagnóstico molecular ou citogenético (Cariótipo ou FISH - Hibridação In Situ Fluorescente) de Wolf-Hirschhorn (del4p) ou Cri du Chat (del5p) ou Deleção 1p36 ou Smith-Magenis (del17p11) ou Deleção 22q11 ou Miller-Dieker (del17p13) ou WAGR (del11p13).

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. A tecnologia utilizada para o teste deve ser projetada para detectar a deleção da região crítica para a doença por FISH (Hibridação In Situ Fluorescente) ou MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).
2. Nos casos em que o diagnóstico não tenha sido confirmado através dos métodos analíticos anteriores, realizar CGH- Array (Hibridização Genômica Comparativa) ou SNP-array (Polimorfismo de um único nucleotídeo).

39. TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

1. Cobertura obrigatória para pacientes de ambos os sexos com manifestações clínicas sugestivas de Transtorno do Espectro Autista, quando presentes pelo menos um dos critérios do Grupo I e nenhum dos critérios do Grupo II:

Grupo I:

- a. Deficiência intelectual
- b. Crises convulsivas
- c. Malformação do Sistema Nervoso Central
- d. Dismorfias

- e. Microcefalia ou macrocefalia

Grupo II:

- a. Autismo isolado
- b. Alterações identificadas no cariótipo
- c. Síndrome do X-Frágil

Método de análise utilizado de forma escalonada:

1. Excluir anomalias cromossômicas no cariótipo e Síndrome do X Frágil
2. Se não forem encontradas alterações no item anterior realizar CGH- Array (Hibridização Genômica Comparativa) ou SNP-array do caso índice.
3. Em caso de se identificar uma variante de significado incerto, a cobertura será obrigatória de CGH-Array (Hibridização Genômica Comparativa) ou SNP-array dos pais do caso índice.

REFERÊNCIAS:

1. Primeiras diretrizes clínicas na saúde suplementar – versão preliminar / organizado por Agência Nacional de Saúde Suplementar, Associação Médica Brasileira. – Rio de Janeiro: ANS, 2009.
http://www.ans.gov.br/portal/upload/biblioteca/Primeiras_Diretrizes_Clinicas.pdf
2. Clinical Utility Gene Card: European Journal of Human Genetics.
http://www.nature.com/ejhg/archive/categ_genecard_012013.html
3. GeneReviews™. Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al., editors. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2013.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>
4. OMIM® Online Mendelian Inheritance in Man® An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders Updated 6 December 2013.
<http://www.omim.org/>
Aoki et al., 2005; Bertola et al., 2005; Carta et al., 2006; Cordeddu et al., 2009; De Luca et al., 2005; Digilio et al., 2002; Martinelli et al., 2010; Musante et al., 2003; Nava et al., 2007; Pandit et al., 2007; Razzaque et al., 2007; Rodriguez-Viciano et al., 2006; Sarkozy et al., 2009; Seishima et al., 2007;

Tartaglia et al., 2007; Zenker et al., 2004; Zenker et al.,2007a; Zenker et al., 2007b Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway síndrome. Am J Hum Genet. 2013 Jul 11;93(1):173-80. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.05.021. Epub 2013 Jun 20