

HEMOFILIA A SEVERA, MODERADA Y LEVE ESTUDIO DE VARIANTES POR SECUENCIACIÓN DE DIFERENTES EXONES GEN F8

Actualizado en Mayo 2022 por BQ Constanza Ley
Revisado TM Ligia Valdivia y Aprobado por Dra. Marcela Lagos

Código del Examen : 2157
Según la indicación médica, corresponde a continuación de estudio según fenotipo del paciente:

- Hemofilia A severa: exón 14 completo gen F8
- Hemofilia A moderada y leve: exones de 4, 7, 9 y 16 y resto del exón 14 gen F8

Nombres del Examen : Estudio de variantes Hemofilia A severa, moderada y leve (diferentes exones) por secuenciación gen F8

Laboratorios de Procesamiento	Laboratorio	Días de Procesamiento	Plazo de Entrega de Resultados
	Laboratorio CMSJ Biología Molecular	Lunes a Viernes	30 días hábiles

NOTA: Se requiere orden médica, el tratante debe especificar el estudio a realizar de acuerdo al fenotipo del paciente para esta patología.

Preparación del Paciente : No requiere preparación

Muestra Requerida : ■ Sangre completa
Recolectar un tubo tapa lila con EDTA, volumen mínimo: 4 mL de sangre

Estabilidad de la Muestra ¹	Muestra	T° Ambiente (20 - 25 °C)	Refrigerada (2 - 8 °C)	Congelada (-20°C)
	Sangre Total con EDTA	3 días	1 mes	No aplica

Condiciones de Envío al Laboratorio : *Dentro de Santiago y en el día
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SI/ Congelada NO

*Desde fuera de Santiago
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SÍ/ Congelada NO

**Sólo si el tiempo de traslado cumple con la estabilidad de la muestra.*

Método Utilizado : Estudio de distintos exones en el gen del Factor VIII por secuenciación de Sanger bidireccional incluyendo las uniones intrón-exón.
El fenotipo del paciente indicado en la orden medica determina los exones a estudiar:

- Severo: Exón 14 (cuando se ha estudiado primero con prestación 2075)
- Moderado y leve: Exones 4, 7, 9, 16 y resto del 14 (cuando se ha estudiado primero con prestación 2159)

Intervalos de Referencia : No aplica

Valor Crítico : No aplica

Parámetros de Desempeño : En un estudio previo realizado en nuestra institución, se observó que en los pacientes con Hemofilia A severa negativos para las inversiones cromosómicas y los pacientes con Hemofilia A moderada y leves negativos para alteraciones en

los exones 11, comienzo del 14 y 23 presentaron con mayor frecuencia variantes de secuencia en los exones asociados a este código.

Información Clínica ^{2,3}

- : La Hemofilia A (MIM#306700) es un desorden hereditario ligado al cromosoma X, causado por alteraciones heterogéneas en el gen del factor VIII de la coagulación (gen F8), que tiene un tamaño de 186 Kb con 26 exones. Los defectos moleculares que determinan la deficiencia del factor VIII en Hemofilia A son diversos: el 60% de los hemofílicos severos presentan inversiones cromosómicas generadas por recombinación homóloga intracromosomal. En el 40% restante de los hemofílicos severos y en los pacientes leves y moderados se han encontrado principalmente variantes de tipo *missense* y *nonsense*, pero también deleciones e inserciones.

Esquema para el orden de solicitud de estudio genético-molecular de Hemofilia A según fenotipo

Fenotipo	Orden	Prestación	Estudio
Severo	1°	2075	Inversión intrón 1 e intrón 22
	2°	2157	Exón 14
	3°	2155	Resto del gen, 25 exones (sin exón 14)
Moderado y leve	1°	2159	Exones 11, 23 y comienzo del exón 14
	2°	2157	Exones 4, 7, 9 y 16 y resto del exón 14
	3°	2156	Resto del gen, 19 exones

Indicaciones:

Estudio en pacientes con diagnóstico de Hemofilia A severa, moderada y leve previamente estudiados para alteraciones que se presentan con mayor frecuencia. En el caso de los fenotipos severos, si ya se han estudiado las inversiones (código 2075) y en moderados y leves si se han estudiados los exones 11, 23 y el comienzo del exón 14 (código 2159).

Si no se identifican mutaciones, se puede solicitar la secuenciación del resto de los exones de este gen, con lo que se completa el estudio de casi todas las alteraciones conocidas en el gen del factor VIII.

Interpretación de resultados:

Hombre sin variantes patogénicas

Resultado: c.[=] [=] secuencia idéntica a la secuencia de referencia

Conclusión: El paciente no presenta alteraciones en los exones estudiados del gen F8.

Mujer sin variantes patogénicas

Resultado: c.[=];[=] [=] secuencia idéntica a la secuencia de referencia

Conclusión: La paciente no presenta alteraciones en los exones estudiados del gen F8.

Hombre con variante patogénica

Resultado: c.[XXXX]
p.[XXXX]

Conclusión: El paciente presenta la variante XXXX en el gen del F8.

Mujer portadora

Resultado: c.[XXXX];[=] [=] secuencia idéntica a la secuencia de referencia
p.[XXXX];[=]

Conclusión: La paciente presenta la variante XXXX en forma heterocigota en el gen F8.

NOTAS:

- Se informa con nomenclatura según recomendaciones de Human Genome Variation Society (HGVS), www.HGVS.org. Las variantes detectadas se clasifican de acuerdo a la guía ACMG-AMP del 2015 (PMID: 25741868) y la evidencia disponible a la fecha del informe. No se reportan variantes benignas ni probablemente benignas.
- La ausencia de variantes reportables (patogénicas, probablemente patogénicas y de significado incierto) en la región estudiada no descarta que se encuentren en regiones no estudiadas del gen F8 por esta prestación.
- Para una adecuada interpretación de los resultados es necesario considerar los hallazgos clínicos. Frente a resultados con alteraciones, se recomienda consejo genético.

Factores Interferentes:

- Sangre tomada con Heparina inhibe la PCR.

Referencias

1. Richardson A, Narendran N, Guymer R, Vu H, Baird P. (2006) Blood storage at 4°C - factors involved in DNA yield and quality. *Journal of laboratory and clinical medicine* 147: 290-294.
2. Bowen DJ. (2002). Haemophilia A and B: molecular insights. *J Clin Pathol: Mol Pathol*, 55, pp.1-18
3. Johnsen J et al (2017) Novel approach to genetic analysis and results in 3000 hemophilia patients enrolled in the My Life, Our Future initiative. *American Society of Hematology: Blood Advances* 1(13): 824-834.