

SECUENCIACIÓN COMPLETA DEL GEN *CFTR* POR  
SECUENCIACIÓN DE SIGUIENTE GENERACIÓN (NGS)**SUSPENDIDO TEMPORALMENTE**

Realizado en septiembre 2024 por Blga. Alejandra Vera  
Revisado por BQ Abraham Urzúa y TM Ligia Valdivia y aprobado por Dra. Marcela Lagos

**Código del Examen** : 2977

**Nombres del Examen** : Estudio Genético-Molecular de Fibrosis Quística por secuenciación de siguiente generación (NGS)  
Secuenciación completa del gen *CFTR*

|                                        |                    |                       |                                |
|----------------------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------------------|
| <b>Laboratorios de Procesamiento</b> : | Laboratorio        | Días de Procesamiento | Plazo de Entrega de Resultados |
|                                        | Biología Molecular | Lunes a viernes       | *                              |

\* Se reciben muestras sin plazo definido de entrega de resultados. Requiere reunir las muestras necesarias para una corrida.

**Preparación del Paciente** : No requiere

**Muestra Requerida** :  Sangre total  
Recolectar un tubo tapa lila con EDTA, volumen mínimo: 1 mL de sangre

Muestra Opcional: consultar al laboratorio al fono 223548515

**NOTA:** Se requiere envío de copia de la orden médica

|                                                |                       |                             |                           |                      |
|------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|
| <b>Estabilidad de la Muestra<sup>1</sup></b> : | Muestra               | T° Ambiente<br>(20 - 25 °C) | Refrigerada<br>(2 - 8 °C) | Congelada<br>(-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 SI/ Congelada NO

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

**Método Utilizado<sup>3,4</sup>** : Secuenciación de Siguierte Generación (NGS) de las regiones codificantes y de las regiones de unión exón/intron del gen *CFTR*. Secuenciación Sanger de la variante patogénica intrónica profunda frecuente en la población chilena 3849+10kbC>T y confirmación por Sanger de las variantes observadas con relevancia clínica.

**Intervalos de Referencia** : No aplica

**Valor Crítico** : No aplica

#### Parámetros de Desempeño<sup>3,4</sup>

- : De acuerdo con estudios previos realizados en pacientes chilenos, con un panel compuesto de las 20 variantes patogénicas (mutaciones) más frecuentes se detecta el 66% de los alelos mutados en pacientes chilenos con Fibrosis Quística (FQ). Con la secuenciación de todos los exones codificantes del gen *CFTR* se estima que se debería detectar aproximadamente el 98% de las variantes patogénicas. El 2% de las alteraciones restantes corresponden a variantes patogénicas intrónicas profundas no incluidas en este estudio, a deleciones o duplicaciones. Sin embargo, se han descrito más de 1500 mutaciones en el gen *CFTR* muchas de ellas han sido reportadas solo una vez o se encuentran presentes en solo un par de individuos o en una familia, además la frecuencia y prevalencia de ellas varía de acuerdo con el componente étnico de la población estudiada. Por lo tanto, la ausencia de las mutaciones estudiadas reduce, pero no descarta la posibilidad de tener FQ. Además, con la secuenciación completa del gen, es probable que alguna de las variantes que se encuentren no estén descritas previamente y por lo tanto sean de significado desconocido (VUS) y por lo que el resultado sería inconcluso con respecto a la confirmación del diagnóstico clínico de FQ. En los casos donde no hay una clínica clara sugerente de FQ, es probable que dichos casos puedan corresponder a los denominados “FQ-atípica” en los que la FQ se presenta de una forma clínica leve y muy variada, ya que por lo general presentan disfunción en solo un sistema orgánico.

##### Polimorfismo Poly T

El alelo o variante 5T del polimorfismo Poly T es considerado un modificador del fenotipo en la FQ. Este tracto de polytimidinas puede ser asociado a los denominados “desordenes relacionados a FQ o FQ-atípicas”, ya que se ha observado que afecta el procesamiento del mRNA del exón 9 del *CFTR*, por lo que es clasificada como variante con penetrancia variable en la FQ.

#### Información Clínica<sup>2-4</sup>

- : La Fibrosis Quística (FQ) es causada por mutaciones en el gen *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*; regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística), el cual contiene 27 exones y se ubica en el cromosoma 7q31.2. La proteína codificada funciona como canal de cloruro regulado por AMP cíclico y se expresa casi exclusivamente en las células de los epitelios secretores. En individuos afectados con FQ, aquella proteína está ausente o bien se encuentra en proporciones menores a las normales, lo cual altera la concentración intracelular de Cloro y por consiguiente la osmosis del agua, teniendo como resultado la alteración en la consistencia de las secreciones (ej: mucosas, jugos gástricos, sudor, entre otras) volviéndolas espesas y pegajosas con lo cual se altera su movilidad por los tractos en donde se acumulan afectando la homeostasis del sistema.

##### Limitaciones de la técnica

Limitaciones de la metodología: regiones promotoras, regiones no traducidas (UTRs), regiones intrónicas profundas y otras no codificantes, no son analizadas en este estudio. Pueden existir variantes polimórficas en regiones de unión de alguna de las sondas dirigidas a las regiones pudiendo así generar falsos negativos o falsos positivos. Alteraciones en el número de copias (grandes deleciones/duplicaciones) en el gen *CFTR* no son detectadas por esta metodología, así como tampoco re-arreglos cromosómicos ni alteraciones en mosaicismo.

##### Interpretación de resultados

Todas las variantes detectadas son evaluadas de acuerdo con las recomendaciones del ACMG. Las variantes se clasifican basándose en bibliografía publicada, bases de datos y en el caso de las VUS con programas predictivos in silico. Se reportan todas las variantes con relevancia clínica y VUS, con su

correspondiente clasificación de patogenicidad y significancia asociada al fenotipo clínico. Con respecto al polimorfismo Poly T, solo se informará (sin fase) el genotipo de dicho locus cuando se observe la presencia del alelo 5T ya que es el único con relevancia clínica.

Nota: 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, Guymier 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. Richards CS, Bale S, Bellissimo DB, et al: ACMG recommendations for standards of interpretation and reporting of sequence variations: revisions 2007. *Genet Med* 2008;10(4):294-300
  3. Lee et al., (2014) Replacing CFTR Sanger Sequencing in the Clinical Lab with a Reliable Targeted Next-Generation Sequencing Assay. *J Genet Genome Res*; 1:004.
  4. Lay-Son G et al., Secuenciación del gen CFTR en un grupo de pacientes chilenos con fibrosis quística. *Rev Chil Pediatr* 2014; 85 (4): 448-454.