

HEMOFILIA A SEVERA, ESTUDIO DE VARIANTES POR SECUENCIACIÓN DE 25 EXONES GEB F8

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

- Código del Examen** : 2155
- Nombres del Examen** : Hemofilia A severa, Estudio de variantes por secuenciación de 25 exones 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 Muestra¹** :
- | 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 25 de los 26 exones (excluido exón 14) del gen del Factor VIII (F8) por secuenciación de Sanger bidireccional, incluyendo las uniones intrón-exón, utilizando el sistema comercial VariantSEQr (Applied Biosystems).
- Intervalos de Referencia** : No aplica
- Valor Crítico** : No aplica
- Parámetros de Desempeño** : Con el estudio de estos 25 exones por secuenciación y estudio previo de las inversiones cromosómicas y del exón 14 se completa el estudio de casi todas las alteraciones conocidas en el gen del factor VIII, por lo tanto se alcanza un 98.5% de sensibilidad diagnóstica en pacientes con Hemofilia A severa.
- 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:

Este estudio se realiza preferentemente en pacientes con diagnóstico de Hemofilia A severa, en los que por análisis de inversiones (código 2075) y del exón 14 (código 2157) no se hayan demostrado alteraciones.

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

Sistema de Información de Exámenes, SINFEX

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, Guymmer 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.

