

HEMOFILIA A MODERADA Y LEVE, ESTUDIO DE VARIANTES POR SECUENCIACIÓN DE 19 EXONES GEN F8

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

Código del Examen : 2156

Nombres del Examen : Estudio de mutaciones en Hemofilia A moderada y leve (19 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 19 exones (1, 2, 3, 5, 6, 8, 10, 12, 13, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 25 y 26) en el gen del Factor VIII por secuenciación de Sanger bidireccional, incluyendo las uniones intrón-exón, utilizando el sistema comercial VariantSeq (Applied Biosystems).

Intervalos de Referencia : No aplica

Valor Crítico : No aplica

Parámetros de Desempeño³ : Con el estudio de estos 19 exones por secuenciación y el estudio previo de los otros exones en que se encuentran variantes con mayor frecuencia se completa el estudio de casi todas las alteraciones conocidas en el gen del factor VIII, alcanzando 99.8% de sensibilidad diagnóstica en pacientes con Hemofilia A.

Información Clínica² : 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 moderada y leve, en los que se hayan estudiado previamente exones con mayor frecuencia de mutaciones (códigos 2159 y 2157), sin que se encontraran 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 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.