

FIBROSIS QUÍSTICA, ESTUDIO GENÉTICO-MOLECULAR PANEL DE 50 VARIANTES (MUTACIONES)

*Actualizado en Septiembre de 2021 por Blga. Alejandra Vera
Revisado por TM Ligia Valdivia y aprobado por Dra. Marcela Lagos*

Código del Examen : 2662

Nombres del Examen : Estudio Genético-Molecular de Fibrosis Quística, Panel de 50 variantes (mutaciones)

Laboratorios de Procesamiento :

Laboratorio	Días de Procesamiento	Plazo de Entrega de Resultados
Biología Molecular	Lunes a Viernes	15 días hábiles

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 22 354 8515

Estabilidad de la Muestra⁴ :

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^{1,2} :

Para el estudio genético-molecular de Fibrosis Quística se utiliza el Kit de determinación analítica comercial CF-EU2v de Elucigene®, el que permite la detección cualitativa in vitro simultánea de 50 variantes en el gen *CFTR* utilizando la metodología de Amplificación específica de alelos ARMS (Amplification Refractory Mutation System) fluorescente. Los productos obtenidos son separados por electroforesis capilar, identificados y etiquetados según su tamaño y señal fluorescente mediante un software de análisis. Las mutaciones incluidas en el panel de estudio son (con nomenclatura tradicional):

G542X	W1282X	Y1092X	1898+1G>A	R1162X
2789+5G>A	R560T	S1251N	W846X	R1158X
3120+1G>A	2347delG	444delA	2184delA	A455E
711+1G>T	Q890x	1811+1.6kb A>G	D1152H	R1066C
R334W	R553X	1717-1G>A	CFTRdel2,3	3905insT
I507del	G551D	R117H	G85E	L206W
F508del	S549R	R117C	2143delT	V520F
Y122X	S549N	N1301K	621+1G>T	M1101K
1677delTA	R347P	3849+10kb C>T	3659delC	E60X
1078delT	R347H	394delTT	3272-26A>G	P67L

Adicionalmente el Kit CF-EU2v, también incluye el análisis del polimorfismo Poly T considerado como un modificador del fenotipo en la FQ. Este tracto de polytimidinas puede ser asociado a los denominados “desordenes relacionados a FQ” dependiendo de su tamaño. Los alelos con 7T y 9T son considerados variantes polimórficas benignas, sin embargo el alelo 5T se clasifica como variante con penetrancia variable en la FQ, ya que se ha observado que afecta el procesamiento del mRNA del exón 9 del *CFTR*. Sumado a esto, el tracto del dinucleótido TG contiguo al tracto poly T, el cual posee tres variantes principales: TG11, TG12 y TG13, también influye en la penetrancia del alelo 5T, ya que la presencia de un tracto de TGs más largo en conjunto con el alelo 5T, tiene un efecto más adverso en el procesamiento del mRNA del *CFTR*.

NOTA: El genotipo del polimorfismo TG solo se informa en el caso de observarse el alelo 5T, ya que este Kit solo permite su cuantificación en dichos casos, dado que frente a la presencia de las otras variantes 7T y 9T el genotipo TG es irrelevante.

- Intervalos de Referencia** : No aplica.
- Valor de Alerta** : No aplica.
- Parámetros de Desempeño³** : De acuerdo a estudios previos realizados en pacientes chilenos, con un panel de 20 variantes (incluidas en este panel) se detecta el 66% de los alelos mutados en pacientes chilenos con Fibrosis Quística (FQ), por lo tanto, con el panel actual de variantes se estima que el porcentaje de detección es del 70%. 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 al componente étnico de la población estudiada. Por lo tanto, la ausencia de las variantes estudiadas, reduce pero no descarta la posibilidad de tener FQ.
- Información Clínica¹⁻³** : La Fibrosis Quística (FQ) es causada por variantes 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 consecuente 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.

Interpretación de resultados:

- **Sin las variantes estudiadas.**
Resultado: No se observan las variantes estudiadas.
Conclusión: El paciente no presenta ninguna de las 50 variantes estudiadas.
- **Con alteración**
 - **Heterocigoto**
Resultado: c.[variante];[=]
p.[variante];[=]
[=]: alelo sin las variantes estudiadas.
Conclusión: El paciente es heterocigoto para la variante (nomenclatura en p.)

- **Homocigoto o Heterocigoto compuesto**

Resultado: c.[variante];[variante]

p.[variante];[variante]

Conclusión: El paciente es homocigoto para la variante/ heterocigoto compuesto para las variantes (nomenclatura en p.)

Dado que este panel no identifica todas las variantes reportadas en el gen *CFTR* causantes de FQ los sujetos afectados se pueden presentar con:

- Ninguna variante identificada
- Sólo una variante identificada (caso de portadores asintomáticos)

La identificación de ambas variantes causantes de FQ en casos afectados, es muchas veces metodológicamente difícil, ya que incluso la secuenciación completa de los exones codificantes del gen *CFTR* deja afuera áreas intrónicas profundas en las que muchas variantes patogénicas han sido reportadas.

Por otra parte, 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.

Por lo tanto, la ausencia de las 50 variantes analizadas en este panel, no descarta la presencia de una variante distinta a las estudiadas.

PolyT

- No es posible establecer la fase (cis o trans) en la que se encuentran las variantes del genotipo poly T que se informen, con la o las variantes en el *CFTR* que se observen.

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. Elucigene® CF-EU2v1 (Elucigene Diagnostics). Inserto del Kit comercial utilizado.
2. Ferrie R, Schwartx M, Robertson N, Vaudin S, Super M, Malone G, Little S. (1992) Development, multiplexing, and application of ARMS tests for common mutations in the *CFTR* gene. *American journal of human genetics* 51: 251-262.
3. Repetto G, Poggi H, Harris P, Navarro H, Sánchez I, Guiraldes E, Pérez A, Boza L, Hunter B, Wevar E, Mediavilla M, Foradori A. (2001) Identificación de mutaciones en el gen *CFTR* en pacientes chilenos con fibrosis quística. *Revista Médica de Chile* 129:841-847.
4. 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.