

Paciente: XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX Test Realizado: NGS-10010v13 Fecha Informe: --/--/20XX

Fecha de nacimiento: --/--/19XX	Médico/Petición: Dr	ID de muestra: P-000XX-D1
Sexo: Hombre	Hospital/Clinica: Hospital XXXX	Tipo de muestra: Sangre
nº Caso: xxx	nº Historia Clínica: xxxxx	Fecha recepción: --/--/201X
nº Paciente: P-000xx	Documentación: Cl diagnóstico	N Solicitud: XXXXXXX

RESUMEN DE RESULTADOS – x alteraciones encontradas

- variantes patogénicas o probablemente patogénicas
- variantes de significación incierta
- 1 Terapia asociada con beneficio clínico

Historia Clínica:

- Paciente ferritina inicial elevada superior a 1000 ng/ml. Padre fallecido por hepatopatía (cirrosis sin causa aclarada). Sobrecarga de hierro moderada por RM hepática. HFE testeado negativo.]

Diagnóstico Clínico:

- Sospecha de hemocromatosis y/o hipeferritinemia.]

Genes de estudio:

Secuenciación completa de los genes mediante Panel NGS-10010v13: BMP6, FTH1, FTL, GNPAT, HAMP, HFE, HFE2, TFR2, SLC40A1

(*) Las variantes benignas o probablemente benignas no se incluyen en este informe, no obstante esta información está a la disposición del médico si se solicita.

INFORMACIÓN GENERAL DE LA ENFERMEDAD

La **hemocromatosis hereditaria (HH)** es un grupo de enfermedades de origen genético caracterizadas por una acumulación excesiva de hierro en los tejidos. Existen 5 tipos de HH llamadas HH tipo 1 (gen *HFE*), HH tipo 2 (genes *HJV* y *HAMP*), HH tipo 3 (gen *TFR2*), HH tipo 4 (gen *SLC40A1*) y HH debida a mutaciones en el gen *BMP6*. La presencia de una variante en el gen *GNPAT* ha sido relacionada con una clínica más severa en HH tipo 1. Las formas 1, 2 y 3 son enfermedades con herencia autosómica recesiva y la forma 4 y la debida a mutaciones en gen *BMP6* son dominantes. **La HH tipo 1** es la forma más común de HH, siendo las otras formas enfermedades raras. En general las HH pueden causar fatiga crónica, pigmentación oscura de la piel y complicaciones clínicas como fibrosis o cirrosis hepática, carcinoma hepatocelular, diabetes mellitus, artropatía, osteoporosis, hipogonadismo hipogonadotrópico e insuficiencia cardíaca.

La **hipeferritinemia** es la presencia de niveles elevados de ferritina en sangre. La ferritina es la proteína encargada del almacenamiento y distribución intracelular del hierro. Existen dos genes ferritina H y ferritina L (*FTH1* y *FTL*) que codifican para las dos subunidades de la ferritina. Todas las formas de hipeferritinemia familiar presentan una herencia autosómica dominante. Mutaciones en estos dos genes dan lugar a:

El Síndrome de hipeferritinemia y cataratas congénitas (HHCS) caracterizado por niveles elevados de ferritina sérica sin sobrecarga de hierro, cataratas congénitas bilaterales y debido a mutaciones en el elemento regulador "Iron-responsive element" (IRE) en el 5'UTR del gen *FTL*.

Hipeferritinemia benigna, cursa sin sobrecarga de hierro y es debida a mutaciones en la secuencia codificante del gen *FTL*.

Hipeferritinemia con sobrecarga de hierro, está causada por una mutación en el IRE del gen *FTH1* en 5'UTR y se ha descrito solo en una familia

RESULTADOS MAS RELEVANTES E INTERPRETACIÓN DE LAS VARIANTES

A. Variantes encontradas con relevancia clínica y/o consecuencias fenotípicas conocidas:

SLC40A1: NM_014585.5:c.[539T>C];[=]; NP_055400.1:p.(Ile180Thr);(=) – MAF=0.00007 (ExAC 19/06/2016). Cambio en heterocigosis en la posición 539 del cDNA que da lugar a una mutación missense en la posición 180 de la proteína FPN1 (571 aminoácidos). Esta variante genera un cambio del aminoácido isoleucina (Ile) a treonina (Thr) que **ha sido descrito previamente como patogénico** (Bach *et al.*, 2006).

Debido a que la hemocromatosis hereditaria tipo 4 presenta un patrón de herencia autosómica dominante, esta mutación en el gen SLC40A1 sería responsable de la clínica observada en el paciente.]

RECOMENDACIONES CLÍNICAS

Se recomienda un seguimiento de los niveles de ferritina sérica, saturación de transferrina periódicamente y una evaluación de la sobrecarga hepática mediante métodos no invasivos (resonancia magnética) en el paciente y análisis bioquímicos en familiares que puedan estar afectados.

En el caso de detectarse variantes patogénicas o probablemente patogénicas se recomienda extender el estudio genético a otros miembros de la familia. En el caso de detectarse variaciones de significación desconocida la extensión de los análisis genéticos a otros familiares podría ayudar a una mejor clasificación de la variante en patogénica o benigna.

Ponemos a su disposición la herramienta médica HIGHFERRITIN para la evaluación de pacientes con niveles elevados de ferritina. Por favor consulte: <http://highferritin.imppc.org>

Además informamos de la existencia de la Asociación Española de Hemocromatosis (aeh@hes.scs.es; www.hemocromatosis.es) a la que los pacientes se pueden asociar para recibir asesoramiento e información directa de esta enfermedad.

Este informe es confidencial y ninguna parte puede ser copiada sin el permiso expreso y por escrito del Laboratorio. Los resultados descritos en este informe se refieren exclusivamente a la muestra indicada. Más información sobre la enfermedad estudiada está disponible en la página web del Laboratorio (<http://www.bloodgenetics.com>). En virtud de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de protección de datos de carácter personal, le informamos de que sus datos quedarán incorporados y serán tratados en el fichero Diagnóstico e Investigación, del que es titular BLOODGENETICS S.L., para fines de diagnóstico e investigación de la entidad. Le recordamos que podrá ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición mediante escrito, anexando fotocopia del DNI, dirigido a BLOODGENETICS S.L. .

Paciente:	Fecha:	Panel:
P-000XX	--/--/20xx	NGS-10010v13

Tratamiento recomendado:

En el caso de **Hemocromatosis Hereditarias o hiperferritinemias con sobrecarga de hierro** si los niveles de ferritina son elevados se recomienda realizar eritroaféresis controlada o tratamiento con flebotomías hasta la normalización de los niveles de ferritinas para disminuir la sobrecarga de hierro hepática. Normalmente se requiere de un alto número de flebotomías semanales para normalizar los valores de ferritina en casos con ferritina inicial muy elevada.

En casos de **Hemocromatosis hereditaria tipo 4** es posible que las flebotomías causen anemia en el paciente por lo tanto se recomienda realizar flebotomías de menor cantidad (300 ml) y más espaciadas en el tiempo.

En el caso de **hiperferritinemia con cataratas o hiperferritinemia benigna** NO se recomienda y es contraproducente realizar sangrías, el paciente anemizará y los niveles de ferritina no se normalizarán. En caso de HHCS los niveles de ferritina alta no comportan graves manifestaciones clínicas solo cataratas que pueden ser intervenidas quirúrgicamente.

ANÁLISIS REALIZADO Y INTERPRETADO POR:

[Josep Fita, técnico de laboratorio]
 Responsable genetista: [Dra. Mayka Sánchez]
 Responsable análisis Bioinformáticos: [Dr. Cristian Tornador]
 Responsable clínico: [Dra. Inés Rodríguez Hernández]

Atentamente,

Dra. Mayka Sánchez Fernández
 Responsable genetista
 Acreditada en Genética Humana por la Asociación Española de Genética Humana (AEGH)
 Núm. De Colegiada: 21589-C (Colegio de Biólogos de Cataluña)

Dr. Cristian Tornador Antolín
 Responsable de análisis bioinformáticos
 Núm. de Colegiado: EIC-19211 (Asociación y Escuela Oficial del Colegio de Ingenieros de Cataluña)

Este informe es confidencial y ninguna parte puede ser copiada sin el permiso expreso y por escrito del Laboratorio. Los resultados descritos en este informe se refieren exclusivamente a la muestra indicada. Más información sobre la enfermedad estudiada está disponible en la página web del Laboratorio (<http://www.bloodgenetics.com>). En virtud de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de protección de datos de carácter personal, le informamos de que sus datos quedarán incorporados y serán tratados en el fichero Diagnóstico e Investigación, del que es titular BLOODGENETICS S.L., para fines de diagnóstico e investigación de la entidad. Le recordamos que podrá ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición mediante escrito, anexando fotocopia del DNI, dirigido a BLOODGENETICS S.L.

Paciente:	P-000xx	nºCaso:	xxx	Médico:	Dr. XXXXX
------------------	----------------	----------------	------------	----------------	------------------

Paciente:	Fecha:	Panel:
P-000XX	--/--/20xx	NGS-10010v13

Anexo I: MÉTODOS, PARÁMETROS DE CALIDAD Y LIMITACIONES

Metodología:

Tras la recepción de sangre del paciente se procede a la extracción de DNA para la realización del estudio genético. Las muestras de DNA son procesadas mediante la tecnología Haloplex (Agilent) donde son fragmentadas utilizando enzimas de restricción y desnaturalizadas. La librería de sondas (diseño propio realizado por SureDesing) es añadida e hibridizada a los fragmentos diana. Cada sonda es un oligonucleótido diseñado para hibridar ambos extremos de los fragmentos diana del DNA, guiando así los fragmentos específicos para formar moléculas de DNA circulares. Las sondas se encuentran biotiniladas y por lo tanto los fragmentos pueden recuperarse con esferas de estreptavidina magnéticas. Las moléculas circulares se cierran por ligación y se amplifican mediante PCR. Tras purificar los productos de PCR, las muestras están preparadas para secuenciar en equipos MiSeq (Illumina) con una longitud de lectura de 2x250bp. Durante todo el proceso se utiliza un control interno para validar las diferentes etapas del proceso.

Tras la secuenciación, los datos son analizados con el software SureCall (Agilent) donde las muestras son alineadas con el genoma humano de referencia GRCh37/hg19 y procesadas para posteriormente efectuar la búsqueda de variantes. Para finalizar, las variantes encontradas son filtradas utilizando nuestra propia base de datos y sistema de clasificación.

Parámetros de calidad:

El Panel para Hemocromatosis Hereditaria e Hiperferritinemia 10010v13 se compone de 9 genes involucrados en esta patología:

BMP6 FTH1 FTL GNPAT HAMP HFE HFE2 TFR2 SLC40A1

Las regiones codificantes y zonas de splicing de estos genes son secuenciados mediante NGS con un alto coverage lo que permite detectar variaciones genéticas con precisión.

El diseño del panel incluye 280 regiones que cubren 105889 bases con un 98,66% de cobertura.

En este análisis se han producido [xxxx] reads con un coverage medio de [xxx]X.

En total se han encontrado [xx] variantes de tipo 1, 2 y 3 (patogénicas, posiblemente patogénicas o VUS) que pasan el filtrado de calidad.

Todos los cambios patogénicos, documentados o no, son confirmados por secuenciación Sanger independiente. Los cambios clasificados como probablemente benignos o benignos no son confirmados.

Limitaciones:

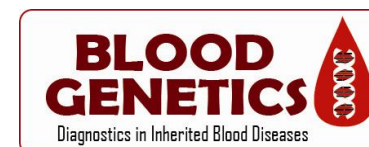
La interpretación de los resultados está limitada por la información disponible en la actualidad. En un futuro es posible una mejor interpretación a medida que aumentan los datos y el conocimiento sobre genética humana y enfermedades específicas.

En el test son secuenciados los exones de cada transcrito, 50bp de los extremos de cada exón y las regiones 3' y 5' de los genes. A pesar de esto, el informe no contiene información sobre las zonas no cubiertas de los genes como regiones intrónicas profundas o cualquier exon alternativo actualmente no caracterizado.

Este informe es confidencial y ninguna parte puede ser copiada sin el permiso expreso y por escrito del Laboratorio. Los resultados descritos en este informe se refieren exclusivamente a la muestra indicada. Más información sobre la enfermedad estudiada está disponible en la página web del Laboratorio (<http://www.bloodgenetics.com>). En virtud de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de protección de datos de carácter personal, le informamos de que sus datos quedarán incorporados y serán tratados en el fichero Diagnóstico e Investigación, del que es titular BLOODGENETICS S.L., para fines de diagnóstico e investigación de la entidad. Le recordamos que podrá ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición mediante escrito, anexando fotocopia del DNI, dirigido a BLOODGENETICS S.L.

Paciente:	P-000xx	nºCaso:	xxx	Médico:	Dr. XXXXX
Diagnostics in Inherited Blood Diseases BLOODGENETICS S.L. Barcelona, España. info@bloodgenetics.com					

Paciente:	Fecha:	Panel:
P-000XX	--/--/20xx	NGS-10010v13



Anexo II: VARIANTES DE SIGNIFICACIÓN INCIERTA ENCONTRADAS EN EL ESTUDIO

	GEN	cDNA /PROTEÍNA	CIGOSIDAD	MAF (20/06/2016)	BASE DE DATOS	INTERPRETACIÓN Y OBSERVACIONES
Variantes en CDS	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
Variantes en región intrónica	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
Variantes en 5'UTR	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
Variantes en 3'UTR	[HFE]	[NM_000410.3:c.*991C>T]	HET	[0.0046]	[rs148307737]	Variante de significación desconocida presente en 3'UTR que podría afectar a la estabilidad del mRNA y a la producción de la proteína.]
	⌈	⌈	--	⌈	⌈	
	⌈	⌈	--	⌈	⌈	

• La evidencia disponible actualmente es insuficiente para descartar un papel causante o contributivo en la enfermedad de estas variaciones. Sin ensayos funcionales y estudios genéticos familiares no es posible conocer la relevancia precisa de las VUS encontradas.

• No se reportan aquellas variantes conocidas como benignas, aquellas que poseen una frecuencia poblacional alta (MAF>3%), variantes sin cambio de aminoácidos (sinónimas) y las que se encuentran en regiones intrónicas profundas (+/- 50bp).

Este informe es confidencial y ninguna parte puede ser copiada sin el permiso expreso y por escrito del Laboratorio. Los resultados descritos en este informe se refieren exclusivamente a la muestra indicada. Más información sobre la enfermedad estudiada está disponible en la página web del Laboratorio (<http://www.bloodgenetics.com>). En virtud de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de protección de datos de carácter personal, le informamos de que sus datos quedarán incorporados y serán tratados en el fichero Diagnóstico e Investigación, del que es titular BLOODGENETICS S.L., para fines de diagnóstico e investigación de la entidad. Le recordamos que podrá ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición mediante escrito, anexando fotocopia del DNI, dirigido a BLOODGENETICS S.L.

Paciente:	P-000xx	nº Caso:	xxx	Médico:	Dr. XXXXX
Diagnostics in Inherited Blood Diseases BLOODGENETICS S.L. Barcelona, España. info@bloodgenetics.com					