

## Глава 4 ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

Меган Сазерлэнд, Карлос Де Браси, Барбара А. Конкл, Шримати Шетти, Гленн Ф. Пиэрс, Алок Шривастава

### РЕКОМЕНДАЦИИ

#### 4.1 | Введение

##### Рекомендация 4.1.1

ВФГ рекомендует лицам с гемофилией провести генетическое тестирование с целью определения специфической обуславливающей генетической вариации, ассоциированной с имеющимся у них заболеванием.<sup>КР</sup>

##### Рекомендация 4.1.2

ВФГ рекомендует проведение генетического тестирования облигатным носительницам гемофилии и родственницам лиц с гемофилией из «группы риска» или потенциальным носительницам гемофилии с целью определения у них ранее выявленной генетической вариации в гене F8 или F9.<sup>КР</sup>

##### Рекомендация 4.1.3

Для женщин с фенотипически низкими уровнями факторов коагуляции FVIII или FIX ВФГ рекомендует проведение исследования генетической/эпигенетической основы фенотипа.<sup>КР</sup>

##### Рекомендация 4.1.4

Для облигатных носительниц гемофилии и родственниц лиц с гемофилией из «группы риска» или потенциальных носительниц гемофилии ВФГ рекомендует внимательный сбор и анализ семейной родословной в поддержку назначения генетического тестирования.<sup>КР</sup>

##### Рекомендация 4.1.5

Для лиц с подозрением на гемофилию и потенциальных носительниц гемофилии перед направлением на генетическое тестирование ВФГ настоятельно рекомендует проводить фенотипический скрининг уровней FVIII или FIX, определение антигена фактора Виллебранда (VWF) и активности VWF.<sup>КР</sup>

##### Рекомендация 4.1.6

Для лиц с гемофилией, облигатных носительниц гемофилии, родственниц из «группы риска» или лиц с низким уровнем факторов коагуляции ВФГ настоятельно рекомендует перед предложением генетического тестирования проводить подробное генетическое консультирование.

- ПРИМЕЧАНИЕ: Генетическое консультирование должно включать разъяснение экспериментальных пределов результатов молекулярного исследования в соответствии с наличием практических подходов.
- ПРИМЕЧАНИЕ: : Генетическое консультирование должно включать разъяснение вероятности случайных обнаружений в генах помимо генов F8 или F9, если используемая исследовательской лабораторией методология (например, секвенирование следующего поколения [ССП]) способна обнаруживать такие генетические вариации.
- ПРИМЕЧАНИЕ: При наличии консультанта-генетика генетическое консультирование должно осуществляться этим специалистом. При отсутствии консультанта-генетика генетическое консультирование должно проводиться медработником, обладающим знаниями в области генетики гемофилии.<sup>КР</sup>

##### Рекомендация 4.1.7

При направлении на генетическое тестирование любых пациентов ВФГ настоятельно рекомендует получить информированное согласие от пациента, родителя или законного опекуна. Для этого необходимо как разрешение на проведение тестирования, так и разъяснение, обеспечивающее полное понимание процедуры тестирования, его пользы и ограничений, а также возможных последствий результатов тестирования.

- ПРИМЕЧАНИЕ: : В соответствии с местными правилами и практикой врачу или консультанту-генетику может потребоваться получение и документальная регистрация письменного информированного согласия.<sup>КР</sup>

#### 4.2 | Показания для генетической оценки

##### Рекомендация 4.2.1

Для лиц с подозрением на гемофилию или диагностированной гемофилией, проходящих генетическое тестирование, ВФГ рекомендует генотипировать нулевого пациента (пробанда), чтобы определить обуславливающую генетическую вариацию.<sup>КР</sup>

##### Рекомендация 4.2.2

Для облигатных носительниц гемофилии и родственниц болеющего пробанда из «группы риска» или потенциальных носительниц гемофилии ВФГ рекомендует генетическое консультирование по поводу риска носительства.<sup>КР</sup>

##### Рекомендация 4.2.3

Для всех облигатных носительниц гемофилии и родственниц лиц с гемофилией из «группы риска» или потенциальных носительниц гемофилии ВФГ рекомендует измерение фенотипических уровней факторов коагуляции.<sup>КР</sup>

## Глава 4 ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

### Рекомендация 4.2.4

Для всех облигатных носительниц гемофилии и родственниц лиц с гемофилией из «группы риска» ВФГ рекомендует предложить генетическое тестирование на ранее выявленную генетическую вариацию в гене F8 или F9. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.2.5

Для женщин с фенотипически низким уровнем фактора коагуляции FVIII или FIX ВФГ рекомендует предложить исследование генетической/эпигенетической основы фенотипа. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.2.6

Для беременных носительниц вариации генов F8 или F9 с плодом мужского пола ВФГ рекомендует предложить пренатальную диагностику (ПНД) для определения наличия у плода гемофилии.

- ПРИМЕЧАНИЕ: Генетическое консультирование должно включать разъяснение риска процедуры ПНД для беременности.
- ПРИМЕЧАНИЕ: Важно знать и соблюдать касающееся таких процедур соответствующее законодательство страны, в которой предоставляются эти услуги. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.2.7

Семьям, желающим подготовиться к рождению ребёнка с гемофилией или желающих прервать беременность в случае гемофилии у плода, ВФГ рекомендует предложить пренатальную диагностику (ПНД) методом биопсии ворсин хориона или амниоцентеза.

- ПРИМЕЧАНИЕ: Важно знать и соблюдать законодательство, регулирующее такие процедуры в стране предоставления подобной услуги.
- ПРИМЕЧАНИЕ: ПНД может быть предложена на ранних сроках беременности, а на поздних сроках - методом амниоцентеза с тем, чтобы составить тактику ведения родов ребенка с гемофилией. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.2.8

Для лиц с подозрением на гемофилию или диагностированной гемофилией ВФГ рекомендует проведение генетического тестирования; информация о генетической вариации может способствовать прогнозированию риска появления ингибиторов, ответа на индукцию иммунотолерантности (ИИТ), степени тяжести фенотипа, а также определению возможности применения методов генной инженерии. <sup>КР</sup>

## 4.3 | Стратегия генетического тестирования пробандов

### Рекомендация 4.3.1

Для мужчин-пробандов ВФГ рекомендует проводить генетическое тестирование исходя из базового фенотипического уровня фактора коагуляции, который указывает на степень тяжести нарушения.

- У пациентов с тяжёлой гемофилией А (FVIII:C <1 МЕ/дл) или среднетяжёлой формой гемофилии А с нижним пограничным уровнем активности фактора (FVIII:C 1-3 МЕ/дл) в первую очередь следует провести анализ инверсии интрона 22 и интрона 1 F8.
- Пациенты с тяжёлой гемофилией А, у которых не было обнаружено распространённых инверсий (т.е. инверсий интрона 22 и интрона 1 F8), должны пройти скрининг и характеризацию малых вариаций, включая однонуклеотидные вариации (ОНВ) и вариации малых инсерций, дупликации или делеции с покрытием важных областей F8, в том числе 26 экзонов, границ экзонов/интронов и нетранслируемых областей 5' и 3'. Если и эти тесты окажутся неинформативными, пациентам следует сделать скрининг на вариацию числа копий (ВЧК), включая крупные делеции, дупликации или сложные перестройки F8.
- Для пациентов со среднетяжёлой (FVIII:C 1-5 МЕ/дл) или лёгкой (FVIII:C 5-40 МЕ/дл) формой гемофилии А сначала необходимо провести скрининг и характеризацию малых вариаций (т.е. ОНВ и малых инсерций, дупликаций или делеций) с покрытием важных областей F8, включая 26 экзонов, границы экзонов/интронов и нетранслируемые области 5' и 3'. Если эти тесты вновь окажутся неинформативными, пациентам следует выполнить скрининг на ВЧК F8.
- Для всех пациентов с гемофилией В (т.е. пациентов с тяжёлой [FIX:C <1 МЕ/дл], среднетяжёлой [FIX:C 1-5 МЕ/дл] и лёгкой [FIX:C 5-40 МЕ/дл] формой гемофилии В) сначала необходимо выполнить скрининг и характеризацию малых вариаций (т.е. ОНВ и малых инсерций, дупликаций или делеций) с покрытием важных областей F9, включая 8 экзонов, границы экзонов/интронов и нетранслируемые области 5' и 3'. Если эти тесты по-прежнему окажутся неинформативными, пациентам следует выполнить скрининг на ВЧК F9. <sup>КР</sup>

## 4.4 | Методы генетической оценки

### Рекомендация 4.4.1

Для лиц с тяжёлой гемофилией А или для лиц со среднетяжёлой гемофилией А с минимальными остаточными уровнями активности фактора на нижней границе диапазона (FVIII:C 1-3 МЕ/дл) ВФГ рекомендует тестирование инверсии интрона 22 F8 и инверсии интрона 1 F8 в качестве первой линии генетического тестирования.

- ПРИМЕЧАНИЕ: Для обнаружения инверсии интрона 22 F8 и интрона 1 F8 могут быть использованы разные методы в зависимости от имеющихся технических навыков и ресурсов.
- ПРИМЕЧАНИЕ: Все результаты должны подтверждаться независимым аналитическим тестированием образца ДНК. <sup>КР</sup>

## Глава 4 ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

### Рекомендация 4.4.2

Для лиц с тяжёлой гемофилией А, у которых не обнаружены обычные вариации инверсии интрона 22 или интрона 1 F8, ВФГ рекомендует полный скрининг важных областей гена F8, включая 26 экзонов, границы сплайсинга, промотор и нетранслируемые области 5' и 3'.

- ПРИМЕЧАНИЕ: Например, в зависимости от имеющихся ресурсов полный скрининг гена F8 может состоять из полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования по Сенгеру или секвенирования следующего поколения (ССП). Если ресурсы ограничены, перед секвенированием по Сенгеру лаборатории могут выбрать экономичный метод скрининга.
- ПРИМЕЧАНИЕ: При выборе аналитического метода лаборатории должны быть проинформированы о его чувствительности и специфичности и о времени, необходимом для создания отчета с интерпретацией полученных данных.
- ПРИМЕЧАНИЕ: При анализе вариаций, обнаруженных методом секвенирования по Сенгеру, наличие вариации должно быть подтверждено как в направлении 5' (прямом), так и 3' (обратном), особенно у гетерозиготных носительниц.
- Примечание: Все результаты должны подтверждаться независимым аналитическим тестированием образца ДНК. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.4.3

Для лиц с гемофилией В ВФГ рекомендует полный скрининг важных областей гена F9, включая 8 экзонов, границы сплайсинга, промотор и нетранслируемые области 5' и 3'.

- ПРИМЕЧАНИЕ: Например, в зависимости от наличия ресурсов, полный скрининг гена F9 может включать полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и секвенирование по Сенгеру или секвенирование следующего поколения (ССП). Если ресурсы ограничены, перед секвенированием по Сенгеру лаборатории могут выбрать экономичный метод скрининга.
- ПРИМЕЧАНИЕ: При выборе аналитического метода лаборатории должны быть проинформированы о его чувствительности и специфичности и о времени, необходимом для создания отчета с интерпретацией полученных данных.
- ПРИМЕЧАНИЕ: При анализе вариаций, обнаруженных при помощи секвенирования по Сенгеру, наличие вариации должно быть подтверждено в обоих направлениях: 5' (прямое) и 3' (обратное), особенно у гетерозиготных носительниц.
- ПРИМЕЧАНИЕ: Все результаты должны быть подтверждены путём независимого аналитического тестирования образца ДНК. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.4.4

Для лиц с гемофилией А или В, у которых анализ инверсий или полное секвенирование гена не обнаружили вариаций, ВФГ рекомендует провести исследование на крупные делеции или дупликации.

- ПРИМЕЧАНИЕ: Анализ вариации числа копий (ВЧК) может проводиться с использованием различных валидированных методов в зависимости от имеющихся в лаборатории ресурсов. Исходя из практических ограничений метода, результаты должны по возможности предоставляться с оценкой вероятности ошибки.
- ПРИМЕЧАНИЕ: Все результаты должны подтверждаться независимым аналитическим тестированием образца ДНК. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.4.5

При проведении пренатального тестирования ВФГ рекомендует проверять образец плода на контаминацию материнской кровью.

- ПРИМЕЧАНИЕ: В зависимости от наличия технических навыков и ресурсов для тестирования на контаминацию материнской кровью могут быть использованы различные методы. Например, можно использовать множественные аутоматические маркеры коротких tandemных повторов (КТП).
- ПРИМЕЧАНИЕ: При выборе аналитического метода лаборатории должны быть проинформированы о его чувствительности и специфичности и о времени, необходимом для создания отчета с интерпретацией полученных данных. <sup>КР</sup>

## 4.5 | Классификация и описание вариаций

### Рекомендация 4.5.1

ВФГ рекомендует проводить классификацию вариаций в соответствии с «Рекомендациями Американской коллегии медицинской генетики и геномики (АКМГ)».

- ПРИМЕЧАНИЕ: ClinGen – ресурс, финансируемый Национальными институтами здравоохранения США и посвящённый созданию центрального источника для определения клинической релевантности генов и вариаций, сформировал международный экспертный комитет по применению «Рекомендаций АКМГ» к вариациям генов F8 и F9, который в свою очередь призван создать больше рекомендаций непосредственно по гемофилии. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.5.2

ВФГ рекомендует описывать вариации, используя номенклатуру Общества вариаций генома человека (ОВГЧ). <sup>КР</sup>

## 4.6 | Отчёты с интерпретацией результатов

### Рекомендация 4.6.1

ВФГ рекомендует, чтобы отчёт с интерпретацией результатов включал

- Информацию о пациенте, в том числе ФИО, дату рождения, ФИО медика, назначившего анализ, дату забора образца, диагноз, исходный уровень активности фактора и клинико-генеалогическое исследование;

## Глава 4 ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

- Описание анализа(-ов), ссылки на литературу (если это применимо), ограничения тестирования и референтную геномную последовательность, использованную при анализе
- Результаты, включая вариацию(и) ДНК в соответствии с номенклатурой Общества вариаций генома человека (ОВГЧ) и классификацией вариаций Американской коллегии медицинской генетики и геномики (АКМГ); а также
- Интерпретацию результатов теста в формате, приемлемом для назначившего исследование медика, при наличии показаний включающую рекомендации по дальнейшему тестированию, разъяснение для пациентов и членов их семей результатов теста и значения генетического консультирования <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.6.2

Для всех отчётов с интерпретацией результатов всем лицам, проходящим генетическое тестирование на гемофилию, ВФГ рекомендует, чтобы назначивший исследование медик и делающий отчёт исследователь при необходимости были доступны для обсуждения потенциальных фенотипических последствий установленного генотипа. <sup>КР</sup>

## 4.7 | Стратегия действий в случаях, когда обуславливающая вариация не обнаружена

### Рекомендация 4.7.1

Для лиц с чётко подтверждённым диагнозом гемофилии, но без обнаруженных имеющихся диагностическими методами генетического тестирования вариаций F8 или F9 ВФГ рекомендует рассмотреть другие генетические причины (например, глубокие интронные вариации).

- ПРИМЕЧАНИЕ: Ожидается, что в недалёком будущем имеющиеся методы тестирования усовершенствуются и будут включать секвенирование следующего поколения (ССП) и полногеномное секвенирование (ПГС).
- ПРИМЕЧАНИЕ: Методы СПП и ПГС должны применяться лишь после того, как будет установлено, что метод может определить структурные вариации. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.7.2

Для родственниц лиц с гемофилией из «группы риска», у которых стандартные методы генетической диагностики не выявили семейных вариаций, особенно для женщин с одним ребёнком с гемофилией, ВФГ рекомендует рассмотреть и обсудить при генетическом консультировании вероятность мозаицизма. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.7.3

Для лиц с гемофилией А, у которых путь наследования не ясен, и у которых современные методы диагностики не обнаружили инверсии или вариации, ВФГ рекомендует исследовать возможность других потенциальных диагнозов, включая болезнь фон Виллебранда (БВ) типа 2N, комбинированный дефицит FV и FVIII или другие типы БВ. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.7.4

Для симптоматических женщин с фенотипически низким уровнем фактора коагуляции FVIII или FIX, у которых обнаружена только одна патогенная вариация, ВФГ рекомендует проведение исследовательских тестов на паттерн инактивации X-хромосомы, если это выполнимо в местных условиях. <sup>КР</sup>

## 4.8 | Обеспечение качества

### Рекомендация 4.8.1

ВФГ рекомендует, чтобы генетические диагностические лаборатории проходили периодическую аккредитацию в утверждённой организации, при наличии таковой. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.8.2

ВФГ рекомендует лабораториям регулярное проведение внутреннего контроля качества (ВКК) генетических анализов с регистрацией результатов. <sup>КР</sup>

### Рекомендация 4.8.3

ВФГ рекомендует, чтобы лаборатории участвовали в Системах внешней оценки качества (СВОК) по выполняемым у них генетическим анализам.

- ПРИМЕЧАНИЕ: Участие в СВОК обеспечивает точность и надёжность анализов. Это можно сделать как путём участия в официальной СВОК, так и через неофициальный обмен образцами между лабораториями. <sup>КР</sup>

<sup>КР</sup>, консенсусные рекомендации; ФВ фактор Виллебранда; СПП секвенирование следующего поколения; ПНД пренатальная диагностика; ИИТ индукция иммунной толерантности; ВЧК вариация числа копий; ОНВ однонуклеотидные вариации; ДНК дезоксирибонуклеиновая кислота; ПЦР полимеразная цепная реакция, КТП короткие tandemные повторы; АКМГ Американская коллегия медицинской генетики и геномики; ОВГЧ Общество вариаций генома человека; ПГС полногеномное секвенирование; ВКК внутренний контроль качества; СВОК системы внешней оценки качества