

Capítulo 4 VALORACIÓN GENÉTICA

Megan Sutherland, Carlos De Brasi, Barbara A. Konkle, Shrimati Shetty, Glenn F. Pierce, Alok Srivastava

RECOMENDACIONES

4.1 | Introducción

Recomendación 4.1.1

Para personas con hemofilia, la FMH recomienda que se ofrezcan pruebas genéticas a fin de identificar la variante genética subyacente específica relacionada con el trastorno. ^{BC}

Recomendación 4.1.2

Para portadoras obligadas de hemofilia y familiares mujeres “en riesgo” de personas con hemofilia o posibles portadoras de la hemofilia, la FMH recomienda que se ofrezcan pruebas genéticas a fin de detectar la variante genética previamente identificada en los genes *F8* o *F9*. ^{BC}

Recomendación 4.1.3

Para mujeres con bajos niveles de coagulación de FVIII o FIX fenotípicos, la FMH recomienda que se ofrezca la investigación de la base genética/epigenética del fenotipo. ^{BC}

Recomendación 4.1.4

Para portadoras obligadas de hemofilia y familiares mujeres “en riesgo” de personas con hemofilia o posibles portadoras de la hemofilia, la FMH recomienda que se incluya un árbol genealógico familiar detallado a fin de apoyar la referencia para las pruebas genéticas. ^{BC}

Recomendación 4.1.5

Para personas en quienes se sospecha hemofilia y posibles portadoras de hemofilia, la FMH recomienda enfáticamente que se realicen pruebas fenotípicas de niveles de FVIII o FIX, de antígeno del factor Von Willebrand factor (FVW), y de actividad del FVW, antes de referir a la persona para pruebas genéticas. ^{BC}

Recomendación 4.1.6

Para personas con hemofilia, portadoras obligadas de la hemofilia, parientes mujeres “en riesgo”, o personas con bajos niveles de factor de coagulación, la FMH recomienda enfáticamente que se proporcione asesoría genética detallada antes de ofrecer pruebas genéticas.

- OBSERVACIÓN: La asesoría genética debería incluir una conversación sobre los límites experimentales de los resultados moleculares, según la disponibilidad de enfoques experimentales.
- OBSERVACIÓN: La asesoría genética debería incluir una conversación sobre la posibilidad de hallazgos incidentales en otros genes además de los genes *F8* o *F9*, si la metodología utilizada por el laboratorio investigador (ej. secuenciación de nueva generación o SNG) pudiera detectar tales variaciones genéticas.
- OBSERVACIÓN: Siempre que sea posible, la asesoría genética debería estar a cargo de un asesor genético con estudios específicos. Si no hubiera un asesor genético disponible, un profesional médico con conocimientos de la genética de la hemofilia puede proporcionar la asesoría genética. ^{BC}

Recomendación 4.1.7

Para todos los pacientes referidos a asesoría genética, la FMH recomienda enfáticamente que se obtenga el consentimiento informado del paciente, o del padre o tutor. Esto abarca tanto el permiso para realizar las pruebas como la instrucción a pacientes/familiares, a fin de garantizar que comprendan cabalmente el procedimiento de tales pruebas, los beneficios y las limitaciones de las mismas, así como las posibles consecuencias de los resultados.

- OBSERVACIÓN: Pudiera ser necesario que el médico o asesor genético obtenga y documente el consentimiento informado por escrito, de conformidad con las políticas y prácticas locales. ^{BC}

4.2 | Indicaciones para la valoración genética

Recomendación 4.2.1

Para personas con hemofilia o que se sospecha tienen hemofilia a quienes se realicen pruebas genéticas, la FMH recomienda la genotipificación del caso índice (probando), a fin de identificar la variante genética subyacente. ^{BC}

Recomendación 4.2.2

Para portadoras obligadas de hemofilia y mujeres “en riesgo” que son parientes del probando afectado o posibles portadoras de hemofilia, la FMH recomienda que se les proporcione asesoría genética sobre el riesgo de ser portadoras. ^{BC}_{1/5}

Capítulo 4 VALORACIÓN GENÉTICA

Recomendación 4.2.3

Para todas las portadoras obligadas de hemofilia y para mujeres “en riesgo” que son parientes de personas con hemofilia o posibles portadoras de hemofilia, la FMH recomienda la medición de los niveles fenotípicos del factor de coagulación. ^{BC}

Recomendación 4.2.4

Para todas las portadoras obligadas de hemofilia y para mujeres “en riesgo” que son parientes de personas con hemofilia, la FMH recomienda que se ofrezcan las pruebas genéticas para la variante previamente identificada en los genes *F8* o *F9*. ^{BC}

Recomendación 4.2.5

Para mujeres con bajos niveles de coagulación de FVIII o FIX fenotípicos, la FMH recomienda que se ofrezca la investigación de las bases genéticas/epigenéticas del fenotipo. ^{BC}

Recomendación 4.2.6

Para mujeres embarazadas que son portadoras de una variante de los genes *F8* o *F9* y están gestando un feto varón, la FMH recomienda que se ofrezca diagnóstico prenatal (DPN) a fin de determinar la condición del feto respecto a la hemofilia.

- OBSERVACIÓN: La asesoría genética debería incluir una conversación sobre el riesgo que el procedimiento de DPN implica para el embarazo.
- OBSERVACIÓN: Es importante estar al tanto de la legislación relevante que gobierna tales procedimientos en el país en el que se proporcionan los servicios. ^{BC}

Recomendación 4.2.7

Para familias que antes del nacimiento desean estar preparadas para un bebé con hemofilia o que desean poner fin a la gestación del feto afectado, la FMH recomienda que se ofrezca el diagnóstico prenatal (DPN) mediante muestra de vellosidades coriónicas o amniocentesis.

- OBSERVACIÓN: Es importante acatar y estar al tanto de la legislación relevante que gobierna tales procedimientos en el país en el que se proporcionan los servicios.
- OBSERVACIÓN: El DPN puede ofrecerse en la fase temprana del embarazo o mediante amniocentesis en una fase tardía de la gestación, a fin de orientar el manejo del parto de un bebé afectado. ^{BC}

Recomendación 4.2.8

Para personas con hemofilia o que se sospecha tienen hemofilia, la FMH recomienda la realización de pruebas genéticas; el conocimiento de la variante genética puede ayudar a pronosticar el riesgo de aparición de inhibidores, la respuesta a la inducción de inmunotolerancia (ITI), y la profundidad de la gravedad del fenotipo, así como determinar la disponibilidad de técnicas de manipulación genética. ^{BC}

4.3 | Estrategia para las pruebas genéticas en probandos

Recomendación 4.3.1

Para probandos varones, la FMH recomienda que las pruebas genéticas se orienten con base en el nivel de factor de coagulación fenotípico inicial del probando, el cual indica la gravedad del trastorno.

- En pacientes con hemofilia A grave (FVIII:C <1 UI/dL) o hemofilia A moderada con niveles de actividad del factor bajos-límitrofes (FVIII:C 1-3 UI/dL), el análisis de la inversión del intrón 22 del *F8* y el análisis de la inversión del intrón 1 del *F8* deberían realizarse primero.
- Los pacientes con hemofilia A grave en quienes no pueden detectarse inversiones recurrentes (es decir, inversiones del intrón 22 y del intrón 1 del *F8*) deberían someterse a pruebas de detección y caracterización de pequeñas variantes, entre ellas variantes de nucleótido único (VNU) y pequeñas inserciones, duplicaciones o deleciones que abarquen las regiones esenciales del gen *F8*, incluyendo a los 26 exones, las uniones exón/intrón, y las regiones no traducidas 5' y 3'. Si estas pruebas no resultaran informativas, los pacientes deberían someterse a pruebas de detección de variación en el número de copias, entre ellas grandes deleciones, duplicaciones o rearrreglos complejos del *F8*.
- En pacientes con hemofilia A moderada (FVIII:C 1-5 UI/dL) o leve (FVIII:C 5-40 UI/dL) primero deberían realizarse pruebas de detección y caracterización de pequeñas variantes (es decir, VNU y pequeñas inserciones, duplicaciones o deleciones) que abarquen las regiones esenciales del gen *F8*, incluyendo los 26 exones, las uniones exón/intrón, y las regiones no traducidas 5' y 3'. Si estas pruebas no resultaran informativas, los pacientes deberían someterse a pruebas de detección de variación en el número de copias en el *F8*.
- En todos los pacientes con hemofilia B [es decir, pacientes con hemofilia B grave (FIX:C <1 UI/dL), moderada (FIX:C 1-5 UI/dL) y leve (FIX:C 5-40 UI/dL)], primero deberían realizarse pruebas de detección y caracterización de pequeñas variantes (es decir, VNU y pequeñas inserciones, duplicaciones o deleciones) que abarquen las regiones esenciales del gen *F9*, incluyendo los 8 exones, las uniones exón/intrón, y las regiones no traducidas 5' y 3'. Si estas pruebas no resultaran informativas, los pacientes deberían someterse a pruebas de detección de variación en el número de copias en el *F9*. ^{BC 2/5}

Capítulo 4 VALORACIÓN GENÉTICA

4.4 | Técnicas de valoración genética

Recomendación 4.4.1

Para personas con hemofilia A grave, o hemofilia A moderada con niveles de actividad del factor bajos o limítrofes (FVIII:C 1-3 UI/dL), la FMH recomienda pruebas para detectar la inversión del intrón 22 del *F8* y la inversión del intrón 1 del *F8*, como primera línea de las pruebas genéticas.

- OBSERVACIÓN: Pueden usarse diferentes técnicas para detectar la inversión del intrón 22 del *F8* y la inversión del intrón 1 del *F8*, dependiendo de la experiencia técnica y los recursos disponibles.
- OBSERVACIÓN: Todos los resultados deberían confirmarse mediante pruebas analíticas independientes a la muestra de ADN. ^{BC}

Recomendación 4.4.2

Para personas con hemofilia A grave con resultados negativos para las variantes comunes, inversión del intrón 22 del *F8* e inversión del intrón 1 del *F8*, la FMH recomienda un análisis genético completo de las regiones esenciales del *F8*, entre ellas los 26 exones, los sitios de *splicing*, las regiones promotoras, y las regiones no traducidas 5' y 3'.

- OBSERVACIÓN: Por ejemplo, dependiendo de la disponibilidad de recursos, el análisis completo del gen *F8* podría realizarse mediante amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (RCP) y secuenciación de Sanger o secuenciación de nueva generación (SNG). En caso de contar con recursos limitados, los laboratorios pueden elegir un método de análisis rentable antes de la secuenciación de Sanger.
- OBSERVACIÓN: Al elegir una técnica de análisis, los laboratorios deben estar conscientes de la sensibilidad y especificidad del método que se utilizará, y del tiempo requerido para generar un informe interpretativo.
- OBSERVACIÓN: La presencia de una variante debería confirmarse por secuenciación en ambas direcciones, tanto 5' (hacia adelante) como 3' (hacia atrás), sobre todo en portadoras heterocigotas, cuando se analizan variantes detectadas usando el método de secuenciación de Sanger.
- OBSERVACIÓN: Todos los resultados deberían confirmarse mediante pruebas analíticas independientes a la muestra de ADN. ^{BC}

Recomendación 4.4.3

Para personas con hemofilia B, la FMH recomienda un análisis genético completo de las regiones esenciales del *F9*, entre ellas los 8 exones, los sitios de *splicing*, la región promotora, y las regiones no traducidas 5' y 3'.

- OBSERVACIÓN: Por ejemplo, dependiendo de la disponibilidad de recursos, el análisis completo del gen *F9* podría realizarse mediante reacción en cadena de la polimerasa (RCP) y secuenciación de Sanger o secuenciación de nueva generación (SNG). En caso de recursos limitados, los laboratorios pueden elegir un método rentable de monitoreo antes de la secuenciación de Sanger.
- OBSERVACIÓN: Al elegir una técnica analítica, los laboratorios deben estar conscientes de la sensibilidad y especificidad del método que se utilizará, y del tiempo requerido para generar un informe interpretativo.
- OBSERVACIÓN: La presencia de una variante debería confirmarse por secuenciación en ambas direcciones, tanto 5' (hacia adelante) como 3' (hacia atrás), sobre todo en portadoras heterocigotas, cuando se analizan variantes detectadas usando el método de secuenciación de Sanger.
- OBSERVACIÓN: Todos los resultados deberían confirmarse mediante pruebas analíticas independientes a la muestra de ADN. ^{BC}

Recomendación 4.4.4

Para personas con hemofilia A o B en quienes no se detecta variable alguna mediante el análisis de inversiones o mediante la secuenciación genética completa, la FMH recomienda que se investiguen eventos de delección o duplicación grandes.

- OBSERVACIÓN: El análisis de variantes en el número de copias (CNV por su sigla en inglés) puede realizarse usando diversas técnicas validadas, dependiendo de los recursos disponibles en el laboratorio. De acuerdo con las limitaciones prácticas de la técnica, los resultados deberían proporcionarse con un cálculo de error, de ser aplicable.
- OBSERVACIÓN: Todos los resultados deberían confirmarse mediante pruebas analíticas independientes a la muestra de ADN. ^{BC}

Recomendación 4.4.5

Para pruebas prenatales, la FMH recomienda que se realicen pruebas de contaminación con células maternas de la muestra fetal.

- OBSERVACIÓN: Pueden usarse diversas técnicas para hacer pruebas de contaminación de células maternas, dependiendo de la experiencia técnica y los recursos disponibles. Por ejemplo, pueden utilizarse múltiples marcadores autosómicos de repeticiones cortas en tándem (STR).
- OBSERVACIÓN: Al elegir una técnica analítica, los laboratorios deben estar conscientes de la sensibilidad y especificidad del método que se utilizará, y del tiempo requerido para generar un informe interpretativo. ^{BC}

Capítulo 4 VALORACIÓN GENÉTICA

4.5 | Clasificación y descripción de variantes

Recomendación 4.5.1

La FMH recomienda que las variantes se clasifiquen de acuerdo con las guías del Colegio Estadounidense de Genética y Genómica Médicas (ACMG por su sigla en inglés).

• OBSERVACIÓN: ClinGen, un recurso financiado por los Institutos Nacionales de la Salud de Estados Unidos, dedicado a la construcción de un registro central que defina la relevancia clínica de genes y variantes, ha reunido un comité internacional de expertos para aplicar las recomendaciones de la ACMG a las variantes de los genes *F8* y *F9*, lo cual debería generar recomendaciones más específicas para la hemofilia. ^{BC}

Recomendación 4.5.2

La FMH recomienda que las variantes se describan utilizando la nomenclatura de la Sociedad de Variaciones del Genoma Humano (HGVS por su sigla en inglés). ^{BC}

4.6 | Informes interpretativos

Recomendación 4.6.1

La FMH recomienda que los informes interpretativos incluyan lo siguiente:

- Información del paciente, incluyendo nombre, fecha de nacimiento, médico que solicita los análisis, fecha de recolección de la muestra, diagnóstico, nivel de factor inicial, y árbol genealógico familiar;
- descripción de los ensayos, referencias a la literatura (de ser aplicable), limitaciones de la prueba, y el genoma de referencia usado para el análisis de secuencia;
- resultados, incluyendo la(s) variante(s) del ADN descrita(s) en la nomenclatura de la Sociedad de Variaciones del Genoma Humano (HGVS por su sigla en inglés), y clasificación de patogenicidad de la(s) variante(s) del Colegio Estadounidense de Genética y Genómica Médicas (ACMG por su sigla en inglés); e
- interpretación de los resultados de la prueba en un formato útil para el médico que la solicitó, incluyendo recomendaciones para pruebas de seguimiento, de ser indicadas; implicaciones de los resultados de la prueba para pacientes y familiares, y el papel de la asesoría genética. ^{BC}

Recomendación 4.6.2

En el caso de todos los informes interpretativos para todas las personas que se sometan a pruebas genéticas de la hemofilia, la FMH recomienda que el médico que solicita la prueba y el científico que informa los resultados estén disponibles para conversar sobre las posibles consecuencias fenotípicas del genotipo reportado, conforme sea necesario. ^{BC}

4.7 | Estrategias si no se detectara una variante causal

Recomendación 4.7.1

Para personas con un diagnóstico sólido de hemofilia confirmado, pero en quienes no se detecta la variante en el *F8* o *F9* usando las pruebas genéticas diagnósticas actuales, la FMH recomienda que se consideren otras causas genéticas (ej. variantes intrónicas profundas).

- OBSERVACIÓN: Se espera que las técnicas analíticas actuales evolucionen en un futuro cercano para incluir secuenciación de nueva generación (SNG) y secuenciación del genoma completo (SGC).
- OBSERVACIÓN: Las técnicas de SNG y SGC deberían usarse solamente después de haber establecido que las mismas pueden detectar las variantes estructurales. ^{BC}

Recomendación 4.7.2

Para mujeres “en riesgo” parientes de personas con hemofilia en quienes la variante familiar no se ha detectado usando las pruebas genéticas diagnósticas habituales, particularmente en el caso de mujeres con un hijo afectado, la FMH recomienda que se considere la posibilidad de un mosaicismo genético y que se aborde durante la asesoría genética. ^{BC}

Recomendación 4.7.3

Para personas con hemofilia A en quienes el patrón de herencia no es concluyente, y en quienes no se ha detectado inversión o variante genética alguna con las pruebas diagnósticas actuales, la FMH recomienda que se investiguen otros posibles diagnósticos, entre ellos enfermedad Von Willebrand (EVW) tipo 2N; deficiencia combinada de FV y FVIII; u otros tipos de EVW. ^{BC}

Capítulo 4 VALORACIÓN GENÉTICA

Recomendación 4.7.4

Para mujeres sintomáticas con bajos niveles de coagulación de FVIII o FIX fenotípicos en quienes solo se encuentra una variante patogénica, la FMH recomienda realizar pruebas de investigación del patrón de inactivación del cromosoma X, de estar disponibles localmente. ^{BC}

4.8 | Aseguramiento de la calidad

Recomendación 4.8.1

La FMH recomienda que los laboratorios de diagnóstico genético deberían someterse a acreditaciones periódicas, de estar disponibles, por parte de un organismo aprobado. ^{BC}

Recomendación 4.8.2

La FMH recomienda que en el laboratorio se realice y registre habitualmente un control interno de la calidad (CIC) de las pruebas genéticas. ^{BC}

Recomendación 4.8.3

La FMH recomienda que los laboratorios participen en esquemas de valoración externa de la calidad (EQAS por su sigla en inglés) de las pruebas genéticas que ofrecen.

- **OBSERVACIÓN:** La participación en un EQAS garantiza que se proporcionen pruebas sólidas y confiables. Esto puede ser mediante la participación en un EQAS formal o mediante un intercambio informal de muestras entre laboratorios. ^{BC}