الفصل 4: التقييم الوراثي

ميغان ساذيرلاند – كارلوس د. دي برازي – باربرا أ. كونكليه – شريماتي شيتي – غلان ف. بيرس– ألوك سريفاستافا

التوصيات

4.1 | المقدمة

التوصية 4.1.1:

- بالنسبة لمرضى الناعور، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بتقديم الفحص الوراثي لتحديد المتغايرة الوراثيالوراثية الكامنة المحددة المرتبطة بمرضهم. (الإجماع)

التوصية 4.1.2:

- ناقلات الناعور الملزمات وأقارب مرضى الناعور الإناث " المعرضين لخطر الاصابة " أو الناقلات المحتملات الهيموفيليا، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بتقديم الفحص الوراثي للمتغايرة الوراثية التي تم تحديدها سابقًا لمورثة العامل الثامن (*F8*) أو العامل التاسع (*F9*). (الإجماع)

التوصية 4.1.3:

- بالنسبة للإناث اللواتي لديهن نمط تخثر ظاهري ذو مستويات منخفضة للعامل الثامن (FVIII) أو التاسع (FIX)، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بتقديم استقصاء الأساس الوراثيالوراثي/ اللاوراثي للنمط الظاهري. (الإجماع)

التوصية 4.1.4:

- بالنسبة لناقلات الناعور الملزمات وأقارب مرضى الناعور الإناث "المعرضين لخطر الاصابة " أو الناقلات المحتملات الهيموفيليا، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بادراج نسب مفصل للعائلة لدعم الإحالة إلى الفحص الوراثي. (الإجماع)

التوصية 4.1.5:

- بالنسبة للأفراد المُشتبه بإصابتهم بالناعور و الناقلات المحتملات الهيموفيليا، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بشدّة بإجراء استقصاء النمط الظاهري لمستويات العامل الثامن (FVIII) أو العامل التاسع (FIX)، ومستضدّ عامل فون ويلبراند (VWF)، واختبار فعالية عامل فون ويلبراند (VWF)، قبل الإحالة إلى الفحص الوراثي. (الإجماع)

التوصية 4.1.6:

- بالنسبة لمرضى الناعور، أو ناقلات الناعور الملزمات، أو أقارب مرضى الناعور الإناث " المعرضين لخطر الاصابة " أو الأفراد ذوي مستويات عامل التخثّر المنخفضة، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بشدّة بالاستشارة الوراثيالوراثية المفصّلة قبل تقديم الفحص الوراثيالوراثي.
- ملاحظة: يجب أن تشمل الاستشارة الوراثيّة نقاشًا للحدود الاختباريّة للنتائج الجزيئيّة وفقا لتوفّر المقاربات العمليّة.
- ملاحظة: يجب أن تشمل الاستشارة الوراثيّة نقاشًا لامكانية وجود موجودات طارئة لمورثات أخرى غير مورثة العامل الثامن (*F8*) أو العامل التاسع (*F9*)، إذا كانت المنهجيّة المستخدمة في الاستقصاء المخبري (مثلاً تسلسل الجيل المقبل (NGS)) يمكن ان تكشف مثل هذه المتغايّرات الوراثية. (الإجماع)
- ملاحظة: يجب ان تجرى الاستشارة الوراثيّة من قبل مستشار وراثي عند توفره. وفي حال عدم توفّر مستشار وراثي، يُمكن لأخصائي طبي على معرفة بوراثة الناعور أن يقدم الاستشارة الوراثيّة. (الإجماع)

التوصية 4.1.7:

- بالنسبة لكافة المرضى المُحالين للفحص الوراثي ، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بشدّة بالحصول على الموافقة المستنيرة من المريض، أو أحد الوالدَيْن، أو الوصي القانوني، ممّا يتطلب كلا من الإذن بإجراء الفحص بالإضافة الى التثقيف حرصًا على فهمهم الكامل لإجراء الفحص، و فوائد و محدوديات الاختبار، والعواقب المُحتملة لنتائج الاختبار.
- ملاحظة: قد تبرز الحاجة إلى الحصول على موافقة مستنيرة خطيّة وتوثيقها من قبل الطبيب أو المستشار الوراثي امتثالا للممارسات والسياسات المحليّة. (الإجماع

4.2 استطبابات التقييم الوراثي

التوصية 4.2.1:

- بالنسبة للأفراد مع إصابة مؤكدة او مشتبهة بالناعور ويخضعون لاختبار مورثي، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بإعداد النمط الوراثي للحالة الدالة (المستلفت) لتحديد المتغايّرة الوراثية الكامنة. (الإجماع)

التوصية 4.2.2:

- بالنسبة للناقلات الملزمات الهيموفيليا الإناث " المعرضين لخطر الاصابة " القريبات لمستلفت مصاب او لناقلة محتملة الهيموفيليا ، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بالاستشارة الوراثية بشأن خطر أن يكنّ ناقلات. (الإجماع)

التوصية 4.2.3:

- بالنسبة لكافة الناقلات الملزمات الهيموفيليا و الإناث " المعرضين لخطر الاصابة " من اقارب مرضى الناعور أو الناقلات المحتملات الهيموفيليا ، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بقياس مستويات عامل التخثّر الظاهري. (الإجماع)

الفصل 4: التقييم الوراثي

التوصية 4.2.4:

- بالنسبة لكافة الناقلات الملزمات الهيموفيليا و والإناث " المعرضين لخطر الاصابة " من أقارب مرضى الناعور، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بتقديم الفحص الوراثيالوراثي للمتغايّرة الوراثيالوراثية المُحدّدة مسبقًا في مورثة العامل الثامن (*F8*) أو العامل التاسع (*F9*). (الإجماع)

التوصية 4.2.5:

- بالنسبة إلى الإناث مع تخثّر ظاهري منخفض للعامل الثامن (FVIII) أو العامل التاسع (FIX)، يوصي الاتحاد العالمي للهيموفيليا بتقديم استقصاء الأساس الوراثيالوراثي/ اللاوراثي للنمط الظاهري. (الإجماع)

التوصية 4.2.6:

- بالنسبة للحوامل الناقلات لمتغايّرة مورثة العامل الثامن *(F8)* أو العامل التاسع *(F9)* اللواتي يحملن جنين ذكر، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بتقديم التشخيص ما قبل الولادة (PND)لتحديد حالة الناعور عند الجنين.
- ملاحظة: يجب أن تشمل الاستشارة الوراثيّة مناقشة خطر إجراء التشخيص ما قبل الولادة على الحمل.
- ملاحظة: من المهمّ الاطلاع على القوانين ذات الصلة التي تحكم هذه الإجراءات في البلد حيث يتمّ تأمين هذه الخدمة واتّباعه. (الإجماع)

التوصية 4.2.7:

- بالنسبة للعائلات التي ترغب في الاستعداد قبل الولادة للطفل المصاب بالناعور أو ترغب بانهاء الحمل بجنين مُصاب، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بتقديم التشخيص ما قبل الولادة من خلال أخذ عينة من الزغابات المشيمية (CVS) أو بزل السلي.
- ملاحظة: من المهمّ الاطلاع على القوانين ذات الصلة التي تحكم مثل هذه الإجراءات في البلد حيث يتمّ تأمين هذه الخدمة واتّباعها.
- ملاحظة: يُمكن تقديم التشخيص ما قبل الولادة في بداية الحمل أو في أواخر الحمل عن طريق بزل السلي في وقت متأخّر من الحمل من أجل توجيه تدبير ولادة طفل مُصاب. (الإجماع)

التوصية 4.2.8:

- بالنسبة للأفراد الذين لديهم إصابة مؤكدة او مشتبهة بالناعور ، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بإجراء الفحص الوراثي لهم؛ يمكن لمعرفة المتغايّرة الوراثيالوراثية أن يساعد على توقّع خطر تطوّر المثبّط، والاستجابة لاحداث التحمل المناعي (ITI)، وعمق شدة النمط الظاهري، بالإضافة إلى تحديد توفّر تقنيّات معاملة المورثات. (الإجماع)

4.3 استراتيجيّة الفحص الوراثي للمُستلفتين

التوصية 4.3.1:

- للأفراد المستلفتين الذكور، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بان يتم توجيه الفحص الوراثي بالاعتماد على مستوى عامل التخثّر الظاهري البدئي للمستلفت، الذي يدلّ على شدة الاضطراب.
  - لدى المرضى المصابين بالناعور A الشديد (فعالية العامل الثامن <1 ود/دل) أو الناعور A المعتدل مع مستويات حدية ادنى لفعالية العامل (فعالية العامل الثامن 1–3 ود/دل)، يجب اولا اجراء تحليل إنعكاس الانترون 22 وانعكاس الانترون1 لمورثة العامل الثامن .
  - على المرضى المصابين بالناعور Aالشديد الذين لم يتم كشف الانعكاسات المتكرّرة لديهم (مثلاً انعكاسات الانترون 22 و الانترون1 لمورثة العامل الثامن) الخضوع لتحري وتحديد مواصفات المتغايّرات الصغيرة، بما في ذلك متغايرات النيوكليوتيد المفرد (SNV) أو متغايّرات الإدخال الصغير، أو الازدواجيّة، أو الحذف التي تُغطي المناطق الرئيسية لمورثة العامل الثامن ، بما في ذلك الايكزونات ال 26 ، والحدود بين الإكسون /الإنترون ، والمناطق '5 و'3 غير المترجمة. في حال بقيت هذه الاختبارات غير معلمة ، يجب تحري المرضى لمتغايّرات عدد النسخ (CNV)، بما في ذلك حالات الحذف الكبيرة لمورثة العامل الثامن ، أو الازدواجيّة، أو إعادة الترتيبيات المعقّدة.
  - لدى المرضى المصابين بالناعورA المعتدل (فعالية العامل الثامن 1–5 ود/دل) أو الخفيف (فعالية العامل الثامن 40–5 ود/دل)، يجب أولا اجراء تحري وتحديد مواصفات المتغايّرات الصغيرة، (مثلاً متغايرات النيوكليوتيد المفرد (SNV) أو متغايّرات الإدخال الصغير، أو الازدواجيّة، أو الحذف) التي تُغطي المناطق االرئيسية لمورثة العامل الثامن ، بما في ذلك الايكزونات ال 26 ، والحدود بين الإكسون /الإنترون ، والمناطق '5 و'3 غير المترجمة. في حال بقيت هذه الاختبارات غير معلمة، على المرضى الخضوع لتحري متغايّرات عدد النسخ (CNV) لمورثة العامل الثامن.
  - لدى كافة المرضى المصابين ب يالناعور B (مثلاً المرضى المصابين بالناعور Bالشديد (فعالية العامل التاسع <1 ود/دل) والمعتدل (فعالية العامل التاسع 5–1 ود/دل) والخفيف (فعالية العامل التاسع 40–5 ود/دل))، يجب أولا اجراء تحري وتحديد مواصفات المتغايّرات الصغيرة، (مثلاً متغايرات النيوكليوتيد المفرد (SNV) أو متغايّرات الإدخال الصغير، أو الازدواجيّة، أو الحذف) التي تُغطي المناطق الثمانية، بما في ذلك الايكزونات الأساسيّة لمورثة العامل التاسع ، بما في ذلك الايكزونات الثمانية، والحدود بين الإكسون /الإنترون ، والمناطق '5 و'3 غير المترجمة. في حال بقيت هذه الاختبارات غير معلمة، على المرضى الخضوع للتحري عن متغايّرات عدد النسخ (CNV) لمورثة العامل التاسع. (الإجماع)

4.4 تقنيات التقييم الوراثي

التوصية 4.4.1:

بالنسبة لمرضى الناعور Aالشديد أو الناعور A المعتدل مع مستويات حدية دنيا لفعالية لعامل (فعالية العامل الثامن 1–3 ود/دل)، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بفحص انعكاس الانترون 22 و انعكاس الانترون 1 لمورثة العامل الثامن في الخط الأول من الفحص الوراثي.

- ملاحظة: يُمكن استخدام تقنيّات مختلفة لكشف انعكاس الانترون 22 و انعكاس الانترون 1 لمورثة العامل الثامن وفق الموارد والخبرات الفنيّة المتوفّرة.
- ملاحظة: يجب تأكيد جميع النتائج بفحص تحليلي مستقلّ لعينة الDNA. (الإجماع)

الفصل 4: التقييم الوراثي

التوصية 4.4.2:

بالنسبة لمرضى الناعور Aالشديد السلبيين بالنسبة لمتغايّرات انعكاس الانترون 22 و انعكاس الانترون 1 لمورثة العامل الثامن الشائعة يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بتحري كامل المورثة للمناطق الرئيسية من مورثة العامل الثامن ، بما في ذلك ال 26 إكسون، والحدود التوصيليّة، والمحفّز، والمناطق '5 و'3 غير المترجمة.

- ملاحظة: على سبيل المثال، حسب توفّر الموارد، قد يتخّذ تحري كامل مورثة العامل الثامن (شكل تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) وتسلسل سانجير Sanger أو تسلسل الجيل المقبل (NGS) .عندما تكون الموارد محدودة، قد تختار المختبرات مقاربة تحري مجدية اقتصاديا قبل تسلسل سانجير .Sanger
- ملاحظة: عند اختيار تقنية تحليليّة، يجب أن تكون المختبرات مدركة لحساسيّة ونوعية المقاربة المستخدمة والوقت اللازم لإعداد تقرير تفسيري.
- ملاحظة: تأكيد وجود متغايّرة يجب ان يتم في الاتجاهَيْن '5 (أمامي) و'3 (معاكس)، لا سيما لدى الناقلات متغايرات الزيجوت، عند تحليل المتغايّرات المكتشفة باستخدام تسلسل سانجير . Sanger
- ملاحظة: يجب تأكيد جميع النتائج بفحص تحليلي مستقلّ لعينة ال DNA (الإجماع)

التوصية 4.4.3:

بالنسبة لمرضى االناعور B يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بتحري كامل المورثة للمناطق الرئيسية من مورثة العامل التاسع ، بما في ذلك الإكسونات الثمانية، والحدود التوصيليّة، والمحفّز، والمناطق '5 و'3 غير المترجمة.

- ملاحظة: على سبيل المثال، حسب توفّر الموارد، قد يتخّذ تحري كامل مورثة العامل التاسع شكل تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) وتسلسل سانجير Sanger أو تسلسل الجيل المقبل (NGS) عندما تكون الموارد محدودة، قد تختار المختبرات مقاربة تحري مجدية اقتصاديا قبل تسلسل سانجير Sanger
- ملاحظة: عند اختيار تقنية تحليليّة، يجب أن تكون المختبرات مدركة لحساسيّة ونوعية المقاربة المستخدمة والوقت اللازم لإعداد تقرير تفسيري.
- ملاحظة: وجود متغايّرة يجب ان يؤكد في الاتجاهَيْن '5 (أمامي) و'3 (معاكس)، لا سيما لدى الناقلات متغايرات الزيجوت، عند تحليل المتغايّرات المكتشفة باستخدام تسلسل سانجير Sanger
- ملاحظة: يجب تأكيد جميع النتائج بفحص تحليلي مستقلّ لعينة ال .DNA (الإجماع)

التوصية 4.4.4:

بالنسبة إلمرضى الناعور A أو B الذين لم يكتشف عندهم متغايّرة بتحليل الانعكاس أو تسلسل كامل المورثة، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا باستقصاء عمليّة ازدواجيّة أو حذف كبيرة.

ملاحظة: يمكن اجراء تحليل متغايّرات عدد النسخ ((CNVباستخدام تقنيّات معتمدة عدّة، حسب الموارد المتوفّرة للمختبر. وفقا لمحدوديات العمليّة التقنيّة، يجب إعطاء النتائج مع تقدير الخطأ، إذا اقتضى الأمر.

ملاحظة: يجب تأكيد جميع النتائج بفحص تحليلي مستقلّ لعينة ال DNA (الإجماع)

التوصية 4.4.5:

بالنسبة للفحص ما قبل الولادة، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بفحص تلوّث عينة الجنين بخلايا الأم.

ملاحظة: يُمكن استخدام تقنيّات مختلفة لفحص التلوّث بخلايا الأم وفق الموارد والخبرات التقنيّة المتوفّرة. على سبيل المثال، يُمكن استخدام واصمات تكرار قصير جسديّة متعدّدة .(STR)

عند اختيار تقنيّة تحليليّة، يجب أن تكون المختبرات مدركة لحساسيّة ونوعية المقاربة المستخدمة والوقت اللازم لإعداد تقرير تفسيري. (الإجماع)

4.5 تصنيف المتغايّرات ووصفها

التوصية 4.5.1:

يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بان المتغايّرات يجب ان تصنف بحسب الدليل التوجيهي للكليّة الأميركيّة لعلم الوراثة الطبي وعلم المجينيّات.(ACMG)

ملاحظة: جمع "كلين جان" (ClinGen) وهو معهد وطني أميركي للموارد المموّلة من الصحة المكرّسة لبناء مورد مركزي يُحدّد الأهميّة السريريّة للمورثات والمتغايّرات، لجنة خبراء دوليّة لتطبيق توصيات الكليّة الأميركيّة لعلم الوراثة الطبي وعلم المجينيّات (ACMG) على متغايّرات مورثة العامل الثامن (F8)والعامل التاسع (F9) التي يجب ان تنتج توصيات اكثر نوعية بالناعور. (الإجماع)

التوصية 4.5.2:

يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بان المتغايّرات يجب ان توصف باستخدام تسمية جمعيّة متغايّرة الجينوم البشري (HGVS (الاجماع)

4.6 التقارير التفسيريّة

التوصية 4.6.1:

يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بأن تحتوي التقارير التفسيريّة على:

- معلومات حول المريض، بما في ذلك إسم المريض، وتاريخ ولادته، و السريري الطالب، وتاريخ جمع العيّنة، والتشخيص، والمستوى البدئي للعامل ، ونسب العائلة؛

الفصل 4: التقييم الوراثي

وصف المقايسة/المقايسات، ومراجع الأدبيّات (إذا اقتضى الأمر)، ومحدوديات الاختبار، وتسلسل الجينوم المرجعيّ المستخدم للتحليل؛
النتائج تشمل متغايّرة/متغايّرات ال DNA في تسمية جمعيّة متغايّرة الجينوم البشري(HGVS) وتصنيف متغايّرة الكليّة الأميركيّة لعلم الوراثة الطبي وعلم المجينيّات ((ACMG؛
وتفسير نتائج الاختبار بشكل مفيد للسريري الطالب، بما في ذلك التوصيات بفحص المتابعة اذا كان ذلك مستطبا ، وانعكاسات نتائج الاختبار على المرضى وأفراد العائلة، ودور الاستشارة الوراثية. (الإجماع)

التوصية 4.6.2:

بالنسبة لكافة التقارير التفسيريّة لجميع الأشخاص الذين يخضعون لفحص وراثة الهيموفيليا، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بضرورة توفّر السريري الطالب والعالِم الذي رفع التقارير لمناقشة نتائج النمط الظاهري المُحتملة على النمط الوراثي المُبلّغ عنه، عند اللزوم. (الإجماع)

4.7 الاستراتيجيّات في حال عدم كشف المتغايّرة السببيّة

التوصية 4.7.1:

بالنسبة للأفراد الذين حصلوا على تشخيص قوي مؤكّد الهيموفيليا، من دون كشف متغايّرة مورثة العامل الثامن أو العامل التاسع (من خلال التشخيص بالفحص الوراثي الحالي، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بالنظر في الأسباب الوراثية الأخرى (مثلاً المتغايّرات الإنترونيّة العميقة).

ملاحظة: يُتوقَّع أن تتطوّر تقنيّات الفحص الحاليّة في المستقبل القريب لتشمل تسلسل الجيل المقبل (NGSوتسلسل الجينوم الكامل (Whole genome sequencing)(WGS).

ملاحظة: يجب عدم استخدام تقنيّات تسلسل الجيل المقبل (NGSوتسلسل الجينوم الكامل (WGSإلا بعد التأكّد من إمكانيّة هذه التقنيّات على كشف المتغايّرات البنيويّة. (الإجماع)

التوصية 4.7.2:

بالنسبة للإناث " في خطر" قريبات مرضى الناعور اللواتي لم تكشف لديهنّ المتغايّرة العائليّة باستخدام التشخيص بالفحص الوراثي القياسي، لا سيّما الإناث اللواتي لديهنّ طفل مُصاب واحد، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بالنظر في احتمال الفسيفساء ومناقشته في الاستشارة الوراثيّة. (الإجماع)

التوصية 4.7.3:

بالنسبة لمرضى الناعور A الذين ليس لديهم نمط وراثي محسوم والذين لم يتم كشف انعكاس أو متغايّرة لديهم بفحص التشخيص الحالي، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا باستقصاء تشخيصات محتملة أخرى، بما في ذلك مرض فون ويلبراند (VWD) من النوع N2، أو عوز مشترك للعاملَيْن الخامس (FV) والثامن (FVIII) معًا، أو أنماط أخرى من مرض فون ويلبراند .(VWD) (الإجماع)

التوصية 4.7.4:

بالنسبة إلى الإناث العرضيات مع مستويات تخثّر ظاهرية منخفضة للعامل الثامن (FVIII) أو العامل التاسع (FIX) اللواتي تمّ العثور لديهن على متغايّرة ممرضّة واحدة فقط، يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بإجراء اختبارات استقصائية لنمط تعطيل الصبغي X، في حال توفّرها محليًا. (الإجماع)

4.8 ضمان الجودة

التوصية 4.8.1:

يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بخضوع مختبرات التشخيص الوراثي للاعتماد الدوري، ان توفر. من قبل هيئة معتمدة. (الإجماع)

التوصية 4.8.2:

يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بإجراء مراقبة الجودة الداخليّة للاختبارات الوراثية وتدوينها بشكل روتيني ضمن المختبر. (الإجماع)

التوصية 4.8.3:

يوصي الاتحاد العالمي الهيموفيليا بأن تشارك المختبرات في مخططات تقييم الجودة الخارجي (EQAS) للاختبارات الوراثية التي تقدّمها.
ملاحظة: تضمن المشاركة في مخططات تقييم الجودة الخارجي (EQAS) تقديم فحصٍ متينًا وموثوقًا. قد يتمّ ذلك من خلال المشاركة في مخططات رسمية لتقييم الجودة (EQAS) أو تبادل عيّنات غير رسمي ما بين المختبرات. (الإجماع)