



Názov:

**Štandardný diagnosticko-laboratórny postup
pre genetickú diagnostiku
u myelodysplastického syndrómu (MDS)**

Autori:

**Ing. Martin Čermák
RNDr. Imrich Hikkel, PhD.
Dr.med. Veronika Urbán**

Špecializovaný odbor:

Onkologická genetika

Ministerstvo zdravotníctva Slovenskej republiky podľa § 45 ods. 1 písm. c) zákona 576/2004 Z. z. o zdravotnej starostlivosti, službách súvisiacich s poskytovaním zdravotnej starostlivosti a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov vydáva štandardný postup:

Štandardný diagnosticko-laboratórny postup pre genetickú diagnostiku u myelodysplastického syndrómu (MDS)

Číslo ŠP	Dátum predloženia na Komisiu MZ SR pre ŠDTP	Status	Dátum účinnosti schválenia ministrom zdravotníctva SR
0148	11. marec 2021	Schválené	15. máj 2021

Autori štandardného postupu

Autorský kolektív:

Ing. Martin Čermák; RNDr. Imrich Hikkel, PhD.; Dr.med. Veronika Urbán

Odborná podpora tvorby a hodnotenia štandardného postupu

Prispievatelia a hodnotitelia: členovia odborných pracovných skupín pre tvorbu štandardných diagnostických a terapeutických postupov MZ SR; hlavní odborníci MZ SR príslušných špecializačných odborov; hodnotitelia AGREE II; členovia multidisciplinárnych odborných spoločností; odborný projektový tím MZ SR pre ŠDTP a patientske organizácie zastrešené AOPP v Slovenskej republike; Inštitút zdravotníckej politiky; NCZI; Sekcia zdravia MZ SR, Kancelária WHO na Slovensku.

Odborní koordinátori: MUDr. Peter Bartoň; MPH; prof. MUDr. Mariana Mrázová, PhD., MHA; prof. MUDr. Jozef Šuvada, PhD., MPH

Recenzenti

členovia Komisie MZ SR pre ŠDTP: MUDr. Peter Bartoň; PharmDr. Zuzana Baťová, PhD.; PharmDr. Tatiana Foltánová; prof. MUDr. Jozef Holomáň, CSc.; doc. MUDr. Martin Hrubisko, PhD., mim.prof.; MUDr. Jana Kelemenová; MUDr. Branislav Koreň; prof. MUDr. Ivica Lazúrová, DrSc.; PhDr. Mária Lévyová; doc. MUDr. Jozef Kalužay, PhD. ; Mgr. Katarína Mažárová; prof. MUDr. Mariana Mrázová, PhD., MHA; MUDr. Mária Murgašová; Ing. Jana Netriová, PhD. MPH; Mgr. Renáta Popundová; MUDr. Ladislav Šinkovič, PhD., MBA; prof. MUDr. Mária Šustrová, CSc.; MUDr. Martin Vochyan; MUDr. Andrej Zlatoš; prof. MUDr. Jozef Šuvada, PhD., MPH, MBA;

Technická a administratívna podpora

Podpora vývoja a administrácia: Ing. Peter Čvapek, Mgr. Barbora Vallová, Mgr. Ľudmila Eisnerová; Mgr. Mário Fraňo, JUDr. Marcela Virágová, MBA, Ing. Marek Matto, prof. PaedDr. PhDr. Pavol Tománek, PhD., MHA, JUDr. Ing. Zsolt Mánya, PhD., MHA, Ing. Mgr. Liliana Húsková, Ing. Zuzana Poláková, Mgr. Tomáš Horváth, Ing. Martin Malina, Ing. Katarína Krkošková, Mgr. Miroslav Hečko, Mgr. Anton Moises, PhDr. Dominik Procházka, Ing. Andrej Bóka

Podporené grantom z OP Ľudské zdroje MPSVR SR NFP s názvom: “Tvorba nových a inovovaných postupov štandardných klinických postupov a ich zavedenie do medicínskej praxe” (kód NFP312041J193)

Kľúčové slová

myelodysplastický syndróm, štandardný diagnostický postup, onkogenetika, prognostické markery, diagnostika

Zoznam skratiek a vymedzenie základných pojmov

AML	akútna myeloidná leukémia
bphs	počet prúžkov (bandov) na haploidný stav, z angl. <i>bands per haploid set</i>
CMA	analýza chromozómov technikou microarray, z angl. Chromosomal Microarray Analysis
DNA	deoxyribonukleová kyselina
E.C.A.	európska cytogenetická asociácia, z angl. <i>European Cytogeneticists Association</i>
EDTA	kyselina etyléndiamíntetraoctová - antikoagulant
ELN	z angl. <i>European LeukemiaNet</i>
FISH	fluorescenčná <i>in situ</i> hybridizácia
IPSS	medzinárodný prognostický skórovací systém, z angl. International Prognostic Scoring System
ISCN	medzinárodná cytogenetická nomenklatúra, z angl. <i>An International System for Human Cytogenetic Nomenclature</i>
KD	kostná dreň
MDS	myelodysplastický syndróm
PCR	polymerázová reťazová reakcia, z angl. <i>polymerase chain reaction</i>
PK	periférna krv
VAF	frekvencia variantnej alely, z angl. <i>Variant Allele Frequency</i>

Zhrnutie a odôvodnenie štandardu

Tento diagnosticko–laboratórny štandard slúži ako odborné usmernenie a upravuje základné podmienky genetickej diagnostiky u skupiny ochorení súhrne označovaných ako myelodysplastický syndróm (MDS).

Kompetencie indikácie

Indikovať genetické vyšetrenia uvedených onkologických diagnóz / entít je oprávnený:

- lekár so špecializáciou v odbore hematológia a transfuziológia (031),¹
- lekár so špecializáciou v odbore pediatrika hematológia a onkológia (329),¹
- lekár so špecializáciou v odbore klinická onkológia (019).¹

V rámci diferenciálnej diagnostiky pre potreby overenia genetického nálezu a tým potvrdenia / vylúčenia vrodenej predispozície k nádorovému ochoreniu (vid'. „Doplňkové otázky manažmentu pacienta“):

- lekár so špecializáciou v odbore lekárska genetika (062)¹

¹MU č. 1/3/2007 Kódy lekárov a poskytovateľov zdravotnej starostlivosti. In: Vestník úradu pre dohľad nad

Kompetencie realizovania testovania

Genetického testovanie MDS môže vykonávať len špecializované diagnostické pracovisko s oprávnením pre diagnostiku v onkologickej genetike – odbornosť Lekárska genetika (062).²

Personál pracoviska / laboratória pôsobiaceho v genetickej diagnostike biologických vzoriek príslušnej onkologickej diagnózy / entity zahŕňa nasledovných odborných zdravotných pracovníkov:

- oprávnených vykonávať vyšetrenia a diagnostické testy:
 - laboratórny diagnostik špecialista² = laboratórny diagnostik so špecializáciou v odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej genetike³, alebo rovnocenným uznaným odborným vzdelaním nadobudnutým mimo územia SR,
 - laboratórny diagnostik⁴ v špecializačnej príprave vyššie uvedeného odboru pod dohľadom laboratórneho diagnostika špecialistu,
 - zdravotnícky laborant so špecializáciou⁵ v špecializačnom odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej genetike,⁶
 - zdravotnícky laborant⁷ bez špecializácie pod dohľadom zdravotníckeho laboranta alebo laboratórneho diagnostika so špecializáciou.

- interpretovať a vydávať výsledky testov:
 - laboratórny diagnostik so špecializáciou v odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej genetike,³
 - lekár so špecializáciou v odbore lekárska genetika (062).¹

¹MU č. 1/3/2007 Kódy lekárov a poskytovateľov zdravotnej starostlivosti. In: Vestník úradu pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou číslo1/2008-marec 2008, [online]. [cit. 2019-01-30]. URL: <http://www.udzs-sk.sk/documents/14214/18168/vestnik_01_08.pdf/cd63e016-897b-4d3b-ae6-628c7af517bd>

²§ 20 nariadenia vlády SR č. 513/2011 Z. z. o používaní profesijných titulov a ich skratiek viažucich sa na odbornú spôsobilosť na výkon zdravotníckeho povolania

³§ 65 ods. 2 a Príloha č. 3 časť S písm. a) bod 3 k nariadeniu vlády SR č. 296/2010 Z. z. o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností v znení neskorších predpisov

⁴§ 65 ods. 1 nariadenia vlády SR č. 296/2010 Z. z. o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností v znení neskorších predpisov

⁵§ 10 nariadenia vlády SR č. 513/2011 Z. z. o používaní profesijných titulov a ich skratiek viažucich sa na odbornú spôsobilosť na výkon zdravotníckeho povolania

⁶§ 23 ods. 2 a Príloha č. 3 časť H písm. a) bod 5 k nariadeniu vlády SR č. 296/2010 Z. z. o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností v znení neskorších predpisov

⁷§ 23 ods.1 nariadenia vlády SR č. 296/2010 Z. z. o odbornej spôsobilosti na výkon zdravotníckeho povolania, spôsobe ďalšieho vzdelávania zdravotníckych pracovníkov, sústave špecializačných odborov a sústave certifikovaných pracovných činností v znení neskorších predpisov

Úvod

Myelodysplastický syndróm (MDS) predstavuje skupinu ochorení, ktoré sa vyznačujú klonálnou proliferáciou hematopoetických kmeňových buniek s rekurentnými genetickými abnormalitami, myelodyspláziou, neefektívnou krvotvorbou, cytopéniou a vysokým rizikom transformácie do akútnej myeloidnej leukémie (AML) (Cazzola a kol., 2020). MDS postihuje prevažne dospelú populáciu v priemernom veku 70 rokov a celosvetová ročná hrubá incidencia sa odhaduje na 4 - 5 prípadov na 100 000 ľudí (Hasserjian a kol., 2017) a z toho dôvodu je uvádzaný aj ako zriedkavé ochorenie. MDS sa tradične delí na primárny MDS, bez expozície cytotoxickým látkam a rádioterapii v predchorobí, a sekundárny MDS, ktorý vzniká v dôsledku mutagénnych účinkov predchádzajúcej liečby. Myelodysplázia je charakteristická aj pre myelodysplastické – myeloproliferatívne neoplázie (MDS-MPN), ktoré taktiež predstavujú samostatnú kategóriu ochorení podľa WHO. Ochorenia, ktoré sa považujú za prekursorové vo vzťahu k MDS sú klonálna hematopoéza neurčitého potenciálu (z angl. „clonal hematopoiesis of indeterminate potential“, CHIP) a klonálna cytopénia nejasného významu (z angl. „clonal cytopenia of undetermined significance“, CCUS) (Hasserjian a kol., 2017). Diagnostické kritériá jednotlivých klinických jednotiek sú uvedené v časti „Špeciálny doplnok štandardu“ – kľúčový je nález perzistujúcej cytopénie vo ≥ 1 bunkovej línii v periférnej krvi so súčasnou morfológickou dyspláziou v ≥ 1 bunkovej línii v kostnej dreni (Cazzola a kol., 2020).

Rast a šírenie patologického klonu hematopoetickej bunky so somatickou mutáciou predstavuje patofyziologický základ MDS. Rekurentné mutácie pri MDS postihujú gény rôznych funkčných skupín, napr. gény asociované s epigenetickou reguláciou (*TET2*, *DNMT3A*), zostrihom RNA (*SF3B1*, *SRSF2*), kontrolou reparácie DNA (*TP53*), rôznymi signálnymi dráhami (*NRAS*, *NF1*, *PTPN11*), reguláciou transkripcie (*RUNX1*, *ETV6*, *CEBPA*), a funkciou kohezínového komplexu (*STAG2*). Výskyt a klinický význam mutácií MDS-asociovaných génov je zhrnutý v časti „Špeciálny doplnok štandardu“.

Chromozómové abnormality typické pre MDS sú väčšinou sekundárne zmeny nestabilného genómu navodené zakladajúcou (driver) mutáciou. Významnú výnimku predstavuje del(5q32-q33), ktorá predstavuje iniciálnu genetickú zmenu pri MDS-del(5q). Nález rekurentnej chromozómovej abnormality má významnú prognostickú hodnotu – cytogenetické riziko je súčasťou revidovaného medzinárodného skórovacieho systému pre odhad prognózy ochorenia (angl. „International Prognostic Scoring System“, IPSS), ktorý, spoločne s ďalšími faktormi predstavuje agregát pre klinický priebeh ochorenia (Cazzola et al., 2020, Cazzola a kol., 2013).

Rekurentné chromozómové abnormality sú zachytené v približne 50 % prípadov MDS, pričom sekvenčná analýza, ako doplnok cytogenetického vyšetrenia, zvyšuje záchyt klonálnej genetickej lézie na 90 % (Haferlach a kol., 2014, Cazzola a kol., 2020). Molekulárne profilovanie môže preto poskytnúť cenné prídavné informácie pri rozhodovaní o manažmente pacienta.

Z klinického hľadiska je relevantná aj diagnostika hereditárnej predispozície k MDS (resp. ďalším hematologickým malignitám) Prípady familiárneho MDS sú zriedkavé a sú spojené s mutáciami zárodočnej línie, ktoré je možné vyšetriť metódami sekvenovania z tkaniva pacienta, ktoré nie je zasiahnuté MDS (Arber a kol., 2016) - táto problematika je rozvinutá v časti „Doplnkové otázky manažmentu pacienta“.

Klasifikácia testov

Základným biologickým materiálom pre cytogenetické / FISH vyšetrenie je vzorka kostnej drene po krátkodobej nestimulovanej kultivácii – kultivácia 24 hodín (KD 24h), prípadne 48 hodín (KD 48h). V prípade nedostatku alebo nízkej kvality vzorky KD je pre potreby dodiferencovania zmien aberantného karyotypu možné využiť aj vzorky 24-hodinovej kultivácie periférnej krvi (PK 24h) za predpokladu prítomnosti > 10 % cirkulujúcich blastov (Haferlach a kol., 2007; Döhner a kol., 2017).

Konvenčná cytogenetika – karyotyp (G-prúžkovanie)

Cytogenetickou analýzou sa identifikujú chromozómové markery významné z hľadiska stanovenia prognózy a vývoju ochorenia – vid'. *Špeciálny doplnok štandardu*. Diagnostika cytogenetických abnormalít sa vykonáva konvenčnou cytogenetikou - karyotypizáciou pomocou prúžkovacích metód (prúžkovanie), pričom štandardnou technikou pre detekciu chromozómových aberácií je prúžkovanie pomocou Giemsovho roztoku – G-prúžkovanie na úrovni minimálne 300 bphs – podľa E.C.A (Hastings a kol., 2012).

Štandard: analýza 20 metafáz:

- aberantný karyotyp minimálne 10 – 15 metafáz,
 - klon:
 - ≥ 2 bunky s rovnakým chromozómovým ziskom, resp. štruktúrnou zmenou,
 - ≥ 3 bunky s rovnakou chromozómovou stratou (ISCN, 2016).
- normálny karyotyp minimálne 15 metafáz.

Interfázová fluorescenčná *in situ* hybridizácia (FISH)

FISH diagnostika sa odporúča vykonávať súčasne s analýzou karyotypu. V prípade zvolenia postupnosti diagnostiky je nevyhnutné previesť FISH vyšetrenie vždy pri negatívnom, alebo nevyhovujúcom výsledku karyotypu (< 10 zhodnotených metafáz) (vid'. *Algoritmus č.1*). Na detekciu príslušných cytogenetických aberácií sa používajú komerčne dostupné certifikované DNA sondy (resp. kity DNA sond). Druh, konštrukčný typ a postupnosť aplikácie DNA sondy sa volia podľa charakteru aberácie.

štandard: analýza minimálne 100 interfáznych neprekrývajúcich sa jadier hodnotených nezávisle dvoma laboratórnymi diagnostikmi – podľa E.C.A (Hastings a kol., 2012).


Hraničné hodnoty pozitívneho výsledku (cut-off) má každé laboratórium stanovené na základe vlastných postupov a meraní s prihliadnutím na odporúčania výrobcov používaných DNA sond / kitov, prípadne závery a dohovory odborných pracovných skupín.

Molekulová diagnostika

Molekulovo-genetická diagnostika u MDS sa vykonáva ako vstupné vyšetrenie u novo diagnostikovaného ochorenia a je zamerané na detekciu mutácií génu *TP53*. Toto vyšetrenie sa vykonáva z genomickej DNA (gDNA) izolovanej preferenčne zo vzorky kostnej drene odobratej do skúmaviek s EDTA (Hunter and Sallman 2020, Sebaa a kol., 2012, Jadersten a kol., 2011). V súčasnosti ja známe veľké spektrum somatických mutácií špecificky asociovaných z MDS (pozri špeciálny doplnok štandardu). I keď sa analýzy uvedených mutácií štandardne v rámci diagnostiky nevyžadujú, môžu byť v budúcnosti zaujímavé pre ľahšiu konfirmáciu diagnózy u pacientov zo suspektným MDS (Malcovati a kol., 2013).

Sekvenčná analýza génu *TP53* sa vykonáva štandardne metódou „Sangerovho“ sekvenovania, respektíve metódou masívne paralelného sekvenovania. Sekvenačná analýza mutácií *TP53* sa riadi pravidlami pracovných skupín „The European LeukemiaNet“, „British Society for Genetic Medicine“, „American College of Medical Genetics and Genomics“, „American Society of Clinical Oncology“ a „College of American pathologists“ (Strom a kol., 2016; Ellard a kol., 2016; Rehm a kol.,2013 a Marilyn a kol.,2017) pričom sa štandardne dosahuje senzitivita na úrovni minimálne 5 % VAF (frekvencia variantnej alely) pri použití metódy masívne paralelného sekvenovania a maximálne 10 % VAF pri štandardnom „Sangerovom“ sekvenovaní.

Tabuľka č. 1

 Proces diagnostiky – odporúčania (minimálny štandard)	
Štádium ochorenia	Diagnostický panel
Čas diagnózy / vstupné vyšetrenie	<p>Karyotyp – identifikácia cytogenetických aberácií^[A]</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ del(5q)/-5 ▪ del(7q)/-7 ▪ trizómia ch.8 ▪ del(17p13) ▪ del(20q) ▪ strata ch.Y <p>metodika: konvenčná cytogenetika - G-prúžkovanie, FISH.</p> <p>V prípade pozitívneho nálezu cytogenetickej aberácie:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ stanovenie mutačného statusu TP53^[B] <p>metodika: sekvenčná analýza (metódou „Sangerovej“ sekvenácie alebo masívne paralelného sekvenovania).</p> <p style="text-align: center;"><u>Odporúča sa pre všetky typy MDS</u></p>
Remisia / sledovanie dynamiky ochorenia	<ul style="list-style-type: none"> ▪ kontrola cytogenetických markerov pomocou FISH
Progresia / relaps / transformácia	<ul style="list-style-type: none"> ▪ vid' ako v čase diagnózy / vstupné vyšetrenie ▪ pri transformácii do AML doplnenie diagnostického panelu podľa typu AML, resp. indikácie odosielajúceho lekára ^[C]

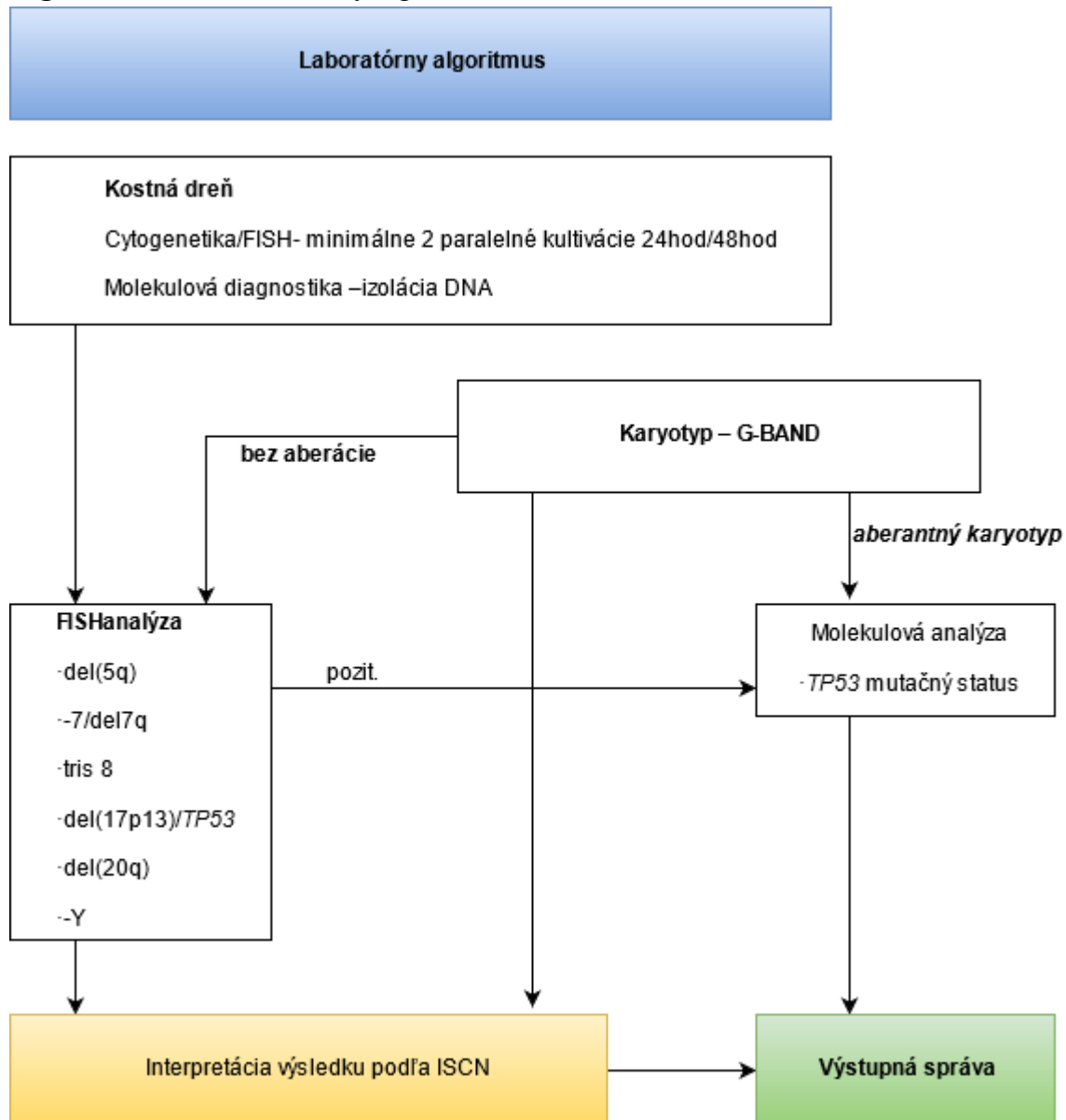
- a. Ak je štandardná cytogenetika nevyhovujúca (< 15 metafáz) a ani základný panel fluorescenčnej in situ hybridizácie (FISH) neodhalí žiadne cytogenetické zmeny, je možné zvolať analýzu chromozómov pomocou microarray (CMA), treba si však uvedomiť, že týmto spôsobom budú identifikované nie len somatické, ale aj konštitučné zmeny (zárodočné línie).
- b. Pri analýze a interpretácii variantov je možné využiť širokú škálu v súčasnosti dostupných databáz, preferenčne však databázy IARC TP53 (<http://p53.iarc.fr/TP53GeneVariations.aspx>, TP53 website UMD (<http://p53.fr/>), COSMIC (<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>) a ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) (Richards et al., 2015; Ellard et al., 2016).
- c. Ak sú v karyotype identifikované t(8; 21), t(15; 17) alebo inv(16), tak sa považujú za markery AML, aj keď je počet blastov v kostnej dreni nižší ako 20 %.

Odôvodnenie testovania

Testovanie sa vykonáva za účelom stanovenia prognózy, resp. predpokladu vývoja / transformácie ochorenia – vid'. *Špeciálny doplnok štandardu*.

Laboratórny algoritmus

Algoritmus č. 1: Laboratórny algoritmus



Zdroj: autori štandardu.

Dokumentácia a oznamovanie výsledkov

Dokumentačnú agendu pacienta s kompletnou diagnostickou históriou je možné viesť vo fyzickej (papierovej) a/alebo elektronickej forme. Vede sa v zmysle Zákona č. 576/2004 Z. z. o zdravotnej starostlivosti. Organizácia musí zabezpečiť, aby pracovníci prichádzajúci do styku s laboratórnou dokumentáciou pacientov boli dostatočne poučení a zaškolení o jej používaní a riadili sa osobitnými predpismi podľa Zákona č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov ako aj Všeobecným nariadením o ochrane osobných údajov – GDPR. Každý, komu sa

poskytnú alebo sprístupnia údaje zo zdravotnej dokumentácie, je povinný zachovávať o nich mlčanlivosť a zabezpečiť ich ochranu tak, aby nedošlo k ich strate alebo zneužitiu.

Minimálne materiáľno-technické zabezpečenie

- laminárny box, digester, PCR box, termostat, centrifúgy,
- mikroskopické zariadenie pre konvenčné karyotypovanie a FISH analýzu s automatickou analýzou obrazu a možnosťou jeho dokumentácie,
- elektroforetická aparátúra a fotodokumentačné zariadenie,
- zariadenie na stanovenie koncentrácie a purity DNA / RNA,
- termocyklér,
- genetický analyzátor.

Minimálne personálne zabezpečenie

Pracovisko vykonávajúce genetickú diagnostiku musí disponovať nasledovným personálnym zabezpečením:

- kvalifikovaný laboratórny diagnostik (viď. Kompetencie realizovania testovania),
- zdravotnícky laborant.

Interpretácia výsledkov

Výsledky genetických analýz sú interpretované v zmysle pravidiel interpretácie výstupov jednotlivých metodík:

- a. Konvenčná cytogenetika a FISH – podľa pravidiel aktuálnej verzie medzinárodnej cytogenetickej nomenklatúry ISCN (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature).
- b. Molekulárna diagnostika:
 - Výsledky analýzy variantov génov sekvenčnými metódami sa interpretujú a vyhodnocujú v súlade s odporúčaniami „British Society for Genetic Medicine“, „American College of Medical Genetics and Genomics“, „American Society of Clinical Oncology“ a „College of American pathologists“ (Ellard a kol.,2016; Rehm a kol.,2013; Marilyn a kol.,2017). Nomenklatúr zápisu identifikovaných variantov sa riadi pravidlami „Human Genome Variation Society“ (Dunnen a kol.,2016).

Interpretácia zahŕňa aj slovné hodnotenie nálezů a záverečné zhrnutie s prípadným dopadom pre pacienta.

Obsah výstupnej správy by mal byť v súlade s požiadavkami *STN EN ISO 15189 Medicínske laboratóriá. Požiadavky na kvalitu a kompetentnosť*, prípadne musí obsahovať minimálne:

- identifikačné údaje pacienta (meno, priezvisko, rodné číslo, ID číslo – v prípade hospitalizácie, údaje o zdravotnom poistení, diagnóza – slovne aj kódom MKCH),
- identifikačné údaje o vyšetrovanej vzorke (druh a dátum prijatia biologického materiálu, forma sekundárnej vzorky – napr. DNA, RNA, KD 24...),
- použité metodiky genetického testovania, použité referenčné sekvencie analyzovaných génov, použité genetické databázy a softvérové nástroje,

- výsledky analýz,
- záver genetického vyšetrenia vo forme slovného hodnotenia klinického významu identifikovaných genetických zmien,
- mená a podpisy zodpovedných osôb.

Odhadované náklady

- agregovaný výkon.

Mali by byť zohľadnené náklady na materiálne a prístrojové vybavenie genetického laboratória, diagnostiku a chémiu, výpočtovú techniku, prevádzkové náklady (energie) a mzdy laboratórnych pracovníkov.

Zabezpečenie a organizácia starostlivosti - realizácie diagnostiky

Laboratórne pracovisko, ktoré chce realizovať genetickú diagnostiku u myelodysplastického syndrómu musí spĺňať nasledovné kritériá:

- byť špecializovaným diagnostickým pracoviskom = odbornosť 062. Lekárska genetika,
- disponovať vlastným potrebným prístrojovým a laboratórnym vybavením (*vid'. Minimálne materiálne - technické zabezpečenie*),
- kvalifikovaný zdravotný personál = minimálne dvaja laboratórni diagnostici so špecializáciou v odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej genetike, alebo rovnocenným uznaným odborným vzdelaním nadobudnutým mimo územia SR, (*vid'. Kompetencie realizovania testovania*),
- laboratórium s dostatočnými skúsenosťami s diagnostikou vzoriek pacientov s MDS / MPN zodpovedajúcimi 100 novo-diagnostikovaných vzoriek ročne a pravidelnou účasťou v rámci externých foriem kontroly kvality.

Doplňkové otázky manažmentu pacienta

Hereditárna predispozícia k myeloidným malignitám

Myeloidné malignity môžu vzniknúť v kontexte vrodenej predispozície k onkologickým ochoreniam. Spektrum monogénových onkogenetických syndrómov, ktoré zahŕňajú aj hematologické malignity, sa vďaka rapídneho rozvoju genomických vyšetrovacích metód postupne rozširuje. Včasné rozpoznanie týchto vrodených chýb je klinicky relevantné z viacerých dôvodov:

- pacienti môžu vyžadovať špecifickú observáciu zameranú na závažné, nehematologické komplikácie, resp. ďalšie hematologické malignity, nezriedka reagujú zle na imunosupresívnu liečbu, a v prípade zvažovania transplantácie krvotvorných buniek (TKB) môže byť potrebná redukcia intenzity myeloablatívneho režimu (NCCN MDS v.1.2021),
- v prípade TKB od príbuzného darcu, ktorý je nositeľom nerozpoznannej patogénnej genetickej zmeny hrozia závažné, potenciálne fatálne komplikácie (Babushok a kol., 2016),
- zistenie predispozície k malignitám je významná aj pre pokrvné príbuzenstvo pacienta – umožňuje identifikáciu asymptomatických členov rodiny, ktorí môžu profitovať

z preventívnych opatrení, zároveň otvára možnosť predimplantačnej genetickej diagnostiky pri plánovaní gravidity.

Vyšetreniam zameraným na onkogenetické syndrómy musí vždy predchádzať konzultácia s lekárskeym genetikom, počas ktorej je pacientovi / príbuzným zrozumiteľne vysvetlený charakter vrodených genetických porúch vrátane základných pojmov, ktoré sa týkajú heritability a taktiež výhody, nevýhody, významu a priebehu testovania. Pacient / zákonný zástupca, resp. príbuzní majú právo tieto vyšetrenia odmietnuť, preto je veľmi dôležitou úlohou klinického genetika dôkladné vysvetlenie možných rizík spojených s takýmto rozhodnutím.

Genetická konzultácia zahŕňa tiež podrobnú osobnú anamnézu a fyzikálne vyšetrenie, genealogickú analýzu (ideálny je aspoň trojgeneračný rodokmeň), podpísanie informovaného súhlasu s vyšetrením a následný odber biologického materiálu. Po ukončení analýzy nasleduje opätovná konzultácia a lekárske genetické vypracuje záverečnú správu s odporúčaniami. Vzhľadom na to, že odporúčaný manažment pri onkogenetických syndrómoch je pravidelne revidovaný, resp. mnohé syndrómy a ich klinický prejav sú predmetom výskumov, je vhodné genetickú konzultáciu s istým časovým odstupom zopakovať (aktualizácia anamnézy, úprava odporúčaní, ak je potrebná).

Syndrómy / zárodočné mutácie predisponujúce k myeloidným malignitám sú veľmi heterogénne v zmysle expresivity, nie vždy je prítomná sugestívna rodinná anamnéza, ani iné, charakteristické sprievodné znaky / ochorenia (faciálna stigmatizácia, skeletálne deformity, kožné prejavy, zlyhanie kostnej drene, trombocytopenia...) – v diagnostike je preto vhodné uprednostniť rozšírený panel relevantných génov pred sekvenčným vyšetrením, pokiaľ anamnestické údaje nie sú dostatočne špecifické.

Analýza kostnej drene / periférnej krvi v rámci diagnostiky somatických zmien môže odhaliť zárodočnú (germinálnu) mutáciu – rozlíšenie somatickej zmeny od germinálnej si v tomto prípade vyžaduje analýzu z nehematopoetického tkaniva (napr. ster z bukálnej sliznice, kultivované fibroblasty) (Drazer a kol., 2016).

Hereditárne syndrómy predisponujúce k MDS/AML môžeme rozdeliť do 4 základných kategórií:

1. ochorenia asociované s numerickými chromozomálnymi anomáliami (napr. Downov syndróm),
2. klasické hereditárne syndrómy zlyhania kostnej drene (Fanconiho anémia, Dyskeratosis congenita...),
3. ďalšie syndromické predispozície k malignitám (Li-Fraumeni syndróm, Bloom syndróm...),
4. novo opísané, familiárne formy MDS/AML (GATA2-haploinsuficiencia, RUNX1-asociovaná trombocytopenia...) (Babushok a kol., 2016). Detailný popis týchto ochorení presahuje rámec tohto štandardu – odkazujeme na aktuálnu smernicu National Comprehensive Cancer Network k MDS (NCCN MDS v.1.2021) a smernice Americkej


hematologickej spoločnosti k diagnostike (Drazer a kol., 2016) a manažmente hereditárnych hematologických malignít.

Súhrnné odporúčania – kedy je vhodná genetická konzultácia (upravené podľa NCCN MDS v.1.2021; Babushok a kol., 2016; Drazer a kol.,2016):

- deti a mladí dospelí s nálezom monozómie 7,
- novo-diagnostikovaná aplastická anémia,
- hypocelulárny MDS,
- MDS / AML v mladom veku (< 50 rokov v čase diagnózy),
- rodiny s ≥ 2 príbuznými s MDS / AML / CML / CMML / MPN v jednej príbuzenskej línii (prvo- alebo druhostupňové príbuzenstvo),
- rodiny s výskytom MDS / AML a/alebo cytopéniami / aplastickou anémiou neznámej etiológie,
- rodiny s výskytom nádorov mozgu, premenopauzálnym karcinómom prsníka, sarkómami, adrenokortikálnym karcinómom, karcinómom choroideálneho plexu, hematologickými malignitami vrátane MDS / AML / ALL (Li-Fraumeni syndróm),
- pacienti / rodiny s výskytom MDS / AML s príznakmi/orgánovou dysfunkciou, ktoré môže naznačovať hereditárnu záťaž, napr.:
 - atypické mykobakteriálne infekcie, recidivujúce infekcie HPV / HSV, autoimunitné prejavy, bradavice, sensorineurálna hluchota, primárny lymfedém, pľúcna alveolárna proteinóza (GATA2),
 - predčasné šedivenie vlasov, poruchy pigmentácie kože, dystrofické nechty, fibróza pečene, pľúcna fibróza / emfyzém, karcinóm kože, hlavy, krku a anogenitálnej oblasti v mladom veku (syndrómy poruchy biológie telomér),
 - nízky vzrast, mikrocefália, skeletálne malformácie, poruchy pigmentácie kože, vrodené vývojové chyby obličiek a srdca, karcinóm kože, hlavy, krku a anogenitálnej oblasti v mladom veku, nádory pečene (Fanconiho anémia),
 - insuficiencia pankreasu, skeletálne abnormality (Shwachman-Diamond syndróm),
 - makuly café-au-lait, nádory centrálného nervového systému, ALL, lymfómy, malignity tráviaceho traktu, mnohopočetné primárne malignity v detskom veku, mikrosatelitová nestabilita v nádorovom tkanive (konštitučný mismatch-repair deficit).
- nález nasledovných genetických zmien pri rutinnej diagnostike hematologickej malignity:
 - heterozygotnej alelickej mutácie vo frekvencii 50 %, resp. bialelické mutácie génov asociovaných s hereditárnou predispozíciou, ako napr. *CEBPA*, *RUNX1*, *DDX41*...,
 - patogénne mutácie *GATA2*.

Špeciálny doplnok štandardu

Tabuľka č. 2


 Diagnostické kritériá pre myeloidné neoplázie s myelodyspláziou a prekursorové ochorenia pre MDS	
Myeloidné neoplázie s myelodyspláziou	
MDS	Perzistentná cytopénia v ≥ 1 bunkovej línii v periférnej krvi a morfológická dysplázia (≥ 10 % dysplastických buniek) v ≥ 1 bunkovej línii v kostnej dreni; na základe morfológických a cytogenetických abnormalít sa MDS delí do nasledovných podskupín: <ul style="list-style-type: none">- MDS s dyspláziou v jednej bunkovej línii- MDS s dyspláziou vo viacerých bunkových líniiach- MDS s ring-sideroblastmi* a dyspláziou v jednej alebo viacerých bunkových líniiach- MDS s izolovanou del(5q)- MDS s excesom blastov typu 1 alebo 2- MDS – neklasifikovateľný
MDS-MPN	Myeloidné neoplázie s klinickými, laboratórnymi a morfológickými známkami, v ktorých sa prekrýva MDS a MPN; MDS-MPN sa delia do nasledovných podskupín: <ul style="list-style-type: none">- Chronická myelomonocytová leukémia- BCR-ABL1-negatívna atypická chronická myeloidná leukémia- MDS-MPN s ring sideroblastmi- Juvenilná myelomonocytová leukémia
Sekundárny MDS asociovaný s liečbou	MDS, MDS-MPN a akútna myeloidná leukémia, ktorá vzniká ako neskorá komplikácia chemoterapie alebo rádioterapie
Prekursorové ochorenia	
Klonálna hematopoéza neurčitého potenciálu (CHIP)	Normálny počet buniek v periférnej krvi‡ s prítomnosťou somatickej mutácie ≥ 1 génu, ktorý je rekurentne mutovaný pri myeloidných neopláziách, pričom frekvencia variantnej alely dosahuje minimálne 2 %
Klonálna cytopénia nejasného významu (CCUS)	Cytopénia v ≥ 1 bunkovej línii v periférnej krvi neznámej etiológie s prítomnosťou somatickej mutácie ≥ 1 génu, ktorý je rekurentne mutovaný pri myeloidných neopláziách, pričom frekvencia variantnej alely dosahuje minimálne 20 %; Nie sú splnené WHO-kritériá pre diagnózu MDS - primárne z dôvodu chýbania jasnej dysplázie (< 10 % dysplastických buniek v ktorejkoľvek bunkovej línii v kostnej dreni) a neprítomnosti excesu blastov a MDS - definujúcich chromozomálnych abnormalít

Zdroj: podľa Cazzola et al., 2020 a Hasserijan et al., 2017

* u väčšiny pacientov s MDS-RS je prítomná somatická mutácia génu *SF3B1*

‡ u pacientov s CHIP môžu byť prítomné zvýšené hodnoty distribučnej šírky erytrocytov (RDW)

Tabuľka č. 3

 Rekurentné somatické mutácie pri MDS^a		
Mutovaný gén ^b	Celková incidencia	Klinická signifikancia mutácií
TET2	20-25 %	Asociované s normálnym karyotypom. Častejšie pri CMML (40-60 %). Časté pri klonálnej hematopoéze neurčitého potenciálu (CHIP) a klonálnej cypopénii nejasného významu (CCUP)
DNMT3A	12-18 %	Častejšie pri AML, najmä mutácia R882. Časté pri CHIP a CCUS
ASXL1	15-25 %	Nezávisle asociované so zlou prognózou pri MDS a CMML. Častejšie pri CMML (40-60 %). Časté pri CHIP a CCUS
EZH2	5-10 %	Nezávisle asociované so zlou prognózou pri MDS/MPN. Častejšie pri CMML (12 %)
SF3B1	20-30 %	Silná asociácia s ring sideroblastmi (RS) – časté pri MDS-RS. Nezávisle asociované s priaznivou prognózou
SRSF2	10-15 %	Častejšie pri CMML (40 %), asociované so zlou prognózou
U2AF1	8-12 %	Asociované so zlou prognózou
ZRSR2	5-10 %	Asociované so zlou prognózou
RUNX1	10-15 %	Nezávisle asociované so zlou prognózou pri MDS
TP53	8-12 %	Nezávisle asociované so zlou prognózou. Častejšie v prípade komplexného karyotypu (50 %) a del(5q) (15-20 %). Môže predikovať rezistenciu/relaps ako odpoveď na lenalidomid
STAG2	5-10 %	Asociované so zlou prognózou
NRAS	5-10 %	Asociované so zlou prognózou, najmä u pacientov, u ktorých sa predpokladal MDS s nižším rizikom. Častejší pri CMML a JMML (15 %)
CBL	<5 %	Častejší pri CMML (10-20 %) a JMML (15 %)
NF1	<5 %	Častejší pri CMML (5-10 %) a JMML (30 %) – v tomto prípade ide typicky o zárodočnú mutáciu
JAK2	<5 %	Častejší pri MDS/MPN s ring-sideroblastmi a trombocytózou (50 %); môže byť súčasne prítomná mutácia génu SF3B1
CLR	<5 %	Zaznamenané pri MDS/MPN s ring-sideroblastmi a trombocytózou (50 %); môže byť súčasne prítomná mutácia génu SF3B1
MPL	<5 %	MDS/MPN s ring-sideroblastmi a trombocytózou (50 %); môže byť súčasne prítomná mutácia génu SF3B1

Rekurentné somatické mutácie pri MDS^a

(pokračovanie)


Mutovaný gén ^b	Celková incidencia	Klinická signifikancia mutácií
ETV6	<5 %	Nezávisle asociované so zlou prognózou. Môže ísť o zárodočnú mutáciu
GATA2		Asociované so zlou prognózou. Môže ísť o zárodočnú mutáciu
DDX41		Môže ísť o zárodočnú mutáciu
IDH1	<5 %	Častejšie pri AML
IDH2	<5 %	Častejšie pri AML. Asociované so zlou prognózou
SETBP1	<5 %	Asociované s progresiou ochorenia. Častejšie pri CMML (5-10 %) a JMML (7 %)
PHF6	<5 %	Častejšie pri súčasnom excese blastov, nesúvisí s prežívaním
BCOR	<5 %	Asociované so zlou prognózou. Častejšie pri CMML (5-10 %)
FLT3		Asociované so zlou prognózou
WT1		Asociované so zlou prognózou
NPM1		Asociované so zlou prognózou
STAT3	<5 %	Vyskytujú sa pri leukémii veľkých granulovaných lymfocytov (angl. „large granular lymphocyte leukemia“, LGL) asociovanej s MDS; asociované s autoimunitne podmieneným zlyhaním kostnej drene
PPM1D	cca. 5 %	Asociované so sekundárnym MDS, bez súvisu s nepriaznivou prognózou, nezávisle od TP53. Časté pri CHIP a CCUS

Zdroj: podľa NCCN - MDS, 2020.

^aMutácie uvedené v tabuľke vo väčšine prípadov predstavujú somatickú mutáciu. Na potvrdenie zárodočného pôvodu je potrebné mutáciu potvrdiť aj v nehematopoetickom tkanive. Známe genetické polymorfizmy často sa vyskytujúce v populácii by nemali byť súčasťou výsledného nálezu, nakoľko ide typicky o zárodočné zmeny a nie o dôkaz klonálnej hematopoézy.


^bSomatické mutácie v mnohých MDS-asociovaných génoch môžu (*TET2*, *DNMT3A*, *TP53*) byť prítomné aj pri absencii ochorenia (môžu vzniknúť aj zvyšujúcim sa vekom), pričom jednotlivé mutácie samostatne nie sú diagnostické pre MDS. Mutácie tiež môžu vzniknúť pri iných onkologických ochoreniach, ako napr. pri lymfoidných malignitách, ako CLL a ALL. Nález mutácie by sa preto nemal považovať za dôkaz MDS bez toho, aby boli splnené diagnostické kritériá MDS.

Tabuľka č. 4

 Význam a prognóza cytogenetických markerov	
Prognostická skupina	Cytogenetické markery
Veľmi dobrá	-Y, del(11q)
Dobrá	normálny karyotyp, del(5q), del(12q), del(20q)
Stredná	del(7q), +8, +19, i(17q), akékoľvek ďalšie samostatné / resp. dve zmeny
Zlá	-7, aberácie 3q (del,inv,t), dve zmeny vrátane -7/del(7q), komplexné: 3 zmeny
Veľmi zlá	Komplexné zmeny karyotypu (> 3 aberácie)

Zdroj: Greenberg et al., 2012.

Tabuľka č. 5

 Revidovaný medzinárodný prognostický skórovací systém – Revised International Prognostic Scoring System: IPSS-R							
Prognostická hodnota	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Cytogenetika	veľmi dobrá	-	dobrá	-	stredná	zlá	veľmi zlá
Blasty v dreni (%)	≤ 2	-	$>2 - <5$	-	5 - 10	>10	-
Hemoglobín (g/l)	≥ 10	-	8 - <10	<8	-	-	-
Trombocyty	≥ 100	50 - <100	<50	-	-	-	-
Absolútny počet neutrofilov (ANC) ($\times 10^9/l$)	$\geq 0,8$	$<0,8$	-	-	-	-	-

Katégorie rizika podľa IPSS-R	Celkové skóre	Medián celkového prežívania bez liečby (roky)	Medián 25 % progresie do AML bez liečby (roky)
veľmi nízke	$\leq 1,5$	8,8	-
nízke	$>1,5 - \leq 3,0$	5,3	10,8
stredné	$>3,0 - \leq 4,5$	3	3,2
vysoké	$>4,5 - \leq 6,0$	1,6	1,4
veľmi vysoké	$>6,0$	0,8	0,7

Zdroj: Greenberg et al., 2012.

Tabuľka č. 6

 Medzinárodný prognostický skórovací systém - International Prognostic Scoring System: IPSS					
Prognostická hodnota	Celkové skóre				
	0	0,5	1	1,5	2
Blasty v dreni (%)	<5	5,10	11,20	21 - 30
Cytogenetika	dobrá	stredná	zlá		
Cytopenia	0/1	2,3			

Kategoríe rizika podľa IPSS	Celkové skóre	Medián celkového prežívania bez liečby (roky)		Medián 25% progresie do AML bez liečby (roky)	
		Vek pacienta v čase dg.		Vek pacienta v čase dg.	
		≤70 rokov	>70 rokov	≤70 rokov	>70 rokov
Nízke	0	9	3,9	>9,4 (NR)	>5,8 (NR)
Stredné 1	0,5 - 1,0	4,4	2,4	5,5	2,2
Stredné 2	1,5 - 2	1,3	1,2	1	1,4
Vysoké	≥2,5	0,4	0,4	0,2	0,4

Poznámka: *NR - z ang. "not reached" = nedosiahnutá uvedená hodnota

Zdroj: GREENBERG, P. - COX, C. - Le BEAU, M.M. - FENAUX, P. - MOREL, P. - SANZ, G. et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood 1997; 89: 2079–2088.

Odporúčania pre ďalší audit a revíziu štandardu

Prvý plánovaný audit a revízia tohto štandardného postupu sa odporúča po roku a následne každé 3 roky, resp. mimoriadne pri známom novom vedeckom dôkaze o efektívnejšom manažmente diagnostiky / liečby ochorenia s prihliadnutím na reálny časový horizont možnosti zavedenia tohto postupu do zdravotného systému v Slovenskej republike. Klinický audit a nástroje bezpečnosti pacienta budú doplnené pri 1. revízii.

Indikátormi revízie a zmeny v Štandardnom diagnosticko–laboratórnom postupe pre genetickú diagnostiku myelodysplastického syndrómu sú:

- nové klinické poznatky a postupy v diagnostike MDS,
- definovania nových genetických markerov s prognostickým / prediktívnym významom,
- nových účinnejších metodík a prístupov genetického testovania.

Literatúra

1. AKSOY, M. - OZERIS, S. - SABUNCU, H. et al. Exposure to benzene in Turkey between 1983 and 1985: a haematological study on 231 workers. Br J Ind Med 1987; 44: 785-787.
2. ARBER, D. A. - ORAZI, A. - HASSERIJAN, R. - THIELE, J. - BOROWITZ, M. J. - Le BEAU, M. M. - BLOOMFIELD, C. D. - CAZZOLA, M., & VARDIMANN, J. W. (2016). The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood, 127(20), 2391–2405. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>.
3. BEJAR, R. - STEVENSON, K. - ABDEL-WAHAB, O. et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. N Engl J Med 2011; 364: 2496-2506.
4. BOULTWOOD, J. - WAINSCOAT, J.S. Gene silencing by DNA methylation in haematological malignancies. Br J Haematol 2007; 138: 3-11.
5. CARDIS, E. - VRIJHEID, M. - BLETTNER, M. et al. Risk of cancer after low doses of ionising radiation: retrospective cohort study in 15 countries. BMJ 2005; 331: 77.

6. CAZZOLA, M. - DELLA PORTA, M.G. - MALCOVATI, L. The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. *Blood* 2013;122:4021-34
7. CAZZOLA, M. Myelodysplastic Syndromes, *The New England Journal of Medicine* 2020; 383:1358-74, DOI: 10.1056/NEJMra1904794
8. DUNNEN, J. T. - DALGLEISH, R. - MAGLOTT, D. R. - HART, R. K. - GREENBLATT, M. S. - MCGOWAN-JORDAN, J. - ROUX, A. F. - SMITH, T. - ANTONARAKIS, S. E. - TASCHNER, P. E. M. 2016. HGVS Recommendations for the Description of Sequence variants: 2016 Update. In *Human Mutation*. 37(6): 564-569
9. ELLARD, S., CHARLTON, R. - YAU, S. - GOKHALE, D. - TAYLOR, G.R. - WALLACE, A. - RAMSDEN, S.C. - BERRY, I.R. 2016. Practice guidelines for Sanger Sequencing Analysis and Interpretation. In *Association for Clinical Genetic Science (ACGS)*. URL:<http://www.acgs.uk.com/media/1025065/acgs_sanger_sequencing_bpg_update_2016.pdf>
10. GREENBERG, P. L. - TUECHLER, H. - SCHANZ, J. - SANZ, G. - GARCIA-MANERO, G. - SOLÉ, F. - BENNET, J. M. - BOWEN, D. - Fenaux, P. - Dreyfus, F. - Kantarjian, H. - Kuendgen, A. - Levis, A. - Malcovati, L. - Cazzola, M. - Cermak, J. - Fonatsch, C. - Le Beau, M. M. - Slovak, M. L. - Krieger, O. ... Haase, D. (2012). Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*, 120(12), 2454-2465. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-03-420489>
11. HAASE, D. - GERMING, U. - SCHANZ, J. et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood* 2007;110: 4385-4395.
12. HAFERLACH, C. - RIEDER, H. - LILLINGTON, D.M. - DASTUGUE, N. - HAGEMEIJER, A. - HARBOTT, J. - STILGENBAUER, S. - KNUUTILA, S. - JOHANSSON, B. - FONATSCH, C. 2007. Proposals for standardized protocols for cytogenetic analyses of acute leukemias, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, chronic myeloproliferative disorders, and myelodysplastic syndromes. In *Genes Chromosomes Cancer*. 46(5):494-499. DOI 10.1002/gcc.20433. URL:<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/gcc.20433>>
13. HAFERLACH, T. - NAGATA, Y. - GROSSMANN, V. et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2014; 28: 241-7.
14. HASSERJIAN, R.P. - ORAZI, A. - BRUNNING, R. et al. Myelodysplastic syndromes: overview. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al., eds. *WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2017: 98-106.
15. HASTINGS, R. - HOWELL, R. - BRICARELLI, F.D. - KRISTOFFERSSON, U. - CAVANI, S. 2012. A common European framework for quality assessment for constitutional, acquired and molecular cytogenetic investigations: General Guidelines and Quality Assurance for Cytogenetics. In *E.C.A. (European Cytogeneticists Association) Newsletter*. 29:7-25.
16. HUNTER, A.M. - SALLMAN, D.A. 2020 Targeting TP53 Mutations in Myelodysplastic Syndromes. *In. Hematol Oncol Clin North Am*.34(2): 421-440. doi: 10.1016/j.hoc.2019.11.004.
17. IWANAGA, M. - HSU, WL. - SODA, M. et al. Risk of myelodysplastic syndromes in people exposed to ionizing radiation: a retrospective cohort study of Nagasaki atomic bomb survivors. *J Clin Oncol* 2011; 29: 428-434.
18. JADERSTEN, M. - SAFT, L. - SMITH, A. et al. 2011 TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. In: *J. Clin. Oncol*. 29:1971-1979 URL: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21519010>>
19. JIANG, Y. - DUNBAR, A. - GONDEK, LP. et al. Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in MDS progression to AML. *Blood* 2009; 113: 1315-1325.
20. MALCOVATI, L. - HELLSTRÖM-LINDBERG, E. - BOWEN, D et al. 2013 Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. In: *Blood* 122 (17): 2943-2964
21. MARILIN, M.L. - DATTO, M. - DUNCAVAGE, E.J. - KULKARNI, S. - LINDEMAN, N.I. - ROY, S. - TSIMBERIDOU, A.M. - VNECAK-JONES, C.L. - WOLFF, D.J. - YOUNES, A. - NIKIFOROVA, M.N. 2017. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer. A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. In *The Journal of Molecular Diagnostics*. 19(1): 4-23
22. MCGOWAN-JORDAN, J. - SIMONS, A. - SCHMID, M. 2016. *ISCN: an international system for human cytogenetic nomenclature* (2016). Basel; New York: Karger AG. ISBN 978-3-318-05857-4.
23. MOHAMEDALI, A. - GÄKEN, J. - TWINE, NA. et al. Prevalence and prognostic significance of allelic imbalance by single-nucleotide polymorphism analysis in low-risk myelodysplastic syndromes. *Blood* 2007; 110: 3365-3373.
24. NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology - Myelodysplastic Syndrome, Version 1.2021 (September 11, 2020), https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/mds.pdf
25. NEUKIRCHEN, J. - SCHOONEN, WM. - STRUPP, C. et al. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Dusseldorf MDS-registry. *Leuk Res* 2011; 35: 1591-1596.
26. NISSE, C. - HAGUENOER, JM. - GRANDBASTIEN, B. et al. Occupational and environmental risk factors of the myelodysplastic syndromes in the north of France. *Br J Haematol* 2001; 112: 927-935.
27. REHM, H.L. - BALLE, J.S. - BAYRAK-TOYDEMIR, P. - BERG, J.S. - BROWN, K.K. - DIEGNAN, J.L. - FRIEZ, M.J. - FUNKE, B.H. - HEDGE, M.R. - LYON, E. 2013. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. in *Genetics in Medicine*. 15(4): 733-747
28. RICHARDS, S. - AZIZ, N. - BALE, S. - BICK, D. - DAS, S. - GASTIER-FOSTER, J. - GRODY, W.W. - HEDGE, M. - LYON, E. - SPECTOR, E. - VOELKERDING, K. - REHM, H.L. - ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 2015. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. In *Genet Med*. 17(5): 405-424. DOI:10.1038/gim.2015.30. URL:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4544753/>>
29. SEBAA, A. - ADES, L. - BARAN-MARCZAK, F et al. 2012 Incidence of 17p deletions and TP53 mutations in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with 5q deletion. In: *Genes Chromosomes Cancer* 51: 1086-1092 URL: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22933333>>

30. STEIDL, C. - STEFFENS, R. - GASSMANN, W. et al. Adequate cytogenetic examination in myelodysplastic syndromes: analysis of 529 patients. *Leuk Res.* 2005;29(9):987-993.
31. STROM, S.P. 2016. Current practices and guidelines for clinical next-generation sequencing oncology testing. In *Cancer Biological Medicine.* 13(1): 2-11
URL:<http://www.e-c-a.eu/files/downloads/guidelines/e.c.a._general_guidelines_version-2.0.pdf>
32. WILL, B. - ZHOU, L. - VOGLER, - TO. et al. Stem and progenitor cells in myelodysplastic syndromes show aberrant stage-specific expansion and harbor genetic and epigenetic alterations. *Blood* 2012;120: 2076-2086.

Poznámka:

Ak klinický stav a osobitné okolnosti vyžadujú iný prístup k prevencii, diagnostike alebo liečbe ako uvádza tento štandardný postup, je možný aj alternatívny postup, ak sa vezmú do úvahy ďalšie vyšetrenia, komorbidity alebo liečba, teda prístup založený na dôkazoch alebo na základe klinickej konzultácie alebo klinického konzília.

Takýto klinický postup má byť jasne zaznamenaný v zdravotnej dokumentácii pacienta.

Účinnosť

Tento štandardný postup nadobúda účinnosť od 15. mája 2021.

Vladimír Lengvarský
minister