

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 chronickej lymfocytovej leukémie (CLL)/ malobunkového lymfómu z B-buniek (SLL)

Číslo ŠP	Dátum prvého predloženia na Komisiu MZ SR pre ŠDTP	Status	Dátum účinnosti schválenia ministerkou zdravotníctva SR
0072	10. decembra 2019	schválené	15. januára 2020

### Autori štandardného postupu

#### Autorský kolektív

Ing. Martin Čermák, Mgr. Lívia Rotíková, 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, hlavní odborníci MZ SR; členovia príslušných výborov Slovenskej lekárskej spoločnosti; interdisciplinárnych odborných spoločností; odborný projektový tím MZ SR pre ŠDTP a pacientske organizácie zastrešené AOPP v Slovenskej republike

**Odborní koordinátori:** MUDr. Peter Bartoň; prof. MUDr. Mariana Mrázová, PhD., MHA; MUDr. Štefan Laššán, PhD.; MUDr. Jozef Kalužay, PhD.; prof. MUDr. Jozef Šuvada, PhD., MPH, MBA

#### Recenzenti

členovia Komisie MZ SR pre ŠDTP: PharmDr. Miriam Vulevová, MBA; doc. MUDr. Adriana Liptáková, PhD.; PharmDr. Zuzana Baťová, PhD.; MUDr. Beata Havelková, MPH; MUDr. Martin Vochyan; prof. MUDr. Jozef Holomáň, CSc.; doc. MUDr. Martin Hrubisko, PhD., mim. prof.; MUDr. Ladislav Šinkovič, PhD., MBA; prof. MUDr. Ivica Lazúrová, DrSc.; MUDr. Róbert Hill, PhD.; MUDr. Andrej Zlatoš; PhDr. Mária Lévyová; prof. MUDr. Mária Šustrová, CSc.; MUDr. Jana Kelemenová; Ing. Jana Netriová, PhD. MPH; Mgr. Renáta Popundová; Mgr. Katarína Mažárová; MUDr. Jozef Kalužay, MUDr. Peter Bartoň; PhD.; MUDr. Štefan Laššán, PhD.; prof. MUDr. Mariana Mrázová, PhD., MHA; prof. PhDr. Monika Jankechová, PhD., MHA; prof. MUDr. Jozef Šuvada, PhD., MPH

#### Technická a administratívna podpora

**Podpora vývoja a administrácia:** Mgr. Zuzana Kuráňová; Ing. Barbora Vallová; Mgr. Ľudmila Eisnerová; Mgr. Mário Fraňo; JUDr. Marcela Virágová, MBA; Ing. Marek Matto; prof. PaedDr., PhD. Pavol Tománek, PhD.; JUDr. Ing. Zsolt Mánya, PhD.; Mgr. Sabína Brédová; Ing. Mgr. Liliana

Húsková; Ing. Zuzana Poláková; Mgr. Tomáš Horváth; Ing. Martin Malina; PhDr. Katarína Gatialová, Mgr. Ing. Mária Syneková

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

## Kľúčové slová

chronická lymfocytová leukémia, malobunkový lymfóm z B-buniek, genetika CLL, cytogenetické aberácie, mutačný status *IGHV*, mutačný status *TP53*, mutačný status *NOTCH1*

## Zoznam skratiek a vymedzenie základných pojmov

ATM	označenie génu, z angl. <i>ATM serine/threonine kinase</i> , synonymum <i>Ataxia telangiectasia mutated</i>
BCL2	označenie génu, z angl. <i>B-Cell Leukemia/ Lymphoma 2</i>
<i>BCL6</i>	označenie génu, z angl. <i>B-Cell Lymphoma 6</i>
B-NHL	non-Hodgkinovú lymfóm z B-buniek
bphs	počet prúžkov (bandov) na haploidný stav, z angl. <i>bands per haploid set</i>
<i>CCND1</i>	označenie génu, Cyklín D1
CD	proteínové molekuly na povrchu buniek, CD znak, z angl. <i>cluster of differentiation</i>
<i>CDKN2A</i>	označenie génu, z angl. <i>Cyclin Dependent Kinase 2a/p16</i>
cDNA	komplementárna deoxyribonukleová kyselina
CLL	chronická lymfocytová leukémia
CLL-IPi	CLL medzinárodný prognostický index, z angl. <i>chronic lymphocytic leukemia international prognostic index</i>
CpG	označenie oblasti s vyšším výskytom CG dinukleotidov; "CpG ostrovčeky"
del	delécia
DNA	deoxyribonukleová kyselina
E.C.A.	Európska asociácia cytogenetikov, z angl. <i>European Cytogeneticists Association</i>
ERIC	pracovná skupina European Leukemia Net (ELN) pre chronickú lymfocytovú leukémiu, z angl. <i>European Research Initiative on CLL</i>
FISH	fluorescenčná <i>in situ</i> hybridizácia
FFPE	tkanivo fixované v parafrínovom bloku, z angl. <i>Formaline Fixed Paraffin Embedded</i>
gDNA	genomická deoxyribonukleová kyselina
GDPR	z angl. <i>General Data Protection Regulation</i>
Hb	hemoglobín
<i>IGH</i>	označenie génového lokusu, z angl. <i>Immunoglobulin Heavy</i>

<i>IGHV</i>	označenie génov pre ťažký reťazec imunoglobulínov, z angl. <i>Immunoglobulin Heavy Variable</i>
IL	Interleukín
ISCN	Medzinárodná cytogenetická nomenklatúra, z angl. <i>An International System for Human Cytogenetic Nomenclature</i>
KD	kostná dreň
KD24	24-hodinová kultivácia z kostnej drene
LAP	lymfadenopatia
miRNA	mikro RNA
MKCH	medzinárodná klasifikácia chorôb
<i>MYC</i>	označenie génu, z angl. MYC proto-oncogene, bHLH transcription factor
NHL	non-Hodgkinov lymfóm
<i>NOTCH1</i>	označenie génu, z angl. <i>Notch homolog 1, translocation-associated (Drosophila)</i>
OS	celkové prežívanie, z angl. <i>overall survival</i>
PCR	polymerázová reťazová reakcia, z angl. <i>polymerase chain reaction</i>
PEST	oblasť bohatá na prolín (P), kyselinu glutámovú (E), serín (S), and treonín (T)
PHA	stimulant fytohemaglutinín, z angl. <i>Phytohaemagglutinin</i>
PK	periférna krv
PKW	mitogén získaný z <i>Phytolacca americana</i> , vyskytujúci aj pod názvom <i>Lectin</i> , z angl. <i>Pokeweed</i>
RNA	ribonukleová kyselina
SLL	malobunkový lymfóm z B-buniek
SR	Slovenská republika
TP53	označenie génu, z angl. <i>Tumor Protein p53</i>
Tr	trombocyty
T-PLL	Prolymfocytová leukémia z T-buniek
ZAP-70	proteínyrozínkináza, z angl. <i>Zeta chain associated protein kinase</i>

70

## Zhrnutie odôvodnenia vývoja štandardu

Tento diagnosticko-laboratórny štandard slúži ako odborné usmernenie a upravuje základné podmienky a pravidlá genetickej diagnostiky u malígneho ochorenia chronická lymfocytová leukémia (CLL)/ malobunkový lymfóm z B-buniek (SLL).

## Kompetencie indikácie

Indikovať genetické vyšetrenia uvedených onkologických diagnóz /entít je oprávnený:

- lekár so špecializáciou v odbore hematológia a transfuziológia (031)<sup>1</sup>
- lekár so špecializáciou v odbore pediatrika hematológia a onkológia (329)<sup>1</sup>
- lekár so špecializáciou v odbore klinická onkológia (019)<sup>1</sup>

## Kompetencia realizovania testovania

Genetického vyšetrenie CLL/SLL môže vykonávať len špecializované diagnostické pracovisko s oprávnením pre diagnostiku v onkologickej genetike – odbornosť lekárska genetika (062)<sup>1</sup>.

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 špecialista<sup>2</sup> = laboratórny diagnostik so špecializáciou v odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej genetike<sup>3</sup>, alebo rovnocenným uznaným odborným vzdelaním nadobudnutým mimo územia SR,
- laboratórny diagnostik<sup>4</sup> v špecializačnej príprave vyššie uvedeného odboru pod dohľadom laboratórneho diagnostika špecialistu,
- zdravotnícky laborant so špecializáciou<sup>5</sup> v špecializačnom odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej genetike<sup>6</sup>,
- zdravotnícky laborant bez špecializácie<sup>7</sup> pod dohľadom zdravotníckeho laboranta alebo laboratórneho diagnostika so špecializáciou.

interpretovať a vydávať výsledky testov:

- lekár so špecializáciou v odbore lekárska genetika (062)<sup>1</sup>
- laboratórny diagnostik so špecializáciou v odbore laboratórne a diagnostické metódy v klinickej genetike<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup>) MU č. 1/3/2007 Kódy lekárov a poskytovateľov zdravotnej starostlivosti. In: *Vestník úradu pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou číslo 1/2008-marec 2008*, [online]. [cit. 2019-01-30]. URL: [http://www.udzs-sk.sk/documents/14214/18168/vestnik\\_01\\_08.pdf/cd63e016-897b-4d3b-ae6f-628c7af517bd](http://www.udzs-sk.sk/documents/14214/18168/vestnik_01_08.pdf/cd63e016-897b-4d3b-ae6f-628c7af517bd).

<sup>2</sup>)§ 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.

<sup>3</sup>)§ 65 ods. 2 a Príloha č. 3 časť S písm. a) bod 3 k nariadeniu vlády SR č. 34/2018 ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie vlády Slovenskej republiky 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

<sup>4</sup>)§ 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.

<sup>5</sup>)§ 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.

<sup>6</sup>)§ 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.

<sup>7</sup>)§ 23 ods.1 nariadenia vlády SR č. 34/2018 ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie vlády Slovenskej republiky 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

Chronická lymfocytová leukémia (CLL) spolu s malobunkovým lymfómom z B-buniek (SLL) tvorí 30% všetkých leukémií u dospelých pacientov v európskej a severoamerickej populácií. Jedná sa o indolentné lymfoproliferatívne ochorenie, pri ktorom sa akumulujú a proliferujú malígne transformované zrelé B-lymfocyty s typickým imunofenotypom CD5+ CD23+ CD19+, CD22 slabá pozitivita so zníženou expresiou kappa alebo lambda ľahkých reťazcov na povrchu membrány a negativitou znaku FMC7 (Hallek a kol., 2008). Diagnóza CLL/SLL sa stanovuje na základe klinického stavu pacienta, jeho krvného obrazu a prietokovej cytometrie (viď. špeciálny doplnok štandardu: [1] *Stanovenie diagnózy CLL/SLL*). Tieto ukazovatele sú určujúce pre zaradenie pacienta do klinického štádia podľa jednotlivých klasifikačných systémov (viď. špeciálny doplnok štandardu: [2] *Stratifikácia rizika a klasifikačné systémy*) a niektoré sú významné aj z hľadiska prognózy. Okrem „klasických“ prognostických faktorov (vek pacienta, klinické štádium ochorenia, výkonnostný stav, zdvojovací čas lymfocytov), nemalú úlohu zohrávajú aj genetické markery ako mutačný stav génov pre ťažký reťazec imunoglobulínov (*IGHV*), mutácie génov *TP53*, *NOTCH1* a cytogenetické aberácie charakterizované deléciou 11q22-23, deléciou 13q14, trizómiou chromozómu 12 a deléciou 17p13 (*TP53*), (viď. špeciálny doplnok štandardu: [3] *Charakteristika sledovaných genetických markerov*). Diagnostika uvedených genetických aberácií v čase diagnózy/relapsu je dôležitá pre nastavenie správneho manažmentu pacienta s CLL/SLL a tým aj voľby adekvátnej liečby (International CLL-IPI working group, 2016; Hallek, 2017; Eichhorst a kol., 2015).

Tento štandardný postup vznikol metodologicky použitím prístupu *adaptácie* medzinárodných a najmä NCCN postupov (menovite uvedených v zozname literatúry). Z tohto dôvodu implicitne neuvádzame váhu dôkazov na všetkých miestach, iba tam kde to je relevantné z pohľadu zmeny váh dôkazov v kontexte najnovších poznatkov a zmeny oproti *adoptovaným* medzinárodným postupom.

## Klasifikácia testov

Konvenčná cytogenetika – karyotyp (G-průžkovanie)

Karyotypovanie sa vykoná pomocou průžkovacích metód (průžkovanie), pričom štandardnou technikou pre detekciu chromozómových aberácií u hematologických malignít je průžkovanie pomocou Giemsovho roztoku - G - průžkovanie na úrovni minimálne 300 bphs – podľa E.C.A. (Hastings a kol., 2012).

Chromozómová analýza G-průžkovaním je u CLL buniek obmedzená ich nízkou mierou proliferácie *in vitro*. Ak sa však takáto analýza vyžaduje, je vhodnejším biologickým materiálom periférna krv ako kostná dreň. Pre analýzu sa odporúča založiť aspoň dve kultivácie - jednu na 24 hodín a druhú na 72 hodín, v prípade, že je k dispozícii dostatok materiálu, možno zväžiť 48- a 96-hodinové kultúry. Pre kultivácie môžu byť použité rôzne stimulatory, napr. PKW , CpG oligonukleotidové preparáty s IL alebo PHA v T-PLL (Haferlach a kol., 2007; Muthusamy a kol., 2011).

*Štandard:* analýza 20 metafáz

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

Interfázová fluorescenčná *in situ* hybridizácia (FISH)

Z časového hľadiska je FISH u CLL/SLL rutinnou diagnostickou metodikou a na základe súčasných poznatkov hlavným nástrojom pre zaradenie pacientov do relevantných prognostických podskupín CLL. Východiskovou vzorkou pre FISH analýzu sú preparáty priameho spracovania/náterov periférnej krvi. V prípade potreby je možná analýza z 24-hodinovej, resp. 72-hodinovej stimulovanej kultivácie kostnej drene (Haferlach a kol., 2007).

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 po 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.

### Sekvenčná analýza mutácií

Mutačná analýza génov *TP53*, *NOTCH1* a variabilnej domény génu ťažkého reťazca imunoglobulínov *IGH* (*IGHV*) sa vykonáva preferenčne z genomickej DNA (gDNA) periférnej krvi, respektíve v prípade *IGHV* aj z komplementárnej DNA (cDNA) pripravenej z RNA z periférnej krvi. Analýza klonálnej prestavby génu *IGH* je súčasťou postupu analýzy mutačného statusu *IGHV*. Ako alternatívny materiál je možné použiť aj kostnú dreň, respektíve vzorku lymfatickej uzliny (čerstvý tumor, prípadne parafínový rez) s preukázanou prítomnosťou nádorových buniek (Ghia a kol., 2007; Fabbri a kol., 2011; Langerak a kol., 2011; Pospisilova a kol., 2012; Rosenquist a kol., 2017; Malcikova a kol., 2018).

## Proces diagnostiky - odporúčania

Tab. č. 1

 <b>Proces diagnostiky - odporúčania (minimálny štandard)</b> (International CLL-IPI working group, 2016; Hallek a kol., 2008; Hallek, 2017; Eichhorst a kol., 2015)	
Štádium ochorenia	Diagnostický panel
Čas diagnózy/ vstupné vyšetrenie	Metodika: FISH <ul style="list-style-type: none"> <li>• del (11q22-23) gén: ATM</li> <li>• trizómia chromozómu 12</li> <li>• del (13q14) gény: D13S319, D13S25, D13S272</li> <li>• del (17p13) gén: TP53</li> </ul> V rámci diferenciálnej diagnostiky možno doplniť IGH/CCND1, IGH/BCL2 V prípade negatívneho nálezu sa odporúča karyotyp z PK, resp. KD* Metodika: sekvenčná analýza <ul style="list-style-type: none"> <li>• stanovenie mutačného statusu IGHV <sup>[A]</sup></li> <li>• stanovenie mutačného statusu TP53 <sup>[B]</sup></li> </ul>
Remisia/ sledovanie dynamiky ochorenia/ minimálne reziduálne ochorenie	<ul style="list-style-type: none"> <li>• odporúča sa sledovanie pomocou prietokovej cytometrie</li> </ul> V prípade vstupnej pozitivity cytogenetických markerov sa môže dynamika ochorenia sledovať aj pomocou FISH vyšetrenia
Progresia/ relaps/ transformácia	Metodika: sekvenčná analýza <ul style="list-style-type: none"> <li>• základný panel ako v čase diagnózy (viď. čas diagnózy/ vstup)**</li> <li>• stanovenie mutačného statusu NOTCH1 <sup>[C]</sup></li> </ul> Metodika: FISH Podľa typu transformácie do iného NHL možnosť doplniť: <ul style="list-style-type: none"> <li>• BCL6(3q27), MYC(8q24), CCND1(11q13), IGH(14q32), BCL2(18q21)</li> <li>• pri transformácii do Richterovho syndrómu CDKN2A(9p21)</li> </ul>

**Poznámka:** \* každý pozitívny nález G-bandu sa odporúča overiť pomocou FISH;

\*\*mutačný status IGHV je stabilný ukazovateľ, ktorý sa v priebehu ochorenia nemení

(International CLL-IPI working group, 2016; Hallek a kol., 2008; Hallek, 2017; Eichhorst a kol., 2015)

<sup>[A]</sup> Mutačný status *IGHV* sa stanovuje sekvenčnou analýzou identifikovanej klonálnej/klonálnych prestavieb  $V_H$ - $D_H$ - $J_H$  (Variable-Diversity-Joining regions) oblastí génu *IGH*. Pri identifikácii klonálnej prestavby génu *IGH* sa používa multiplexná PCR analýza vychádzajúca z gDNA alebo cDNA a s použitím konsenzus primérov z oblasti sekvencie  $V_H$  segmentu (z oblasti „5'-leader“, respektíve z oblasti FR1 regiónov) a primérov z  $J_H$ , respektíve  $C_H$  (Complementary determining region) oblasti (3':IGHJ, respektíve 3':IGHC). Klonálna prestavba je následne identifikovaná pomocou polyakrylamidovej gélovej elektroforézy, prípadne technikou „GeneScan“. Detekčný limit klonálnej prestavby *IGH* sa pohybuje na úrovni okolo 5%. Identifikovaný klonálny produkt je sekvenovaný



z oboch strán priamou sekvenčnou analýzou. Získaná sekvencia je analyzovaná využitím imunoglobulínových databáz IMGT (international immunogenetic information, <http://imgt.cines.fr>), V-Base (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) a GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>). Percento identity *IGHV* sa následne vypočíta podľa vzorca (van Dongen a kol., 2003; Ghia a kol., 2007; Langerak a kol., 2011; Rosenquist a kol., 2017):

<sup>[B]</sup> Mutačný status génu *TP53* sa stanovuje sekvenčnou analýzou vychádzajúcou z gDNA a optimálne pokrýva celú kódujúcu oblasť (exóny 2-11) minimálne však exóny 4-10. Sekvenčná analýza génu *TP53* sa vykonáva štandardne metódou „Sangerovej“ sekvenácie, respektíve metódou masívne paralelného sekvenovania. Pričom odporúčaný limit detekcie mutácií je na úrovni 10% a v rámci analýzy musia byť zahrnuté aj príbahlé intrónové sekvencie do oblasti minimálne dvoch bázových párov. Pri dosiahnutí vyššieho detekčného limitu je možné vo výslednej správe uvádzať aj mutácie v rozmedzí 5-10%.

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/>), (Pospisilova a kol., 2012; Richards a kol., 2015; Ellard a kol., 2016; Malcikova a kol., 2018).

<sup>[C]</sup> Mutačný status génu *NOTCH1* sa stanovuje sekvenčnou analýzou vychádzajúcou z gDNA a pokrýva minimálne oblasť kódujúcu doménu PEST (proline, glutamic acid, serine, threonine-rich domain). Sekvenčná analýza génu *NOTCH1* sa vykonáva štandardne metódou „Sangerovej“ sekvenácie, respektíve metódou masívne paralelného sekvenovania. Detekčný limit sa pohybuje obdobne ako u génu *TP53* na úrovni 10%. Pri analýze a interpretácii variantov je možné využiť širokú škálu v súčasnosti dostupných databáz, preferenčne však databázy COSMIC (<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>) a ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), (Fabbri a kol., 2011; Richards a kol., 2015; Ellard a kol., 2016).

## **Odôvodnenie testovania**

Dôvodom genetického testovania je prognostický význam jednotlivých genetických markerov a v prípade pacientov s aberáciami v géne *TP53* je preukázaná aj rezistencia na chemoterapiu. Statusy *TP53* a *IGHV* stoja ako nezávislé prognostické faktory pre stratifikáciu rizika podľa *Medzinárodného prognostického indexu pre pacientov s CLL (CLL-IPI)* – vid'. špeciálny doplnok štandardu: [3]

**Charakteristika sledovaných genetických markerov.** Mutácie génu *NOTCH1* sú asociované s transformáciou do Richterovho syndrómu a sú taktiež asociované so zníženým benefitom z pridania rituximabu v rámci liečby (Fabbri a kol., 2011; Rossi a kol., 2012).

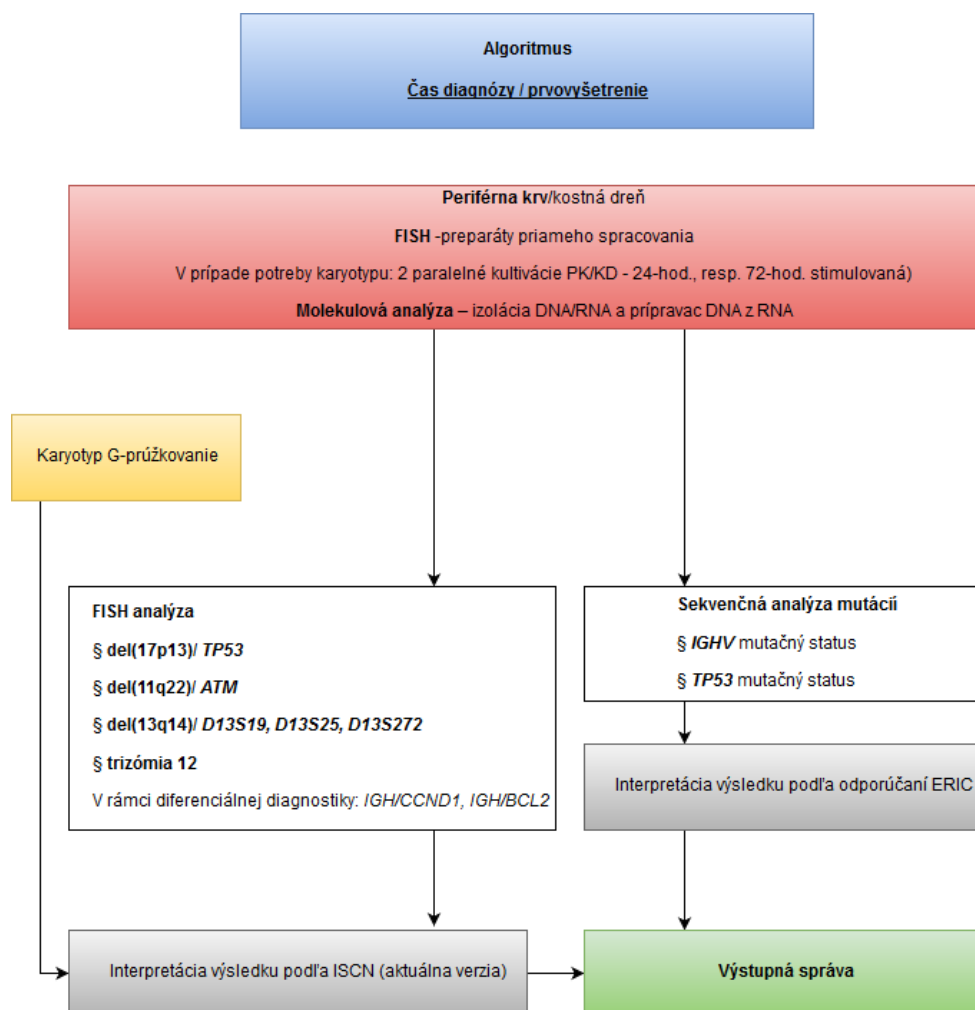
Prognostický význam laboratórných markerov vrátane genetických aberácií je uvedený v nasledovnej tabuľke (podľa Rossi a kol., 2013; Zelenetz et al., 2014):

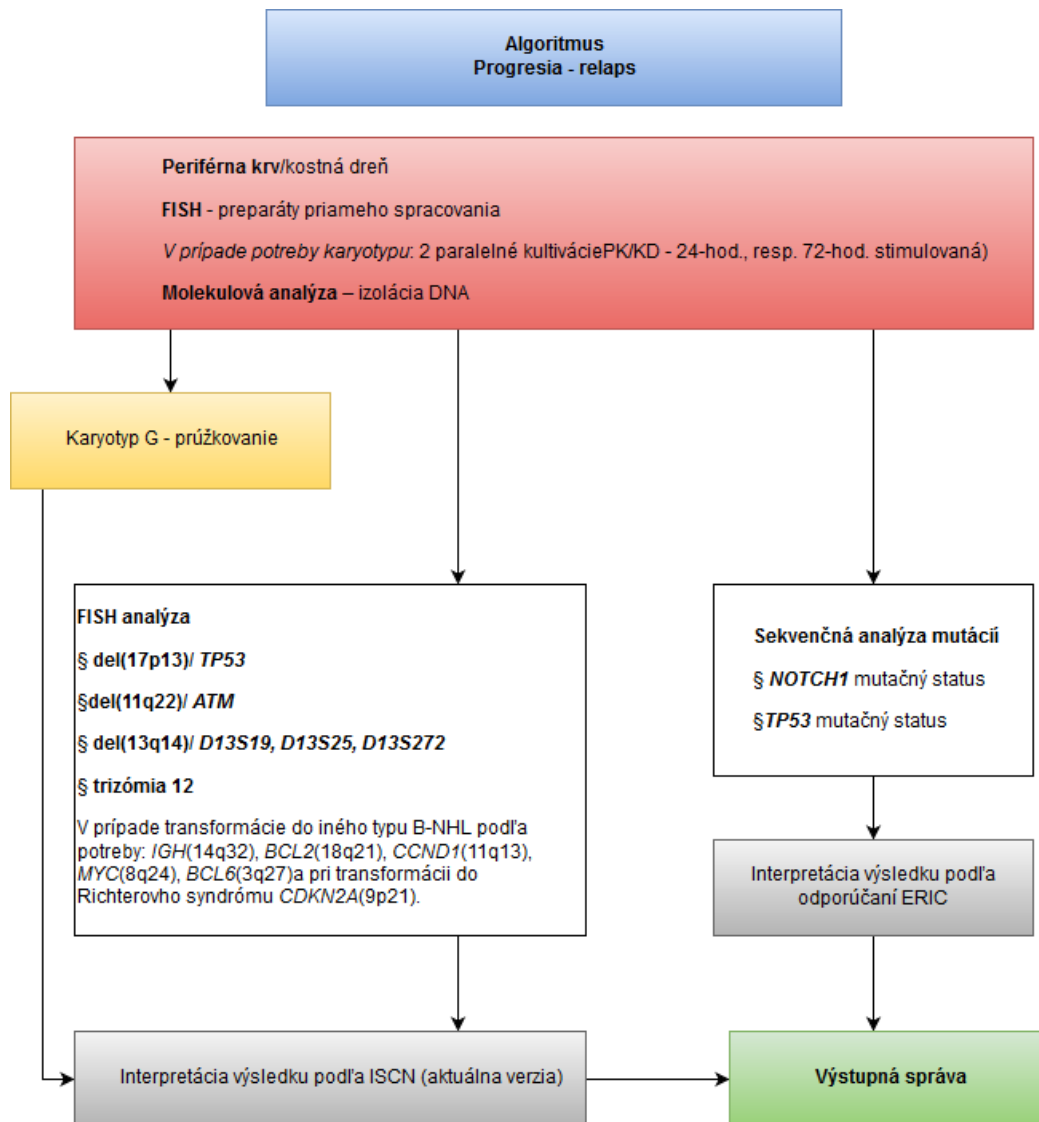
Tab. č. 2

	Priaznivá prognóza	Neutrálna prognóza	Nepriaznivá prognóza
Cytogenetika	del (13q) - ako samostatne sa vyskytujúca aberácia	trizómia 12 normálny karyotyp	del (17p) del (11q) komplexné zmeny karyotypu***
Molekulová genetika	IGHV mutované >2%		IGHV mutované ≤2% TP53 mutované NOTCH1 mutované
Prietoková cytometria	CD38 <30% ZAP-70 <20% CD49a <30%		CD38 ≥30% ZAP-70 ≥20% CD49a ≥30%

**Poznámka:** \*\*\*ako komplexný karyotyp sa označuje v prípade ≥3 chromozomálnych zmien v metafáze/ v bunke (pri interfáznej FISH), (ISCN, 2016)

## Laboratórny algoritmus





## 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, službách súvisiacich s poskytovaním zdravotnej starostlivosti a o zmene a doplnení niektorých zákonov<sup>8</sup>. 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 a o zmene a doplnení niektorých zákonov<sup>9</sup> ako aj Všeobecným nariadením o ochrane osobných údajov –GDPR<sup>10</sup>. 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.

Výsledky laboratórných analýz sú oznamované formou kompletnej výstupnej správy z vyšetrenia zasielanej indikujúcemu lekárovi poštou.

<sup>8)</sup> Zákon č. 576/2004 Z. z. o zdravotnej starostlivosti, službách súvisiacich s poskytovaním zdravotnej starostlivosti a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

<sup>9)</sup> Zákon č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov a o zmene a doplnení niektorých zákonov.

<sup>10)</sup> GDPR (General Data Protection Regulation) - Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/679 z 27. apríla 2016 o ochrane fyzických osôb pri spracúvaní osobných údajov a o voľnom pohybe takýchto údajov, ktorým sa zrušuje smernica 95/46/ES (všeobecné nariadenie o ochrane údajov)

V prípade spoločných elektronických prístupov k výsledkom s viacerými pracoviskami musia byť medzi pracoviskami vytvorené bezpečné komunikačné prepojenia a prístupy, tak aby bola v čo najväčšej miere eliminovaná možnosť uniknutia dát zdravotnej dokumentácie a ich prípadného zneužitia.

### **Minimálne materiálo-technické zabezpečenie**

- laminárny box, digestor, 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 čistoty DNA/RNA
- termocyklér
- genetický analyzátor

### **Minimálne personálne zabezpečenie**

Pracovisko vykonávajúce genetickú diagnostiku musí disponovať nasledovným personálnym zabezpečením:

- kvalifikovaný laboratórny diagnostik (viď. bod 07.)
- zdravotnícky laborant

### **Interpretácia výsledkov testov**

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 – sekvenačná analýza – podľa pravidiel a odporúčaní ERIC (European Research Initiative on CLL)

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

Výstupná správa z genetického vyšetrenia musí obsahovať :

- 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 (dátum prijatia materiálu, druh biologického materiálu, forma sekundárnej vzorky –napr. DNA, RNA, KD24...),
- použité metodiky genetického testovania, použité referenčné sekvencie analyzovaných génov, použité genetické databázy a softvérové nástroje,
- výsledky analýz,
- záver z 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 laboratórných pracovníkov.


## **Zabezpečenie a organizácia starostlivosti/realizácie diagnostiky**

Laboratórne pracovisko, ktoré chce realizovať genetickú diagnostiku u hematologických malignít entity CLL/SLL musí spĺňať nasledovné kritériá:

- byť špecializovaným diagnostickým pracoviskom = odbornosť 062 Lekárska genetika,
- disponovať vlastným potrebným prístrojovým a laboratórnym vybavením (viď. 10.4 Minimálne materiálno - 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, (viď. 07. kompetencie realizovania testovania),
- laboratórium s dostatočnými skúsenosťami s diagnostikou vzoriek pacientov s CLL zodpovedajúcimi 100 novodiagnostikovaných vzoriek ročne a pravidelnou účasťou v rámci externých foriem kontroly kvality.

## Špeciálny doplnok štandardu

Tab. č. 3

 Stanovenie diagnózy CLL/SLL
<b>Krvný obraz:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• absolútna lymfocytóza v periférnej krvi - počet morfológicky zreých lymfocytov <math>&gt;5 \times 10^9/l</math> najmenej po dobu 3 mesiacov</li><li>• <math>&lt;55\%</math> atypických buniek v periférnej krvi - napr. prolymfocyty</li><li>• imunofenotyp: CD5+, CD19+, CD20+, CD23+, CD22+/-, FMC7-/+ , Smlg +/-</li></ul>
<b>Kostná dreň:</b> <p>nie je podmienkou pre stanovenie diagnózy</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• infiltrácia <math>&gt;30\%</math> lymfocytov v aspiráte kostnej drene</li></ul>
<b>Lymfatická uzlina:</b> <p>Malobunkový lymfóm z B-buniek (SLL) má identický imunofenotyp s CLL. Najzásadnejší rozdiel oproti CLL je absencia periférnej lymfocytózy. Diagnóza SLL by mala byť potvrdená histologickým vyšetrením lymfatickej uzliny, ak je to možné</p>


**Poznámka:** Hallek a kol., 2008

V diferenciálnej diagnostike by od entity CLL/SLL mal byť odlišený lymfóm z plášťových buniek (Mantle-Cell Lymphoma), prolymfocytová leukémia z B-buniek (Hallek a kol., 2008).

### **Stratifikácia rizika a klasifikačné systémy**

Existujú dva všeobecne akceptované klinické stagingové systémy, ktoré sú pomenované podľa prvých autorov pôvodných publikácií Rai (Rai a kol., 1975) a Binet (Binet a kol., 1981). Klasifikácia Rai bola v roku 1987 upravená tak, aby sa znížil počet prognostických skupín z 5 na 3 (Rai, Gupta, 2004). Oba systémy opisujú tri hlavné prognostické skupiny na podklade klinických výsledkov. Sú jednoduché, lacné a spoľiehajú sa na fyzické vyšetrenie a štandardné laboratórne testy bez potreby ultrazvuku, počítačovej tomografie, resp. zobrazovanie pomocou magnetickej rezonancie (Hallek a kol., 2008).

Tab.č. 4


 <b>Klinické štádiá podľa Raia</b>		
Štádium	Popis	Riziková skupina
0	Lymfocytóza (lymfocyty v krvi $>5 \times 10^9/l$ ; lymfocytóza v kostnej dreni $\geq 30\%$ )	Nízke riziko*
I	Lymfocytóza + lymfadenopatia	Stredné riziko*
II	Lymfocytóza + hepato/splenomegália $\pm$ LAP	
III	Lymfocytóza + anémia (Hb $<110g/l$ ) $\pm$ LAP	Vysoké riziko*
IV	Lymfocytóza + trombocytopenia (Tr $<100 \times 10^9/l$ ) $\pm$ LAP	

**Poznámka:** \*Modifikovaná klasifikácia podľa Rai-a; Lysk, 2018

Poznámka 2:

- Signifikantná lymfadenopatia znamená priemer LU  $> 1$  cm; cytopénie nie sú na imunitnom podklade.
- Prípady spĺňajúce kritériá CLL: 0. štádium podľa Raia s Hgb  $>130$  g/l, s lymfocytózou  $< 30 \times 10^9/l$  a s časom zdvojenia lymfocytov  $>12$  mesiacov zodpovedajú tzv. "tlejúcej" CLL

Tab. č. 5

 <b>Klinické štádiá podľa Bineta</b>		
Štádium	Popis	
A	Postihnutie $< 3$ oblastí LU, Hb $>100g/l$ , Tr $>100 \times 10^9/l$	
B	Postihnutie $\geq 3$ oblastí LU, Hb $>100g/l$ , Tr $>100 \times 10^9/l$	
C	Hb $<100g/l$ , Tr $<100 \times 10^9/l$ a početné postihnutia lymfatických orgánov	

**Poznámka:** Lysk, 2018

Poznámka 2: definícia oblastí v štádiovacom systéme podľa Bineta:

- hlava, krk, Waldeyerov okruh (tu sa zväčšenie viacerých skupín LU pokladá za jednu oblasť),
- axily (postihnutie oboch axíl sa pokladá za jednu oblasť),
- inguíny + trigonum femorale (postihnutie oboch inguín sa pokladá za jednu oblasť),
- palpačne hmatná slezina,
- palpačne hmatná pečeň.

Za posledné desaťročia bolo objavené množstvo nových potenciálnych prognostických markerov poskytujúcich prognostické informácie nezávisle od klinických (Cramer, Hallek, 2011). Patria k nim práve niektoré z vyššie definovaných genetických a chromozomálnych aberácií. Na základe týchto poznatkov bol medzinárodným konzorciom študijných skupín zostavený komplexný prognostický skórovací systém kombinujúci klinické, biologické a genetické informácie, nazývaný *Medzinárodný*


*prognostický index pre pacientov s CLL (CLL-IPI), ktorý stanovuje 5 nezávislých prognostických faktorov (Shanafelt et al. ,2009; Pflug a kol., 2014; International CLL-IPI working group, 2016):*

- status génu *TP53*(17p13) – bez genetickej zmeny vs. mutácia a/alebo delécia génu
- status génu *IGHV*(14q32) – mutované vs. nemutované
- koncentrácia  $\beta_2$  mikroglobulínu v sére (hranica 3-5mg/l)
- klinické štádium (Rai, Binet)
- vek (hranica 65 rokov)

### *Klasifikácia SLL*

Napriek tomu, že rozdiel medzi CLL a SLL spočíva len v prítomnosti periférnej lymfocytózy (kritérium pre CLL  $>5 \times 10^9/l$ ) a v súčasnosti sú chápané ako jedna entita, je pre SLL používaný aj klasifikačný systém lymfómov, pôvodne tzv. dohovor z Ann Arbor (z roku 1971) – dnes modifikovaný ako tzv. Luganská klasifikácia (z roku 2014) založený na rozsahu postihnutia lymfatických uzlín a okolitých orgánov (Cheson a kol., 2014).

Tab. č. 6

 <b>Klasifikácia SLL</b>	
Štádium	Komplikácia
<b>Nerozvinuté</b>	
I.	Jedna lymfatická uzlina alebo skupina priľahlých uzlín
II.	Dve, alebo viac skupín lymfatických uzlín na tej istej strane pobrušnice (v hrudníku, alebo bruchu)
II. rozsiahle	Štádium II. s väčším rozsahom
<b>Rozvinuté</b>	
III.	Postihnutie lymfatických uzlín na oboch stranách pobrušnice Postihnutie lymfatických uzlín v okolí pobrušnice + slezina
IV.	Postihnutie aj ďalších nelymfatických orgánov - multiorgánové postihnutie

**Poznámka:** Cheson a kol., 2014

### ***Charakteristika sledovaných genetických markerov***

*Delécia 13q14* je najfrekvencovanejším genetickým markerom s výskytom v 50-60% prípadoch u všetkých CLL. V tomto regióne sú lokalizované okrem iného dve mikro RNA (miRNA) – miR15A a miR16A, ktoré v normálnych bunkách inhibujú expresiu kľúčových regulátorov apoptózy a bunkového cyklu. V prípade delécie tejto oblasti sa tento inhibičný efekt naruší, čo má za následok výhodu prežívania v prospech B-tumorózných buniek na úkor normálnych a tým vývoj CLL (Calin a kol., 2002; Klein a kol., 2010).



*Delécie dlhého ramena chromozómu 11 (del(11q))* sa nachádzajú u <25% pacientov bez predchádzajúcej chemoterapie s pokročilými štádiami ochorenia a cca u 10% pacientov s ochorením v počiatočnom štádiu (Zenz a kol., 2010; Quesada a kol., 2011). Tieto delécie často zahŕňajú oblasť 11q23 s tumor supresorovým génom *ATM*. Pacienti s del(11q) klonom vykazujú objemnú lymfadenopatiu, rýchly vývoj a skrátené celkové prežívanie (OS),(Döhner a kol., 1997).

*Trizómia chromozómu 12* sa pozoruje u 10-20% pacientov s CLL. Avšak gény zúčastňujúce sa na patogenéze CLL nesúcej trizómiu 12 sú z veľkej časti neznáme. Okrem toho prognostická relevancia trizómie 12 ostáva záležitosťou diskusie. Niektoré štúdie dokázali asociáciu trizómie 12 s mutáciami v géne *NOTCH1* (Balatti a kol., 2012; Cosson a kol., 2014).

*Delécie krátkeho ramena chromozómu 17 (del(17p))* sa vyskytujú u 5-8% pacientov v čase diagnózy bez predchádzajúcej chemoterapie. Tieto delécie takmer vždy zahŕňajú pásmo 17p13, kde je lokalizovaný prominentný tumor supresorový gén *TP53*. Pacienti s CLL nesúci del(17p) klon majú značnú rezistenciu voči genotoxickým chemoterapiám, ktoré nemožno prekonať pridaním anti-CD20 protilátok (Hallek a kol., 2010).

*Mutácie TP53* sa vyskytujú u 4-37% pacientov s CLL a v mnohých štúdiách sa spájali s veľmi zlou prognózou. Väčšina prípadov s potvrdeným del(17p) vykazuje mutácie v zostávajúcej alebo *TP53* (>80%). V prípadoch bez del(17p) sú mutácie *TP53* oveľa zriedkavejšie. Pre pacientov predstavujú abnormality *TP53* (či už vo forme delécie, alebo mutácie) tú najhoršiu prognózu, skrátené prežívanie (3-5-rokov). Dochádza u nich k zlyhávaniu chemoimunoterapie, majú zvýšené riziko progresie ochorenia ako aj transformácie do agresívnejších foriem lymfómu (napr. pri Richterovom syndróme).(Malcikova a kol., 2018; Rossi a kol., 2013; Rossi a kol., 2014; Nadeu a kol., 2016).

*Mutačný status variabilnej oblasti génu pre ťažký imunoglobulínový reťazec (IGHV)* je dôležitý prediktívny biomarker prežívania pacientov. Adaptívny imunitný systém je navrhnutý tak, aby poskytoval dynamickú ochranu proti širokému spektru potenciálnych patogénov. Imunoglobulíny rozpoznávajú cudzie antigény a iniciujú imunitné odpovede, ako je napr. fagocytóza. Každá molekula imunoglobulínu pozostáva z dvoch identických ťažkých reťazcov a dvoch identických ľahkých reťazcov. Oblasť pre zárodočnú organizáciu lokusu ťažkého reťazca zahŕňa segmenty V (variable = variabilný),

D (diversity = rozmanitý), J (joining = spájací) a C (constant = konštantný). Počas normálneho dozrievania B-buniek sa vytvára rekombinácia segmentov V, D a J. Výsledkom týchto rekombinácií je obrovská imunologická diverzita, ktorá je základom imunitnej odpovede. Ďalšia rozmanitosť je dosiahnutá spojovacou rôznorodosťou vyplývajúcou z náhodného pridania alebo odstránenia nukleotidov terminálnou deoxynukleotidyltransferázou a somatickou hypermutáciou, ktorá sa vyskytuje počas dozrievania B-buniek v slezine a lymfatických uzlinách. Zistilo sa, že nemutovaný stav *IGHV* je spojený s horšou prognózou a kratším prežívaním ako jeho mutovaný stav, ale aj s vyššou frekvenciou výskytu ďalších nepriaznivých genetických abnormalít a rezistenciou na

chemoimunoterapiu rovnako ako pri abnormalitách *TP53* (Crombie, Davids, 2017; Damle a kol., 1999; Ghia a kol., 2003; Hamblin a kol., 1999).

Medzi markermi prietokovej cytometrie je CD49d silným prediktívnym faktorom celkového prežívania, resp. prežívania bez terapie. Zvýšená expresia CD49d ( $\geq 30\%$ ) je asociovaná s progresiou ochorenia a koreluje s agresívnejšou biológiou ochorenia (zvýšenou expresiou ZAP-70, alebo CD38, nemutovaným *IGH*, trizómiou chromozómu 12 a so samostatne sa vyskytujúcou deléciou 13q14). Rovnako aj CD38 a/alebo ZAP-70 sa spájajú so skráteným prežívaním a korelujú s nemutovaným *IGHV* (Damle a kol., 1999; Crespo a kol., 2003; Wiestner a kol., 2003; Bulian a kol., 2014; Gooden a kol., 2018).

## Odporúčania pre ďalší audit a revíziu štandardu

Prvý plánovaný audit a revízia tohto štandardného postupu po roku a následne každé 3 roky resp. pri známom novom vedeckom dôkaze o efektívnejšom manažmente diagnostiky alebo liečby a tak skoro ako je možnosť zavedenia tohto postupu do zdravotného systému v Slovenskej republike. Klinický audit a nástroje bezpečnosti pacienta budú doplnené pri 1. revízii.

Indikátormi revízie sú zmeny v Štandardnom diagnosticko-terapeutickom postupe pre CLL/SLL z dôvodu:

- nových postupov pri diagnostike entity CLL/SLL týkajúcich sa genetického testovania,
- definovania nových genetických markerov s prognostickým/prediktívnym významom,
- nových účinnejších metódik a prístupov genetického testovania.

## Literatúra

BALATTI, V. - BOTTONI, A. - PALAMARCHUK, A. – ALDER, H. – RASSENTI, L.Z. – KIPPS, T.J. – PEKARSKY, Y. – CROCE, C.M. 2012. NOTCH1 mutations in CLL associated with trisomy 12. In Blood. 119(2):329-331. URL:<<http://www.bloodjournal.org/content/119/2/329?sso-checked=true>>DOI:10.1182/blood-2011-10-386144

BINET, J.L. – AUQUIER, A. – DIGHIRO, G. - CHASTANG, C. – PIGUET, H. – GOASGUEN, J. – VAUGIER, G. – POTRON, G. – COLONA, P. – OBERLING, F. – THOMAS, M. – TCHERNIA, G. – JACQUILLAT, C. – BOIVIN, P. – LESTY, C. – DUAULT, M.T. – MONCONDUIT, M. – BELABBES, S. – GREMY, F. 1981. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. In Cancer. 48(1):198–206. URL:<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0142%2819810701%2948%3A1%3C198%3A%3AAID-CNCR2820480131%3E3.0.CO%3B2-V>>

BULIAN, P. – SHANAFELT, T.D. – FEGAN, C. – ZUCCHETTO, A. – CRO, L. – NÜCKEL, H. – BALDINI, L. – KURTOVA, A. – FERRAJOLI, A. – BURGER, J.A. – GAIDANO, G. – POETA, G. - PEPPER, C. – ROSSI, D. – GATTEI, V. 2014. CD49d is the strongest flow cytometry-based predictor of overall survival in chronic lymphocytic leukemia. In J Clin Oncol. 32(9):897-904. DOI:10.1200/JCO.2013.50.8515. URL:<<https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2013.50.8515>>

CALIN, G.A. - DUMITRU, C.D. – SHIMIZU, M. – BICHI, R. – ZUPO, S. – NOCH, E. – ALDLER, H. – RATTAN, S. – KEATING, M. – RAI, K. – RASSENTI, L. – KIPPS, T. – NEGRINI, M. – BULLRICH, F. –

CROCE, C.M. 2002. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. In Proc Natl Acad Sci U S A. 99(24):15524-15529. DOI: 10.1073/pnas.242606799. URL:<<https://www.pnas.org/content/99/24/15524.long>>

CHESON, B.D. - FISHER, R.I. - BARRINGTON, S.F. – CAVALLI, F. – LAWRENCE, H.S. – ZUCCA, E. – LISTER, T.A. 2014. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: The Lugano classification. In J Clin Oncol. 32(27):3059-67. DOI:10.1200/JCO.2013.54.8800. URL:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4979083/>>

COSSON, A., - CHAPIRO, E. - BELHOUACHI, N. - CUNG, H.A. – KEREN, B. - DAMM, F. - ALGRIN, C. - LEFEBVRE, C. - FERT-FERRER, S. - LUQUET, I. - GACHARD, N. - MUGNERET, F. - TERRE, C. - COLLONGE-RAME, M.A. - MICHAUX, L. - RAFDORD-WEISS, I. - TALMANT, P. - VERONESE, L. - NADAL, N. - STRUSKI, S. - BARIN, C. - HELIAS, C. - LAFAGE, M. - LIPPERT, E. - AUGER, N. - ECLACHE, V. - ROOS-WEIL, D. - LEBLOND, V. - SETTEGRANA, C. - MALOUM, K. - DAVI, F. - MERLE-BERAL, H. - LESTY, C. - NGUYEN-KHAC, F. - GROUPE FRANCOPHONE de CYTOGÉNÉTIQUE HÉMATOLOGIQUE. 2014. 14q deletions are associated with trisomy 12, NOTCH1 mutations and unmutated IGHV genes in chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma. In Genes Chromosomes Cancer. 53(8):657-66. DOI: 10.1002/gcc.22176. URL:<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/gcc.22176>>

CRAMER, P. - HALLEK, M. 2011. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia-what do we need to know?. In Nat Rev Clin Oncol. 8: 38–47. DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.167. URL:<<https://www.nature.com/articles/nrclinonc.2010.167>>

CRESPO, M. - BOSCH, F. - VILLAMOR, N. - BELLOSILLO, B. - COLOMER, D. - ROZMAN, M. - MARCÉ, S. - LÓPEZ-GUILLERMO, A. - CAMPO, E. - MONTSERRAT, E. 2003. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. In N Engl J Med. 348(18):1764-1775. DOI: 10.1056/NEJMoa023143. URL:<[https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa023143?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3dwww.ncbi.nlm.nih.gov](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa023143?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dwww.ncbi.nlm.nih.gov)>

CROMBIE, J. – DAVIDS, M.S. 2017. IGHV mutational status testing in chronic lymphocytic leukemia. In Am J Hematol. 92(12):1393-1397. DOI: 10.1002/ajh.24808. URL:<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.24808>>

DAMLE, R.N. – WASIL, T. – FAIS, F. – GHIOTTO, F. – VALETTO, A. – ALLEN, S.L. – BUCHBINDER, A. – BUDMAN, D. – DITTMAR, K. – KOLITZ, J. – LICHTMAN, S.M. – SCHULMAN, P. – VINCIGUERRA, V.P. – RAI, K.R. – FERRARINI, M. – CHIORAZZI, N. 1999. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. In Blood. 94(6):1840-47. URL:<<http://www.bloodjournal.org/content/94/6/1840.full.html>>

DÖHNER, H. – STILGENBAUER, S. – JAMES, M.R. – BENNER, A. – WEILGUNI, T. – BENTZ, M. – FISCHER, K. – HUNSTEIN, W. – LICHTER, P. 1997. 11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. In Blood. 89(7):2516–2522. URL:<<http://www.bloodjournal.org/content/89/7/2516.long?sso-checked=true>>

EICHHORST, B. - ROBAK, T. - MONTSERRAT, E. - GHIA, P. - HILLMEN, P. - HALLEK, M. - BUSKE, C.- ESMO Guidelines Committee. 2015. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. In Annals of Oncology. 26(Issue suppl\_5):v78–v84. DOI:10.1093/annonc/mdv303. URL:<[https://academic.oup.com/annonc/article/26/suppl\\_5/v78/345065](https://academic.oup.com/annonc/article/26/suppl_5/v78/345065)>

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](http://www.acgs.uk.com/media/1025065/acgs_sanger_sequencing_bpg_update_2016.pdf)>

FABBRI, G. - RASI, S. - ROSSI, D. - TRIFONOV, V. - KHIABANIAN, H. - MA, J. - GRUNN, A. - FANGAZIO, M. - CAPELLO, D. - MONTI, S. - CRESTA, S. - GARGIULO, E. - FORCONI, F. - GUARINI, A. - ARCAINI, L. - PAULLI, M. - LAURENTI, L. - LAROCCA, L. M. - MARASCA, R. - GATTEI, V. - OSCIER, D. - BERTONI, F. - MULLIGHAN, C.G. - FOÁ, R. - PASQUALUCCI, L. - RABADAN, R. - DALLA-FAVERA, R. - GAIDANO, G. 2011. Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. In *J Exp Med*. 208(7): 1389-1401. DOI: 10.1084/jem.20110921. URL:<<http://jem.rupress.org/content/208/7/1389.long>>

GHIA, P. - GUIDA, G. - STELLA, S. - GOTTARDI, D. - GEUNA, M. - STROLA, G. - SOIELZO, C. - CALIGANIS-CAPPI, F. 2003. The pattern of CD38 expression defines a distinct subset of chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients at risk of disease progression. In *Blood* 101:1262-1269; DOI: 10.1182/blood-2002-06-1801 URL: <<http://www.bloodjournal.org/content/101/4/1262>>

GHIA, P. - STAMATOPOULOS, K. - BELESSI, C. - MORENO, C. - STILGENBAUER, S. - STEVENSON, F. - DAVI, F. - ROSENQUIST, R. - European Research Initiative on CLL (ERIC). 2007. ERIC recommendations on IGHV gene mutational status analysis in Chronic lymphocytic leukemia. In *Leukemia*. 21: 1-3. DOI: 10.1038/sj.leu.2404457. URL:<<https://www.nature.com/articles/2404457>>

GOODEN, C.E. - JONES, P. - BATES, R. - SHALLENBERGER, W.M. - SURTI, U. - SWERDLOW, S.H. - ROTH, C.G. 2018. CD49d shows superior performance characteristics for flow cytometric prognostic testing in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. In *Cytometry B Clin Cytom*. 94(1):129-135. DOI: 10.1002/cyto.b.21384. URL:<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/cyto.b.21384>>

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>>

HALLEK, M. - CHESON, B.D. - CATOVSKY, D. - CALIGARIS-CAPPIO, F. - DIGHIERO, G. - DÖHNER, H. - HILLMEN, P. - KEATING, M.J. - MONTSERRAT, E. - RAI, K.R. - KIPPS, T.J. 2008. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. In *Blood*. 111(12): 5446-5456. DOI: 10.1182/blood-2007-06-093906. URL:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2972576/>>

HALLEK, M. - FISCHER, K. - FINGERLE-ROWSON, G., - FINK, AM. - BUSCH, R. - MAYER, J. - HENSEL, M. - HOPFINGER, G. - HESS, G. - von GRÜNHAGEN, U. - BERGMANN, M. - CATALANO, J. - ZINZANI, P.L. - CALIGARIS-CAPPIO, F. - SEYMOUR, JF. - BERREBI, A. - JÄGER, U. - CAZIN, B. - TRNENY, M. - WESTERMANN, A. - WENDTNER, C.M. - EICHHORST, B.F. - STAIB, P. - BÜHLER, A. - WINKLER, D. - ZENZ, T. - BÖTTCHER, S. - RITGEN, M. - MENDILA, M. - KNEBA, M. - DÖHNER, H. - STILGENBAUER, S. - INTERNATIONAL GROUP OF INVESTIGATORS - GERMAN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKAEMIA STUDY GROUP. 2010. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. In *Lancet*. 376: 1164-1174. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61381-5. URL:<[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(10\)61381-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(10)61381-5/fulltext)>.

Hallek, M. 2017. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification and treatment. In *Am J Hematol.* 92(9): 946–965. DOI: 10.1002/ajh.24826. URL:<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ajh.24826>>

HAMBLIN, T.J. - DAVIS, Z. - GARDINER, A. - OSCIER, D.G. - STEVENSON, F.K. 1999. Unmutated Ig VH Genes Are Associated With a More Aggressive Form of Chronic Lymphocytic Leukemia. In *Blood* 94:1848-1854; URL: <[www.bloodjournal.org/content/94/6/1848](http://www.bloodjournal.org/content/94/6/1848)>

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. URL:<[http://www.e-c-a.eu/files/downloads/guidelines/e.c.a.\\_general\\_guidelines\\_version-2.0.pdf](http://www.e-c-a.eu/files/downloads/guidelines/e.c.a._general_guidelines_version-2.0.pdf)>

INTERNATIONAL CLL-IPI WORKING GROUP. 2016. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. In *Lancet Oncol.* 17(6):779-790. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30029-8. URL:<[https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(16\)30029-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(16)30029-8/fulltext)>

KLEIN, U. – LIA, M. - CRESPO, M. – SIEGEL, R. – SHEN, Q. – MO, T. – AMBESI-IMPIOMBATO, A. – CALIFANO, A. – MIGLIAZZA, A. – BHAGAT, G. – DALLA-FAVERA, R. 2010. The DLEU2/miR-15a/16-1 cluster controls B cell proliferation and its deletion leads to chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell.* 17(1):28–40. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.11.019. URL:<[https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(09\)00419-X](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(09)00419-X)>

LANGERAK, A.W. – DAVI, F. – GHIA, P. – HADZIDIMITRIOU, A. – MURRAY, F. – POTTER, K.N. - ROSENQUIST, R. – STAMATOPOULOS, K. – BELESSI, C. - European Research Initiative on CLL (ERIC). 2011. Immunoglobulin sequence analysis and prognostication in CLL: guidelines from the ERIC review board for reliable interpretation of problematic cases. In *Leukemia.* 25(6): 979-984. DOI: 10.1038/leu.2011.49. URL:<<https://www.nature.com/articles/leu201149>>

MALCIKOVA, J. – TAUSCH, E. – ROSSI, D. – SUTTON, L.A. – SOUSSI, T. – ZENZ, T. – KATER, A.P. – NIEMANN, C.U. – GONZALEZ, D. - DAVI, F. – GONZALEZ DIAZ, M. – MORENO, C. – GAIDANO, G. - STAMATOPOULOS, K. - ROSENQUIST, R. - STILGENBAUER, S. – GHIA, P. – POSPISILOVA, S. - European Research Initiative on Chronic Lymphocytic Leukemia(ERIC) — TP53 network. 2018. ERIC recommendations for TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia – update on methodological approaches and results interpretation. In *Leukemia.* 32(5): 1070-1080. DOI: 10.1038/s41375-017-0007-7. URL:<<https://www.nature.com/articles/s41375-017-0007-7>>

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.

MUTHUSAMYA, N. – BREIDENBACHB, H. - ANDRITSOSA, L. – FLYNNA, J. – JONESA, J. – RAMANUNNIA, A. – MOC, X. – JARJOURAC, D. – BYRDA, J.C. – HEEREMAB, N.A. 2011. Enhanced detection of chromosomal abnormalities in chronic lymphocytic leukemia by conventional cytogenetics using CpG oligonucleotide in combination with pokeweed mitogen and phorbol myristate acetate. In *Cancer Genet.* 204(2):77-83. DOI: 10.1016/j.cancergen.2010.12.006. URL:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3073597/>>

NADEU, F. - DELGADO, J. - ROYO, C. - BAUMANN, T. - STANKOVIC, T. - PINYOL, M. - JARES, P. - NAVARRO, A. - MARTIN-GARCIA, D. - BEA, S. -SALAVERRIA, I. - OLDREIVE, C. - AYMERICH, M. - SUAREZ-CISNEROS, H. - ROZMAN, M. - VILAMOR, N. - COLOMER, D. - LOPEZ-GUILERMO, A.

- GONZALEZ, M. - ALCOCEBA, M. - TEROL, M.J. - COLADO, E. PUENTE, X.S. - LOPEZ-OTIN, C. - ENJUANES, A. - CAMPO, E. 2016. Clinical impact of clonal and subclonal TP53, SF3B1, BIRC3, NOTCH1, and ATM mutations in chronic lymphocytic leukemia. In *Blood* 127:2122-2130; DOI: 10.1182/blood-2015-07-659144 URL: <[www.bloodjournal.org/content/early/2016/02/02/blood-2015-07-659144](http://www.bloodjournal.org/content/early/2016/02/02/blood-2015-07-659144)>

NÁRODNÉ CENTRUM ZDRAVOTNÍCKYCH INFORMÁCIÍ. Medzinárodná klasifikácia chorôb – MKCH-10-SK-2016. Revízia 10. Bratislava: Národné centrum zdravotníckych informácií. 2018, október 1. >

PFLUG, N. - BAHLO, J. - SHANAFELT, T.D. - EICHHORST, B.F. – BERGMANN, M.A. - ELTER, T. – BAUER, K. – MALCHAU, G. – RABE, K.G. – STILGENBAUER, S. - DÖHNER, H. - JÄGER, U. – ECKHART, M.J. – HOPFINGER, G. – BUSCH, R. – FINK, A.M. – WENDTNER, C.M. – FISCHER, K. – KAY, N.E., HALLEK, M. 2014. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. In *Blood*. 124:49–62. DOI: 10.1182/blood-2014-02-556399. URL:<<http://www.bloodjournal.org/content/124/1/49.long?sso-checked=true>>

POSPISILOVA, S. – GONZALEZ, D. – MALCIKOVA, J. – TRBUSEK, M. – ROSSI, D. – KATER, A.P. – CYMBALISTA, F. – EICHHORST, B. – HALLEK, M. - DÖHNER, H. – HILLMEN, P. – van OERS, M. – GRIBBEN, J. – GHIA, P. – MONTSERRAT, E. – STILGENBAUER, S. – ZENZ, T. - European Research Initiative on CLL (ERIC). 2012. ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia. In *Leukemia*. 26(7): 1458-1461. DOI: 10.1038/leu.2012.25. URL:<<https://www.nature.com/articles/leu201225>>

QUESADA, V. – CONDE, L. – VILLAMOR, N. – ORDÓÑEZ, G.R. – JARES, P. – BASSAGANYAS, L. – RAMSAY, A.J. – BEÀ, S. – PINYOL, M. – MARTÍNEZ-TRILLOS, A. – LÓPEZ-GUERRA, M. – COLOMER, D. – NAVARRO, A. – BAUMANN, T. – AYMERICH, M. – ROZMAN, M. – DELGADO, J. – GINÉ, E. – HERNÁNDEZ, J.M. – GONZÁLEZ-DÍAZ, M. – PUENTE, D.A. – VELASCO, G. – FREJE, J.M. – TUBÍO, J.M. – ROYO, R. – GELPÍ, J.L. – OROZCO, M. – PISANO, DG. – ZAMORA, J. – VÁZQUEZ, M. – VALENCIA, A. – HIMMELBAUER, H. – BAYÉS, M. – HEATH, S. – GUT, M. – GUT, I. – ESTIVILL, X. – LÓPEZ-GUILLERMO, A. – PUENTE, X.S. – CAMPO, E. – LÓPEZ-OTÍN, C. 2011. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. In *Nat Genet*. 44(1):47–52. DOI: 10.1038/ng.1032. URL:<<https://www.nature.com/articles/ng.1032>>.

RAI, K.R. – SAWITSKY, A. – CRONKITE, E.P. – CHANANA, A.D. – LEVY, R.N. – PASTERNAK, B.S. 1975. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. In *Blood*. 46(2):219-234. URL:<<http://www.bloodjournal.org/content/46/2/219.long?sso-checked=true>>

RAI, K.R. – GUPTA, N. 2004. Staging of chronic lymphocytic leukemia. In: Faguet G.B. (eds) *Chronic Lymphocytic Leukemia. Contemporary Hematology*. Totowa, NJ: Humana Press, p. 193-199. Print ISBN 978-1-61737-355-8. Online ISBN 978-1-59259-412-2. DOI:<[https://doi.org/10.1007/978-1-59259-412-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-59259-412-2_10)>.

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/>>

ROSENQUIST, R. – GHIA, P. – HADZIDIMITRIOU, A. – SUTTON, L.A. – AGATHANGELIDIS, A. – BALIAKAS, P. – DARZENTAS, N. – GIUDICELLI, V. – LEFRANC, M.P. – LANGERAK, A.W. – BELESSI, C. – DAVI, F. – STAMATOPOULOS, K. 2017. Immunoglobulin gene sequence analysis in chronic lymphocytic leukemia: updated ERIC recommendations. In *Leukemia*. 31(7): 1477-1481. DOI: 10.1038/leu.2017.125. >

ROSSI, D. - RASI, S. - SPINA, V. - FANGAZIO, M. - MONTI, S. - GRECO, M. - FAMA, R. - CRESTA, S. - BRUSCAGGIN, A. - LAURENTI, L. - MARTINI, M. - MUSTO, P. - FORCONI, F. - MARASCA, R. - LARocca, L.M. - FOA, R. - GIADANO, G. 2012. Different impact of NOTCH1 and SF3B1 mutations on the risk fo chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. In *Br. J. Haematol.* 158: 426-429. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09155.x URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/toc/13652141/2012/158/3>

ROSSI, D. - RASI, S. - SPINA, V. - BRUSCAGGIN, A. - MONTI, S. - CIARDULLO, C. - DEAMBROGI, C. - KHIABANIAN, H. - SERRA, R. - BERTINI, F. - FORCONI, F. - LAURENTI, L. - MARASCA, R. - DALBO, M. - ROSSI, F.M. - BULIAN, P. - NOMDEDEU, J. - Del POETA, G. - GATTEI, V. - PAQUALUCCI, L. - RABADAN, R. - FOA, R. DALLA-FAVER, R. - GAIDANO, G. 2013. Integrated mutational and cytogenetic analysis identifies new prognostic subgroups in chronic lymphocytic leukemia. In *Blood.* 121(8): 1403-1412. DOI: 10.1182/blood-2012-09-458265. URL: <http://www.bloodjournal.org/content/121/8/1403>

ROSSI, D. - KHIABANIAN, H. - SPINA, V. - CIARDULLO, C. - BRUSCAGGIN, A. - FAMA, R. - RASI, S. - MONTI, S. - DEAMBROGI, C. - De PAULI, L. - WANG, J. - GATTEI, V. - GUARINI, A. - FOA, R. - RABADAN, R. - GIADANO, G. 2014. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. In *Blood* 123:2139-2147; DOI: 10.1182/blood-2013-11-539726. URL: <http://www.bloodjournal.org/content/123/14/2139>

SHANAFELT, T.D. - JENKINS, G. - CALL ,T.G. - ZENT, C.S. - SLAGER, S. – BOWEN, D.A. – SCHWAGER, S. - HANSON, C.A. – JELINEK, D. F. – KAY, N.E. 2009. Validation of a new prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). In *Cancer.* 115(2):363–372. DOI: 10.1002/cncr.24004. URL:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2629134/>>

LYSK – LYMFÓMOVÁ SKUPINA SLOVENSKA. 2018. Stratégia liečby malígnych lymfómov. Princípy klasifikácie, diagnostiky a liečby malígnych lymfómov. Lymfómová skupina Slovenska. Tretie, doplnené a prepracované vydanie, marec 2018. In *Onkol. Supl.* 1/2018. URL:<<http://www.solen.sk/pdf/ca3d1ed5b9d74a2953a2c6e208493bcf.pdf>>

van DONGEN, J.J.M. – LANGERAK, A.W. – BRÜGGEMANN, M. – EVANS, P.A.S. – HUMMEL, M. – LAVENDER, F.L. – DELABESSE, E. – DAVI, F. – SCHUURING, E. – GARCÍA-SANS, R. – van KRIEKEN, J.H.J.M. – DROESE, J. – GONZÁLEZ, D. – BASTARD, C. – WHITE, H.E. – SPAARGAREN, M. – GONZÁLEZ, M. – PARREIRA, A. – SMITH, J.L. – MORGAN, G.J. – KNEBA, M. – MACINTYRE, E.A. 2003. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. In *Leukemia.* 17: 2257-2317. DOI: 10.1038/sj.leu.2403202. URL:<<https://www.nature.com/articles/2403202>>

WIESTNER, A. – ROSENWALD, A. – BARRY, T.S. – WRIGHT, G. – DAVIS, R.E. – HENRICKSON, S.E. – ZHAO, H. – IBBOTSON, R.E. – ORCHARD, J.A. – DAVIS, Z. – STETLER-STEVENSON, M. – RAFFELD, M. – ARTHUR, D.C. – MARTI, G.E. – WILSON, W.H. – HAMBLIN, T.J. – OSCIER, D.G. – STAUDT,L.M. 2003. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. In *Blood.* 101(12):4944-4951. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2002-10-3306> URL:<<http://www.bloodjournal.org/content/101/12/4944.long?sso-checked=true>>

ZELENETZ, A.D. - GORDON, L.I. - WIERDA, W.G. et al. Non-Hodgkin's lymphomas, version 4.2014. *J Natl Compr Canc Netw.* 2014;12:1282–1303.

ZENZ, T. – MERTENS, D. – KÜPPERS, R. - DÖHNER, H. - STILGENBAUER, S. 2010. From pathogenesis to treatment of chronic lymphocytic leukaemia. In *Nat Rev Cancer.* 10:37–50. DOI: 10.1038/nrc2764. URL:<<https://www.nature.com/articles/nrc2764>>.

Výnos Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 09812/2008-OL z 10. septembra 2008 o minimálnych požiadavkách na personálne zabezpečenie a materiálno-technické vybavenie jednotlivých druhov zdravotníckych zariadení, Vestník MZ SR, Ročník 56, Čiastka 32-51, 2008

Zákon č. 461/2003 Z. z. o sociálnom poistení v znení neskorších predpisov

**Poznámka:**

*Ak klinický stav a osobitné okolnosti vyžadujú iný prístup k manažmentu diagnostiky ako uvádza tento štandardný postup, je možný aj alternatívny postup, ak sa vezmú do úvahy ďalšie vyšetrenia, komorbidity alebo súvisiace okolnosti, teda odlišný 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 15. januára 2020.

**Andrea Kalavská, v. r.  
ministerka**