

Molekulárna diagnostika vrodenej neutropénie

Veronika Medová¹, Andrea Šoltýsová^{1,2}, Ľudevít Kádaši^{1,2}, Andrej Ficek²

¹Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

²Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

Vrodená neutropénia predstavuje skupinu ochorení v rámci primárnych imunodeficiencií, ktorá je charakterizovaná nízkym počtom neutrofilov, pričom viaceré typy môžu mať syndrómový charakter s výskytom rôznych extrahematologických znakov. Vzhľadom na klinickú i genetickú variabilitu vrodenej neutropénie, s ktorou je v súčasnosti asociovaných viac ako 50 génov, sa v molekulárnej diagnostike dostávajú do popredia najmä techniky sekvenovania novej generácie. Tie, či už vo forme panelov, celoexómového, či celogenómového sekvenovania, umožňujú cenovo i časovo účinnú diagnostiku aj identifikáciu nových génov spojených so vznikom neutropénií. I keď na porovnanie diagnostickej účinnosti jednotlivých spomenutých prístupov nie je dostatok dát, dostupné štúdie ukazujú, že v súčasnosti ide o najúčinnější diagnostický prístup pri genotypovo i fenotypovo heterogénnych ochoreniach, ako je neutropénia.

Kľúčové slová: neutropénia, molekulárna genetika, *ELANE*, sekvenovanie novej generácie, WES

Molecular diagnosis of congenital neutropenia

Congenital neutropenia is a group of primary immunodeficiency disorders characterized by a low neutrophil count, which may be syndromic with the presence of various extrahematological features. Due to the clinical and genetic heterogeneity of congenital neutropenia, currently associated with more than 50 genes, next-generation sequencing techniques are at the forefront of the molecular diagnosis of neutropenia. In the form of panel, whole exome or whole genome sequencing, these techniques enable cost-effective and time-efficient diagnostics and the identification of new genes associated with the development of neutropenia. Although there are not enough data to compare the diagnostic yield of these approaches, available studies currently show it as the most effective diagnostic approach for genotypic and phenotypic heterogeneous diseases, such as neutropenia.

Keywords: neutropenia, molecular genetics, *ELANE*, next-generation sequencing, WES

NewsLab, 2021; roč. 12 (1): 32 – 36

Úvod

Molekulárna diagnostika zriedkavých vrodenej ochorení sa každý rok zlepšuje, k čomu najmä posledné desaťročie prispievajú techniky sekvenovania novej generácie (NGS, *next generation sequencing*). Napriek tomu efektivita alebo tzv. diagnostický účinok dosahuje celkovo pri mnohých vrodenej ochoreniach aj s využitím NGS asi len 25 %⁽¹⁾. Vrodenej poruchy imunity sú skupinou ochorení, kde sa NGS vzhľadom na genetickú variabilitu využíva často. Do tejto skupiny ochorení patrí i vrodená neutropénia, ktorá je charakterizovaná redukciami absolútneho počtu neutrofilov (ANC, *absolute neutrophil count*) v periférnej krvi, ktorú radíme k poruchám fagocytov. Neutropénia je často klinicky asymptomatická až do momentu, keď sa u pacienta začne prejavovať rekurentnými infekciami, ktoré mnohokrát vedú k chronickým, závažným až život ohrožujúcim stavom⁽²⁾.

Vrodená neutropénia

Neutropénia je relatívne častým nálezom u približne 1 % populácie, pričom v niektorých populáciách môže jej výskyt dosahovať až 8 %. Vrodená forma neutropénie sa vyskytuje u menej ako 1/100 000 ľudí, čo tvorí približne 1 z 1 000 prípadov všetkých neutropénií⁽³⁾. Z analýzy dát zozbieraných Medzinárodným registrom závažných chronických neutropénií (SCNIR, *Severe Chronic Neutropenia International Registry*) sa prevalencia vrodenej a idiopatickej neutropénie pohybovala

v štátoch prispievajúcich do registra v rozmedzí od 0,006 až po 8,5 prípadu na milión obyvateľov s priemerom 1,65. Slovensko v tom čase do registra neprispievalo i keď v súčasnosti je partnerom tejto organizácie⁽³⁾. Monogénová kongenitálna neutropénia predstavuje klinicky a geneticky veľmi heterogénnu skupinu, pričom toto označenie sa vzťahuje na chronickú závažnú neutropéniu bez iných abnormalít, tzv. izolovanú, nesyndrómovú neutropéniu, ako aj na syndrómové genetické ochorenia spojené s rôznymi extrahematologickými fenotypovými prejavmi⁽⁴⁾. Neutropénia sa zároveň môže vyskytovať pri iných ochoreniach imunitného systému postihujúcich napríklad získanú imunitu ako ich pridružený prejav alebo ako súčasť klinického obrazu zlyhania kostnej drene⁽⁵⁾.

Genetika vrodenej neutropénie

Závažná kongenitálna neutropénia (SCN, *severe congenital neutropenia*) sa prejavuje ako chronické alebo intermitentné ochorenie, pričom pacienti, ktorí ňou trpia, majú zároveň sklon k rozvoju akútnej myeloidnej leukémie (AML) a myelodysplázie (MDS)⁽⁶⁾. S izolovanou formou ochorenia je doposiaľ spojených viacero génov (**tabuľka 1**), z ktorých najvýznamnejší je gén *ELANE*, ktorého mutácie sú zodpovedné približne až za 40 % prípadov ťažkej vrodenej neutropénie (**obrázok 1**) a vyše 50 % prípadov cyklickej neutropénie charakterizovanej osciláciou počtu neutrofilov zvyčajne v 21-dňových cykloch⁽⁷⁾. V súčasnosti je známych takmer 200 rôznych

Tabuľka 1. Zoznam izolovaných neutropénií a syndrómových neutropénií^(4,5,13,15)

Gén	Syndróm	Dedičnosť	Extrahematologické znaky
IZOLOVANÉ NEUTROPÉNIE			
ELANE	SCN1	AD	-
GFI1	SCN2	AD	-
HAX1	SCN3	AR	-
G6PC3	SCN4	AR	-
VPS45	SCN5	AR	-
JAGN1	SCN6	AR	Osteopénia
CSF3R	SCN7	AR	-
SRP54	SCN8	AD	Exokrinná pankreatická insuficiencia
WAS	X-viazaná SCN	XR	-
TCIRG1	TCIRG1 neutropénia	AD	Osteopetróza
CXCR2	CXCR2 chronická neutropénia	AR	Exokrinná pankreatická deficiencia
SYNDRÓMOVÉ NEUTROPÉNIE			
SBDS	Shwachmanov-Diamondov syndróm	AD	Exokrinná pankreatická insuficiencia, chondrodysplázia
SLC37A4	Porucha ukladania glykogénu	AR	Laktátová acidóza, hyperlipidémia
TAZ	Barthov syndróm	XR	Kardiomyopatia, retardácia rastu
VPS13B	Cohenov syndróm	AR	Mentálna retardácia, obezita, hluchota
CXCR4	WHIM	AD	Bradavice
GATA2	GATA2 deficiencia	AD	Lymfedéma, hluchota
AP3B1	Hermanského-Pudlakov syndróm	AR	Parciálny albinizmus, pulmonálna fibróza
LAMTOR2	p14 deficiencia	AR	Parciálny albinizmus, growth failure
USB1	Poikiloderma s neutropéniou	AR	Retinopatia, vývojové zaostávanie
LYST	Chediakov-Higashiho syndróm	AR	Parciálny albinizmus, neurologická dysfunkcia
RAB27A	Griscelliho syndróm typ 2	AR	Parciálny albinizmus
AP3D1	Hermanského-Pudlakov syndróm typ 10	AR	Okulokutánný albinizmus, hluchota
EIF2AK3	Wolcottov-Rallisonov syndróm	AR	Neonatálny diabetes dependentný od nzulínu
TCN2	Transkobalamín 2 deficiencia	AR	Mentálne postihnutie
EFL1	Syndróm typu Shwachman-Diamond	AR	-
CLPB	Metylglytakonická acidúria	AR	Neurovývojové poruchy, katarakta, IUGR
CEBPE	Deficiencia špecifických granúl	AR	-
SMARCD2	Deficiencia špecifických granúl 2	AR	Vývojové poruchy
RMRP	Hypoplázia vlasov a chrupky	AR	Krátke končatiny, jemné a riedke vlasy
GINS1	GINS1 deficiencia	AR	IUGR
MTHFD1	MTHFD1 deficiencia	AR	Záchvaty, postihnutie intelektu
PSTPIP1	PAMI	AD	Hepatosplenomegália, neprosperovanie
WDR1	WDR1 deficiencia	AR	Zlé hojenie rán, závažná stomatitída
MKL1	MKL1 deficiencia	AR	-
PGM3	PGM3 deficiencia	AR	Nízky vzrast, brachydaktýlia
IVD	Izovalerická acidémia	AR	Acidóza, ketóza
MMUT	Metylmalonická acidúria	AR	Závažná metabolická dekompenzácia, poškodenie kostrových svalov a pečene
PCCA	Propionikacidémia	AR	
PCCB	Propionikacidémia	AR	
GATA1	Anémia s neutropéniou a bez nej	XR	-
DNM2	Charcotov-Marieho-Toothov syndróm s neutropéniou	AD	Centronukleárna myopatia
MGCA8	3-metylglytakonická acidúria	AR	Hypotónia, respiračná nedostatočnosť
LMBRD1	Metylmalonová acidúria a homocystinúria	AR	Vývojové zaostávanie
mtDNA _{del}	Pearsonov syndróm	mt	Exokrinná pankreatická insuficiencia
AK2	AK2 deficiencia	AR	Hluchota
RAC2	Aktivovaný RAC2 defekt	AD	-
CD40LG	CD40LG deficiencia	XR	Hepatitída, periférne neuroektodermálne tumory
CD40	CD40 deficiencia	AR	-
ICOSLG	ICOSL deficiencia	AR	-
STK4	STK4 deficiencia	AR	Vrodené poruchy srdca
MSN	Moezínová deficiencia	XR	-
TFRC	TFRC deficiencia	AR	-
TNFSF12	TWEAK deficiencia	AD	-
IRAK4	IRAK4 deficiencia	AR	-
MYD88	MyD88 deficiencia	AR	-
SEC61A1	Tubulointerstitial kidney disease	AD	Chronické ochorenie obličiek, IUGR

ZLYHANIA KOSTNEJ DRENE

FANCA, FANCB, FANCC, BRCA2, FANCD2, FANCE, FANCF, XRCC9, FANCI, BRIP1, FANCL, FANCM, PALB2, RAD51C, SLX4, ERCC4, RAD51, BRCA1, UBE2T, XRCC2, MAD2L2, RFW3, SAMD9	Fanconiho anémia typ A, B, C, D1, D2, E, F, G, I, J, L, M, O, P, Q, R, S, T, U, V, W	AD, AR, XR	Nízky vzrast, hyper/hypopigmentácia, faciálny dysmorfizmus, srdcové anomálie, CNS anomálie
DKC1, TERC, TERT, TIN2, RTEL1, ACD, NOLA2, NOLA3, WRAP53, PARN, ACD	Dyskeratosis congenital	AD, AR, XR	Dystrofia nechytov, abnormality kožnej pigmentácie, orálna leukoplakia, pulmonálna fibróza, vaskulárne abnormality
SAMD9L	Ataxia pancytopénia syndróm	AD	Neurologické zmeny
SAMD9	MIRAGE	AD	IUGR, gonadálne abnormality

AD – autozomálne dominantná dedičnosť, AR – autozomálne recesívna dedičnosť, XR – X-viazaná recesívna dedičnosť, IUGR – retardácia intrauterinného rastu

mutácií v tomto géne⁽⁸⁾ a každý rok pribúdajú nové varianty vrátane variantov vo forme mozaiky⁽⁹⁾. Ďalším z asociovaných génov je *HAX1*, ktorého mutácie spôsobujú vznik autozomálne recesívnej formy SCN, nazývanej aj Kostmannov syndróm, ktorý bol prvýkrát zaznamenaný u švédskej konsangvinačnej rodiny⁽¹⁰⁾. Aj keď je výskyt zriedkavého Kostmannovho syndrómu častejší u pacientov z konsangvinačných rodín, nie je na ne obmedzený a jeho incidencia je vzhľadom na autozomálne recesívny charakter a rôznu frekvenciu *HAX1* mutácií geograficky a etnicky závislá. V populáciách s vyššou mierou konsangvinačných manželstiev môžu byť *HAX1* varianty zodpovedné dokonca za viac SCN prípadov ako *ELANE*. Mutácie v iných génoch sú vo vzťahu k vzniku izolovanej kongenitálnej neutropénie identifikované vo výrazne menšej miere (**obrázok 1**). Navyše gény, ktorých varianty spôsobujú rôzne mierne alebo adultné formy ochorenia, ako je napríklad adultná neutropénia s monocytózou⁽¹¹⁾,

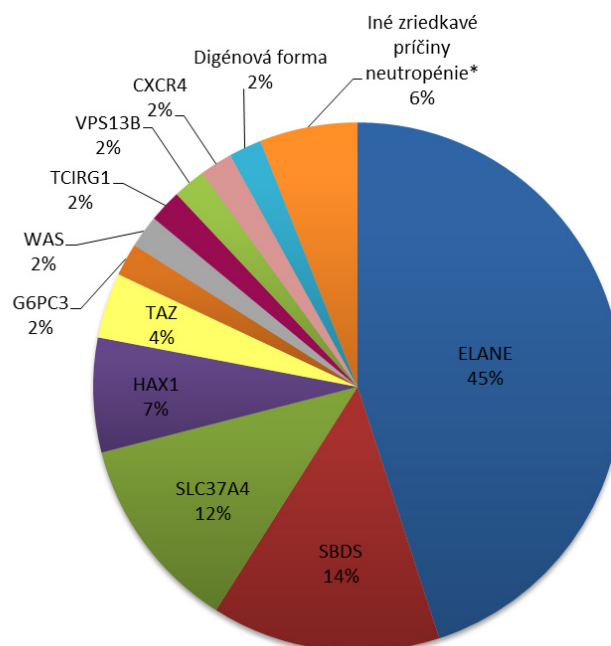
znižujú záchytnosť samotného ochorenia a tým aj možnosť identifikácie molekulárnej príčiny.

Syndrómové neutropénie sú ochorenia spojené s poruchami metabolizmu, vezikulového transportu, imunologických funkcií či s ribozómovou dysfunkciou, ktorých spoločným prejavom je neutropénia⁽¹²⁾. Ide o monogénovo podmienené syndrómy s rôznym typom dedičnosti a ich vznik je spájaný s variantmi vo viac ako 30 rôznych génoch (**tabuľka 1**). Najčastejšie sa vyskytujúcou syndrómovou neutropéniou je Shwachmanov-Diamondov syndróm (SDS), multiorgánové ochorenie spôsobené variantmi v géne *SBDS*. Varianty v tomto géne sú zároveň po mutáciách v géne *ELANE* druhou najčastejšou príčinou závažnej kongenitálnej neutropénie (izolovanej i syndrómovej) a sú zodpovedné za 14 % ťažkých vrodených neutropénií (**obrázok 1**)⁽¹³⁾. Vznik závažnej vrodenej neutropénie je výrazne spájaný aj s variantmi v géne *SLC37A4* spôsobujúcimi vznik glykogenózy⁽¹⁴⁾, variantmi v *TAZ* spôsobujúcimi vznik Barthovho syndrómu či variantmi

Obrázok 1. Gény asociované so vznikom SCN, prevzaté a upravené⁽¹³⁾

Dáta 650 pacientov s SCN registrovaných v SCNIR registri z Európy a zo Severnej Ameriky

*Mutácie v *JAGN1*, *LAMTOR2*, *GFI1*, *LYST*, *USB1* alebo mutácie v mitochondriálnej DNA



v géne *CXCR4* asociovanými so vznikom syndrómu WHIM. Ostatné syndrómové poruchy s prejavmi SCN sú menej časté a predstavujú len malú časť vrodených neutropénií⁽¹³⁾. Rovnako je to pri neutropéniách pozorovaných pri iných imunodeficienciách, ktoré spoločne so zlyhaniami kostnej drene, ako je Fanconioho anémia či Dyskeratosis congenita⁽¹⁵⁾, prispievajú k celkovému počtu neutropénií iba minimálne. Aj keď je doposiaľ známych viac ako 50 génov asociovaných so vznikom niektorej z foriem SCN, pre väčšinu platí, že ich mutácie sú veľmi zriedkavé⁽⁵⁾.

Molekulárna diagnostika

Genetické testovanie s identifikáciou kauzálneho variantu by malo byť štandardnou stratégiou u pacientov s neutropéniou, keďže identifikácia génu môže napríklad predikovať reakciu na terapiu faktorom stimulujúcim kolónie granulocytov (G-CSF) aj identifikovať pacientov s rizikom zlyhania kostnej drene, predispozíciou na vznik AML, MDS alebo vzácnej akútnej lymfoblastickej leukémie⁽⁶⁾. Molekulárna diagnostika je čoraz dôležitejšia aj vzhľadom na rýchle napredovanie prístupov gébovej terapie, a to obzvlášť pri ochoreniach imunitného systému. Wiskottov-Aldrichov syndróm je jedno z ochorení, kde je gébová terapia už v štádiu klinického testovania a úspešne bola podaná viacerým pacientom⁽¹⁶⁾.

Identifikácia kauzálneho gébového variantu zodpovedného za vznik neutropénie je komplexný proces, kde prvotné zhodnotenie leží na klinickej diagnostike, pri ktorej je potrebné vylúčenie získanej formy ochorenia. Prístup Sangerovho sekvenovania je využiteľný v prípade izolovanej alebo cyklickej neutropénie, pri ktorej je predpoklad prítomnosti variantov v géne *ELANE*⁽¹³⁾. V prípade potvrdenej cyklickej formy SCN je kandidátnym génom *GFI1*⁽¹¹⁾, sekvenovanie kandidátneho génu *HAX1* je možné najmä v prípade konsangvinity rodičov. Ak je neutropénia súčasťou syndrómu, identifikácia príčiny sa často opiera o ostatné symptómy, ktoré sú typické pre dané ochorenie. Ani prítomnosť extrahematologických znakov však nemusí vždy jednoznačne ukazovať na konkrétny syndróm a rozsiahle testovanie viacerých génov Sangerovým sekvenovaním je časovo a finančne neefektívne, pričom pacient často zostáva bez genetickej diagnózy. Aj z nášho pozorovania môžeme povedať, že priame sekvenovanie je účinné len u pacientov s mutáciou v géne *ELANE*. Dokonca ani u pacientov s fenotypom špecifického syndrómu, napríklad klinicky diagnostikovaným Shwachmanovým-Diamondovým syndrómom, často nedochádza k identifikácii molekulárnej príčiny ochorenia. Pomocou Sangerovho sekvenovania zároveň nemožno odhaliť variácie počtu kópií (CNV, copy number variant) a delécie na úrovni exónov či celého génu.

Panel, exóm či genóm?

Sangerovo sekvenovanie je pri takýchto geneticky rôznych ochoreniach neúčinné a v diagnostickom procese sa čoraz častejšie pristupuje k technikám masívneho paralelného sekvenovania novej generácie vo forme gébových panelov, celoexómového (WES, whole exome sequencing) alebo celogenómového (WGS, whole genome sequencing) sekve-

novania. Gébové panely sa zameriavajú na známe gény spájané so vznikom izolovanej a syndrómovej SCN aj na gény asociované so vznikom AML a MDS⁽¹³⁾. V porovnaní s WES alebo WGS prístupmi panelové testovanie redukuje náhodné nálezy, poskytujú lepšie pokrytie a výhodou je i ľahšia interpretácia výsledkov a nižšia cena⁽¹⁷⁾. Na druhej strane panely génov vyžadujú častú aktualizáciu vzhľadom na neustále pribúdajúce poznatky o nových kauzálnych génoch. Len za posledné štyri roky bolo vďaka NGS prístupom identifikovaných viacero nových génov (*EFL1*, *HYOU1*, *SRP54*, *SMARCD2*) asociovaných so vznikom SCN a môžeme predpokladať, že ich počet bude narastať aj v budúcnosti^(4,18). Väčšina komerčne dostupných panelov neposkytuje sekvenovanie viac ako 30 génov (Invitae Corporation, PreventionGenetics, Blueprint Genetics Oy., Fulgent Genetics a iné), a preto cieľové sekvenovanie nemusí odhaliť príčinu ochorenia až u 40 % pacientov⁽⁴⁾, pričom toto číslo môže byť vyššie v prípade, že panelové sekvenovanie sa vykoná len u *ELANE* negatívnych pacientov. V súčasnosti však chýba dostatok štúdií, ktoré by porovnávali diagnostickú účinnosť panelového sekvenovania a jednotlivých panelov u pacientov s neutropéniou.

Z hľadiska identifikácie kauzálneho variantu, ako aj identifikácie nových génov asociovaných s SCN je najlepšou voľbou prístup WES alebo WGS. Tie sa v súčasnosti využívajú najmä na výskumné účely, ale postupne si hľadajú cestu aj do bežného diagnostického procesu. V diagnostike vrodených porúch imunity môžu dané prístupy dosahovať diagnostickú účinnosť od 10 až po takmer 90 %^(19,20). WGS poskytuje uniformné pokrytie genómu so všetkými kódujúcimi i regulačnými sekvenciami, intragébovými regiónmi aj identifikáciu CNV, ale za vyššiu cenu a celkovo zvýšenú náročnosť analýzy. WES predstavuje akýsi kompromis medzi panelovým sekvenovaním a WGS a jeho použitie na začiatku diagnostického procesu môže strojnásobiť počet pacientov s molekulárnou diagnózou za tretinu celkových nákladov⁽²¹⁾. WES však nemusí zabezpečiť postačujúce pokrytie všetkých požadovaných sekvencií a interpretácia jednotlivých detegovaných variantov, najmä variantov nejistej signifikancie, je v súčasnosti stále výzvou. Interpretáciu variantov získaných pomocou NGS výrazne zjednodušuje trio sekvenovanie probanda a oboch rodičov, najčastejšie vo forme WES, ktoré umožňuje sledovať dedičnosť variantov od bezpríznakových rodičov a najmä vznik de novo variantov⁽¹⁵⁾. Trio sekvenovanie však značne zvyšuje cenu diagnostického procesu. Na zhodnotenie efektivity jednotlivých prístupov v molekulárnej diagnostike neutropénie v súčasnosti nie je dostatok štúdií, čo je spôsobené nízkou incidenciou ochorenia a teda malým počtom pacientov. Dôležité však je ku každému pacientovi pristupovať individuálne, a zároveň tak, aby bola zachovaná vysoká diagnostická účinnosť pri súčasne efektívne využitých zdrojoch.

Podakovanie

Práca bola finančne podporená Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied (VEGA 1/0190/19) a Ministerstvom zdravotníctva Slovenskej republiky (MZSR_2018/46-SAV-5).

LITERATÚRA

1. Hartman P, Beckman K, Silverstein K, et al. Next generation sequencing for clinical diagnostics: Five year experience of an academic laboratory. *Mol Genet Metab Reports*. 2019;19:100464.
2. Arceci RJ, Hann IM, Smith OP, et al. *Pediatric Hematology*. Blackwell Publishing Ltd; 2006.
3. Donadieu J, Beaupain B, Mahlaoui N, Bellanné-Chantelot C. Epidemiology of Congenital Neutropenia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2013;27(1):1-17.
4. Donadieu J, Beaupain B, Fenneteau O, Bellanné-Chantelot C. Congenital neutropenia in the era of genomics: classification, diagnosis, and natural history. *Br J Haematol*. 2017;179(4):557-574.
5. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2020;40(1):24-64.
6. Mehta HM, Malandra M, Corey SJ. G-CSF and GM-CSF in Neutropenia. *J Immunol*. 2015;195(4):1341-1349.
7. Dale DC, Bolyard AA, Aprikyan A. Cyclic neutropenia. *Semin Hematol*. 2002;39(2):89-94.
8. Germeshausen M, Deerberg S, Peter Y, Reimer C, Kratz CP, Ballmaier M. The Spectrum of ELANE Mutations and their Implications in Severe Congenital and Cyclic Neutropenia. *Hum Mutat*. 2013;34(6):905-914.
9. Liu Q, Zhang L, Shu Z, et al. Two paternal mosaicism of mutation in ELANE causing severe congenital neutropenia exhibit normal neutrophil morphology and ROS production. *Clin Immunol*. 2019;203:53-58.
10. Kostmann R. Infantile Genetic Agranulocytosis (Agranulocytosis infantilis hereditaria) A New Recessive Lethal Disease in Man. *Acta Paediatr*. 1956;45(3):309-310.
11. Armistead PM, Wieder E, Akande O, et al. correspondence: Cyclic neutropenia associated with T cell immunity to granulocyte proteases and a double de novo mutation in GF11, a transcriptional regulator of ELANE. *Br J Haematol*. 2010;150(6):716-719.
12. Boxer LA, Newburger PE. A molecular classification of congenital neutropenia syndromes. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;49(5):609-614.
13. Skokowa J, Dale DC, Touw IP, et al. Severe congenital neutropenias. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3:17032.
14. Chou JY, Jun HS, Mansfield BC. Type I glycogen storage diseases: disorders of the glucose-6-phosphatase/glucose-6-phosphate transporter complexes. *J Inherit Metab Dis*. 2015;38(3):511-519.
15. Furutani E, Newburger PE, Shimamura A. Neutropenia in the age of genetic testing: Advances and challenges. *Am J Hematol*. 2019;94(3):384-393.
16. Ferrua F, Marangoni F, Aiuti A, et al. Paradigms and perspectives Gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome: History, new vectors, future directions. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146:262-265.
17. Bean LJH, Funke B, Carlston CM, et al. Diagnostic gene sequencing panels: from design to report—a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2020;22(3):453-461.
18. Carapito R, Konantz M, Paillard C, et al. Mutations in signal recognition particle SRP54 cause syndromic neutropenia with Shwachman-Diamond-like features. *J Clin Invest*. 2017;127(11):4090-4103.
19. Al-Herz W, Chou J, Delmonte OM, et al. Comprehensive genetic results for primary immunodeficiency disorders in a highly consanguineous population. *Front Immunol*. 2019;10(JAN):3146.
20. Chinn IK, Orange JS. A 2020 update on the use of genetic testing for patients with primary immunodeficiency. *Expert Rev Clin Immunol*. 2020;16(9):897-909.
21. Stark Z, Schofield D, Alam K, et al. Prospective comparison of the cost-effectiveness of clinical whole-exome sequencing with that of usual care overwhelmingly supports early use and reimbursement. *Genet Med*. 2017;19(8):867-874.



Mgr. Veronika Medová

Ústav klinického a translačného výskumu,
Biomedicínske centrum SAV, Bratislava
Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava
e-mail: veronika.medova@savba.sk