

**Tabela IV – Rekomendacje dotyczące badań laboratoryjnych oceniających skuteczność leczenia inhibitorami kinaz tyrozynowych (TKI)****Table IV – Recommendations for diagnostic tests evaluating the response to TKI**

Badanie	Opis, terminy wykonania
Morfologia krwi obwodowej	DGN; przynajmniej co 2 tygodnie do potwierdzenia CHR, następnie przynajmniej raz na 3 miesiące lub według potrzeby
Trepanobiopsja	DGN opcjonalnie
Cytogenetyka klasyczna (punkcja szpiku)	DGN; po 3 m-cach w przypadku BCR/ABL >10%; po 6 m-cach w przypadku BCR/ABL >1%; po 12 m-cach, następnie co 12 m-cy, jeśli regularna kontrola RQ nie jest możliwa
Molekularne RT-PCR multipleks	niepowodzenie (oporność pierwotna i wtórna)
RQ-PCR [IS]*	niewyjaśniona niedokrwistość, leukopenia lub małopłytkowość
Analiza mutacji genu ABL	DGN
	co 3 m-ce
	niepowodzenie leczenia, progresja do bardziej zaawansowanej fazy PBSz, utrata MMR; zawsze przed zmianą na inny TKI z powodu oporności

\*wyłącznie w laboratoriach referencyjnych z uzyskanym CF (aktualny wykaz na stronie PTGC)

I-FISH nie jest zalecany do oceny odpowiedzi częściowej (jedynie jako metoda potwierdzająca uzyskanie CCgR (całkowita odpowiedź cytogenetyczna), jeśli analiza cytogenetyczna nie jest możliwa (niemiarodajna), konieczna ocena  $\geq 200$  jąder komórkowych)

CHR: całkowita odpowiedź hematologiczna

DGN: diagnoza

MMR: większa remisja molekularna; poziom BCR/ABL/ABL lub w stosunku do innego genu referencyjnego  $\leq 0,1\%$  [IS]

RQ-PCR: ilościowa polimerazowa reakcja łańcuchowa w czasie rzeczywistym

regularna kontrola przebiegu leczenia za pomocą wystandaryzowanej zgodnie z zaleceniami ELN ilościowej polimerazowej reakcji łańcuchowej w czasie rzeczywistym (RQ-PCR; *Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction*) nie jest możliwa. Badanie cytogenetyczne powinno być także wykonane w każdym przypadku niepowodzenia leczenia (oporność pierwotna lub wtórna) oraz w razie pojawienia się niedokrwistości, leukopenii lub małopłytkowości o trudnej do ustalenia przyczynie (Tab. IV). Miarodajna ocena kariotypu wymaga analizy przynajmniej 30 komórek zatrzymanych w metafazie. Jeżeli nie ma możliwości uzyskania odpowiedniej jakości materiału do oceny cytogenetycznej i wynik badania konwencjonalnej cytogenetyki nie jest dostępny, w celu potwierdzenia rozpoznania lub potwierdzenia uzyskania CCyR dopuszczalne jest zastosowanie metody fluorescencyjnej interfazalnej hybrydyzacji *in situ* (I-FISH) z zastrzeżeniem, że nie jest to odpowiednia metoda oceny jakości odpowiedzi cytogenetycznej (od minimalnej do częściowej). Wymagana jest ocena przynajmniej 200 jąder interfazowych [46]. Do identyfikacji typu transkryptu genu BCR/ABL w chwili diagnozy służy badanie krwi obwodowej metodą polimerazowej reakcji łańcuchowej poprzedzonej odwrotną transkrypcją (RT-PCR; *Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction*) w odmianie multipleks. Śledzenie dynamiki odpowiedzi molekularnej u chorych leczonych TKI jest możliwe dzięki wykonywaniu ilościowego badania RQ-PCR (Tab. IV). Badanie RQ-PCR powinno być wykonywane przed podjęciem leczenia TKI, potem co 3 miesiące do uzyskania MMR, a następnie nie rzadziej niż co 6 miesięcy. Utrata MMR albo wzrost liczby kopii transkryptu (1 logarytm w skali IS) genu BCR/ABL jest wskazaniem do zwiększenia częstotliwości wykonywania oznaczeń RQ-PCR [46]. W celu upewnienia się, że obserwowany wzrost jest wyrazem rzeczywistej tendencji, test należy powtórzyć (najlepiej w odstępie 1 miesiąca). Częstszego monitorowania molekularnego mogą wymagać pacjenci w fazie przewlekłej z niepowodzeniem

uprzedniego leczenia za pomocą TKI, z utratą uprzednio uzyskanej CHR, CCyR, MMR, z progresją do AP lub BC oraz choroby leczeni inhibitorami TKI II generacji (ze względu na wysoki stopień skomplikowania RQ-PCR, czułość dochodząca do

**Tabela V – Lista referencyjnych laboratoriów diagnostyki molekularnej standaryzowanych zgodnie z ELN, które uzyskały indywidualny wskaźnik korygujący CF****Table V – Reference laboratories with individual correction factor calculated according to ELN guidelines**

Lp	Nazwa Laboratorium
1.	Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej CMUMK w Bydgoszczy
2.	Pracownia Diagnostyki Molekularnej Gdański Uniwersytet Medyczny Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii w Gdańsku
3.	Pracownia Biologii Molekularnej w Laboratorium Hematologicznym, Pracownia Inżynierii Szpiku i Banku Komórek Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku w Katowicach
4.	Pracownia Diagnostyki Molekularnej Centrum Onkologii w Kielcach
5.	Pracownia Diagnostyki Molekularnej Katedry i Kliniki Hematologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
6.	Pracownia Biologii Molekularnej Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku UM w Poznaniu
7.	Pracownia Genetyki, Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie
8.	Pracownia Biologii Molekularnej, Specjalistyczne Laboratorium Diagnostyki Hematologicznej i Transplantacyjnej, Szpital Kliniczny nr 1 we Wrocławiu
9.	Pracownia Genetyki Dolnośląskiego Centrum Transplantacji Komórkowych z Krajowym Bankiem Dawców Szpiku we Wrocławiu
10.	Samodzielna Pracownia Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie