



Jaki Jest MÓJ PCR?

Kampania „Jaki jest MÓJ PCR?”

www.whatismypcr.org

Często zadawane pytania na temat PCR

Autor: Dr. Michael Mauro, Profesor n. med. na Oddziale Hematologii i Onkologii Medycznej Uniwersytetu Zdrowia i Nauki w Oregonie

Wrzesień 2012

Tłum. na j. polski dr Euzebiusz Jan Dziwinski

1. Co to jest PCR?

PCR jest skrótem (akronimem) angielskich słów ‘polymerase chain reaction’ tłumaczonych jako ‘łańcuchowa reakcja polimerazy’. Jest to narzędzie używane w diagnostyce i monitorowaniu przewlekłej białaczki szpikowej (PBS) do określenia skuteczności leczenia tej choroby; PCR jest jedną z najbardziej czułych technik analitycznych znajdujących zastosowanie, nie tylko w leczeniu PBS, ale również jest wykorzystywane do innych badań, w których niski poziom detekcji odgrywa kluczową rolę. Na przykład, za pomocą PCR można wykryć chromosom BCR-ABL u osób z PBS; można również stwierdzić obecność bakterii znajdujących się na liście pocztowym, a także zidentyfikować specyficzne wirusy, które pojawiają się u chorych po transplantacji szpiku kostnego.

2. Dlaczego powinno się znać swój wynik badania PCR?

Za każdym razem określenie wielkości pomiaru PCR jest ważne i może być w sposób wygodny porównywane z wcześniej uzyskanymi wynikami badań. Często jest to tylko badanie, którego wynik daje komuś pogląd o stanie choroby oraz stabilności odpowiedzi na leczenie. Osoba chora na PBS powinna zawsze znać swój wynik badania wykonany za pomocą PCR! Wyniki PCR powinny być objaśnione pacjentom bardzo szczegółowo, tak, aby oni mogli je zrozumieć i mieli pełną orientację odnośnie ich znaczenia, a także wiedzieli jak je ze sobą porównywać, znać termin następnego badania oraz jak należy postąpić w przypadku pojawiającego się zagrożenia.

PYTAJ!

3. Czego miarą jest PCR w PBS?

PBS występuje wtedy, kiedy zachodzi specyficzna, wzajemna wymiana fragmentów pomiędzy chromosomami 9 i 22; fragmenty te zamieniają się miejscami, tworząc przy tym białko zwane BCR-ABL (Chromosom Filadelfia). Białko BCR-ABL jest tym, co powoduje, że komórki krwi – leukocyty różnicują się między sobą i stają się złośliwe. W PBS, PCR określa ilość materiału genetycznego (zwanego RNA [Kwas Rybonukleinowy] lub DNA [Kwas Dezoksyrybonukleinowy]) lub ilość kopii („blueprints”) z obecnym BCR-ABL. Wyniki pomiaru PCR wiążą się, zarówno z ilością jak i aktywnością komórek białaczkowych pozostających w organizmie chorego na PBS. Wynik analizy PCR jest często miarą pozostałości (resztek) choroby u pacjenta, gdyż dzięki niemu można wykryć bardzo małą ilość kopii („blueprints”) BCR-ABL.

4. Czy badania PCR wykonuje się z krwi obwodowej czy ze szpiku kostnego?

Badanie PCR może być wykonane zarówno z próbki krwi jak i szpiku kostnego. Musimy mieć wystarczająco dużą ilość materiału badawczego do badania i w takim przypadku prawie zawsze preferuje się próbkę krwi obwodowej (a przy tym dużo łatwiej jest ją pobrać do analizy od pacjenta).

5. Czy PCR jest jedynym badaniem, które należy wykonywać w trakcie mojego leczenia?

PCR jest bardzo ważnym, ale nie jedynym narzędziem badawczym, potrzebnym w leczeniu PBS. Badanie szpiku kostnego jest rekomendowane podczas diagnozy choroby w celu poszukiwania w nim 'komórek będących w fazie akceleracji' (o cechach bardziej agresywnych). Badanie szpiku kostnego jest również jedynym sposobem otrzymania 'kariotypu' [obrazu chromosomów], podczas którego chromosomy są znajdowane w licznych komórkach i należy policzyć tylko te, które zawierają Chromosom Philadelphia (związany z zamianą fragmentów chromosomów 9:22, co prowadzi do utworzenia dłuższego chromosomu 9 i krótszego chromosomu 22) lub zobaczyć czy jest widoczne jakieś inne uszkodzenie genetyczne.

Zaleca się powtarzanie badań kariotypu i FISH (fluorescencyjne badanie i liczenie tych komórek, które zawierają chromosom Philadelphia) do momentu aż osiągnie się wynik ujemny (czyli tak zwaną 'całkowitą remisję cytogenetyczną' – lub w skrócie CCyR). Jak tylko ten ważny etap badań zostanie zaliczony i potwierdzony, badanie techniką PCR stanie się jedynym badaniem które wykaże poziom resztkowy choroby PBS i stanie się główną metodą jej kontroli (monitorowania).

6. Dlaczego badanie PCR jest ważne podczas leczenia PBS?

Z wielu powodów PCR jest kluczowym narzędziem badawczym; po pierwsze, ono jest „przyjazne pacjentowi” i wymaga od niego tylko pobrania próbki krwi, po drugie jest to narzędzie o dużym zakresie pomiarowym i nadaje się do pomiaru, zarówno wysokiego poziomu proteiny BCR-ABL (u pacjentów jeszcze nie poddanych leczeniu), jak i najniższego mierzalnego poziomu.

7. Jak często należy wykonywać badania PCR?

Na początku leczenia mogą być bardziej potrzebne inne badania (kariotyp i FISH) niż badanie PCR, jednakże u większości chorych na PBS wyniki ich badań chromosomu (kariotyp i FISH) normalizują się w czasie pierwszych 12-18 miesięcy leczenia choroby i dopiero wtedy badane techniką PCR staje się najważniejsze i jest zalecane jego wykonywanie co trzy miesiące od kiedy to występuje dalsza redukcja poziomu BCR-ABL (ten etap określa się jako przejście od stanu odpowiedzi cytogenetycznej do większej odpowiedzi molekularnej). Jak tylko poziom BCR-ABL spadnie do stanu większej odpowiedzi molekularnej, lub poniżej, zaleca się jego monitorowanie co 3-6 miesięcy, aby upewnić się o jego stabilności i/lub dalszej redukcji.

8. Czy wyniki moich analiz powinny być zawsze dokładnie takie same?

Nie, jeśli twoje wyniki analizy PCR uległy zmianie nie powinno się wpadać w panikę; uważa się, że trzeba brać pod uwagę zakres fluktuacji wyników. Jakkolwiek, lekarz musi spojrzeć ostrożnie na twoje wyniki i skupić swoją uwagę na ich tendencji do zmian zachodzących w dłuższym czasie leczenia choroby. Na ogół, jeśli pacjenci są leczeni za pomocą inhibitorów kinazy tyrozynowej (TKI), to podczas ich leczenia wyniki analiz PCR powinny z czasem wykazywać tendencję do obniżania swoich wartości. Na początku leczenia oczekujemy, że wartości PCR będą zwykle znacznie obniżać się w ciągu kilku miesięcy. Od momentu kiedy remisja jest osiągnięta, stopień redukcji jest ogólnie rzecz biorąc dużo mniejszy, a stabilność wyników badań jest często znakomita, szczególnie wtedy gdy pacjent uzyskał głęboką remisję. Wzrost wartości PCR wymaga ostrożnej oceny. Ważne jest aby rozpatrywać moment od którego nastąpił wzrost wartości PCR. Na przykład, wzrost wartości PCR u pacjenta u którego nastąpiła głęboka (większa) remisja molekularna jest różny od wzrostu poziomu wartości PCR pacjenta, u którego nie ma remisji molekularnej. Tak samo, stopień zmian, minimalny lub znaczący jest również istotny do rozważenia. Wreszcie, zmiana, która prowadzi do utraty odpowiedzi, tak jak na przykład utrata większej odpowiedzi molekularnej wymaga gruntownej oceny i często w takiej sytuacji wykonuje się inne badania.

9. Jaki jest idealny wynik PCR? Jak długo będzie trwało uzyskanie idealnego wyniku mojego PCR?

W PBS lubimy mówić o osiągnięciu kolejnych, ważnych etapów leczenia choroby. Takim istotnym etapem jest uzyskanie przez pacjenta całkowitej remisji cytogenetycznej (CCyR), która jest dla niego bardzo ważna i działa ochronnie. Ogólnie rzecz biorąc, jest to równoważne 100-krotnemu obniżeniu [o dwa rzędy wielkości (10^{-2})] poziomu komórek nowotworowych w białaczce. Dodatkowy postęp w leczeniu PBS może być w sposób oczywisty osiągnięty poprzez dalszą redukcję wartości PCR o 3 trzy rzędy wielkości (10^{-3}) [1000-krotny lub większy spadek tej wartości], odnosząc się do większej odpowiedzi molekularnej (MMR). Poziom odpowiedzi MMR jest często odnoszony do „bezpiecznego poziomu”, poniżej którego ryzyko utraty odpowiedzi jest najniższe.

Mówi się, że najnowsze terapie za pomocą TKI pozwoliły pacjentom w sposób znaczący osiągnąć głębsze odpowiedzi wyników badań PCR, gdzie mamy do czynienia z ich redukcją na poziomie 10^{-4} (4log) i $10^{-4.5}$ (4.5log) (inaczej mówiąc do poziomów MR4 i MR4.5). Poziom oznaczeń MR4.5 jest trudny do określenia w wielu laboratoriach z powodu niemożliwości wykrycia i oznaczenia

ilościowego komórek nowotworowych. Ten próg od pewnego czasu został określony jako 'CMR' lub całkowita remisja molekularna, choć opiera się na nieco mylącej charakterze tej nazwy (gdyż daje ona do zrozumienia, że osiągnięto całkowitą odpowiedź, która dla wielu ludzi oznacza osiągnięcie poziomu „zero” dla pozostającej leukemii) i jest zbliżeniem się ku najprostszemu użyciu nazw, które charakteryzują poziom (MR4,MR4.5).

10. Co może mieć wpływ na mój wynik PCR?

Ogólnie rzecz biorąc wyniki PCR odzwierciedlają trwającą odpowiedź na skuteczność leczenia; możliwe jest zachodzenie pewnej zmienności w natężeniu rozmiaru PBS i pewnych zmienności występujących podczas samego badania. Ponieważ jest to bardzo czuły test badawczy, ten sam pacjent może otrzymać różny wynik badań jeśli badanie byłoby wykonane w dwóch różnych laboratoriach. Innym poważnym problemem jest to, że wszystkie laboratoria nie stosują tej samej skali pomiarowej do ilościowej oceny poziomu komórek nowotworowych i dlatego dokładnie sam wynik analizy mógłby być różny z dwóch różnych laboratoriów. Ogromny wysiłek wkłada się w proces standaryzowania warunków analiz PCR i przedstawiania ich za pomocą jednej (Międzynarodowej) skali. Pierwsze co należy zrobić, to sprawdzić czy wynik analizy PCR różni się od ostatniego wyniku, gdzie te badania zostały wykonane (czy w tym samym czy innym laboratorium) i czy zastosowano do ich oceny Skalę Międzynarodową .

Oczywiście, przestrzeganie zasad/podporządkowanie się zaleceniom terapeutycznym w zażywaniu leków na PBS jest istotne dla zachowania stabilności lub polepszenia się wyników badań PCR i jednym z pierwszych pytań stawianych, zarówno przez lekarzy jak i pacjentów, gdy obserwuje się zmianę wyników analiz PCR powinno dotyczyć samego leczenia, czy ono było właściwie prowadzone, czy pacjent nie zapomniał brać leku, czy też nie zaprzestał kuracji z jakiegoś powodu. Pacjenci, którzy zaprzestają codziennego leczenia najprawdopodobniej będą mieli wyższe wartości oznaczeń PCR, a pacjenci, którzy pomijają zażywanie nawet małej ilości leków we wcześniej fazie leczenia mają najprawdopodobniej znacznie mniejsze szanse aby uzyskać głęboką remisję.

11. Mój ostatni wynik badań wykazuje wzrost wartości PCR; czy to oznacza, że moje leczenie jest nieskuteczne?

Niekoniecznie, ale wzrost wartości PCR wymaga, aby potraktować go poważnie. Powinno dokonać się sprawdzenia wszystkich zmian według spisu kontrolnego, który będzie obejmował: początek etapu wzrostu wykrywalnej wielkości PCR (podczas remisji cytogenetycznej lub nie, podczas remisji molekularnej lub nie), stopień zmiany (zmiana nieznaczna, zmiana prowadząca do kategorycznej utraty odpowiedzi, jak na przykład, utraty MMR), i historię stabilności wyników

analiz PCR do chwili obecnej. Często wzrost wielkości PCR sugeruje powtórzenie analizy PCR po 4-6 tygodniach, aby stwierdzić czy zmiana nadal trwale utrzymuje się i/lub czy potwierdza się.

12. Czy badanie mojego PCR powinno być zawsze będzie wykonywane w tym samym laboratorium?

Byłoby to idealnie rozwiązanie i odpowiedź brzmi tak. Mając wykonane badanie PCR w tym samym laboratorium oznacza to, że opracowanie wyników zostało wykonane z użyciem tej samej skali, i w ten sposób można łatwiej śledzić postęp w przebiegu leczenia choroby. Od kiedy wszystkie laboratoria będą stosować tę samą skalę (zwaną Skalą Międzynarodową lub IS), mając wykonane badanie PCR w tym samym laboratorium nie będzie to takie istotne dla poprawności wyników, gdyż one będą wykonywane (i opracowane) w taki sam sposób na całym świecie. Intensywne prace nad standaryzacją tego rodzaju badań są prowadzone już od wielu lat i jest nadzieja, że szybko staną się ona rzeczywistością.

13. Co oznacza MMR?

MMR jest skrótem (akronimem) angielskich słów 'major molecular response' tłumaczonych jako 'większa odpowiedź molekularna'. MMR oznacza, że nastąpiło obniżenie poziomu oznaczeń wykonanych metodą PCR o trzy rzędy wielkości (3log) lub więcej, poniżej standardowej linii bazowej (1000-krotna redukcja). Jak już wspomniano, połączenie osiągniętego ważnego etapu całkowitej cytogenetycznej remisji (CCyR) i dalszej redukcji poziomu oznaczeń PCR do poziomu oznaczeń MMR jest często odnoszone jest do 'bezpiecznego poziomu', poniżej którego ryzyko ulega maksymalnej optymalizacji. MMR jest ostatnim etapem odpowiedzi na którym jest wykazana poprawa wyników leczenia. Ten postęp wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka utraty odpowiedzi, jak również obniżeniem się ryzyka progresji choroby. Obecnie, jakiegokolwiek korzyści płynące z głębszej odpowiedzi niż MMR (MR4 i MR4.5) stanowią jedynie bardziej teoretyczną (w odniesieniu do możliwości zatrzymania terapii pewnego dnia?), aniżeli udowodnioną korzyść, i dlatego też bieżącym celem wszystkich pacjentów z PBS jest uzyskanie co najmniej stabilnego poziomu MMR.

14. Kiedy powinienem prosić o alternatywną opinię na temat mojego leczenia PBS?

W każdej chwili, kiedy tylko zechcesz. Jeśli masz jakieś problemy z bieżącym leczeniem (efekty uboczne, odpowiedź na leczenie jest niewłaściwa, nastąpiła utrata odpowiedzi), jeśli występuje niepewność za pomocą jakiego leku zapoczątkować leczenie, lub kiedy zamienić go na inny, jeśli pojawiają się specyficzne lub niezwykle efekty uboczne, itp. to są ważne powody aby zasięgnąć alternatywnej opinii, co do dalszego toku leczenia. PBS jest chorobą, która wymaga leczenia na dłuższą metę, i dlatego też powinieneś być pewny, że dokonałeś dla siebie wyboru właściwego lekarza i wiesz, że możesz mu zaufać i zadawać pytania, mając z nim szczerą i otwartą wzajemną relację. Jest wielu ekspertów w zakresie leczenia PBS, którzy są prawdziwymi pasjonatami swojej pracy, dokładają starań, aby pacjent wyzdrowiał, podejmują właściwe decyzje co do opcji leczenia oraz wyjaśniają bieżące sprawy w taki sposób, aby pacjent mógł je zrozumieć i był nieodłącznym ogniwem w procesie leczenia. A eksperci z pewnością chcą **POZNAĆ TWÓJ PCR!**