



XI **Znaczenie badań cytogenetycznych w hematologii**

KLAUDIA PARUZEL*, MARZENA WALCZUK*, ALEKSANDRA BLUSZCZ*

1. Rys historyczny

W 1888 r. W. Waldeyer wprowadził termin „chromosomy”, natomiast w 1890 r. niemiecki patolog David von Hansemann przeprowadził najwcześniejsze badania podziału komórek w nowotworach złośliwych. W 1913 r. Theodor Boveri wysnuł hipotezę, iż zmiany chromosomalne powodują przejście z prawidłowego funkcjonowania komórki do złośliwej proliferacji. Musiało jednak upłynąć kilkadziesiąt lat, żeby ograniczenia techniczne przestały stać na przeszkodzie odkryciom z zakresu cytogenetyki i pozwoliły na rozwinięcie idei naukowców. Cytogenetycy roślinni radzili sobie zdecydowanie lepiej i dopiero około 1950 r. dokonano odkrycia, iż nowotwory ssaków można badać wykorzystując podobne metody jak przy badaniu materiałów roślinnych.

Kolejne udoskonalenia procedur przyczyniały się do znaczących postępów i tak w 1956 r. J.Tijo i A. Levan chcąc odkryć, co wyróżnia komórkę nowotworową wykazali prawidłową liczbę chromosomów w komórce człowieka. Jednym z pierwszych, znaczących sukcesów w cytogenetyce nowotworów było odkrycie małego markera — chromosomu Philadelphia. Dokonali tego Nowell i Hungerford w 1960 r. Przełomem natomiast okazało

* Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Białej Podlaskiej, Laboratorium Genetyczne Pracownia Cytogenetyczna

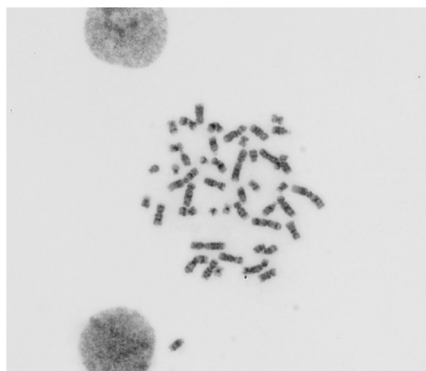
się opracowanie techniki wybarwienia prążków w chromosomach w 1970 r. za sprawą Casperssona i Zecha. Pozwoliło to między innymi na korektę wcześniejszych założeń co do **chromosomu Philadelphia**, który nie jest delecją chromosomu 22, jak wcześniej przypuszczano, a translokacją między chromosomem 9 i 22. W latach 80 XX w. swój rozwój rozpoczęła genetyka molekularna, doprowadzając do powstania nowych technologii cytogenetycznych, w tym fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) (Heim, 2015; Ferenc, 2011).

2. Podstawowe informacje

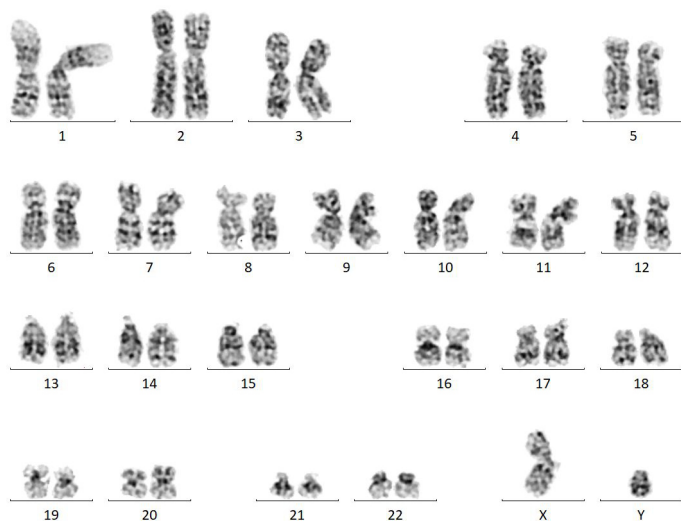
Cytogenetyka jest działem genetyki zajmującym się badaniem chromosomów oraz ich aberracji (nieprawidłowości) pod względem liczebności oraz struktury.

Możemy wyróżnić cytogenetykę klasyczną, której przedmiotem zainteresowania jest **badanie kariotypu** — zestawu chromosomów będącego cechą charakterystyczną danego gatunku. Przedstawia się go w postaci kariogramu, czyli graficznej postaci kariotypu, gdzie chromosomy ułożone są w pary według ich charakterystycznych cech (wielkości, miejsca położenia centromeru, układu prążków) (Srebnia, 2008).

Ludzki kariotyp zawiera 22 pary chromosomów autosomalnych oraz jedną parę chromosomów płci — u kobiet są to chromosomy XX, a u mężczyzn XY. Badaniu podlegają chromosomy w trakcie metafazy, ponieważ w tej fazie podziału komórkowego chromatyna jądrowa przyjmuje najbardziej skondensowaną postać, przez co chromosomy można najłatwiej rozdzielić oraz rozróżnić. Najczęściej stosowaną techniką w badaniach kariotypu jest barwienie metodą GTG (G-bands after trypsin and Giemsa) z zastosowaniem trypsyny wytrawiającej wchodzące w skład chromosomu białka histonowe oraz barwnika Giemsy. Dzięki temu jesteśmy w stanie zobaczyć charakterystyczny układ prążków. Uwidocznione w tym barwieniu prążki jasne składają się z rozluźnionej euchromatyny, w skład której wchodzi DNA



Ilustracja 1. Metafaza. Zdjęcie własne



Ilustracja 2. Prawidłowy kariogram męski. Zdjęcie własne.

bogate w zasady C-G, prążki ciemne natomiast składają się ze skondensowanej heterochromatyny, w skład której wchodzi DNA bogate w zasady A-T. Choć wspomniane zostały tutaj najczęściej wybarwiane prążki G, to należy wspomnieć, że istnieją również prążki Q, R i C (Ferenc 2011; Srebnik 2008).

Liczba prążków widocznych na chromosomie zależy od wielu czynników, między innymi od użytego do badania materiału oraz sposobu hodowli. Dzięki temu uzyskujemy określoną rozdzielczość, która jest obliczoną wartością liczby prążków w pojedynczym zestawie chromosomów. Na co dzień przeprowadza się badania przy rozdzielczości ok. 400. Należy jednak wziąć pod uwagę, że często chromosomy komórek nowotworowych mają niższą rozdzielczość prążkową, przez co badanie jest mniej czułe i zmiany trudniej dostrzegalne.

Niekiedy prążki nie posiadają zadowalającej rozdzielczości i wykrycie małych zmian może nie być możliwe, jednak w takiej sytuacji możemy rozszerzyć badania o **analizę techniką FISH**. Dla danego pacjenta wykonuje się określoną liczbę preparatów przeznaczonych do oceny, jednak bywają też sytuacje, że z powodu niskiej rozdzielczości czy niskiego indeksu mitotycznego (mała liczba metafaz) następuje konieczność dorobienia większej ilości preparatów, w związku z czym czas badania wydłuża się. Analizie poddaje się ok. 20–30 metafaz. Europejskie rekomendacje, co do minimalnej liczby metafaz, jaką trzeba przeanalizować określają EHA (*European Hematology Association*) oraz ECA (*European Cytogenetics Association*). Preparaty do wykonania analizy wykonuje się z przeprowadzonych wcześniej hodowli o różnym czasie trwania (np. bezpośrednia, 24 godzinna oraz 72 godzinna). U jednego pacjenta badaniu podlegają metafazy z każdej hodowli, jednak taka analiza nie zawsze jest możliwa. Niekiedy w jednej hodowli znajdziemy wiele metafaz, w innej zaś nie będzie ich praktycznie wcale (Srebnik, 2008).

Przy hodowlach komórkowych ważnym czynnikiem są mitogeny. Dobiera się je w zależności od tego, jaką jednostkę chorobową podejrzewa lekarz, ponieważ działają na określoną linię hematopoezy. Dlatego tak istotnym jest, by na skierowaniu osoba zlecająca zaznaczyła w jakim kierunku

przeprowadzana jest diagnostyka u danego pacjenta i w miarę możliwości dołączyła wynik immunofenotypowania oraz mielogramu.

Analiza cytogenetyczna składa się z analizy ilościowej, w której określa się liczbę chromosomów wraz z identyfikacją chromosomów płciowych oraz analizy jakościowej, gdzie wraz z określeniem liczby, identyfikację chromosomów przeprowadza się poprzez analizę prawidłowości wzoru prążkowego. Obecnie proces ten przebiega z użyciem programów komputerowych, co ułatwia porównanie prążków chromosomów homologicznych, a tym samym znalezienie aberracji.

O jakości badania cytogenetycznego decyduje rozdzielczość prążków w analizowanych chromosomach. Im więcej prążków jest widocznych, tym wyższa jest rozdzielczość, a tym samym drobniejsze zmiany można dostrzec. Im wyższa rozdzielczość, tym wyższa czułość badania.

W diagnostyce nowotworów stosuje się również fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* — FISH. Badanie tą techniką wykonuje się, w przypadku, gdy w badaniu kariotypu ustalenie dokładnego rodzaju lub miejsca rearanżacji jest niemożliwe lub jako samodzielne badanie. W badaniu szpiczaka plazmocytozy lub przewlekłej białaczki limfocytowej stanowi ono podstawowe badanie, a w wielu przypadkach umożliwia lekarzowi wykluczenie lub potwierdzenie jednostki chorobowej, a także określenie ryzyka jeszcze przed wydaniem wyniku kariotypu.



Ilustracja 3. Wzrost rozdzielczości prążków. Zdjęcie własne.

Badanie FISH (tak jak metody aCGH i MLPA) należy do działu cytogenetyki molekularnej. Jest techniką cytochemiczną polegającą na hybrydyzacji DNA ze specyficznymi sondami, które wyznakowane są fluorochromem świecącym pod wpływem wzbudzenia światłem (UV-VIS). Wykorzystywane sondy służą do wykrywania określonych (konkretnych) aberracji chromosomowych. Ich zastosowanie umożliwia zlokalizowanie miejsc pęknięć w chromosomach, mikrodelecji, mikroduplikacji czy translokacji. Do przeprowadzenia analizy tą techniką używa się mikroskopu fluorescencyjnego.

Sondy stosowane w badaniach FISH dzielimy na:

1. Alfa-satelitarne (centromerowe, telomerowe).
2. Malujące, pokrywające wybrany chromosom lub poszczególne jego ramiona. Sondy te pokrywają obszar od kilku do kilkudziesięciu milionów par zasad.
3. Specyficzne dla określonego locus lub poszczególnych sekwencji — sondy delecyjne, rozdzielnosygnałowe i fuzyjne.

Technika FISH w badaniach cytogenetycznych znalazła zastosowanie w diagnostyce submikroskopowych aberracji chromosomowych, dodatkowego materiału genetycznego, chromosomów markerowych czy identyfikacji złożonych aberracji strukturalnych.

Zaletą badania FISH jest możliwość oceny konkretnych zmian, również tych submikroskopowych oraz stosunkowo krótki czas od zlecenia badania do wydania wyniku. FISH daje także możliwość oceny nie tylko metafazy, a przede wszystkim jąder interfazowych, co pozwala na przeprowadzenie badania przy niskim indeksie mitotycznym.

Zaletą badania kariotypu jest jednoczesna ocena wszystkich chromosomów, podczas której jesteśmy w stanie dostrzec różne aberracje występujące u danego pacjenta.

Zasady zapisu cytogenetycznego służącego do opisanie wzorem obserwowanych aberracji chromosomowych są określane przez ISCN

(*An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*).

3. Znaczenie w badaniach

Cytogenetyka ma ogromne znaczenie w hematologii. Świadczą o tym między innymi zalecenia ESMO (*European Society for Medical Oncology*), klasyfikacja WHO czy ELN (*European Leukemia Net*). W obecnie obowiązującej edycji klasyfikacji WHO z 2022 znajdziemy uaktualnioną terminologię, podział jednostek chorobowych wraz z towarzyszącymi im zmianami genetycznymi (Khoury, 2022).

Badania cytogenetyczne pomagają, a niekiedy są wręcz konieczne w:

- Postawieniu rozpoznania choroby. Zarówno w badaniu kariotypu, jak również w badaniu FISH możemy zaobserwować zmiany, których obecność koreluje z daną chorobą.
- Ustaleniu znaczenia prognostycznego i wybraniu odpowiedniego leczenia. Niektóre aberracje mają konkretne znaczenie rokownicze. Dzięki wykryciu niekorzystnych zmian lekarze mogą zdecydować o podjęciu terapii lub jej modyfikacji.
- Monitorowaniu skuteczności leczenia.

W badaniach cytogenetycznych można sprawdzić, czy wykryty wcześniej nieprawidłowy klon komórek (klon komórek z aberracjami) występuje w większym czy mniejszym odsetku, jest niewykrywalny, czy też uległ ewolucji klonalnej.

W Polsce zostały stworzone programy lekowe, kwalifikujące pacjentów do terapii wybranymi lekami. Część z nich wymaga przeprowadzenia badań cytogenetycznych jedynie na etapie diagnostyki, a część zaleca monitorowanie leczenia z określoną częstotliwością lub w razie potrzeby.

W dalszej części rozdziału zostaną przedstawione przykłady chorób hematologicznych wraz z towarzyszącymi im aberracjami chromosomowymi, a także w części przypadków odniesieniem do obowiązujących obecnie programów lekowych. Należy jednak mieć na

uwadze, że postęp w badaniach oraz nowe odkrycia prowadzą do zmian zarówno w klasyfikacji chorób, diagnostyki, jak i sposobach leczenia. W pracy zostały przedstawione dane obowiązujące wiosną 2023 r.

4. Ostra białaczka szpikowa

(Acute Myeloid Leukemia, AML)

Jedną z najważniejszych badanych aberracji cytogenetycznych jest fuzja PML:RARA występująca w szczególnej postaci ostrej białaczki szpikowej jaką jest ostra białaczka promielocytowa. Receptor RARA jest czynnikiem transkrypcyjnym, który reguluje ekspresję kluczowych genów biorących udział w różnicowaniu się komórek progenitorowych linii mieloidalnej. Aktywność tego genu regulowana jest kwasem retinowym. W wyniku translokacji różnicowanie komórek zostaje zahamowane. Zmiany te zwykle prowadzą do wystąpienia zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC), co może prowadzić do śmiertelnych powikłań krwotocznych. W przypadku podejrzenia wystąpienia tej translokacji należy jak najszybciej włączyć do leczenia pacjenta **kwas transretinowy (ATRA)**, mieć pod ciągłą kontrolą zaburzenia krzepnięcia oraz jak najszybciej przeprowadzić badanie genetyczne w celu potwierdzenia lub wykluczenia translokacji. Obecnie metoda FISH pozwala nam na szybkie przygotowanie preparatu do analizy z utrwalonego wcześniej materiału, wynik uzyskujemy już następnego dnia. Ma ona duże znaczenie nie tylko ze względu na stosunkowo krótki czas wykonania badania, ale również pozwala na wykrycie zmiany, nawet wtedy, gdy translokacja t(15;17) jest niewidoczna w badaniu kariotypu ze względu na niską rozdzielczość prążkową chromosomów (Krzakowski, 2015; Wierzbowska, 2013).

W ostrej białaczce szpikowej wyróżniono zmiany, którym nadano określone znaczenie prognostyczne przedstawione w tabeli poniżej.

Program lekowy dla ostrej białaczki szpikowej obejmuje w zakresie świadczenia gwarantowanego badanie cytogenetyczne lub badania

Tabela 1. Znaczenie prognostyczne aberracji cytogenetycznych w AML. Opracowanie na podstawie 2022 ELN risk classification by genetics at initial diagnosis (Döhner, 2022)

Znaczenie prognostyczne	Nieprawidłowość cytogenetyczna
Korzystne	• t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1::RUNX1T1 • inv(16)(p13.1q22) l • t(16;16)(p13.1;q22)/CBFB::MYH11
Pośrednie	• t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A • Cytogenetyczne i/lub molekularne nieprawidłowości niezaklasyfikowane jako korzystne lub niekorzystne • t(6;9)(p23;q34.1)/DEK::NUP214 • t(v;11q23.3)/KMT2A – zrearanżowane • t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR::ABL1 • t(8;16)(p11;p13)/KAT6A::CREBBP • inv(3)(q21.3q26.2) lub t(3;3)(q21.3;q26.2)/GATA2, MECOM (EVI1)
Niekorzystne	• t(3q26.2;v)/MECOM (EVI1) – zrearanżowane • -5 lub del(5q) • -7 • -17/abn(17p) • Złożony kariotyp • Monosomalny kariotyp

molekularne na etapie kwalifikacji do leczenia. Ponadto jednym z kryteriów jest wykluczenie ostrej białaczki promielocytowej. W szczegółowych kryteriach kwalifikacji do leczenia gemtuzumabem ozogamycyny w skojarzeniu z daunorubicyną i cytarabiną ujęte jest potwierdzenie korzystnych lub pośrednich czynników rokowniczych. W przypadku braku możliwości oceny ryzyka cytogenetycznego dopuszcza się włączenie terapii indukującej, jednakże pod warunkiem wykluczenia niekorzystnych czynników rokowniczych w badaniach molekularnych (Minister Zdrowia, 2023).

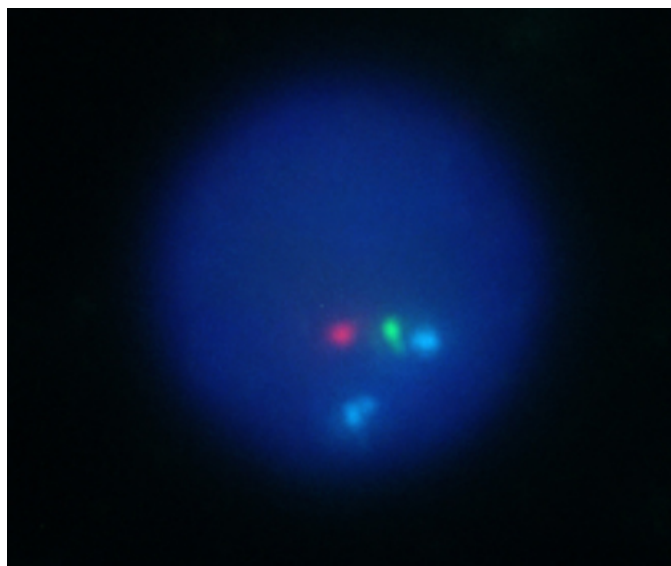
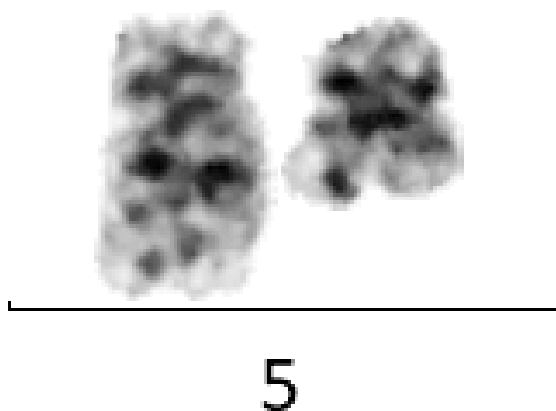
5. Zespoły mielodysplastyczne (*Myelodysplastic neoplasms*, MDS)

W zespołach mielodysplastycznych WHO wyróżniło jednostkę chorobową, jaką jest Zespół mielodysplastyczny 5q (MDS-5q). W przypadku zmiany obejmującej delecję większego fragmentu długiego ramienia chromosomu 5 pary możemy zobaczyć ją w badaniu kariotypu; niekiedy jednak mamy do czynienia z delecją submikroskopową, zbyt małą, żeby można było dostrzec ją w badaniu kariotypu. W badaniu FISH możliwe jest wykrycie tej zmiany przez zastosowanie sond skierowanych w materiał genetyczny znajdujący się na **ramieniu 5q**. Dzięki tej analizie możemy postawić rozpoznanie.

W zespołach mielodysplastycznych można zaobserwować wiele zmian w badaniu kariotypu, które zostały odpowiednio zaklasyfikowane w tabeli.

6. Przewlekła białaczka szpikowa (*Chronic myeloid leukemia*, CML)

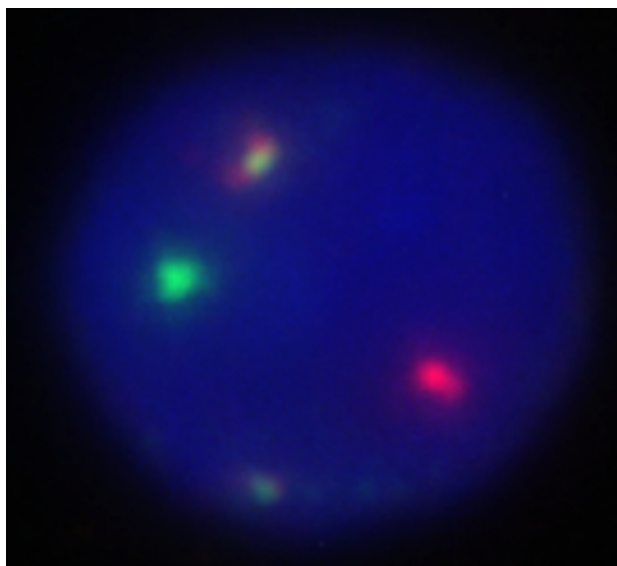
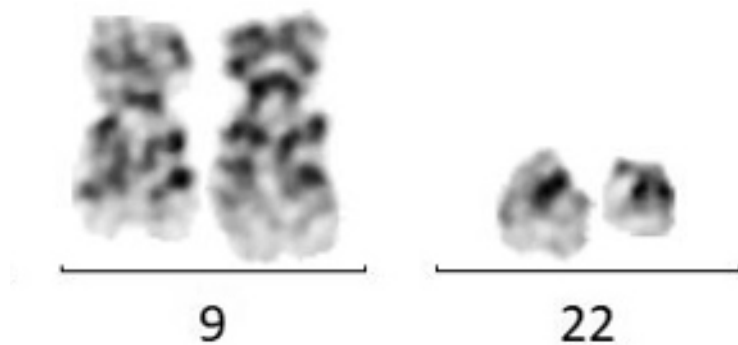
Ze względu na występowanie charakterystycznej translokacji t(9;22)(q34;q11.2) lub submikroskopowej insercji skutkującej powstaniem genu, przewlekła białaczka szpikowa jest jedną z chorób, w których badania cytogenetyczne oraz te z zakresu biologii molekularnej mają ogromne znaczenie. Dzięki tym metodom możemy uczestniczyć w rozpoznaniu



Ilustracja 4 (u góry) i 5 (na dole). Delecja ramienia długiego chromosomu 5 pary, del(5q) kolejno w badaniu karyotypu (po lewej stronie chromosom prawidłowy, po prawej delecja 5q) i badaniu FISH. Zdjęcia własne.

☞ Tabela 2. Znaczenie prognostyczne aberracji cytogenetycznych w MDS. Opracowanie na podstawie Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes (Greenberg, 2012)

Znaczenie prognostyczne	Nieprawidłowość cytogenetyczna
Bardzo dobre	• t-Y, • del(11q)
Dobre	• Norma, • del(5q), • del(12p), • del(20q), • Podwójna zmiana, w tym del(5q)
Pośrednie	• del(7q) • +8 • +19 • i(17q) • Wszelkie pojedyncze lub podwójne niezależne klony
Złe	• -7 • inv(3) / t(3q) / del(3q) • Podwójna zmiana, w tym -7 / del(7q) • Kariotyp złożony: 3 nieprawidłowości
Bardzo złe	• Kariotyp złożony: > 3 nieprawidłowości



Ilustracja 6 (u góry). Translokacja t(9;22) BCR::ABL1 obserwowana w badaniu karyotypu. Zdjęcie własne.

Ilustracja 7 (na dole). Translokacja t(9;22) BCR::ABL1 obserwowana w badaniu FISH. Zdjęcie własne.

jednostki chorobowej, ale również w monitorowaniu leczenia czy monitorowaniu choroby resztkowej.

Badanie kariotypu oraz FISH łączą się ze sobą. Obraz, który dostrzegamy przy analizie chromosomów pokrywa się z sygnałami obserwowanymi w jądrze interfazalnym. Jednakże analiza kariotypu pozwala nam dostrzec przypadki, gdy w translokację między chromosomem 9 a 22 zaangażowane są również inne chromosomy albo występują aberracje wtórne, dzięki czemu mamy więcej informacji na temat tego, co dzieje się u danego pacjenta, a to z kolei pozwala nam na dokładniejszą ocenę prognostyczną.

Po uzyskaniu badań genetycznych informujących o występowaniu fuzji BCR::ABL1 stosuje się u pacjenta leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej (hamując działanie nieprawidłowego białka, które powstało na skutek translokacji). Leczeniem pierwszej generacji jest imatynib, jednak gdy nie przynosi on pożądaných efektów, wprowadza się leki kolejnych generacji, czyli dazatynib i nilotinib, wchodzące w program lekowy. Każdy etap diagnostyki oraz leczenia jest kontrolowany pod względem obecności oraz tego, w jakiej ilości obecny jest transkrypt genu fuzyjnego (Głogowska; Minister Zdrowia, 2023).

7. Szpiczak plazmocytowy (*Multiple myeloma*, MM)

Szpiczak plazmocytowy jest jednostką chorobową, w której można zaobserwować duże zróżnicowanie cytogenetyczne, co rzutuje na jej przebieg kliniczny. Część zmian pozwala na postawienie przypuszczeń, co do przebiegu choroby oraz rokowania. Najpowszechniejsze z nich zostały zebrane w tabeli i zaklasyfikowane do poszczególnych grup ryzyka, pozwalając na wykorzystanie ich jako markery prognostyczne.

W Polsce w ramach programu lekowego w świadczeniach gwarantowanych jest wykonanie badań cytogenetycznych przy klasyfikacji do leczenia. Dzięki temu można określić czy pacjent posiada aberracje wysokiego ryzyka (w programie lekowym zostały uwzględnione: delecja w chromosomie 17 —

Tabela 3. Grupy ryzyka w MM. Opracowanie na podstawie mSMART 3.0: Classification of Active MM (Dispenzieri 2007; Kumar 2009; Mikhael 2013))

Wysokie ryzyko	Standardowe ryzyko
• t(4;14) • t(14;16) • t(14;20) • del 17p • mutacje TP53 • amp 1q • RISS-3 • wiele komórek plazmatycznych w fazie S • GEP: niekorzystna sygnatura • szpiczak „double hit”: dowolne 2 zmiany wysokiego ryzyka • szpiczak „triple hit”: 3 lub więcej zmian wysokiego ryzyka	• Wszystkie inne, wliczając w to: • trisomie • t(11;14) • t(6;14)

del(17p), translokacja t(4;14) oraz translokacja t(14;16)) i zakwalifikować go do odpowiedniego schematu leczenia. Także w przypadku podejrzenia progresji, czy przy nawrocie choroby wykonuje się badania cytogenetyczne, by w razie konieczności zmodyfikować obecnie trwającą lub wybrać nową terapię. (Minister Zdrowia, 2023)

8. Przewlekła białaczka limfocytowa (*Chronic lymphocytic leukemia, CLL*)

Jest to jedna z niewielu jednostek chorobowych w hematologii, gdzie badanie przeprowadza się z próbki krwi, a nie szpiku. W codziennej praktyce wykonuje się głównie badanie FISH panelu CLL umożliwiające określenie czynników prognostycznych, z których najważniejszym jest wykrycie delekcji

17p (del17p). Ta zmiana oraz mutacja w genie TP53 (mutTP53) i IgHV uzależniają decyzje o kwalifikacji pacjenta do poszczególnych terapii z programu lekowego. Delecja genu TP53 wykrywana w badaniu FISH jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym. (Minister Zdrowia, 2023)

9. Bibliografia

- Dispenzieri, A., Rajkumar, S. V., Gertz, M. A., Fonseca, R., Lacy, M. Q., Bergsagel, P. L., Kyle, R. A., Greipp, P. R., Witzig, T. E., Reeder, C. B., Lušt, J. A., Russell, S. J., Hayman, S. R., Roy, V., Kumar, S., Zeldenrušt, S. R., Dalton, R. J., & Stewart, A. K. (2007). Treatment of newly diagnosed multiple myeloma based on Mayo Stratification of Myeloma and Risk-adapted Therapy (mSMART): consensus statement. *Mayo Clinic proceedings*, 82(3), 323–341. <https://doi.org/10.4065/82.3.323>
- Döhner, H., Wei, A. H., Appelbaum, F. R., et. al. (2022). Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. <https://ashpublications.org/blood/article/140/12/1345/485817/Diagnosis-and-management-of-AML-in-adults-2022> [13.04.2023]
- Ferenc, T., Mordalska, A., Bratkowska, W., A. (2011). Cytogenetyka. W: G. Drewa, T. Ferenc (red.), *Genetyka medyczna* (s. 431-476). Wrocław: Edra Urban & Partner
- Głogowska, K. Przewlekła białaczka szpikowa – leczenie. <https://hematoonkologia.pl/info-o-chorobach/przewlekla-bialaczka-szpikowa-leczenie> [13.04.2023 r.]
- Heim, S., Mitelman, F. (2015). *Cancer cytogenetics. Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells*. Wiley Blackwell.
- Khoury, J. D., Solary, E., Abba, O., Akkari, Y., et. al. (2022). The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasm. <https://www.nature.com/articles/s41375-022-01613-1> [13.04.2023 r.]
- Krzakowski, M., Potemski, P., Warzocha, K., Wysocki, P. (2015). *Onkologia kliniczna Tom 3*. Via Medica.
- Kumar, S. K., Mikhael, J. R., Buadi, F. K., Dingli, D., Dispenzieri, A., Fonseca, R., Gertz, M. A., Greipp, P. R., Hayman, S. R., Kyle, R. A., Lacy, M. Q., Lušt, J. A., Reeder, C. B., Roy, V., Russell, S. J., Short, K. E., Stewart, A. K., Witzig, T. E., Zeldenrušt, S. R., Dalton, R. J., ... Bergsagel, P. L. (2009). Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines. *Mayo Clinic proceedings*, 84(12), 1095–1110. <https://doi.org/10.4065/mcp.2009.0603>
- McGowan-Jordan, J., Hastings, R. J., Moore, S. (2020). *ISCN 2020 An International System for Human Cytogenomic Nomenclature* (2020). Karger
- Mikhael, J. R., Dingli, D., Roy, V., Reeder, C. B., Buadi, F. K., Hayman, S. R., Dispenzieri, A., Fonseca, R., Sher, T., Kyle, R. A., Lin, Y., Russell, S. J., Kumar, S., Bergsagel, P. L., Zeldenrušt, S. R., Leung, N., Drake, M. T., Kapoor, P., Ansell, S. M., Witzig, T. E., ... Mayo Clinic (2013). Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines 2013. *Mayo Clinic proceedings*, 88(4), 360–376. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.01.019>
- Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dn. 20 lutego 2023 r. w sprawie wykazu leków, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego oraz wyrobów medycznych na 1 marca 2023 r. Programy lekowe 2023-03. <https://www.gov.pl/web/zdrowie/obwieszczenie-ministra-zdrowia-z-dnia-20-lutego-2023-r-w-sprawie-wykazu-lekow-srodkow-spozywczych-specjalnego-przeznaczenia-zywnieniowego-na-1-marca-2023-r> [13.04.2023 r.]
- Srebnik, M. I., Tomaszewska, A. (2008). *Badania cytogenetyczne w praktyce klinicznej*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- Wierzbowska, A., Golos, A. (2013). Współczesne poglądy na leczenie ostrej białaczki promielocytowej. https://journals.viamedica.pl/hematology_in_clinical_practice/article/view/37126/34407 [13.04.2023 r.]