

ONCOLOGICAL DISEASES

URČENIE KLINICKEJ A CYTOGENETICKEJ EFEKTÍVNOSTI IMUNOTERAPIE POLYOXIDONIOM U PACIENTOV S MELANÓMOM KOŽI.

A. S. Monakhov, V. V. Anisimov, A. S. Barchuk

GUN VÚ onkológie profesora N. N. Petrova, Federálna agentúra pre zdravotníctvo a sociálny rozvoj, Sankt-Peterburg

Resumé. Základnou úlohou tohoto výskumu bolo vyjasnenie efektívnosti polyoxidonia (PO) pri jeho adjuvantnom použití k chirurgickému liečeniu u pacientov s melanómom pokožky. Na to bola použitá cytogenetická metóda, založená na analýze porúch v metafázových chromozómoch lymfocytov periférnej krvi pacienta. Celkom bolo vyšetrených 36 pacientov s morfológicky verifikovaným melanómom pokožky I. - III. štádia ochorenia. Cytogenetické vyšetrenie sa vykonávalo v dynamike: pred začiatkom liečenia a po liečení. Iba chirurgickou metódou bolo liečených 27 pacientov (1. skupina). Ostatným 9 pacientom (2. skupina) po chirurgickom zákroku bola uskutočnená imunoterapia PO kúrami v priebehu 1 - 3 mesiacov (po 6 mg i/m každý druhý deň). U všetkých 36 chorých do začiatku liečenia pri cytogenetickom vyšetrení bolo zistené veľké množstvo (od 8 do 40 %) lymfocytov s rôznymi chromozómovými porušeniami, čo svedčilo o určitej úrovni imunodepresie u týchto pacientov. Okrem toho, u väčšiny pacientov oboch skupín podľa cytogenetických kritérií, zistených v lymfocytoch periférnej krvi, sa podarilo určiť cytogenetickú diagnózu ochorenia, ktorá sa kryla s klinickými a morfofogenetickými diagnózami, pravdepodobnosť metastázovania a vývoja metachrónnych pôvodne početných nádorov, ako aj prognózu ochorenia. Povedľa toho podľa cytogenetických kritérií je určená efektívnosť imunomodulátoru PO pri jeho adjuvantnom použití po chirurgickom liečení u pacientov s melanómom pokožky v porovnaní s „čisto“ chirurgickým liečením.

Za posledných 20 - 25 rokov prakticky všetci výskumníci pozorovali stály rast ochorenia ľudí na melanóm pokožky vo všetkých regiónoch sveta. Zároveň neľahdiac na vonkajšiu lokalizáciu tohoto nádoru, existujúca úroveň diagnostiky a liečenia melanómu v súčasnosti ju možno ťažko považovať za vyhovujúcu. Je známe, že melanóm pokožky je unikátny nádor, schopný demonštrovať zriedkavú rôznorodosť klinického priebehu. Ako bolo konštatované v mnohých výskumoch, melanóm je dnes imunitne závislým nádorom. Preto dnes na optimalizáciu liečebných metód liečenia pacientov s melanómom pokožky sa odporúča používať tiež aj imunoterapiu.

Je známe, že pri všetkých zhubných ochoreniach je možné pozorovať u pacientov značnú imunodepresiu, ktorá sa vyvíja v dôsledku porúch v genetických štruktúrach základných buniek imunitného dozoru - v lymfocytoch, ako aj pravdepodobne aj v neutrofiloch a monocytoch/makrofágoch. Pričom počet anomálnych lymfocytov v krvi, ako to bolo poukázané ešte v 80. rokoch, priamo úmerne koreluje s úrovňou imunodepresie, ktorá takisto koreluje so stupňom zhubnosti nádorového procesu. Na korekciu stavu imunitného systému onkologických pacientov sa vypracúvajú a používajú rôzne imunotropné liekové

prostriedky. Imunostimulujúce preparáty jednak napomáhajú obnovovať množstvo normálnych lymfocytov, na druhej strane, ničia všetky cudzorodé bunky vrátane zhubných. V roku 1996 v Rusku bol zaregistrovaný (č. 96/302/9, FS 42-3906-00) a povolený na používanie nový preparát na liečenie a prevenciu ochorení spojených s poruchou imunitného systému - plyoxidonium (PO), ktorý v súčasnosti je dosť preskúmaný a vyskúšaný pri rôznych zápalových a chronických ochoreniach, ako aj pri niektorých zhubných ochoreniach. Fakt úspešného používania Polyoxidonia v klinike pri ochoreniach, sprevádzaných imunodepresiou určil úlohu nášho výskumu: vyjasniť efektívnosť POLYOXIDONIA u pacientov s melanómom pokožky pri jeho adjuvantnom používaní po operácii v porovnaní s „čisto“ chirurgickým liečením.

Materiály a metódy:

Vo svetovej praxi viac ako 30 rokov a v GUN VÚ onkológie profesora N. N. Petrova (Sankt-Peterburg) približne 20 rokov sa na kontrolu efektívnosti liečenia onkologických pacientov rôznymi metódami používa cytogenetická metóda, ktorá je modifikáciou všeobecne uznávanej metódy vypracovanej Moorhead, Nowell, Mellman et al. (1960). Táto metóda je založená na výskume metafázových chromozómov v lymfocytoch periférnej krvi pacientov. Na takýto výskum stačí odobrať 0,3 - 0,6 ml krvi z prstu alebo pätky u detí raného veku alebo 6 - 8 ml venóznej krvi u dospelých. Preto táto metóda pri minimálnej invazívnosti umožňuje vykonávať mnohonásobné cytogenetické výskumy, čo je zvlášť dôležité pri monitoringu a dispensarizácii pacientov.

Za obdobie od roku 2000 do roku 2004 cytogenetické výskumy boli vykonané u 36 pacientov s morfológicky verifikovaným melanómom pokožky I. - III. štádia ochorenia. Cytogenetické vyšetrenie pacientov sa vykonávalo v dynamike: pred začiatkom liečenia a po liečení. Všetci pacienti boli rozdelení na dve skupiny: 27 pacientom bola vykonaná iba operácia (I. skupina) a 9 pacientom (II. skupina) po chirurgickom zákroku bola vykonaná imunoterapia Polyoxidoniom (po 6 mg i/m každý druhý deň v priebehu 1 - 3 mesiacov). Podľa pohlavného a vekového zloženia, ako aj podľa štádia ochorenia obidve skupiny boli rovnorodé.

Efektívnosť vykonaného liečenia sa hodnotila podľa klinických pozorovaní pacientov, podľa vzdialených výsledkov ich liečenia, ako aj podľa cytogenetických kritérií. Podľa špecifických cytogenetických porúch stabilného typu s prihliadnutím na cytogenetické údaje medzinárodnej banky, ako aj údajov v literatúre za posledné roky, sa stanovovala cytogenetická diagnóza ochorenia, ktorá sa porovnávala s klinickými a morfológickými závermi.

Výsledky výskumu:

U všetkých 36 pacientov pred začiatkom liečenia pri cytogenetickom vyšetrení bolo zistené veľké množstvo (od 8 do 40 %) lymfocytov s rôznymi cytogenetickými poruchami.

U 19 pacientov I. skupiny boli zistené buď doplnkové kópie Xp 20, alebo translokovaný materiál Xp 20; del 1p36; číselné chromozómové poruchy: +1, +7, +22, +9, +7 alebo klonové markre v Xp 9, 20 a 22, podľa ktorých sa podarilo určiť cytogenetickú diagnózu melanómu pokožky, ktorá sa zhodovala s klinickou a morfológickou diagnózou. U 4 pacientov tej istej skupiny boli zistené cytogenetické kritériá možného vývoja metachronických prvotných početných nádorov. Okrem toho, u 20 z 27 pacientov tejto skupiny bol zistený náhly nárast spektra hyperaneuploidných a polyploidných buniek a

objavenie sa dvojitých malých chromozómov, čo svedčilo o možnom metastázovaní pôvodného nádoru. U 22 pacientov tejto skupiny podľa značnej cytogenetickej poruchy bola predpovedaná recidíva ochorenia. Zároveň značné zmenšenie počtu buniek s chromozomálnymi poruchami u 5 pacientov tejto skupiny nasvedčovalo o remisii ochorenia. v súčasnosti z I. skupiny pacientov zo základného ochorenia zomrelo 11 ľudí, u ostatných 16 bolo klinicky pozorovaný vývoj nádorového procesu (miestne recidívy a/alebo metastázy), potvrdený cytogenetickými kritériami.

V II. skupine (výsledky sú uvedené v tabuľke) u všetkých 9 pacientov po prvej kúre Polyoxidonia sa klinicky objavila remisia, čo neprotirečilo cytogenetickým záverom. Je treba poznamenať, že u 3 pacientov tejto skupiny (č. 3, 4 a 6), ktorí odmietli zopakovanie odporúčanej kúry Polyoxidoniom a tým ukončili imunoterapiu, neskôr (po 4 - 6 mesiacoch) bolo klinicky zistené pokračovanie vývoja nádorového procesu (vzdialené metastázy). U 6 pacientov tejto skupiny (č. 1, 3, 5, 6, 7, 9) cytogeneticky bola stanovená diagnóza melanómu kože, ktorá zodpovedala predtým stanovenej klinickej a následne aj morfolologickej diagnóze. Takisto u všetkých pacientov II. skupiny boli zistené špecifické cytogenetické kritériá možného metastázovania, ktoré v procese dispensarizácie boli potvrdené klinicko-morfologicky zatiaľ iba u 3 pacientov (č. 3, 4, 6) pri dobe pozorovania 18 mesiacov. Okrem toho u 5 pacientov (č. 1, 2, 3, 6, 7) pri opakovanom vyšetrení boli zistené nové cytogenetické poruchy stabilného typu, čo svedčí o možnom vývoji metachromozových pôvodne-početných nádorov.

Posúdenie získaných výsledkov:

V našich predchádzajúcich experimentálnych a klinických výskumoch boli ukázané, že počet anomálnych lymfocytov v krvi prakticky všetkých pacientov s onkologickou patológiou koreluje s úrovňou imunodepresie, ktorá taktiež koreluje so stupňom zhubnosti nádorového procesu. Výsledky tejto práce svedčia o tom, že u všetkých 36 vyšetrených pacientov s melanómom pokožky pred liečením bol zistený veľký počet (od 8 do 40 %) lymfocytov s cytogenetickými poruchami. Také množstvo funkčne neplnohodnotných lymfocytov, pravdepodobne svedčí o vysokej úrovni imunodepresie u týchto pacientov.

V mnohých výskumoch je takisto uvedené, že počet anomálnych lymfocytov a charakter cytogenetických porúch v nich môže určovať cytogenetickú diagnózu zhubného ochorenia, ktorá vo väčšine pozorovaní sa zhoduje s klinickou a morfolologickou diagnózou. Okrem toho bolo zistené, že podľa cytologických údajov je možné posúdiť prognózu ochorenia, jej štádia, pravdepodobnosti metastázovania, ako aj urobiť prognózu možnosti vzniku metachronických pôvodne-početných nádorov u pacientov. V danom výskume cytogenetickú diagnózu ochorenia podľa špecifických chromozómných porúch, vedľa klinickej diagnózy sa podarilo stanoviť u 19 pacientov I. skupiny a u 6 pacientov II. skupiny. Pri cytogenetickom vyšetrení pacientov oboch skupín boli zistené niektoré kritéria metastázovania melanómu a pri opakovanom vyšetrení pacientov boli zistené znovu chromozómné poruchy stabilného typu, ktoré podľa literárnych údajov môžu byť príznakmi možného rozvoja metachromozových pôvodne-početných nádorov. V tomto výskume bola potvrdená možnosť cytogenetickej kontroly nad vykonávanou terapiou s predpoveďou ďalšieho rozvoja (recidívy) ochorenia u pacientov s melanómom kože. Táto možnosť, potvrdená početnými literárnymi údajmi, môže mať neoceniteľný význam pre adekvátne plánovanie, ako aj včasnú korekciu taktiky liečenia pacientov.

Pri porovnávacej analýze vzdialených výsledkov liečenia dvoch skupín pacientov s melanómom kože („čisto“ chirurgické liečenie alebo operácia + imunoterapia

Polyoxidoniom) je možné urobiť záver o dostatočnej efektívnosti využitia imunomodulátora - Polyoxidonia. V dobe pozorovania od jedného do troch rokov z I. skupiny (27 pacientov) zomrelo od základného ochorenia 11 ľudí; u ostatných 16 sa nádorový proces vyvíja (lokálne recidívy a/alebo metastázy), ktoré sú cytogeneticky potvrdené. V II. skupine u všetkých pacientov po prvej kúre Polyoxidonia (údaje v tabuľke) sa pozorovalo zníženie počtu chromozómných porúch o 2-3krát, čo svedčilo o výraznom imunoterapeutickom efekte Polyoxidonia. V súčasnosti 6 pacientov tejto skupiny žijú bez príznakov recidívy, a u 3 pacientov, ktorí odmietli pokračovanie liečby Polyoxidoniom, v súčasnosti sú klinicky zistené vzdialené metastázy melanómu, čo sa potvrdilo aj cytogenetickými kritériami.

Výskumné výsledky, ktoré sme získali je zatiaľ treba považovať za predbežné z dôvodov malého počtu vyšetrených pacientov a relatívne krátkej doby ich pozorovania.

Záver:

Predbežné výsledky našej práce ukázali, že u väčšiny pacientov s melanómom kože podľa cytogenetických kritérií zistených v lymfocytoch z periférnej krvi môže byť stanovená:

- úroveň imunodepresie,
- cytogenetická diagnóza ochorenia, ktorá vo väčšine pozorovaní je zhodná s klinickými a morfológickými diagnózami; pravdepodobnosť metastázovania a vývoja metachromozových pôvodne - početných nádorov, ako aj prognóza ochorenia.

Okrem toho podľa cytogenetických kritérií je zistená vysoká efektívnosť imunomodulátora POLYOXIDONIA pri jeho adjuvantnom použití po chirurgickom liečení pacientov s melanómom kože v porovnaní s „čisto“ chirurgickým liečením.

Literatúra:

- 1., Vagner R.I., Anisimov V.V., Barchuk A.S.
Melanom kože. Sb., 1996, č.2
- 2., D'ykonova V.A., Burakov V.V., Dambaeva S.V., Pinegin B.V.
Mechanizmus účinku a klinicke použitie polyoxidonia.
M. 2004, Vid. 3. str.5-21
- 3., Imunológia. No.6, 2002
Mechanizmus účinku a klinicke použitie domaceho imunomodulátora polyoxidonia.
- 4., Klinicke aspektz použitia polyoxidonia : Metodické pokyny pre lekárov. Moskva 2003
- 5., MakinodanT., Yunis E.
Imunológia a starnutie. Moskva 1986
- 6., Mechanizmus účinku a klinicke použitie polyoxidonia. Zborník prác. M. 2004, Vid.3
- 7., Monachv A.S.
Cytogeneticke sledovanie mutagenného účinku inkorporovaných radionuklidov.
Vnútrošná lit. obzor. VINITI., N 2726-1386. M. , 1986
- 8., Monachov A.S., Vetuch V.A.
Radiálna hygiena. L., 1986. vid.15., str.123-126
- 9., ...Monachov A.S.
Radiobiologia. 1987. Tom 27., No.5., str.691-693
- 10., Monachov A.S., Strekalov S.A., Sokolov A.V., Avezanova T.K.
Radiálna hygiena. L., 1987., str.80-83
- 11., Monachov A.S.
Radiobiologia. 1988. Tom 28., No.3., str.381-384

- 12., Monachov A.S.
Experimentalna onkologia. 1988., T.10., No.4., str.27-30
- 13., Monachov A.S., Zakovleva T.K., Anisimov V.N.
Cytologia. T.30., No.9., str.66-67
- 14., Monachov A.S.
Cytogenetické kriteriá hodnotenia citlivosti organizmu k chemo- a radioterapii v závislosti od veku onkologického pacienta. Metodická príručka pre lekárov a vedeckých pracovníkov. Sb., 1998
- 15., Monachov A.S.
Otázky onkológie. 2001., No.4., str.401-407
- 16., Monachov A.S., Aksenov A.V., Knyazev P.G. a kol.,
Otázky o onkológie. 2002., No.2., str. 179-185
- 17., Norec T.A., Debov V.I., Goncharova A.Y., Anochin Y.N.
Radiácia a organizmus. M. 1980., str. 705-711
- 18., Pinegin B.V.
Imunomodulatory. Súčasne aspekty použitia v praktickej medicíne. Sb., 2003. str.1-8
- 19., Polyoxidonium v komplexnej terapii onkologických pacientov. Sb., 2004
- 20., Polyschuk L.Z., Hesina I.P.
Cytológia a genetika. 1990. T.24., No.6., str. 46-56
- 21., Bonassi S., Abbodandolo A., Camurri L. Et al.
Cancer genet. Cytogenet. 1995. Vol.79., N.2 p.133-135
- 22., Frieriech E.J.
Med. Oncol. Tumor Pharmacother. 1991. p.155-158
- 23., Ghazee H.K., Kinney C.P., Pathak S.
Int.J.Oncol. 1997. vol.11., N.4., p.681-684
- 24., Hagmar L., Brogger A., Hansteen I.L. et. Al.
Cancer res. 1994. vol.54., N.11., p.2919-2922
- 25., Lynch M., Ruiz A., Puig S. Et al.
Ann. Hum. Genet. 1997. Vol.61., N.3., p.215-216
- 26., Marras S., Faa G., Dettori T. Et al.
Cancer Genet. Cytogenet. 1999. Vol.113., p.177-179
- 27., Mitelman F.
Int. J. Oncol. 1999. Vol.11, N.4, p.110
- 28., Mitelman F., Heim S.
Cancer Detect. Prevent. 1990. Vol.14, p.527-537
- 29., Mitelman F., Heim S.
Challenges of Modern Medicine. Pre-cancerous Lesions“ A Multidisciplinary Approach.
Rome. 1993. p.91-98
- 30., Mitelman F.
Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer. 5-th., Ed. New York, 1994. p.4252
- 31., Mitelman F., Mertens F., Johansson B.
Nat. Genet. 1997. Vol.15. p.417-474
- 32., Monakhov A.S., Yakovleva T.K., Anisimov V.N.
Exp. Clin. Cancer Res. 1992. Vol.11., p.71-81
- 33., Monakhov A., Semiglazov V., Bregneva T.
J. Exp. Clin. Cancer Res. 1995. Vol.14, N.3, p.265-269
- 34., Monakhov A.S., Gulyaev A.V., Savochnikina I.V., Hanson K.P.
J. Exp. Clin. Cancer Res. 1997. Vol.16, N.4, p.385-388
- 35., Monakhov A.S., Gulyaev A.V., Aksenov A.V., Hanson K.P.
J. Exp. Clin. Cancer Res. 2002. Vol.21, N.3, p.187-189

- 36., Monakov A S., Wagner R.I.
J. Exp. Clin. Cancer Res. 2003. Vol.22, N.3, p.421-423
- 37., Moorhead P.S., Nowell P.G., Mellman W.T. et al.
Exp. Cell Res. 1960. Vol.20, p.613-616
- 38., Nelson M.A., Radmecher M.D., Simon R. Et al.
Genet. Cytogenet. 2000. Vol.122, p.101-109
- 39., Paia S.A., Cheunga Mie-Chi P., Romsdahlb M.M. et al.
Cancer Genet. Cytogenet. 1999. Vol.109, N.1, p.51-57
- 40., Pedersen-Bjergaard J., Philip P. Et al.
Leukemia. 1993. Vol.7, N.12, p.1975-1986
- 41., Sanberg A.A.
Cancer *J. Clin. 1994. Vol.44, N.3, p. 136-159
- 42., Thompson F.H., Emerson J., Olson S. Et al.
Cancer Genet. Cytogenet. 1995. Vol.83, p.93-104
- 43., Udayakumar A.M., Krishna Bhargava M.
Ann. Genet. 1994. Vol.37, N.4, p.192-195

Tabuľka č. 1

Č. pac.	Pohlavie, vek	Klinická a histologická diagnóza	Liečenie	Údaje cytogenetického vyšetrenia	Záver z každého cytogenetického vyšetrenia a prognóza
1	2	3	4	5	6
1	M., 37 rokov	<p><u>Klinická diagnóza:</u> melanóm pokožky ľavej axilárnej oblasti bez metastáz v ľavých podpazušných lymfatických uzlinách</p> <p><u>Histologická diagnóza:</u> epiteidne bunkový melanóm, IV. úroveň invázie podľa Clarka, lymfatické uzliny bez metastáz</p>	<p>1. Veľké rozsekanie pôvodného nádoru + monobločná podpažušná lymfadenektómia zľava.</p> <p>2. Po 5. vyšetrení odporúčaný PO i/m po 6 mg každý druhý deň v priebehu 2 mesiacov</p> <p>3. Po 6. vyšetrení odporúčaná opakovaná kúra PO v priebehu 3 mesiacov.</p>	<p>1. Prvotné vyšetrenie: zistené 14 % hyperaneuploidné bunky.</p> <p>2. Po 2,5 mes. po operácii 2% hyperaneupl. bunky a 2% s párovými fr.</p> <p>3. Po 12,5 mes. po operácii: 8% hyperaneupl. bunky, 6 % bunky s chromos. prerušeniami</p> <p>4. Po 18 mes. po operácii: 10% hyperaneupl. bunky, 4% bunky s chromos. prerušeniami</p> <p>5. Po 23 mes. po operácii: 5,1% hyperaneupl. bunky, 1,3% polypl. bunky, po 1,2 % bunky s chromos. prerušeniami i s t a 0,5% bunky del a HOR</p> <p>6. Po 24,5 mes. po 1 mes. kúre PO: 9,5% hyperaneupl. bunky s makrermi v podobe trisomie 17 a 22 chromozómami, 7% buniek s dicentrikmi.</p> <p>7. Po 28,5 mes. po operácii a opakovanej kúry PO: 1,3% buniek s endomytózami a jednotlivé bunky s párovými fragmentmi.</p> <p>8. Kontrolné vyšetrenie po 35 mes. po operácii a po 6,5 mes. po opakovanej kúre PO: 2% hyperaneupl. bunky (v jednej bunke bol zistený marker melanom-trisomia 20 a 22 chromoz.) po 1 % polypl. bunky s chromoz. prerušeniami a kruhovým chromozómom.</p>	<p>1. Podľa cytogenetických kritérií je zistený agresívny zhubný proces s metastázovaním.</p> <p>2. Po operácii - stav remisie: zmenšenie počtu anomálnych buniek 5-7 násobné a proces ich rozrušovania.</p> <p>3. Recidíva ochorenia: nové zvýšenie počtu anomálnych buniek, vrátane markerov metastázovania.</p> <p>4.,5. Rozvoj nádorového procesu a zistenie buniek s novými stabilnými poruchami.</p> <p>6. Po 1 mesiaci kúry s PO efekt nedosiahnutý, zistenie veľkého počtu buniek-markerov melanómu.</p> <p>7. Po opakovanej 3 mes. kúre PO výrazný kladný efekt - stav remisie.</p>
2	M, 44 rokov	<p><u>Klinická diagnóza:</u> melanóm kože stehna</p>	<p>1. Veľké rozsekanie nádoru.</p>	<p>1. Prvotné vyšetrenie: 7,5% anomálnych bn., z ktorých 3,7% sú polypl., 2,5% - hyperaneupl.</p>	<p>1. Zistený zhubný proces s metastázovaním.</p>

1	2	3	4	5	6
		<u>Histologická diagnóza:</u> epiteloidný bunkový melanóm, III. štádium invázie podľa Clarka	2. Odporúčaná kúra PO v priebehu 3 mes. 3. Na zosilnenie prvotného efektu PO je odporúčané jeho opakovanie	bn., a 1,3% bn. s inv 17 chromozómu. 2. Po 3 mes. kúre PO: 3,3% anomálnych bn., z ktorých 1,0% je hyperaneupl. bn., a 2,3% bn. s chromoz. prerušeniami.	2. Kladný efekt PO: stav remisie
3	M., 63 rokov	<u>Klinická diagnóza:</u> melanóm kože s metastázami do pravých podpazušných uzlín <u>Histologická diagnóza:</u> vretenobunkový melanóm IV. úrovne invázie podľa Clarka. Veľká metastáza melanómu do lymfatickej uzliny s úsekmi nekrózy	1. Veľké rozsekanie melanónu pokožky chrbta + radikálna podpazušná lymfadenektómia sprava. 2. Po kontrolnom vyšetrení je odporúčaná kúra PO v priebehu 3 mesiacov.	1. Prvotné vyšetrenie: 10,4% anomálnych bn., medzi ktorými je 6,0% polypl. a 4,4% hyperaneupl. bn. 2. Kontrolné vyšetrenie po 1,5 mes.: zistené 9% hyperaneupl. bn. s trisomiou 1, 2, 11 a 21 chromozómov. 3. Po 3 mes. kúre PO: 1,8% hyperaneupl. bn., 5% polypl. bn. a jednotlivé bunky s párovými fragmentmi.	1. Zistený agresívny zhubný proces. 2. Po prvej kúre PO kladný efekt: stav remisie. Ale pretože sa zachovali hyperaneupl a vo veľkom množstve polypl. bn. a tiež pri kontrolnom vyšetrení zistené bunky-markre melanómu, je možná recidíva po 2-3 mesiacoch. 3. Pretože sa zachovali hyperaneupl. a polypl. bn., na zosilnenie 1. kúry PO je nutná opakovaná 3 mes. kúra PO. 4. Opakovanú kúru PO neurobil a po 6 mes. je klinicky zistený stav recidívy.
4	Ž, 20 rokov	<u>Klinická diagnóza:</u> melanóm pokožky ľavého stehna so súčasne sa rozvíjajúcimi region. metastázami v ľavých slabi-	1. Veľké rozsekanie melanómu + operácia Dukena zľava. 2. Odporúčaná kúra PO v priebehu 3 mes.	1. Prvotné vyšetrenie: iba 22,5% anomálnych bn., 7,5 % hyperaneupl. bn., 2,5% bn. so zložitou t a s chrom. preruš., 10,0% bn. s dicentrikmi. 2. Po 1,5 mes. 3% bn. s chromoz. a chromat.	1. Zistený agresívny zhubný proces s metastázovaním. 2. Po 1. kúre PO zistený kladný efekt PO: stav remisie.

1	2	3	4	5	6
		nových uzlinách <u>Histologická diagnóza:</u> 1) melanóm, 2) metastázy melanómu v dvoch lymfatických uzlinách	3. Odporúčaná opakovaná kúra PO v priebehu 1 mesiaca	prerušeniami. 3. Po 1. kúre PO: 1,68% hyperaneupl., 0,5% polypl. bn. a 0,5% bn. s párovými fragmentmi	3. Opakovanú kúru PO neurobila a po 4 mes. klinicky zistený stav recidívy
5.	Ž, 45 rokov	<u>Klinická diagnóza:</u> melanóm pokožky ľavej časti sedacieho svalu <u>Histologická diagnóza:</u> zmiešaný bunkový melanóm, III. úroveň invázie podľa Clarka	1. Veľké rozsekanie melanómu s plastikou miestnym tkanivom. 2. Odporúčaná kúra PO v priebehu 3 mes. 3. Odporúčené opakovanie kúry PO v priebehu 3 mesiacov.	1. Prvotné vyšetrenie: 11,6% anomálnych bn., medzi ktorými je 10,0% hyperaneupo. s trisomiou 20, 22, 9, 19 a 17 chromoz., <i>del</i> v 3,5q, 4p, <i>t</i> v Xq. 2. Po 20 dňoch po operácii opakované kontrolné vyšetrenie: zistené 26% hyperaneuplo bn. s trisomiou 20 a 3 chromoz. 3. Po 3 mesiacoch kúry PO: zistené 11,5% hyperaneupl. a 6,1% polypl. bn.	1. Zistený agresívny zhubný proces s metastázovaním. Zistené značné množstvo buniek - markerov melanómu. 2. Po kúre PO zistená stabilizácia nádorového procesu, ale zostala zachovaná vysoká hladina anomálnych buniek. Je možná skorá recidíva.
6	Ž, 58 rokov	Klinická diagnóza: melanóm pokožky chrbta s region. metastázami do ľavých podpazušných lymfatických uzlín. Histologická diagnóza: epitelioidno bunkový melanóm, IV úroveň podľa Clarka s metastázami do lymfatických uzlín	1. Veľké rozsekanie pôvodného nádoru + radikálna podpazušná lymfadenektómia zľava. 2. Odporúčaná kúra PO v priebehu 3 mesiacov. 3. Je nutná opakovaná kúra PO v priebehu 3 mesiacov.	1. Prvotné vyšetrenie: 13,9% anomálnych buniek, 3,8% hyperaneupl. bn. s trisomiou 20, 31, 22, 7, 8, 9, X a 10 chromoz., po 2,5 % bn. s <i>dm</i> , s inv v 2 Xp a po 1,2% bn. s chromoz. preruš. a s chromat. krúžkom, 2,5% bn. s <i>t</i> v 1q. 2. Opakovane po 3 mes. kúre PO bolo zistené 9,8% anomálnych bn., medzi ktorými bolo 2,3% hyperaneupl. bn., 3,2% bn. s chromoz. preruš., 2,5% bn. s chromat. preruš. a 1,8% bn. s <i>t</i> a <i>del</i> v 1 a 3 chromozomoch.	1. Zistený agresívny zhubný proces s metastázovaním. Takisto zistený značný počet buniek - markerov melanómu. 2. Po 1. kúre PO bola zistená stabilizácia nádorového procesu, ale zachovávala sa vysoká hladina anomálnych buniek, ako aj rozvoj metachromozových prvotno početných nádorov. 3. Opakovanú kúru PO neurobila. Klinicky sa preja-

					6
7	Ž, 32 rokov	<p><u>Klinická diagnóza:</u> melanóm. Pri medickeo-genetickej konzultácii bolo zistené, že u všetkých pokrvných príbuzných je veľké množstvo pigmentových névusov pokožky (displastický nevosový syndrom)</p> <p><u>Histologická diagnóza:</u> melanóm pokožky chrbta s II. úrovňou invázie podľa Clarka</p>	<p>1. Rozsiahle rozsekanie prvotného nádoru.</p> <p>2. Odstránenie veľkého pigmentového névusu pokožky krku.</p> <p>3. Po 2. kontrolnom cytologickom vyšetrení je odporúčaná 2-mesačná kúra PO.</p> <p>4. Po 3. cytogenetickom vyšetrení je odporúčaný opakovaný 3-mesačná kúra PO.</p>	<p>1. Prvotné vyšetrenie: 6,0% anomálnych bn., medzi nimi 4,0% hyperaneupl. bn. s trisom. 22 a X-Xp a 2,0% bn. s poruš. v 6q.</p> <p>2. Opakované kontrolné zistenie po 2% hyperaneupl. (s trisomiou 3, 5, 7, 9, 10, 16, 19, 20, 22 chromoz. a <i>del</i> v 2p i polypl. bn. a jednotlivé bunky s laterálnou <i>t</i> a par. fr.</p> <p>3. Po 6 mes. po 2. vyšetrení a po 2-mesačnej kúre PO (6 mg každý druhý deň i/m): 7% anomálnych buniek, z ktorých po 2,6% hyperaneupl. bn., a bn. s chromozom. rozdelením a 1,8% bn s <i>dm</i> !</p> <p>4. Po 1,5 mes. po začiatku 3-mesačnej kúry PO: 2% hyperaneupl. bn.</p>	<p>vila recidíva.</p> <p>1. Zistený zhubný proces a diagnóza podľa markerov - melanóm pokožky a metastázovanie.</p> <p>2. Po 1. kúre PO počet anomálnych bn. sa zmenšil skoro dvakrát, ale zostali bn. s markermi melanómu. Kladný efekt PO. Stav remisie.</p> <p>3. Po 2. kúre PO príznaky eliminácie anomálnych bn., ale zachovali sa s markermi metastázovania.</p> <p>4. Po 3. kúre PO počet buniek - markerov metastázovania sa zmenšil dvakrát.</p> <p>3. Navrhnuté vyšetrenie dcéry pacientky.</p>
8	M, 62 rokov	<p><u>Klinická diagnóza:</u> melanóm pokožky pravého stehna</p> <p><u>Histologická diagnóza:</u> povrchovo sa šíriaci epiteloidný zhubný melanóm, III. úroveň invázie podľa Clarka</p>	<p>1. Rozsiahle rozsekanie prvotného nádoru.</p> <p>2. Odporúčaná kúra PO v priebehu 3 mesiacov.</p> <p>3. Odporúčaná opakovaná kúra v priebehu 3 mesiacov.</p>	<p>1. Prvotné vyšetrenie: 15,2% anomálnych buniek, medzi ktorými bolo 6,5% polypl. a po 4,3% hyperaneupl. bn. a bn. s dicentrikmi.</p> <p>2. Po 10 mes. a 20 dňoch po operácii a po prvej 3-mesačnej kúre PO: zistené 6,2% hyperaneupl. bn. (trisomia 21 chromozómy), 2,6% polypl. bn. a jednotlivé bn. s <i>t</i> a chromoz. prerušeniami.</p> <p>3. Po 16,5 mes. po operácii a po druhej 3-mes. kúre PO: 4,4% polypl. bn., 3% bn. s malými</p>	<p>1. Zistený agresívny zhubný proces s príznakmi metastázovania.</p> <p>2. Po prvej kúre PO - stabilizácia počtu anomálnych buniek, ale zachoval sa veľký počet hyperaneupl. bn. Objavili sa jednotlivé bn. s novými stabilnými poruchami. Je možný rozvoj</p>

1	2	3	4	5	6
				pár. fr., po 1,4% bn. s krúžkovým chromozómom a hyperaneupl. bn.	metachromozových prvotne početných nádorov. 3. Po 2. kúre PO značný počet anomálnych buniek sa rozrušuje, ale zostáva veľký počet polypl. bn.
9	Ž, 47 rokov	<u>Klinická diagnóza:</u> melanóm pokožky pravej okoloušnej oblasti. <u>Histologická diagnóza:</u> zmiešano-bunkový melanóm, IV. úroveň invázie podľa Clarka	1. Rozsiahle posekanie melanómu pokožky pravej okoloušnej oblasti. 2. Resekcia spodného pólu slinnej žľazy + operácia Wanacha sprava podľa 2. variantu z dôvodov metastázy melanómu do lymfatických uzlín krku. 3. Odporúčaná kúra PO v priebehu 3 mes. 4. Odporúčané opakovanie kúry PO v priebehu 3 mesiacov.	1. Prvotné vyšetrenie: 7,5% hyperaneupl. buniek s trisomiou v 1 a 20 chorozóme v niektorých z nich, 2,5% polypl. bn. 2. Po 3 mesiacoch po prvej 3-mesačnej kúre PO: 1,6% polypl. bn.	1. Po operácii zostalo značné množstvo anomálnych buniek s markermi melanómu. Agresívny zhubný proces s príznakmi metastázovania. 2. Kladný efekt PO. Stav remisie.

Skratky v tabuľke: 1) hyperaneuploidné bunky - hyperaneupl. bn.; 2) polyploidné bunky - polypl. bn.; 3) bunky s chromozómovými alebo chromatidnými prerušeniami - bn. s chromos., chromat. prer.; 4) homogénne sfarbené oblasti chromozómov - HOR; 5) delecie úsekov chromozómov - del; 6) translokácia (prenos úsekov chromozómov) - t; 7) párové fragmenty - pár. fr.; 7) inv - inverzie chromozómových úsekov; 8) double minute chromosomes (*dm*) - dvojité malé chromozómy.