

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI  
LÉKAŘSKÁ FAKULTA

VYBRANÉ DIAGNOSTICKÉ ASPEKTY  
KOMPLIKACÍ LOKOREGIONÁLNÍ LÉČBY

Dizertační práce

MUDr. Jana Mergancová

Olomouc

2022

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

VYBRANÉ DIAGNOSTICKÉ ASPEKTY KOMPLIKACÍ  
LOKOREGIONÁLNÍ LÉČBY

Dizertační práce

MUDr. Jana Mergancová

Školitel: prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D.

Onkologie

Doktorský studijní program

Olomouc

2022

## Poděkování

Děkuji svému školiteli, profesoru MUDr. Bohuslavu Melicharovi, Ph.D. nejen za cenné odborné rady a metodické vedení v průběhu celého doktorského studia, ale také za podporu a čas, který mi věnoval při zpracování výsledků, publikací a tvoření disertační práce.

Děkuji kolegům a kolegyním z Chirurgické kliniky Pardubické nemocnice za spolupráci na praktické části studie. Hlavně pak děkuji kolegyni, mamce a mé životní učitelce, MUDr. Jindřišce Mergancové, která je mi od dětství vzorem a která stála u všech mých prvních krůčků, nejen těch chirurgických.

Za laboratorní zpracování biochemických výsledků patří velké poděkování doc. RNDr. Lence Kujovské Krčmové, Ph.D. z Výzkumné laboratoře III. interní gerontometabolické kliniky FN Hradec Králové.

Dále bych chtěla poděkovat doc. PhDr. Janě Marii Havigerové, Ph.D. a Mgr. Anně Lierové, Ph.D. za významnou pomoc při statistickém zpracování dat.

A v neposlední řadě děkuji mé rodině, Michalovi, Denise a Vojtíškoví, za trpělivost, velkou podporu a za čas, který jsem s nimi při psaní práce nebyla.

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma „Vybrané diagnostické aspekty komplikací lokoregionální léčby“ vypracovala samostatně a s použitím uvedené literatury a pramenů.

V Pardubicích dne 5.11.2022 MUDr. Jana Mergancová

Motto:

**„Chirurg musí mít tři základní vlastnosti:  
srdce lva, oko jestřába a jemné ruce ženy“**

John Halle, anglický chirurg, spisovatel a básník

# Obsah

---

1. Anotace	str. 14
2. Úvod do problematiky	str. 16
3. Karcinom prsu	str. 17
a. Incidence, mortalita, prevalence karcinomu prsu	str. 17
b. Vývoj chirurgické léčby	str. 18
I. Primární chirurgická léčba	str. 19
Výkon na prsu	str. 19
Výkon v axile	str. 21
II. Chirurgická léčba po neoadjuvanci	str. 27
Výkon na prsu po neoadjuvantní léčbě	str. 28
Výkon v axile po neoadjuvantní léčbě	str. 30
III. Rekonstrukční výkony	str. 32
IV. Paliativní chirurgická léčba	str. 33
V. Chirurgická léčba karcinomu prsu u muže	str. 34
VI. Chirurgická léčba karcinomu prsu v těhotenství	str. 34
4. Maligní melanom	str. 36
a. Incidence a mortalita maligního melanomu	str. 36
b. Vývoj chirurgické léčby	str. 36
5. Lokoregionální komplikace léčby	str. 44
a. Pooperační	str. 44
I. Časně – seromy, ranné infekce	str. 44
II. Pozdní – lokální recidivy	str. 45
b. Postiradiační angiosarkom prsu	str. 48
6. Biomarkery v diagnostice lokoregionálních komplikací	str. 53
a. Neopterin	str. 53
b. Tryptofan–kynurenin	str. 54
7. Cíl práce	str. 56
8. Metodika	str. 57
a. Metodika léčby	str. 58
b. Metodika sběru vzorků	str. 61

c. Laboratorní metodika stanovení neopterinu, kynureninu a tryptofanu v seromu z operační rány	str. 61
I. Princip metody	str. 61
II. Úprava vzorku před HPLC analýzou	str. 61
d. Metodika sběru dat prospektivní studie	str. 62
e. Metodika sběru dat retrospektivní studie RAAS	str. 62
f. Statistická analýza	str. 63
9. Výsledky	str. 64
10. Diskuze	str. 83
11. Závěr	str. 88
12. Literatura	str. 89
13. Seznam vlastních prací	str. 104

## Seznam zkratek

AC/T	režim chemoterapie (antracyklin + cyklofosfamid/taxany)
AS	angiosarkom
ASA	American Society of Anesthesiologists
ATB	antibiotikum
BC	breast cancer, karcinom prsu
BCS	breast conservative surgery, prs zachovný výkon
BMI	Body Mass Index
CRP	C reaktivní protein
DCIS	duktální karcinom in situ
Dg	diagnóza/diagnostická
DHNO	7,8-dihydro-neopterin
EA	exenterace axily
ER	estrogenové receptory
G	grading
GTP	guanosin trifosfát
HER2/neu	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2, transmembránový protein
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HR	hormonální receptory
I <sup>125</sup>	jód
IDO	indolamin 2,3-dioxygenáza
ICH GCP	směrnice
INF- $\gamma$	interferon $\gamma$
ISH	in situ hybridizace, molekulární cytogenetické vyšetření



JIP	jednotka intenzivní péče
KOC	komplexní onkologické centrum
LR	lokální recidiva
LRFS	local recurrence free survival, doba do progresu onemocnění
M / Ž	muž / žena
ME	mastektomie, úplné odstranění prsní žlázy
MM	maligní melanom
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NE	not examined, nebylo vyšetřeno
NCHT	neoadjuvantní chemoterapie
OS	overall survival, celkové přežití
PET	pozitronová emisní tomografie
PR	progesteronové receptory
PTPS	6-pyruvoyl-tetrahydropterin syntáza
R0, R1 a R2	hodnocení čistoty resekcčních okrajů pod mikroskopem
RAAS	postiradiační angiosarkom
RT	radioterapie
RTG	rentgen
SU	sentinelová uzlina
SÚKL	státní ústav pro kontrolu léčiv
TAD	cílená axilární disekce
Tc <sup>99m</sup>	Technecium
TNM	klasifikace zhoubných nádorů - tumor, uzlina, metastáza
UZ	ultrazvuk

## Seznam tabulek

<b>Tabulka č. 1:</b> <i>Demografická data pacientů</i>	str. 64
<b>Tabulka č. 2:</b> <i>Data spojená s tumorem u pacientek s karcinomem prsu</i>	str. 65
<b>Tabulka č. 3:</b> <i>Data spojená s operační léčbou</i>	str. 66
<b>Tabulka č. 4:</b> <i>porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro neopterin</i>	str. 68
<b>Tabulka č. 5:</b> <i>porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro tryptofan</i>	str. 69
<b>Tabulka č. 6:</b> <i>porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro kynurenin</i>	str. 70
<b>Tabulka č. 7:</b> <i>porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro poměr kynurenin/tryptofan</i>	str. 71
<b>Tabulka 8:</b> <i>porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro poměr neopterin/tryptofan</i>	str. 72
<b>Tabulka č. 9:</b> <i>Souhrnné koncentrace biomarkerů v seromu, srovnání vzorků stabilizovaných argonem a bez argonu</i>	str. 72
<b>Tabulka č. 10:</b> <i>koncentrace biomarkerů v seromu z rány na prsu a v axile</i>	str. 73
<b>Tabulka č. 11:</b> <i>koncentrace biomarkerů v seromu z rány v axile u pacientů s karcinomem prsu po operačním výkonu, různé dny odběry</i>	str.74
<b>Tabulka č. 12:</b> <i>Demografická a klinická data a naměřené koncentrace neopterinu, kynureninu a tryptofanu a poměr hladin kynurenin/tryptofan a neopterin/tryptofan u pacientek s maligním onemocněním prsu</i>	str. 75
<b>Tabulka č. 13:</b> <i>Demografická a klinická data a naměřené koncentrace neopterinu, kynureninu a tryptofanu a poměr hladin kynurenin/tryptofan</i>	

*a neopterin/tryptofan u pacientů s kožním maligním melanomem* str. 76

**Tabulka č. 14:** *Data spojená s primárním karcinomem prsu* str. 78

**Tabulka č. 15:** *Data spojená s léčbou RAAS* str. 79

## Seznam grafů

<b>Graf č. 1:</b> <i>Vývoj incidence a mortality u karcinomu prsu v ČR</i>	str. 17
<b>Graf č. 2:</b> <i>Zastoupení jednotlivých stádií karcinomu prsu</i>	str. 18
<b>Graf č. 3:</b> <i>Vývoj incidence a mortality u maligního melanomu v ČR</i>	str. 36
<b>Graf č. 4:</b> <i>Křivka local recurrence free survival - LRFS (n=44)</i>	str. 80
<b>Graf č. 5:</b> <i>Analýza 3letého přežití RAAS (n=43)</i>	str. 81
<b>Graf č. 6:</b> <i>Analýza 5letého přežití RAAS (n=33)</i>	str. 82

## Seznam obrázků

<b>Obr. č. 1:</b> <i>Frankeho vodič</i>	str. 20
<b>Obr. č. 2:</b> <i>modře zbarvená axilární SU</i>	str. 22
<b>Obr. č. 3:</b> <i>alergická reakce po aplikaci Patentní modři</i>	str. 23
<b>Obr. č. 4:</b> <i>provedení core cut biopsie axilární LU</i>	str. 27
<b>Obr. č. 5:</b> <i>Mamografický nález před léčbou a po neoadjuvantní léčbě</i>	str. 28
<b>Obr. č. 6:</b> <i>značení okrajů tumoru uhlíkem</i>	str. 30
<b>Obr. č. 7:</b> <i>uhlíkem značená axilární uzlina</i>	str. 31
<b>Obr. č. 8:</b> <i>lokálně pokročilý tumor prsu</i>	str. 33
<b>Obr. č. 9:</b> <i>stav po provedení paliativní totální mastektomie</i>	str. 34
<b>Obr. č. 10:</b> <i>lokálně pokročilý MM</i>	str. 37
<b>Obr. č. 11:</b> <i>modře zbarvená SU a její lymfatická drenáž v tříse</i>	str. 39
<b>Obr. č. 12:</b> <i>modře zbarvená SU, černě zbarvené drobné axilární LU s metastázou MM</i>	str. 40
<b>Obr. č. 13:</b> <i>SU v kubitě</i>	str. 42
<b>Obr. č. 14:</b> <i>SU v popliteální oblasti</i>	str. 42
<b>Obr. č. 15:</b> <i>SU uložena při úhlu mandibuly</i>	str. 43
<b>Obr. č. 16:</b> <i>Lokální recidiva v pravém prsu</i>	str. 46
<b>Obr. č. 17:</b> <i>lokální recidiva MM v jizvě po amputaci palce</i>	str. 47
<b>Obr. č. 18:</b> <i>lymfangiosarkom v terénu chronického lymfedému horní končetiny</i>	str. 48
<b>Obr. č. 19:</b> <i>drobná nenápadná ložiska RAAS</i>	str. 50
<b>Obr. č. 20:</b> <i>četné ložiskové postižení RAAS</i>	str. 51

# 1. Anotace

---

**Cíl:** Biomarkery predikující prognózu onemocnění či účinnost systémové léčby na sebe dnes stahují většinu pozornosti. V tomto ohledu sledování a porovnání hladiny neopterinu, kynureninu a tryptofanu v tělesných tekutinách ukazuje příznivé výsledky. Markery predikující komplikace lokoregionální terapie jsou v onkochirurgii zatím používány velmi omezeně. Cílem studie je ověřit možnost detekce neopterinu, kynureninu a tryptofanu v seromu z operační rány, stanovit jejich koncentrace a korelovat výsledky s rannou infekcí. V rámci studie dále bylo provedeno multicentrické zhodnocení dat pacientů s postiradiačním angiosarkomem prsu.

**Metodika:** Prospektivní klinická studie se zaměřuje na pacienty s nádorovým onemocněním prsu nebo kožním maligním melanomem po operačním výkonu. V průběhu pooperačního období byly monitorovány hladiny neopterinu, kynureninu a tryptofanu a jejich poměry v tekutině z operační rány. Retrospektivně byla zhodnocena data pacientů s diagnózou RAAS v období 01/2000–12/2017 ve dvanácti onkologických centrech v ČR i na Slovensku.

**Výsledky:** Do pilotní studie bylo zařazeno dvaadvacet pacientů, 16 žen a 6 mužů, operovaných pro nádor prsu ( $n=15$ ) nebo maligní melanom ( $n=7$ ), byla hodnocena koncentrace neopterinu, kynureninu a tryptofanu metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Ve srovnání koncentrací v seromu z operační rány v oblasti prsu a axily byla nalezena statisticky významně vyšší koncentrace poměru neopterin/tryptofan z rány v oblasti prsu, v ostatních sledovaných parametrech statisticky významný rozdíl pozorován nebyl. Z 56 pacientů s RAAS byla zastižena lokální rekurence u 43 % pacientů, 3leté přežití bylo 56 % a 5leté přežití 33 %. 46 % pacientů v průběhu follow-upu zemřelo.

**Závěr:** Prokázali jsme, že metabolity neopterinu, kynureninu a tryptofanu jsme schopni detekovat v tekutině z operační rány a mohly by být použity k monitoraci lokální imunitní odpovědi po operačním výkonu.

**Klíčová slova:** neopterin, kynurenin, tryptofan, karcinom prsu, maligní melanom, infekce v ráně

# 1. Summary

---

**Aim:** Nowadays, biomarkers predicting the disease prognosis or the effectiveness of systemic treatment are in the center of attention. From this perspective, monitoring and comparison of neopterin, kynurenine and tryptophan levels in bodily fluids look promising. In oncologic surgery, however, markers predicting complications of locoregional therapy are so far used relatively rarely. This study aimed to verify the possibility of detecting neopterin, kynurenine and tryptophan in the wound seroma, determine their concentrations and correlate the results with wound healing. Moreover, a multicentre evaluation of data from patients with radiation-associated angiosarcoma of the breast (RAAS) was also performed.

**Methods:** This prospective clinical trial focuses on patients with breast cancer or cutaneous malignant melanoma after surgery. During the postoperative period, the levels of neopterin, kynurenine and tryptophan, and their ratios, were monitored in the fluid from the surgical wound. In addition, a retrospective analysis of patients diagnosed with RAAS between January 2000 and December 2017 in twelve oncological centers in the Czech Republic and Slovakia.

**Results:** Twenty-two patients, 16 females and 6 males, who were operated for breast cancer (n=15) or malignant melanoma (n=7) were enrolled in this pilot study. The concentrations of neopterin, kynurenine and tryptophan were assessed by high-performance liquid chromatography (HPLC). Comparison of the concentrations of these substances in serum from the surgical wounds in the breast and axilla revealed a statistically significantly higher neopterin/tryptophan ratio in the breast wound, no significant differences were observed in the remaining studied parameters. Out of 56 patients with RAAS, local recurrence was observed in 43 % of patients, 3-year survival was 56 % and 5-year-survival was 33 %. 46 % of patients died during the follow-up.

**Conclusions:** We have demonstrated that metabolites of neopterin, kynurenine and tryptophan can be detected in the surgical wound fluids and could be used to monitor the local immune response after surgery.

**Keywords:** neopterin, kynurenine, tryptophan, breast cancer, malignant melanoma, wound infection

## 2. Úvod do problematiky

---

Po operačních výkonech se vždy snažíme o co nejpříznivější průběh hojení a o včasné zachycení komplikací, abychom na ně mohli adekvátně reagovat. Mezi běžně stanovované parametry používané ke zhodnocení míry aktivace imunitního systému a zánětlivé odpovědi organismu patří C-reaktivní protein, počet leukocytů a prokalcitonin. Do popředí zájmu se dostává i monitorace hladiny neopterinu, který je stále opomíjeným markerem. Společně s ním jsou zkoumány i hladiny kynureninu a tryptofanu.<sup>1,2</sup> Podle dostupné literatury nebyla dosud koncentrace těchto třech metabolitů použita v predikci komplikací lokální chirurgické léčby. Někteří autoři hodnotili jejich hladiny ve vztahu k leaku v anastomoze po resekci rekta při léčbě pro karcinom, kdy monitorovali koncentraci zmíněných metabolitů v tekutině z břišního drénu.<sup>1</sup> Vybrali jsme běžně se vyskytující nádorová onemocnění (karcinom prsu a kožní maligní melanom), kde sekret z rány není kontaminován další tekutinou jako je tomu v případě břišních nebo hrudních výkonů a pro vyšetření a hodnocení koncentrací popsanych metabolitů jsme použili serom z operační rány bez přítomnosti systémové tekutiny.

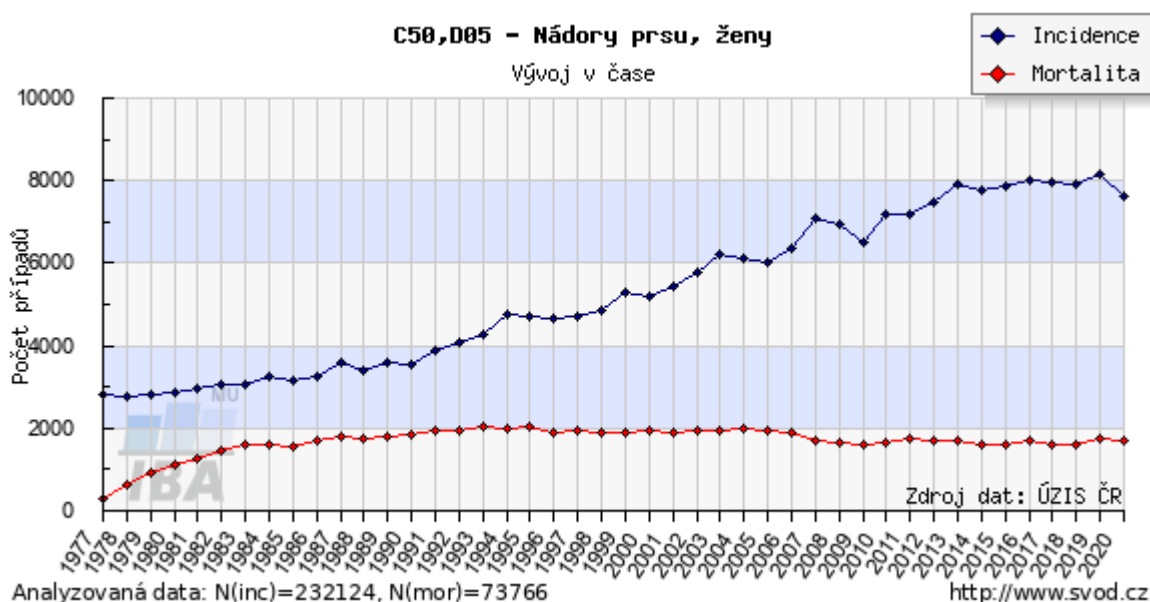


### 3. Karcinom prsu

#### a) Incidence, mortalita, prevalence karcinomu prsu

Karcinom prsu u žen je jedna z „nejživějších“ diagnóz ať už necháme mluvit statistiku nebo odbornou i laickou veřejnost. Incidence od počátku 80. let 20. století stoupá. Každým rokem se v České republice počet nově diagnostikovaných případů karcinomu prsu blíží k 8 tisícům. Za stejnou dobu zde v důsledku stejné diagnózy zemře přibližně 2 tisíce žen.<sup>3</sup> V žebříčku nejčastějších úmrtí figuruje karcinom prsu na prvním místě mezi ženami ve věku 20–54 let, což je v této věkové kategorii dvojnásobně více než úmrtí na další jednotlivé diagnózy.<sup>4</sup> V souhrnu lze říci, že za posledních deset let evidujeme nárůst incidence o 20 %, celková mortalita však poklesla o 18 %. To vede s prodlužujícím se věkovým dožitím populace k relativně rychlému vzestupu prevalence, která ke konci roku 2015 činila téměř 15 % všech malignit.<sup>3</sup>

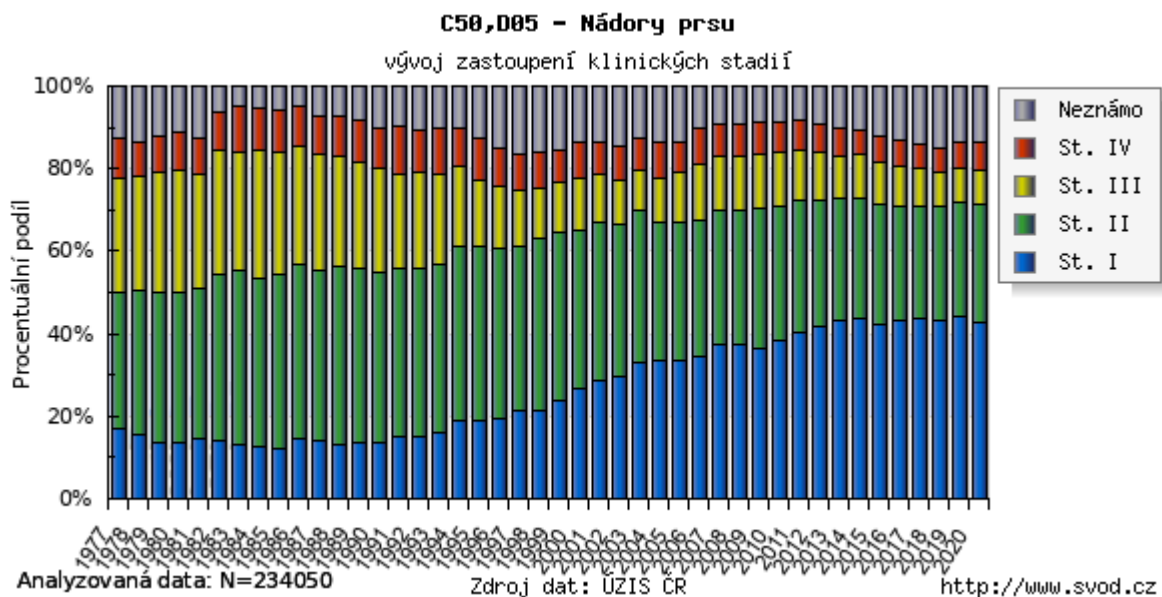
*Graf č. 1: Vývoj incidence a mortality karcinomu prsu v ČR*



K časnému záchytu karcinomu prsu slouží mamární skrínig. Celoplošné skrínigové vyšetření bylo v České republice zavedeno v roce 2002 pro všechny ženy od 45 do 69 let a od roku 2010 bylo rozšířeno i pro ženy starší 69 let. Jeho využívání se za posledních deset let téměř zdvojnásobilo a nyní plošně dosahuje 60 %, regionálně se jedná až o 70 %.<sup>3</sup> Většina zdravotních

pojišťoven v současné době přispívá na mamologické (ultrazvukové i mamografické) vyšetření i mladším ženám, které ještě do skríningu nespádají. Čtyři ze sedmi zdravotních pojišťoven proplácují vyšetření ženám od 30 let, další tři od 40 let věku.<sup>5</sup> Hlavně díky plošnému skríningu léčíme více než tři čtvrtiny žen s karcinomem prsu v časném stadiu (stádium I a II), 5leté přežití patientek léčených v tomto stádiu se blíží 100 %.<sup>3</sup>

**Graf č. 2: Zastoupení jednotlivých stádií karcinomu prsu**



## b) Vývoj chirurgické léčby

První operace prsu byla provedena ještě předtím, než byla do běžné praxe zavedena anestezie. Chirurgové tehdy byli nesmírně zruční, rychlí a ještě víc razantní než jsou dnes. Během operace museli snést až nesnesitelný křik operovaného. Velmi podrobně svůj zážitek z operace popisuje anglická autorka dobových románů a novel Frances Burneyová, které v září 1811 provedl francouzský vojenský lékař a Napoleonský chirurg Dominique Jean Larrey totální mastektomii při plném vědomí. V několikastránkovém dopise adresované svojí sestře Ester autenticky do detailu popisuje operaci pohledem (spíše pocitem) pacienta. „Do místnosti vstoupilo sedm mužů v černém...přes obličej mi položili kapesník. Byl průhledný...Odmítla jsem být držena. Zahlédla jsem odlesk leštěné oceli a zavřela oči. Nevěřila bych křečovitému strachu a příšerné bolesti incize...když strašlivá ocel pronikala do prsu, řezala žíly, tepny, tkáň, nervy...Začala jsem křičet a křičela téměř po celou dobu operace. Málem se divím že ten

*hrozný křik nezni v mých uších doposud...Během operace jsem měla dva totální výpadky paměti... když mi sundali kapesník z očí a já oči otevřela, viděla jsem obličej doktora Larryho celý potřísněný krví...“<sup>6</sup>*

Od té doby už několik desítek let uběhlo, zásadně jsme postoupili nejen v diagnostice, ale především v léčbě karcinomu prsu. Studie OECD (The Organisation for Economic Cooperation and Development): Health at a Glance 2017 prokázala mezinárodně ověřený významný pokles mortality na karcinom prsu u žen v České republice. Pominula doba Halsteda (konec 19. století), Maddena (70. léta 20. století) a přes Fisherovu lumpektomii a parciální mastektomii jsme se dostali k Tothovi a Lappertovi (skin-sparing mastektomie) a Hintonovi (nipple-sparing mastektomie).<sup>7</sup> Dnes máme nepřehledné množství operačních možností v léčbě karcinomu prsu. Obecně lze říci, že vybíráme podle typu nádoru, časového naplánování operace a přání pacientky a plánujeme výkony na prsu i v axile.<sup>8</sup>

## **I) Primární chirurgická léčba**

### *Výkon na prsu*

Z chirurgických výkonů na prsu dnes převažují prs zachovné výkony (BCS). Totální mastektomii indikujeme u pacientek s multicentrickým postižením prsu, rozsáhlými mikrokalcifikacemi, nepoměrem velikosti tumoru k velikosti prsu (obtížnost dosažení přijatelného kosmetického efektu se zachováním onkologicky čistých okrajů) nebo při nemožnosti připojení adjuvantní radioterapie.<sup>8</sup>

Nekonečné bouřlivé debaty o velikosti bezpečných resekcčních okrajů při BCS se dnes zdají již vyřešené. Dle „Consensus on DCIS of Philadelphia (1999)“<sup>9</sup> byl požadován onkologicky čistý okraj minimálně 10 mm. V dalších letech bylo publikováno množství článků, ve kterých se autoři přikláněli i k možnosti menších okrajů. Za bezpečné považovali okraje 3 mm,<sup>10,11</sup> 2-3 mm,<sup>12</sup> 2 mm,<sup>13-15</sup> a 1 mm.<sup>16</sup> V roce 2009 byl zrušen konsensus striktního dodržování 1 cm čistého okraje („Saint Galen International Experts Consensus“)<sup>17</sup>. Následně byl v Miláně Onkologickým Evropským Institutem vyhodnocen soubor celkem 24,668 pacientek za období 06/1994-12/2009. S ohledem na tento rozsáhlý soubor byl řadu let považován 1mm okraj za dostatečný a onkologicky bezpečný.<sup>18</sup> Od roku 2014 podle SSO/ASTRO Margins Guideline platí pravidlo „no ink on tumor“ u invazivního karcinomu

(pravidlo uzavřeného okraje), u in situ karcinomu je považován za bezpečný reseční lem okraj 2 mm.<sup>19</sup>

Od řešení velikosti resečních okrajů se v posledních letech pozornost více obrací na kosmetický efekt parciální mastektomie. Tento aspekt byl v minulosti považován za méně důležitý. Snaha o zmenšení velikosti zbytečně odebrané zdravé prsní žlázy a o koncentrické uložení tumoru v resekátu jde ruku v ruce s precizním značením nehmatného nálezu. K nejstarší a poměrně rozšířené možnosti značení tumoru patří Frankeho vodič používaný od 70. let.<sup>8</sup> Může být nahrazen aplikací uhlíku do okrajů tumoru. Neinvazivní volbou nalezení nehmatného tumoru je peroperační použití ultrazvuku dle potřeby doplněné zavedením klipu k ložisku při odběru biopsie. Velkou výhodou této metody je možnost vyhnout se excentrickému uložení tumoru v resekátu a tím zamezení zbytečnému odběru zdravé tkáně. Standardem vyšetření resekátu se stává peroperačně provedené rtg k potvrzení přítomnosti mikrokalcifikací či ověření polohy Frankeho vodiče v preparátu.<sup>8</sup> Nově zaváděné lokalizační techniky vyžadují speciální přístrojové vybavení a některá i vazbu na nukleární medicínu (magnetická a radioaktivní zrna, savi scout...)<sup>20</sup>

**Obr. č. 1:** *Frankeho vodič*



*Vodič zavedený k nehmatnému tumoru v levém prsu, křížkem v axile označená poloha SU*

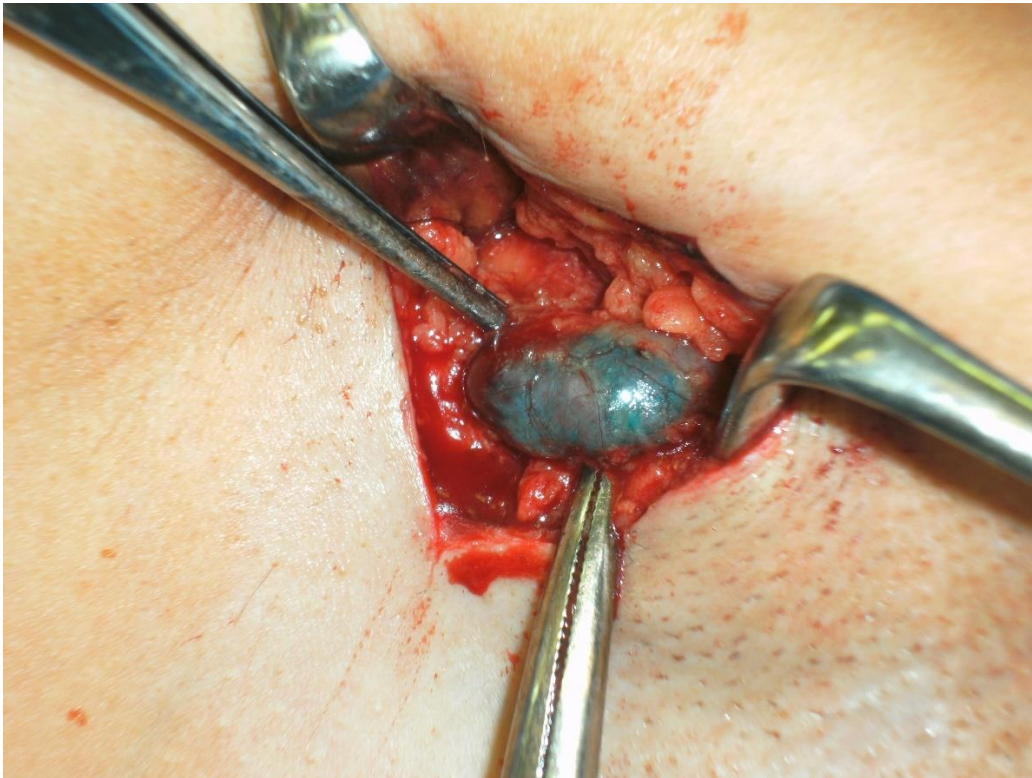
## *Výkon v axile*

Většina pacientek s karcinomem prsu přicházejících ze skriningového vyšetření k primární chirurgické léčbě má klinicky negativní spádové uzliny. Vyšetření axily, oblasti pod- i nadklíčku palpací a zobrazovací metodou, nejčastěji ultrazvukem a mamograficky, je nesuspektní a je u nich indikováno vyšetření sentinelové, strážné, uzliny. Ke značení této uzliny využíváme nanokoloid Technecia<sup>99m</sup>, který je aplikován na nukleární medicíně dle zvyklostí jednotlivých pracovišť nejčastěji mezi 2–24 hod před operací. Nakládání s ním podléhá přísným požadavkům Atomového zákona při práci s radioaktivním materiálem.<sup>8</sup> V České republice chirurgicky odstraňujeme převážně axilární SU, umístění extraaxilárních sentinelových uzlin je z nukleární medicíny údaj primárně pro radiační onkology, kteří tento fakt zohlední při plánování pooperační radioterapie.

Průkopníkem využívání vyšetření SU u karcinomu prsu je považován prof. Umberto Veronesi z milánského pracoviště, málokdo však ví, že tato metoda byla již několik let před ním zavedena do praxe Mortonem, který hledal možnosti jak ušetřit zbytečných exenterací axil a třísel pacienty s kožním maligním melanomem trupu.<sup>21</sup> Své počátky se snahou vytipovat vhodné barvivo ke značení sentinelové uzliny i jeho použité množství a místo a způsob jeho aplikace před uvedením do lékařské praxe pilované na zvířecích modelech, konkrétně kočkách, popisuje v publikaci již v roce 1992.<sup>22</sup> Patentní modř (Bleu Patenté V, Guerbet 2,5%, 2ml), dlouhé roky používaná v ČR k duálnímu značení uzliny, neměla požadované schválení SÚKLeM a byla v roce 2018 nahrazená schválenou methylenovou modří (ProveDye methylenová modř 0,5%, 2ml).

Duální značení uzliny není nezbytně nutné, pokud je modř aplikována, pak těsně před operačním výkonem nejčastěji po úvodu do celkové anestezie peritumorózně nebo retroareolárně, dle zvyklostí jednotlivých pracovišť.<sup>8</sup> Nespornou výhodou vyšetření sentinelové uzliny je její důkladnější a přesnější vyšetření patologem. Uzlina je hodnocena podle protokolu pro zpracování a vyšetření sentinelové uzliny, které kromě přikrojení do více řezů a klasického barvení hematoxilin-eozinem zahrnuje i imunohistochemické vyšetření. „Obyčejné“ nesentinelové axilární uzliny takto podrobně zpracovány nejsou, a proto při primární exenteraci axily mohou některé menší metastázy, resp. mikrometastázy, i přes veškerou snahu patologa uniknout naší pozornosti.

**Obr. č. 2:** modře zbarvená axilární SU



*Duální cestou značená SU u karcinomu prsu, modř k lepší vizualizaci, kožní řez při bazi pravé axily*

V České republice bylo vyšetření SU zavedeno do praxe v roce 2002. Kontraindikace tohoto výkonu, které byly v počátcích poměrně rozsáhlé s přibývajícimi zkušenostmi s metodou ubývaly. Dnes jsou k vyšetření SU indikovány všechny pacientky bez podezření na metastatické postižení spádových lymfatických uzlin. Nejpřesnější zobrazovací metodou, která stav axilárních uzlin zhodnotí je ultrazvuk v rukou zkušeného mamodiagnostika, který je korelován s mamografickým nálezem ev. s výsledkem magnetické resonance prsů a axil.

V roce 2007 publikoval Filippakis zajímavou rozvahu o kontraindikacích k vyšetření sentinelové uzliny, které rozdělil na absolutní a relativní.<sup>23</sup> Mezi absolutní kontraindikace vyšetření zařadil suspekci na postižení axilárních uzlin a alergii na patentní modř. V relativních kontraindikacích polemizoval s možností vyšetření SU po předchozím operačním výkonu, neoadjuvantní léčbě, při „velkém“ tumoru, multicentrickém nebo multifokálním karcinomu, in situ karcinomu, obezitě a těhotenství.

Alergické reakce po aplikaci barviva jsou velmi zřídka. Bývají doprovázeny systémovou reakcí s šedavým zbarvením kůže trupu a končetin s šokovým stavem



vyžadujícím urychlené ukončení operačního výkonu a umístění pacienta na resuscitační monitorované lůžko JIP nebo ARO. Pokud pro život ohrožující stav pacientky při těžké alergické reakci není možno operační výkon dokončit, je ve druhé době indikováno vyšetření SU bez duálního značení s použitím samotného radionuklidu. Některá pracoviště rutinně duální značení SU nepoužívají vůbec, důvody jsou hlavně ekonomické. K označení polohy SU aplikují samotný radiokoloid  $Tc^{99m}$  s následným lymfoscintigrafickým vyšetřením a peroperačně uzlinu vyhledají pomocí gama sondy snímající radioaktivitu. Modř jako druhou cestu k nalezení SU aplikují pouze v případech, kdy se na lymfoscintigrafii SU nezobrazí nebo kdy je využita jako pomocná metoda při získávání operačních zkušeností mladých chirurgů. Použití samotné modři k nalezení SU bez aplikace radionuklidu není postup lege artis.

**Obr. č. 3:** *alergická reakce po aplikaci Patentní modři*



*Systémová alergická reakce doprovázená anafylaktickým šokem, šedavé zbarvení kůže trupu, hýždí a končetin pacientky bezprostředně po aplikaci modři do oblastí prsu peritumorózně. Zdroj: FN HK, MUDr. Mergancová Jindřiška, 2006*

Předchozí operační výkony na prsu byly mezi kontraindikace vyšetření SU zpočátku řazeny také. Vycházelo se z předpokladu, že operační výkon na prsu mění průběh lymfatických cest a že nalezená uzlina, která je označena za sentinelovou, nemusí sbírat lymfu z místa primárního tumoru a tím je snížena přesnost vyšetření. Studie probíhající v dalších letech hodnotící falešnou negativitu vyšetření SU po předchozím chirurgickém zákroku na prsu shledaly danou metodu jako onkologicky bezpečnou a použitelnou se srovnatelnými výsledky jaké jsou udávány při operaci na prsu bez předchozího zákroku.<sup>23</sup>

Incidence metastatického postižení axilárních uzlin vzrůstá také s velikostí tumoru v prsu, proto bylo vyšetření SU zpočátku indikováno pouze u pacientek s tumorem do 2 cm. Nicméně z dostupných dat vyplývá, že okolo 30 % žen, které mají nádor větší než 4 cm nemá v definitivní histologii patologem zastižené metastatické postižení uzlin a exenterace axily u nich byla prováděna nadbytečně.<sup>23</sup> Velikost tumoru proto dnes již v indikaci vyšetření SU nehraje roli.

Rozpaky v indikacích zpočátku vzbuzovala i multicentricita resp. multifokalita onemocnění. V obou případech se jedná o vícečetné ložiskové postižení prsní žlázy tumorem. Při multicentrickém postižení se jednotlivé nádory nacházejí v rozdílných kvadrantech prsu nebo jsou od sebe vzdálené více než 2–5 cm. Dnes opět máme k dispozici data, která vyhodnocují SU jako bezpečnou metodu i pro tuto skupinu pacientek s aplikací radionuklidu ev. barviva retroareolárně.<sup>23</sup>

Problematické se může zdát vyšetření SU u obézních pacientek, kde se častěji setkáváme s tím, že se uzlina lymfoscintigraficky nezobrazí. Při zavádění této metody do praxe proto byla i obezita faktorem, který v počátcích pacientky připravil o možnost podstoupit vyšetření SU. U žen, kde nebyla uzlina předoperačně zobrazena, se doporučuje před výkonem aplikovat modř k tumoru nebo retroareolárně a šetrnou preparací v axile modrou uzlinu vizualizovat. Pokud je modrá uzlina nalezena, je označena za sentinelovou i když nevykazuje scintigrafickou aktivitu. V případě, že nalezena není, měl by být proveden sampling, odebrání tukové tkáně se vzorkem axilárních uzlin z místa, kde se SU obvykle vyskytuje.

Ani neoadjuvantní systémová léčba dnes není kontraindikací k vyšetření SU. Při nesuspektních axilárních uzlinách dle dostupných vyšetření před léčbou je po skončení léčby indikováno vyšetření SU samostatně. V případě pozitivity axilární uzliny před zahájením neoadjuvantní léčby je po jejím skončení proveden restaging a dle výsledku a individuálního posouzení rizikovosti indikována cílená axilární disekce ev. exenterace axily.



DCIS je považován za preinvazivní stádium karcinomu prsu. Ve 30-50 % neléčených případů přechází do invazivní formy karcinomu během 10-20 let.<sup>24</sup> Procento postižení lymfatických axilárních uzlin je v literatuře uváděno různé, nejčastěji mezi 1-5 %. V minulosti nebyly jednoznačné a ucelené názory na vyšetření sentinelové uzliny u in situ karcinomu. Někteří autoři byli přesvědčeni, že sentinelová uzlina nemusí být u všech vyšetřena, pro jiné to byla součást stagingových vyšetření a striktně a vždy sentinelovou uzlinu vyžadovali. Většina autorů se snažila nalézt vodítko k odhalení pacientů s DCIS s rizikem k invazivní komponentě, která by mohla být zdrojem axilárních metastáz. Zjistili zvýšenou frekvenci postižení SU u pacientů s karcinomem in situ s mikroinvazí, s vysokým gradingem, při hmatném tumoru, při nádorové mase patrné již na mamografii a při předoperační diagnóze z core cut či mamotomové biopsie. V těchto případech bylo vyšetření SU doporučeno.<sup>24</sup> Nabízí se otázka k zamyšlení. „Jak může tumor definovaný jako neinvazivní metastazovat do lymfatických uzlin?“ Vysvětlení se zdá vcelku jednoduché. Zachycení metastázy v SU znamená upstaging choroby a zřejmě svědčí o nezastižení (mikro)invaze v histologickém vyšetření karcinomu prsu patologem. Pro patologa je technicky jednodušší imunohistochemicky vyšetřit jednu drobnou SU, než prokrájet a kompletně zhodnotit rozsáhlé mikrokalciфикации prsu.

Vyšetření SU u gravidní ženy v minulosti bylo a stále je zásadním tématem. Z počátku byla role SU v těhotenství nejasná, spekulovalo se o potenciální škodlivosti záření na plod a navíc o možných změnách průběhu lymfatických cest způsobených graviditou.<sup>23</sup> Dnes je chirurgický výkon v průběhu těhotenství považován za bezpečný stejně jako využití celkové anestezie. Aplikace radionuklidu k detekci SU s sebou nese akceptovatelné dávky radioaktivního záření, kterým je plod vystaven, udává se méně než 5 mGy, proto pokud je to nezbytné pro management axilárního stagingu, může být použit. Vzhledem k možné alergické reakci na modř není v graviditě doporučováno duální značení uzliny.<sup>25</sup>

Indikace k následné exenteraci axily, kdy odstraňujeme uzliny I. a II. etáže, při záchytu metastázy v SU se řídí studií Z0011. Již neplatí pravidlo, že pozitivní SU nutně znamená indikaci k dokončení exenterace a jsou dané podmínky, kdy lze exenteraci vynechat při záchytu 1-2 metastáz v SU.<sup>26</sup> Ačkoli byla tato multicentrická, randomizovaná, noninferiorní studie ukončena předčasně, dříve než naplnila předpokládaný počet 1900 zařazených žen, z důvodu nízké četnosti pacientek splňující vstupní kritéria, jedná se o největší studii fáze III. Srovnává léčbu pacientek s postižením axilárních uzlin u časného karcinomu prsu. Randomizovaně byly porovnány dvě skupiny pacientek s jednou nebo dvěma metastaticky postiženými sentinelovými uzlinami. Jedna skupina léčených žen následně podstoupila dle zajatých

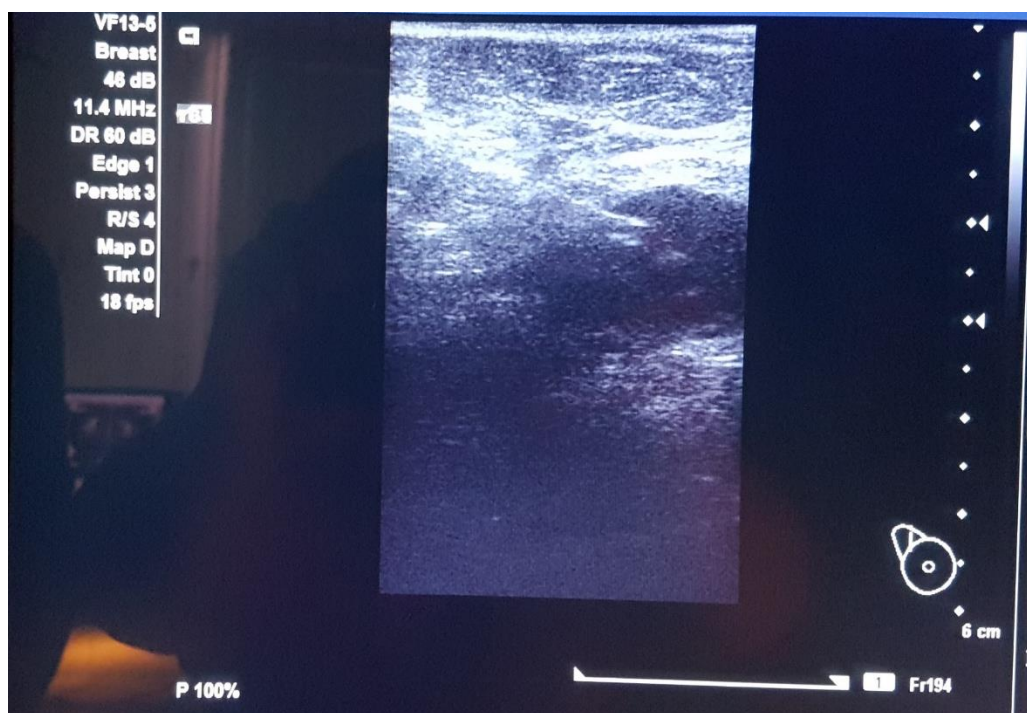
zvyklostí exenteraci axily, u druhé skupiny pacientek byla následná exenterace axily vynechána. Zařazovacím kritériem vstupu do studie byl primární tumor do 5 cm s klinicky negativním nálezem v oblasti spádových uzlin a provedený prs šetřící výkon s plánovanou adjuvantní RT.

Ve studii byly vyhodnoceny výsledky od 891 zařazené pacientky léčené během 5 let na přelomu tisíciletí ve 115 centrech. Ze závěru studie po 10letém follow-upu vyplývá, že u pacientek splňujících dané výše zmíněné podmínky lze vynechat další radikální výkon v axile při záchytu metastázy v jedné nebo dvou sentinelových uzlinách. Vzhledem k zařazovacím kritériím není zcela jasné, zda je možné exenteraci axily vynechat i u pacientek s hmatnými klinicky pozitivními uzlinami, u pacientek s více než dvěma pozitivními sentinelovými uzlinami, dále u pacientek, které podstoupily totální mastektomii bez adjuvantí RT nebo u těch, které podstoupily neoadjuvantní léčbu.<sup>26</sup>

Vášnivé debaty v současné době naopak vzbuzuje otázka dalšího postupu při pozitivním nálezu v intramamární (průběžné) SU, obzvláště pokud je axilární SU negativní. Někteří autoři<sup>27,28</sup> považují za nadbytečné doplnění exenterace axily při negativním nálezu v axilární SU i při pozitivní průběžné SU. Axilární SU je podle nich brána jako strážce axily a její negativita znamená v naprosté většině případů negativitu ostatních nesentinelových axilárních uzlin. Naproti tomu je diskutován názor opačný, opřený o anatomické uspořádání zapojených lymfatických uzlin. Uzlina průběžná (v tomto případě intramamární) může být v sériovém i paralelním vztahu k SU v základní lokalitě (zde v axilární oblasti). V sériovém zapojení je průběžná intramamární SU drénována do axilární SU. Pokud je v takovém případě axilární SU negativní, ostatní nesentinelové axilární uzliny jsou také negativní. Avšak při paralelním vztahu obou SU je intramamární SU drénována paralelní lymfatickou mimo axilární SU. V tomto případě může být pozitivní intramamární SU zdrojem metastázy v axilární uzlině i v případě, že je axilární SU negativní.<sup>29</sup>

Pokud je předoperačně podezření na postižení axilárních uzlin (klinickým či zobrazovacím vyšetřením) je vhodné provést core cut biopsii uzlin<sup>30</sup> a při prokázaném metastatickém postižení následně indikovat exenteraci axily nebo neoadjuvantní léčbu (podle biologické povahy nádoru).

**Obr. č. 4:** *provedení core cut biopsie axilární LU*



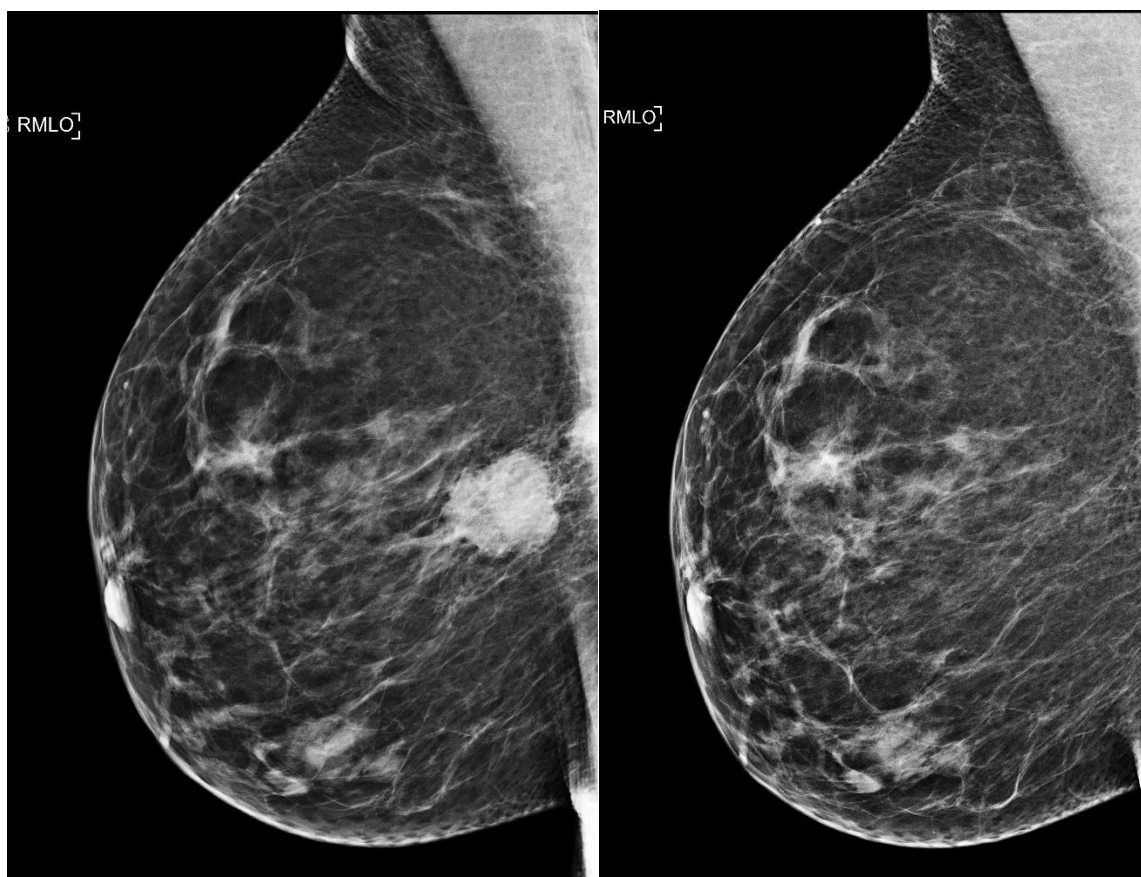
*Probíhající core cut biopsie suspektní axilární uzliny vpravo, na obrázku bioptická jehla v uzlině pod UZ kontrolou. Zdroj: EUC Mamocentrum Pardubice, 2022.*

Přidanou hodnotou chirurgického výkonu je anesteziologem prováděný kompartmentový blok pod ultrazvukovou kontrolou k pooperační analgezií a snazší brzké pooperační rehabilitaci. Tzv interpektorální bloky byly popsány v roce 2011 a 2012 španělským anesteziologem Rafaelem Blancem. Pecs I blok poskytuje analgezií v oblasti prsu, zatímco peccs II blok analgezií pro výkony v axile.<sup>31</sup>

## **II) Chirurgická léčba po neoadjuvanci**

Neoadjuvantní chemoterapie je v léčbě karcinomu prsu využívána od roku 1970.<sup>32</sup> Dříve se neoadjuvantní léčba užívala u pacientek s primárně nemetastatickým lokálně pokročilým karcinomem prsu k usnadnění operability (možnost náhrady totální mastektomie prs šetřícím výkonem). Nyní se indikace předoperační léčby rozšiřují i na pacientky s negativní biologickou charakteristikou časného tumoru, hlavně triple negativní nádory nebo HER2/neu pozitivní a samozřejmě do předlčených pacientek spadají i nadále případy inflamatorních či inoperabilních postižení.<sup>33</sup>

**Obr. č. 5:** Mamografický nález před léčbou a po neoadjuvantní léčbě



*Mamografické snímky (šikmá projekce), vlevo patrný tumor před zahájením léčby, vpravo kompletní radiologická odpověď po skončení léčby před operací. Zdroj: EUC Mamocentrum Pardubice, 2022.*

V léčbě před operací využíváme stejně jako po operaci všech systémových modalit, tj. chemoterapii, cílenou i hormonální léčbu. Chemoterapie je volena pro spektrum účinnosti a rychlost nástupu, stejně tak i pro rozsah odpovědi na léčbu.<sup>5</sup> U hormonálně pozitivního HER2 negativního karcinomu s nízkým rizikem najde své uplatnění v neoadjuvanci i hormonální léčba. Připojení cílené léčby u pacientek s prokázanou amplifikací genu HER2/neu je dnes samozřejmostí. Výhodou neoadjuvantní léčby je kromě již zmíněné možné konverze chirurgického výkonu také posouzení senzitivity léčby *in vivo*<sup>34</sup> a eventuální změna chemoterapie na režim nezkříženě resistantní. V neposlední řadě jde i o časnou léčbu možných systémových mikrometastáz. Je udávána také lepší distribuce léčivé látky do viabilní nádorové tkáně neporušeným cévním zásobením.<sup>5</sup>

Publikovaná studie srovnávající neoadjuvantní a adjuvantní léčbu v meta-analýze u primárně operabilních nádorů však neprokázala statisticky významný rozdíl v hodnocení

celkového přežití a přežití bez recidivy.<sup>35</sup> Nejvýznamnějším prognostickým ukazatelem neoadjuvantní terapie zůstává kompletní patologická odpověď, která je klasifikovaná jako úplné vymizení makroskopických i mikroskopických známek nádoru. V některých případech je do kompletní patologické odpovědi zařazováno i vymizení invazivní složky s perzistujícím in situ karcinomem.<sup>36</sup> Vždy je důležité zhodnocení nejen zbytkového tumoru v prsní tkáni, ale samozřejmě i ve spádových lymfatických uzlinách.

### *Výkon na prsu po neoadjuvantní léčbě*

Přibližně čtyři týdny po skončení neoadjuvantní léčby přistupujeme k operaci. Rozsah výkonu volíme dle předoperačního restagingu a povahy tumoru a samozřejmě zohledňujeme přání pacientky. Jak již bylo zdůrazněno výše, jedna z největších nepopiratelných výhod neoadjuvantní léčby je možnost zmenšení rozsahu chirurgického výkonu a náhrada totální mastektomie prs šetřící operací i v případě, kde parciální výkon původně nebyl možný. U velké části nemocných po předoperační léčbě pozorujeme klinickou i radiologickou odpověď lokálního nálezu. Není to jasný prognostický údaj, ale musíme s tímto jevem počítat a lůžko tumoru na začátku léčby spolehlivě označit. Značení se provádí vždy a liší se dle zvyklostí jednotlivých pracovišť (před zahájením léčby, po první sérii chemoterapie, klipem do centra tumoru, několika uhlíkovými značkami do okrajů ložiska).

V případě inflamatorního karcinomu, multicentrického postižení nebo nepoměru velikosti tumoru k velikosti prsu je indikována ablace celé žlázy i po neoadjuvantní léčbě.<sup>5</sup>

**Obr. č. 6:** značení okrajů tumoru uhlíkem



*Na kůži patrné čtyři uhlíkové značky do okraje tumoru v horním zevním kvadrantu pravého prsu před zahájením léčby*

Z pohledu zachování co nejvyšší kvality života s ohledem na psychiku pacientky nám neoadjuvantní léčba poskytuje i prostor k provedení genetického vyšetření. Při pozitivním výsledku můžeme pacientce nabídnout naopak rozšíření chirurgického výkonu i na druhostranný prs a provést v jedné době terapeutickou i profylaktickou mastektomii, ev. i s primární rekonstrukcí. Týdny čekání na výsledky statimového genetického vyšetření nám berou možnost zvážit připojení profylaktické mastektomie v případě pozitivního výsledku u pacientky s primární operační léčbou, kdy se snažíme k výkonu přistoupit co nejdříve od zjištění diagnózy.<sup>5</sup>

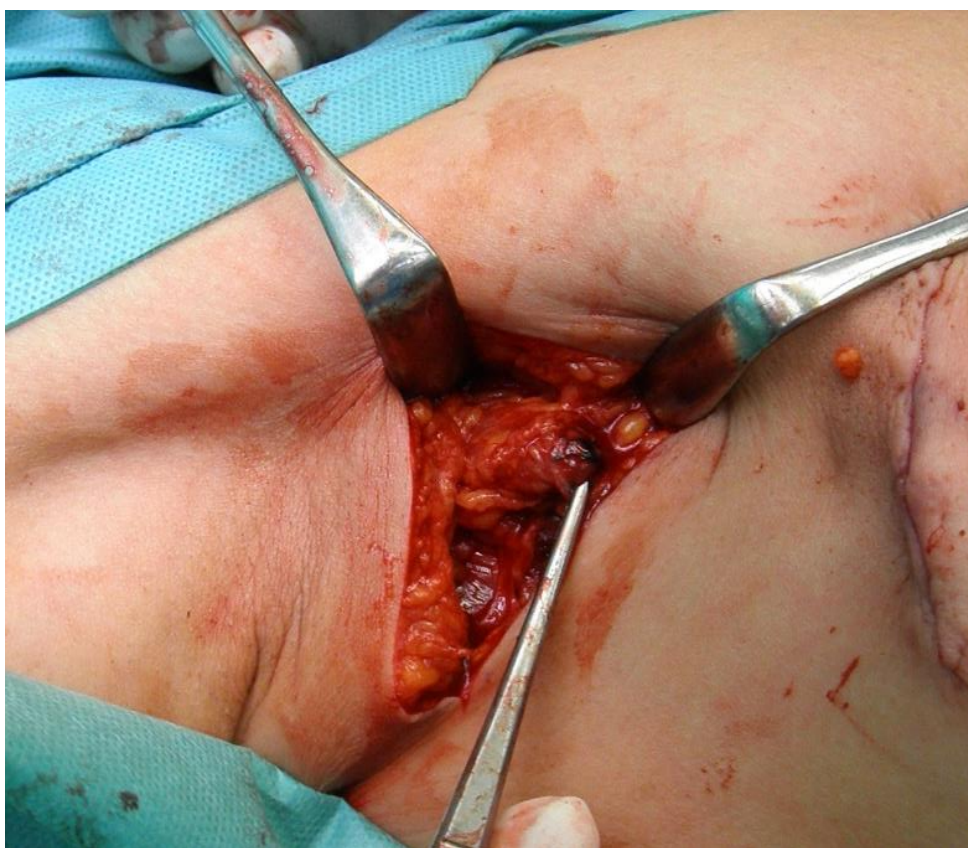
#### *Výkon v axile po neoadjuvantní léčbě*

Management operačního výkonu na axilárních uzlinách také prochází vývojem, i tady jsou tendence k šetrnějším a menším zákrokům. Před léčbou je nezbytné provést s mamografickým vyšetřením i pečlivé ultrazvukové vyšetření všech spádových oblastí. Samozřejmostí by měla být histologická verifikace suspektní nebo klinicky pozitivní axilární



uzliny core cut biopsií a současně v jedné době její označení. Způsob značení uzliny opět vychází ze zvyklostí pracoviště (klip, uhlík, radioaktivní I<sup>125</sup>).<sup>37</sup> Falešná negativita biopsie sentinelové uzliny po neoadjuvanci je udávána přes 12 %. To byl hlavní důvod ke zdrženlivosti v používání tohoto postupu. Dvojím značením sentinelové uzliny a odběrem více než dvou uzlin se podařilo toto procento významně snížit. Připojením exstirpace označené před léčbou pozitivní uzliny je nyní tento postup uznáván jako onkologicky bezpečný a je již běžně používán (Targeted axillary dissection).<sup>33</sup>

**Obr. č. 7:** *uhlíkem značená axilární uzlina*



*Pohled do pravé axily, v pinzetě je uhlíkem značená, před léčbou bioptovaná metastaticky postižená uzlina. Při pravém okraji fotky je intradermálním stehem uzavřená rána po provedení parciální mastektomie pro karcinom v horním zevním kvadrantu pravého prsu*

Při negativních axilárních uzlinách před neoadjuvantní léčbou indikujeme s následným operačním řešením vyšetření sentinelové uzliny samostatně s palpační revizí axily. Odstranění

sentinelové uzliny před neoadjuvantní léčbou není některými autory doporučováno, protože se tím připravujeme o možnost kompletního zhodnocení efektu léčby.<sup>5</sup>

Pokud je kterákoli axilární uzlina po neoadjuvantní léčbě pozitivní, je doporučena axilární exenterace.<sup>33</sup>

S úvahou nad dalším vývojem chirurgické léčby karcinomu prsu nyní netrpělivě vyhlížíme první vyhodnocení studie TAXIS (tailored axillary surgery).<sup>38</sup> Jde o non-inferiorní randomizovanou multicentrickou mezinárodní (zapojení 34 center Švýcarska, Rakouska, Itálie a Maďarska) studii, která vychází z předpokladu, že odebrání množství nepostižených axilárních uzlin zvyšuje morbiditu bez terapeutického benefitu a zaměřuje se na selektivní odstranění postižených uzlin bez ohledu na anatomické hranice axily s připojením adjuvantní radioterapie. Plánované dokončení sběru dat je koncem roku 2023 a výsledky po dvacetiletém follow-upu jsou očekávány v roce 2043.

### **III) Rekonstrukční výkony**

Při indikaci ablace celé prsní žlázy bývá v posledním desetiletí stále častěji skloňována možno skin-sparing a nipple-sparing mastektomie s bezprostřední rekonstrukcí prsní žlázy. Tento typ výkonu je podle publikovaných údajů<sup>39,40</sup> spojen s nízkým rizikem komplikací a vysokou spokojeností pacientek, v našich podmínkách však stále není z nejrůznějších důvodů běžně používán a rekonstrukční výkon obvykle začínáme plánovat až po skončení adjuvantní terapie.<sup>5</sup>

Pozornosti lékařů zabývajících se léčbou karcinomu prsu neunikly studie na poměrně velkém počtu pacientů srovnávající komplikace, výhody a spokojenost pacientek s kosmetickým výsledkem bezprostřední a odložené rekonstrukce prsů a srovnání různých technik rekonstrukce (přímé použití implantátu, použití implantátu po tkáňovém expandéru a autologní rekonstrukce).<sup>41,42</sup>

Závěr multicentrické prospektivní studie amerických autorů je pro většinu lékařů překvapením. Ukázal adjuvantní radioterapii po rekonstrukci s použitím implantátu jako důvod vyššího počtu komplikací a menší spokojenosti pacientek s kosmetickým efektem. Neplatí to však u radioterapie žen po autologní rekonstrukci. Selhání rekonstrukce při dvouletém follow-upu bylo popsáno u 18,7 % ozářených pacientek s implantátem, ale pouze u 1,0 % ozářených pacientek po autologním rekonstrukčním výkonu. U neozářených pacientek nebyl rozdíl tak



významný (3,7 % neozářených žen s implantátem, 2,4 % neozářených žen po autologní rekonstrukci). Bilaterální léčba a vyšší BMI je považováno za predikci horšího výsledku. Zmíněn by měl být i fakt, že výsledky studie může zkreslovat indikace k autologní transplantaci. Obecně a zjednodušeně lze říci, že kandidátkami k autolognímu výkonu jsou „zdravější“ pacientky.<sup>43</sup>

#### IV) Paliativní chirurgická léčba

Cílem paliativní léčby je zlepšení kvality života pacienta. U rozsáhlých exulcerovaných, krvácejících či zapáchajících tumorů lze po domluvě s pacientkou provést totální mastektomii pokud je to technicky možné ev. s exenterací axily. Vyšetření SU není v tomto případě indikováno. Zde je na místě více než obvykle šetrná a srozumitelná komunikace s pacientem a rodinou.<sup>8</sup>

**Obr. č. 8:** lokálně pokročilý tumor prsu



*Exulcerovaný zapáchající krvácející tumor v horním zevním kvadrantu pravého prsu, volný od spodiny, je možné provedení sanační totální mastektomie s cílem zlepšení kvality života pacientky*

**Obr. č. 9:** stav po provedení paliativní totální mastektomie



*Stav po sanační totální mastektomii s překrytím defektu kožními laloky posunem z okolí, R0 resekce. Vzhledem k charakteru operační rány je kožní sutura provedená jednotlivými autoadaptačními stehy*

## **V) Chirurgická léčba karcinomu prsu u muže**

Karcinom prsu u muže léčíme stejnými principy jako karcinom stejné biologické povahy a stagingu u ženy. V operačním řešení vždy indikujeme totální mastektomii, nikdy neprovádíme BCS. Z výkonů na axilárních uzlinách přistupujeme stejně jako u žen k vyšetření SU, TAD nebo exenteraci axily v rozsahu I. a II. etáže. Pacientovi by mělo být doporučeno vyšetření genetikem.<sup>8</sup>

## **VI) Chirurgická léčba karcinomu prsu v těhotenství**

Nádorové onemocnění v těhotenství nebo poporodním období se vyskytuje raritně, udávaná incidence je 1 na 100 000 těhotenství, což tvoří 0,07 – 0,1 % všech maligních tumorů.<sup>25,44</sup> Nejčastěji je u těhotných žen diagnostikován karcinom prsu s incidencí 1 / 3000, dále maligní melanom, karcinom děložního čípku, lymfomy a leukémie.<sup>44</sup> Nejspíše je to i tím, že tyto typy nádorových onemocnění se vyskytují častěji i u netěhotných žen mladšího věku. Maligní melanom, lymfoproliferativní onemocnění a karcinom plic jsou malignity, u kterých bylo

popsáno metastazování do placenty i plodu, přičemž maligní melanom tvoří třetinu těchto případů.<sup>44</sup> Vzhledem ke zvyšujícímu se stáří prvorodiček a oddalování rodičovství můžeme v dalších letech předpokládat nárůst incidence maligních nádorů diagnostikovaných v období těhotenství.

Diagnostika a léčba těhotných žen mění strategii přístupu. Multidisciplinární tým stojí před složitým úkolem postarat se nejen o nastávající matku, ale také o nenarozené dítě, balancováním přínosů a rizik diagnostického procesu i cytotoxické onkologické léčby. Imunohistochemická povaha nádoru, jeho rozsah, očekávaná prognóza onemocnění a gestační týden v době diagnózy určují vhodný přístup k dalšímu postupu. Jedním z hlavních rizik léčby je kromě nežádoucích účinků na plod i hrozící předčasný porod. V neposlední řadě je v těchto případech více než obvykle potřeba brát v úvahu i přání nastávající matky.

K diagnostice karcinomu prsu využíváme ultrazvuk s mamografickým vyšetřením, u kterého je udávaná akceptovatelná hodnota záření pro plod 0,001 – 0,1 mGy,<sup>44</sup> ev. doplněné o MR vyšetření prsů. V případě nutnosti lze individuálně připojit i další zobrazovací metody.

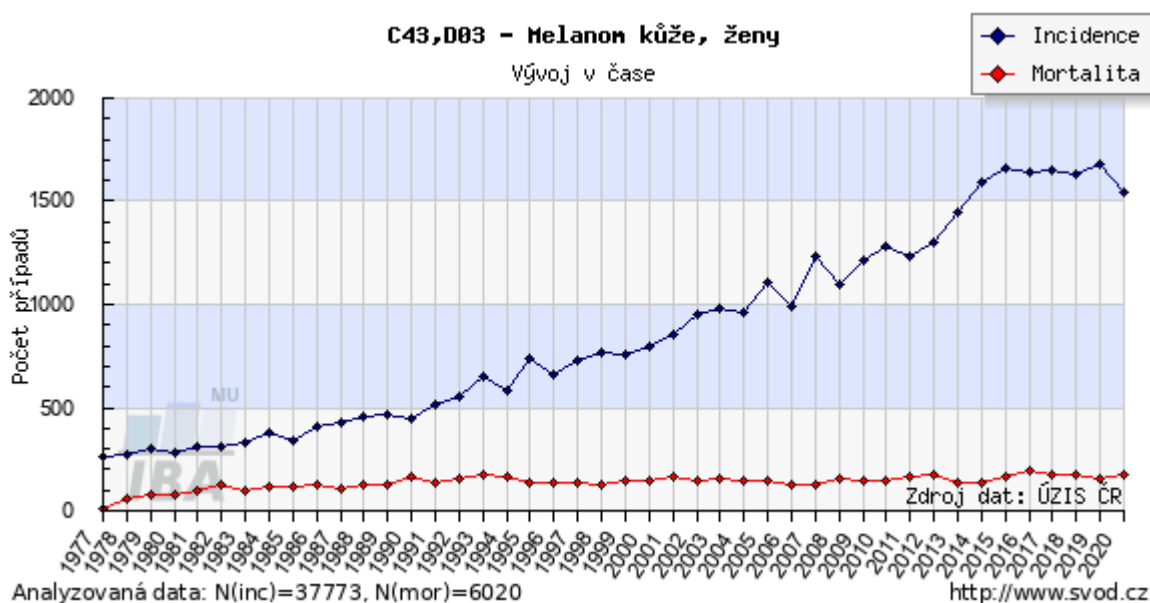
Léčba volená s ohledem na velikosti nádoru, jeho uložení, povahu, rozsah a prognózu onemocnění je výzvou. Podání celkové anestezie je považováno za bezpečné, je nutné však počítat se zvýšeným rizikem potratu nebo předčasného porodu (podle gestace) i se zvýšeným rizikem aspirace pro gastroezofageální reflux. Nejvhodnější doba pro termín operace je v době těhotenství 2. trimestru.<sup>25</sup> BCS je výkon vyžadující adjuvantní RT, která je v těhotenství kontraindikovaná. Možností jak oddálit chirurgický výkon následovaný pooperační RT až do porodu je v indikovaných případech zahájení neoadjuvantní chemoterapie. Během prvního trimestru je však potřeba se s ohledem k období organogeneze chemoterapii vyhnout.<sup>44</sup> Pokud operaci s provedením BCS s adjuvantní RT až do doby možného porodu oddalovat nejde, je pacientce nabídnuta totální mastektomie. V časném stádiu onemocnění je preferováno vyšetření sentinelové uzliny před exenterací axily s využitím nanokoloidu Tc<sup>99m</sup>, duální značení SU modří se vzhledem k možným alergickým reakcím nedoporučuje.<sup>25</sup>

## 4) Maligní melanom

### a) Incidence a mortalita maligního melanomu

Maligní melanom (MM) diagnostikujeme méně často než karcinom prsu, v ČR ročně přibude necelých 2 tisíce nových případů a zemře na něj téměř 200 pacientů. ČR zaujímá 11. místo ve srovnání incidence MM s ostatními zeměmi světa, dvě příčky před námi je USA, první příčky patří Austrálii a Novému Zélandu.<sup>3</sup> Incidence pokračuje v dramatickém růstu, celkové počty v USA ukazují 33% nárůst u mužů a 23% u žen již mezi lety 2002 – 2006.<sup>45</sup> Znamená to nejrychlejší nárůst incidence u mužů ve srovnání s ostatními malignitami, u žen rychleji přibývá jen karcinomu plic.<sup>46</sup>

Graf č. 3: Vývoj incidence a mortality u maligního melanomu



### b) Vývoj chirurgické léčby

Informace o „černé rakovině“ a „fatálním černém nádoru s metastázami“ byla poprvé zmíněna v 5. století řeckým lékařem Hippokratem. Popis melanomu jako nemoci poprvé uvedl v roce 1806 René Laennec, vynálezce stetoskopu, ve své prezentaci na lékařské fakultě v Paříži.

Popsanou chorobu pojmenoval „melanom“ až o pár let později, v roce 1812, a zároveň jako první rozpoznal metastázy v uzlinách mediastina a játrech.<sup>47</sup>

**Obr. č. 10:** lokálně pokročilý MM



*Lokálně pokročilý maligní melanom v oblasti distálních žeber vpravo, stagingová vyšetření bez suspekce na postižení spádových lymfatických uzlin, bez prokázané generalizace onemocnění. V pravé axile křížkem zakreslená poloha SU*

Stěžejní v léčbě maligního melanomu je radikální chirurgické odstranění primární kožní léze. Stejně jako u karcinomu prsu se i v případě maligního melanomu dlouhé roky diskutovalo nad optimální šíří resekčních okrajů. Výsledky rozsáhlých studií ukazují, že resekční okraj větší než 2 cm nevede ke zlepšení ve smyslu délky bezpříznakového období, doby do lokální recidivy nebo celkového přežití.<sup>48,49,50,51</sup>

V současné době se provádí dle doporučení NCCN radikální excize s lemem zdravé tkáně 10 mm u melanomu s Breslow do 1,0 mm, při Breslow nad 2,0 mm je optimální lem reexcize 20 mm.<sup>52</sup> Široká kožní excize zahrnuje odstranění tkáně kůže a podkoží až ke svalové fascii, která se ponechává nepoškozená in situ. Tento méně rozsáhlý chirurgický zákrok není pro pacienta tolik mutilující a vzniklý defekt lze často uzavřít přímou suturou nebo využitím

jednoduchých kožních laloků přesunem z okolí nebo překrytí volným dermoepidermálním štěpem.

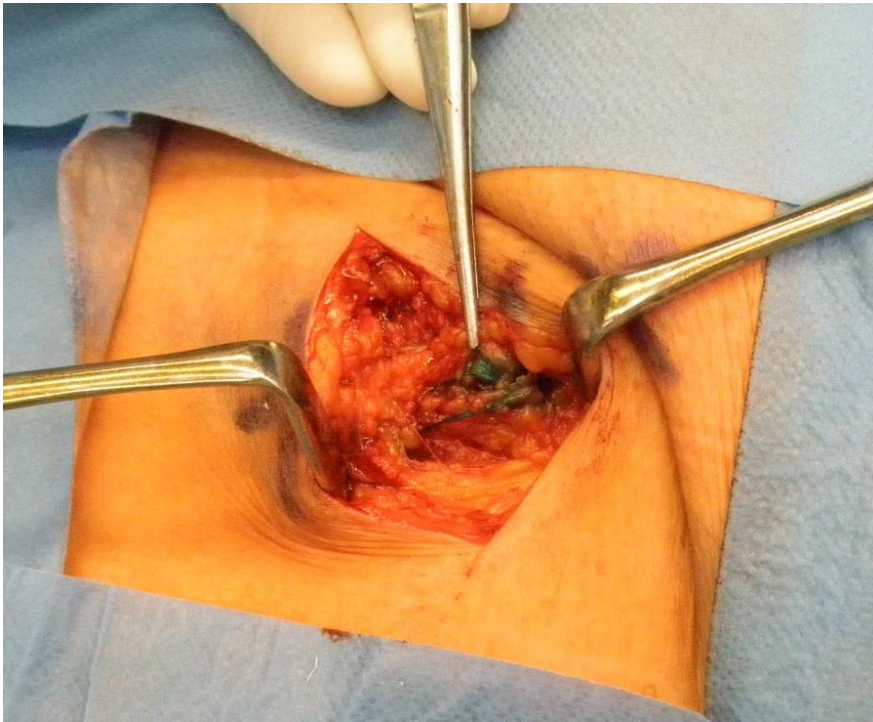
Zhodnocení stavu lymfatických uzlin ve spádové oblasti patří k základním stagingovým vyšetření. Již na počátku 80. let Fisher ve své publikaci upozorňoval, že klinické vyšetření spádových uzlin není dostačující a nemůže přesně určit jejich metastatické postižení.<sup>53</sup> Ani lymfangiografii nebo PET s intravenózně aplikovanou 18-fluoro-2-deoxyglukozou není možné použít jako spolehlivého ukazatele regionálních metastáz.<sup>54</sup> Kožní lymfoscintigrafii jako důležitý krok k přesnému určení lokality spádových lymfatických uzlin u MM popsali již v roce 1977 Robinson a Holmes.<sup>55,56</sup> Nejprve bylo toto vyšetření indikováno hlavně u MM trupu, kde je možnost lymfogenního šíření metastáz do více spádových oblastí. Jen při znalosti predilekčního místa metastáz lze indikovat provedení exenterace adekvátní lokality.

Ve snaze snížit počet pooperačních komplikací po exenteracích, které se leckdy ukázaly jako zbytečné při nálezů negativních uzlin hlavně u časných stádiích onemocnění, bylo zvažováno, u kterých pacientů by mohla být exenterace vynechána. Sampling spádových uzlin může podle jednotlivých autorů minout metastázu v 15–42 % případů.<sup>57</sup> Proto se začala hledat metoda k nalezení nejbližší uzliny k MM. Prvotní snahy byly zaznamenány Mortonem,<sup>22</sup> a to za použití barviva k peroperační vizualizaci regionálních lymfatických uzlin. Barvivo se aplikovalo intradermálně k ložisku a podkožně se stopoval celý průběh zbarvené lymfatické uzliny od místa aplikace až do spádové oblasti. Jednalo se o technicky i časově velmi náročný postup. Na počátku bylo nejdůležitější vytipovat nejen správné barvivo, ale i jeho použité množství a způsob aplikace.<sup>21</sup> Nalezení nejvhodnější techniky bylo před uvedením do praxe nejprve pilováno na zvířecích modelech, konkrétně na kočkách. Většina neprimárních laboratorních savců má lymfatickou drenáž zadních končetin vedenou do jedné velké tříselné uzliny, avšak kočky mají tříselné uzliny tři a každá má svojí odlišnou lymfatickou uzlinu. Proto byly právě kočky vybrány jako vhodný laboratorní model k peroperační identifikaci lymfatických cest.

První výsledky publikoval v roce 1992 Morton,<sup>22</sup> který popsal na 237 případech u 223 pacientů (někteří měli více spádových lokalit) peroperační mapování lymfatických uzlin a selektivní lymfadenektomii u MM. Začal používat termín sentinelová uzlina, kterou definoval jako nejbližší uzlinu místu kožního MM.



**Obr. č. 11:** modře zbarvená SU a její lymfatická drenáž v tříslu



*Pohled do levého třísla, kde se zobrazily tři SU, tři křížky zakreslené na kůži značí jejich polohu. Kožní řez je vedený mezi distálním a středním křížkem v oblasti proximálního stehna. V pinzetě je modře zbarvená SU, laterálně od ní je modře zbarvená lymfatická céva jdoucí k SU uložené proximálněji.*

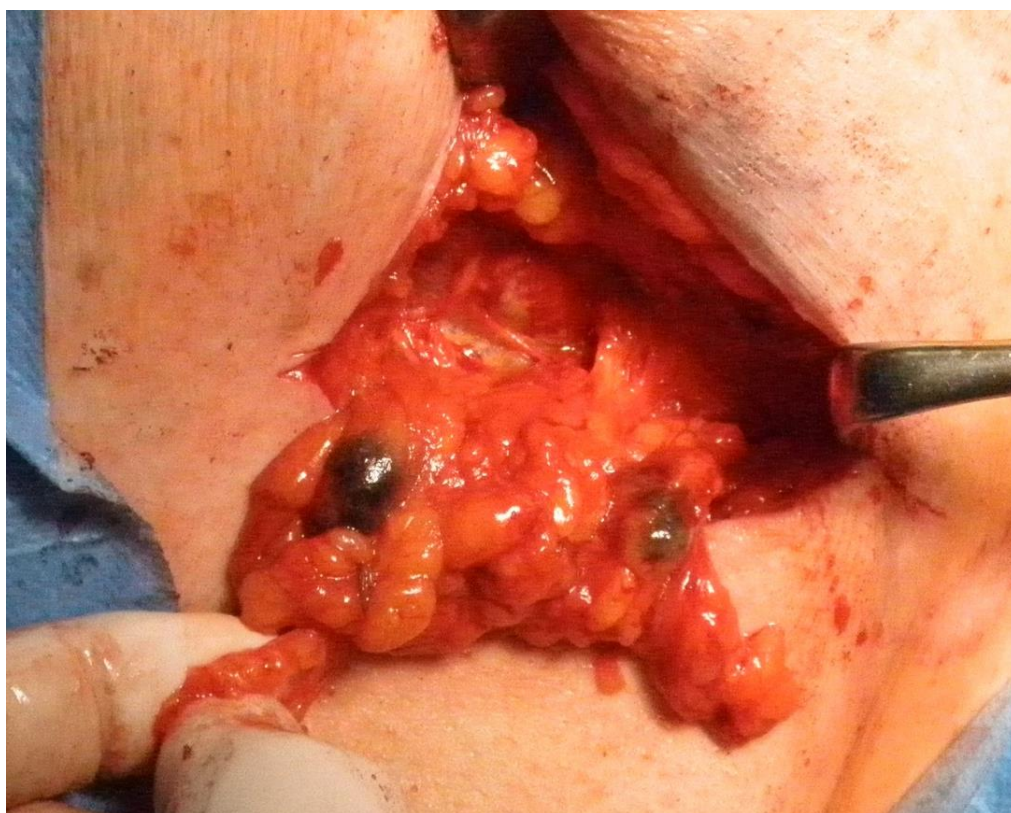
Uzlinu patolog následně vyšetřil v hematoxylin-eozinu (HE) i imunohistochemicky. Udávaná falešná negativita metody byla nižší než 1 %. Postup následoval Giuliano, který v roce 1994 publikoval 174 výkonů, kdy pomocí modrého barviva identifikoval a selektivně exstirpoval první („sentinelovou“) uzlinu následovanou axilární exenterací u karcinomu prsu.<sup>57</sup> V tomtéž roce zveřejnili Van der Veen s kolegy publikaci s detekcí SU značeným albuminem Tc<sup>99m</sup> s použitím gamasondy během operačního výkonu u MM.<sup>58</sup> Všechny tyto studie ukázaly, že časně metastázy MM se vždy nejdříve objeví v SU. Pokud je SU pečlivě a přesně vyšetřena a je negativní, ostatní, následné uzliny jsou také negativní. Skip metastázy byly popsány velmi raritně, u méně než 2 % případů.<sup>59</sup> Stejný postup začal být brzy používán i pro karcinom prsu, kde je za průkopníka s největšími počty publikovaných souborů považovaný prof. Umberto Veronesi z milánského pracoviště.

Vyšetření SU patří již řadu let ke standardům léčby stejně jako u karcinomu prsu. U pacientů v I. a II. stadiu onemocnění je stav SU považován za nejsilnější prediktivní faktor přežití, má dopad na další terapeutická rozhodnutí ve smyslu pravidelných kontrol spádové

oblasti ultrazvukovým vyšetřením nebo indikací k exenteraci dané oblasti, adjuvantní léčbě a frekvence následných dispenzárních kontrol pacienta. U maligního melanomu je indikováno vyšetření SU od Breslow 0,8 mm, kdy riziko postižení SU představuje 5–10 %.<sup>60</sup> Při nižším Breslow (pod 0,8 mm) je možné doporučit vyšetření SU při přítomnosti rizikových faktorů (ulcerace, počet mitóz 2 a více / 1 mm<sup>2</sup> hlavně v mladém věku, známky regrese primární léze nebo při přítomnosti lymfovaskulární invaze).<sup>61</sup> Vyšetření SU zvažujeme i v případě, že již byla provedena radikální široká excize MM ev. s uzávěrem defektu rotačním lalokem nebo volným kožním přenosem, i když přesnost takového vyšetření může být snížena.

SU uložená mimo základní spádovou lymfatickou oblast je nazývána „průběžnou SU“ (in-transit sentinel node) a pokud je předoperačně zobrazena na nukleární medicíně, měla by být operatěrem vyhledána, exstirpována a patologem vyšetřena. U 5–40 % pacientů, kteří podstoupí vyšetření SU u MM, je nutné přehodnotit staging klinického stadia I-II do patologického stadia III kvůli nálezu mikrometastáz v SU.<sup>60</sup>

**Obr. č. 12:** modře zbarvená SU, černě zbarvené drobné axilární LU s metastázou MM



*Pohled do pravé axily, vpravo modře zbarvená SU, vlevo drobná černě zbarvená metastaticky postižená LU při MM v oblasti břicha, která nebyla rozpoznána předoperačně při UZ vyšetření*

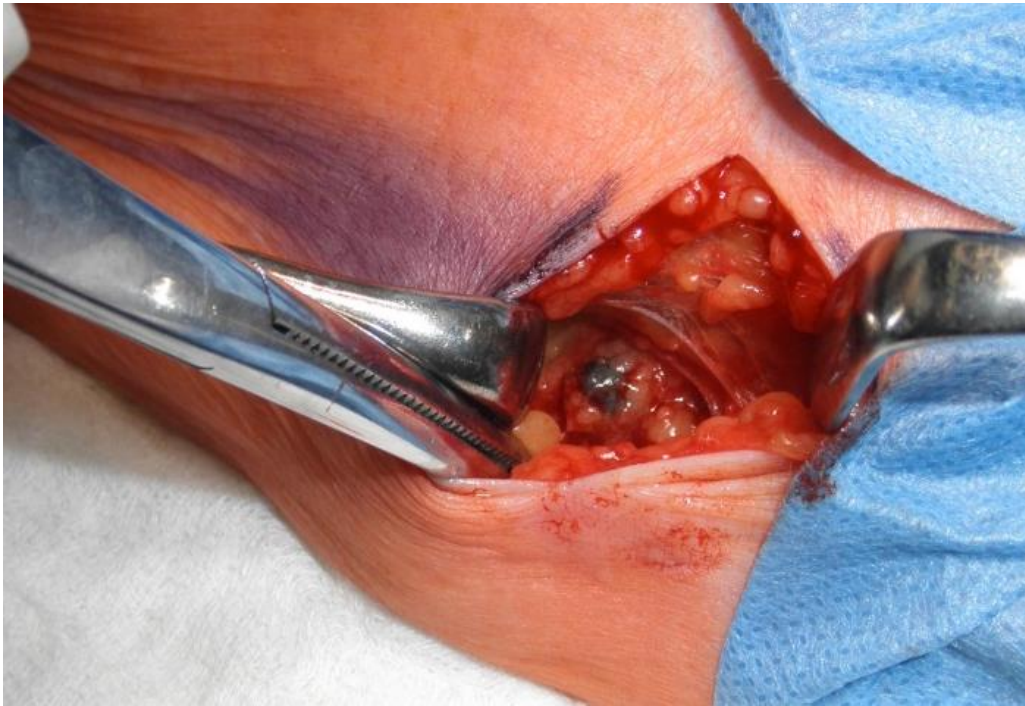


Podle doporučení NCCN není nutné duální značení SU. Pokud je modrá barva použita (nejčastěji isosulfanová nebo methylenová modř) je aplikována intradermálně k místu primární léze či jizvě po předchozím diagnostickém odstranění MM s minimálním okrajem zdravé tkáně. U každé vyjmuté SU ex vivo měříme okamžitou hodnotu gama aktivity. Odstraněny by měly být všechny uzliny s aktivitou vyšší než 10 % maximální naměřené hodnoty stejně jako všechny modře zbarvené uzliny, pokud bylo barvivo použito.<sup>61</sup>

Rozhodnutí o použití modrého barvení je na operujícím chirurgovi a jeho zkušenostech. Nespornou výhodou aplikace modři vidíme v případě, kdy je SU umístěna blízko primárního tumoru a dostane se do stínu místa aplikace  $Tc^{99m}$ . Scintigrafie je v tomto případě velmi hrubá a nepřesná, ale modrá barva uzlinu při šetrné aplikaci barviva vizualizuje. Užití modři je bezesporu důležité i v případě, kdy se SU použitím radiofarmaka s  $Tc^{99m}$  na nukleární medicíně nezobrazí.<sup>21</sup> V takové situaci však musí být primární tumor umístěn v lokalitě s jednoznačnou spádovou lymfatickou drenáží. Pokud je MM umístěn např. na trupu, kde je možná lymfatická drenáž čtyřmi směry, do obou axil i obou třísel, samostatné užití modři zde ztrácí význam, protože nemůžeme naslepo operačně revidovat všechny čtyři oblasti.

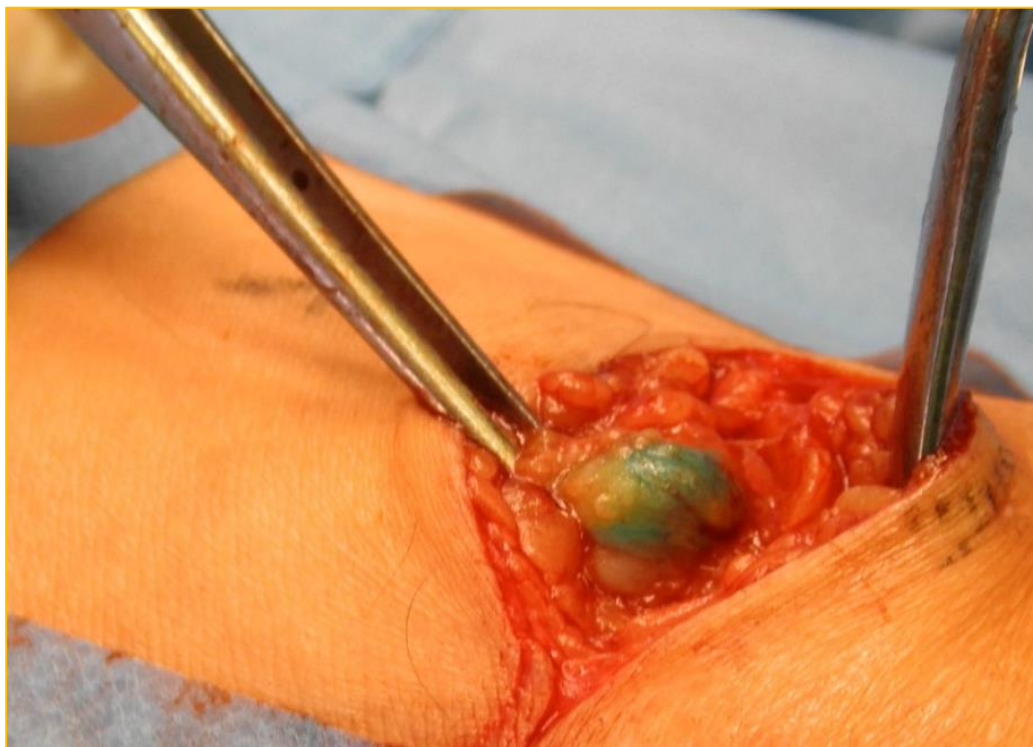
Průběžná (in-tranzitní) SU může být umístěna v kterékoli lokalitě, nejčastěji v prsu, kubitě či popliteální oblasti. Vzhledem k nevelkému počtu popsáných případů s pozitivní průběžnou SU a negativní SU v základní oblasti nejsou jednoznačná závazná doporučení, jak v daném případě postupovat. Metastáza MM v prsu mimo lymfatickou uzlinu svědčí pro hematogenní rozsev a je spojována se špatnou prognózou s mediánem přežití 10 měsíců.<sup>62</sup>

**Obr. č. 13:** *SU v kubitě*



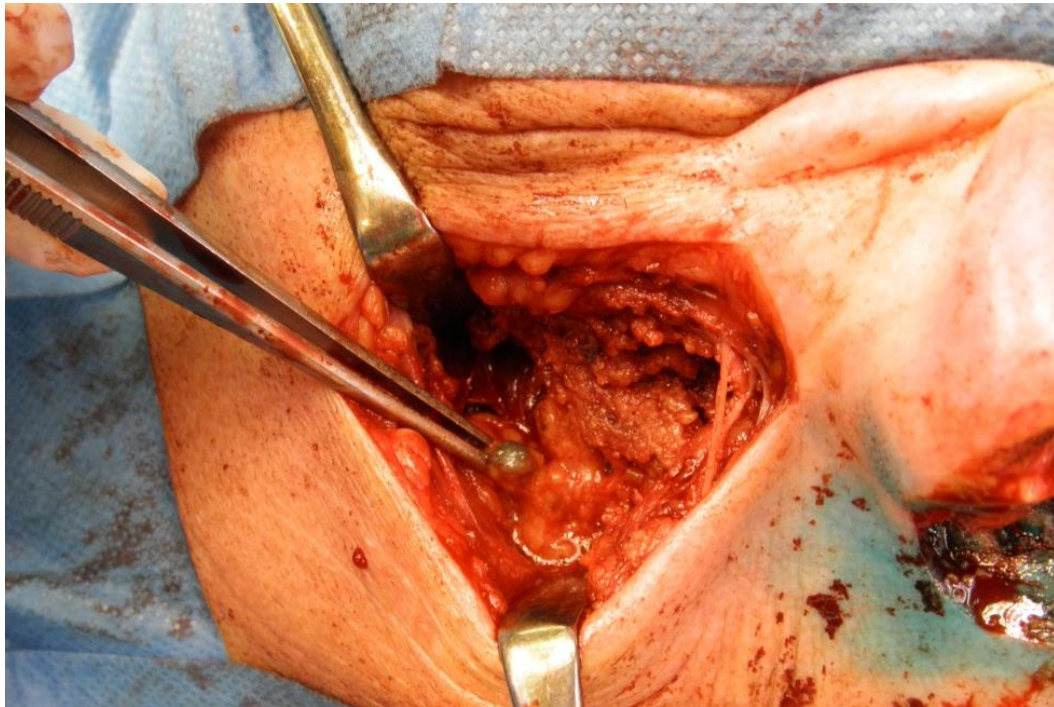
*Modře zbarvená SU uložena v pravá fossa cubiti při MM v oblasti pravé ruky*

**Obr. č. 14:** *SU v popliteální oblasti*



*Modře zbarvená SU uložena v pravé popliteální oblasti při MM pravé paty*

**Obr. č. 15:** *SU uložená při úhlu mandibuly*



*V pinzetě je modře zbarvená SU uložená při úhlu mandibuly vlevo při MM levého ušního boltce, v pravém dolním rohu fotky je patrná rána po parciální resekcí boltce (výkon prováděn ve spolupráci s ORL lékařem)*

Při postižení spádových uzlin je indikována disekce dané oblasti. V axile je doporučováno odstranění uzlin I-III etáže. Při disekci třísla lze zvážit odstranění i ilických a obturátorových uzlin, a to v případě postižení více než 3 tříselných uzlin nebo Cloquetovy uzliny, nicméně benefit takto rozsáhlé operace ve smyslu zlepšení celkového přežití je stále nejistý ve srovnání s použitím moderní systémové adjuvantní léčby a možných pooperačních komplikací, zejména lymfedému končetiny.<sup>63</sup>

## 5) Lokoregionální komplikace léčby

---

### a) Pooperační

#### I) Časné – seromy, ranné infekce

Seromem nazýváme tekutinu, která je tvořena tkání v operační ráně. Je čirá, někdy s příměsí krve, nezapáchající. Její sekrece ustává v rámci několika dní po operačním výkonu. Serom se v operační ráně vyskytuje vždy, většina pacientů o něm neví. V momentě, kdy pacientovi působí obtíže, recidivuje, vyžaduje opakované kontroly nebo intervence lékařem nebo zinfikuje, řadíme jej mezi komplikace.

K zamezení vzniku seromu v operační ráně jsou používány drény, nejčastěji s podtlakovým odsáváním (Redonova drenáž). Výhodou podtlakových drénů je jejich vyvedení mimo operační ránu a tím snížení rizika rané infekce ve srovnání s použitím např. kapilárních či rukavicových drénů, které jsou vyváděny přímo operační ranou. Drén ponecháváme v ráně dokud množství odváděné tekutiny neklesne na přijatelnou hodnotu, nejčastěji pod hodnotu 40 ml / 24 hodin. Množství seromu závisí na mnoha okolnostech – konstituce a nutriční stav pacienta, velikost operační rány, rozsah a technika operačního výkonu, prodělaná neoadjuvantní léčba.

Po odstranění drénu z operační rány nemá serom možnost z rány vytékat a jeho množství se ustálí, nadbytek seromu se samovolně vstřebá. Ke kontrole množství seromu v pooperačním období je dostačující palpační klinické vyšetření. Při nadbytku seromu je patrná fluktuace v ráně. Pro přesnější změření množství tekutiny je možné použít ultrazvukové vyšetření. V případě, kdy je množství operační tekutiny větší a serom způsobuje pacientovi obtíže, je možné jej punktovat jehlou mimo operační ránu. Při opakovaném doplňování seromu je ke zvážení opětovné zavedení drenáže.

Závažnější pooperační komplikací je infekce v ráně. Nejčastěji se jedná o stafylokokovou infekci. Vyskytuje se v průběhu několika dní po operačním výkonu, nejčastěji pátý pooperační den. Typickým projevem je zarudnutí, proteplení, bolestivost a otok v místě operační rány spojený s hnisavou sekrecí. Základem léčby je vypuštění hnisu z rány a lokální péče o ránu s nasazením ATB léčby. Vzhledem k předpokládanému původci zánětu lze ATB volit empiricky do výsledku kultivace, aby byla léčba zahájena co nejdříve.

V prevenci zánětlivých ranných komplikací je nutné dbát na pečlivou aseptickou přípravu operačního pole, šetrné operační techniky, v případě rozsáhlejších operačních výkonů operovat v chráněném koagulu a asepticky přistupovat k ranám při pooperačních kontrolách.

## II) Pozdní – lokální recidivy

LR patří mezi pozdní komplikace léčby. U karcinomu prsu představují nový výskyt nádoru v oblasti prsu po BCS, hrudní stěny po totální mastektomii nebo v oblasti spádových lymfatických uzlin v místech, kde byl nádor původně léčen.<sup>64</sup> Mnoho dostupných údajů o dlouhodobých rizicích izolovaných LR pochází ze studií provedených v 80. a 90. letech 20. století, kdy datujeme počátky modifikovaných radikálních mastektomií a BCS s radikálním výkonem na axilárních uzlinách s adjuvantní RT celého prsu.<sup>65-70</sup>

Mezi nejvýznamnější faktory predikce recidivy patří biologická charakteristika nádoru (grade, stav hormonálních receptorů, lymfangioinvaze, perineurální šíření, HER2/neu status). LR se častěji vyskytuje u mladých pacientek do 35 let, při postižení regionálních lymfatických uzlin, větší velikosti tumoru, při přítomnosti extenzivní intraduktální komponenty (ložiska DCIS v okolí invazivního karcinomu).<sup>71</sup>

Na původ lokálních recidiv i na míru jejich vlivu na další vývoj onemocnění existují různé názory.<sup>72</sup> Lokální recidivy v prsu jsou heterogenní skupina. Veronesi je dle charakteristiky dělí na pravé a nepravé LR. Pravé LR jsou výsledkem reziduální choroby a růstem maligních buněk, které nebyly odstraněny při primární operaci ani zničeny adjuvantní radioterapií. Tyto recidivy jsou lokalizované ve vzdálenosti do 3 cm od původního ložiska. Zatímco nepravé LR, které Veronesi označuje jako nový primární nádor vznikající v reziduální části tkáně žlázy, se chovají jako nový nádor.<sup>73,74</sup>

Na konsenzuálním setkání v Miláně v roce 2005 byl stanoven maximální přijatelný počet lokálních recidiv v desetiletém sledování, který by se měl pohybovat od 5 % do 10 % tzn. pod 1 % ročně.<sup>75</sup> Na stejném závěru se dohodl i panel odborníků z USA a Evropy na konferenci v roce 2008 v Biedenkopfu v Německu.<sup>76</sup>

Lokální recidiva představuje pro pacientky velké psychické trauma. Mnohé z nich pak ztrácí naději a víru v konečné vyléčení bez ohledu na fakt, zda lokální recidiva v prsu ovlivňuje další průběh onemocnění nebo neovlivňuje.<sup>72</sup> Jen výjimečně je prováděn opakovaný

konzervativní výkon, nejčastějším řešením je mastektomie, od které byly pacientky ušetřeny při primární operaci.<sup>77-79</sup>

**Obr. č. 16:** Lokální recidiva v pravém prsu



*Šikmý mamografický snímek vpravo, v horním vnitřním kvadrantu nápadná recidiva v jizvě velikosti 22 mm, čtyři titanové klipy značící lůžko tumoru po předchozí BCS provedené před pěti lety, axilárně suspektní LU. Zdroj: EUC Mamocentrum Pardubice*

Vzrůstající trend postupného nárustu v počtu LR s prodlužujícím se follow-upem potvrdily dvě studie s dlouhým intervalem sledování pacientek po BCS, studie B-06 a také Milánská studie. Studie B-06 prezentuje 13,4 % lokálních recidiv po 20 letech u nádorů do velikosti 4 cm. Milánská studie po 20 letech sledování uvádí výrazně menší počet recidiv, který dosáhl 8,8 %, jednalo se však o pacientek s nádory do 2 cm. Do 5 roků od operace odpovídal výskyt LR po BCS počtu LR po mastektomiích. Výrazně vyšší počet recidiv



u konzervativních výkonů po pěti letech od operace vysvětluje Veronesi vznikem nových nádorů (nepravá recidiva).<sup>80-1</sup>

I u LR po léčbě MM musíme odlišit recidivu po nedostatečné počáteční excizi MM, která s největší pravděpodobností představuje lokálně přetrvávající onemocnění, od skutečné recidivy po adekvátní radikální počáteční excizi, která pravděpodobně představuje dermální lymfatické postižení v blízkosti široké jizvy.<sup>82</sup> V obou případech je doporučena histologická verifikace obdobně jako při primárním tumoru, dle rozsahu postižení formou jehlové nebo core cut biopsie, incizionální nebo excizionální chirurgické biopsie. Zároveň je vhodné doplnit stagingová vyšetření. Pokud není prokázáno extraregionální onemocnění a LR je operabilní, je indikována kompletní chirurgická excize. Lze zvážit i vyšetření SU, i když prognostický význam pozitivní SU u LR onemocnění není jasný.<sup>61</sup>

**Obr. č. 17:** lokální recidiva MM v jizvě po amputaci palce



*V minulosti stav po amputaci palce levé dolní končetiny pro subunguální MM, nyní lokální recidiva ve fibulárním okraji jizvy*

## **b) Postiradiační angiosarkom prsu**

BCS následovaný adjuvantní radioterapií je standardem léčby časných stádií karcinomu prsu. Ionizující záření působí malé, přesto detekovatelné riziko vzniku sekundárních malignit, epiteliálních (karcinomů) i mesenchymálních (sarkomů). Nejčastějšími postiradiačními sarkomy v různých lokalizacích jsou maligní fibrozní histiocytom, fibrosarkom, osteosarkom a angiosarkom. Angiosarkomy patří mezi nejméně časté formy postiradiačních sarkomů, avšak jsou nejčastější formou vyrůstající v prsním parenchyma.<sup>83</sup>

Vznik sekundárního AS v terénu chronického lymfedému po radikální mastektomii pro karcinom prsu poprvé popsali v roce 1948 Stewart a Treves, podle kterých byl tento stav i pojmenovaný (Stewart–Treves Syndrome).<sup>84</sup>

**Obr. č. 18:** *lymfangiosarkom v terénu chronického lymfedému horní končetiny*



*Kožní ložisko lymfangiosarkomu levého předloktí při chronickém lymfedému celé horní končetiny po komplexní léčbě pro karcinom prsu. V oblasti lokte je patrná jizva po operační léčbě pouřazové fraktury ulny v minulosti*

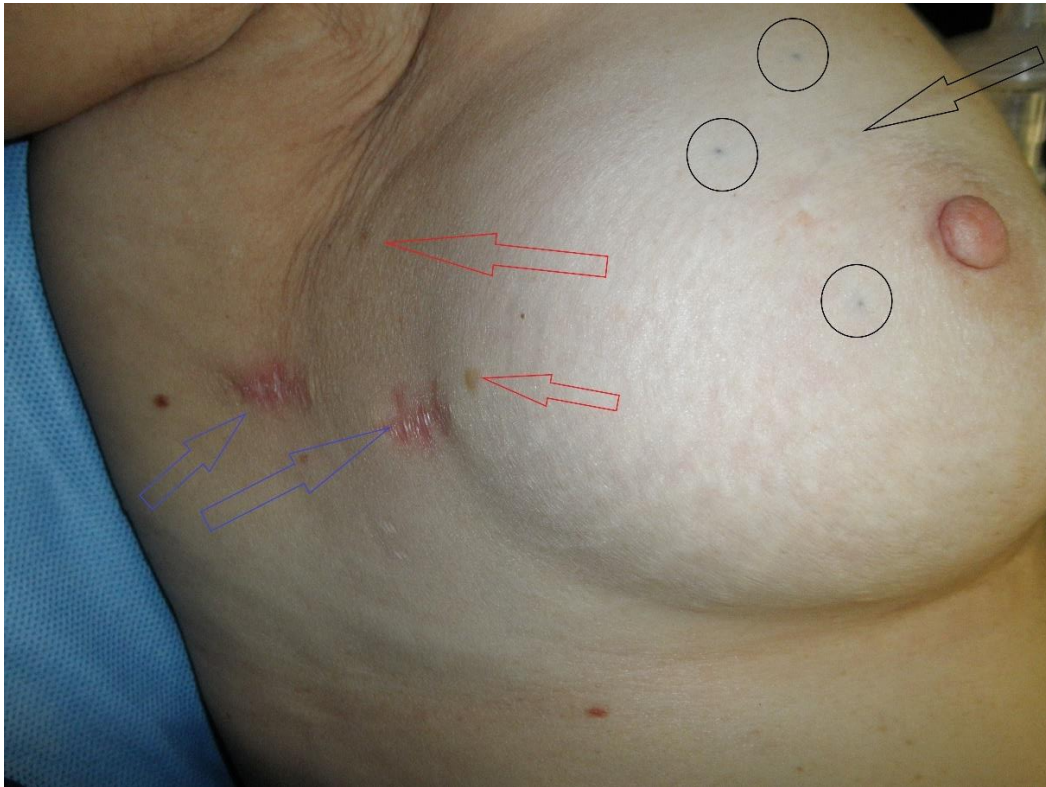


Ve stejném roce byla Cahanem stanovená první diagnostická kritéria RAAS u postiradiačního sarkomu kostí a zahrnovaly čtyři jednotky - (a) primární maligní tumor musí být histologicky odlišný od RAAS, (b) k rozvoji sarkomu musí dojít v ozařovaném poli, (c) musí být prodloužená doba výskytu (typicky 4 roky) mezi oběma malignitami, a (d) sekundární malignita musí být histopatologicky potvrzený sarkom.<sup>85</sup> Brzy se stala základem pro všeobecná kritéria RAAS. Následně byla tato kritéria modifikována Arlenem v roce 1971, zkrátila se doba do výskytu sekundární malignity na 3 roky a přibyla nutnost histologické diference mezi primárním a sekundárním angiosarkomem (AS).<sup>86</sup>

RAAS prsu byl poprvé popsán v roce 1981 Maddoxem a Evansom.<sup>87</sup> Vyskytuje se typicky u starších žen v radioterapii změněné kůže a následně může infiltrovat přilehlý parenchym prsní žlázy. Kumulativní incidence RAAS prsu je 3.2 na 1000 pacientů po 15 letech.<sup>88</sup> Výsledky nedávné holandské populační studie stanovily riziko vzniku RAAS prsu na 0,1 %.<sup>89</sup> Udávané celkové pětileté přežívání kolísá dle publikovaných dat mezi 43 a 88 %.<sup>90-1</sup>

Jde o raritní sekundární maligní onemocnění s nízkou incidencí, publikované práce s touto problematikou obsahují většinou jen retrospektivní studie nebo kazuistiky. proto dosud není definovaná standardizovaná léčba. Z dostupné odborné literatury je zjevné, že každé pracoviště postupuje podle svých zvyklostí a podle aktuálního stavu pacienta. Shoda mezi autory panuje v důležitosti časně diagnózy RAAS, která umožní potenciál kurativní léčby.<sup>90,92,93</sup> Raritnost onemocnění, nespecifický klinický, radiologický i histologický obraz často vede k oddálení diagnózy.

**Obr. č. 19:** drobná nenápadná ložiska RAAS



*Fotka pravého prsu, červené šipky ukazují na nenápadné nově vzniklé změny na kůži laterálně v terénu předchozí RT, modré šipky k jizvám po diagnostické excizi obdobných kožních ložisek, stav po komplexní léčbě pro karcinom prsu v minulosti, černá šipka vpravo ukazuje na jizvu po BCS, černé kroužky upozorňují na zbytkové uhlíkové značky na kůži aplikované před neoadjuvantní léčbou pro karcinom prsu.*

Zobrazovací vyšetření RAAS nemusí vždy zachytit, proto je kladen největší důraz na klinické vyšetření pacientky, popis makroskopického vzhledu kožních afekcí a všech nových kožních změn stejně tak i na důslednou edukaci pacientky o samovyšetření prsu.<sup>94</sup> RAAS se často vyvíjí u pacientek po skončení intenzivní dispenzarizace a kontakt s lékařem je proto méně častý. Mamografický náález bývá nespecifický nebo dokonce chybí.<sup>95</sup> Na ultrazvuku je RAAS heterogenní, hypervaskularizovaný s hyper- i hypoechogenními oblastmi narušující architekturu žlázy.<sup>96</sup> Ze zobrazovacích modalit má největší přínos MRI, která dokáže odhalit reziduální tumor po chirurgické excizi resp. recidivu.<sup>97</sup> Nejvhodnější metodou na diagnostiku RAAS je dle některých autorů core cut biopsie, resp. diagnostická excize, která by se měla provést vždy při objevení se nové podezřelé léze v terénu předchozí RT.<sup>98-100</sup>

Další shoda panuje v iniciální léčbě RAAS, která představuje radikální chirurgickou intervenci.<sup>85,101-103</sup> Nejasnosti však stále panují v doporučení velikosti resekcčního okraje stejně

jako v typu zvolené chirurgické metody – široká excize vs totální mastektomie. Velikost resekčních okrajů při chirurgické léčbě byla předmětem vícero studií. Při lézích s kožní infiltrací někteří autoři doporučují širokou excizi resp mastektomii s resekčním okrajem 2–4 cm, při malých lézích uvádějí jako bezpečný okraj 1 cm.<sup>104-107</sup> V každém případě je míra přežívání (survival rate) signifikantně nižší při pozitivním resekčním okraji (R1, resp. R2) ve srovnání s čistým okrajem (R0 resekce).<sup>108,109</sup>

Názory na další léčbu se výrazně liší. Podle některých autorů neo- nebo adjuvantní chemoterapie zlepšuje lokální kontrolu,<sup>85</sup> ne však systémový relaps nebo OS, který dosahuje 5 – 48 měsíců.<sup>100,110</sup> Někteří autoři popsali slibné reakce na paklitaxel anebo gemcitabin – taxan (včetně úplných remisí) při resekovatelném primárním nebo recidivujícím RAAS.<sup>111,112</sup>

**Obr. č. 20:** četné ložiskové postižení RAAS



*Četné kožní změny – ložiska poiradiačního angiosarkomu – v terénu předchozí RT v minulosti, patrný edém a trvající poiradiační změny kůže levého prsu, indikováno k radikálnímu operačnímu řešení, dle definitivní histologie dosaženo resekčního okraje 10 mm.*

Cohen-Hallalehova studie vyhodnocuje vliv neoadjuvantní chemoterapie u primárně inoperabilních stádií.<sup>92</sup> Studie fáze II naznačují klinický přínos léčby paklitaxelem u primárně neresekabilního RAAS se 74% mírou neprogrese pro dvou cyklech léčby.<sup>113-154</sup>

Skutečnost, že RAAS jsou RT indukované nádory činí další využití RT v léčbě sekundárního AS diskutabilním zejména stran celkových užitých dávek. Depla et al. (2014) uvádí, že přidání RT po chirurgické léčbě zlepšuje lokální kontrolu onemocnění.<sup>116</sup> I podle Donovan et al. (2018) je hyperfrakcionovaná RT po chirurgické excizi RAAS spojená s nižším výskytem lokálních recidiv.<sup>117</sup> Kombinace akcelerované hyperfrakcionované radioterapie s hypertermií s téměř kompletní patologickou odpovědí byla publikována Molitorisem.<sup>118</sup> Hypertermie je považována za potencionální radiosenzibilizátor a může být vhodnou možností v kombinaci s radioterapií v adjuvantní léčbě.<sup>118,119</sup>

## 6) Biomarkery v diagnostice lokoregionálních komplikací

---

Role imunitní odpovědi jako rozhodujícího faktoru na výsledek maligního onemocnění je v současnosti stále více poznávána. Za klíčový a nepostradatelný rys maligního růstu je považována schopnost nádorových buněk uniknout pozornosti imunitního systému.<sup>120</sup>

Biomarkery hrají zásadní roli v managementu onkologických pacientů.<sup>121</sup> S poznáním role imunitního systému na průběh nádorového onemocnění a příchodem imunoterapie, bylo více pozornosti zaměřeno na biomarkery v odpovědi organismu na nádor. Při progresi nádorového onemocnění byly popsány změny v hladinách biomarkerů jako známka imunitní odpovědi ukazující na dysfunkci imunitního systému.<sup>122-165</sup>

Současná terapeutická strategie u onkologických pacientů je založená na multimodálním přístupu kombinujícím chirurgický zákrok, radioterapii a systémovou léčbu. Zatímco efekt radiace a systémové léčby na imunitní systém pacienta byl extenzivně zkoumán,<sup>127-130</sup> studie efektu chirurgické léčby na imunitní odpověď byla více zanedbávána.<sup>131</sup>

### a) Neopterin

Neopterin byl objeven Remboldem a Buschmannem v larvách včel, ve včelích dělnicích a v mateří kašičce v roce 1963 a následně ho izolovali Sakurai a Goto z lidské moči v roce 1967.<sup>132</sup> Vysokou koncentraci neopterinu v moči u pacientů s nádorovým onemocněním a virovou infekcí poprvé popsal Wachter et al. v roce 1979.<sup>133</sup> Další studie ukazují na zvýšenou hladinu neopterinu u různých onemocnění spojených s aktivací buněčné imunity.<sup>134</sup> Zvýšená hladina neopterinu nebo její rostoucí hodnoty v tělních tekutinách jsou spojovány s horší prognózou nemoci nebo rozvíjejícími se komplikacemi. Známa je detekce neopterinu v moči, séru, ascitické či pleurální tekutině nebo cerebrospinálním moku. A známá je i pozitivní korelace hladiny neopterinu s hodnotou CRP a prokalcitoninu a negativní s hodnotou albuminu nebo hemoglobinu.<sup>135</sup>

Chemicky patří neopterin do skupiny nekonjugovaných pteridinů obsahujících 2-amino, 4-oxo, pyrimidino-pyrazino (pteridinový kruh) s 3-carbon postranním řetězcem na carbon-6.<sup>136</sup> Neopterin je produkován zejména monocyty a makrofágy, vzniká biosyntézou z guanosin

trifosfátu (GTP). GTP je konvertován enzymem GTP cyklohydrolázou-I na 7,8-dihydro-neopterin (DHNP) trifosfát a dále 6-pyruvoyl-tetrahydropterin syntázou (PTPS) na 5,6,7,8-tetrahydrobiopteridin. Protože lidé a primáti jsou jedinými druhy s nedostatkem PTPS, akumuluje se DHNP, který se fosfatázou mění na neopterin.<sup>137</sup>

Neopterin je jedním z biochemických markerů používaných k hodnocení intenzity zprostředkované buněčné imunitní odpovědi. Zvýšení koncentrace neopterinu v séru o více než 10 nmol/l je pozorováno při aktivaci buněčné imunitní odpovědi. Vzhledem k jeho významu, stabilitě a jednoduchosti měření v různých tělních tekutinách, využití neopterinu v klinické praxi stále stoupá.<sup>136</sup> Sérová koncentrace neopterinu úzce koreluje s hladinou neopterinu v moči vyjádřené jako poměr neopterin / kreatinin.<sup>135</sup> Za fyziologickou hladinu neopterinu je považována koncentrace do 214  $\mu\text{mol} / \text{mol}$  kreatininu.<sup>138</sup>

Koncentrace neopterinu odráží úroveň oxidačního stresu způsobeného aktivací imunitního systému.<sup>137</sup> Měření hladiny v tělních tekutinách bylo nejčastěji provedeno pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (high-performance liquid chromatography), radioimunoanalýzou nebo metodou ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Hladina neopterinu stoupá u infekcí (bakteriálních, virových i parazitárních), autoimunitních chorob, malignit, při rejekci transplantátu, srdečním a ledvinném selhání, akutní koronární lézi, srdečním infarktu nebo po závažném traumatu.<sup>139</sup> Je prokázána souvislost mezi koncentrací a průběhem onemocnění. Snížená hladina neopterinu ukazuje na úspěšnost terapie, naopak zvýšená hladina je spojována s aktivním průběhem onemocnění a horší prognózou.

## **b) Tryptofan-kynurenin**

Zájem o metabolity tryptofanu stoupl v posledních několika dekádách kvůli jejich vlivu na lidské zdraví. Mnoho metabolitů vykazuje biologické a farmakologické aktivity, zejména kynurenin, indolamin a kynuramin.<sup>140</sup>

Hlavní cesta katabolismu tryptofanu je regulována kaskádou enzymů známé jako kynureninová dráha.<sup>140</sup> U savců je kynurenin stěžejní metabolit kynureninové dráhy a reprezentuje převládající degradační produkt tryptofanu. Meziprodukty této dráhy jsou zapojeny do patogeneze závažných neurologických onemocnění jako je Parkinsonova nebo Alzheimerova choroba nebo virová onemocnění. Hrají také roli imunoregulatoru a propojovatele mezi imunitním a nervovým systémem a uplatňují se v imunitní odpovědi u nádorových onemocnění.<sup>140</sup>

Druhou důležitou cestu v degradaci tryptofanu představuje methoxyindolová dráha, kde jsou hlavními produkty serotonin a melatonin. Touto cestou jsou katabolizována asi 1-2 % tryptofanu.<sup>141</sup>

Vedle těchto dvou drah je tryptofan degradován cestou intestinálních bakterií (asi 4–6 %) na indol a jeho deriváty a tryptamine.<sup>140</sup>

Zvýšený katabolismus tryptofanu byl pozorován u stavů organismu spojených s aktivací imunitního systému (např. infekce, ateroskleróza a její komplikace, autoimunitní a nádorová onemocnění). Hlavním katabolitem generovaným během zánětlivé odpovědi organismu je kynurenin jak je psáno výše. Jeho zvýšená hladina je spolehlivým ukazatelem aktivace imunitního systému při širokém spektru nemocí. Může to být vysvětleno vlivem proinflammatorních cytokinů, zejména interferonu  $\gamma$  na indolamin 2,3-dioxygenázu (IDO), která katabolizuje tryptofan na kynurenin. Předpokládá se, že IDO představuje jeden z hlavních faktorů odpovědných za uniknutí nádorového bujení pozornosti imunitního systému,<sup>142</sup> což je jeden z charakteristických znaků malignity. Na druhou stranu se předpokládá i to, že aktivace IDO reprezentuje jeden z mechanismů protinádorové aktivity INF- $\gamma$ .<sup>143,144</sup> Ukázalo se, že vysoká koncentrace kynureninu inhibuje růst nádorových buněk *in vitro*,<sup>145</sup> ale tento význam *in vivo* prostřední je sporný. V experimentální studii bylo prokázáno, že aktivita IDO má negativní vliv na hojení rány.<sup>146</sup>

## 7) Cíl práce

---

Cílem pilotní prospektivní studie bylo ověřit možnost detekce neopterinu, tryptofanu a kynureninu v sekretu odebraném z operační rány a korelovat změnu koncentrace s výskytem ranných komplikací.

Primárně jsme se zaměřili na porovnání koncentrací výše popsaných biomarkerů s výskytem komplikací v operační ráně. V delším časovém horizontu bude zajímavé porovnat koncentraci s výskytem lokální recidivy.

Předpokládaný počet pacientů zařazených do pilotní studie byl 20–25.

V rámci disertační práce bylo provedeno i retrospektivní multicentrické zhodnocení dat pacientů s postiradiačním angiosarkomem.



## 8) Metodika

---

Jedná se o prospektivní klinickou studii. Do studie byly zařazeni pacienti s histologicky potvrzeným nádorovým onemocněním prsní žlázy nebo kožním maligním melanomem nezávisle na histopatologickém typu nádoru a na přítomnosti postižení spádových mízních uzlin, kteří podstoupili na chirurgické klinice Pardubické nemocnice elektivní operační výkon v průběhu května 2016. Vyřazeni byli pacienti s benigním výsledkem definitivní histologie.

Důležitým aspektem pro zařazení pacienta do studie bylo jeho vyjádření souhlasu podpisem „Informovaného souhlasu pacienta“.

Studie byla v souladu s požadavky směrnice ICH GCP schválena Etickou komisí při Nemocnici Pardubického kraje, a.s., Pardubická nemocnice ze dne 18.12.2015.

Ke zhodnocení dat RAAS byly použity retrospektivně získané údaje od pacientů léčených v 9 onkologických centrech v ČR (Nemocnice Pardubického kraje, Masarykův onkologický ústav v Brně, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Nemocnice Hořovice, Krajská nemocnice Liberec, Fakultní nemocnice Ostrava, nemocnice Ostrava-Vítkovice, Krajská nemocnice Tomáše Bati Zlín a Fakultní nemocnice Plzeň) a ve 3 onkologických centrech na Slovensku (Univerzitná nemocnica Martin, Národný onkologický ústav Bratislava a Onkologický ústav Sv. Alžbety Bratislava). Zařazovací kritéria pro vstup do studie byla předchozí diagnóza karcinomu prsu léčená chirurgicky s adjuvantní RT, dále histologicky potvrzený RAAS prsu diagnostikovaný minimálně 36 měsíců po skončení této RT a diagnostikovaný mezi 1. lednem 2000 a 31. prosincem 2017 a absence vzdálených metastáz v době diagnózy RAAS.

Studie všech zmíněných zúčastněných center byla schválena Etickou komisí Masarykova onkologického ústavu v Brně dne 20.11.2018.

## a) Metodika léčby

Základním vyšetřením u všech pacientů s onemocněním prsní žlázy bylo mamografické vyšetření ve dvou projekcích (kranio-kaudální a šikmý snímek, v případě potřeby dle uvážení mamodiagnostika doplněný bočnou projekcí) a ultrazvukové vyšetření prsů a spádových mízních uzlin (axilární uzliny a oblast nad a podklíčku), následované odběrem core cut biopsie z ložiska (popř. z více ložisek) v prsu a odběrem core cut biopsie ze suspektní axilární uzliny k histologické verifikaci, určení gradingu, imunohistochemickému zhodnocení typu nádoru a vyšetření HER2/neu amplifikace. V indikovaných případech byla doplněna ještě magnetická resonance prsů. Vyšetření mamodiagnostikem proběhlo ve screeningovém mamologickém pracovišti, materiál z core cut biopsie byl zpracován a vyšetřen na akreditovaném pracovišti patologie. Tak bylo stanoveno klinické T stádium (velikost ložiska v prsu) a N stádium (postižení spádových lymfatických uzlin). Všichni pacienti dále absolvovali stagingové ultrazvukové vyšetření břicha, RTG snímek plic a scintigrafii skeletu, dle potřeby doplněné o další zobrazovací vyšetření, k vyloučení vzdálených metastáz – M stádium.

Takto vyšetření pacienti byli dále léčeni v Komplexním onkologickém centru (KOC) Pardubické nemocnice. Léčebná taktika byla určena v rámci mamární multioborové komise. Součástí komise jsou onkochirurgové, kliničtí a radiační onkologové, radiologové, patologové a onkopsycholog.

Pacienti s časným nádorovým onemocněním (T1-2N0-1M0) s příznivým imunofenotypem nádoru byli indikováni k primární chirurgické léčbě. V případě lokálně pokročilých nádorů (T2-4N1-2M0) nebo nepříznivé povahy tumoru (inflamatorní karcinom, triple negativní karcinom) byla indikována předoperační systémová léčba.

Pacientům indikovaným k neoadjuvantní chemoterapii byl nejčastěji aplikován režim AC/T (4 cykly AC a následně 12 cyklů paclitaxel weekly), při prokázané amplifikaci HER2neu genu s připojením anti-HER2 cílené léčby (trastuzumab). V polovině a po skončení neoadjuvantní léčby bylo provedeno restagingové mamologické vyšetření (klinické, mamografické a ultrazvukové) ke zhodnocení efektu léčby. Sledovaly se tyto možné odpovědi nádoru: progresse velikosti tumoru a spádových uzlin, stacionární nález, částečná nebo kompletní radiologická odpověď v prsu i na uzlinách. Po skončení neoadjuvantní léčby následovala opět prezentace na mamokomisi k naplánování operačního výkonu.

Při zvažovaném prs šetřícím výkonu po neoadjuvantní léčbě byly do okrajů tumoru v prsu aplikovány 4 uhlíkové značky, většinou po podání 1. cyklu chemoterapie. Značení biopťované uzliny v tomto roce na našem pracovišti prováděno nebylo.

V případě indikování neoadjuvantní systémové léčby podstoupili pacienti operační výkon nejčastěji 4 týdny po jejím skončení.

Před každým prs šetřícím výkonem bylo provedeno CT vyšetření prsu v ozařovací poloze k ozřejmení polohy tumoru a následnému přesnějšimu zakreslení cílového objemu při adjuvantní RT.

Operace byla vždy zahájena výkonem na prsu. Kožní řez byl veden s respektováním kožních Langerových linií. Při indikaci k prs šetřícímu výkonu byla provedena parciální mastektomie se snahou o koncentrické uložení tumoru v preparátu s dosažením čistých onkologicky bezpečných resekcčních okrajů. Hemokoagulace bylo dosaženo elektrokauterem, větší cévy byly ligovány. Nehmatné tumory byly den před operací značeny Frankeho vodičem na mamodiagnostickém pracovišti. Po kontrole hemostázy byly standardně vloženy 4 titanové klipy do lůžka tumoru pro účely adjuvantní radioterapie s dozářením lůžka tumoru (boost). Následně byla na spodinu operační rány vložena Redonova podtlaková drenáž č. 10 (velikost drénu). Při modelaci prsu byl nejčastěji použit přímý posun okolní žlázy k uzavření lůžka tumoru a prostoru nad Redonovou drenáží, následně byla provedena sutura podkoží a uzávěr kůže intradermálním stehem. Pokud byla indikována totální mastektomie, pak byl kožní řez veden vřetenovitě kolem celé prsní žlázy a byla odstraněna celá prsní žláza včetně pektorální fascie na spodině. Krvácení bylo stavěno použitím komprese horkou rouškou, elektrohemokoagulace nebo ligatury. Při totální mastektomii titanové klipy do lůžka tumoru vkládány nebyly.

Při indikaci vyšetření sentinelové uzliny byl radioaktivní nanokoloid  $Tc^{99m}$  aplikován předchozí den cestou Nukleární medicíny Chrudimské nemocnice, po aplikaci nanokoloidu a masáži místa aplikace byla provedena lymfoscintigrafie a zakreslení polohy zobrazené sentinelové uzliny. Následně jsme po úvodu do celkové anestezie před samotným operačním výkonem peritumorózně aplikovali 2ml methylénové modři následované pětiminutovou masáží místa aplikace. Po operačním výkonu na prsu byla řezem při bazi axily otevřena axila, kde byla vyhledána modrá ev. radioaktivní uzlina. Sondou byla změřena aktivita vyjmuté uzliny za 10 sekund a všechny uzliny vykazující více jak 10 % maximální naměřené aktivity byly taktéž exstirpovány a následně společně odeslány jako sentinelové k histologickému vyšetření, kde

byly patologem zpracovány podle protokolu pro vyšetření sentinelové uzliny. Při indikaci exenterace axily byly z řezu při bazi axily odstraněny uzliny I. a II. etáže společně s axilárním tukem za šetření v. axilaris, thorakodorsálního svazku a n. thoracicus longus. V axile byly všechny přerušené tkáně ošetřeny ligaturou. Po kontrole hemostázy na závěr operace byl do axily vložen Redonův drén č. 10, následovala sutura podkoží a kůže intradermálním stehem. Při uzávěru rány byl na suturu podkoží i kůže použit vstřebatelný materiál.

Všichni pacienti s maligním melanomem kůže byli před léčbou vyšetřeni kožním lékařem, někteří podstoupili diagnostickou excizi kožní léze ideálně pokud to bylo vzhledem k velikosti postižení možné do čistých okrajů k histologické verifikaci maligního melanomu a určení lokálního rozsahu postižení (Clark a Breslow). Všichni pacienti dále měli v rámci stagingového vyšetření provedený UZ spádových oblastí k vyloučení lymfadenopatie (N stadium), zhotovený UZ břicha a RTG plic k vyloučení vzdálených metastáz (M stadium), dle potřeby doplněné PET CT ev. MR mozku v indikovaných případech.

Dále byli všichni pacienti léčeni v KOC Pardubické nemocnice. Léčebná taktika byla určena v rámci multioborové komise pro kožní tumory. Součástí komise jsou onkochirurgové, kliničtí a radiační onkologové, kožní lékaři, patologové, onkopsycholog a dle potřeby i lékaři dalších odborností (plastický chirurg, ortoped, intervenční radiolog).

Indikovaný operační výkon byl proveden v celkové anestezii za hospitalizace. Požadované resekcční okraje při radikální excizi ev. reexcizi byly po úvodu do celkové anestezie odměřeny měřidlem, odstranili jsme oblast kůže, podkoží až po svalovou fascii, která zůstala ponechaná neporušená na spodině rány. Po elektrohemokoagulaci ev. ligaci větších cév jsme mobilizovali okraje plánovaného kožního laloku k překrytí defektu (nejčastěji místním posunem). Před suturou podkoží a kůže byl do defektu vložen Redonův drén.

Při hodnotě Breslow nad 0,8 nebo při přítomnosti dalších nepříznivých faktorů (nízký věk pacienta, přítomnost ulcerace, vyšší počet mitoz na  $1\text{mm}^2$ ) bylo indikováno vyšetření sentinelové uzliny, které probíhalo obdobně jako u pacientů s karcinomem prsu. Den před operačním výkonem byl aplikován nanokoloid  $\text{Tc}^{99\text{m}}$  do čtyř stran do oblasti jizvy a následně před operačním výkonem po úvodu do celkové anestezie byly aplikovány 2ml methylenové modři k jizvě do místa směrem k oblasti kam byla sentinelová uzlina zakreslená. Při indikaci exenterace axily bylo postupováno stejným způsobem jaký je popsán výše.

Redonův drén vložený do operační rány byl u všech pacientů po projití kůží mimo operační ránu fixován stehem ke kůži, zkrácen na 2 cm, napojen na light protective drén a dále na podtlakovou nádobu.

## **b) Metodika sběru vzorků**

První pooperační den byl standardně mezi 6. a 7. hodinou ranní proveden odběr vzorku seromové tekutiny z drénu. Množství odebrané tekutiny bylo několik mililitrů, vzorek byl okamžitě anonymizován pod číselný kód. Část každého vzorku byla stabilizována plynným argonem a druhá část ponechána bez této stabilizace, dále byly vzorky neprodleně zamrazeny na teplotu  $-20^{\circ}\text{C}$  a následně odeslány k analýze do laboratoře ke zpracování. Drén byl z operační rány odstraňován podle množství odvedené tekutiny za 24 hodin nejčastěji 1. – 5. pooperační den. Pokud byl odběr vzorku seromu opakován i další pooperační dny, bylo to standardně prováděno mezi 6. a 7. hodinou ranní.

## **c) Laboratorní metodika stanovení neopterinu, kynureninu a tryptofanu v seromu z operační rány**

### **I) Princip metody**

Ke stanovení je využívána vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography – HPLC) systému Prominence LC 20 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko). Separace bylo dosaženo během 5,5 minut pomocí fosfátového pufru ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), pH 3 v kombinaci s acetonitrilem. Průtok mobilní fáze byl konstatní 3 ml/min a teplota při separaci  $40^{\circ}\text{C}$ . Neopterin a tryptofan byly detekovány pomocí fluorescenčního detektoru při vlnových délkách: excitační 353 nm a emisní 438 nm, kynurenin pomocí detektoru s diodovým polem při 230 nm.

### **II) Úprava vzorku před HPLC analýzou**

200  $\mu\text{l}$  vzorku bylo zředěno 100  $\mu\text{l}$  fosfátového pufru a 100  $\mu\text{l}$  chlazeného etanolu. Následovala deproteinace 10 minut při teplotě  $-25^{\circ}\text{C}$ , centrifugace po dobu 10 minut při

14,000g a filtrace přes mikrotitrační destičku (0,2 µm). Následně byl vzorek injikován do HPLC systému.

## **d) Metodika sběru dat prospektivní studie**

Prospektivně získaná klinická data byla okamžitě anonymizována a použita pouze ke statistickému zpracování.

*Sledovaná data:*

- I) Demografická – pohlaví, věk, BMI, komorbidity
- II) Onkologická – histologický typ a stádium onemocnění – velikost tumoru, počet vyšetřených a postižených lymfatických uzlin, přítomnost vzdálených metastáz, invazivita tumoru (přítomnost angioinvaze, lymfangioinvaze, perineurálního šíření), HER2/neu pozitivita
- III) Terapeutická – absolvování neoadjuvantní systémové léčby, typ operačního výkonu
- IV) Klinická – lokální komplikace hojení, vznik časně lokální recidivy (do 1 roku od operace)

## **e) Metodika sběru dat retrospektivní studie RAAS**

Retrospektivně získaná klinická data byla okamžitě anonymizována a použita pouze ke statistickému zpracování.

*Sledovaná data:*

- I) Demografická – pohlaví, věk
- II) Onkologická – primární nádor prsu (histologický typ, velikost a grading), doba od konce adjuvantní RT pro primární karcinom prsu do diagnózy RAAS, LRFS - doba od diagnózy RAAS do vzniku (první) lokální recidivy RAAS, zhodnocení 3- a 5leté přežívání
- III) Terapeutická – typ operačního výkonu pro primární tumor prsu (rozsah výkonu na prsu a spádových axilárních uzlinách), adjuvantní RT (dávka, ozářená oblast, boost), podání další adjuvantní léčby (hormonální léčby, chemoterapie) a léčba pro RAAS (rozsah operačního výkonu, adjuvantní RT a / nebo chemoterapie)

## **f) Statistická analýza**

Statistická analýza byla provedena v programu NCSS software (Number Cruncher Statistical System, Kaysville, UT, USA). P-hodnota menší než 0.05 byla považována za statisticky významnou. Použit byl Wilcoxonův párový test.

Statistická analýza retrospektivní studie RAAS byla provedena v programu STATISTICA software, verze 12 (StatSoft, Dell, 2016, TX, USA). Pro křivky přežití byla použita Kaplan-Meierova metoda, pro zhodnocení efektu chemoterapie na 3- a 5leté přežití (srovnání léčby s / bez chemoterapie) byl použit  $\chi^2$  test. P-hodnota menší než 0.05 byla považována za statisticky významnou.

## 9) Výsledky

---

V průběhu května 2016 bylo v Pardubické nemocnici operováno a do studie zařazeno celkem dvaadvacet pacientů s histologicky prokázaným maligním onemocněním prsní žlázy (n=15) nebo kožním maligním melanomem (n=7), 16 žen a 6 mužů.

Maligní onemocnění prsní žlázy v našem souboru měly jen ženy, s kožním maligním melanomem jsme operovali jednu ženu a šest mužů. Medián věku všech pacientů zařazených do studie byl 67 let (rozmezí 37-87 let), medián BMI byl 28 (rozmezí 19-41). Většina pacientů spadala do kategorie normální váha až obezita 1. stupně, (tab.č.1).

*Tabulka č. 1: Demografická data pacientů (N=22)*

	medián	Minimální hodnota	Maximální hodnota
věk	67	37	87
BMI	28	19	41

Většina zařazených pacientů neměla závažnější komorbidity, byla ASA 1-2, jedna pacientka s karcinomem prsu měla v anamnéze onkologickou duplicitu (endometriální karcinom), další pacientka prodělala anafylaktickou reakci následovanou šokovým stavem v průběhu celkové anestezie s nutností intenzivní resuscitace a krátkodobým následným pobytem na JIP. Tento stav byl přičítán alergické reakci na modré barvivo použité při značení sentinelové uzliny, které bylo aplikováno bezprostředně po úvodu do celkové anestezie.

U maligního onemocnění prsu se u dvou pacientek jednalo o lokálně pokročilé onemocnění ve stádiu T4, v jednom případě šlo o inflamatorní karcinom prsu a ve druhém v definitivní histologii patolog popsal exulcerovaný high grade maligní nádor nejspíše mezenchymálního původu a histologii uzavřel jako rhabdomyosarkom. V ostatních 14 případech se jednalo o karcinom prsní žlázy. U dvou pacientek byla metodou ISH nalezena amplifikace genu HER2/neu. Data spojená s onkologickým popisem karcinomu prsu (stadium T, grading, stav hormonálních receptorů, přítomnost angio-, lymfangio-, a neuroinvaze a hodnota faktoru Ki67 dle doporučeného rozdělení na nízkou, střední / vyšší, vysokou a extrémně vysokou proliferativní aktivitu) jsou uvedena v tabulce č. 2.



**Tabulka č. 2:** Data spojená s tumorem u pacientek s karcinomem prsu (n=14)

Stadium T	T1b	T1c	T2	T4
Počet pacientů	1	8	4	1
Grading	1	2	3	4
Počet pacientů	0	8	6	0
Stav HR receptorů	ER+, PR+	ER+, PR-	ER-, PR-	
Počet pacientů	11	1	2	
Přítomnost invazivity	Angioinvaze + / -	Lymfangioinvaze + / -	Neuroinvaze + / -	
Počet pacientů	4 / 10	5 / 9	4 / 10	
Proliferační aktivita Ki67	Do 15 % nízká	15-25 % Střední-vyšší	25-40 % vysoká	Nad 45 % Extrémně vysoká
Počet pacientů	5	3	4	2

V jednom případě byla podávána neoadjuvantní systémová léčba pro inflamatorní karcinom prsu, jeden pacient s maligním melanomem byl operován pro relaps onemocnění v oblasti axilárních lymfatických uzlin. Další pacient měl v době operace prokázané vzdálené metastázy do jater a plic (ASA 3), ale byl indikován k chirurgické excizi pro exulcerovaný melanom zad s úmyslem zlepšení kvality života.

Popis rozsahu operačního výkonu v našem souboru pacientů shrnuje tabulka č. 3. Deset pacientek podstoupilo prs šetřící výkon, čtyři pacientky totální mastektomii, jedna pacientka byla bez výkonu na prsu, protože před zařazením do studie podstoupila prs šetřící výkon s vyšetřením sentinelové uzliny a následně byla indikovaná k exenteraci axily pro pozitivní sentinelovou uzlinu se známkami perinodálního šíření. Z výkonu na axilárních uzlinách byla v pěti případech provedena exenterace axily, v devíti vyšetřena sentinelová uzlina. Ve třech případech po exstirpaci sentinelové uzliny byl drén z operační rány zcela bez odpadu, nebylo proto možno získat tekutinu k vyšetření metabolitů. V jednom případě se sentinelová uzlina nezobrazila při lymfoscintigrafii ani nebyla peroperačně nalezena, proto byl proveden sampling (odběr vzorku lymfatických uzlin z místa, kde se sentinelová uzlina vyskytuje nejčastěji).

U pacientů s maligním melanomem byla ve dvou případech provedena primární chirurgická excize, u třech pacientů radikální reexcize jizvy s ochranným lemlem zdravé tkáně, ve dvou případech byla operace pouze v oblasti spádových lymfatických uzlin. U obou pacientů se jednalo o výkon na axilárních uzlinách, v jednom případě šlo o exenteraci axily po záchytu metastázy v sentinelové uzlině, v jednom případě byla indikována re-exenterace axily pro relaps onemocnění v oblasti spádových uzlin bez prokázané generalizace onemocnění. U čtyřech pacientů výkon na spádových uzlinách indikován nebyl. U pacienta s vyšetřením sentinelové uzliny, která byla lokalizována do oblasti třísla, nebyl možný odběr seromu z drénu z operační rány po radikální reexcizi jizvy po diagnostické excizi maligního melanomu, protože drén neobsahoval žádnou pooperační tekutinu.

*Tabulka č. 3: Data spojená s operační léčbou*

Maligní onemocnění prsu			
Výkon na prsu	pME	ME	Bez výkonu
Počet pacientů	10	4	1
Výkon v axile	SU	EA	Sampling
Počet pacientů	9	5	1
Maligní melanom			
Výkon v oblasti MM	Primární excize	reexcize	Bez výkonu
Počet pacientů	2	3	2
Výkon na uzlinách	SU	EA / re-EA	Bez výkonu
Počet pacientů	1	1 / 1	4

Komplikace hojení ve smyslu infekce v operační ráně jsme zaznamenali u jedné pacientky s karcinomem prsu. Jednalo se o ránu v oblasti axily po exstirpaci sentinelové uzliny, kde byl 2. pooperační den pro nekomplikovaný průběh extrahován Redonův drén. U pacientky se v průběhu dalšího ambulantní sledování objevila purulentní sekrece z rány v axile, stav byl kompletně dořešen lokální péčí o ránu s nasazením ATB léčby. Pacient s exulcerovaným melanomem zad měl popsanou dehiscenci střední části rány bez přítomnosti zánětu. V 5letém follow-upu nebyla u žádného pacienta popsaná lokální recidiva onemocnění.

Hladina neopterinu, kynureninu a tryptofanu byla téměř ve všech zkoumaných vzorcích v měřitelném rozmezí, pouze u šesti vzorků nebyla pro nízkou koncentraci změřena hladina kynureninu. Při porovnání koncentrací metabolitů ve standardně odebraných vzorcích seromu z drénu se vzorky po odběru ošetřenými plynným argonem jsme neprokázali statisticky významný rozdíl. Obě metody dávají stejné výsledky a při okamžitém laboratorním zpracování není potřeba vzorky plynným argonem stabilizovat. Po tomto ověření jsme další odebrané vzorky argonem nestabilizovali. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách č. 4–8, souhrnně v tabulce č. 9.

**Tabulka č. 4:** Porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro neopterin, zařazeno 14 vzorků

Odběr vzorku				Standardní	Argon	Srovnání metod
Pacient	Dg	Místo odběru	Interval od operace (dny)	Neopterin (nmol/l)	Neopterin (nmol/l)	<b>p-value</b>
1	Karcinom prsu	prs	2	31.9	29.6	<b>0,217</b>
		axila	1	53.4	50.6	
2	Karcinom prsu	prs	1	27.4	32.6	
		axila	1	41.9	36.2	
3	Karcinom prsu	prs	1	44.5	36.1	
			axila	1	33.4	
		axila	2	38.1	30.5	
4	Karcinom prsu	prs	1	77.0	93.7	
			axila	1	18.5	
		axila	2	25.1	29.4	
16	Melanom	koleno	2	26.1	35.1	
17	Melanom	záda	1	66.2	67.8	
18	Melanom	axila	1	61.2	70.6	
			2	50.6	49.3	

**Tabulka č. 5:** Porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro tryptofan, zařazeno 14 vzorků

Odběr vzorku				Standardní	Argon	Srovnání metod
Pacient	Dg	Místo odběru	Interval od operace (dny)	Tryptofan (μmol/l)	Tryptofan (μmol/l)	<b>p-value</b>
1	Karcinom prsu	prs	2	48.3	50.3	<b>0,761</b>
		axila	1	73.6	64.9	
2	Karcinom prsu	prs	1	50.9	51.1	
		axila	1	60.6	56.3	
3	Karcinom prsu	prs	1	45.7	44.5	
		axila	1	36.8	42.2	
			2	35.6	41.0	
4	Karcinom prsu	prs	1	45.1	51.8	
		axila	1	33.7	31.6	
			2	26.7	33.3	
16	Melanom	koleno	2	56.8	49.1	
17	Melanom	záda	1	33.5	31.2	
18	Melanom	axila	1	54.4	52.8	
			2	45.0	40.9	

**Tabulka č. 6:** Porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro kynurenin, zařazeno 14 vzorků

Odběr vzorku				Standardní	Argon	Srovnání metod
Pacient	Dg	Místo odběru	Interval od operace (dny)	Kynurenine (μmol/l)	Kynurenine (μmol/l)	<b>p-value</b>
1	Karcinom prsu	prs	2	2.42	2.36	<b>0,583</b>
		axila	1	1.82	1.99	
2	Karcinom prsu	prs	1	2.27	2.11	
		axila	1	1.59	2.35	
3	Karcinom prsu	prs	1	1.60	2.14	
			axila	1	1.49	
		axila	2	1.27	1.89	
4	Karcinom prsu	prs	1	1.50	1.38	
			axila	1	2.07	
		axila	2	1.43	2.45	
16	Melanom	koleno	2	1.46	1.20	
17	Melanom	záda	1	0.93	1.11	
18	Melanom	axila	1	3.45	2.00	
			2	3.65	3.61	

**Tabulka č. 7:** Porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro poměr kynurenin/tryptofan, zařazeno 14 vzorků

Odběr vzorku				Standardní	Argon	Srovnání metod
Pacient	Dg	Místo odběru	Interval od operace (dny)	Poměr kynurenine/tryptofan (mmol/mol)	Poměr kynurenine/tryptofan (mmol/mol)	<b>p-value</b>
1	Karcinom prsu	prs	2	50.0	47.0	<b>0,502</b>
		axila	1	24.7	30.7	
2	Karcinom prsu	prs	1	44.7	41.4	
		axila	1	26.3	41.7	
3	Karcinom prsu	prs	1	35.0	48.2	
		axila	1	40.6	41.3	
			2	35.8	46.1	
4	Karcinom prsu	prs	1	33.3	26.6	
		axila	1	61.4	44.9	
			2	53.6	73.7	
16	Melanom	koleno	2	25.8	24.5	
17	Melanom	záda	1	27.9	35.5	
18	Melanom	axila	1	63.4	37.9	
			2	81.1	88.4	

**Tabulka č. 8:** Porovnání vzorků standardně odebraných vs stabilizovaných argonem pro poměr neopterin/tryptofan, zařazeno 14 vzorků

Odběr vzorku				Standardní	Argon	Srovnání metod
Pacient	Dg	Místo odběru	Interval od operace (dny)	Poměr neopterin/tryptofan (mmol/mol)	Poměr neopterin/tryptofan (mmol/mol)	<b>p-value</b>
1	Karcinom prsu	prs	2	0.66	0.59	<b>0,135</b>
		axila	1	0.73	0.78	
2	Karcinom prsu	prs	1	0.54	0.64	
		axila	1	0.69	0.64	
3	Karcinom prsu	prs	1	0.97	0.81	
		axila	1	0.91	1.59	
			2	1.07	0.74	
4	Karcinom prsu	prs	1	1.71	1.81	
		axila	1	0.55	1.07	
			2	0.94	0.88	
16	Melanom	koleno	2	0.46	0.72	
17	Melanom	záda	1	1.98	2.17	
18	Melanom	axila	1	1.12	1.34	
			2	1.12	1.20	

**Tabulka č 9:** Souhrnné koncentrace biomarkerů v seromu, srovnání vzorků stabilizovaných argonem a bez argonu, zařazeno 14 vzorků

Parametr	Bez argonu	S argonem	<b>p-value</b>
Neopterin (nmol/l)	42,513 ± 17,278	47,301 ± 20,059	<b>0,217</b>
Tryptofan (μmol/l)	46,189 ± 12,615	45,792 ± 9,818	<b>0,761</b>
Kynurenin (μmol/l)	1,925 ± 0,792	1,982 ± 0,639	<b>0,583</b>
Kynurenin/tryptofan (mmol/mol)	43,095 ± 16,993	44,841 ± 17,241	<b>0,502</b>
Neopterin/tryptofan (mmol/mol)	0,961 ± 0,436	1,070 ± 0,491	<b>0,135</b>



Při porovnání koncentrací měřených metabolitů u karcinomu prsu z operační rány na prsu s koncentrací naměřenou v tekutině z rány v axile jsme zaznamenali statisticky významný rozdíl v poměru neopterin/tryptofan, který byl významně vyšší v seromu z rány na prsu (průměr ± směrodatná odchylka,  $0.92 \pm 0.41$  vs.  $0.61 \pm 0.14$  mmol/mol;  $p = 0.049$ ). V porovnání hladin neopterinu ( $49.2 \pm 28.6$  vs.  $31.5 \pm 11.1$  nmol/L), kynureninu ( $5.97 \pm 7.49$  vs.  $5.34 \pm 6.25$   $\mu$ mol/L) a tryptofanu ( $52.9 \pm 13.0$  vs.  $51.2 \pm 13.3$   $\mu$ mol/L) a poměru koncentrací kynurenin/tryptofan ( $108.1 \pm 107.7$  vs.  $103.5 \pm 106.7$  mmol/mol) jsme statisticky významný rozdíl nezaznamenali, tab. č. 10.

**Tabulka č.10:** Koncentrace biomarkerů v seromu z rány na prsu a v axile, zařazeno 10 pacientů s maligním onemocněním prsu

Parametr	Prs	Axila	p-value
Neopterin (nmol/l)	$49,2 \pm 28,6$	$31,5 \pm 11,1$	0,131
Tryptofan ( $\mu$ mol/l)	$52,9 \pm 13,0$	$51,2 \pm 13,3$	0,557
Kynurenin ( $\mu$ mol/l)	$5,97 \pm 7,49$	$5,34 \pm 6,25$	0,461
Kynurenin/tryptofan (mmol/mol)	$108,1 \pm 107,7$	$103,5 \pm 106,7$	0,844
Neopterin/tryptofan (mmol/mol)	$0,92 \pm 0,41$	$0,61 \pm 0,14$	<b>0,049</b>

Dále jsme porovnávali vzorky seromu ze stejného operačního místa získané z drénu v různé pooperační dny. Koncentrace metabolitů z rány v oblasti axily u pacientů s karcinomem prsu odebraných 1. a 2. pooperační den shrnuje tabulka č. 11. Naměřené hladiny neopterinu ( $35.4 \pm 14.8$  vs.  $35.5 \pm 11.1$  nmol/l), kynureninu ( $5.06 \pm 6.06$  vs.  $7.64 \pm 10.02$   $\mu$ mol/l) a tryptofanu ( $50.4 \pm 15.4$  vs.  $47.1 \pm 14.6$   $\mu$ mol/l) a poměr kynurenin/tryptofan ( $100.3 \pm 100.8$  vs.  $142.3 \pm 166.8$  mmol/mol) a neopterin/tryptofan ( $0.70 \pm 0.23$  vs.  $0.79 \pm 0.26$  mmol/mol) jsou bez statisticky významného rozdílu.

**Tabulka č.11:** Koncentrace biomarkerů v seromu z rány v axile u pacientů s karcinomem prsu po operačním výkonu, různé dny odběru, zařazeno 7 pacientů s maligním onemocněním prsu

Parametr	1. den	2. den	p-value
Neopterin (nmol/l)	$35,4 \pm 14,8$	$35,5 \pm 11,1$	1,000
Tryptofan ( $\mu$ mol/l)	$50,4 \pm 15,4$	$47,1 \pm 14,6$	0,297
Kynurenin ( $\mu$ mol/l)	$5,06 \pm 6,06$	$7,64 \pm 10,02$	0,844
Kynurenin/tryptofan (mmol/mol)	$100,3 \pm 100,8$	$142,3 \pm 166,8$	0,438
Neopterin/tryptofan (mmol/mol)	$0,70 \pm 0,23$	$0,79 \pm 0,26$	0,297

Kompletní demografická a klinická data s naměřenými hodnotami biomarkerů a jejich poměry jsou souhrnně uvedeny v tabulce č. 12 pro pacientky s maligním onemocněním prsu a v tabulce č. 13 pro pacienty s maligním melanomem.

**Tabulka č. 12: Demografická a klinická data a naměřené koncentrace neopterinu, kynureninu a tryptofanu a poměr hladin kynurenin/tryptofan a neopterin/tryptofan u pacientek s maligním onemocněním prsu**

Pacient	Věk (roky)	Pohlaví	Histologie	Předchozí léčba, komorbidity	Počet LU pozitivních/vyšetřených	Lokalita	Výkon	Komplikace hojení	Doba od operace (dny)	Neopterin (nmol/l)	Tryptofan (μmol/l)	Kynurenine (μmol/l)	Kynurenine/ tryptofan (nmol/mol)	Neopterin/ tryptophan (nmol/mol)
1	50	Ž	BC	NCHT, Lymf- edém	0/3	prs	ME	0	2	31.9	48.3	2.42	50.0	0.66
						axila	EA	0	1	53.4	73.6	1.82	24.7	0.73
2	67	Ž	BC	0	0/2	prs	BCS	0	1	27.4	50.9	2.27	44.7	0.54
						axila	SU	0	1	41.9	60.6	1.59	26.3	0.69
3	67	Ž	sarkom	0	0/10	prs	ME	0	1	44.5	45.7	1.60	35.0	0.97
						axila	EA	0	1	33.4	36.8	1.49	40.6	0.91
									2	38.1	35.6	1.27	35.8	1.07
									4	42.5	47.4	4.50	94.9	0.90
4	74	Ž	BC	0	0/10	prs	BCS	0	1	77.0	45.1	1.50	33.3	1.71
						axila	EA	0	1	18.5	33.7	2.07	61.4	0.55
									2	25.1	26.7	1.43	53.6	0.94
									8	10.2	33.9	4.81	142.0	0.30
5	37	Ž	BC	implan- táty	4/12	prs	ME	0	1	120.3	77.4	NE	NE	1.55
						axila	EA	0	2	24.8	62.6	0.71	11.4	0.40
6	68	Ž	BC	0	0/7				prs	BCS	0	1	36.0	51.9
						axila	sampling	0	1	20.9	40.4	0.82	20.2	0.52
7	69	Ž	BC	0	0/4	prs	ME	0	1	46.1	75.0	22.9	305.1	0.62
						axila	SU	0	2	29.3	50.7	25.8	508.9	0.58
									1	35.0	58.4	17.2	294.0	0.60
									2	30.0	58.2	26.2	450.2	0.52
8	76	Ž	BC	duplicita	0/11	axila	EA	0	1	45.0	77.0	1.58	20.5	0.58
									2	46.3	68.7	1.13	16.4	0.67
9	53	Ž	BC	anafyl šok	0/1	prs	BCS	0	1	69.3	44.7	NE	NE	1.55
									2	35.0	43.0	4.13	96.2	0.81
10	66	Ž	BC	0	0/1	prs	BCS	0	1	27.1	51.6	0.95	18.4	0.52
11	66	Ž	BC	0	0/1	axila	SU	0	1	62.1	60.7	12.4	204.8	1.02
12	56	Ž	BC	0	0/2	prs	BCS	0	1	41.1	36.8	7.41	201.0	1.12
						axila	SU	10. den	2	40.7	47.9	9.53	198.9	0.85
									1	18.9	37.8	4.60	122.0	0.50
									2	38.3	56.1	12.1	216.6	0.68
13	76	Ž	BC	0	0/1	prs	BCS	0	1	36.9	49.6	9.17	185.0	0.74
						axila	SU	0	1	35.9	55.0	13.1	238.6	0.65
									2	20.0	39.6	NE	NE	0.51
14	73	Ž	BC	multicentr icita	0/1	prs	BCS	0	1	29.1	56.6	12.0	211.7	0.51
15	69	Ž	BC	0	0/1	prs	BCS	0	1	31.1	48.7	NE	NE	0.64
						axila	SU	0	1	24.8	53.2	NE	NE	0.47

**Tabulka č. 13: Demografická a klinická data a naměřené koncentrace neopterinu, kynureninu a tryptofanu a poměr hladin kynurenin/tryptofan a neopterin/tryptofan u pacientů s kožním maligním melanomem**

Pacient	Věk (roky)	Pohlaví	Předchozí léčba, komorbidity	Počet LU pozitivních/vyšetřených	Lokalita	Výkon	Komplikace hojení	Doba od operace (dny)	Neopterin (nmol/l)	Tryptofan (μmol/l)	Kynurenine (μmol/l)	Kynurenine/ tryptofan (mmol/mol)	Neopterin/ tryptophan (mmol/mol)
16	87	M	dg excize	0	koleno	re-excize	0	2	26.1	56.8	1.46	25.8	0.46
17	67	Ž	0	NE	záda	radikální excize	0	1	66.2	33.5	0.93	27.9	1.98
18	71	M	relapse	1/2	axila	re-EA	0	1	61.2	54.4	3.45	63.4	1.12
								2	50.6	45.0	3.65	81.1	1.12
								4	42.2	44.5	2.74	61.6	0.95
19	38	M	0	0/1	tříslo	SU	0	1	17.7	64.6	1.51	23.4	0.27
20	66	M	Meta-stázy	NE	záda	radikální excize	dehiscence rány	1	75.9	59.1	1.91	32.3	1.29
								2	120.0	75.9	2.85	37.6	1.58
21	69	M	0	0/10	axila	EA	0	2	21.2	63.6	3.71	58.4	0.33
22	52	M	dg excize	NE	záda	re-excize	0	1	23.1	46.1	1.80	39.0	0.50
								2	31.6	52.5	1.52	29.0	0.60
					záda	re-excize	0	2	45.9	57.5	NE	NE	0.80

Do retrospektivního sběru dat RAAS bylo vstupně zařazeno 70 pacientů, 17 pacientů bylo následně z další analýzy vyřazeno. Jeden pacient byl vyřazen pro definitivní histologickou diagnózu hemangioendoteliomu, tři pacienti pro primární angiosarkom prsu, dva pacienti s benigní definitivní histologií po předchozí diagnóze RAAS z core cut biopsie, čtyři pacienti s diagnózou RAAS mimo sledované období (byli diagnostikováni v roce 2018), dva pacienti pro nesplňující Cahanova kritéria (doba latence od léčby karcinomu prsu do vzniku RAAS u nich byla kratší než 36 měsíců) a pět pacientů pro neúplná data. Finální skupina zařazených a analyzovaných dat byla od 53 pacientů.

Shrnutí charakteristiky primárního karcinomu prsu je uvedeno v tabulce č.14. Ve všech případech se jednalo o ženy, medián věku v době diagnózy karcinomu prsu byl 66 let (rozmezí 31–83 let). Většina pacientek (72 %) měla histologicky potvrzený invazivní karcinom NST (ne speciální typ), 10 pacientek (19 %) jiný typ invazivního karcinomu, 4 pacientky (8 %) lobulární invazivní karcinom a DCIS byl popsán u 1 pacientky (2 %). Všechny pacientky ve studii podstoupily prs šetřící výkon, většina pacientek s exenterací axily (n=48). Sentinelová uzlina byla vyšetřena pouze u 10 pacientek, z nich následně 5 pacientek bylo indikováno k exenteraci axily ve druhé době pro záchyt metastázy v sentinelové uzlině.

Při hodnocení adjuvantní RT byl medián obdržené dávky 57,6 Gy (rozmezí 34-66 Gy). Celková aplikovaná dávka a počet frakcí se lišil mezi jednotlivými centry. Nejčastěji ozářená oblast byla oblast celého prsu s boostem na lůžko tumoru u 24 pacientek (45 %), 12 pacientek (23 %) podstoupilo RT prsu bez boostu a bez ozáření spádové lymfatické oblasti, další zastoupené oblasti RT jsou shrnuty v tabulce č. 14. Nejčastěji použitá frakce byla 2 Gy na frakci u 60 % pacientek. U ostatních pacientek dávka na frakci kolísala mezi 1,8 a 3,4 Gy. K adjuvantní RT 18 pacientek (34 %) bylo léčených i adjuvantní nebo neoadjuvantní chemoterapií (28 % resp 6 %). Většina pacientek (92 %) obdržela i adjuvantní hormonální léčbu a 1 pacientka (2 %) i cílenou léčbu (trastuzumab).

**Tabulka č. 14:** Data spojená s primárním karcinomem prsu

Velikost tumoru	Do 20 mm	Nad 20 mm	nezjištěno	
Počet pacientů (%)	30 (57)	14 (26)	9 (17)	
Histologie	Inv. NST	Inv. lobulární ca	DCIS	Jiný typ
Počet pacientů (%)	38 (72)	4 (8)	1 (2)	10 (19)
Grading	1	2	3	nezjištěno
Počet pacientů	14 (26)	23 (43)	9 (17)	7 (13)
Vyšetření SU	Ano	Pozitivní SU	Ne	
Počet pacientů (%)	10 (19)	5 (9)	43 (81)	
Exenterace axily	Ano	Pozitivní uzliny	Ne	
Počet pacientů (%)	48 (91)	13 (25)	5 (9)	
Oblast RT	Prs a axila	Prs, axila a další	Prs, axila a boost	Prs, axila, další a boost
Počet pacientů (%)	1 (2)	4 (8)	3 (6)	9 (17)
Chemoterapie	Ano	Adjuvantní	Neoadjuvantní	Ne
Počet pacientů (%)	18 (34)	15 (28)	3 (6)	35 (66)
Hormonální léčba	Ano	Ne		
Počet pacientů (%)	49 (92)	4 (8)		

Data shrnující informace o RAAS jsou uvedena v tabulce č. 15. Medián věku pacientek v době diagnózy RAAS byl 72 let (rozmezí 44-89 let). Medián období mezi koncem adjuvantní RT pro primární karcinom prsu do doby diagnózy RAAS byl 78 měsíců (rozmezí 36-172 měsíců). Dvě pacientky (4 %) byly indikovány k paliativní léčbě pro lokálně inoperabilní nález. Jedna pacientka podstoupila paliativní chemoterapii a zemřela 6 měsíců od diagnózy RAAS. Jiná pacientka byla léčena paliativní RT a zemřela po 13 měsících od diagnózy RAAS. Ostatní pacientky byly indikovány k chirurgickému výkonu a podstoupily totální mastektomii (81 %) nebo radikální chirurgickou excizi (15 %). Všechny provedené chirurgické výkony byly považované za radikální (R0 resekce). K adjuvantní RT byly indikovány 2 pacientky (4 %), adjuvantní chemoterapii podstoupilo 18 pacientek (34 %). Nenalezli jsme signifikantní rozdíl mezi skupinou pacientek léčených resp. neléčených adjuvantní chemoterapií při hodnocení celkového přežití ( $p=0,074$ ) nebo doby do lokální recidivy ( $p=0,449$ ). Jedna pacientka podstoupila neoadjuvantní chemoterapii (paklitaxel

weekly) s částečnou klinickou odpovědí. Tato pacientka zemřela 59 měsíců od doby diagnózy RAAS při třetí recidivě onemocnění. Všechny pacientky byly v době diagnózy RAAS bez vzdálených metastáz (M0).

*Tabulka č. 15: Data spojená s léčbou RAAS*

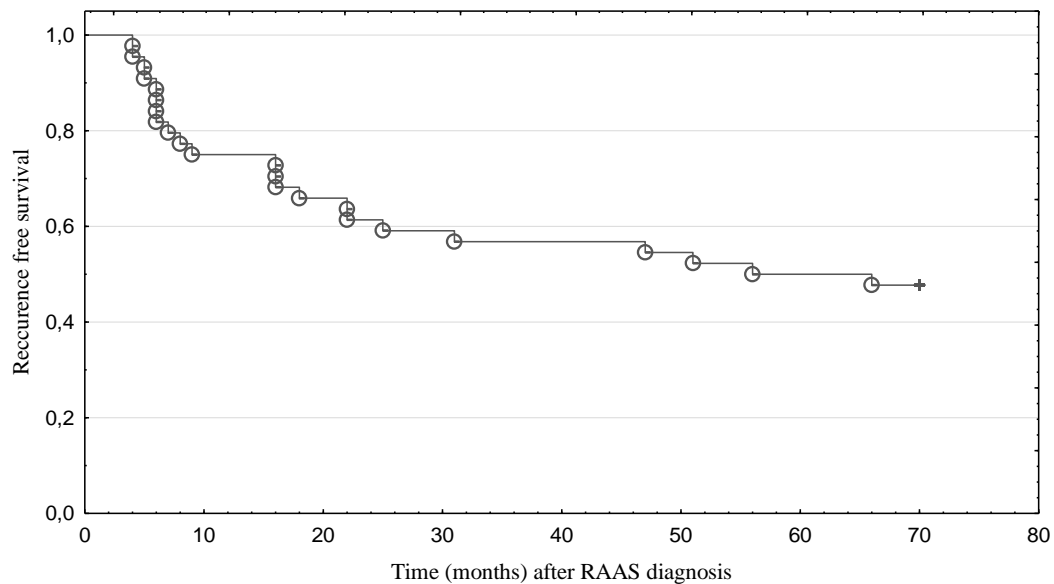
Operační výkon	Mastektomie	Radikální excize	Inoperabilní
Počet pacientů (%)	43 (81)	8 (15)	2 (4)
RT pro RAAS	Ano	Ne	Nezjištěno
Počet pacientů (%)	3 (6)	49 (92)	1 (2)
Chemoterapie pro RAAS	Ano	Ne	Nezjištěno
Počet pacientů (%)	18 (34)	34 (64)	1 (2)
Léčebný záměr	Kurativní	Paliativní	
Počet pacientů (%)	51 (96)	2 (4)	
Úspěšnost léčby	Bez recidivy	Recidiva	Progrese
Počet pacientů (%)	21 (40)	23 (43)	9 (17)
Počet recidiv	Jen 1	2-4	5 a více
Počet pacientů (%)	15 (28)	7 (13)	1 (2)
Status při poslední kontrole	Žijící	Mrtví	Nezjištěno
Počet pacientů (%)	26 (49)	22 (42)	5 (9)

U dvou pacientek byla z diagnostické chirurgické excize popsána atypická vaskulární proliferace nejasné biologické povahy. Pro trvajícím klinickým podezřením na RAAS byla diagnostická excize v obou případech opakována a diagnóza RAAS tak byla následně potvrzena. Zároveň byla v našem souboru pacientek ve dvou případech zastižena falešná pozitivita výsledků z core cut biopsie, kdy byl nález uzavřen jako RAAS a následnou kompletní excizí kožního ložiska byla malignita vyloučena (včetně druhého čtení histologického nálezu). Nález jiné pacientky ze studie byl na základě core cut biopsie chybně uzavřen jako triple negativní duktální karcinom prsu, proto byla pacientka léčena neadjuvantní chemoterapií pro domnělou recidivu karcinomu prsu. Až po následné totální mastektomii byl nález v definitivní histologii překlasifikován na RAAS.

Z celého souboru 53 pacientek nebyla recidiva onemocnění zastižena u 21 žen (40 %). Recidiva onemocnění (manifestace nemoci déle než po 3 měsících po chirurgickém výkonu) byla popsána u 23 pacientek (43 %). Vzdálené metastázy byly diagnostikovány u 9 pacientek (17 %), ve 2 případech se jednalo o pacientky s primárně inoperabilním nálezem. Devět pacientek z celkového souboru bylo vyřazeno z hodnocení lokální recidivy onemocnění pro progresi nálezu (pacientky chirurgicky neléčené nebo s klinickým projevem RAAS dříve než za 3 měsíce od chirurgické léčby), k dalšímu statistickému zpracování byla proto použita data od 44 žen.

Pětiletý LRFS byl 42 % (graf č. 4). Medián času do recidivy byl 7,5 měsíce (rozmezí 3-66 měsíců), jedna epizoda recidivy byla zaznamenána u 15 žen (28 %), 2-4 epizody u 7 pacientek (13 %) a 5 a více epizod recidivy bylo popsáno u jedné pacientky (2 %). Největší počet recidiv byl zaznamenán u pacientek s adjuvantní RT na oblast prsu a boost na lůžko tumoru (n=24). Při první recidivě onemocnění byla provedena totální mastektomie u všech žen, které při prvotní diagnóze RAAS podstoupily radikální excizi.

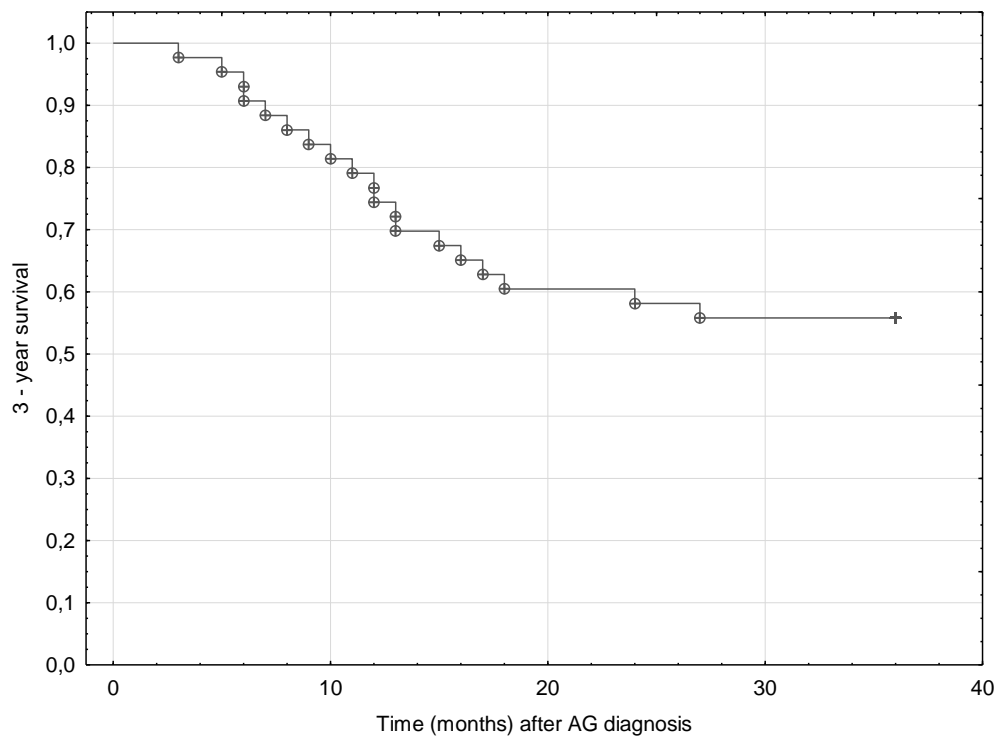
**Graf č. 4:** křivka local recurrence free survival - LRFS (n=44)



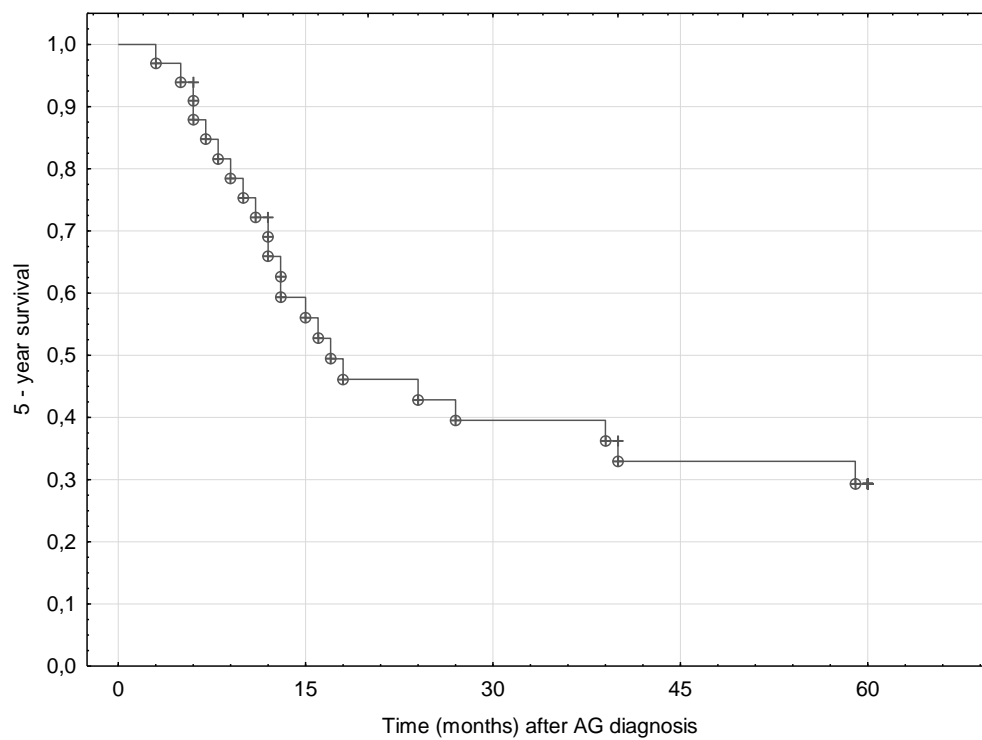


Z výsledného hodnocení dat RAAS bylo 5 pacientek vyřazeno pro nedostatečný follow-up, ze zbývajících 48 žen bylo v době analýzy živých 26 (54 %), zemřelo 22 (46 %). Většina přeživších (n=16) byla při poslední kontrole v remisi onemocnění. Medián follow-upu od diagnózy RAAS byl 30 měsíců (rozmezí 5–186 měsíců). Pacientky, u kterých byl follow-up kratší než 36, resp. 60 měsíců byly vyřazeny z analýzy 3- resp. 5letého přežití. Třileté přežití bylo analyzováno u 43 pacientek a dosáhlo 56 % (graf č. 5), zatímco 5leté přežití bylo v našem souboru hodnoceno u 33 pacientek a bylo 33 % (graf č. 6). Nejčastější příčinou úmrtí byl RAAS (n=19).

**Graf č. 5:** Analýza 3letého přežití RAAS (n=43)



**Graf č. 6:** Analýza 5letého přežití RAAS ( $n=33$ )



## 10) Diskuze

---

Operační výkon je standardní léčbou časného karcinomu prsu i maligního melanomu. Jsou zmiňovány systémové faktory během pooperačního období, které mohou zvyšovat riziko recidivy onemocnění, konkrétně infekce v místě chirurgické rány.<sup>147</sup> Primární hojení operační rány je důležitým předpokladem pro včasné zahájení adjuvantní onkologické léčby a přispívá i k psychické pohodě pacienta.

Operace v oblasti prsu jsou považované za čistý výkon bez otevření respirační, trávicí a urogenitální soustavy. Udávaná incidence infektu v ráně v pooperačním období se u čistých ran pohybuje v rozmezí 1-3 %, ale jednotlivé publikované studie uvádějí při operativě pro karcinom prsu rozmezí 0,2 – 48 %.<sup>147-150</sup> Neexistuje žádné zřejmé vysvětlení pro takto široké rozmezí výskytu infekce mezi jednotlivými studiemi. Dříve se uvádělo, že k těmto rozdílům může přispívat zkušenost a proškolenost zdravotního personálu, chirurgických operačních týmů nebo profylaktické používání ATB, které je pracoviště od pracoviště rozdílné a nesourodé.<sup>147</sup> V současné době se ukazuje, že i samotné nádorové onemocnění hraje roli ve vzniku infekce. Tuto teorii podporuje např. Olsen.<sup>151</sup> Porovnával výskyt infekce v operační ráně u pacientek chirurgicky léčených pro karcinom prsu se skupinou pacientek operovaných pro nenádorové onemocnění prsu. Vyšší incidence sekundárního hojení rány byla u pacientek s nádorovým onemocněním přesto, že všechny operační výkony byly srovnatelné co do délky trvání operace i rozsahu zákroku.

Neiman<sup>152</sup> ve své studii došel k závěru, že bakteriální zátěž mikrobiomu nádoru prsu je mnohem vyšší ve srovnání s mikrobiomem zdravé prsní žlázy. Podobný jev nebyl pozorován u jiných typů nádorového onemocnění (např. karcinomu plic nebo ovárií). Mikrobiom zdravé prsní žlázy je spojován s gram-pozitivními kmeny (nejčastěji stafylokoky),<sup>153,154</sup> zatímco při nádoru prsu dochází k jeho změně s převahou gram-negativních kmenů, které bývají kultivovány z operačních ran.<sup>155</sup> Tuto myšlenku potvrdil i O'Connor,<sup>147</sup> který ve své multicentrické studii zastihl gram-negativní kmeny jako nejčastější původce infekce v ráně mnohem častěji než by očekával, konkrétně *E. coli* a *P. aeruginosa*. Částečně to může ukazovat i na nedostatečnou hygienu a přípravu operačního pole s kontaminací operační rány. Ani způsob získávání vzorků ke kultivaci nebyl v rámci jednotlivých studií standardizován. Nelze zanedbat ani environmentální faktor, kdy všechny popsání případy *E. cloacae* byly zastiženy v Mexiku, podobně bylo unikátní hlášení záchytu *Proteus mirabilis* v Texasu.

Přes toto všechno je široké používání profylaktických dávek ATB stále kontroverzní téma a jejich standardní užití není u operativy pro karcinom prsu běžné.<sup>156</sup> Suboptimální dávkování profylaktické ATB léčby dokonce vznik infekce v ráně zvyšuje.<sup>151</sup> V roce 2014 byl z databáze Cochrane<sup>149</sup> vypracovaný přehled 11 studií zahrnujících 2867 pacientů kde se ve výsledku ukázalo, že profylaktická dávka ATB podávaná před operací pro karcinom prsu významně snížila výskyt infektu v ráně u pacientek bez okamžité rekonstrukce prsu. Naopak jiný přehled z databáze Cochrane vycházející z jedné studie porovnávající pacientky s perioperační ATB léčbou a bez ní neprokázal statisticky významný rozdíl mezi oběma skupinami.<sup>157</sup> Další rozsáhlá studie zahrnující neonkologické pacientky podstupující redukční mamoplastiku doporučuje na základě výsledků předoperační jednorázové intravenózní podání ATB působící zejména na bakterie *S. aureus*.<sup>150</sup>

O'Connor<sup>147</sup> zpracoval systematický přehled publikované literatury týkající se vlivu sekundárního hojení rány po primární operaci pro karcinom prsu na vznik recidivy onemocnění a snažil se najít potencionální souvislost mezi nimi. Zaměřil se na četnost výskytu infekce v operační ráně a odhalení rizikových faktorů, které infekci způsobují a dále hodnotil vztah recidivy karcinomu prsu po výskytu komplikovaného hojení. Prošel 99 převážně retrospektivních studií zaměřených na přítomnost infekce v operační ráně a 53 studií zaměřených na recidivu onemocnění. Pět studií se přímo věnovalo souvislosti mezi sekundárním hojením rány a recidivou karcinomu prsu (lokální recidiva nebo diseminace onemocnění).<sup>158-162</sup> Tři studie došly k závěru, že tato souvislost skutečně existuje.<sup>158-160</sup> Je nutné zmínit, že zbylé dvě studie, které souvislost nepotvrdily, měly kratší follow-up a menší soubor zařazených pacientů. Jednalo o retrospektivní studie s různým designem a rozdílnou specifikací hodnotící přítomnost infekce v operační ráně, proto bylo srovnání a interpretace výsledků velmi náročné. Společně však přinesly dostatek údajů k tomu, že standardizovaná prospektivní studie s vhodnou statistickou silou by měla své opodstatnění.<sup>147</sup>

Posledních několik desítek let vzbuzuje vášnivě debaty i přítomnost seromu v operační ráně po výkonu na prsu a spádových uzlinách. Mluví se o něm jako o možném rizikovém faktoru pro vznik ranného infektu. Bylo publikováno několik studií, které se snaží odhalit, jak vzniku seromů předcházet nebo je alespoň minimalizovat.<sup>163,164</sup> Mikrobiologickému spektru a subklinické bakteriální kolonizaci jako rizikovému faktoru pro vznik seromu se věnuje jen několik málo z nich.<sup>165,166</sup> Ve stručnosti lze shrnout, že nebyl prokázán vztah mezi konkrétním bakteriálním druhem nebo kombinací druhů a tvorbou seromu. V dostupné literatuře se mi nepodařilo dohledat jednoznačně uznávaný standardizovaný postup užívaný v prevenci vzniku

seromu. Nejčastěji popisované metody zkoušely steroidy (lokální instalace steroidů do pooperační dutiny<sup>165,167,168</sup> nebo jednorázový intravenózní bolus steroidů před operačním výkonem<sup>169</sup>) a dále aplikaci autologního fibrinového lepidla do operační rány.<sup>170</sup>

Markery predikující lokální komplikace terapie jsou v onkologii i onkochirurgii zatím používány velmi omezeně, v současné době je věnována pozornost převážně biomarkerům určujícím prognózu onemocnění či predikujícím účinnost léčby. Zvýšené koncentrace neopterinu, kynureninu a tryptofanu jsou známkou aktivace imunitního systému u širokého spektra nejen maligních nebo infekčních onemocnění. Presentovaná data ukazují, že jsme schopni detekovat biomarkery v sekretu z operační rány a že měření koncentrace neopterinu, kynureninu a tryptofanu by mohlo být použito k monitorování lokální zánětlivé odpovědi. Výsledky získané ze vzorku bez ošetření a ze vzorku stabilizovaného plynným argonem byly srovnatelné. S výjimkou vyššího poměru hladiny neopterin / tryptofan v ráně na prsu v korelaci k poměru hladin v ráně v axile jsme nenalezli statisticky významný rozdíl. Porovnání koncentrací jednotlivých metabolitů v tekutině z operační rány na prsu v korelaci s ránou v axile se významně nelišilo. Podobně nebyl zastižen statisticky významný rozdíl ve vzorcích ze stejného operačního místa odebraných v jiné pooperační dny. Nicméně velikost zpracovaného souboru pacientů a tím síla statistických výsledků je limitovaná. Neporovnávali jsme koncentrace metabolitů v sekretu z rány pro karcinomu prsu se sekretem z rány po operaci pro maligní melanom, protože tři ze sedmi pacientů s maligním melanomem měli operační výkon na spádových uzlinách. Budoucí studie s větším počtem zařazených pacientů by mohla umožnit validní porovnání koncentrací biomarkerů v různých místech operačního výkonu a v průběhu pooperačního období. Velikost zpracovaného souboru pacientů také neumožňovala validní korelaci koncentrací biomarkerů s klinickým průběhem a komplikacemi operace. Koncentrace poměrů metabolitů z rány by v následných studiích mohly být porovnány se současně odebranými systémovými vzorky (v séru a moči). Poměr neopterin / tryptofan byl v této pilotní studii použit se záměrem korigovat případné ředění seromu tekutinou z oběhu nebo jiných zdrojů. Tento poměr by mohl představovat další biomarker zánětlivé odpovědi, kterému by mohla být věnována pozornost v budoucích studiích.

Biomarkery imunitní odpovědi byly dosud mnohem častěji zkoumány v systémovém oběhu. Opakované odběry vzorků z drénu jsou možné pouze v některých situacích. Dušek<sup>1</sup> ve své práci zkoumal vztah mezi hladinou neopterinu v břišním drénu a rizikem vzniku anastomotického leaku u pacientů, kteří podstoupili střevní resekci pro karcinom rekta. Prokázal, že vysoká hladina neopterinu v moči před operačním výkonem může být použita jako vhodný biomarker

predikující riziko vzniku leaku v anastomoze a díky tomu změnit operační taktiku (např. vyšíti protektivní ileostomie ev. zvolit Hartmannovu operaci s definitivní terminální kolostomií u rizikových pacientů). Na rozdíl od jiných publikovaných studií<sup>171,172</sup> nepotvrdil význam sledování hladin neopterinu a jeho derivátů v séru.

Řada studií se dále zabývala biomarkery imunitní odpovědi, jak populací imunitních buněk, tak molekulárními biomarkery, u maligního ascitu.<sup>124,125</sup> Nicméně přítomnost maligního ascitu je omezena na nádory postihující peritoneální dutinu<sup>173</sup> a je spojena s pokročilostí nádorového onemocnění. Nálezy získané v tomto prostředí nelze extrapolovat na pacienty s časnými nádory. Karcinom prsu a maligní melanom jsou dva typy nádorů, které dominantně diagnostikujeme v časných stádiích, mohou proto být efektivně léčeny operačním řešením a dlouhodobá prognóza pacientů je vynikající. Zároveň je nepochybné, že systémová léčba jejich prognózu ještě zlepšuje. K tomu se objevuje stále více důkazů o tom, že imunitní odpověď organismu určuje prognózu pacientů s karcinomem prsu a maligním melanomem.<sup>174,175</sup> Maligní melanom představuje typický příklad nádorového onemocnění reagujícího na imunoterapii.<sup>176</sup>

Neopterin je produkován makrofágy po jejich aktivaci interferonem gama. Zvýšené hladiny neopterinu byly popsány napříč širokým spektrem nemocí. U onkologických pacientů je zvýšená koncentrace neopterinu systémově (v séru nebo moči) popsána u množství rozličných primárních tumorů<sup>122,177,178</sup> zahrnujících karcinom prsu<sup>179</sup> nebo maligní melanom<sup>177,178</sup> a predikuje horší prognózu onemocnění. Zvýšená hladina neopterinu je spojována se selháním imunitního systému jak na úrovni mikroprostředí nádoru<sup>124,125</sup> tak i na systémové úrovni.<sup>123,126</sup>

Monitoring hladin biomarkerů může dále predikovat komplikace spojené s léčbou, např. toxicitu cytotoxických léčiv.<sup>181</sup> Byla prokázána zvýšená koncentrace neopterinu predikující komplikace spojené s neoadjuvantní chemoterapií u pacientů s karcinomem rekta.<sup>182</sup> Můžeme předpokládat, že koncentrace neopterinu, kynureninu a tryptofanu v sekretu z operační rány může sloužit jako ukazatel komplikace lokální léčby (výskyt ranné infekce) nebo dokonce může predikovat následné nežádoucí účinky (např. lokální časnou recidivu tumoru). Tato hypotéza musí být testována na velké skupině pacientů.

Dále byl monitoring hladin biomarkerů využit k hodnocení úspěšnosti léčby závažných stavů spojených s infekcí organismu. U pacientů v sepsi a septickém šoku byl poměr neopterin v moči / kreatinin signifikantně vyšší ve srovnání s pacienty s jinou formou systémové zánětlivé odpovědi.<sup>183</sup> Sérová hladina neopterinu byla signifikantně vyšší u pacientů, kteří zemřeli ve srovnání s přeživšími.<sup>184</sup> V návaznosti na multiorgánové selhání byla popsána negativní korelace mezi hladinou neopterinu v moči a redukovanou funkcí ledvin, kdy při ledvinném selhání došlo k poklesu exkrece neopterinu do moči.<sup>132</sup> Budoucí studie by mohly ukázat vztah

mezi sníženou produkcí neopterinu kvůli selhání ledvin přepočtem na poměr sérový neopterin / kreatinin.<sup>132</sup> U kriticky nemocných pacientů se systémovou zánětlivou odpovědí může být hladina neopterinu použita jako nástroj k odhalení infekční nebo neinfekční etiologie, udávaná specificita je 78 %.<sup>185</sup>

V současné době stojí neopterin se svými metabolity v centru zájmu mnoha medicínských oborů. Ukazuje se jeho velký potenciál jako užitečného biomarkeru predikujícího odpověď na léčbu a prognózu hematoonkologických onemocnění, chronických pankreatických a střevních píštělí, chronických ran, a také při léčbě zánětu a systémových zánětlivých i nezáneťlivých onemocnění. Vyšetření jeho hladiny v biologických vzorcích trvá jen několik minut<sup>1</sup> a v současné době ho nabízejí i soukromá ambulantní laboratorní zařízení. V budoucnu se možná stane stejně běžně používaným markerem monitorujícím průběh nemoci obdobně jako CRP nebo prokalcitonin.

## 11) Závěr

---

Neopterin je nespecifický ukazatel aktivace imunitního systému. V pilotní studii jsme prokázali možnost jeho detekce v sekretu z operační rány a jeho stabilitu. Presentovaná data ukazují, že měření neopterinu, kynureninu a tryptofanu v seromu by mohlo být využito k monitorování lokální imunitní odpovědi po operačním výkonu u onkologických pacientů. Pro ojedinělý případ lokoregionální infekce v našem souboru nebylo možné posouzení statistické významnosti. Časná lokální recidiva onemocnění nebyla v našem souboru zachycena. Z předchozích studií vyplývá že neopterin a jeho metabolity mohou být užitečným markerem ke zjištění rozsahu a prognózy onemocnění, stejně tak ukazatelem úspěšnosti léčby. V disertační práci je popsán i soubor 53 pacientek s postiradiačním angiosarkomem, které byly léčené na 12 pracovištích v ČR a SR.



## 12) Literatura

---

---

- 1) Dušek T, Örhalmi J, Sotona O, et al. Neopterin, kynurenin and tryptophan as new biomarkers for early detection of rectal anastomotic leakage. *Videosurgery Miniinv* 2018;13(1):44-52.
- 2) Geisler S, Lytton SD, Toan NL, et al. Neopterin levels and Kyn/Trp ratios were significantly increased in dengue virus patients and subsequently decreased after recovery. *Int J Infect Dis* 2020 Feb;91:162-8.
- 3) SVOD Report. Diagnóza: C50, D05 – nádory prsu + Diagnóza: C43 – zhoubný melanom kůže. (cit. 29-8-2019). Dostupné z: <http://www.svod.cz/report>
- 4) Rakovina prsu: Úvod (online). [Mamo.cz/mamografický screening](http://www.mamo.cz/mamografický_screening), 2018. (cit. 9-9-2019). Dostupné z: <http://www.mamo.cz>
- 5) Mergancová J: Neoadjuvantní léčba očima chirurga. *Breast Cancer News* 2018;8(1):17-9.
- 6) Lettre from Frances Burney to her sister Ester about her mastectomy without anaesthetic, 1812. Available from: [www.bl.uk/collection-items/](http://www.bl.uk/collection-items/)
- 7) Huang JP, Mo Q, et al. Oncological safety of nipple-sparing mastectomy in young patients with breast cancer compared with conventional mastectomy. *Oncology letters* 2018;5:4813-20.
- 8) Mergancová J: Současné možnosti chirurgické léčby karcinomu prsu. *Acta medicinae* 2020;38-41.
- 9) Schwartz GF, Solin L, Olivotto I, et al. Consensus conference on the treatment classification of ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer* 2000;68:946-54.
- 10) Leonard G, Swain S, et al. Ductal carcinoma in situ, complexities and challenges. *J Natl Cancer Inst* 2004;96(12):906-20.
- 11) Hughes LL, Wang M, Page DL et al. Local excision alone without irradiation for ductal carcinoma in situ of the breast: a trial of Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2009;27:5319-24.
- 12) Vincens E, Alves K, Lauratet B, et al. Margin status in ductal carcinoma in situ of the breast. *Bull Cancer* 2008;95:1155-9.
- 13) Mokbel K, Cutuli B, et al. Heterogeneity the ductal carcinoma in situ and its effects of managements. *Lancet Oncol* 2006;7:756-65.
- 14) Morrow M: Breast conservation and negative margins: how much is enough? *Breast* 2009;18(Suppl 3):S84-6.

- 15) Dunne C, Burke JP, Morrow M, et al. Effect of the margin status on local recurrence after breast conservation and radiation therapy for ductal carcinoma in situ. *J Clin Oncol* 2009;27:1615-20.
- 16) Mansel RE. Ductal carcinoma in situ: surgery and radiotherapy. *Breast* 2003;12(6):447-50.
- 17) Goldhirsch A, Ingle JN, Gerlber RD, et al. Thresholds for the therapies: highlights of the Saint Gallen International Experts Consensus, on the primary therapy of early breast cancer. *Ann Oncol* 2009;20(8):1319-29.
- 18) Farante G, Zurrida S, Galimberti V, et al. The management of ductal intraepithelial neoplasia (DIN): open controversies and guidelines of the Instituto Europeo di Oncologia (IEO), Milan, Italy. *Breast cancer Res Treat* 2011;128(2):369-78.
- 19) NCCN Guidelines Version 5.2020 Margin status recommendations for DCIS and invasive breast cancer, B INV-F 1 of 2. (cit.9-3-2020). Dostupné z: <https://www.nccn.org>
- 20) Mergancová J. et al. Možnosti zacílení nehmavných nálezů v prsu – Quantum satis. *Klin Onkol* 2019;32(Suppl 1):73
- 21) Mergancová J. et al. Nádorová duplicita v intramamární uzlině. *Onkologie* 2019;13(6):293-6.
- 22) Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127(4):392-9.
- 23) Filippakis GM, et al. Contraindications of sentinel lymph node biopsy: Are there any really? *World Journal of Surgical Oncology* 2007;5:10.
- 24) Mergancová Ja., Mergancová Ji., Hrnčířová I. et al. Vyšetření sentinelové uzliny u in situ karcinomu prsu. *Rozhl. Chir.* 2011; 90(7):393–6.
- 25) Hepner A, Negrini D, Hase EA, et al. Cancer during pregnancy: the oncologist overview. *World J Oncol.* 2019;10(1):28-34.
- 26) Giuliano AE, Ballman KV, McCall L, et al. Effect of Axillary Dissection vs No Axillary Dissection on 10-Year Overall Survival Among Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis: The ACOSOG Z0011 (Alliance) Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2017;318(10): 918-926.
- 27) McMasters KM et al. Interval sentinel lymph nodes in melanoma. *Arch Surg*, 2002; 137: 543-7.

- 28) Verwer N, Scolyer RA, Uren RF, et al. Treatment and prognostic significance of positive interval sentinel nodes in patients with primary cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 2011;18(12):3292-9.
- 29) Zager JS, Puleo CA, et al. What is the significance of the in transit or interval sentinel node in melanoma? *Ann Surg Oncol* 2011;18:3232-4.
- 30) NCCN guidelines version 4.2022. Consideration for surgical axillary staging. Invasive breast cancer. (cit.7-1-2022). Dostupné z: <https://www.nccn.org>
- 31) Michálek P, Vobrubová E. Ultrazvukem naváděné kompartmentové bloky v pooperační analgezií. *Anest Intenziv Med* 2013;6:410-8.
- 32) Petru V, Vážan P, Zábojníková M, et al. Chirurgická léčba karcinomu prsu po neoadjuvantní terapii. *Rozhl Chir* 2020;99:172-8.
- 33) NCCN guidelines version 4.2022. Preoperative systemic therapy: breast and axillary evaluation. Invasive breast cancer. (cit.7-1-2022). Dostupné z: <https://www.nccn.org>
- 34) Chen AM, Meric-Bernstam F, Hunt KK, et al. Conservation after neoadjuvant chemotherapy: The M Anderson Cancer Center experience. *J Clin Oncol* 2004;15;(22):2303–2312.
- 35) Mauri D, Pavlidis N, et al. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:188.
- 36) van la Parra R, Kuerer HM, et al. Selective elimination of breast cancer surgery in exceptional responders: historical perspective and current trials. *Breast Cancer Research* 2016;18(1):28.
- 37) Diego EJ, McAuliffe PF, et al. Axillary staging after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: a pilot study combining sentinel lymph node biopsy with radioactive seed localization of pre-treatment positive axillary lymph nodes. *Ann Surg Oncol* 2016;23:1549-53.
- 38) Henke G, Knauer M, Ribi K, et al. Tailored axillary surgery with or without axillary lymph node dissection followed by radiotherapy in patients with clinically node-positive breast cancer (TAXIS): study protocol for a multicenter, randomized phase-III trial. *Trials* 2018;19:667.
- 39) Yoon AP, Qi J, et al. Outcomes of immediate versus delayed breast reconstruction: Results of a multicenter prospective study. *The Breast* 2018;37:72-9.

- 40) Lee SB, Lee JW, Son BH, et al. Oncologic safety of skin-sparing mastectomy followed by immediate reconstruction in young patients with breast cancer. *Asian J Surg* 2019;42(1):274-82.
- 41) Mitchell SD, Willey SC, et al. Evidence based outcomes of the American Society of Breast Surgeons Nipple Sparing Mastectomy Registry. *Gland Surgery* 2018;7 (3): 247-57.
- 42) Salama LW, Braunstein LZ, Mina A, et al. Single stage permanent implant reconstruction has better outcome than tissue expander / implant in patients treated with postmastectomy radiation. *The Best of ASTRO 2017. Int J Rad Oncol Biol Physics* 2017;99(2):S4-5
- 43) Jagsi R, Momoh AO, et al. Impact of radiotherapy on complications and patient-reported outcomes after breast reconstruction. *JNCI* 2018;110(2):157-65.
- 44) Schwab R, Anic K, Hasenburg A, et al. Cancer and pregnancy: A comprehensive review. *Cancers (Basel)*. 2021;13(12):3048.
- 45) Jemal A, Saraiya M, Patel P, et al. Recent trends in cutaneous melanoma incidence and death rates in the United States 1992-2006. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:S17-25.
- 46) National Cancer Institute. Surveillance Epidemiology and End Results. 2008. Available at: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html#ref11>. Accessed April 18, 2014
- 47) Chin L., Merlino G, Depinho RA. Malignant melanoma: modern black plague and genetic black box. *Genes & Development* 1998;12(22):3467-81.
- 48) Cohn-Cedermark G, Rutqvist LE, Andersson R, et al. Long term results of a randomized study by the Swedish Melanoma Study Group on 2-cm versus 5-cm resection margins for patients with cutaneous melanoma with a tumor thickness of 0.8-2.0 mm. *Cancer* 2000;89:1495-501.
- 49) Balch CM, Soong SJ, Smith T, et al. Long-term results of a prospective surgical trial comparing 2 cm vs. 4 cm excision margins for 740 patients with 1-4 mm melanomas. *Ann Surg Oncol* 2001;8:101-8.
- 50) Khayat D, Rixe O, Martin G, et al. Surgical margins in cutaneous melanoma (2 cm versus 5 cm for lesions measuring less than 2.1-mm thick). *Cancer* 2003;97:1941-6.
- 51) Utjes D, Malmstedt J, Teras J, et al. 2-cm versus 4-cm surgical excision margins for primary cutaneous melanoma thicker than 2 mm: long-term follow-up of a multicentre, randomised trial. *Lancet* 2019;394:471-7.

- 52) NCCN Guidelines Version 3.2022 (online). Principles of surgical margins for wide excision of primary melanoma. (cit.7-1-2022). Dostupné z: <https://www.nccn.org>
- 53) Fisher B, Wolmark N, Bauer M, et al. The accuracy of clinical nodal staging and of limited axillary dissection as a determinant of histologic nodal status in carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1981;152:765-72.
- 54) Nieweg O, Kim EE, Wong WH, et al. Positron emission with fluorine-18-deoxyglucose in the detection and staging of breast cancer. *Cancer* 1993;71:3920-5.
- 55) Robinson DS, Sample WF, Fee HJ, et al. Regional lymphatic drainage in primary malignant melanoma of the trunk determined by colloidal gold scanning. *Surg Forum* 1977;28:147-8.
- 56) Holmes EC, Moseley HS, Morton DL, et al. A rational approach to the surgical management of melanoma. *Ann Surg* 1977;186:481-90.
- 57) Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;220(3):391-401.
- 58) Van der Veen H, Hoekstra OS, Paul MA, et al. Gamma-probe-guided sentinel node biopsy to select patients with melanoma for lymphadenectomy. *Br J Surg* 1994;81(12):1769-70.
- 59) Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 1997;349(9069):1864-7.
- 60) NCCN Guidelines Version 2.2019 (online). Cutaneous melanoma. MS-11. Rates and predictors of sentinel lymph node positivity. (cit.22-7-2019). Dostupné z: <https://www.nccn.org>
- 61) NCCN Guidelines Version 2.2019 (online). Cutaneous melanoma. ME-F. Principles of sentinel lymph node biopsy. (cit.22-7-2019). Dostupné z: <https://www.nccn.org>
- 62) Loffeld A, Marsden JR, et al. Management of melanoma metastasis to the breast: case series and review of the literature. *Br J Dermatol* 2005;152:1206-10.
- 63) NCCN Guidelines Version 3.2022 (online). Principles of completion/therapeutic lymph node dissection. ME-G. (cit.7-1-2022). Dostupné z: <https://www.nccn.org>

- 64) Wapnir IL, Khan A, et al. Current Strategies for the Management of Locoregional Breast Cancer Recurrence. *Oncology (Williston Park)* 2019;33(1):19-25.
- 65) Veronesi U, Saccozzi R, Del Vecchio M, et al. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *N Engl J Med* 1981;305:6-11.
- 66) Fisher B, Bauer M, Margolese R, et al. Five-year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and segmental mastectomy with or without radiation in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med*. 1985;312:665-73.
- 67) Halverson KJ, Perez CA, Kuske RR, et al. Survival following locoregional recurrence of breast cancer: univariate and multivariate analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992;23:285-91.
- 68) Schmoor C, Sauerbrei W, Bastert G, Schumacher M. Role of isolated locoregional recurrence of breast cancer: results of four prospective studies. *J Clin Oncol*. 2000;18:1696-708.
- 69) Wapnir IL, Anderson SJ, Mamounas EP, et al. Prognosis after ipsilateral breast tumor recurrence and locoregional recurrences in five National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project node-positive adjuvant breast cancer trials. *J Clin Oncol*. 2006;24:2028-37.
- 70) Anderson SJ, Wapnir I, Dignam JJ, et al. Prognosis after ipsilateral breast tumor recurrence and locoregional recurrences in patients treated by breast-conserving therapy in five National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocols of node-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27:2466-73.
- 71) Smolár M. Ochorenia prsníkov. Prvé vydanie. Turany: P+M,s.r.o., 2021. s 171.
- 72) Gatěk J, Kotoč J, Kotočová K, et al. Lokoregionální recidivy po konzervativních výkonech u časného karcinomu prsu. *Rozhl Chir* 2010;89(10):604–11.
- 73) Veronesi U, Marubini E, Del Vecchio, et al. Local recurrences and distant metastases after conservative breast cancer treatments: partly independent events. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:19–27.
- 74) Huang E, Bucholz T, Meric F, et al. Classifying local disease recurrences after breast conservation therapy based on location and histology: new primary tumors have more favorable outcomes than true local disease recurrences. *Cancer* 2002;95:2059–67.
- 75) Schwartz G, Veronesi U, Clouhg K, et al. Proceedings of the Consensus Conference on Breast Conservation. *Cancer* 2006;107:242–50.

- 76) Kaufman M, Morrow M, Mincgwitz G, et al. Locoregional Treatment of Primary Breast Cancer. *Cancer* 2010;116:1184–91.
- 77) Veronesi U, Volterani F, Luini A, et al. Quadrantectomy versus lumpectomy for small size breast cancer. *Eur J Cancer* 1990;26:671–3.
- 78) Voogd A, Nielsen M, Peterse J, et al. Differences in Risk Factor for Local and Distant Recurrence After Breast-Conserving Therapy or Mastectomy for Two Large European Randomized Trials. *J Clin Oncol* 2001;19:1688–97.
- 79) Kuerer H, Arthur D, Haffy A. Repeat Breast-Conserving Surgery for In-Breast Local Breast Carcinoma Recurrence. *Cancer* 2004;100:2269–80.
- 80) Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, et al. Twenty year of follow up of a randomized study comparing breast conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1227–32.
- 81) Fisher B, Anderson S, Bryant J, et al. Twenty year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1233–41.
- 82) Mollie A, MacCormack MA, Cohen LM, et al. Local melanoma recurrence: a clarification of terminology. *Dermatol Surg* 2004;30:1533-38.
- 83) Vojtišek R, Kinkor Z, Finek J, et al. Secondary angiosarcomas after conservation treatment for breast cancers, *Klin Onkol* 2011;24(5):382–8.
- 84) Alves I, Marques JC, et al. Radiation-induced angiosarcoma of the breast: a retrospective analysis of 15 years experience at an oncology center. *Radiol Bras* 2018;51(5):281-6.
- 85) Cahan WG, Woodard HQ, Higinbotham NL, et al. Sarcoma arising in irradiated bone; report of 11 cases. *Cancer* 1948;1(1):3–29.
- 86) Arlen M, Higinbotham NL, Huvos AG, et al. Radiation-induced sarcoma of bone. *Cancer* 1971;28(5):1087–1099.
- 87) Abbott R, Palmieri C, et al. Angiosarcoma of the breast following surgery and radiotherapy for breast cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2008;5(12):727–36.
- 88) Yap J, Chuba PJ, Thomas R, et al. Sarcoma as a second malignancy after treatment for breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;52:1231–7.
- 89) Rombouts AJM, Huising J, Hugen N, et al. Assessment of radiotherapy-associated angiosarcoma after breast cancer treatment in a Dutch population-based study. *JAMA Oncol* 2019;5(2):267–9.

- 90) Morgan EA, Kozono DE, Wang Q, et al. Cutaneous radiation-associated angiosarcoma of the breast: poor prognosis in a rare secondary malignancy. *Ann. Surg Oncol* 2012;19:3801–8.
- 91) Hui A, Henderson M, Speakman D, et al. Angiosarcoma of the breast: a difficult surgical challenge. *Breast* 2012;21(4):584–9.
- 92) Cohen-Hallaleh RB, Smith HG, Smith RC, et al. Radiation induced angiosarcoma of the breast: outcomes from a retrospective case series. *Clin Sarcoma Res* 2017;7:15.
- 93) Fodor J, Orosz Z, Szabo E, et al. Angiosarcoma after conservation treatment for breast carcinoma: our experience and a review of the literature. *J Am Acad Dermatol* 2006;54(3):499–504.
- 94) Kong J, Shahait AD, Kim S, et al. Radiation-induced undifferentiated pleomorphic sarcoma of the breast. *BMJ Case Rep* 2020;13(2).
- 95) Zafar A, Neary P, O’Donoghue G, et al. A breast surgeon’s paranoia pays off: the importance of keen clinical acumen in a case of postradiotherapy breast angiosarcoma. *BMJ Case Rep* 2012:bcr2012006434.
- 96) Farran Y, Padilla O, Chambers K, et al. Atypical presentation of radiation-associated breast angiosarcoma: a case report and review of literature. *Am J Case Rep* 2017;1347–50.
- 97) Cabete J, Lencastre A, Fidalgo A, et al. Postradiation cutaneous angiosarcoma of the breast: a diagnosis to keep in mind. *Breast J* 2014;20(1):89–90.
- 98) Salminen SH, Wiklund T, Sampo MM, et al. Treatment and prognosis of radiation-associated breast angiosarcoma in a nationwide population. *Ann Surg Oncol* 2020;7(4):1002–10.
- 99) Salminen SH, Sampo MM, Bohling TO, et al. Radiation-associated angiosarcoma of the breast: analysis of diagnostic tools in a registry-based population. *Acta Radiol* 2022;63(1):22-7.
- 100) Ohsawa M, Naka N, Tomita Y, et al. Use of immunohistochemical procedures in diagnosing angiosarcoma. Evaluation of 98 cases. *Cancer* 1995;75(12):2867–74.
- 101) Bonito FJP, Cerejeira DA, Dahlstedt-Ferreira C, et al. Radiation-induced angiosarcoma of the breast: a review. *Breast J* 2020;26(3):458-63.
- 102) Marchal C, Weber B, Lafontan B, et al. Nine breast angiosarcomas after conservative treatment for breast carcinoma: a survey from French Comprehensive Cancer Centers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;44(1):113–9.



- 103) Rao J, Dekoven JG, Beatty JD, et al. Cutaneous angiosarcoma as a delayed complication of radiation therapy for carcinoma of the breast. *J Am Acad Dermatol* 2003;49(3):532–8.
- 104) Fant J, Grant M, May S, et al. Angiosarcoma of the breast: mammographic, clinical, and pathologic correlation. *Breast J* 2003;9(3):252–3.
- 105) Pencavel TD, Hayas A, et al. Breast sarcoma - a review of diagnosis and management. *Int J Surg* 2009;7(1):20–3.
- 106) Al-Benna S, Poggemann K, Steinau HU, et al. Diagnosis and management of primary breast sarcoma. *Breast Cancer Res Treat* 2010;122(3):619–26.
- 107) Thijssens KM, Ginkel RJ, Suurmeijer AJ, et al. Radiation-induced sarcoma: a challenge for the surgeon. *Ann Surg Oncol* 2005;12(3):237–45.
- 108) Amajoud Z, Vertongen AS, Weytens R, et al. Radiation induced angiosarcoma of the breast: case series and review of the literature. *Facts Views Vis Obgyn* 2018;10(4):215–20.
- 109) Perez-Ruiz E, Ribelles N, Sanchez-Munoz A, et al. Response to paclitaxel in a radiotherapy-induced breast angiosarcoma. *Acta Oncol.* 2009;48(7):1078–9.
- 110) Kronenfeld JP, Crystal JS, Ryon EL, et al. Clinical outcomes for primary and radiation-associated angiosarcoma of the breast with multimodal treatment: longterm survival is achievable. *Cancers* 2021;13(15):3814.
- 111) Gambini D, Visintin R, Locatelli E, et al. Paclitaxel-dependent prolonged and persistent complete remission four years from first recurrence of secondary breast angiosarcoma. *Tumori* 2009;95(6):828–31.
- 112) Penel N, Bui BN, Bay JO, et al. Phase II trial of weekly paclitaxel for unresectable angiosarcoma: the ANGIOTAX Study. *J Clin Oncol* 2008;26(32):5269–74.
- 113) Casper ES, Waltzman RJ, Schwartz GK, et al. Phase II trial of paclitaxel in patients with soft-tissue sarcoma. *Cancer Invest* 1998;16(7):442–6.
- 114) Fata F, O'Reilly E, Ilson D, et al. Paclitaxel in the treatment of patients with angiosarcoma of the scalp or face. *Cancer* 1999;86(10):2034–7.
- 115) Wallgren A. Late effects of radiotherapy in the treatment of breast cancer, *Acta Oncol.* 1992;31(2):237–42.
- 116) Depla AL, Scharloo-Karels CH, Jong MAA, et al. Treatment and prognostic factors of radiation-associated angiosarcoma (RAAS) after primary breast cancer: a systematic review, *Eur. J. Cancer* 2014;50(10):1779–88.

- 117) Donovan EK, Corbett T, Vansantvoort J, et al. Radical chest wall resection and hyperfractionated accelerated radiotherapy for radiation-associated angiosarcoma of the breast: a safe and effective treatment strategy. *Breast J.* 2018;24(3):245–52.
- 118) Molitoris JK, Chhabra A, Snider JW, et al. Intensification of treatment for angiosarcoma of the breast with accelerated hyperfractionated radiation, hyperthermia, and surgical resection. *Cureus* 2017;9(6):1406-13.
- 119) Notter M, Stutz E, Thomsen AR, et al. Radiation-associated angiosarcoma of the breast and chest wall treated with thermography-controlled, contactless wIRA hyperthermia and hypofractionated Re-irradiation. *Cancers* 2021;13(15):3911.
- 120) Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646–74.
- 121) Melichar B. Laboratory medicine and medical oncology: the tale of two Cinderellas. *Clin Chem Lab Med* 2013;51(1):99–112.
- 122) Melichar B, Solichova D, Melicharova K, et al. Urinary neopterin in patients with advanced colorectal carcinoma. *Int J Biol Markers* 2006;21:190–8.
- 123) Melichar B, Jandik P, Krejsek J, et al. Mitogen-induced lymphocyte proliferation and systemic immune activation in cancer patients. *Tumori* 1996;82:218–20.
- 124) Melichar B, Nash MA, Lenzi R, et al. Expression of costimulatory molecules CD80 and CD86 and their receptors CD28, CTLA-4 on malignant ascites CD3+ tumor infiltrating lymphocytes (TIL) from patients with ovarian and other types of peritoneal carcinomatosis. *Clin Exp Immunol* 2000;119:19–27.
- 125) Melichar B, Savary C, Kudelka AP et al. Lineage-negative human leukocyte antigenDR+ cells with the phenotype of undifferentiated dendritic cells in patients with carcinoma of the abdomen and pelvis. *Clin Cancer Res* 1998;4:799–809.
- 126) Melichar B, Touskova M, Solichova D, et al. CD4+ T-lymphocytopenia and systemic immune activation in patients with primary and secondary liver tumours. *Scand J Clin Lab Invest* 2001;61:363–70.
- 127) Melichar B, Urbanek L, Krcmova L, et al. Urinary neopterin, hemoglobin and peripheral blood cell counts in breast carcinoma patients treated with dose-dense chemotherapy. *Anticancer Res* 2008;28:2389–96.
- 128) Holeckova P, Krcmova L, Letal J, et al. Urinary neopterin concentration and toxicity of radiotherapy in patients with head and neck carcinoma during external beam radiation. *Anticancer Res* 2013;33:4097–101.

- 129) Tomandl J, Palyza V, Tallova J, et al. Time course of urinary neopterin in a non-Hodgkin's lymphoma patient during chemotherapy and radiotherapy. *J Exp Clin Cancer Res* 2004;23:157–61.
- 130) von Ingersleben G, Souchon R, Fitzner R. Serum neopterin levels in lung and breast cancer patients undergoing radiotherapy and/or chemotherapy. *Int J Biol Markers* 1988;3:135–9.
- 131) Mergancová J, Javorská L, Šiller J, et al. Concentrations of neopterin, kynurenine and tryptophan in wound secretions of patients with breast cancer and malignant melanoma: a pilot study. *Pteridines* 2017;28(3–4):205–11.
- 132) Eisenhut M. Neopterin in Diagnosis and Monitoring of Infectious Diseases. *J Biomark* 2013;2013:196432.
- 133) Wachter H, Hausen A, Grassmayr K. Erhohte Ausscheidung von Neopterin im Harn von Patienten mit malignen Tumoren und mit Viruserkrankungen. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1979;360:1957-60.
- 134) Wachter H, Fuchs D, Hausen A, et al. Neopterin as marker for activation of cellular immunity: immunologic basis and clinical application. *Adv Clin Chem* 1989;27:81-141.
- 135) Melichar B, Spisarová M, Bartoušková M, et al. Neopterin as a biomarker of immune response in cancer patients. *Ann Transpl Med* 2017;5(13):280.
- 136) Müller MM, Curtius H-C, Herold M, et al. Neopterin in clinical practise. *Clinica chimica acta*. 1991;201(1-2):1-16.
- 137) Hailemichael W, Kiros M, Getu S, et al. Neopterin: A promising candidate biomarker for severe COVID-19. *Journal of inflammation research* 2021;14:245-51.
- 138) Melichar B, Solichova D, Svobodova I, et al. Urinary neopterin in patients with liver tumors. *Tumori*. 2006;92:318-22.
- 139) Berdowska A, Zwirska-Korcala K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. *J Clin Pharm Ther*. 2001;26(5):319-29.
- 140) Hényková E, Přikrylová Vránová H, Amakorová P, et al. Stable isotope dilution UHPLC-MS/MS quantitative profiling of tryptophan-related neuroactive substances in human serum and cerebrospinal fluid. *J Chromatogr A*. 2016;1437:145-57.
- 141) Bender DA. Biochemistry of tryptophan in health and disease, *Mol. Aspects Med*. 1983;6:101-97.

- 142) Friberg M, Jennings R, Alsarraj M, et al. Indoleamin 2,3-dioxygenase contributes to tumor cell evasion of T cell-mediated rejection. *Int J Cancer* 2002;101:151–5.
- 143) Burke F, Knowles RG, East N, et al. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in the anti-tumour activity of human interferongamma in vivo. *Int J Cancer* 1995;60:115–22.
- 144) Burke F, Smith PD, Crompton MR, et al. Cytotoxic response of ovarian cancer cell lines to IFN-g is associated with sustained induction of IRF-1 and p21 mRNA. *Br J Cancer* 1999;80:1236–44.
- 145) Melichar B, Ferrandina G, Verschraegen CF, et al. Growth inhibitory effects of aromatic fatty acids on ovarian tumor cell lines. *Clin Cancer Res* 1998;4:3069–76.
- 146) Ito H, Ando T, Ogiso H, et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase activity accelerates skin wound healing. *Biomaterials* 2015;53:221–8.
- 147) O’Connor RÍ, Kiely PA, Dunne CP. The relationship between post-surgery infection and breast cancer recurrence. *J Hosp Infect* 2020;106(3):522-35.
- 148) Ortega G, Rhee DS, Papandria DJ, et al. An evaluation of surgical site infections by wound classification system using the ACS-NSQIP. *J Surg Res* 2012;174:33-8.
- 149) Jones DJ, Bunn F, Bell-Syer SV. Prophylactic antibiotics to prevent surgical site infection after breast cancer surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;3: CD005360.
- 150) Witt A, Yavuz D, Walchetseder C, et al. Preoperative core needle biopsy as an independent risk factor for wound infection after breast surgery. *Obstet Gynecol*. 2003;101:745–50
- 151) Olsen MA, Lefta M, Dietz JR, et al. Risk factors for surgical site infection after major breast operation. *J Am Coll Surg* 2008;207:326-35.
- 152) Nejman D, Livyatan I, Fuks G, et al. The human tumor microbiome is composed of tumor typespecific intracellular bacteria. *Science* 2020;368:973-80
- 153) Esposito S, Noviello S, Leone S. Epidemiology and microbiology of skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis* 2016;29:109-15.
- 154) Throckmorton AD, Baddour LM, Hoskin TL, et al. Microbiology of surgical site infections complicating breast surgery. *Surg Infect* 2010;11:355-9.
- 155) Olsen MA, Nickel KB, Fox IK. Surveillance and prevention of surgical site infections in breast oncologic surgery with immediate reconstruction. *Curr Treat Options Infect Dis* 2017;9:155-72.

- 156) Gallagher M, Jones DJ, Bell-Syer SV. Prophylactic antibiotics to prevent surgical site infection after breast cancer surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2019;9(9):CD005360.
- 157) Blanchard D. Prophylactic antibiotics to prevent surgical site infection after breast cancer surgery. *Clin J Oncol Nurs*. 2015;19(5):629–30.
- 158) Murthy BL, Thomson CS, Dodwell D, et al. Postoperative wound complications and systemic recurrence in breast cancer. *Br J Cancer* 2007;97:1211-7.
- 159) Indelicato DJ, Grobmyer SR, Newlin H, et al. The association between operative closure type and acute infection, local recurrence, and disease surveillance in patients undergoing breast conserving therapy for early stage breast cancer. *Surgery* 2007;141(5):645-53.
- 160) Beecher SM, O’Leary DP, McLaughlin R, et al. Influence of complications following immediate breast reconstruction on breast cancer recurrence rates. *Br J Surg* 2016;103(4):391-8.
- 161) Mousa M, Barnea Y, Arad U, et al. Association between postoperative complications after immediate alloplastic breast reconstruction and oncologic outcome. *Clin Breast Cancer* 2018;18:699-702.
- 162) Abdullah N, O’Leary DP, Hegarty A, et al. The effect of surgical site infection in immediate breast reconstruction on breast cancer recurrence. *Breast J* 2019;25(1):166-8.
- 163) Kuroi K, Shimosuma K, Taguchi T, et al. Pathophysiology of seroma in breast cancer. *Breast Cancer* 2005;12:288–93.
- 164) Kuroi K, Shimosuma K, Taguchi T, et al. Evidence-based risk factors for seroma formation in breast surgery. *Jpn J Clin Oncol*. 2006;36:197–206.
- 165) Axelsson CK, Qvamme GM, Okholm M et al. Bacterial colonization of seromas after breast cancer surgery with and without local steroid prophylaxis. *World J Surg Oncol*. 2019;17:120-6.
- 166) Felipe WA, Werneck GL, Santoro-Lopes G. Surgical site infection among women discharged with a drain in situ after breast cancer surgery. *World J Surg* 2007;31:2293–9.
- 167) Taghizadeh R, Shoab T, Hart AM, et al. Triamcinolone reduces seroma re-accumulation in the extended latissimus dorsi donor site. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2008;61:636–42.

- 168) Qvamme G, Axelsson CK, Lanng C, et al. Randomized clinical trial of prevention of seroma formation after mastectomy by local methylprednisolone injection. *Br J Surg*. 2015;102:1195–203.
- 169) Okholm M, Axelsson CK. No effect of steroids on seroma formation after mastectomy. *Dan Med Bull*. 2011;58(2):A4241.
- 170) Carless PA, Henry DA. Systematic review and meta-analysis of the use of fibrin sealant to prevent seroma formation after breast cancer surgery, *Br J Surg*. 2006;93(7):810-9.
- 171) Ploder M, Spittler A, Kurz K, et al. Accelerated tryptophan degradation predicts poor survival in trauma and sepsis patients. *Int J Tryptophan Res*. 2010;3:61-7.
- 172) Girgin G, Sahin TT, Fuchs D, et al. Tryptophan degradation and serum neopterin concentrations in intensive care unit patients. *Toxicol Mech Methods* 2011;21:231-5.
- 173) Melichar B, Freedman RS. Immunology of the peritoneal cavity: relevance for host-tumor relation. *Int J Gynecol Cancer* 2002;12:3–17.
- 174) Hodi FS, O Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:711–23.
- 175) Melichar B, Studentová H, Kalabova H, et al. Predictive and prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with breast cancer treated with neoadjuvant systemic therapy. *Anticancer Res* 2014;34:1115–26.
- 176) Kirkwood JM, Butterfield LH, Tarhini AA, et al. Immunotherapy of cancer in 2012. *CA Cancer J Clin* 2012;62:309–35.
- 177) Mura P, Barriere M, Papet Y, et al. The clinical significance of urinary neopterin in the follow-up of patients after exeresis of a malignant melanoma. *Pteridines* 1989;1:19–21.
- 178) Zitko M, Andrysek O, Cernovska I, et al. Renal excretion of neopterin and biopterin in patients with malignant melanoma and Hodgkin's disease. *Neoplasma* 1986;33:387–91.
- 179) Kalabova H, Krcmova L, Kasparova M, et al. Prognostic significance of increased urinary neopterin concentrations in patients with breast carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2011;32:525–9.
- 180) Girgin G, Sahin TT, Fuchs D, et al. Immune system modulation in patients with malignant and benign breast disorders: tryptophan degradation and serum neopterin. *Int J Biol Markers* 2009;24:265–70

- 181) Melichar B, Dvorak J, Hyspler R, et al. Intestinal permeability in the assessment of intestinal toxicity of cytotoxic agents. *Chemotherapy* 2005;51:336–8.
- 182) Zezulova M, Bartouskova M, Hlidkova E, et al. Citrulline as a biomarker of gastrointestinal toxicity in patients with rectal carcinoma treated with chemoradiation. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:305–14.
- 183) Baydar T, Yuksel O, Sahin TT et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. *Journal of Critical Care*. 2009;24(3):318-21.
- 184) Fisgin NT, Aliyazicioglu Y, Tanyel E et al. Th value of neopterin and procalcitonin in patients with sepsis. *Southern Medical Journal*. 2010;103(3):216-9.
- 185) Roukonen E, Ilkka L, Niskanen M et al. Procalcitonin and neopterin as indicators of infection in critically ill patients. *Acta anaest Scandin*. 2002;46(4):398-404.

## 13) Seznam vlastních publikací a přednášek

---

### a) Práce související s disertační prací

#### 1) Původní vědecké publikace v časopisech s IF

- I) **Mergancová J**, Lierová A. et al. Radiation-associated angiosarcoma of the breast: An international multicenter analysis. *Surg oncol.* 2022;41:101726.
- II) **Mergancová J**, Javorská L. et al. Concentrations of neopterin, kynurenine and tryptophan in wound secretions of patients with breast cancer and malignant melanoma: a pilot study. *Pteridines.* 2017;28(3-4):2005-211.

#### 2) Původní vědecké publikace v recenzovaných vědeckých časopisech

- I) Hlávka A, Štuk J, Odrážka K, Vaňásek J, Doležel M, Vítková M, Lášková D, Vilasová Z, **Mergancová J**, Elichová L, Hošek O. Předoperační CT pro plánování pooperační radioterapie karcinomu prsu – původní práce. *Rozhl Chir.* 2021;100(6):278–84.
- II) **Mergancová Jana**, Mergancová Jindřiška, Hrnčířová I, et al. Vyšetření sentinelové uzliny u in situ karcinomu prsu. *Rozhl. Chir.* 2011;90(7):393–6.

#### 3) Přehledné / souborné vědecké práce v recenzovaných vědeckých časopisech

- I) **Mergancová Jana**, Mergancová Jindřiška, Hrnčířová Zimová I, et al. Nádorová duplicita v intramamární uzlině. *Onkologie* 2019;13(6):293-6.
- II) Kolářová I, Vaňásek J, Odrážka K, Dušek L, Šinkorová Z, Hlávka A, Štuk J, Stejskal J, Dvořáková D, Sákra L, **Mergancová J**, Vilasová Z. Mají subtypy HER2 pozitivního karcinomu prsu význam pro klinickou praxi? *Klin. Onkol* 2019;32(1):25-30.
- III) Kolářová I, Vaňásek J, Odrážka K, Hlávka A, Štuk J, Sákra L, **Mergancová J**. Karcinom prsu ve vyšším věku. *Onkologie* 2018;12(6):244-9.

#### 4) Publikovaná abstrakta

- I) **Vyžádaná přednáška - Mergancová Jana**, Mergancová Jindřiška, Černotová K, et al. Možnosti zacílení nehmavných nálezů v prsu – Quantum satis. 43. Brněnské onkologické dny 10.-12.4.2019 Výstaviště Brno. *Klin Onkol* 2019;32(Suppl 1):S73
- II) **Mergancová Jana**, Mergancová Jindřiška, Hácová M, et al. Časný karcinom prsu – naše zkušenosti. 7. pražské mezioborové onkologické kolokvium. Praha. *PragueONCO Journal* 2016;s106-7.



- III) **Mergancová Jana**, Mergancová Jindřiška. Radikalita konzervativních prs šetřících operačních výkonů a kosmetický efekt – naše zkušenosti a výsledky. 7. pražské mezioborové onkologické kolokvium. Praha. PragueONCO Journal 2016;s107-8.
- IV) **Mergancová Jana**, Mergancová Jindřiška, Štuk J. et al. Sentinel node examination in ductal carcinoma in situ. 2<sup>nd</sup> World Congress on Controversies in Breast Cancer. Barcelona, Spain. 2016. Poster abstract p.70-1

#### 5) Seznam přednášek a posterů-autor

- I) Mezioborový přístup k léčbě HER2+ eBC: Co nového přinesla konference St. Gallen 2021? SROBF 2021, Praha. 10.6.2021
- II) Úskalí léčby karcinomu prsu pohledem chirurga. Přednášková odpoledne onkologů Pardubického kraje. Multiscan, Pardubice. 27.4.2021
- III) Chirurgická léčba karcinomu prsu. Informační kampaň Vědět víc... Karcinom prsu, Dům techniky Pardubice, 5.4.2018
- IV) Poiradiační angiosarkom – vyhánění čerta ďáblem – makro i mikro pohled. 23. mezinárodní pracovní konference SEKCAMA, Bratislava, 26.4.2018
- V) Od excize znaménka k malignímu melanomu. Seminář UV ochrana pro dermatology, Tereziánský dvůr Hradec Králové, 15.5.2018 a Praha, 23.5.2018
- VI) Chirurgická léčba u velmi mladých žen a v profylaxi u BRCA pozitivity. VIII. plzeňský mammární den, KOC FN Plzeň, 25.9.2018
- VII) Nemožné ihned, zázraky na počkání; 1. krajský klinicko-patologický seminář „Patologie napříč obory“, Pardubice 27.4.2017
- VIII) Neoadjuvance u karcinomu prsu z pohledu chirurga. Training Perjeta neoadjuvant. Pracovní setkání pořádané firmou Roche, Jelínkova vila Velké Meziříčí, 15.-16.12.2016
- IX) Časný karcinom prsu – naše zkušenosti. Multioborový krajský seminář Karcinom prsu, Černá za Bory, 6.5.2015

#### b) Ostatní publikace:

##### 1) práce v recenzovaných vědeckých časopisech

- I) Jesenková A, **Mergancová Jana**, Mergancová Jindřiška, et al. Fyloidní tumor a jeho malignizace v invazivní duktální karcinom prsu – kazuistika. Rozhl Chir. 2021;100(6):295–301.

- II) **Mergancová Jana**, Mergancová Jindřiška, Černotová K, et al. Izolovaná axilární lymfadenopatie jako první projev dlaždicobuněčného karcinomu vulvy. *Onkologie* 2020;14(Suppl. B):30-3.

**2) Seznam přednášek a posterů – autor**

- I) Pozdní komplikace adenomu rekta. 2. krajský klinicko – patologický seminář „Patologie napříč obory“, Pardubická nemocnice, 14.5.2018