



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

IMUNOHISTOCHEMIE KARCINOMU PRSU

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **SPECIALIZACE VE
ZDRAVOTNICTVÍ / ZDRAVOTNÍ LABORANT**

Autor: Sabina Hyžíková

Vedoucí práce: MUDr. Jindřich Branžovský, Ph.D.

České Budějovice 2020

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Imunohistochemie karcinomu prsu*“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2.6.2020

.....

Sabina Hyžiková

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala vedoucímu bakalářské práce, MUDr. Jindřichu Branžovskému, Ph.D., za čas, který mi věnoval při zpracování této práce, za poskytnutou literaturu, cenné rady a za velmi vstřícný přístup. Dále chci také poděkovat celému kolektivu Oddělení Patologie v Písku za poskytnutí informací, vzorků pro testování a za možnost provádět výzkum v jejich laboratoři.

Imunohistochemie karcinomu prsu

Abstrakt

Ve své bakalářské práci se zabývám imunohistochemickým vyšetřením karcinomu prsu. Výzkum jsem prováděla na Oddělení patologie v Nemocnici Písek a.s. Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část.

V teoretické části se zabývám anatomickou strukturou prsu, klinickými příznaky, diagnostikou společně se zobrazovacími metodami. Dále rizikovými faktory, zahrnující genetické a hormonální aspekty. Prognózou a také prevencí vzniku nádorů a následnou léčbou tohoto onemocnění. Shrnula jsem obecnou klasifikaci nádorů představujících staging a grading. Také jsem popsala patologické struktury benigních a maligních lézí prsu.

V praktické části jsem se zaměřila na to, jak funguje metoda imunohistochemie a především, jak vypadá celý histologický proces zpracování prsní tkáně. Pracovala jsem s celkem 218 bioptickými vzorky prsní tkáně, které byly touto metodou obarveny a stanovila jsem 5 markerů (estrogenové a progesteronové receptory, HER-2/Neu, Ki67 a E-cadherin), které byly při jejich diagnostice použity. Na základě negativy ER, PR a HER-2/Neu receptoru jsem vyhodnotila čtrnáct triple-negativních lézí. Hormonální receptory vykazovaly četné pozitivní výsledky více než negativní, naopak exprese HER-2/Neu vykazuje pouze mírně vyšší pozitivitu u sto dvaceti dvou případů ve srovnání se zbývajících devadesáti šesti negativními případy.

Výsledkem praktické části mé bakalářské práce byla zjištění, že nejčastějším histologickým podtypem nádorů prsu je invazivní duktální karcinom, který byl zastoupen sto devadesáti dvěma případy, dalším typem byl invazivní lobulární karcinom stanovený ve dvaceti dvou případech a šest duktálních karcinomů in situ.

Cílem mé bakalářské práce bylo představit stručný popis problematiky karcinomu prsu a poukázat na zastoupení nejčastěji diagnostikovaných podtypů, a také popsat provedení metody, která je typická pro detekci receptorů spojených s karcinomem prsu.

Klíčová slova

Imunohistochemie; karcinom prsu; prsa; nádor

Breast cancer imunohistochemistry

Abstract

In my bachelor thesis I deal with imunohistochemical examination of breast cancer. I performed the research at the Department of pathology at the hospital in Písek. The thesis is divided into theoretical and practical part

In the theoretical part I deal with anatomical structure of the breast, clinical symptoms, diagnostics together with imaging methods. Next risk factors, including genetic and hormonal aspects of breast cancer. Prognosis and also by prevention of tumor development and subsequent treatment of this disease. I summarized the general classification of tumors representing staging and grading. I also described pathological structures of the breast as benign and malignant lesions.

In the practical part I deal with the description of the immunohistochemical method, I focused on how the method works and especially how the whole histological process looks like. I worked with a total amount of 218 biopsy samples of breast tissue, which were subsequently stained with this method and I determined 5 markers (oestrogen and progesterone receptors, HER-2/Neu, Ki67 and E-cadherin), which were used in their diagnosis. Based on the negativity of ER, PR and HER-2/Neu, I evaluated fourteen triple-negative lesions. Hormone receptors showed numerous positive results more than negative ones, while HER-2/Neu expression showed only slightly higher positivity in hundred and twenty two cases compared to the remaining ninety six negative cases.

The results of the practical part of my bachelor thesis was finding, that the most prevalent histologic subtype of breast cancer is the invasive ductal carcinoma, which was represented in one hundred and ninety two cases, another type was invasive lobular carcinoma represented in twenty two cases and six ductal carcinoma in situ.

The aim of my bachelor thesis was to present a brief description of the issue of breast cancer and point out the representation of the most frequently diagnosed subtypes as well as to describe the execution of a method that is typical for detecting breast cancer-associated receptors.

Key words

Imunohistochemistry; breast cancer; breast; cancer

Obsah

| | |
|---|----|
| Úvod..... | 10 |
| 1 Anatomie prsu..... | 11 |
| 2 Klinické příznaky..... | 15 |
| 3 Diagnostika..... | 16 |
| 4 Zobrazovací metody..... | 17 |
| 5 Rizikové faktory..... | 20 |
| 5.1 Geneticky podmíněný karcinom prsu..... | 20 |
| 5.2 Hormonální faktory..... | 21 |
| 6 Prognóza..... | 22 |
| 7 Prevence..... | 24 |
| 7.1 Primární prevence..... | 24 |
| 7.2 Sekundární prevence..... | 24 |
| 7.2.1 Mamografický screening..... | 24 |
| 7.2.2 Samovyšetření prsu..... | 24 |
| 7.3 Terciární prevence..... | 25 |
| 8 Terapie..... | 26 |
| 8.1 Chirurgický výkon..... | 26 |
| 8.1.1 Sentinelová uzlina..... | 27 |
| 8.2 Radioterapie..... | 28 |
| 8.3 Chemoterapie..... | 28 |
| 8.4 Hormonální terapie..... | 29 |
| 8.5 Imunoterapie..... | 29 |
| 9 Karcinom prsu..... | 30 |
| 9.1 Klasifikace nádorů..... | 32 |
| 9.1.1 Staging..... | 32 |
| 9.1.2 Grading..... | 34 |
| 9.1.3 MKN-O (Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii)..... | 34 |
| 9.1.4 Nádorové markery..... | 35 |
| 9.2 Benigní nádory..... | 36 |
| 9.2.1 Fibroadenom..... | 36 |
| 9.2.2 Fyloidní nádor..... | 36 |
| 9.3 Maligní nádory neinvazivní (<i>In situ</i>)..... | 37 |
| 9.3.1 Duktální karcinom in situ (DCIS)..... | 37 |
| 9.3.2 Lobulární karcinom in situ (LCIS)..... | 39 |
| 9.4 Maligní nádory invazivní..... | 40 |

| | | |
|--------|---|----|
| 9.4.1 | Duktální karcinom (IDC)..... | 40 |
| 9.4.2 | Lobulární karcinom (ILC) | 41 |
| 9.4.3 | Ostatní invazivní karcinomy..... | 42 |
| 9.5 | <i>Karcinom mužského prsu</i> | 42 |
| 9.6 | <i>Gynekomastie</i> | 42 |
| 10 | Cíl práce a výzkumné otázky | 44 |
| 11 | Metodika | 45 |
| 11.1 | <i>Imunohistochemie</i> | 45 |
| 11.1.1 | Typy markerů:..... | 45 |
| 11.1.2 | Rozdělení typů imunohistochemických metod..... | 46 |
| 11.2 | <i>Příjem vzorku</i> | 47 |
| 11.3 | <i>Získání materiálu k histopatologickému vyšetření</i> | 47 |
| 11.4 | <i>Fixace tkáně</i> | 47 |
| 11.4.1 | Fyzikální metody | 47 |
| 11.4.2 | Chemické roztoky | 48 |
| 11.5 | <i>Přikrajování</i> | 48 |
| 11.6 | <i>Parafínové zpracování tkáně</i> | 48 |
| 11.6.1 | Příprava roztoků a pomůcek | 48 |
| | Použité chemikálie a činidla: | 48 |
| 11.6.2 | Princip metody | 49 |
| 11.7 | <i>Barvení</i> | 50 |
| 11.7.1 | Příprava roztoků..... | 50 |
| 11.7.2 | Princip metody | 51 |
| 11.8 | <i>Vlastní imunohistochemické vyšetření</i> | 51 |
| 11.8.1 | Příprava vzorků a pomůcek | 51 |
| 11.8.2 | Princip a postup barvení | 53 |
| 11.8.3 | Montování preparátů..... | 54 |
| 11.8.4 | Mikroskopování | 54 |
| 11.9 | <i>Hodnocení hormonálních receptorů (ER, PR)</i> | 54 |
| 11.10 | <i>Hodnocení HER-2/Neu</i> | 56 |
| 11.11 | <i>Stanovení triple-negativních karcinomů prsu (TNBC)</i> | 58 |
| 12 | Výsledky | 59 |
| 12.1 | <i>Hodnocení punkčních biopsií</i> | 59 |
| 12.2 | <i>Hodnocení receptorů karcinomu prsu</i> | 60 |
| 12.3 | <i>Zastoupení významných markerů karcinomu prsu</i> | 61 |
| 13 | Diskuze | 65 |
| 14 | Závěr | 66 |

| | | |
|----|--------------------------------|----|
| 15 | Seznam literatury | 67 |
| 16 | Seznam obrázků a tabulek | 73 |
| | Seznam zkratk | 74 |

Úvod

Karcinom prsu je nejčastějším zhoubným novotvarem u žen v České republice. Přibližně od poloviny 90. let lze pozorovat postupné zlepšování epidemiologické situace, především stabilizaci až mírně klesající mortalitu, avšak počet nově diagnostikovaných případů tohoto onemocnění stále narůstá a stoupá i s věkem potenciálních pacientek. Rostoucí incidenci lze pozorovat ve všech vyspělých zemích světa, zejména v severní a západní Evropě a Severní Americe. Mortalita ovšem vykazuje dlouhodobou stagnaci, a to především díky stále se zlepšující diagnostice zahrnující klinické vyšetření, zobrazovací metody, histopatologické vyšetření včetně imunohistochemického a následně správně zvolený léčebný postup (Prausová, 2010).

V současnosti má v souboru vyšetřovacích metod prsu nejvýznamnější úlohu mamografie. Důležitá je také dispenzarizace, tedy sledování nemocných s vyléčeným nádorovým onemocněním s cílem včas odhalit recidivu nemoci, což je u tohoto onemocnění velmi podstatné, jelikož je nádor schopen recidivovat i po dlouholetém období (Chovanec et al., 2008).

1 Anatomie prsu

Ženský prs je párový orgán skládající se z tukového vaziva a žlázové tkáně opírající se o velký prsní sval. Prsy mají kruhovitý tvar a nacházejí se v úrovni druhého až šestého žebra. Anatomicky je lze rozdělit na:

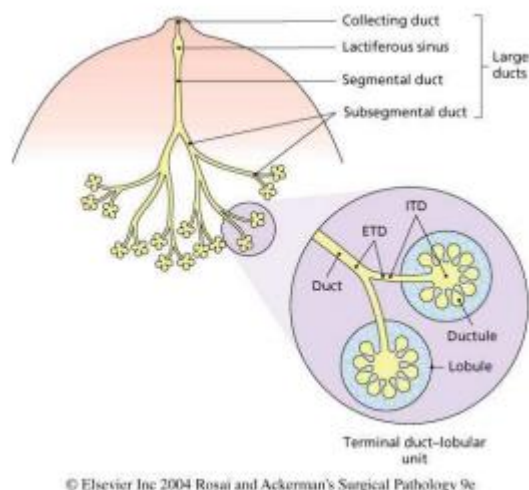
- kůži
- bradavku s dvorcem
- měkké tkáně zahrnující především tuk a vazivo, ale i svalovou tkáň, krevní elementy, cévy či periferní nervy
- vlastní mléčnou žlázu.

Podle tohoto schématu je provedeno i rozdělení podkapitol ve většině literatury popisující patologické změny vznikající z těchto struktur. Řada změn se vyskytuje jak v ženském, tak i v mužském prsu (Rokyta et al., 2010; Povýšil, Šteiner, 2007).

Epitelová složka (vícevrstevný dlaždicový, kubický nebo cylindrický epitel) zastupuje 10% až 15% celkového objemu prsu. Zbytek objemu tvoří mléčná žláza jakožto největší kožní žláza, která se skládá z 15 až 20 laloků. Prostor mezi laloky je vyplněn tukovou tkání (Pandya, Moore, 2011).

Tyto laloky jsou dále rozděleny do řady drobných lalůčků (lobulů), tvořených žlázovými buňkami. Vývody několika lalůčků se spojují do společných mlékovodů (duktů) a ty se vyústí v prsní bradavku (papilla mammae). V průběhu pohlavního vývoje prochází žláza změnami, které řídí pohlavní hormony. Estrogeny stimulují růst vývodů mléčné žlázy a progesteron podmiňuje rozvoj jejího lobulárního systému. Estrogeny také působí na vývoj stromálních tkání prsů a na ukládání tuku v prsů. Také zodpovídají za jejich charakteristický růst a vnější vzhled (Guyton et. al., 2000).

Základem žlázy jsou tzv. terminální duktálně-lobulární jednotky (TDLJ). Ty se skládají z tubulů a intralobulárních úseků terminálních duktů, jež jsou vystlány dvojvrstevným epitelem. V jejich okolí se nachází řídké mezenchymové stroma. TDLJ je částí sekreční žlázy, která citlivě reaguje na hormonální stimuly (estrogen, progesteron a prolaktin) (Mačák, Mačáková, 2004).

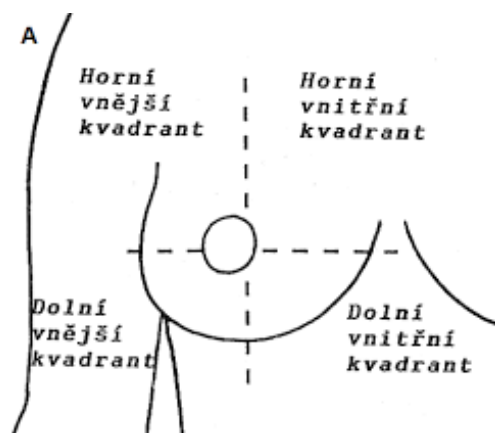


Obrázek 1: Schematické znázornění terminální duktálně-lobulární jednotky u zdravé ženy

Zdroj: převzato z učebnice Rosai and Ackerman's Surgical Pathology 2018

Celý duktální systém je lemován souvislou vrstvou luminálních epitelálních buněk obklopených vrstvou myoepiteliálních buněk, která je opět obklopena nebo je v přímém kontaktu s bazální membránou. TDLJ jsou pak obklopeny ohraničujícími fibroblasty a uloženy ve specializovaném intralobulárním stromatu. Každý z těchto typů buněk může být rozlišen podle jedinečných vzorců exprese antigenu. Je důležité si uvědomit, že většina proliferujících buněk představuje luminální epitel, zatímco buněčné dělení nebo exprese antigenů spojených s proliferací bývá v myoepiteliálních buňkách relativně vzácné. Dobrým příkladem bývá nález receptorů pro estrogen a progesteron výhradně v luminálním prostoru lidského prsu (Anderson, Clarke, 2004).

Pro snadnější klinicko-anatomickou orientaci dělíme prs pomyslně ještě na čtyři kvadranty – horní zevní, dolní zevní, horní vnitřní a dolní vnitřní.



Obrázek 2: Dělení prsu na kvadranty

Zdroj: <https://otik.zcu.cz/bitstream/11025/9098/1/Vyznam%20sentinelove%20uzliny%20a%20jeji%20zobrazeni.pdf>

Mléčná žláza má bohaté krevní i mízní (lymfatické) zásobení. Především z důvodu stoupajícího výskytu malignit prsu mají lymfatické cévy značný klinický význam. Míza je ve velkém množství odváděna především do uzlin v podpažní jamce. Vyšetřování těchto uzlin je součástí palpačního vyšetření prsu. Tok lymfy lymfatickými cévami je přerušován lymfatickými uzlinami, které slouží jako filtr, jenž zachycuje bakterie, buňky či jiné částice. Prvotním uzlinovým spádem prsu jsou uzliny podpažní, posléze mezižeberní, případně nadklíčkové (Abrahámová, 2019; Rokyta et al., 2010).

Asi 75% lymfy odtéká do lymfatických uzlin v podpažní jamce, a to především ze zevních kvadrantů prsu (které jsou nejčastěji postiženými kvadranty). Lymfa projde přes několik lymfatických uzlin až k hlavnímu mízovodu, který ústí do horní duté žíly. Při průtoku postiženou oblastí se tak mohou nádorové buňky zachytit v uzlinách, dále se množit a vytvořit metastázu. V případě nálezu bulky v prsu je tedy nutné, aby lékař zkontroloval příslušné uzliny, nejsou-li postiženy nádorem.

Tvar i velikost prsu se během života ženy mění a to především v době těhotenství, kdy dochází k tvorbě mléka (kolostra) pro dítě (Abrahams, Druga, 2003).

V této době se prsa zvětšují, zvyšují svůj objem i hustotu. Mezi hormony ovlivňující tento růst patří estrogen, progesteron, růstový hormon, prolaktin a placentární hormony. Během prvního trimestru jsou stromální elementy prsu postupně nahrazeny proliferujícím glandulárním epitelem. Ve třetím trimestru vede diferenciaci epitelu k rozvoji sekrece buněk, které jsou schopny syntetizovat a vylučovat mléčné proteiny. Hormon oxytocin

indukuje proliferaci a diferenciaci myoepitelu. Bezprostředně po vzestupu jeho hladiny, klesají hladiny estrogeneru a progesteronu, což má za následek laktaci.

Další změna nastává v období menopauzy, kdy dochází k regresi prsu a duktální i žlázové elementy involují (zmenšují se prsní žlázy), což má za následek, že prsa přednostně obsahují tuk a stroma. Se stárnutím rovněž dochází k celkovému snížení počtu duktů a lobulů. Progresivní pokles v počtu tukových a stromálních elementů vede k vlastnímu zmenšení prsou a ztrátě jejich kontury (Pandya, Moore, 2011).

2 Klinické příznaky

Karcinom prsu nemá specifické příznaky, které by umožnily spolehlivé odlišení od různých forem benigních lézí. Benigní a maligní forma nádoru prsu se liší mezi věkovými kategoriemi, kdy benigní formu nacházíme častěji u mladších žen a malignitu u starších žen. Abnormality prsu by měly projít trojím hodnocením: klinickým vyšetřením, zobrazovacími metodami a odběrem vzorku tkáně (Tavassoli, Devilee, 2003).

Nejběžnějšími nálezy u symptomatických žen jsou:

- hmatná bulka v prsu (eventuálně bulka v podpaží), která může i nemusí být doprovázena bolestí.
- zarudnutí kůže s vyrážkou v oblasti dvorce a bradavky doprovázené vyšší teplotou a zviditelněnými povrchovými žilkami.
- změny ve tvaru, velikosti a vzhledu prsu (např. vtažení bradavky)
- edém (tzv. pomerančová kůže), jenž je způsoben místní kožní lymfostázou.
- výtok z bradavky, který může být i krvavého charakteru.

Tyto příznaky bývají běžné až v pokročilém stádiu nádoru. (Büchler, 2017; Abrahámová, 2019).

3 Diagnostika

Základem diagnostického procesu je pečlivé fyzikální vyšetření prsů a osobní a rodinná anamnéza, která upozorní na možný genetický původ nemoci, dobu jejího trvání a dynamiku růstu nádoru. Pohledem lze odhalit klasické klinické příznaky nádoru prsní žlázy, jako asymetrii prsů, změny kůže prsu či změny v oblasti bradavky. Palpací je třeba vyšetřit všechny kvadranty prsu a oblasti regionálních lymfatických uzlin axilárních, nadklíčkových i podklíčkových. Jedná se o praktickou techniku, kterou může provádět pacientka sama (tzv. samovyšetření prsu) jako preventivní opatření (Prausová, 2010).

Zhoubný nádor prsu ve svém prvopočátku většinou není bolestivý a popravdě ani nezpůsobuje žádné jiné obtíže (asymptomatický nádor). Ty mohou značit prvotní projevy růstu metastáz (Kastnerová, 2016). U nádorů s doprovodnými symptomy se většinou diagnostikuje náhodně objevená tuhá zatvrdlina (bulka). Pokud pacientka pociťuje některé z uvedených příznaků způsobujících potíže, je třeba okamžitě navštívit lékaře. Převážná většina nádorů prsu je tak diagnostikována v průběhu mamografického screeningu a pouze 60% nádorů je hmatatelných (Goldblum et. al., 2018). Pokud lékař pojme podezření na zhoubný nádor, musí provést histologické ověření podezřelé tkáně.

Pro histologickou diagnostiku je nejběžnější punkce silnou jehlou tzv. true-cut nebo core-cut biopsie a odebraný vzorek se posílá na histologické vyšetření (Vorlíček et. al., 2012). Základní rozdělení lézí je pak na maligní, border-line a benigní kategorie. (Silverstein et. al., 2005).

Toto vyšetření je základní a nezbytné, jelikož bez jasného potvrzení zhoubného nádoru není lékař oprávněn k další onkologické léčbě. Pro volbu hormonálních manipulací je třeba zhodnotit také menopauzální stav. Za postmenopauzální pacientku je brána také žena po bilaterální adnexetomii starší 60 let či žena s amenorheou delší než 12 měsíců, kdy ke vzniku mohla přispět chemoterapie či jiné hormonální manipulace. Pacientka má právo znát typ svého nádoru i stav receptorů, případně i stav vyšetření HER2-Neu stejně jako stádium svého onemocnění. Po zjištění a potvrzení diagnózy karcinomu prsu je třeba provést další vyšetření, která určí, zda se onemocnění nerozšířilo mimo prs. Tento postup vede k určení tzv. stádia onemocnění a jeho cílem je stanovit celkový rozsah onemocnění. V procesu rozhodování o léčbě je nutné též zahrnout již zmíněné znaky na nádorových buňkách. (Novotný et. al., 2016; Abrahámová, 2019).

4 Zobrazovací metody

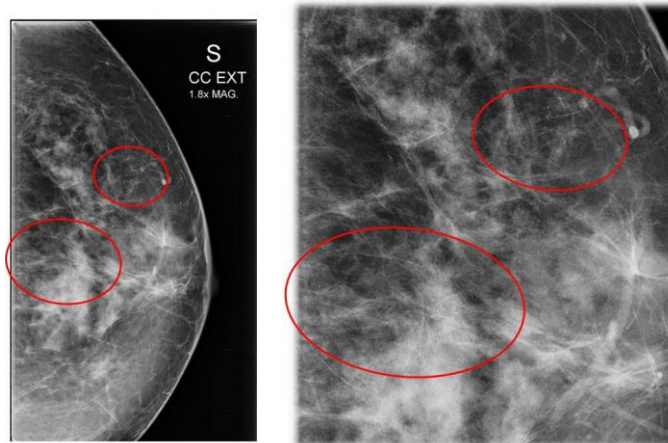
Vyšetření zahrnují především zobrazovací metody jako:

1) Bilaterální mamografie

Mamografie je základní vyšetřovací metoda pro zjišťování zhoubného nádoru prsu, jehož výsledkem je mamogram – rentgenový snímek prsní žlázy. V dnešní době máme k dispozici kvalitní vyšetřovací techniku, která disponuje nízkou radiační zátěží a přináší přesnější výsledky. Jde o bezbolestné vyšetření, které provádí speciálně školený rentgenologický laborant. Na pořízeném snímku lze detekovat jednak normální tkáň prsní žlázy, ale i přítomnost mikrokalcifikací (Obrázek 3) (Holánek, 2017).

Tento výskyt je přítomen přibližně u 50-60% případů a incidence u benigní léze je přibližně 20%. Je nutno mít na paměti, že negativní mamogram nevylučuje možnost výskytu nádoru, jelikož zhruba 20% hmatatelných karcinomů nejsou touto technikou vůbec detekovatelné a je poté zapotřebí diagnózu potvrdit jinými metodami. (Goldblum et. al., 2018). Snímky pak hodnotí rentgenolog společně s onkologem a porovnávají je s klinickým nálezem (Holánek, 2017).

Programy screeningu nádoru prsu (BCS) prostřednictvím mamografie se často zavádějí ve snaze snížit úmrtnost. Avšak pouze polovina programů BCS v Evropské unii dosáhla měřítka přijatelné účasti vyšší než 70% (Mandrik et.al, 2019).



Obrázek 3: Mamogram zobrazující několik ohnisek bilaterálních mikrokalcifikací

Zdroj: <https://radiopaedia.org/cases/missed-dcis-microcalcifications>

2) Ultrazvuk prsů a spádových uzlin

Neagresivní zobrazovací metoda vhodná pro první posouzení onemocnění. Přesně diagnostikuje zhoubné a nezhooubné změny tkání, které se zobrazí na monitoru (Kolak et. al., 2014).

3) Počítačová tomografie (CT)

Nejmodernější zobrazovací metoda s vysokou přesností lokalizace nádoru při podezření na vzdálené metastázy. Trojrozměrné rentgenové snímky pořízené počítačovým tomografem upřesňují velikost a polohu již zjištěných nádorových změn jinými metodami. Nevýhodou však je, že vystavuje pacienta významné dávce ionizujícího záření. (Friedrich et. al., 2017).

4) Magnetická rezonance (MR)

Vyšetření prsní žlázy pomocí MR je neinvazivní a bezpečné (bez rentgenového záření). Většinou doplňuje mamografii zvýšením detekce maligních lézí, avšak neumožňuje ji vždy rozlišit od benigní léze (např. fibroadenom), což může vést k falešně pozitivním výsledkům. MR je však invazivnější vyšetření ve srovnání s mamografií, jelikož se provádí pomocí intravenózního kontrastního činidla. Velkou výhodou je přesné zobrazení měkkých tkání, které nelze vyhodnotit jinými metodami. Citlivost MR detekovat nádory činí 88,1%. Nevýhodou této metody je vysoká cena vyšetření a není k dispozici v každém lékařském centru (Kolak et. al., 2014).

5) Pozitronová emisní tomografie (PET)

Spojení nukleární medicíny a rentgenu, které umožňuje zobrazení tělesných struktur. Při tomto vyšetření se běžně používá radioaktivním fluorem značená glukóza k detekci maligních a metastatických lézí, zejména u solidních nádorů. Metoda však bývá nákladná a s její pomocí nebývají získávané doplňující informace pacientce užitečné (Kolak et. al., 2014; Friedrich et. al., 2017).

6) Scintigrafie skeletu

Jde o metodu nukleární medicíny, která se využívá k vyloučení patologických změn v kostech a to především v případě většího rozsahu primárního nádoru v prsu nebo spádových lymfatických uzlinách (Holánek, 2017).

7) Biochemické a hematologické vyšetření

Kontrolují se hladiny markerů (Ca15-3 a CEA). Jejich zvýšená hladina zpravidla koreluje s pokročilostí primárního nádoru.

8) Molekulárně biologické vyšetření

Standardní vyšetření ER a PR. Při pozitivní rodinné anamnéze je nezbytné určení mutace genů BRCA-1 a BRCA-2. Aktivitu proliferace nádoru značí zvýšená exprese HER2-Neu. Růstový podíl určuje poměr imunohistochemicky detekovaných pozitivních buněk Ki-67 k celkovému počtu buněk (Šlampa, Peterka, 2007).

Ke screeningu metastáz je třeba přistupovat uvážlivě a rezervovat jej pro pacientky, jejichž onemocnění má vyšší riziko diseminace. V těchto případech se používá přednostně CT hrudníku a břicha, popřípadě mozku. Pokud lékař pojme podezření na zhoubný nádor, je nutné provést histologické ověření podezřelé tkáně, jež se odebere biopsií z prsu. Získaný vzorek vyšetřuje mikroskopicky patolog, přičemž určí typ nádoru, velikost, agresivitu, popřípadě i některé molekulární charakteristiky nádoru, které lze využít i při volbě terapie (především hormonální receptory, onkogen HER2-Neu a Ki-67) (Novotný et. al., 2016 ; Abrahámová, 2019).

5 Rizikové faktory

V průběhu výzkumu karcinomu prsu byla stanovena řada rizikových faktorů pro vedoucích k jeho rozvoji. Zahrnují především genetické, hormonální a nutriční příčiny. Riziko zvyšují vyšší tělesná hmotnost s nedostatečnou pohybovou aktivitou, genetická predispozice v rodině (spadají sem i zhoubné novotvary lymfatických uzlin), alkoholismus, cigaretový tabák (nikotin byl však prokázán jako antiestrogenní a má potenciální ochranný faktor), brzká menarche většinou před 12. rokem věku, pozdní menopauza či těhotenství v pozdním věku. Ovšem snížené riziko bylo prokázáno u premenopauzálních žen, u kterých se projevila laktace. Delší doba kojení a větší počet těhotenství tak bývají označovány jako ochranné faktory.

U nevhodné stravy zvyšující možnost vzniku karcinomu prsní žlázy představují základní rizikovou složku transmastné kyseliny, jejichž škodlivý vliv je ovlivňován poruchami metabolických procesů a signálních drah. Ochranný charakter mají naopak omega-3 mastné kyseliny, beta-karoten a vitamin A.

Země původu má též vliv na vysoké riziko a postihuje zejména populace v Severní Americe, Evropě a Austrálii, naopak nízké riziko vykazují jižní a východní Asie (Japonsko) a Afrika (Tavassoli, Devilee, 2003; Kolak et. al., 2017).

Zdvojené riziko bylo pozorováno i u žen, jenž byly v dětském věku v kontaktu s ionizujícím zářením (např. konec druhé světové války v Japonsku). V období vývoje mléčné žlázy může mít ozáření za následek nejen hypoplazii, ale i zvýšené riziko vzniku karcinomu v pozdějším věku (Vorlíček et. al., 2012).

5.1 Geneticky podmíněný karcinom prsu

Nezanedbatelnou skupinu vedoucí ke vzniku karcinomu prsu tvoří dědičné genetické vady (tzv. hereditární), které se vyvinuly na základě mutace tumor supresorových genů BRCA-1 a BRCA-2 s autosomálně dominantní dědičností. Míra rizika vzniku karcinomu prsu u žen nesoucích mutaci BRCA-1 je velmi vysoká a představuje 56–85% riziko vzniku onemocnění. Gen BRCA-2 je lokalizován na dlouhém raménku 13. chromozomu. V rodině se tak mohou současně s karcinomem prsu vyskytovat další karcinomy např. ovariální, kolorektální, karcinom prostaty, pankreatu nebo žaludku. Hereditární karcinom prsu je často oboustranný a typicky postihuje ženy mladší 35 let. Riziko je tedy vyšší u

žen v příbuzenské linii, ať již horizontální či vertikální (matka, sestra, dcera) (Vorlíček et. al., 2012; Šlampa, Peterka, 2007).

Na základě mutací těchto genů vzniká karcinom prsu v 5-10% z celkového výskytu na světě. S jejich nosičstvím je spojeno zvýšené riziko vzniku (45-85%) u každé postižené ženy. U mužů s mutací v genu BRCA1 je riziko kolem 3% a v genu BRCA2 kolem 6%. Riziko vývoje bilaterálního karcinomu na podkladě genetické predispozice je u žen přibližně 40-60% (Novotný et. al., 2016). Imunohistochemicky nalézáme u 80% karcinomů s BRCA-1 tzv. triple negativní karcinom prsu (TNBC), který ve svém imunohistochemickém profilu vykazuje negativitu na estrogenové receptory (ER), progesteronové receptory (PR) i na receptor HER2-Neu (Zimovjanová, 2013).

Prognóza pacientek, u nichž se vyskytuje karcinom prsu s mutací v genech BRCA1 a BRCA2, se může odlišovat od prognózy pacientek se sporadickým karcinomem s ohledem na možnosti systémové terapie a zvýšené riziko vzniku dalšího onkologického onemocnění (Prausová, 2010).

5.2 *Hormonální faktory*

Dalším významným faktorem je silná stimulace uměle podávanými estrogeny a progesterony (Goldblum et. al., 2018).

Tyto exogenně podávané hormony dělíme do dvou skupin: perorální antikoncepční prostředky a menopauzální substituční terapie. Obě skupiny vykazují zvýšené riziko při dlouhodobém užívání. Zde je však potřeba zmínit, že nadměrná substituce estrogeny sice riziko vzniku karcinomu prsu zvyšuje, avšak vyšší hladiny gestagenů toto riziko naopak snižují (Tavassoli, Devilee, 2003).

6 Prognóza

Léčba maligního nádoru prsu se řídí především klinickým stagingem a TNM stagingem, které jsou založeny na velikosti primárního nádoru a stupni metastazování do regionálních lymfatických uzlin a krevního oběhu. Prognóza karcinomu prsu se může lišit podle obvyklých charakteristik v patologickém typu nebo klinickém stádiu. Léčba se také liší v závislosti na molekulárních charakteristikách samotné malignity, a proto jsou různé molekulární podtypy spojeny s různými prognózami.

S novým pokrokem v molekulární medicíně se uvádí, že patologický staging ne vždy vyhovuje potřebám moderní diagnostiky. Jiné zdroje zase tvrdí, že výsledky metod genetického testování malignit prsu jsou neprůkazné. Histomorfologické znaky nádorů jsou však nadále pro patologickou diagnostiku zlatým standardem a základem klinické léčby.

K důležitým prognostickým faktorům dále řadíme:

- Přítomnost nebo absence invazivity
- Nekróza tumoru
- Metastázy v lymfatických uzlinách
- Buněčná proliferace
- Akumulace proteinu p53
- Úroveň E-cadherinu (Goldblum et. al., 2018).

Nádory prsu obvykle rozdělujeme do čtyř podtypů podle molekulárních a imunohistochemických ukazatelů běžně používaných v klinické praxi:

- 1) Nadměrná exprese HER-2/Neu
- 2) Luminální A (ER pozitivní a PR pozitivní, HER2 negativní)
- 3) Luminální B (ER pozitivní, PR negativní a HER2 pozitivní)
- 4) Bazální podtypy (ER negativní, PR negativní a HER2 negativní)

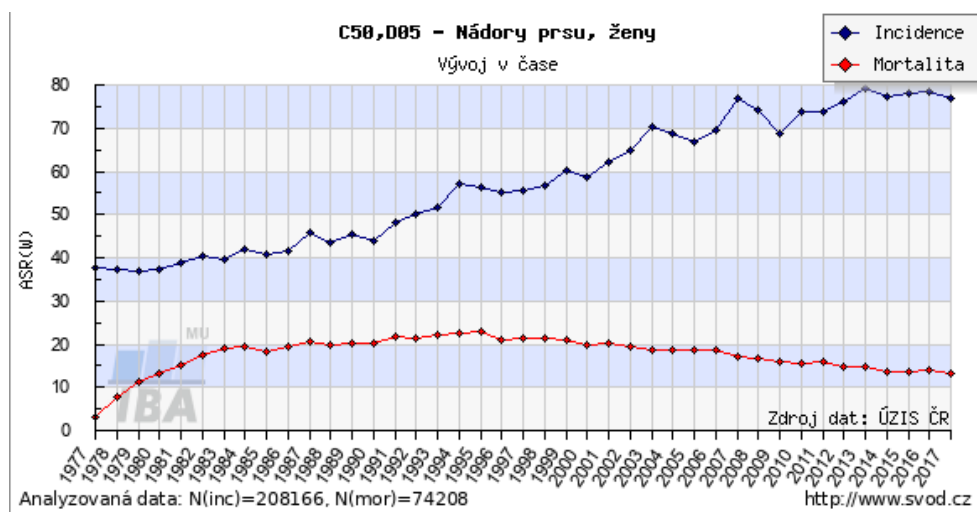
Tento systém dělení se postupem času ukázal být zbytečně popisný, proto došlo v nedávné době k jeho zjednodušení. Z terapeutického hlediska je důležité posouzení exprese hormonálních receptorů (ER a PR) a HER2:

- 1) Luminální (hormonálně dependentní) karcinomy
- 2) HER2 pozitivní karcinomy
- 3) Triple (trojitě) negativní karcinomy

Důležitý krok při léčbě nádoru spočívá v omezení vzdálených metastáz, které souvisí s molekulárním typizováním. Některé studie odhalily, že míra vzdálených metastáz u pacientů s nádorem prsu HER-2/Neu byla významně vyšší ve srovnání s jinými podtypy. Molekulární typizace karcinomu prsu nese velký význam v prognóze a možnostech léčby dostupných pro pacienty, a to především zaměřenou proti nadměrně exprimovanému onkogenu HER-2. (Wang et. al., 2012; Goldblum et. al., 2018, Zámečník, 2019).

Karcinom prsu je nejčastějším zhoubným novotvarem u žen. Každoročně jsou po celém světě diagnostikovány více než 2 miliony nových případů a každý rok na toto onemocnění zemře více než 600 tisíc žen. Dle nejnovějších studií nádory prsu u žen představují 15,2% všech nových případů nádorů v USA, kdy je mortalita nejvyšší u žen ve věku 65-74 let. Procento přežívajících žen 5 let po diagnostice činí 89,9% během let 2009-2015 (Female Breast Cancer, © 2016).

V ČR je každý rok nově diagnostikováno okolo 7000 žen s tímto onemocněním a zhruba 1900 žen na něj zemře. Přibližně od poloviny 90. let lze pozorovat postupné zlepšování epidemiologické situace, především stabilizaci až mírně klesající mortalitu, avšak incidence setrvale roste. Nádory prsu u žen v ČR představovaly kolem 18,0% nových případů. Typický věk české pacientky s karcinomem prsu se sice uvádí mezi 60–69 lety věku, avšak téměř 36 % všech nemocných je mladších než 60 let (Mamo.cz, © 2019).



Obrázek 4: Incidence a mortalita nádoru prsu v ČR

Zdroj: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/onkologicke-diagnozy/nadory-prsu-c50/0-nadorech-prsu/>

7 Prevence

Základním prvkem moderní medicíny je vést multidisciplinární výzkum orientován ke zvyšování účinnosti prevence zdraví založených především na primární prevenci, modifikaci rizikových faktorů, včasnou detekci nemoci, rychlý začátek léčby (sekundární prevence), a stejně tak pozorování.

Hlavní cíl pak je snižovat neustále se zvyšující nemocnost, úmrtnost, a ekonomické náklady v důsledku malignit prsu (Kolak et. al., 2017).

7.1 *Primární prevence*

Tato prevence se zaměřuje na eliminaci příčin vedoucích k výskytu nemoci a zvýšení nebo posílení imunitního systému v populaci. Byla analyzována řada výzkumů týkajících se vlivu stravy a fyzické aktivity na vývoji zhoubného nádoru, což potvrdilo, že mezi nimi existuje souvislost. Podle doporučení je zdravá strava v prevenci vzniku nádoru taková, která pomáhá udržovat správnou tělesnou hmotnost, je bohatá na ovoce, zeleninu, obiloviny a luštěniny, obsahuje málo červeného masa a málo soli. Mimoto se vyznačuje tím, že se vyhýbá sladkým nápojům a snižuje i spotřebu alkoholických nápojů. Dále se doporučuje nekouřit a snížit tělesnou hmotnost prostřednictvím fyzických aktivit (Kolak et. al., 2017).

7.2 *Sekundární prevence*

7.2.1 **Mamografický screening**

Ženy mezi 20. – 45. rokem života by měly být vyšetřeny jednou ročně gynekologem při preventivní gynekologické prohlídce. Od 45 let života by pak měly navíc absolvovat každé dva roky mamografické vyšetření.

Vyšetření v tomto rozsahu hradí zdravotní pojišťovny a provádějí je screeningová pracoviště. K vyšetření je nutná žádanka od praktického lékaře či gynekologa (Masarykův onkologický ústav, © 2020).

7.2.2 **Samovyšetření prsu**

Takto aplikovaná metoda sice není dostačující, ale je stále důležitým prvkem při včasném odhalení nádoru. Metoda nevyžaduje jakékoliv složitosti a může být prováděné

v domácím prostředí. Umožňuje ženě dozvědět se o správné struktuře prsu, která pomáhá později odhalit atypické léze ve tkáni mléčné žlázy. Provádět vlastní vyšetření prsu by měla každá žena starší 20 let alespoň jednou měsíčně, nejlépe první den po ukončení menstruace. Rovněž postmenopauzální ženy by měly vyšetřovat svá prsa jednou za měsíc a to nejlépe stejný den každý měsíc. Citlivost provádění vyšetření je nízká (12–14%). Nevýhodou je také vysoký index falešně pozitivních výsledků, proto by měla být tato metoda vždy doplněna objektivním zobrazovacím vyšetřením. (Kolak et. al., 2017).

7.3 Terciární prevence

Jedná se především o předcházení následkům nemoci. Pokud měla žena zhoubný nádor v jednom prsu, má zvýšené riziko vzniku nádoru i ve druhém prsu. Ukončením samotného terapeutického procesu návštěvy u onkologa pro ženu zcela nekončí, proto bývá pravidelně zvána ke kontrolám (je dispenzarizována), při kterých je lékařem klinicky vyšetřena. Opakovaně se provádí mamografie, scintigrafie skeletu a laboratorní rozbor krve a moči. Po léčbě se totiž mohou vyskytnout nežádoucí změny, které je potřeba včas odhalit a zahájit příčinnou léčbu. Může se jednat o bolestivost prsu, hubnutí, ztrátu chuti k jídlu, nepravidelnou stolici či ztrátu menstruačního cyklu, pokud zůstal zachován. Je také důležité, aby si žena prováděla již zmíněné pravidelné samovyšetřování. V neposlední řadě také existuje několik občanských sdružení soustředěných na onemocnění prsu, jež si kladou za cíl sociální a psychickou podporu těchto žen (např. společnost Arcus, mamma HELP, Aliance žen s rakovinou prsu, Onko-amazonky aj.) (Abrahámová, 2009).

8 Terapie

V současnosti je karcinom prsu považován za systémové onemocnění, a pokud je zachyceno v časném stádiu, může být lokální léčba za určitých podmínek zcela dostačující. Léčebný postup je odvislý nejen od již zmiňovaných prognostických faktorů, ale také od odhadu rizika rozvoje onemocnění ještě než skutečně propukne. (Vorlíček et al., 2012)

8.1 Chirurgický výkon

Operační výkon je ve většině případů prvním krokem v léčbě karcinomu prsu. V této fázi je třeba rozhodnout, zda je možné provést zachovný výkon nebo zda je nutné odstranění celého prsu. Při chirurgickém zákroku je vždy nezbytné mikroskopické zhodnocení chirurgických okrajů, které je zvláště obtížné u in situ nádorů, a vyšetření spádových lymfatických uzlin obzvláště tzv. sentinelových (Silverstein et. al., 2005; Goldblum et. al., 2018).

V rámci chirurgického řešení připadá v úvahu několik možných postupů:

1) Parciální mastektomie (částečné odstranění prsu). Při výkonu je odstraněno nádorové ložisko s lemem zdravé tkáně, zbytek prsní žlázy je ponechán. Tento typ má dvě modifikace:

a) lumpektomie, kdy se odstraňuje pouze samotné ložisko s bezpečným lemem

b) kvadrantektomie, kdy je odstraněn celý příslušný kvadrant prsu (Silverstein et. al., 2005; Holánek, 2017).

2) Totální mastektomie (odstranění celého prsu). Není zde proveden výkon na spádových lymfatických uzlinách (Holánek, 2017).

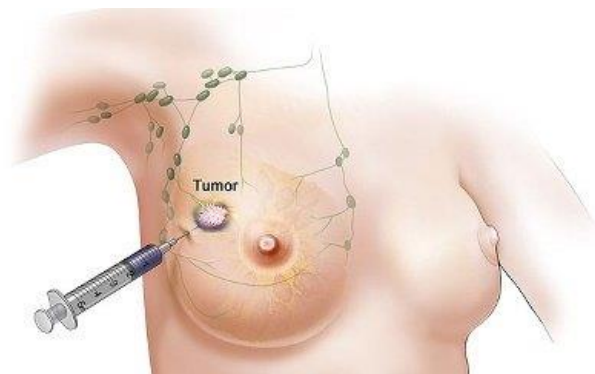
3) Radikální modifikovaná mastektomie. Odstraňuje se kůže prsu včetně bradavky a dvorce, malého prsního svalu, podpažních lymfatických uzlin a veškeré tkáně prsu

4) Radikální mastektomie. Představuje již velmi málo používanou metodu, při které se odstraňuje také velký prsní sval. (Vorlíček et. al., 2012)

8.1.1 Sentinelová uzlina

V lidské onkopatologii snad neexistuje nádor, který by byl více spojován s vyšetřením tzv. sentinelových uzlin, než právě karcinom prsu. Jelikož spádové mízní uzliny prsu jsou relativně neměnné a poměrně dobře přístupné případnému operačnímu řešení, je nutné zjistit, zda nejsou postiženy lymfogenním šířením. Sentinelová uzlina představuje první uzlinu v cestě lymfy směrem od nádoru. Jako taková má velkou diagnostickou hodnotu, a proto je kladen značný důraz na její nalezení i následné pečlivé histopatologické vyšetření. Základní předpoklad vychází z dlouhodobých retrospektivních pozorování. Je-li sentinelová uzlina postižena nádorem, je velká pravděpodobnost, že budou lymfogenní metastázy i v dalších spádových uzlinách. Naopak vyjde-li vyšetření negativní, je vysoká šance, že se primární tumor prozatím nerozšířil do dalších uzlin, ani nevytvořil distanční metastázy. Toto vyšetření má obrovskou váhu pro následné chirurgické řešení a v nemalé míře tak ovlivňuje i budoucí život pacientky. Ta může být ušetřena tzv. axilární disekce, kdy jsou odstraněny všechny lymfatické uzliny ve spádové oblasti. Jelikož byl tento výkon v minulosti prováděn u všech případů karcinomu prsu, jsou dnes poměrně dobře známy následky tohoto postupu, kdy zejména dominoval masivní otok horní končetiny na straně provedené axilární disekce.

Lokalizace sentinelové uzliny se provádí pomocí speciální látky (radioizotop, barvivo či kombinace obojího) aplikované do okolí nádorového ložiska v prsu, odkud se lymfatickými cestami dostává do příslušných lymfatických uzlin (Masarykův onkologický ústav, © 2020; Holánek, 2017). Za sentinelovou se pak považuje ta uzlina, která látku nejvíce akumuluje. Biopsie této uzliny se jeví jako osvědčený postup a je nezbytná pro patologický staging všech pacientek s invazivním karcinodem prsu. Toto vyšetření vždy předchází samotnému výkonu na prsu, čímž zlepšuje kvalitu jejich života bez výrazných pooperačních komplikací. (Silverstein et. al., 2005).



Obrázek 5: Biopsie sentinelové uzliny

Zdroj: <https://cs.assuta.clinic/otdeleniya/ginekologiya/biopsiya-molochnoy-zhelezy/trepan-biopsiia>

8.2 Radioterapie

Často se používá jako pooperační doplněk (adjuvantní terapie), někdy jako primární léčba pro kontrolu lokálně recidivujícího onemocnění. Má za cíl odstranit zbylé nádorové buňky. Provádí se v místě ponechané části prsu, podpaží, nadklíčku nebo v oblasti jizvy. V případě rozsáhlého původního nádoru se může provést předoperační ozáření prsu (neoadjuvantní terapie) s cílem jej zmenšit a poté operačně odstranit. Zařazení radioterapie je závislé na rizikovém stupni regionální nebo lokální recidivy a diseminace onemocnění (velký počet pozitivních uzlin získaných biopsií). Významnější přínos byl zaznamenán při ozáření hrudní stěny u časných tumorů a u negativních lymfatických uzlin. (Vorlíček et. al., 2012; Goldblum et. al., 2018; Šlampa, Peterka, 2007)

8.3 Chemoterapie

Zahrnuje systémovou aplikaci (ve většině případů nitrožilní) protinádorových léků (cytostatik), které ničí nádorové buňky v organismu. Aplikuje se předoperačně pro zmenšení nádoru (terapie neadjuvantní) nebo pooperačně pro zajištění úspěchu léčby (terapie adjuvantní), avšak není podávána vždy po provedení operačního výkonu, jelikož o vhodnosti podání se rozhoduje na základě definitivního histologického vyšetření, konkrétním typu karcinomu prsu a riziku relapsu onemocnění. Časté bývá podezření na metastázy a výskyt nádorových buněk v lymfatických uzlinách. Terapie trvá 3-6 měsíců a podává se v intervalu 1-3 týdnů. Nežádoucí účinky chemoterapie bývají značně individuální, ale vždy je snaha je u pacientek co možná nejvíce zmírňovat (Friedrichs et.

al., 2017; Masarykův onkologický ústav, © 2020). Chemoterapie má významný vliv na přežití pacientů s metastatickým karcinomem, kdy byly nejlepší výsledky získány u kombinovaných režimů (Goldblum et. al., 2018).

8.4 *Hormonální terapie*

Nádory prsu bývají při svém růstu či přežití závislé na určitých hormonech. Terapie má za cíl vypnout signalizaci estrogenu v ER-pozitivních buňkách karcinomu prsu k zastavení proliferace buněk a navození buněčné smrti. Odstraněním tkáně produkující hormony tak mnohdy dochází ke zpomalení či úplné zástavě růstu nádoru a někdy i k jeho zmenšování. U žen před menopauzou se v některých případech provádí blokáda ovariální funkce, buď odstraněním vaječníků (ovariektomií), ozářením či chirurgickou kastrací. Často se používá v kombinaci s podáním látek působících proti daným hormonům (Kastnerová, 2016).

Nejznámější podávaný lék je tamoxifen, který vykazuje svůj cytotoxický účinek primárně prostřednictvím cytostázy, jež je spojena s akumulací buněk ve fázi G0/G1 buněčného cyklu. Tato léčba ovšem může vyvolat vedlejší účinky, jako jsou návaly horka a pocení, únava, bolestivost kloubů a změny nálady. V takovém případě je nezbytné léčbu přerušit či pozměnit (např. kombinace tamoxifenu s risperidonem) (Yeh et. al., 2014).

8.5 *Imunoterapie*

Tento typ léčby využívá pacientův vlastní imunitní systém stimulovaný k boji proti nádorovým buňkám pomocí modifikátorů biologické odpovědi (BRM). Mezi všeobecně známé BRM patří interferon (INF), interleukin-2 (IL-2) a colony stimulating factors (CSFs). Tyto proteiny mají za úkol aktivovat, modifikovat, posilovat či obnovovat imunitní systém a využívají se k cílené podpoře chemoterapie (Nezu, 2004).

Nasazení trastuzumabu, jakožto monoklonální protilátky, která se váže na extracelulární oblast receptoru HER2 a blokuje jeho aktivaci, je v kombinaci s chemoterapií doporučena pro pacientky s HER2-pozitivními nádory díky zřetelnému zlepšení prognózy a zpomalení metastazování (Goldblum et. al., 2018; Friedrich et. al., 2017).

9 Karcinom prsu

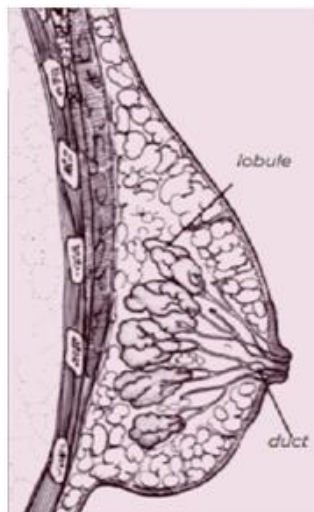
Karcinom prsu je jedním z nejčastějších lidských novotvarů na světě. Vyskytuje se především u žen kolem 50. let věku (Tavassoli, Devilee, 2003).

Nejběžnějším typem je invazivní duktální karcinom tvořící kolem 70% všech případů. Invazivní lobulární je zastoupen z 10-20% a ostatní méně obvyklé druhy tvoří dohromady asi 10% (Büchler, 2017)

Nejvyšší výskyt nádorů bývá v ekonomicky vyspělých zemích, kde incidence, včetně ČR, stoupá. Karcinom je charakterizován značnou genetickou vnímavostí. Použitím expresivních profilů cDNA by bylo možné předpovědět klinický výsledek u jednotlivých pacientů. Typizace invazivních karcinomů jsou z histologického pohledu lépe stanovitelné, avšak složitější bývají zejména neinvazivní prsní léze, které se v nynější době detekují pomocí mamografu (Tavassoli, Devilee, 2003). Organizace WHO tak zavedla opatření, která ženám nad 45 let poskytují odborné vyšetření za účelem prevence popřípadě včasného zachycení nádorového bujení.

Základem histopatologického vyšetření je stanovení správné morfologické diagnózy. Důležitou roli zde hraje typizace samotného nádoru, který označujeme jako benigní, maligní, in situ nebo invazivní karcinom, a také podle jeho velikosti a konkrétního histologického typu na duktální, lobulární nebo tubulární karcinom podle vývodových či sekrečních partií prsu, kde vznikají nejdříve jako carcinoma in situ (intraduktální karcinom, lobulární in situ karcinom) a posléze se mění v invazivní karcinom. Kromě šíření vertikálním růstem, může také invadovat povrchově ve vývodech. Zvláštním případem tohoto typu šíření je tzv. Pagetův karcinom, charakterizovaný šířením duktálního karcinomu epitelem vývodů až na bradavku (Stříteský, 2001).

Tento termín se používá v případě přítomnosti maligních glandulárních epitelálních buněk v dlaždicovém epitelu bradavky, téměř vždy ve spojení s podkladovým intraduktálním nebo infiltrujícím karcinomem. Obecně mají Pagetovy buňky stejný imunofenotyp jako základní karcinom (Bombardieri et. al., 2008).



Obrázek 6: Schéma abnormálního růstu buněk v prsních lalocích nebo v prsních kanálcích

Zdroj: https://ww5.komen.org/uploadedFiles/Content_Binaries/806-385.pdf

Nádor prsu může vycházet z různých částí prsu. Většina jich má původ v kanálcích, které vedou mléko do bradavky (duktální). Některé začínají v žlázách, které produkují mléko (lobulární). Karcinomy vznikají prvotně z epiteliálních buněk TDLJ nacházejících se právě v epitelu prsu. Mírně vyšší frekvence invazivního karcinomu je v levém prsu. Ve 40-50% se nádor vyskytuje v horním zevním kvadrantu prsu (Tavassoli, Devilee, 2003).

Pokud se u pacientky neobjevily metastázy, je velká naděje na úplné vyléčení. Mnohdy se spolu s ablací prsu provádí též exenterace axily. Karcinom totiž metastazuje nejprve lymfaticky (lymfogenně) do postranních hrudních a axilárních uzlin, později do uzlin nitrohručních, na pleuru či do perikardu. Ještě později pak metastazuje krevní cestou (hematogenně) různě po těle, hlavně do plic a kostí (páteř). Není proto neobvyklé, aby pacientka, která o nádoru zatím neví, vyhledala lékařskou pomoc prvotně kvůli bolestem zad, popřípadě kvůli patologické zlomenině obratle.

Jelikož je většina prsních lézí do jisté míry ovlivňována hladinami hormonů, může se měnit velikost hmatné léze v průběhu menstruačního cyklu. To platí zejména pro benigní léze charakteru fibrocystických nebo hyperplastických změn. (Bártová et.al., 2004).

9.1 Klasifikace nádorů

Klasifikace tumorózních lézí prsu vychází z jejich morfolgie. Bez řádného histopatologického vyšetření, není nikdy možné stanovit konkrétní diagnózu pouze na základě klinického vyšetření. Vzhledem k extrémní komplikovanosti a neustále se měnícím kategoriím tumorů prsu, zde budou zmíněny pouze ty nejzákladnější. Podrobnější klasifikace dalekosáhle přesahuje jak rozsah, tak i zaměření této bakalářské práce.

9.1.1 Staging

Staging (stádium) nádorů je posouzení rozsahu nádoru a je důležitým prognostickým ukazatelem. Provádí se vždy na začátku léčebného procesu. Nádorová onemocnění lze zařazovat podle pokročilosti a rozsahu do několika stádií. Na základě mezinárodních dohod se používá jednotná klasifikace, která umožňuje staging a přesný popis rozsahu onemocnění u většiny solidních nádorů. Tento způsob klasifikace se nazývá TNM a vychází ze tří proměnných: T (tumor), N (nodus) a M (metastáza) (Dylevský et. al., 2000).

T = rozsah primárního nádoru. Rozsah se opírá o klinické vyšetření a pomocná morfologická a zobrazovací vyšetření (např. histologie, ultrasonografie a další)

T0 - primární nádor nezjištěn,

TX - nelze stanovit

Tis – carcinoma in situ (neinfiltrující karcinom),

T1,2,3,4 - udává velikost (v cm) růstu a lokální šíření primárního nádoru,

N (noduli) = určuje rozsah postižení regionálních uzlin. Vždy je stanoveno, které uzliny jsou pro danou oblast regionální,

N0 – nejsou metastázy,

NX – nelze stanovit,

N1,2,3 - definuje rozsah postižení regionálních lymfatických uzlin,

M = určuje přítomnost či nepřítomnost vzdálených metastáz (mimo regionální uzliny)

M0 – žádné vzdálené metastázy nebyly zjištěny,

MX – nelze stanovit,

M1 – vzdálené metastázy přítomny (Petruželka, Konopásek, 2003).

Na základě stanovení stagingu dle kritérií TNM je onemocnění zařazeno do jednoho z 5 stádií s rozdílnou prognózou:

Stadium in situ (0):

Přítomnost neinvazivního nádoru (duktálního či lobulárního). Po čase však představuje vysoké riziko pro možný vznik invazivního zhoubného nádoru.

Stadium I:

Časné stadium invazivního karcinomu. Tumor je menší než 2 cm v průměru, bez postižení lymfatických uzlin v podpaží, bez metastáz.

Stadium II:

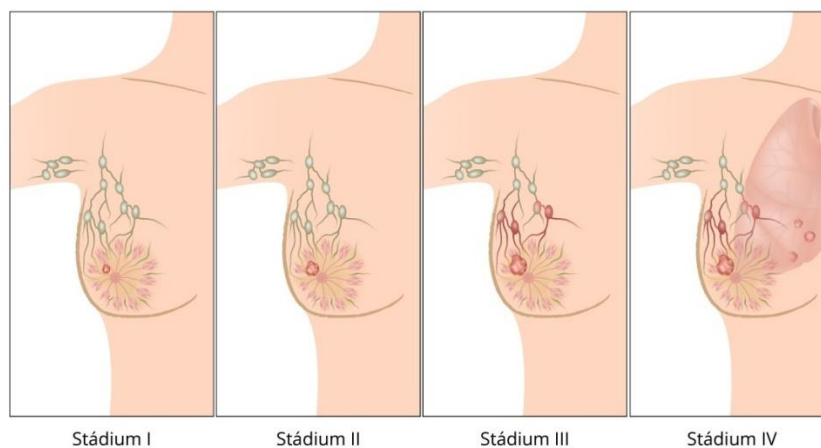
Velikost tumoru 2-5 cm. Podpažní uzliny mohou, ale nemusí být postiženy. Pokud jsou uzliny postiženy a nádor je menší než 2 cm, je stádium bráno stále jako II.

Stadium III:

Tumor je větší než 5 cm. Jsou postiženy podpažní uzliny a nádor může prorůstat i do prsního svalu, bez metastáz.

Stadium IV:

Objevení metastatického ložiska kdekoliv v těle, bez závislosti na velikosti tumoru nebo postižení uzlin.



- I. Drobné ložisko v místě, nešíří se do okolí, není nálezný v uzlinách.
- II. Ložisko do dvou cm, zasažení ne více než 3 podpažních uzlin.
Nebo ložisko od 2–5cm bez zasažení uzlin.
- III. Nádor je větší než 5 cm.
Nádor je větší než 5 cm a jsou zasaženy 1–3 uzliny podpaží.
Nádor je menší než 5 cm a jsou zasaženy 4–9 uzlin.
- IV. Vzdálené metastázy do orgánů, prorůstání primárního nádoru do okolí.

Obrázek 7: Stádia nádoru prsu

Zdroj: <https://www.symptomy.cz/nemoc/rakovina-prsu>

Čím vyšší je stadium, tím je vyšší pravděpodobnost metastazování. Dále je při rozhodování léčby nutné zvážit agresivitu nádoru, přítomnost či nepřítomnost

hormonálních receptorů na nádorových buňkách a množství proteinu HER-2, produkovaného nádorovými buňkami. Nezanedbatelný je také fyzický stav pacientky a její klimakterický stav (zda je před či po menopauze). Ke zjištění rozsahu onemocnění se provádí nezbytná vyšetření jako rentgen plic, scintigrafie skeletu a ultrazvukové vyšetření jater. Tím se sice zjistí předběžný klinický stav, avšak reálné stanovení stádia je možné až po vyhodnocení výsledků patologem a jejich korelaci s dostupnými klinickými daty (Petráková, 2006).

9.1.2 Grading

Grading neboli stupeň vyžívání nádoru je hodnocení invazivních karcinomů bez ohledu na jejich typ. Je rutinně odstupňovaným základem při hodnocení jaderného pleomorfismu žlázy a mitotické aktivity. Jde o velmi silný prognostický faktor a je zahrnut jako součást minimálního souboru údajů pro histologické hlášení karcinomu prsu. Mnoho studií prokázalo významnou souvislost mezi histologickým stupněm a přežitím u invazivního karcinomu prsu (Lakhani et. al., 2012). Pro histologické stupňování je v Evropě nejběžněji používaná kombinovaná metoda klasifikace Elstona a Elise, kolegů z anglického Nottinghamu, která je úpravou klasifikačního systému původně vyvinutého Scarffem, Bloomem a Richardsonem (Bombardieri et. al., 2008).

O nádorových buňkách hovoříme jako o diferenciovaných, jestliže se podobají fyziologicky zdravým protějškům. Buňky, které nevykazují podobnost, nazýváme nediferenciované. Nádory s vyšším stupněm bujení rychle rostou, jsou agresivní a nediferenciované (Nezu, 2004).

Histopatologický grading (G):

GX – grade nelze stanovit,

G1 – dobře diferenciovaný,

G2 – středně diferenciovaný,

G3 – málo diferenciovaný,

G4 – nediferenciovaný (=anaplastický) (Petruželka, Konopásek, 2003).

9.1.3 MKN-O (Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii)

Představuje kombinovanou klasifikace podle typingu, stagingu a gradingu příslušného nádoru. Každý pravý nádor je dle dělení histologického typu označen číselným kódem v rozsahu M-8000 až M-9999. Za kód se píše zlomek a dvojčíslí, jehož první číslice charakterizuje biologické vlastnosti, druhé číslo vyjadřuje stupeň diferenciacie, tedy podobnost s původní tkání, ze které nádor vznikl (Kasnterová, 2016).

9.1.4 Nádorové markery

Představují látky, nejčastěji proteiny, jež jsou produkovány nádorovými buňkami. Ty dále přecházejí do tělních tekutin jako krevní sérum nebo moč, kde je lze prokázat. Detekce je založena na přítomnosti nádorových antigenů, hormonů či enzymů. Někdy však mohou nádory tvořené dediferencovanými buňkami ztratit schopnost tvořit tyto markery (Kasnterová, 2016). Sledování nádorových markerů je zcela nezbytnou součástí nejen prvotní diagnostiky, ale také zejména následné dispenzární péče o pacientku. Pokud by jejich hladina začala stoupat, může to znamenat návrat (rekurenci) původní nemoci (Petráková, 2006).

9.2 Benigní nádory

Jedná se o nádory s omezeným potenciálem růstu, kdy zůstávají na svém místě (nemetastazují) a nemají obvykle větší negativní účinek na organismus (Vorlíček et. al., 2012). Příkladem bývají především epitelové nádory, např. intraduktální papilomy a adenomy, ty mohou být tubulární, pleomorfní, apokrinní a laktační. Obzvláště častý bývá fibroadenom, pro který stejně jako tzv. fyloidní nádor je prekurzorovou buňkou specializovaná buňka stromatu. Růstové faktory stromálních buněk mají vliv na nenádorovou epitelovou komponentu, která proliferuje. Problematika benigních mezenchymových nádorů v prsu je obdobná jako v jiných lokalizacích. Dále se můžeme setkat s různými potenciálně nejčastějšími druhy jako např. lipom, angiolipom, fibrom, neurofibrom, schwannom, myofibroblastom, leiomyom, hemangiom a hemangiopericytom (Povýšil, Šteiner, 2007).

9.2.1 Fibroadenom

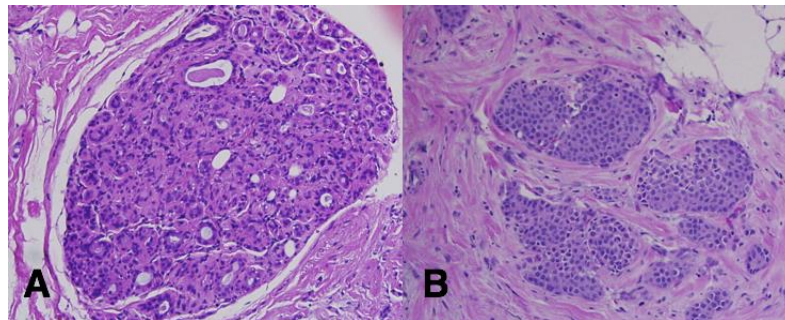
Některé fibroadenomy patří mezi hyperplazie a jde o polyklonální léze (nikoliv nádorové, monoklonální). Ostatní patří k benigním nádorovým proliferacím. Bývají časté u žen do 30 let věku. Rostou jako dobře ohraničená, hmatná a často opouzdřená tuhá ložiska, jež jsou uložena nejčastěji v horním zevním kvadrantu prsu (Mačák, Mačáková 2004).

9.2.2 Fyloidní nádor

Je velmi zřídka se vyskytující nádor prsu zachycen pouze v 1 % případů všech nádorů prsu. Vychází z intralobulárního stromatu. Rozsah může být od několika milimetrů až do velikosti celého prsu. Histologicky připomínají fibroadenom. Nejdůležitějším znakem pro odlišení od fibroadenomu je zmnožené a vysoce celulární stroma, které může mít i maligní charakter ve smyslu sarkomu. Dukty jsou štěrbinovitě stlačené a vazivo výrazně buněčné, jádra stromálních buněk jsou zvětšená a hyperchromií. Většina nádorů patří k nízké maligním, mohou tedy recidivovat, ale netvoří vzdálené metastázy. Vysoce maligní léze se objevují jen zřídka, ty ovšem recidivují a vytváří vzdálené metastázy. Histologicky připomínají sarkom a mohou zde být i struktury připomínající rhabdomyosarkom. Diagnostika fyloidního tumoru může být obtížná vzhledem k malému počtu případů. Léčba je vždy chirurgická (Mačák, Mačáková, 2004; TA ČR Starfos, © 2015).

9.3 Maligní nádory neinvazivní (*In situ*)

In situ nebo „na svém původním místě“ znamená, že karcinomy jsou lokalizovány v místě svého původu (např. ve sliznici daného orgánu), avšak nemají schopnost metastazovat do okolí. Jejich hlavní nebezpečí se zakládá na vzniku lokální recidivy. Pro maligní léze *in situ* vycházející z epitelální tkáně je zcela charakteristické, že neporušují bazální membránu. Není u nich však vyloučeno, že se nemohou stát skutečně maligními nádory se schopností hluboké invaze a/nebo zakládání vzdálených metastáz. (Ryška, 2010)



Obrázek 8: Histologie zobrazující (A) DCIS a (B) LCIS, oba vykazující známky maligních buněk, které zůstávají uvnitř membrán

Zdroj: <https://teachmesurgery.com/breast/malignant-disease/breast-carcinoma-in-situ/>

9.3.1 Duktální karcinom *in situ* (DCIS)

DCIS je velmi častá forma karcinomu prsu, kdy jsou nádorové buňky přítomny v mlékovodech (duktech), ale ještě nestačily proniknout do okolní tkáně prsu. Jedná se o heterogenní skupinu nádorů, různého biologického chování, což ztěžuje vytvoření jednotného terapeutického schématu. Při jeho dělení existuje také více klasifikací DCIS, které se liší vlastní patologicko-anatomickou charakteristikou a rozlišuje se na komedonový, nekomedonový, kribriformní, mikropapilární, papilární a solidní typy DCIS. Nejčastěji je morfologická klasifikace kombinována s klasifikací dle Hollanda, která dělí DCIS na dobře, středně a málo diferencovaný DCIS. Z charakteristiky již vyplývá přepokládané chování nádoru.

- **dobře diferencovaný** je tvořen malými uniformními buňkami vytvářejícími mikropapily a kribriformní struktury uvnitř ductu, jádra jsou malá, bez výrazných jadérek, mitotická aktivita není výrazná

- **středně diferencovaný** je tvořen obdobnými buňkami jako předchozí typ, vytváří však kromě mikropapilárních a kribriformních struktur také solidní partie, v některých vývodech může být patrná intraluminální nekróza

- **málo diferencovaný** sestává z výrazně atypických buněk s vysokou mitotickou aktivitou, hojnými intraluminálními nekrózami, jádra jsou hyperchromní s více jádérky

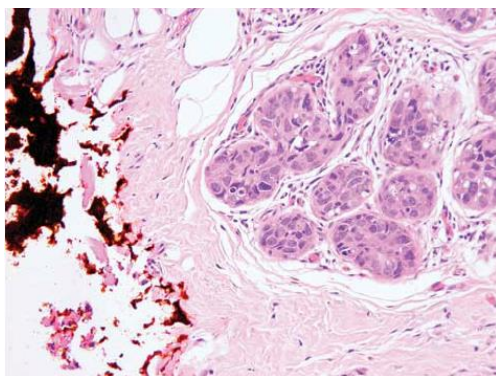
Dalším novým dělením DCIS je na high-grade a non-high grade tumory. Non-high grade tumory se ještě dále rozdělují na nádory s nekrózou a bez nekrózy.

Ve všech případech DCIS představuje intraduktálně proliferující epitelovou lézi, s výraznější mitotickou aktivitou, buněčnými atypiiemi, s nápadnými jádérky a polymorfními jádry (Gatěk, 2010).

DCIS je velmi dobře léčitelný, protože nedošlo k invazi ani šíření. Na mamogramu vypadá jako malé shluky abnormální depozity vápníku zvané mikrokalifikace, které jsou vidět již dříve předtím, než je cítit bulka (Povýšil, Šteiner, 2007).

Vzhledem ke zvláštnosti těchto vápenatých usazenin je mamografie nejcitlivější technikou pro zobrazení DCIS. S příchodem mamografického screeningu vzrostlo procento diagnostikovaných karcinomů prsu DCIS z přibližně 1% na 15–25%. V současné době je možné pomocí nejmodernějších zařízení (CT, MR), která umožňují aplikovat tloušťku řezu 1 nebo 2 mm, odhalit menší intraduktální rozšíření (Bombardieri et. al., 2008).

I když samotný DCIS je neinvazivní, přibližně u 40% pacientů s DCIS léčených samotnou biopsií, bez úplné excize nebo další terapie, se vyvine invazivní karcinom. Standardní terapií DCIS je tedy chirurgické řešení následované případnou radiační terapií. Hormonální terapie tamoxifenem (a někdy i jinými látkami) se stala běžnou součástí terapií DCIS a invazivních karcinomů pozitivních na hormonální receptory (Boughey et. al., 2007).



Obrázek 9: Dobře diferenciováný duktální karcinom in situ (DCIS)

Zdroj: https://www.researchgate.net/figure/High-grade-ductal-carcinoma-in-situ-DCIS-seen-as-cancerization-of-lobules-present-less_fig1_43772153

9.3.2 Lobulární karcinom in situ (LCIS)

LCIS je druhá nejčastější nádorová proliferace malých a často málo soudržných buněk s uniformními jádry v terminální duktulo-lobulární oblasti mléčné žlázy na konci prsních kanálků, která nejeví známky infiltrativního růstu a při imunohistochemickém průkazu není zjištěna pozitivita E-cadherinu. (Povýšil, Šteiner, 2007). Což v praxi znamená, že zůstává uvnitř laloku a nerozšíří se do okolních tkání. Pacientky s diagnózou LCIS mají tendenci mít zasažený více než jeden lalok. Tento typ nádoru se obvykle vyskytuje před menopauzou, nejčastěji mezi 40 a 50 lety života. LCIS není skutečným karcinomem prsu, ale je spíše známkou toho, že osoba je v budoucnu vystavena vyššímu než průměrnému riziku vzniku invazivní formy karcinomu prsu (typicky ILC). Z tohoto důvodu někteří odborníci upřednostňují termín „lobulární hyperplázie“, což značí soubor abnormálních buněk, který může přecházet právě v LCIS. Karcinom nezpůsobuje příznaky a obvykle se neobjevuje na mamografu. Často tedy bývá diagnostikován náhodně z výsledku provedené biopsie prsu indikované z jiného důvodu. (Breastcancer.org, © 2020).

U tohoto karcinomu rozdělujeme dva typy buněk: typ A je tvořen diploidními buňkami s uniformními jádry bez atypií a bez jadérek; typ B obsahuje hyperdiploidní buňky s většími jádry, výraznější polymorfií a jadérky; dalšími vzácnějšími typy jsou např. prstenčité, světlobuněčné a apokrinní (Mačák, Mačáková, 2004).

Karcinom je multicentrický přibližně v 70% případů a oboustranný ve 30-40%. Většinou se nachází v blízkosti 5 cm od bradavky buď ve vnitřním nebo zevním horním kvadrantu (Breastcancer.org, © 2020).

9.4 Maligní nádory invazivní

Do této kategorie spadají takové karcinomy, u kterých byla detekovatelná stromální invaze, ať už je či není identifikovatelná složka *in situ*, a bez ohledu na relativní poměr obou složek. Zahrnuje též mikroinvazivní karcinom. Typ by měl být určován podle jeho vlastního vzhledu, než aby byl odvozen od typu přítomné složky *in situ*, jelikož mezi nimi není vždy korespondence.

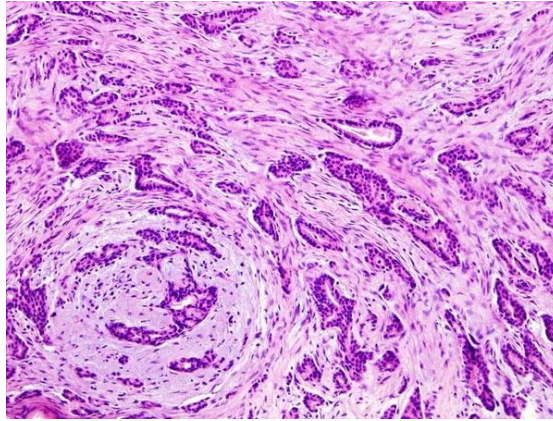
Klasifikace invazivního karcinomu se vyvíjela po dlouhou dobu, což v důsledku znamená, že se do ní začleňuje celá řada kritérií, jako je typ buňky, typ a množství sekrece, architektonické rysy a způsob šíření. (Goldblum et. al., 2018). Invazivní růst nádorů do okolní tkáně bez zřetelného ohraničení tkáně zdravé a nádorové, je pravým znakem maligního nádoru (Vokurka, 2012).

9.4.1 Duktální karcinom (IDC)

Jde o nejčastěji diagnostikovaný karcinom mléčné žlázy vytvářející různě velká ložiska tuhé konzistence, většinou nepřesně ohraničená. Představuje 70-80% karcinomů prsu. Při histologickém vyšetření je typické zachování buněčné soudržnosti a zřetelných hranic mezi buňkami, které jsou soustředěny do různě velkých ložisek oddělených zpravidla četnými snopci vazivového stromatu. Nekonstantní je příměs tubulárních struktur, vzhled jader i mitotická aktivita. IDC může vytvářet jednobuněčné pruhy v desmoplastickém stromatu podobné růstu lobulárního karcinomu, duktální diferenciaci pak lze demonstrovat pozitivní expresí membránového antigenu E-cadherinu pro který je typická soudržnost buněk (Povýšil, Šteiner, 2007; Mačák, Mačáková, 2004).

Velikosti tumoru rozlišujeme na karcinom mikroinvazivní (ložisko do 1 mm), s minimální invazí (do 1 cm) a s invazí (větší než 1 cm). Z hlediska určení prognózy onemocnění je nutné provádět grading například podle Elstona a Elise, známý jako tzv. nottinghamský grading zahrnující vyhodnocení počtu mitóz a přítomnosti tubulárních struktur. Velikost, tvar, konzistence a typ okrajů jsou velmi proměnlivé faktory, na kterých závisí i relativní počet nádorových buněk a množství stromatu (Goldblum et. al., 2018; Biopstická laboratoř s.r.o., © 2004).

Metastazuje do podpažních lymfatických uzlin a do kostí. Pacientky tak přicházejí na vyšetření s otokem paže, aniž by věděly o nádoru v prsu. V jiných případech vtahuje kůži nebo se objevuje vpáčená bradavka (Mačák, Mačáková, 2004)



Obrázek 10: Duktální invazivní karcinom (grade 1)

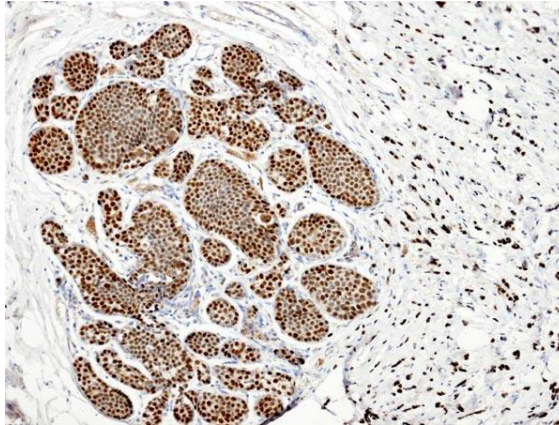
Zdroj: <http://www.mamma.cz/klasifikace/who-01-obr-1.html>

9.4.2 Lobulární karcinom (ILC)

Tento typ karcinomu se od předchozího typu liší především ztrátou soudržnosti nádorových buněk a negativitou E-cadherinu. S tímto markerem lobulární karcinom vykazuje charakteristický cytoplazmatický vzorec. ILC je přítomen v 5-15% karcinomů prsu a přibližně z 20% bývá oboustranný (Mačák, 2004). Nádorové buňky jsou také pozitivní na ER v 70-95% a na PR v 60-70% případů. Někdy je ovšem jednoznačné odlišení od invazivního duktálního karcinomu nemožné. Je proto velmi pravděpodobné, že existují přechodné typy plynule spojující obě krajní jednotky (Goldblum et. al., 2018; Povýšil, Šteiner, 2007).

Neoplastické buňky mají kulatá jádra a tenký okraj cytoplazmy s občasným intracytoplazmatickým lumenem, často nesoucí centrální mukoidní inkluzi. Mitózy bývají vzácné. Histologicky je pro něj charakteristický tzv. indian file pattern, tedy řazení nádorových buněk za sebe, jakoby do zástupů. Histochemické, ultrastrukturální a imunohistochemické rysy jsou stejné jako ty, které jsou pozorovány též u lobulární neoplázie (LCIS), jež je spojena s ILC v 58-98% případů (Lakhani et. al., 2012).

LCIS a mikroinvazivní lobulární karcinom lze prokázat současně v jednom ložisku a genetické mutace v LCIS jsou shodné s invazivním lobulárním karcinomem. Nověji se tedy soudí, že LCIS představuje přímý prekurzor pro lobulární invazivní karcinom s nízkým rizikem srovnatelným s grade 1 DCIS. Častěji metastazuje do kostí, gastrointestinálního traktu, orgánů vnitřního genitálu a do plic (Bioptická laboratoř s.r.o., © 2004).



Obrázek 11: Expres ER v buňkách lobulárního karcinomu (v pravé polovině snímku, vlevo patrna LCIS komponenta)

Zdroj: <http://www.mamma.cz/klasifikace/who-02-obr-3.html>

9.4.3 Ostatní invazivní karcinomy.

Dále byly popsány některé typy invazivních karcinomů podle převládajících morfoloických struktur nebo produktů metabolismu. Pro přehled uvádíme hlavní v současné době uznávané histologické varianty invazivního karcinomu:

Tubulární, papilární, medulární, mucinózní, apokrinní, metaplastický, kribriformní (Povýšil, Šteiner, 2007).

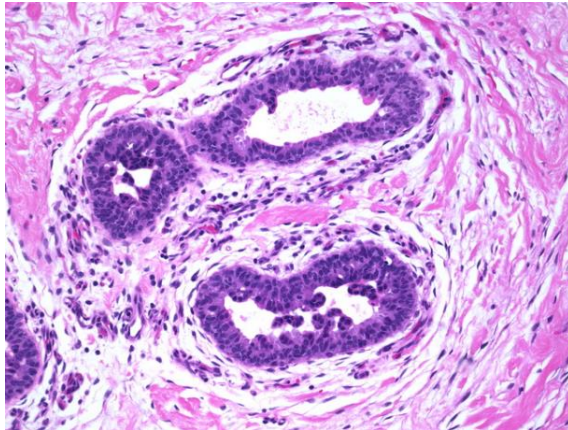
9.5 Karcinom mužského prsu

Nádory prsu se vyskytují u mužů velmi zřídka, přibližně 1000x méně často než u žen. Nejčastějšími mužskými lézemi prsu jsou gynekomastie, karcinomy a metastatické zhoubné nádory. Objevují se i jiné benigní nebo maligní léze, ale pouze vzácně. Samotné karcinomy typické pro prs se morfoloicky, imunohistochemicky ani molekulárně neliší od jejich protějšků vyskytujících se v prsu ženském (Tavassoli et. al.,2003).

9.6 Gynekomastie

Jde o neoplastické, často reverzibilní, rozšíření systému základních kanálků v tkáni mužských prsů s proliferací epiteliálních a mezenchymálních složek podobajících se fibroadenomatózní hyperplázii ženského prsu. Bývá častá u Klinefelterova syndromu, u kterého se objevuje zvýšené množství estrogenových a progesteronových receptorů, ovšem jiné příklady gynekomastie zvýšení neprokazují. Dále se gynekomastie vyskytuje

i ve spojení s jaterní cirhózou, endokrinními nádory a některými medikamenty (Tavassoli, Devilee, 2003).



Obrázek 12: Určitý stupeň epiteliální hyperplazie je v gynekomastii poměrně častý. Ve vzácných případech může být poměrně výrazný a simuluje karcinom. Změny naznačující gynekomastii nejsou u mužských nádorů prsu časté.

Zdroj: <https://www.webpathology.com/image.asp?case=576&n=6>

10 Cíl práce a výzkumné otázky

Cílem mé bakalářské práce bylo podrobně se seznámit s problematikou nádorového onemocnění prsu a popsat tuto nemoc, její příznaky, diagnostiku, příčiny vzniku, prevenci a následnou léčbu. Dále popsat praktickou část zpracování tkáně prsu v histologické laboratoři pomocí metody imunohistochemie. Tento proces zahrnuje přikrajování tkáně, její zalití do parafínu, krájení a barvení hematoxylinem-eozinem, a nakonec vyhodnotit zhotovené preparáty a porovnat jednotlivé typy adenokarcinomů prsu.

Hypotéza č. 1

Porovnat imunohistochemický profil u jednotlivých typů adenokarcinomu prsu.

Hypotéza č. 2

Stanovit zastoupení triple-negativních lézí ve zkoumaném souboru adenokarcinomů prsu.

11 Metodika

Výzkumnou část bakalářské práce jsem vykonávala na Oddělení patologie v Nemocnici Písek a.s., Karla Čapka 589, Písek 39701 pod vedením pana MUDr. Jindřicha Branžovského, Ph.D.

U všech případů bylo po stanovení diagnózy karcinomu prsu v preparátech barvených hematoxylinem-eozinem provedeno imunohistochemické vyšetření exprese ER, PR, HER-2/Neu, E-cadherinu a Ki-67)

11.1 *Imunohistochemie*

Imunohistochemie (IHC) je metoda založena na detekci antigenu ve formalinem fixovaných, parafinem zabudovaných tkáních na základě interakce antigen-protilátka. Tato technika je široce používána pro diagnostiku a výzkum a její aplikace se i nadále rozšiřují kvůli jednoduchosti použití, spolehlivosti a všestrannosti. V IHC je vazba antigenu s protilátkou vizualizovaná světelnou mikroskopií pomocí barevného signálu. Výhodou IHC oproti technikám imunofluorescence je viditelná morfolgie tkáně kolem specifického antigenu kontrastním barvením (např. hematoxylinem-modré zbarvení) (Schacht, Kern, 2015).

Technik umožňuje detekci přítomnosti i neaktivních enzymů, případně jejich prekurzorů a strukturálních proteinů bez enzymatické aktivity. Vyžaduje také dostupnost biopsií, jež jsou poté zpracovány do řezů s mikrotomem a ty jsou dále inkubovány s vhodnou protilátkou. Výsledek imunohistochemické reakce se sleduje pod běžným nebo fluorescenčním mikroskopem a je nutné ji zviditelnit značkou (markerem), jako je fluorescenční barvivo, enzym nebo radioaktivní prvek (Maňáková, 2001; Kaliyappan et. al., 2012).

Tato technologie byla na Oddělení patologie v Nemocnici Písek zavedena od ledna roku 2004 a je běžně prováděna především k diagnostice novotvarů a ke stanovování aktivity hormonálních receptorů zhoubných lézí prsu.

11.1.1 **Typy markerů:**

- Fluorochromy - jsou barviva, která vykazují fluorescenci, kdy po absorpci světla o kratší vlnové délce vyzaří světlo o vyšší vlnové délce. K vizualizaci se používají např. FITC, rhodamin nebo texaská červeň. Výsledky barvení se

odečítají pomocí fluorescenčního mikroskopu do 24h, aby preparát nevybledl (nevysvítíl).

- Biotin – prokazuje se vazbou se značeným avidinem.
- Enzymy - jako markery se využívají stabilní enzymy křenová peroxidáza nebo alkalická fosfatáza, jenž se mohou přirozeně vyskytovat ve tkáni. Pro vizualizaci peroxidázy se musí přidat inkubační roztok s peroxidem vodíku a DAB.
- Digoxigenin
- Koloidní zlato
- Autoradiografie - isotopy P, S, I, H (Maňáková, 2001; Čížková, 2018).

11.1.2 Rozdělení typů imunohistochemických metod

11.1.2.1 Přímá metoda

Přímá reakce používá značenou primární protilátku. Nevýhodou je nedostatečná citlivost, a proto je nutné použít vyšší koncentrace primární protilátky (Maňáková, 2001).

11.1.2.2 Nepřímá metoda

Nejpoužívanější metoda průkazu, kdy se neznačená primární protilátka naváže na antigen. Poté se na Fc fragment primární protilátky váže sekundární protilátka s navázanou značkou. Postup je sice složitější než v případě přímé metody, ale citlivější, jelikož se na primární protilátku váže více protilátek sekundárních, čímž dochází k amplifikaci signálu (Čížková, 2018).

11.1.2.3 Amplifikační metody

Sem patří metody jako vazba peroxidáza-antiperoxidázového komplexu (PAP) a vazba avidinu s biotinem (ABC). Slouží k zesílení signálu v případě, že množství molekul antigenu ve tkáni je nízké (Maňáková, 2001).

11.2 Příjem vzorku

Příjem histologického materiálu probíhá na oddělení patologie v Nemocnici Písek od pondělí do pátku 7:00-15:30, laborantka kontroluje správnost údajů na transportní nádobě a žádance, poté je vzorek přijat pod laboratorním číslem do laboratorního informačního systému (LIS).

11.3 Získání materiálu k histopatologickému vyšetření

Základním předpokladem pro stanovení diagnózy je získání tkáně pro histopatologické vyšetření. Odběr vzorku z živého organismu (biopsie) se provádí stereotakticky pod kontrolou mamografu nebo z volné ruky pod kontrolou ultrasonografu a je důležité při něm dbát na šetrnost, aby nedošlo ke zhmoždění tkáně. Odběr z mrtvého organismu nazýváme nekropsie. Odebraný materiál musí být přesně označen, aby nedošlo k jeho záměně a neměl by přesahovat 1 cm³. Tkáň může být zmrazená a krájená na zmrazovacím mikrotomu (kryostatu). Poté je třeba nakrájené řezy ihned fixovat (Friedrich et. al.,2017; Maňáková, 2001; Čížková, 2018).

11.4 Fixace tkáně

Jde o rychlé vysrážení tkáňových bílkovin a je důležité vzorek fixovat co nejdříve po odběru. Buď fyzikálně, nebo chemicky aby nedošlo k autolýze, kterou způsobují lysozomální enzymy. V imunohistochemii jsou nejběžněji používané alkoholové fixační roztoky (Čížková, 2018).

11.4.1 Fyzikální metody

Fyzikální fixační metody nejsou v histologii příliš běžné. Jednou z užívaných metod fixace je vysoušení za použití velmi nízkých teplot (freezing-drying), což je vhodné především pro průkaz enzymů. Kousky tkáně se nárazově zmrazí a vysuší a současně tak dochází k rychlé sublimaci vody ve vakuu při teplotě -60 °C. Metoda používá tekutý dusík či suchý led.

Lze také využít vysokých teplot společně s mikrovlnným zářením. Tkáň ponořená v izotonickém roztoku se povaří v mikrovlnné troubě při teplotě kolem 60 °C bez použití dalších chemikálií. Obrovskou výhodou tohoto postupu je rychlé působení na celý vzorek, čímž se výrazně zkrátí čas fixace z mnoha hodin na minuty (Čížková, 2018; Vacek, 1995).

11.4.2 Chemické roztoky

Nejčastěji využívaná metoda v histologii. Vyznačuje se snadnou přípravou a jednoduchostí provedení. K fixaci se využívá roztoků chemických sloučenin jak anorganických, tak organických. Roztok nazýváme fixační tekutinou, která rychle proniká a nejméně porušuje strukturu tkáně. Vzorek musí být ponořen do dostatečného množství fixační tekutiny, a to nejlépe 20–50x většího objemu (minimálně však 10x většího). Nejběžněji se používá formol, který do laboratoře dorazí jako vodný roztok. Pro fixaci se používá 10–25% roztok formolu naředěný vodou z kohoutku. Tkáň se ve formolu běžně fixuje 24 hod, ale může se v něm ponechat i déle. Neutrální formol, jenž se zneutralizuje uhličitanem vápenatým, se hodí pro imunohistochemický průkaz antigenů. Při práci s formolem je nutno dbát na bezpečnosti, jelikož páry formolu jsou agresivní, dráždivé a zdraví škodlivé, proto se s ním manipuluje v gumových rukavicích (Čížková, 2018; Vacek, 1995).

11.5 Přikrajování

Prvotní fází zpracování vzorku v laboratoři je jeho prikrajování patologem, které probíhá ve speciálních odvětrávaných boxech, aby se tak zamezilo vdechnutí toxických par z fixačních tekutin (Čížková, 2018).

Úloha patologa probíhá v několika krocích. Zpočátku si jednotlivé kousky tkáně prohlíží makroskopicky či s použitím lupy, zaznamenává velikost a patologické změny. Poté nastupuje proces zpracování materiálu (Holánek, 2017).

11.6 Parafínové zpracování tkáně

11.6.1 Příprava roztoků a pomůcek

Použité chemikálie a činidla:

- Aceton – používá se jako rozpouštědlo. Je to bezbarvá silně hořlavá kapalina.
- Xylen – nejčastěji používané rozpouštědlo pro přírodní a umělé pryskyřice (parafín), který se mísí společně s etanolem. Je to čirá, bezbarvá až slabě žlutá kapalina aromatického zápachu podobného toluenu.
- Etanol denaturovaný – látka používaná k odvodnění tkáně
- Parafínový olej

- Rozpuštěný parafín – Sypký parafín se před použitím rozpouští a rozpuštěný se skladuje v termostatu. Za tuto činnost odpovídá laborantka na barvicí laboratoři
- Roztok želatiny a vody (vodní lázeň) – Do kádinky s vroucí vodou (700ml) se přidá nepatrné množství želatiny (cca 0,5 g) a nechá se ještě povařit.

Histologické barvičky a chemikálie dodává Lékárna, Nemocnice Písek, a.s. od firem, které mají povolení SÚKLu k distribuci.

Pomůcky a vybavení: nerezové a umělohmotné krabičky na prosycení tkáně, kovový košík na krabičky, pinzety, psací potřeby, buničina, plastové úchytky, žiletkové nože, bodce, štětec, podložní skla, filtrační papír, stojánky na preparáty, jednoplotýnkový vařič, parafínová zalévací linka, mikrotom, vodní lázeň, barvicí automat, chladicí modul, termostat biologický, standardní vakuový tkáňový procesor, tiskárna kazet a skel Primera.

11.6.2 Princip metody

Aby se mohla tkáň dobře krájet, musí nejprve dojít k odvodnění a prosycení tkáně rozehrátým parafínem. Odvodnění se provádí vzestupnou řadou alkoholů (etanolem), čímž se zamezí smrštění tkáně. Ta se následně prosytí látkou, která musí být mísitelná jak s etanolem, tak s rozpouštědlem parafínu např. xylenem. Poté následuje prosycení tkáně parafínem (Čížková, 2018).

Tkáň se vloží do speciálních krabiček s číslem a v košíku se nechá proprat pod tekoucí vodou asi 10 minut. Následně se vloží do vakuového tkáňového procesoru.

Přehled lázní:

- 96% Alkohol 7x (60 min.)
- Xylen 3x (60 min.)
- Parafín 4x (60 min.) – poslední zajišťovací lázeň

Další pracovní den se košík s tkáněmi se z procesoru vyndá a připraví se v nahřívací komoře parafínové zalévací linky k zalévání. Parafínová zalévací linka je rozčleněna na tři části – ohřívací, zalévací a chladicí. Pro zalévání musí být parafín tekutý, proto se prosycení tkáně parafínem provádí při teplotách 56–58 °C. Poté se parafínové bloky nechají chladit na chladícím modulu. Parafín vyplní všechny mikroskopické štěrby v tkáni, takže se poté dá tkáň krájet v tenkých řezech (silných několik tisícín milimetru). Na oddělení patologie v Nemocnici Písek se bloky krájí sáňkovým mikrotomem (SLIDE 4003 E). Ukrojené parafínové řezy se napínají na teplé vodní lázni (roztok želatiny a

vody) a nabírají se na označené podložní sklo. Takto připravené preparáty se vloží do stojánku a dají usušit v termostatu při 60-65 °C na 20 minut a jsou připraveny k barvení. Pokud preparáty vkládáme do barvicího automatu, není potřeba je sušit díky nastavené funkci v automatu. Usušené preparáty se obarví histologickým barvením, aby se mohla vyšetřovaná tkáň diagnostikovat. Následuje montování preparátů a kompletace obarvených preparátů s průvodními listy. Laborantka předá zkompletované průvodní listy a preparáty lékařům k vyhodnocení (Mášková, Velková, 2018).

11.7 Barvení

Na neobarveném tkáňovém řezu pod mikroskopem je prakticky nemožné rozeznat jednotlivé struktury, jelikož mají rozdílnou lomivost světla. Z tohoto důvodu se využívá skutečnosti, že různé části buněk a tkání jsou schopny vázat rozdílná barviva, takže se poté dají v mikroskopu snadněji rozlišit. Barviva používaná v histologii se dělí podle jejich náboje na bazická (kationová – kladný náboj) a kyselá (aniontová – záporný náboj). Mezi hlavní zástupce bazických barviv se řadí hlavně hematoxylin, dále methylenová modř, krystalová violet či thionin. Tato barviva intenzivně zabarvují jádra buněk. K hlavním zástupcům kyselých barviv patří přednostně eosin, dále kyselý fuchsin, oranž G či erytrosin. Tato barviva jsou schopna zabarvovat cytoplazmu buněk. Nejpoužívanější barvení v histologii představuje kombinace hematoxylin–eosin.

Hematoxylin barví jádra buněk modře až modročerně. Eosin zabarvuje cytoplazmu v odstínech růžové až červené (Čížková, 2018; Vacek, 1995).

Mezi barvení dále patří metoda PAS (Periodic Acid Schiff) používaná pro průkaz tkáňových polysacharidů jako např. glykogen, bazální membrány, mezibuněčná hmota nebo hlen. Použitými reagensy jsou kyselina jodistá a Schiffovo reagens, což je roztok bazického fuchsinu, který je odbarven přidáním siřičitanu. Reakcí dochází k purpurově červenému zbarvení (Čížková, 2018).

11.7.1 Příprava roztoků

V laboratoři na oddělení patologie v Písku se používá pro barvení většiny preparátů Harrisův hematoxylin. Smísí se roztok A+B, do horkého se přidá 2,5 g oxidu rtuťnatého (červený/žlutý), prudce se ochladí a přidá 40 ml kyseliny octové. Přebytečné barvivo se z řezů odstraňuje diferenciací.

- Roztok A – 50 ml horkého 96% etanolu a 5 g hematoxylinu, rozpustí se ve vodní lázni

- Roztok B – 1000 ml vařící destilované vody a 100 g síranu hlinitodraselného
- Eosin 1% - 10g eosinu a 100 ml 96% etanolu
- 70% Etanol – 200 ml 96% etanolu a 100 ml destilované vody
- 80% Etanol – 800 ml 96% etanolu a 200 ml destilované vody
- Xylen, etanol – dodává lékárna

11.7.2 Princip metody

1. Vložit do xylenu na 20 minut.
2. Oplachování sestupnou řadou etanolu (96%, 80%, 70%)
3. Opláchnutí v destilované vodě
4. Vložit do hematoxylinu na 2 minuty (pokud se barví nativní řez, barvení začíná od tohoto bodu)
5. Opláchnutí v destilované vodě
6. Vložit do eosinu na 3-5 minut.
7. Opláchnutí v 96% etanolu (2x)
8. Opláchnutí v acetonu
9. Opláchnutí v xylenu

Vývoj reakce kontroluje laborantka v mikroskopu a rozhoduje o době reakce. Poté se vzorek montuje do Entellan NEU.

Výsledek barvení: Jádra – modrá

Cytoplazma – růžová

Svalstvo – červené

Chrupavka - modrá

11.8 Vlastní imunohistochemické vyšetření

Na oddělení patologie v Nemocnici Písek je využívána souprava EnVision FLEX Mini Kit, High pH od firmy DAKO, která je určena k diagnostice in vitro. Používá se v imunohistochemii společně s automatizovanými přístroji Autostainer Link. Systém detekuje primární myši a králičí protilátky vázané na antigen a reakce se poté vizualizuje pomocí EnVision FLEX DAB+ chromogenu. Činidla jsou určena k použití na tkáňových řezech fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

11.8.1 Příprava vzorků a pomůcek

Promývací pufr pH 7,4-7,8:

- 1M HCl – 26 ml
- NaCl – 16 g
- Trometanol – 12,1 g
- Doplnit destilovanou vodou do 2000 ml

1M HCl: 150 ml destilované vody

50 ml koncentrované HCl

Pufř pH = 9:

- 1,2 g Trometanol
- 0,37 g Chelaton III
- 2000 ml destilované vody

Harrisův hematoxylin (viz. barvení)

Blokátor endogenní peroxidázy – 50 ml destilované vody a 5 ml koncentrovaného peroxidu vodíku

Mouse/Rabbit PolyDetector DAB HRP Brown Detection systém:

- PolyDetection Peroxidase Blocker
- Anti-Mouse/Rabbit Horseradish Peroxidase Label
- DAB Chromogen
- DAB pufř

CINtec p16 INK4a Histology Kit:

- Peroxidase Blocking Reagent
- Mouse anti-human p16 INK4a
- Visualization Reagent
- Negative Reagent Control
- DAB Buffered Substrate + DAB Chromogen – nutné naředit 1 ml DAB pufřu a 1 kapka DAB chromogenu
- Epitop Retrieval Solution – 1:10 za použití destilované vody
- Promývací pufř Wash Buffer – 1:10 za použití destilované vody

Ředění HER-2/Neu - probíhá v poměru 1:250 – 1:350. Napipetuje se 30 μ l HER-2Neu (koncentrovaná králičí polyklonální protilátka) a doplní 7,5 ml dilučním roztokem firmy DAKO čímž se získá přibližně 7,5 ml naředěné (ready to use) protilátky.

70% Etanol – 700ml 96% etanolu a 300 ml destilované vody

80% Etanol – 800ml 96% etanolu a 200 ml destilované vody

Xylen, směs izomerů, etanol denaturovaný, aceton – dodává lékárna

Použité protilátky:

| Protilátka | Klon | Ready-to-Use |
|------------|--------------|--------------|
| ER | EP1 | RtU |
| PR | PgR 636 | RtU |
| HER-2/Neu | polyklonální | |
| E-cadherin | NCH-38 | RtU |
| Ki-67 | MIB-1 | RtU |

Pomůcky a vybavení: digitální váha, digitální vodní lázeň, sušárna, pH metr, mikropipety, psací potřeby, pinzety, koplíčka, špejle, krycí skla, speciální podložní skla, buničina, filtrační papír, nosič, laboratorní sklo, vlhká komora, časovač, mikroskop

11.8.2 Princip a postup barvení

Vybírá se vhodný parafinový blok, který se ukrojí a dále zpracovává. Dokumentační pracovnice vystaví průvodní list k požadovanému imunohistochemickému vyšetření antigenů. Laborantka dle kompetencí provede evidenci do knihy imunohistochemie.

Detekce antigenní determinanty probíhá na principu imunohistochemické vazby antigen-protilátka.

1. Na speciální sklo natáhnout vybraný parafinový řez, který se suší při 60 °C 20 minut v termostatu či sušárně.
2. Deparafinace xylenem na 20 minut.
3. Oplachování sestupnou řadou etanolu (96%, 80%, 70%)
4. Oplachování destilovanou vodou
5. Pufir pH = 9 – vařit ve vodní lázni při 95-99 °C dle druhu protilátky
6. Chladnutí trvající 20 minut.
7. Oplachování promývacím pufrem pH 7,4-7,8 na 1-5 minut.
8. Další inkubace se provádí ve vlhké komoře při pokojové teplotě
9. Před nanášením detekčního systému je nutno udělat kroužek kolem tkáně tužkou, aby se zabránilo plýtvání a roztékání chemikálií.
10. Nanesení duální enzymové blokády na 5-10 minut.
11. Opláchnutí promývacím pufrem na 1-5 minut.
12. Přidání primární protilátky
13. Opláchnutí promývacím pufrem na 1-5 minut.
14. Nanesení značeného polymeru (Roztok Anti-Mouse/Rabbit PolyDetector HRP Label)

15. Opláchnutí promývacím puřrem na 1-5 minut.
16. Přidání DAB Buffered Substrate + DAB Chromogen
17. Opláchnutí v destilované vodě
18. Vložit do Harrisova hematoxylinu na 30 sekund
19. Opláchnutí v 96% etanolu
20. Opláchnutí v acetonu
21. Opláchnutí v aceton-xylenu (1:1)
22. Opláchnutí v xylenu

Vývoj reakce kontroluje laborantka a rozhoduje o době reakce. Výsledkem je nukleární nebo cytoplazmatická reakce zlatohnědé až hnědé barvy. Ostatní se zbarví modře.

11.8.3 Montování preparátů

Obarvené preparáty se montují pomocí vhodně zvoleného montovacího média. Na oddělení Patologie, Nemocnice Písek a.s. se užívá Entellan NEU od firmy Sigma-Aldrich.

Sklo se vytáhne z kyvety a okolí tkáně se otře hadříkem, skleněnou tyčinkou se na něj kápne médium a řez zakryje krycím sklem příslušné velikosti. Pokud by se vytvořily bublinky, vytlačí se preparační jehlou. Na hotových preparátech se zvýrazní laboratorní číslo nesmyvatelným fixem a dochází ke kompletaci s průvodním listem. Následně se preparáty vkládají do nosiče a odevzdají lékaři (Mášková, Velková, 2018).

11.8.4 Mikroskopování

Využívají jej jednak laboranti ke kontrole postupu barvení histologických preparátů a jednak lékaři (patologové) k diagnostice. Lékař si odebírá jednotlivé preparáty z nosiče a hodnotí je ve světelném mikroskopu. Diagnostiku provede na základě pozorovaných morfologických změn buněk či tkání. Zjištěné nálezy včetně diagnóz jsou posléze zaznamenány administrativní pracovníci ve výsledkovém listu a do LISu. Nález se vytiskne, zkontroluje patologem, který jej autorizuje svým podpisem a se všemi náležitostmi odešle klinickým lékařům (Mášková, Velková, 2018).

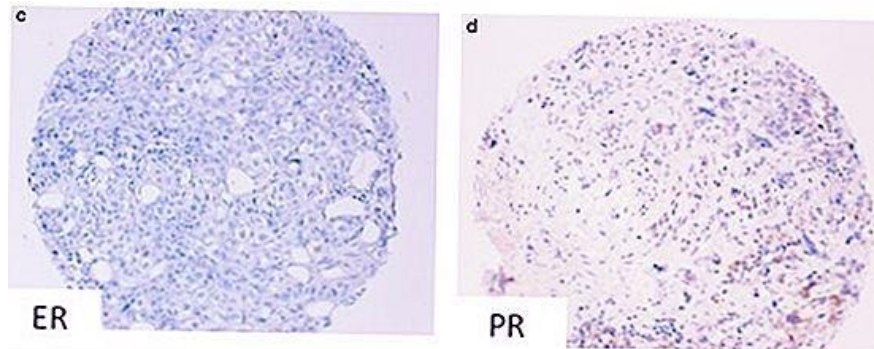
11.9 Hodnocení hormonálních receptorů (ER, PR)

Pozitivita hormonálních receptorů je charakteristická u většiny typů karcinomů prsu, kdy může představovat až 80% případů. Nádorové buňky mají na svém povrchu receptory, které mohou ženské pohlavní hormony cirkulující v krvi zachytit. Na

nádorovou buňku tak působí jako růstový faktor. ER hraje v karcinogenezi klíčovou roli, jehož inhibice je základem endokrinní terapie karcinomu prsu. Estrogen je tak považován za nejsilnější prediktivní marker, kdežto progesteron se jeví jako slabší prediktor na odpověď endokrinní terapie. ER i PR jsou závislé na proměnných, například koncentrace ER jsou nižší u žen v premenopauzálním stádiu než u žen v postmenopauzálním stádiu. (Dai et. al., 2016; Goldblum et. al., 2018). Obézní premenopauzální ženy mají pravděpodobně delší menstruační cykly a více anovulačních cyklů než štíhlé premenopauzální ženy, což má za následek menší celkovou hladinu estrogenu a snížené riziko karcinomu prsu. Rozdíly ve cvičení a příjmu potravy mohou také ovlivnit hladiny estrogenu. Studie vztahu mezi rizikem maligního nádoru prsu a příjmem alkoholu, tuků, antioxidantů a vlákniny měly spíše protichůdné výsledky (Epstein, 2001).

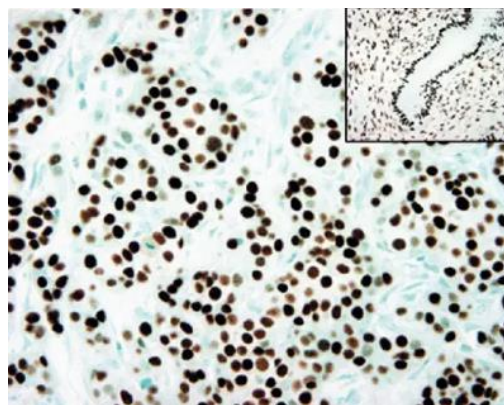
Hormonální receptory jsou prokazovány imunohistochemickou metodou, jelikož nabízí nespočet výhod (např. nevyžaduje čerstvou tkáň a postačí nám i malé množství). Lze je také hodnotit v parafinované tkáni technikou in situ hybridizace nebo PCR (Yeh et. al., 2014).

Přítomnost ER a PR v tumorech predikuje potenciál pro úspěšnost terapie tamoxifenem, jež se dlouhodobě používá a stále je nejčastěji používanou endokrinní terapií k léčbě časného i pokročilého nádoru prsu. Změna tumoru z ER-negativního na ER-pozitivní není příliš obvyklým jevem. Naproti tomu naopak je tento obrat častější, zejména pokud došlo k terapii tamoxifenem. Vysokou pozitivitu nejčastěji vykazují tubulární a lobulární karcinomy (Yeh et. al., 2014).



Obrázek 13: Patologie dědičného karcinomu prsu (Estrogen/Progesteron)

Zdroj: <https://cze.bioconus.com/modern-pathology/>



Obrázek 14: Imunohistochemické barvení progesteronového receptoru na invazivním karcinomu prsu zabudované do parafinu s použitím protilátky.

Zdroj: <https://www.nature.com/articles/3800229/figures/1>

11.10 Hodnocení HER-2/Neu

Tato forma nádoru je lokalizována na dlouhém raménku chromozomu 17 a je charakterizována přítomností specifického proteinu (receptoru) nazývaného jako receptor lidského epidermálního růstového faktoru 2 (HER2), který je přítomen na povrchu zdravých buněk a hraje důležitou roli v jejich přirozeném životě. Jeho úlohou je signalizovat těmto buňkám aby rostly a dělily se. Avšak nadměrné množství HER2 v důsledku genové mutace může vést k nekontrolovanému růstu buněk, jež způsobuje nádorové bujení. Jeho nadměrnou expresi lze měřit imunohistochemicky nebo pomocí FISH. Nejlepším postupem z hlediska nákladové efektivity je imunohistochemické provedení (Tabulka 1). Jsou-li výsledky buď 3+ nebo 0, může se stanovení zastavit, jelikož korelace s nadměrnou expresí genu nebo jeho nedostatkem, měřeno pomocí FISH,

je téměř 100%. Pokud nám z imunotestu ovšem vyjde výsledek 2+ či 1+, doporučuje se provedení FISH, kdy získaný výsledek bývá považován za zlatý standard.

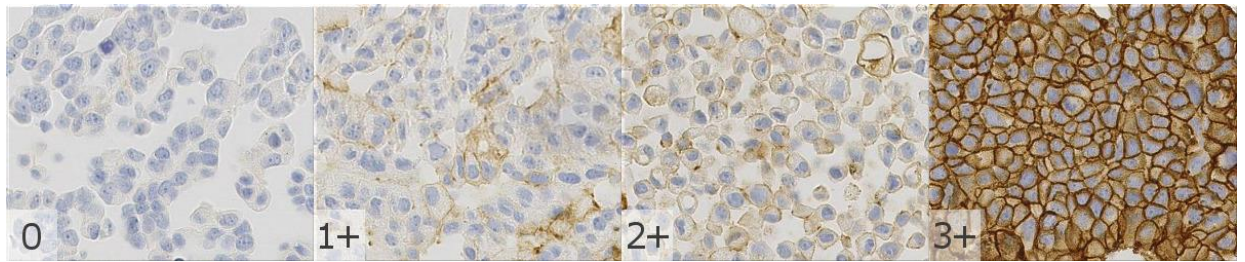
Tabulka 1: Hodnocení imunohistochemického barvení pro nadměrnou expresi HER2-Neu

| Vzor barvení | Skóre | Hodnocení nadměrné exprese HER-2/Neu |
|---|-------|--------------------------------------|
| U méně než 10% nádorových buněk není pozorováno žádné zbarvení nebo zbarvení membrány | 0 | Negativní |
| U více než 10% nádorových buněk je detekováno slabé vnímatelné zbarvení membrány. Buňky jsou obarveny pouze v částech jejich membrány | 1+ | Negativní |
| Slabé až středně silné zbarvení membrány u více než 10% nádorových buněk | 2+ | Slabě pozitivní |
| Silné a úplné zbarvení membrány je pozorováno u více než 30% nádorových buněk | 3+ | pozitivní |

Zdroj: převzato z učebnice Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 2018.

Výhody obou metod jsou podporovány dostupností trastuzumabu (Herceptin), popřípadě se zablokuje funkce receptorů pomocí inhibitoru tyrosinkinázy (lapatinib - Tyverb). Pro účinek zmíněných léků je potřebné, aby nádorové buňky obsahovaly tento receptor, proti kterému jsou léky cíleny. Zatímco nádory, které jsou imunohistochemicky silně pozitivní (3+) obsahují téměř vždy zvýšené množství kopií genu HER-2/Neu, u nádorů slabě pozitivních je zastoupení případů výrazně nižší a pohybuje se v rozmezí 20-30% z 2+ pozitivních nádorů. Nadměrná exprese HER2 kteroukoliv technikou je velmi dobrým prekurzorem reakce na trastuzumab, avšak nikoliv na chemoterapii či celkové přežití. (Goldblum et. al., 2018).

O použití této léčby však rozhoduje ošetřující onkolog, nikoliv patolog, a vychází nejen z výsledků vyšetření patologa, ale i z dalších klinických dat (Ryška, 2010).



Obrázek 15: Dynamický rozsah exprese HER-2/Neu (skóre 0-3+).

Zdroj: <http://www.histocyte.com/products/her2-dynamic-range-control.html>

11.11 Stanovení triple-negativních karcinomů prsu (TNBC)

Jedná se o heterogenní skupinu představující 15–20% všech malignit prsu, kdy často dochází k mutaci genu BRCA1. Karcinom je prezentován přítomností či chyběním tří receptorů (estrogen, progesteron a HER-2). Tyto nádory mají agresivnější fenotyp a horší prognózu kvůli vysoké náchylnosti k metastatické progresi a absenci specificky cílené léčby. Špatná prognóza TNBC by také mohla být způsobena tím, že tyto trojitě negativní receptory jsou ve skutečnosti bazální a může tak proto být vnímána spíše jako symptom než jako samostatná entita karcinomu prsu (De Ruijter et. al., 2011).

TNBC a bazální karcinom představují zhruba 15% všech invazivních karcinomů prsu a obvykle mají vysoký histologický grade. V nejhorším případě jsou schopny metastazovat do okolních orgánů jako plíce či mozek. Velká většina nádorů vznikajících u žen, které nesou zárodečnou mutaci BRCA1, zejména u těch, u kterých byla stanovena diagnóza před dosažením 50 let věku, mají morfologické rysy velmi podobné nádorovým onemocněním nedědičného typu bazálních nádorů a často vykazují definovaný bazální fenotyp, jež je vymezen imunohistochemickými studiemi (Foulkes et. al., 2010).

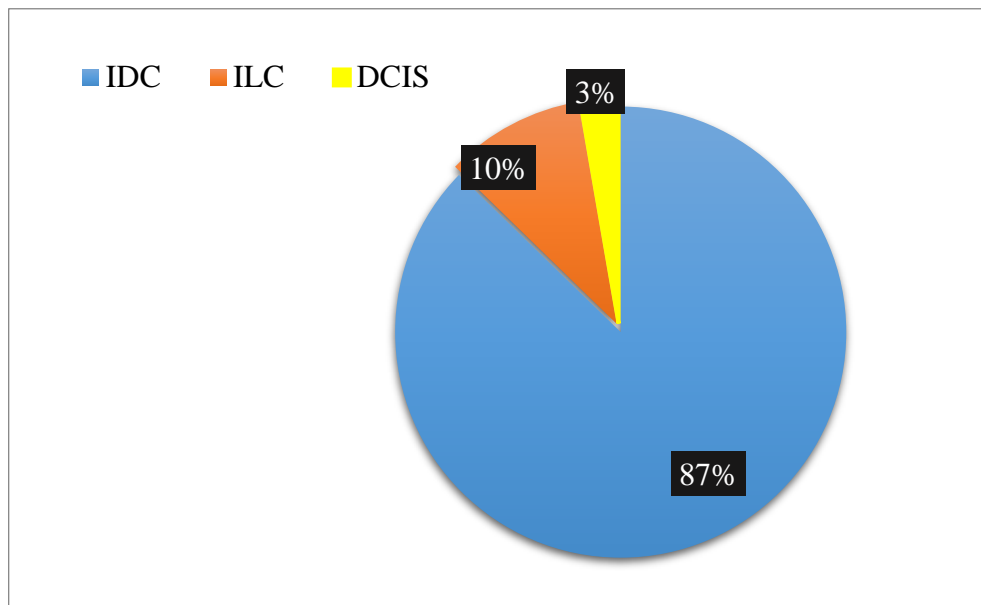
Pacienti s TNBC nemají prospěch z cílených terapií založených na hormonech nebo trastuzumabu kvůli ztrátě cílových receptorů. Přestože reagují na chemoterapeutika, jako jsou taxany a antracykliny, lépe než na jiné podtypy karcinomů prsu, prognóza zůstává špatná. V současné době je běžně používaná chirurgie a radioterapie, případně v kombinaci s chemoterapií, jako standardní léčebný postup (Yao et. al., 2017).

12 Výsledky

12.1 Hodnocení punkčních biopsií

Hodnoceno bylo celkově 218 punkčních biopsií prsu (Tab.2), přičemž u každého případu byl stanoven histologický podtyp nádoru (Graf 1). Těchto vzorků bylo celkem stanoveno 220, jelikož 1. případ vykazoval charakter IDC i ILC a 2. případ vykazoval charakter DCIS a IDC, jež se od sebe dají obtížně rozlišit. Nejpočetnější skupinu tvořil invazivní duktální karcinom (IDC), který byl zastoupen 192 (87%) případy, invazivní lobulární karcinom (ILC) byl diagnostikován ve 22 (10%) případech a nejméně zastoupeným byl duktální karcinom in situ (DCIS), jež se vyskytoval v 6 (3%) případech.

Graf 1: Zastoupení histologických podtypů karcinomu prsu

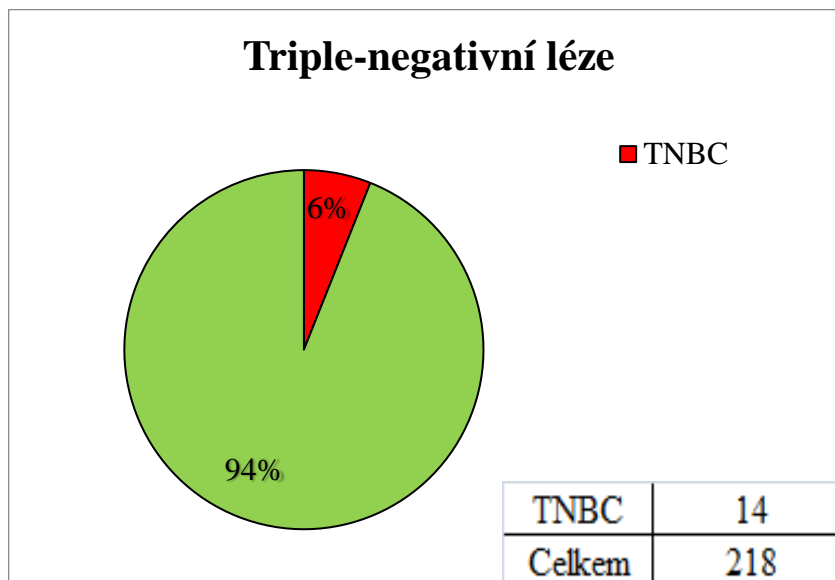


Zdroj: vlastní výzkum

12.2 Hodnocení receptorů karcinomu prsu

Z hlediska zastoupení významných receptorů vyskytujících se u karcinomu prsu, byl nejpočetnější progesteronový receptor (Graf 4) a to ve 213 případech. Estrogenové receptory (Graf 4) byly stanoveny u 114 případů, přičemž exprese obou těchto receptorů byla ještě kategorizována do 4 skupin variabilně od 0-100% (Tab.1,2). Pro hodnocení exprese HER-2/Neu bylo použito skóre 0-3+. Skóre 0 bylo použito u celkem 24 případů, 85 případů odpovídalo skóre 1+, 78 případů skóre 2+ a u 31 případů 3+. Triple-negativní karcinom (ER negativní, PR negativní a HER2 negativní) byl celkově zastoupen 14 (6%) případy (Graf 2).

Graf 2: Znárodnění celkového zastoupení triple-negativních lézí vůči celkovému počtu vzorků

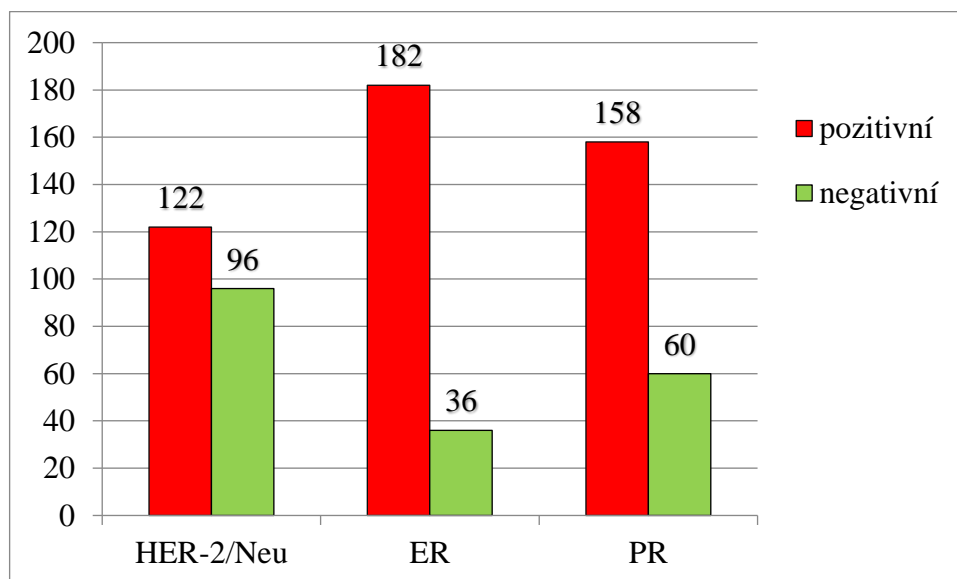


Zdroj: vlastní výzkum

Na tomto grafu můžeme vidět celkové zastoupení triple-negativních lézí vůči celkovému počtu vzorků

12.3 Zastoupení významných markerů karcinomu prsu

Graf 3: Poměr pozitivních a negativních výsledků sledovaných receptorů.



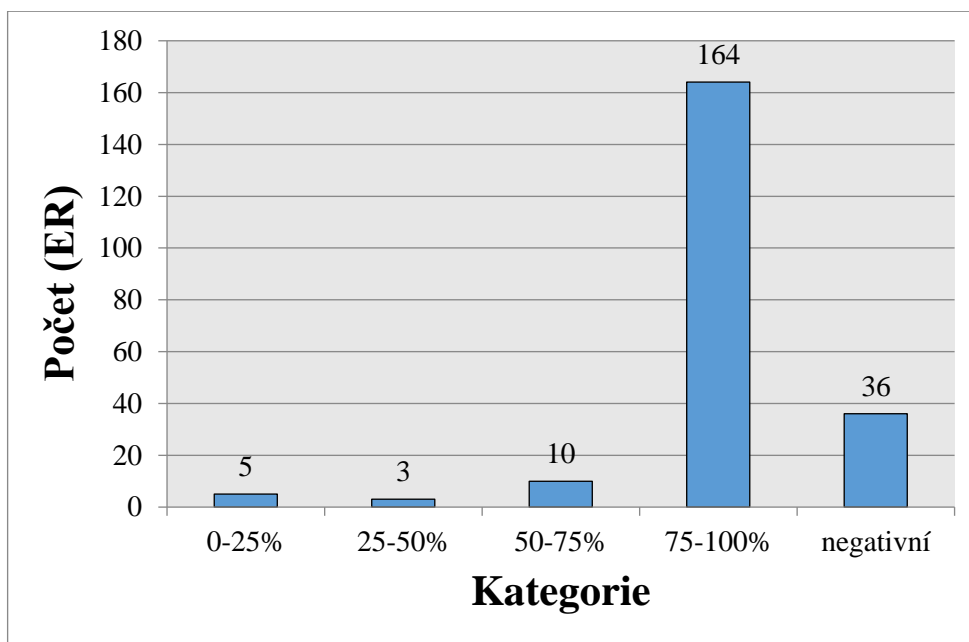
Zdroj: vlastní výzkum

Na tomto grafu můžeme vidět celkový poměr mezi pozitivním a negativním zastoupením ER, PR a HER-2/Neu receptorů. Pozitivita hormonálních receptorů byla vyšší než u exprese receptoru HER-2/Neu.

Tabulka 2: Kategorizace a celkové zastoupení estrogenového receptoru

| Kategorie | Počet (ER) | Průměr |
|-----------|------------|--------|
| 0-25% | 5 | 2,3% |
| 25-50% | 3 | 1,4% |
| 50-75% | 10 | 4,6% |
| 75-100% | 164 | 75,2% |
| negativní | 36 | 16,5% |
| Celkem | 218 | 100% |

Graf 4: Zastoupení estrogenového receptoru



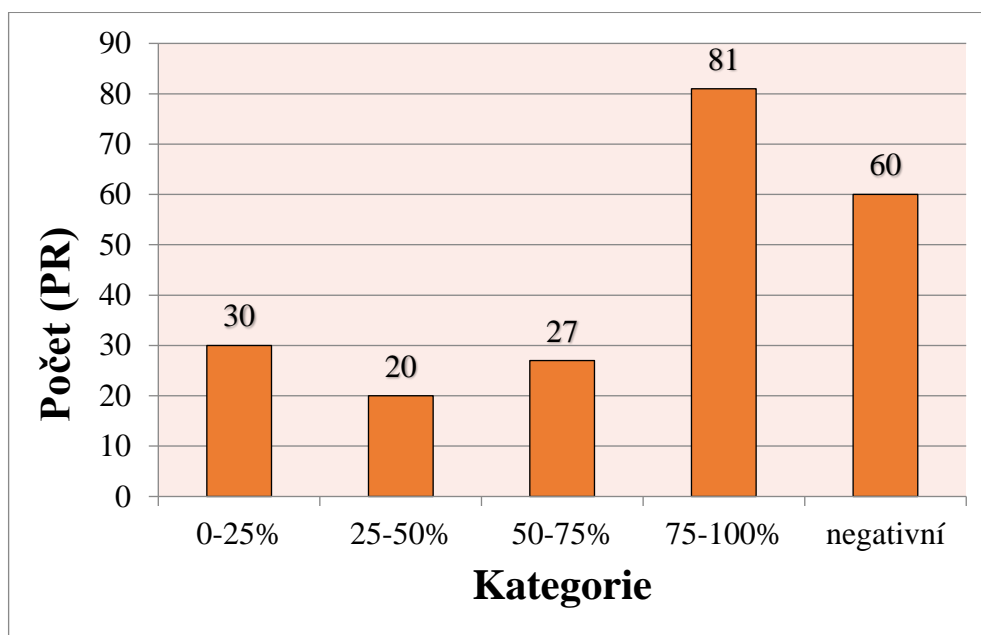
Zdroj: vlastní výzkum

Tento graf nám ukazuje zastoupení estrogenového receptoru, z něhož vyplívá, že nejvyšší výskyt byl zaznamenán v kategorii č. 4. u 77 (75,2%) případů a nejnižším v kategorii č. 2. pouze u 3 (1,4%) případů. Z celkového zastoupení 218 případů vyšlo 36 negativně.

Tabulka 3: Kategorizace a celkové zastoupení progesteronového receptoru

| Kategorie | Počet (PR) | Průměr |
|-----------|------------|--------|
| 0-25% | 30 | 13,8% |
| 25-50% | 20 | 9,2% |
| 50-75% | 27 | 12,4% |
| 75-100% | 81 | 37,2% |
| negativní | 60 | 27,5% |
| Celkem | 218 | 100% |

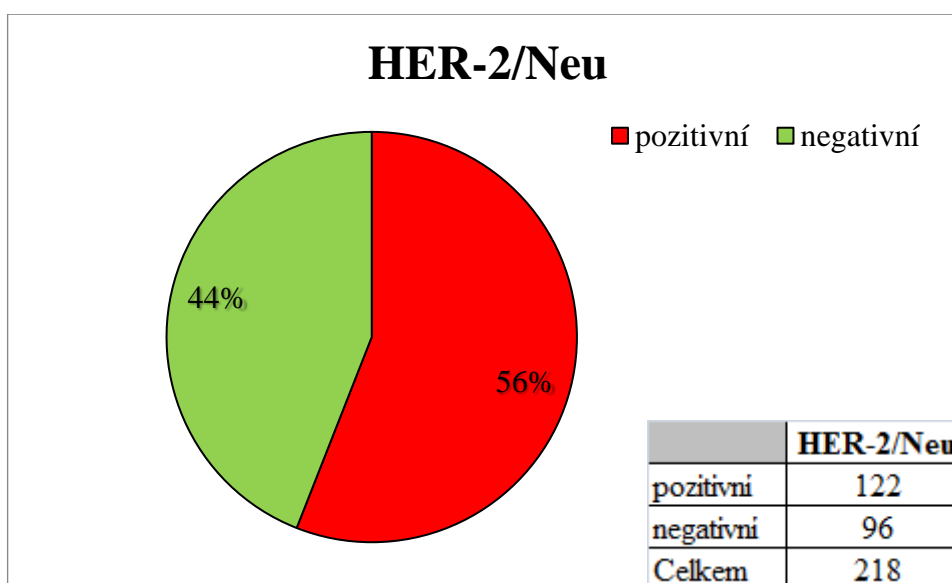
Graf 5: Zastoupení progesteronového receptoru



Zdroj: vlastní výzkum

Tento graf nám ukazuje zastoupení progesteronového receptoru, z něhož vyplívá, že nejvyšší výskyt byl opětovně zaznamenán v kategorii č. 4. S 81 (37,2%) případy a nejnižším v kategorii č. 2. s 20 (9,2%) případy. Z celkového zastoupení 218 případů vyšlo 60 negativně. Avšak PR oproti ER vykazoval vyšší zastoupení negativních výsledků.

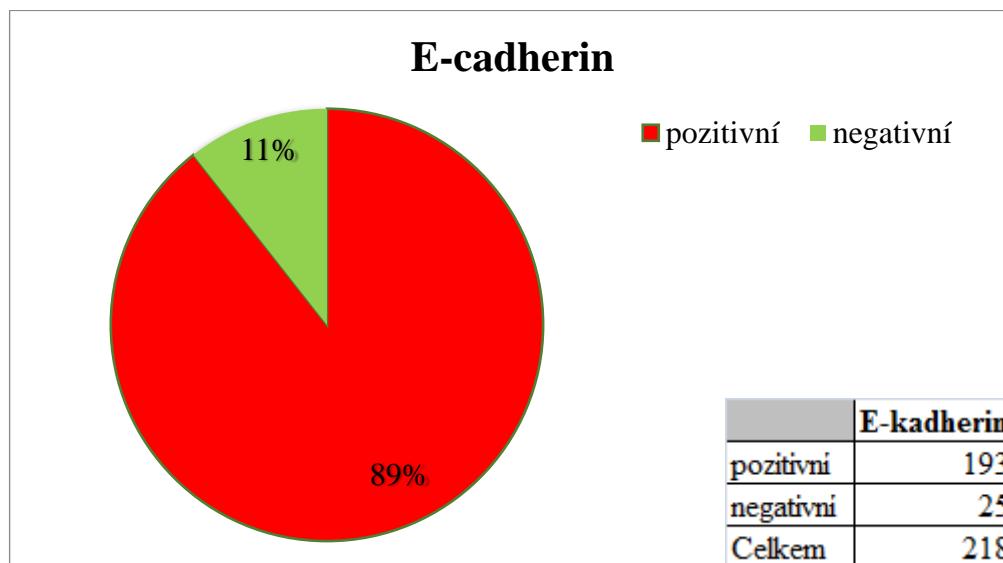
Graf 6: Celkový počet zastoupení onkogenu HER-2/Neu.



Zdroj: vlastní výzkum

Tento graf nám znázorňuje celkové zastoupení onkogenu HER-2/Neu z něhož vyplívá, že se vyskytoval u 122 (56%) případů pozitivní a u 96 (44%) případů negativní.

Graf 7: Celkový počet zastoupení E-cadherinu



Zdroj: vlastní výzkum

Tento graf nám znázorňuje celkové zastoupení E-cadherinu z něhož vyplývá, že se vyskytoval převážně u 193 (89%) pozitivních případů a pouze u 23 (11%) negativní.

13 Diskuze

Ve své bakalářské práci se zabývám imunohistochemickým vyšetřením karcinomu prsu. Laboratorní výzkum jsem prováděla na Oddělení patologie v Nemocnici Písek, a.s.

Ve sledovaném souboru adenokarcinomů prsu jsem pracovala s 218 případy, které jsem retrospektivně stanovovala od roku 2017 a 2018. Zjistila jsem, že odebrané vzorky byly prakticky pouze od žen a jen jediný od muže. Tento poznatek zcela odpovídá statistice uváděné v odborné literatuře, tedy že výskyt zhoubného novotvaru u mužů je přibližně 1000x méně častý. Nejčastějším histologickým podtypem byl invazivní duktální karcinom (87%), následně invazivní lobulární karcinom (10%) a duktální karcinomů in situ (3%). Tento výsledek se rovněž shoduje s všeobecně převládajícím názorem, že IDC je přibližně 10x častěji se vyskytující formou než ILC. Rovněž nízké zastoupení in situ lézí není výrazným překvapením, neboť nález samostatného in situ karcinomu je relativně vzácným a většinou také náhodným jevem. Tato hypotéza byla splněna.

Negativitou ER, PR a HER-2/Neu jsem stanovila triple-negativní léze (6%). Toto zastoupení nezcela koreluje s literárními údaji. Hypotéza tak byla splněna částečně.

Dále byla zjištěna průměrná exprese estrogenových a progesteronových receptorů. V rámci výzkumu jsem se zabývala čistě aktivitou ER, PR a HER-2/Neu, přičemž zbylý imunohistochemický marker (Ki-67) nebyl pro tento výzkum potřebný. E-cadherin byl využit jako hlavní marker odlišující duktální a lobulární podtyp karcinomu prsu. Dle studií, které se zabývaly imunohistochemickou expresí E-cadherinu, je exprese této adhezivní molekuly výrazně snížena až absenční u většiny případů, což také koreluje s výsledky, které ukazují z 89% negativitu.

14 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo seznámení se s problematikou karcinomu prsu, jež je jedním z nejčastějších lidských novotvarů na světě. Onemocnění je charakteristické především závislostí na hormonální expresi, kdy se na vzniku a růstu nádoru nejvíce podílí estrogény – ženské pohlavní hormony. Indukují expresi růstových faktorů a onkogenů (HER-2/Neu), jejichž produkty podněcují proliferaci buněk, které ve zdravé prsní tkáni vytvoří novotvar. Nejčastěji se objevuje v oblasti mlékovodů (duktů), které odvádějí mléko z prsu do bradavky. Dalším místem, kde často vzniká nádor, jsou lobulární laloky, což je žlázovitá tkáň produkující mléko. Důležité je si uvědomit, že pokud se jedná o nezhoubný (benigní) nádor, který roste pouze v místě vzniku a nemá schopnost metastazovat do okolí, neznamená to, že se nemůže po čase změnit v nádor zhoubný (maligní). Buňky zhoubného nádoru se totiž mohou dále šířit do okolních lymfatických uzlin a putovat lymfou nebo krví do ostatních částí těla, kde se mohou dále množit a vytvořit tak vzdálené metastázy, které život pacientky ohrožují. Nejdůležitějším krokem je tomuto procesu zamezit především včasným záchytem nádoru pomocí samovyšetření a screeningové mamografie. V případě detekce již vzniklé léze je nedílnou součástí diagnostického procesu také histopatologické vyšetření, jež zahrnuje i imunohistochemické vyšetření, kterým jsem se ve své práci zabývala, a následně pak zvolit správný léčebný postup.

Ve vyšetřovaném souboru adenokarcinomů, jež zahrnoval 218 případů karcinomů prsu, byl nejčetněji zastoupen histologickým podtyp invazivního duktálního karcinomu 192 případy, následovaný 22 případy invazivního lobulárního karcinomu a v 6 případech se jednalo o duktální karcinom in situ. Na základě negativy ER, PR a HER-2/Neu receptoru jsem vyhodnotila 14 triple-negativních lézí. Vymezenými cíly bylo porovnání imunohistochemického profilu adenokarcinomů prsu a stanovení zastoupení triple-negativních lézí. Oba stanovené cíle byly splněny.

15 Seznam literatury

1. ABRAHAMAS, P. H., DRUGA, R., ed. *Lidské tělo: atlas anatomie člověka*. Praha: Cesty, 2003. ISBN 80-7181-955-7.
2. ABRAHÁMOVÁ, J., 2019. *Co byste měli vědět o rakovině prsu*. 2., aktualiz. a dopl. vyd. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-2055-0.
3. ANDERSON, E., CLARKE, R. B., 2004. Steroid Receptors and Cell Cycle in Normal Mammary Epithelium. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. **9**(1), 3-13. DOI: 10.1023/B:JOMG.0000023584.01750.16. ISSN 1083-3021. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1023/B:JOMG.0000023584.01750.16>
4. BÁRTOVÁ, J., 2004. *Patologie pro bakaláře*. 4. vyd. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-0794-8.
5. *Bioptická laboratoř s.r.o.* - Biopsie včetně imunohistochemie, cytologie, molekulární genetiky. [online]. Copyright © 2004 [cit. 2020-03-04]. Dostupné z: <https://www.biopticka.cz/cz/>
6. BOMBARDIERI, E., BONADONNA, G., GIANNI, L., 2008. *Breast cancer: nuclear medicine in diagnosis and therapeutic options*. New York: Springer. ISBN 978-3-540-36780-2.
7. BOUGHEY, J. C., GONZALEZ, R. J., BONNER, E., KUERER, H. M., 2007. Current Treatment and Clinical Trial Developments for Ductal Carcinoma In Situ of the Breast. *The Oncologist*. **12**(11), 1276-1287. DOI: 10.1634/theoncologist.12-11-1276. ISSN 1083-7159. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/DOI/abs/10.1634/theoncologist.12-11-1276>
8. BÜCHLER, T., 2017. *Speciální onkologie*. Praha: Maxdorf. Jessenius. ISBN 978-80-7345-539-2.
9. ČÍŽKOVÁ, K., 2018. *Základy histochemických metod*. V Olomouci: Univerzita Palackého. ISBN 978-80-244-5316-3.
10. DAI, X., XIANG, L., LI, T., BAI, Z., 2016. Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer Molecular Subtypes. *Journal of Cancer*. **7**(10), 1281-1294. DOI: 10.7150/jca.13141. ISSN 1837-9664. Dostupné z: <http://www.jcancer.org/v07p1281.htm>

11. DE RUIJTER, T. C., VEECK, J., DE HOON, J. P. J., VAN ENGELAND, M., TJAN-HEIJNEN, V. C., 2011. Characteristics of triple-negative breast cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. **137**(2), 183-192. DOI: 10.1007/s00432-010-0957-x. ISSN 0171-5216. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00432-010-0957-x>
12. DYLEVSKÝ, I., MRÁZKOVÁ, O., DRUGA, R., 2000. *Funkční anatomie člověka*. Praha: Grada. ISBN 80-7169-681-1.
13. EPSTEIN, F. H., CLEMONS, M., GOSS, P., 2001. Estrogen and the Risk of Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. **344**(4), 276-285. DOI: 10.1056/NEJM200101253440407. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <http://www.nejm.org/DOI/10.1056/NEJM200101253440407>
14. *Female Breast Cancer* - Cancer Stat Facts. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program [online]. 2016. [cit. 2020-03-04]. Dostupné z: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>
15. FOULKES, W. D., SMITH, I. E., REIS-FILHO, J. S., 2010. Triple-Negative Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. **363**(20), 1938-1948. DOI: 10.1056/NEJMra1001389. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <http://www.nejm.org/DOI/abs/10.1056/NEJMra1001389>
16. FRIEDRICH, K., OELLERICH, H., WESSELS, M., 2017. *Rakovina prsu: poznejte nepřítel a porazte ho*. Přeložil Rudolf RADA. Praha: Euromedia. Esence. ISBN 978-80-7549-155-8.
17. *Fyloidní nádory prsu* - TA ČR Starfos. [online]. Copyright © 2015 [cit. 2020-03-17]. Dostupné z: <https://starfos.tacr.cz/cs/result/RIV%2F00216208%3A11140%2F15%3A10288177>
18. GATĚK, J., 2010. Současný pohled na chirurgickou léčbu DCIS. *Onkologie*, 4(6), 353-356. [online]. 10(2) [cit. 2020-01-20]. Dostupné z: https://www.onkologiecs.cz/artkey/xon-201006-0008_Soucasny_pohled_na_chirurgickou_lecibu_DCIS.php
19. GOLDBLUM, J. R., LAMPS, L. W., MCKENNEY, J. K., MYERS, J. L., 2018. ed. *Rosai and Ackerman's surgical pathology*. Philadelphia, PA: Elsevier. ISBN 978-0-323-26339-9.
20. GUYTON, A. C., HALL, J. E., 2000. *Textbook of medical physiology*. 10th ed. Philadelphia: Saunders. ISBN 0-7216-8677-X.

21. CHOVANEC, J., DOSTÁLOVÁ, Z., NAVRÁTILOVÁ, J., 2008. Karcinom prsu - aktuální problém. *Interní medicína* [online]. 10(2) [cit. 2020-01-20]. Dostupné z: https://www.internimedicina.cz/artkey/int-200802-0010_Karcinom_prsuaktualni_problem.php
22. KALIYAPPAN, K., PALANISAMY, M., DURAIYAN, J., GOVINDARAJAN, R., 2012. Applications of immunohistochemistry. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 4(6). DOI: 10.4103/0975-7406.100281. ISSN 0975-7406. Dostupné také z: <http://www.jpbonline.org/text.asp?2012/4/6/307/100281>
23. KASTNEROVÁ, M., 2016. *Etiopatogeneze civilizačních onemocnění*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta. ISBN 978-80-7394-621-0.
24. KOLAK, A., KAMIŇSKA, M., SYGIT, K., BUDNY, A., SURDYKA, D., KUKIELKA-BUDNY, B., BURDAN, F., 2017. Primary and secondary prevention of breast cancer. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 24(4), 549-553. DOI: 10.26444/aaem/75943. ISSN 1232-1966. Dostupné z: <http://www.journalssystem.com/aaem/Primary-and-secondary-prevention-of-breast-cancer,75943,0,2.html>
25. LAKHANI, S. R., ELLIS, I. O., SCHNITT, S. J., TAN, P. H., VAN DE VIJVER, M. J., 2012. *World Health Organization Classification of Tumours of the Breast, Volume 4*. Lyon: IARC. ISBN 9283224337
26. *Lobular Carcinoma In Situ (LCIS)*. Breastcancer.org - Breast Cancer Information and Support [online]. Copyright © 2020 Breastcancer.org [cit. 2020-02-25]. Dostupné z: <https://www.breastcancer.org/symptoms/types/lcis>
27. MAČÁK, J., MAČÁKOVÁ, J., 2004. *Patologie*. Praha: Grada. ISBN 80-247-0785-3.
28. *Mamo.cz – Program mamografického screeningu v České republice* [online]. Masarykova univerzita, Brno, 2019. [cit. 2020-04-05]. ISSN 1804-0861. Dostupné z: <https://www.mamo.cz>.
29. MANDRIK, O., YAUMENENKA, A., HERRERO, R., JONKER, M. F., ROSA GARCIA, A., 2019. Population preferences for breast cancer screening policies: Discrete choice experiment in Belarus. *PLOS ONE*. 14(11). DOI: 10.1371/journal.pone.0224667. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0224667>

30. MAŇÁKOVÁ, E., 2001. *Metody v histologii*. Praha: Karolinum. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0230-x.
31. MÁŠKOVÁ, M., VELKOVÁ, M., 2018. LABORATORNÍ PŘÍRUČKA ODDĚLENÍ PATOLOGIE: Podklady pro spolupráci mezi oddělením patologie a klinickými pracovišti. Nemocnice Písek, a.s.
32. *Nádory prsu a jeho prevence* - Masarykův onkologický ústav, MOÚ. Onkologie, Prevence a léčba rakoviny - Nemocnice Brno [online]. Copyright © 2020 [cit. 2020-02-20]. Dostupné z: <https://www.mou.cz/nadory-prsu-a-jeho-prevence/t3013>
33. NEZU, A. M., 2004. *Pomoc pacientům při zvládnutí rakoviny*. Brno: Společnost pro odbornou literaturu. ISBN 80-7364-000-7.
34. NOVOTNÝ, J., VÍTEK, P., KLEIBL, Z., 2016. *Onkologie v klinické praxi: standardní přístupy v diagnostice a léčbě vybraných zhoubných nádorů*. 2. vydání. Praha: Mladá fronta. Aeskulap. ISBN 978-80-204-3944-4.
35. PANDYA, S., MOORE, R. G., 2011. Breast Development and Anatomy. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 54(1), 91–95. DOI: 10.1097/grf.0b013e318207ffe9. ISSN 0009-9201.
36. PETRÁKOVÁ K., VYZULA, R., 2006. Masarykův onkologický ústav Brno, Klinika komplexní onkologické péče [online]. [cit. 2019-09-16]. Dostupné z <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/onkologicke-diagnozy/nadory-prsu-c50/o-nadorech-prsu/>
37. PETRUŽELKA, L., KONOPÁSEK, B., 2003. *Klinická onkologie*. Praha: Karolinum. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0395-0.
38. PRAUSOVÁ, Jana, 2010. Karcinom prsu - problém i v 21. století. *Interní medicína* [online]. 12(1), 26-32 [cit. 2019-09-06]. Dostupné z: https://www.internimedicina.cz/artkey/int-2010010005_Karcinom_prsuproblem_i_v_21_stoleti.php
39. PISANO, E. D., GATSONIS, C., HENDRICK, E., *et al.*, 2005. *New England Journal of Medicine*. 353(17). DOI: 10.1056/NEJMoa052911. ISSN 0028-4793. Dostupné také z: <http://www.nejm.org/DOI/abs/10.1056/NEJMoa052911>
40. POVÝŠIL, C., ŠTEINER, I., 2007. *Speciální patologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén. ISBN 978-80-7262-494-2.
41. ROKYTA, R., MAREŠOVÁ, D., TURKOVÁ, Z., 2010. *Somatologie*. Praha: Wolters Kluwer Česká republika. ISBN 978-80-7357-454-3.

42. RYŠKA, A., 2010. *Histologické vyšetření karcinomu prsu* [online]. [cit. 2020-02-26]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/onkologicke-diagnozy/nadory-prsu-c50/histologicke-vysetreni-karcinomu-prsu/>
43. SCHACHT, V., KERN, J. S., 2015. Basics of Immunohistochemistry. *Journal of Investigative Dermatology*. **135**(3), 1-4. DOI: 10.1038/jid.2014.541. ISSN 0022202X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15371499>
44. SILVERSTEIN, M. J., LAGIOS, M. D., RECHT, A., *et al.*, 2005. Image-Detected Breast Cancer: State-of-the-Art Diagnosis and Treatment. *Journal of the American College of Surgeons*. 201(4). DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2005.05.032. ISSN 10727515. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1072751505006642>
45. STRŽÍTESKÝ, J., 2001. *Patologie: [učebnice pro zdravotnické školy a bakalářské studium]*. Olomouc: Epava. ISBN 80-86297-06-3.
46. ŠLAMPA, P., PETERA, J., c2007. *Radiační onkologie*. Praha: Galén. ISBN 978.80-7262-469-0.
47. TALLITSCH, R. B., c2009. *Histology: an identification manual*. Ilustroval GUASTAFERRI, R. S. Philadelphia: Mosby Elsevier. ISBN 978-0-323-04955-9.
48. TAVASSOLI, F. A., DEVILEE, P., ed., 2003. *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. Lyon: IARCPress. World Health Organization classification of tumours. ISBN 92-832-2412-4.
49. VACEK, Z., 1995. *Histologie a histologická technika*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví. ISBN 80-7013-202-7.
50. VOKURKA, M., 2012. *Patofyziologie pro nelékařské směry*. 3., upr. vyd. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-2032-9.
51. VORLÍČEK, J., ABRAHÁMOVÁ, J., VORLÍČKOVÁ, H., 2012. *Klinická onkologie pro sestry*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada. Sestra (Grada). ISBN 978802473742
52. WANG, G. S., ZHU, H., BI, S. J., 2012. Pathological features and prognosis of different molecular subtypes of breast cancer. *Molecular Medicine Reports*. **6**(4), 779-782. DOI: 10.3892/mmr.2012.981. ISSN 1791-2997. Dostupné z: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2012.981>

53. YAO, H., HE, G., YAN, S., CHEN, C., SONG, L., ROSOL, T. J., DENG, X., 2017. Triple-negative breast cancer: is there a treatment on the horizon? *Oncotarget*. **8**(1). DOI: 10.18632/oncotarget.12284. ISSN 1949-2553. Dostupné z: <http://www.oncotarget.com/fulltext/12284>
54. YEH, W. L., LIN, H. Y., WU, H. M., CHEN, D. R., TANG, C. H., 2014. Combination Treatment of Tamoxifen with Risperidone in Breast Cancer. *PLoS ONE*. **9**(6). DOI: 10.1371/journal.pone.0098805. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0098805>
55. ZÁMEČNÍK, J., ed., 2019. *Patologie*. Praha: LD Prager Publishing. ISBN 978-80-270-6457-1.
56. ZIMOVJANOVÁ, M., 2013. Geneticky podmíněný karcinom prsu. *Onkologie*, 225-228 [online]. 7(5) [cit. 2020-04-28]. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/xon-201305-0004_Geneticky_podmineney_karcinom_prsu.php

16 Seznam obrázků a tabulek

| | |
|---|----|
| Obrázek 1: Schematické znázornění terminální duktálně-lobulární jednotky u zdravé ženy (Goldblum et. al., 2018) | 12 |
| Obrázek 2: Dělení prsu na kvadranty | 13 |
| Obrázek 3: Mamogram zobrazující několik ohnisek bilaterálních mikrokalcifikací..... | 17 |
| Obrázek 4: Incidence a mortalita nádoru prsu v ČR..... | 23 |
| Obrázek 5: Biopsie sentinelové uzliny | 28 |
| Obrázek 6: Schéma abnormálního růstu buněk v prsních lalocích nebo v prsních kanálcích | 31 |
| Obrázek 7: Stádia nádoru prsu..... | 33 |
| Obrázek 8: Histologie zobrazující (A) DCIS a (B) LCIS, oba vykazující známky maligních buněk, které zůstávají uvnitř membrán..... | 37 |
| Obrázek 9: Dobře diferenciováný duktální karcinom in situ (DCIS)..... | 38 |
| Obrázek 10: Duktální invazivní karcinom (grade 1) | 41 |
| Obrázek 11: Expres ER v buňkách lobulárního karcinomu (v pravé polovině snímku, vlevo patrna LCIS komponenta)..... | 42 |
| Obrázek 12: Určitý stupeň epiteliální hyperplazie je v gynekomastii poměrně častý. Ve vzácných případech může být poměrně výrazný a simuluje karcinom. Změny naznačující gynekomastii nejsou u mužských nádorů prsu časté. | 43 |
| Obrázek 13: Patologie dědičného karcinomu prsu (Estrogen/Progesteron) | 56 |
| Obrázek 14: Imunohistochemické barvení progesteronového receptoru na invazivním karcinomu prsu zabudované do parafinu s použitím protilátky..... | 56 |
| Obrázek 15: Dynamický rozsah exprese HER-2/Neu (skóre 0-3+). | 58 |
| | |
| Tabulka 1: Hodnocení imunohistochemického barvení pro nadměrnou expresi HER2-Neu (Goldblum et. al., 2018) | 57 |
| Tabulka 2: Kategorizace a celkové zastoupení estrogenového receptoru | 61 |
| Tabulka 3: Kategorizace a celkové zastoupení progesteronového receptoru | 62 |

Seznam zkratek

ABC = avidin-biotin komplex

BLBC = bazální karcinom prsu (basal-like breast cancer)

BRCA-1 = gen nádoru prsu, včasného nástupu 1 (breast cancer 1, early onset)

BRCA-2 = gen nádoru prsu, včasného nástupu 2 (breast cancer 2, early onset)

BRM = Biological Response Modifiers

DAB = 3,3-diaminobenzidin

IHC = imunohistochemie (immunohistochemistry)

FISH = fluorescence in situ hybridizace

LIS = Laboratorní informační systém

ER = estrogenový receptor

PR = progesteronový receptor

FITC = Fluorescein iso-thiocyanát

HER2/Neu = lidský receptor epidermálního růstového faktoru (human epidermal growth factor receptor)

PCR = polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)

FNA = aspirace silnou jehlou (fine needle aspiration)

CT = počítačová tomografie (computer tomography)

BCS = programy screeningu nádoru prsu (breast cancer screening)

MR = magnetická rezonance

PET = pozitronová emisní tomografie

TNBC = triple negativní karcinom prsu (triple negative breast cancer)

CEA = karcinoembryonální antigen (Carcinoembryonic antigen)

Ca = karcinom (carcinoma)

ČR = Česká republika

DCIS = Duktální karcinom in situ

LCIS = Lobulární karcinom in situ

PAP = peroxidáza-antiperoxidázový komplex

TDLJ = terminální duktálně-lobulární jednotky

WHO = Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

Tzv. = takzvaně/takzvaný

Např. = například