

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Nádorová onemocnění mléčné žlázy feny

Bakalářská práce

Autor práce: Markéta Junová

Obor studia: Kynologie

Vedoucí práce: doc. Ing. Eva Chmelíková, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Nádorová onemocnění mléčné žlázy feny“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat paní doc. Ing. Evě Chmelíkové, Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce, všechny rady, připomínky a v neposlední řadě za její ohromnou trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat svým rodičům Věře a Pavlovi a sestře Veronice za podporu všeho druhu, vždy nabídnutou pomocnou ruku a pochopení. Nakonec velice děkuji svému nejdražšímu příteli Romanovi za to, že mi nikdy nedovolil hodit flintu do žita v krušných chvílích při psaní mé bakalářské práce, za převelikou dávku podpory ve formě slov a gest a za neochvějnou trpělivost ve chvílích, kdy sdílet se mnou jednu domácnost nebylo vůbec jednoduché.

Nádorová onemocnění mléčné žlázy feny

Souhrn

Nádorová onemocnění mléčné žlázy představují průměrně 50-70% všech nádorových onemocnění u fen a jsou tak nejčastěji diagnostikovanými novotvary těchto zvířat. Polovina nádorů na mléčné žláze je maligního typu, druhou polovinu představují nádory benigní. Na rozvoj nádorového bujení v mléčné žláze mají mimo jiné vliv především hormony vaječníků během období puberty, ve kterém se mléčná žláza rozvíjí. Dále genetické faktory, věk a obezita. Diagnostika neoplazií v mléčné žláze zahrnuje laboratorní vyšetření krve a moči, cytologické vyšetření nádorových buněk získaných pomocí tenkojehlové aspirace (FNA) či tenkojehlové aspirační biopsie (FNAB) a histologickou diagnózu. Histopatologické vyšetření je nejspolehlivější metodou k přesné diagnostice nádoru včetně stanovení typu nádoru, benignity či malignity, stupně a prognózy. Předoperační vyšetření zahrnuje 3 rentgenové snímky hrudníku se zaměřením na plíce, které jsou nejčastějším místem výskytu metastáz u nádorů mléčné žlázy fen. Avšak ještě přesnější metodou je počítačová tomografie, která odhalí i metastázy menší než 0,5 cm. Jednoznačně nejefektivnější doporučovanou prevencí je ovariohysterektomie před první říjí feny. Prognóza u fen s chirurgicky odstraněnými benigními nádory je velmi příznivá. U maligních nádorů je velmi proměnlivá dle faktorů, které ji výrazně ovlivňují. Nejhorší prognózu vyjadřují zánětlivé karcinomy mléčné žlázy, které představují 5% případů ze všech nádorových onemocnění na mléčné žláze fen. Velmi špatnou prognózu pro přežití feny vyjadřují taktéž sarkomy a především osteosarkomy mléčné žlázy oproti ostatním karcinomům. Stěžejní úlohu při stanovení prognózy tvoří také velikost nádoru. S rostoucí velikostí je předpovídána horší prognóza. Celková úmrtnost fen léčených s nádory na mléčné žláze kolísá mezi 20-55%. Za nejpraktičtější a nejúčinnější způsob léčby je stále považována chirurgická excise nádoru a zasažených tkání. K odstranění jsou využívány různé chirurgické techniky, avšak nejefektivnější je unilaterální mastektomie, kdy je odstraněn celý řetězec mléčné žlázy na jedné straně těla jako celek. Při částečném odstranění mléčného řetězce hrozí u maligních nádorů recidiva ve zbylých mléčných jednotkách až z 60%. Adjuvantní léčbu představuje chemoterapie a radioterapie.

Klíčová slova: pes, nádorová onemocnění, mléčná žláza

Canine mammary gland tumors

Summary

Mammary gland tumors form 50-70% of all cancer diseases in female dogs on average and thus they are the most frequently diagnosed tumors in these animals. A half of mammary gland tumors is malignant, the other half is benign. The development of tumor spreading in the mammary gland is mainly influenced by ovary hormones during adolescence when the mammary gland is developing. Among other factors there are genetic factors, age and obesity. The diagnostics of mammary gland neoplasms include a laboratory examination of blood and urine, a cytology test of tumor cells acquired using the Fine Needle Aspiration (FNA) or the Fine Needle Aspiration Biopsy (FNAB) methods and a histological diagnosis. A histopathologic examination is the most reliable method for an exact tumor diagnosis including the determination of the type of tumor, whether it is malignant or benign, its degree and prognosis. The preoperative examination includes three X-ray images of the chest focusing on lungs which are the most frequent place of metastases occurrence in mammary gland tumors in female dogs. Computer tomography is, however, an even more exact method enabling to discover metastases smaller than 0.5 cm. Ovariohysterectomy before the female dog's first heat cycle is definitely the most effective recommended prevention. The prognosis is very favorable for female dogs with surgically removed benign tumors. For malignant tumors, the prognosis varies depending on factors which have strong impact on it. The prognosis is the worst for mammary gland inflammatory carcinoma which forms 5% of all mammary gland tumor diseases in female dogs. Mammary gland sarcoma and especially osteosarcoma present a very poor prognosis compared to the other carcinomas. The tumor size is also crucial for determining a prognosis. The bigger the size the worse prognosis is predicted. The overall mortality rate for female dogs treated for mammary gland tumors is 20-55%. The surgical excision of the tumor and affected tissues is still considered the most practical and effective way of treatment. Different surgical techniques are used for the excision, the most effective being the unilateral mastectomy in which the whole of the mammary gland chain is removed on one side of the body. After partial removal of the mammary chain in malignant tumors there is a risk of relapse in the remaining mammary units which may be as high as 60%. Adjuvant treatment is represented by chemotherapy and radiotherapy.

Keywords: dog, tumor diseases, mammary gland

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce	2
3 Literární rešerše.....	3
3.1 Mléčná žláza feny	3
3.1.1 Anatomie mléčné žlázy	3
3.1.1.1 Stavba a stratigrafie mléčné žlázy u feny	4
3.1.2 Mikroskopická stavba komplexu mléčné žlázy feny	5
3.1.3 Cévy a nervy mléčné žlázy	7
3.1.4 Mízní systém mléčné žlázy.....	8
3.1.5 Mamogeneze a fyziologie mléčné žlázy	9
3.1.6 Mlezivo a mléko (<i>lac</i>)	12
3.1.6.1 Laktogeneze a laktace.....	14
3.1.6.2 Neurohumorální reflexní oblouk a regulace ejekce mléka	15
3.1.7 Říjový cyklus a mléčná žláza	16
3.1.8 Pseudogavidita – falešná březost a mléčná žláza	18
4 Nádorová onemocnění mléčné žlázy feny	19
4.1 Obecný přehled, charakteristika a vzniku nádorů	19
4.1.1 Definice	19
4.1.2 Genetická podstata nádorových onemocnění a vznik	20
4.1.3 Charakteristika nádorového procesu	22
4.1.4 Nádorové buňky.....	23
4.2 Druhá klasifikace nádorů a morfologie	25
4.2.1 Klasifikace nádorů mléčné žlázy psů a koček dle doporučení WHO (World Health Organization)	27
4.2.2 Klasifikace nádorů dle biologických vlastností	30
4.2.2.1 Benigní nádory.....	30
4.2.2.2 Maligní nádory.....	31
4.3 Pravděpodobnost a statistiky výskytu nádorů mléčné žlázy fen	36
4.3.1 Nádory mléčné žlázy u samců psa domácího (<i>Canis lupus familiaris</i>)	37
4.4 Faktory ovlivňující vznik nádorů mléčné žlázy fen	37
4.4.1 Věk	37
4.4.2 Plemenná příslušnost a genetické predispozice	38
4.4.3 Hormonální vliv na vznik CMT.....	40
4.4.4 Váha, obezita a složení krmné dávky jako faktory ovlivňující vznik CMT.....	41
5 Prevence rozvoje CMTs (Canine Mammary Tumours)	41
5.1 Kastrace (ovariohysterektomie = OHE)	41

6 Diagnostika nádorů mléčné žlázy fen	42
6.1 Symptomy	42
6.2 Vyšetření feny s podezřením na nádorové onemocnění mléčné žlázy	43
6.2.1 Diagnostické metody a předoperační vyšetření	43
6.2.1.1 Laboratorní vyšetření	43
6.2.1.2 Cytologické vyšetření nádoru mléčné žlázy	44
6.2.1.3 Histopatologie nádoru mléčné žlázy	45
6.2.1.4 Další doporučená předoperační vyšetření feny s CMT	46
7 Prognóza feny s nádorem na mléčné žláze	47
7.1 Histologické vyšetření nádoru a jeho klasifikace jako hlavní prognostické faktory	47
7.1.1 Typ zhoubného nádoru jako prognostický ukazatel	48
7.2 Další klinické prognostické faktory CMT	49
7.2.1 Velikost nádoru.....	49
7.2.2 Stav lymfatických uzlin.....	49
8 Terapie nádorů mléčné žlázy fen	49
8.1 Chirurgická terapie	50
8.1.1 Chirurgické techniky užívané k odstranění nádorů mléčné žlázy u fen....	51
8.1.1.1 Lumpektomie nebo nodulektomie.....	51
8.1.1.2 Jednoduchá mastektomie	51
8.1.1.3 Regionální mastektomie	52
8.1.1.4 Jednostranná mastektomie (Unilaterální)	54
8.1.1.5 Oboustranná mastektomie (Bilaterální)	54
8.1.1.6 Provedení OHE současně s mastektomií	54
8.1.2 Pooperační péče	55
8.1.2.1 Pooperační komplikace.....	55
8.2 Adjuvantní terapie fen s nádory mléčné žlázy	55
8.2.1 Chemoterapie	55
8.2.1.1 Vedlejší účinky chemoterapie a selhání léčby	57
8.2.2 Radioterapie	58
9 Závěr	59
10 Seznam použité literatury	60

1 Úvod

Nádorová onemocnění mléčné žlázy jsou u žen nejčastějším typem nádorového bujení. Vzhledem k tomu, že případů stále přibývá a úmrtnost léčených žen kolísá mezi 20-55%, je třeba jim věnovat náležitou pozornost.

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je podat formou literární rešerše ucelený přehled o problematice nádorových onemocnění mléčné žlázy fen.

3 Literární rešerše

3.1 Mléčná žláza feny

Mléčná žláza je u savců největší a nejdůležitější kožní žlázou (König and Liebich, 2002). Mléčná žláza produkující mléko, které souží k výživě mláďat je apokrinní modifikovaná kožní žláza (Černý, 2002). Z více mikroskopického pohledu je žláza klasifikována jako modifikovaná exokrinní apokrinní tubuloalveolární složená potní žláza s vnější sekrecí vyskytující se jen u savců (König and Liebich, 2002; Rozinek a Ješeta, 2014).

3.1.1 Anatomie mléčné žlázy

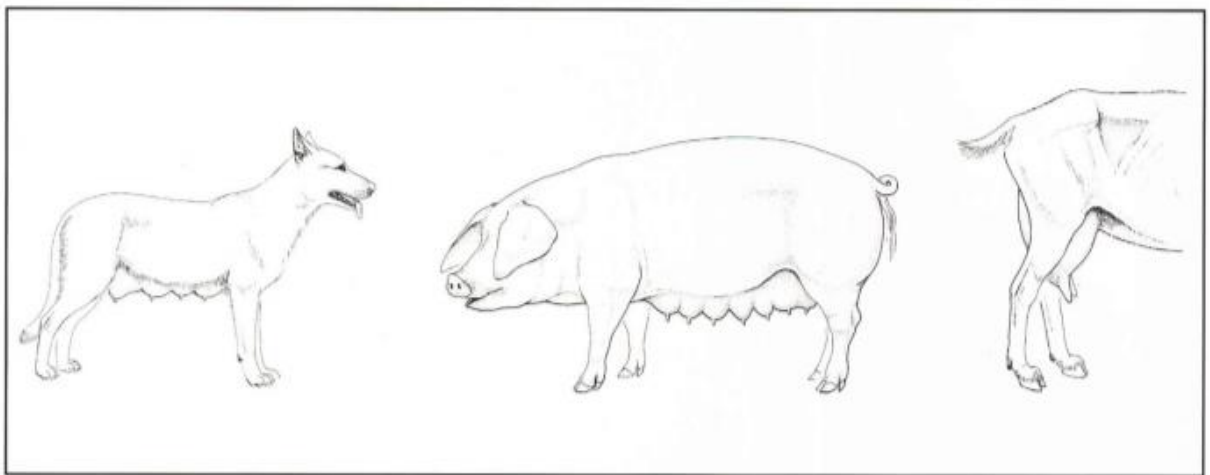
Mléčnou žlázu tvoří mléčná lišta probíhající na ventrální straně trupu. Blíže jsou určovány tři samostatné krajiny podle uložení mléčné žlázy na ventrální břišní stěně: krajina břišních mléčných žláz (*regio mammaria abdominalis*), krajina tříselných mléčných žláz (*regio mammaria inguinalis*) a krajina vemene (*regio uberis*). Domácí zvířata se rozlišují podle místa rozvoje a definitivního uložení mléčné žlázy. Inguinální typ je skot, kůň, ovce a koza. Tito savci mají mléčnou žlázu uloženou v oblasti třísel. Thorakoinguinální typ je prase a pes. A thorakoabdominální typ je kočka (Černý, 2002). U feny jsou tedy párová vemínka seřazena za sebou od hrudníku až po oblast třísel (Budras et al., 2007). Mléčná žláza je složena z druhově rozdílného počtu párových souborů mammárních komplexů. Tyto párové soubory jednotek mléčné žlázy jsou oboustranně připevněny na ventrální stěnu trupu, paralelně s mediální linií. U šelem jsou mléčné žlázy označovány jako tzv. vemínka (König and Liebich, 2002). Mléčné lišty jsou hojně kryté tukovou tkání (Svoboda a kol., 2001).

Tvořena je žlázovým tělesem (*corpus mammae*) z něhož ústí vývodné cesty na vrcholu bradavky neboli struku (*papilla mammae*). Mléčný soubor resp. komplex náležící jednomu struku je tedy označován jako mamma (Najbrt, 1982).

Fena má nejčastěji 5 až 6 mléčných žláz na každé straně, které jsou oboustranně symetricky uloženy po stranách bílé čáry (*linea alba*) (Černý, 2002; Procházka, 2005; Najbrt 1982; Silver, 1966). V některých případech mají feny jen 4 páry mléčných žláz (Sorenmo et al., 2011; Silver, 1966). U feny je možný i lichý počet vemínek mléčné žlázy (Budras et al., 2007). Tvorba mléčné žlázy a funkčních vemínek není vždy symetrická, je známo mnoho případů, kdy fena měla sedm či dokonce devět mléčných žláz a vemínek. Nadpočetné mléčné žlázy se častěji vyskytují v břišní a hrudní krajině než v krajině stydké (Evans and de Lahunta, 2013). V jedné řadě jsou od sebe mléčné žlázy odděleny příčným žlábkem, který se vytrácí

v období laktace v souvislosti se zvětšením žláz. Z hlediska topograficko-regionálního se mammární soubory nachází v krajině kosti hrudní (*regio sternalis*) neboli spíše v krajině žeberní (*regio costalis*), v přední, střední a kaudální břišní krajině (*regio abdominis cranialis, media et caudalis*) a v tříselné krajině (*regio inguinalis*) (Černý, 2002). Nejčastěji se vyskytují feny s celkovým počtem deseti mléčných žláz, následují feny s osmi komplexy mléčné žlázy a nejméně se setkáváme s dvanácti mléčnými žlázami. Pokud má fena deset komplexů mléčných žláz jsou první čtyři v hrudní oblasti relativně malé, následují je další čtyři komplexy střední velikosti v krajině břišní a poslední dva relativně velké jsou uloženy v krajině stydké (Evans and de Lahunta, 2013; Silver, 1966).

Obr. 1 Mléčná žláza psa, prasete a kozy (König and Liebich, 2002).



3.1.1.1 Stavba a stratigrafie mléčné žlázy u feny

První vrstvu tvoří kůže a podkožní vazivo (Černý, 2002). Kůže je modifikovaná a na struku neochlupená. Na těle žlázy je různě řídko ochlupená podle druhu zvířete. Po podkoží je kůže mléčné žlázy lehce fyziologicky posouvateľná, tato schopnost mizí při zánětu žlázy (König and Liebich, 2002). Vlivem hormonů nastane několik dnů před porodem v oblasti mléčné žlázy vypadávání chlupů, aby měla štěňata volný přístup k vemínkům a nehledala je namáhavě v srsti feny (Mikulica, 1992).

Další vrstvou pod kůží je povázka povrchového svalu trupu (*fascia superficialis trunci*) dále její inguinální část, do které vrůstá supramammární sval (*m. supramammarius*) a abdominální část. Supramammární sval je derivátem kožního svalu trupu, významný je zejména při období laktace. Při sání štěňat se reflexně stahuje a vyvíjí tak tlak na parenchym mléčné žlázy, tímto mechanismem napomáhá k ejekci mléka do struku při kojení (Černý, 2002). Supramammární sval fen je homologní s předkožkovým svalem u samců (*m.*

preputialis) je ale užší a jemnější (Evans and de Lahunta, 2013). Třetí vrstvou je žlázo­vý parenchym (*glandula mammaria*) (Černý, 2002). Žlázo­vý parenchym produkuje a vylučuje mléko z příslušných transportních systémů v interparenchymatickém vazivu (*interstici­um*) (König and Liebich, 2002). Ve významné míře je sekreční tkáň přítomna pouze v období gravidity, pseudogravidity, laktace a odchovu štěňat do 40 až 50 dnů po porodu, kdy probíhá odstav (Evans and de Lahunta, 2013; Silver, 1966; Sorenmo et al., 2011). Pod žlázo­vým parenchymem je čtvrtá vrstva a to povázka hlubokého svalu trupu (*fascia profunda trunci*), na ní bazálními plochami přiléhají jednotlivá tělesa mléčných žláz (Černý, 2002).

3.1.2 Mikroskopická stavba komplexu mléčné žlázy feny

Do laloků je mléčná žláza rozdělena interlobulární pojivovou tkání (Sleeckx et al., 2011). Jedna nebo více jednotek mléčné žlázy s intersticiálním vazivem, nervy, krevními a lymfatickými cévami tvoří celkový jeden mamární komplex. Jedna jednotka mléčné žlázy je tvořena žlázo­vým tělesem (*corpus mammae*), to je tvořeno vlastním žlázo­vým parenchymem (*glandula mammaria*), který produkuje a vylučuje už samotné mléko transportními systémy v interparenchymatickém vazivu. Tento systém vývodů je mnohonásobně rozvětvený dutinový systém dané mamární jednotky a spojuje otvor struku (*ostium papillare*) se žlázo­vým parenchymem. Otvor struku je uzavřen svalovým nebo elastickým, vazivovým systémem, který je mezidruhově rozdílný a specifický pro daný druh (König and Liebich, 2002). I když jsou jednotky mléčné žlázy seřazeny těsně vedle sebe, jsou naprosto samostatné a nespojují se s ostatními jednotkami komplexu mléčné žlázy (Rozinek a Jeřeta, 2014).

Sekreční alveolus je základní funkční jednotkou, která tvoří dutinku a secernuje mléko (Reece, 2011). Alveoly mléčné žlázy jsou vystlány jednovrstevným až plochým (izoprizmatickým) epitelem. Jsou to koncové úseky žlázy, mezi nimiž jsou vazivová septa s nervy a cévami. Jejich částečné uspořádání za sebou dává vznik lalůčkům mléčné žlázy. Spojení několika žlázo­vých lalůček v lalok mléčné žlázy zajišťují silnější vazivová septa. Alveoly produkují a vylučují mléko (König and Liebich, 2002). Při porodu je žláza složena z duktálně lobulární alveolární struktury (Silver, 1966).

Směrem zevnitř ven se ve žlázo­vém parenchymu rozlišují oddíly s odlišnou funkcí:

- I. koncové úseky žláz neboli alveoly, které představují strukturu tvorby mléka
- II. mlékovody (*ductus lactiferi*), které zajišťují systém vývodů a transport mléka
- III. mlékojem (*sinus lactifer*) v němž se mléko hromadí (König and Liebich, 2002).

Do mlékojemu (*sinus lactifer*) ústí přes jeho bazální úsek více větších mlékovodů (*ductus lactifer*) jejichž stěnu tvoří epitel a pojivová vrstva. Tento epitel mléčných kanálek je kubický jednovrstevný, zvětšuje se v silnějších kanálcích na cylindrický jednovrstevný. Dvoustevný cylindrický epitel je pak v nejsilnějších mlékovodech. Ve stěnách mlékojemů a epitelu mlékovodů se někdy vyskytují myoepitelové buňky, které se vyskytují také ve stěně sekrečních alveolů mezi epitelem a lamina basalis (König and Liebich, 2002). Tyto buňky regulují pokles tvorby mléka díky jejich kontraktilitě. Buňky se stahují a vypuzují tak mléko směrem ven (Sleeckx et al., 2011).

Mlékovody se vyznačují mnohočetným rozvětvením, které odpovídá uspořádání mléčné žlázy do laloků a lalůček (König and Liebich, 2002). Jako lalůček (*lobulus*) je tedy označeno několik spojených alveolů dohromady, které jsou obklopeny vrstvou pojivové tkáně (Reece, 2011). Mléko vytéká malými vývody z jednotlivých lalůček žlázového parenchymu (*lobuli glandulae mammae*) do laloku mléčné žlázy (*lobus glandulae mammae*) a z tohoto laloku mléko přijímá jeden mlékovod. Strukturou složené tubulární žlázy pak lalůčky vypadají jako vinný hrozen. Za mlékojemem je připojen krátký a úzký strukový kanálek (*ductus papillaris*). Kanálek je vyústěn na vrcholu struku ve strukovém otvoru (*ostium papillare*) a je vystlán rohovatějším vrstevnatým epitelem (König and Liebich, 2002). Strukový kanálek je těsně uzavřen svalovým svěračem (Reece, 2011). Počet kanáleků, jež ústí na jedné bradavce je variabilní. Kanálkové otvory vyúsťují na tupém konci struku v nepravidelném vzoru. Počet papilárních kanáleků (*ductus papillares*) se nejčastěji pohybuje mezi 7 až 16 (Silver, 1966). Každý kanálek zasahuje přibližně do jedné třetiny délky bradavky. Kanálky obklopují svalová vlákna a spojují se do svěračů kanáleků (*m. sphincter papillae*) (Evans and de Lahunta, 2013). Při základně struku u feny jsou jemné chlupy a ostatní části struku pokrývá kůže bez chlupů. V kůži struků jsou povrchové srstní žlázy. Struky feny jsou 5 – 15 mm dlouhé a jejich hrot je plochý a tupý (Najbrt, 1982). Kůže na vrcholu struků je velice tenká a zesiluje se směrem k základně, může být pigmentovaná. Pigment je v zárodečné vrstvě epidermis (Evans and de Lahunta, 2013).

Mléko se tedy hromadí v mlékojemě a ústí do něj jednotlivé mlékovody. Ve struku je uložen distální úsek mlékojemě (*pars papillaris sinus lactiferi*) a proximální žlázová část mlékojemě (*pars glandularis sinus lactifer*), která představuje několiknásobně rozdělený, velkoobjemový dutinový systém a nachází se uvnitř těla mléčné žlázy. Mezi těmito úseky je naznačena hranice tzv. Fürstenbergerovou rozetou, což je slizniční řasa (König and Liebich, 2002). Pokud je rozeta poškozena nebo postižena zánětem, schopnost uzavření strukového

kanálu může být omezena a vzniká tak predispozice k zánětům mléčné žlázy, které vyvolávají mikroorganismy (Reece, 2011).

3.1.3 Cévy a nervy mléčné žlázy

Mléčná žláza je jako orgán velmi hojně vaskularizována a bohatě zásobena krví. U feny, jakožto druhu s thorakoinguinálním uložením mléčné žlázy se na krevním zásobení kromě zevní stydké tepny (*a. pudenda externa*) podílí ještě mnoho dalších cév (Černý, 2002). Žíly jsou zde rozsáhlejší než tepny. K hrudním mléčným žlázám je přiváděna arteriální krev prostřednictvím perforujících vnitřních hrudních tepen, které pronikají mezižeberními prostory (Evans and de Lahunta, 2013). Krevní zásobení žlázy je zajištěno povrchovými cévami ventrální stěny tělní. Tepennou krev k hrudním mammárním komplexům na ventrální straně přivádí prsní větve (*rr. mammarii*) a podkožní nadbřišní tepna (*a. epigastrica cranialis superficialis*), která prostupuje ventrální hrudní stěnou jako větev ze zadní hrudní tepny (*a. thoracica interna*) (König and Liebich, 2002). Další větve *rami mammarii* prochází hrudní stěnou v mezižeberních prostorech a dále se rozvětvují v parenchymu hrudních mammárních komplexů. Hrudní oblasti ještě částečně zásobuje ventrální mezižeberní tepna (*aa. intercostales ventrales*) a zevní hrudní tepna (*a. thoracica externa*). Abdominální a inguinální mléčné žlázy jsou krveny větvemi povrchových epigastrických tepen (Evans and de Lahunta, 2013). Dále prokrvení kranialní i kaudální části břišních mammárních komplexů zajišťuje kranialní břišní tepna (*a. abdominalis cranialis*) a hluboké kyčelní tepny (*a. circumflexa ilium profunda*). Tepny kopírují stejnojmenné žíly a zajišťují odtok krve (Černý, 2002).

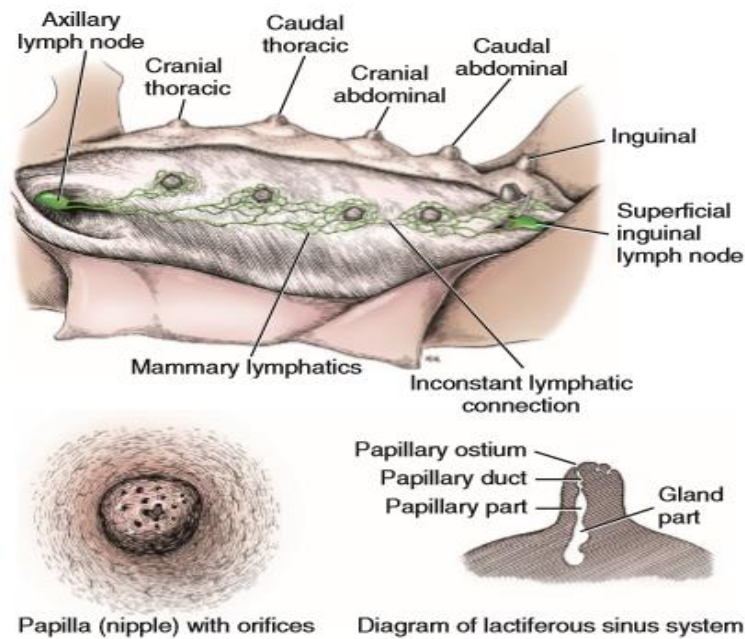
Nervovou kontrolu mléčné žlázy zajišťují senzitivní nervy kůže a struků ale i autonomní (sympatická a parasympatická) nervová vlákna a pleteně (König and Liebich, 2002). Nervy jsou rozloženy v parenchymu žlázy, hladké svalovině vemínek i kůže a okolo krevních cév (Evans and de Lahunta, 2013). Kromě bederní a křížové nervové pleteně (*plexus lumbalis* a *plexus sacralis*) se na inervaci mléčné žlázy podílí ještě prsní větve (*rami mammarii*) (Černý, 2002). Thorakální oddíl mléčné žlázy a její komplexy v této oblasti inervují senzitivně i autonomně větve mezižeberního nervu (*nn. intercostales*) a to *rr. mammarii laterales et mediales* (König and Liebich, 2002). Kranialní hrudní mléčnou žlázu inervují laterální kožní větve čtvrtého až šestého ventrálního ramene hrudního mezižeberního nervu (Evans and de Lahunta, 2013). Koncový oddíl hrudní krajiny žlázy je inervován rameny šestého a sedmého mezižeberního nervu. Břišní a inguinální část mléčné žlázy inervuje 13. mezižeberní nerv, dále pak žebro-břišní nerv (*n. costoabdominalis*) (Černý, 2002).

Abdominální a inguinální část mammárních komplexů a jejich kůže získává inervaci pomocí ventrálních kožních větví nervů pleteně bederní. Přesněji nerv kyčlopodbřiškový (*n. iliohypogastricus cranialis et caudalis*), kyčlotříselný nerv (*n. ilioinguinalis*) a nerv pohlavně stehenní (*n. genitofemoralis*) jehož větve pronikají hluboko do mléčné žlázy (König and Liebich, 2002).

Studie Pinha and Gulbenkaina (2007) uvádí, že inervace mléčné žlázy feny je primárně spojena s vaskulaturou a probíhá prostřednictvím peptidergických nervů. To jsou nervy využívající peptidy jako hlavní neurotransmitery. V mléčné žláze jsou zapojovány do lokální regulace toku krve. Jsou též významné pro aferentní dráhu reflexního oblouku ejakce mléka v návaznosti na jejich přítomnost ve vemínkách.

3.1.4 Mízní systém mléčné žlázy

Každá mléčná žláza má vlastní lymfatický svazek kanálků, které anastomozují a obklopují základnu bradavky. Svazky jsou lokalizovány i v parenchymu a podkoží. Obvykle ze svazku vybíhá jeden až tři lymfatické kanály a prochází povrchně k nejbližšímu lymfatickému uzlu (Evans and de Lahunta, 2013). Celkově je z mléčné žlázy lymfa odváděna do regionálních lymfatických uzlin. Z hrudních a kranálních břišních mammárních komplexů je lymfa odváděna do podpažní mízní uzliny (*lymphonodi axillaris*) (König and Liebich, 2002). Z podpažní mízní uzliny vystupuje odštěpek, tzv. přídatná podpažní mízní uzlina (*In. axillaris accessorius*) ta je lokalizována v třetím mezižebří na dorzálním okraji vzestupného prsního svalu. Sem je přiváděna míza z kůže ventrální hrudní stěny a z kranálních vemínek (Najbrt, 1982). Z kaudálních břišních a inguinálních komplexů je míza odváděna do tříselných povrchových lymfatických uzlin (*lymphonodi inguinales superficiales*), ty leží při bázi inguinálních částí mléčné žlázy a jsou zde hmatatelné (König and Liebich, 2002). Z mléčných žláz ve stydké krajině je sběr a odvod lymfy zajištěn rozsáhlým lymfatickým svazkem a povrchovým inguinálním lymfatickým uzlem (Evans and de Lahunta, 2013).



Obr. 2 Topografie a struktura mléčné žlázy feny (Evans and de Lahunta, 2013).

Zleva: Stav podkoží struků mléčné žlázy feny – Axilární lymfatická uzlina, kraniální hrudní struk, kaudální hrudní struk, kraniální břišní struk, kaudální břišní struk, struk krajiny stydké, povrchová lymfatická uzlina v krajině stydké, mízní cévy mléčné žlázy, nestálé lymfatické spojení. Zobrazení struku feny s několika vývody na jeho hrotu. Schéma mléčných vývodů struku – Na vrcholu je ústí kanálku, níže strukový kanálek, pokračuje struková část mlékojemu a poslední část je žláznatá část mlékojemu.

Nádorové buňky z tumorů mléčné žlázy mohou být v těchto uzlinách zachytávány a proto se při mastektomii (odstranění mléčné žlázy) preventivně také odstraňují (König and Liebich, 2002). Podle de Araújo et al. (2015) mohou být mezi lymfatickým a cévním systémem mléčné žlázy spojení, která pak představují pro metastázy nádorů přímou cestu. Přesto, že se mezi oběma lištami mléčné žlázy u feny nevyskytuje přímé lymfatické spojení Patsikas and Dessiris (1996a; 1996b) objevili spojení mezi povrchovými inguinálními i axilárními lymfatickými uzlinami. Přechod lymfy z jedné mléčné lišty do druhé je tedy možný přes tyto spoje. Dále prokázali, že lymfa může procházet mezi jednotlivými mléčnými žlázami přes společné regionální lymfatické uzliny a to i zpětným proudem.

3.1.5 Mamogeneze a fyziologie mléčné žlázy

Mamogeneze je prvním a hlavním obdobím ve vývoji mléčné žlázy. Dále vývoj pokračuje přípravou na laktaci procesem, který je nazýván laktogeneze. Při laktaci již dochází k produkci a ejakci nejprve mleziva a pak mléka (Jelínek a Koudela, 2003).

Mléčná žláza se vyvíjí už v prenatálním období v průběhu fetálního vývoje u obou pohlaví. Dále se vyvíjí postnatálně během puberty a gravidity a to pouze u samic (König and Liebich, 2002). U samců zůstává základ mléčné žlázy (*mamma masculina*) dále nerozvinutý (Najbrt, 1982). Mléčná žláza bývá často označována jako přídatná pohlavní žláza samičího pohlavního ústrojí. Její vývoj a plná funkčnost je závislá na samičích pohlavních hormonech a to hlavně na progesteronu a prolaktinu. Samičí pohlavní hormony, na které mléčná žláza reaguje, jsou až do puberty přítomné jen v nízkých koncentracích (Reece, 2011). Mléčná žláza se plně vyvine až na konci první březosti (König and Liebich, 2002).

Během embryonálního vývoje vzniká mléčná žláza z mléčné lišty, která se táhne jako pruh zmnožené epidermis po ventrolaterální straně trupu, od podpažní jamky až na mediální plochu stehna (Najbrt, 1982). Při embryonálním vývoji zesílí ektoderm, pod kterým jsou specializované oblasti mezodermu a objeví se ventrální hřebeny. Později se z hřebenů stanou mléčné lišty, podél kterých migrují buňky ektodermu a slučují se. Ze shluků buněk se vyvinou jednotlivé mléčné žlázy. Epiteliální buňky rostou a vznikají základy epiteliálních čepů (Sorenmo et al., 2011). Z každého čepu se vytvoří jedna mléčná jednotka. Před narozením případně těsně po narození feny se množением buněk primární čepy rozvětví na sekundární a terciární. Z každého vznikne určitá část mléčné jednotky. Z primárních čepů vzniknou mlékojemy, ze sekundárních čepů hlavní mlékovody a z terciárních žlázová část a jemné mlékovody (Rozinek a Ješeta, 2014).

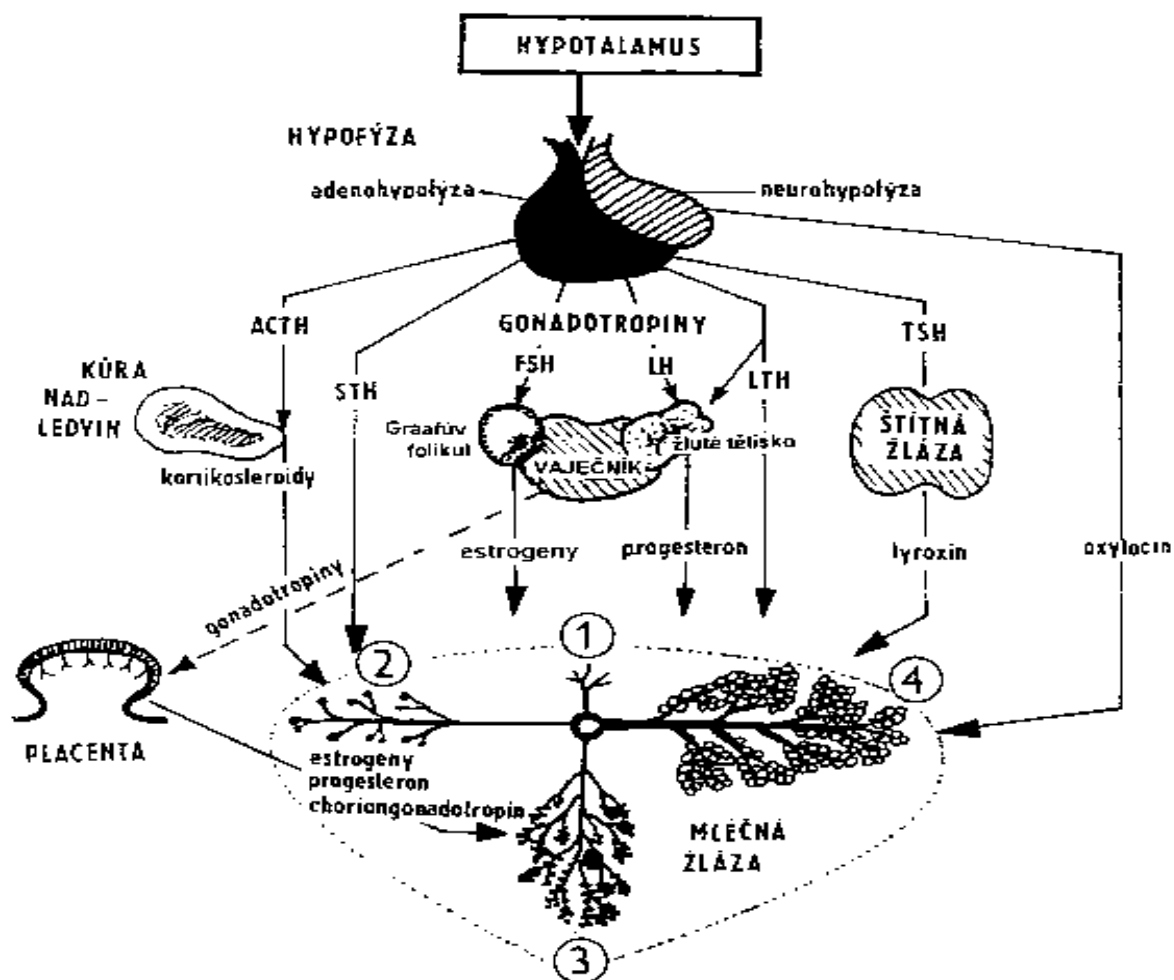
Struky se u feny vyvíjí růstem alveolární tkáně v everzní (převrácené) struky, které mají dvorec. Postnatálně není tělo žlázy ještě vytvořeno a u obou pohlaví je tak mléčná žláza nenápadná i díky malým, nevyvinutým strukům. Žláza se v tomto období skládá pouze ze strukového kanálku, mlékojemu a základů mlékovodů v podobě krátkých epitelových čepů (König and Liebich, 2002). Tuková tkáň vyplňuje prostory budoucího žlázového parenchymu (Jelínek a Koudela, 2003). Během dospívání a pohlavního vývoje u fen zrají ve vaječnicích folikuly a tím se zvyšuje hladina estrogenu v krvi. Zvýšení hladiny samičího hormonu podporuje v mléčné žláze proliferaci vaziva a tukové tkáně, ta lokalizuje žlázu a udržuje místo k růstu epiteliálních čepů, aby dali základ mlékovodům (*ductus lactiferi*). Ty se dále několikrát větví a dají tak základ malým mlékovodům (König and Liebich, 2002; Reece, 2011).

Do pohlavní dospělosti je mléčná žláza ve stádiu relativního klidu (Jelínek a Koudela, 2003). Folikulostimulační hormon (FSH) a luteinizační hormon (LH) jsou na začátku puberty vyplavovány z předního laloku hypofýzy. Jejich aktivita stimuluje vaječníky k produkci

samičích pohlavních steroidních hormonů, estrogenů, estradiolu a progesteronu. Hormony se vyplavují cyklicky v intervalech a charakterizují tak estrální cyklus feny (König and Liebich, 2002). U fen puberta začíná nejčastěji po dosažení hmotnosti a velikosti dospělé, obvykle mezi šestým a sedmým měsícem věku, ale fyziologické rozmezí je od čtyř do dvaadvaceti měsíců. Vliv na nástup puberty je velmi ovlivněn rychlostí tělesného vývoje a výživou feny (Kvapil a Kvapilová, 2007).

Během folikulární fáze cyklu je secernován převážně estradiol a progesteron během luteální fáze estrálního cyklu. Odpověď mléčné žlázy na tyto hormony závisí na spolupůsobení hormonů předního laloku hypofýzy, prolaktinu (LTH, luteotropní hormon) a somatotropinu (STH, růstový hormon). Všechny jmenované hormony během několika prvních estrálních cyklů podporují růst a větvení kanálek mléčné žlázy (Reece, 2011). Proliferace mléčné žlázy je tímto zastavena a pokračuje až s nástupem první březosti (König and Liebich, 2002).

Během první březosti rostou a jsou děleny epiteliální čepy a tím vznikají další vývody mléčné žlázy (König and Liebich, 2002). Kanálky, lalůčkové alveoly, krevní a lymfatické cévy a pojivová tkáň postupně nahrazují tukovou tkáň, ta je vstřebávána. V průběhu celé březosti růst alveolů a kanálek pokračuje (Reece, 2011). Pro vývoj mlékovodů je důležitý somatotropin a kortikoidy, ty spouštějí tvorbu endoplazmatického retikula, Golgiho aparátu a dalších buněčných struktur (Jelínek a Koudela, 2003). S koncem březosti vzniká díky vlivu progesteronu, estrogenů a prolaktinu v koncových částech lumen a žlázové buňky začínají produkovat mléko (König and Liebich, 2002). V menší míře kromě jmenovaných hormonů mají na mamogenezi vliv také steroidy z kůry nadledvin, hormony štítné žlázy, inzulin a relaxin (Reece, 2011).



Obr. 3 Schéma humorální regulace při vývoji sekrečních a vývodných částí mléčné žlázy (Jelínek a Koudela, 2003).

1 – Vývoj mléčné žlázy v době narození. 2 – Rozvoj mlékovodů a vazivové části v dospívání (vliv estrogenů, STH a kortikoidů). 3 – Rozvoj vývodné části a žláзовého parenchymu během gravidity (hormony vaječníků a kůry nadledvin). 4 – Období laktace (vliv LTH, STH, TSH, kortikoidů, estrogenů, progesteronu, inzulínu, PTH, a oxytocinu).

3.1.6 Mlezivo a mléko (*lac*)

Mléko (*lac*) je vodným roztokem cukru, tuku, bílkovin a minerálních látek (Najbrt, 1982). Obsah vody se určuje jako rozdíl v hmotnosti určitého objemu mléka před vysušením a po něm. Sacharidy jsou většinou vyjádřeny jako ekvivalent laktózy. Tuky, bílkoviny, laktóza a popeloviny jsou souhrnně označovány jako sušina nebo pevné složky mléka (Reece, 2011). Většina prekurzorů mléka vzniká v játrech. Z jater do mléčné žlázy jsou transportovány krví. Na finální složky mléka se přeměňují až v mléčné žláze fenylaminy (Jelínek a Koudela, 2003). Mléko je charakteristický sekret mléčné žlázy, který sají novorozenci od matky. Pro něj je nenahraditelnou výživou, také slouží k získání pasivní imunity mláděte v podobě mleziva

neboli kolostra v prvních dnech po narození. V mlezivu jsou vysoké koncentrace imunoglobulinů (syrovátkových proteinů) a těmi je předávána imunita z feny na štěňata (König and Liebich, 2002). Dále je v mlezivu vysoká koncentrace antimikrobiálních peptidů a bioaktivních molekul včetně růstových faktorů. Příjem mleziva je pro štěňata velmi důležitý pro jejich výživu, růst a imunologickou obranu (Playford et al., 2000). V kolostru je také vysoká koncentrace vápníku, fosforu, stopových prvků (měď, zinek, železo) a vitamínů rozpustných v tucích (Kvapil a Kvapilová, 2007). U štěňat je možná resorpce imunoglobulinů přes stěnu střev do krevního oběhu od jednoho do dvou dnů po narození. Je tedy zcela zásadní nakojit štěňata mlezivem v co nejkratším čase po porodu (Reece, 2011).

Oftedal (1984) uvádí průměrné procentuální složení psího mléka takto: 21-26% sušiny, z toho je 8-12% tuku a 7-10% bílkovin. Dokoupilová et al. (2016) uvádí ve své experimentální studii průměrné složení mléka od 9 laktujících fen německého ovčáka a to jak kolostra (do 2. dne po porodu) tak normálního mléka (4. až 29. den po porodu). Uvádí průměrné procentuální hodnoty složení kolostra a mléka takto: 23,86 a 24,63% sušiny, 8,14 a 7,22% proteiny, 6,04 a 5,76% kasein, 10,22 a 11,32% tuku a 3,40 a 4,48% laktóza. Dále uvádí, že nebyly zjištěny výrazné rozdíly v hustotě ani jiných parametrech složení mezi mlezivem a mlékem.

Jediným místem v organismu, kde vzniká laktóza, je mléčná žláza. Je zde syntetizována z glukózy a dalších složek v epitelových buňkách (Jelínek a Koudela, 2003).

Tabulka 1 Srovnání živin kolostra a mléka feny během laktace (Mila and Chastant-Maillard, 2016; Adkins et al., 2001).

	Dny laktace				
	1	3	7	14	21
Bílkoviny [g/l]	143	102,3	81,7	66,8	68,4
Imunoglobulin G [g/l]	23,8	neurčeno	5,9	0,6	0,6
Lipidy [g/l]	132,2	137,2	132,1	118,5	112,5
Laktóza [g/l]	16,6	29,3	35,4	39,9	39,4
Vápník [mg/l]	1363	1366	1773	1950	1929
Fosfor [mg/l]	935	914	1166	1175	1359
Energie [kcal/l]	1831	1761	1657	1493	1444

Kvůli nízkému počtu studií s rozdílnými analytickými metodami a značné proměnlivosti poměru živin mleziva a mléka mezi fenami není možné označit tyto hodnoty stoprocentně platné pro celý druh (Adkins et al., 2001; Costăchescu et al., 2011; Mila and Chastant-Maillard, 2016).

3.1.6.1 Laktogeneze a laktace

Proces, při kterém mléčné alveolární buňky získají schopnost tvořit a produkovat mléko se nazývá laktogeneze. V prvním stádiu se v mléčné žláze zvyšuje enzymatická aktivita a buněčné organely se diferencují. Před porodem je ještě sekrece mléka omezená. V druhém stádiu laktogeneze těsně před porodem už se bohatě secernují všechny složky mléka. Začíná produkce mleziva. V tomto stádiu je v těle zvýšená hladina prolaktinu, adrenokortikotropního hormonu a estrogeneru. Hladina progesteronu klesá, ten bránil laktaci před porodem (Reece, 2011). Sekret produkovaný buňkami do alveolů nemá ještě finální podobu mléka. V dutinách alveolů a sekrečních tubulů vlivem osmózy dochází v mléce ke změnám v obsahu vody a elektrolytů (Jelínek a Koudela, 2003).

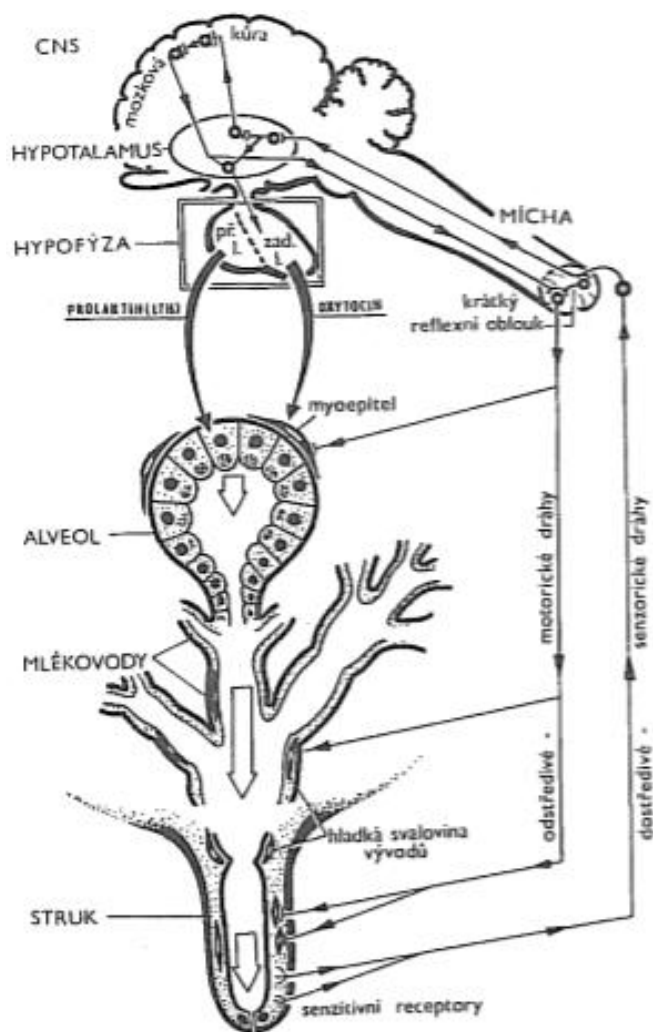
Z pohledu feny a jejího organismu je laktace nejvíce nutričně náročné období během života. Pokud fena v tomto období nedostává vhodnou krmnou dávku s požadovaným množstvím energie a živin, začne k výživě štěňat využívat rezervy, hubne a ztrácí kondici. Přípustný je pokles váhy feny o 10% z váhy těsně po porodu (Kvapil a Kvapilová, 2007). Průměrná délka laktace feny je 60 dnů (Jelínek a Koudela, 2003).

Počet buněk schopných produkovat mléko a alveolární aktivita musí být zachována, aby byla laktace udržena. Mléko z mléčné žlázy musí být pravidelně vysáváno štěňaty. Dále je nezbytná hormonální kontrola. Laktaci udržuje prolaktin (LTH), růstový hormon (STH), parathormon, inzulin, adrenokortikotropní hormon (ACTH) a tyreotropní hormon (TSH). ACTH a TSH stimulují sekreci glukokortikoidů a hormonů štítné žlázy. Parathormon z příštítných tělísek reguluje hladinu vápníku, stimuluje jeho resorpci z kostí a konvertuje vitamín D na jeho aktivní formu. Vitamín D je nezbytný pro resorpci vápníku ze střev (Reece, 2011).

Na začátku a v polovině laktace mají laloky a lalůčky podobné vlastnosti. Lalůčky jsou kulovité, roztažené a dobře vyvinuté. Okolo mají svalová vlákna. Pojivová tkáň je v malém množství mezi laloky a odděluje je od sebe. Ke konci laktace mají lalůčky nepravidelný tvar, jsou ochablé a hroubí se. Mezi laloky je pojivová tkáň ve větším množství a je zhoustlá. S průběhem laktace je snižován počet epitelových buněk v alveolech ale také počet lalůček na lalok. Dále je zmenšován průměr laloků a snižována výška epitelových buněk. Kraniální část mammy obsahuje výrazně menší množství alveol oproti ostatním jejím částem v kaudální krajině. Od konce druhého měsíce laktace do konce třetího měsíce laktace nastupuje postupná involuce mléčné žlázy a snižuje se sekrece mléka (Orfanou et al., 2010).

3.1.6.2 Neurohumorální reflexní oblouk a regulace ejekce mléka

Pro nástup a udržování sekrece mléka v jednotlivých komplexech mléčné žlázy má neurohumorální reflexní oblouk obzvláště vysoký význam. Senzitivní inervace kůže mléčné žlázy a struků představuje pro reflexní oblouk aferentní rameno (König and Liebich, 2002). Peptidergické nervy obsažené v mléčné žláze a hlavně ve strucích hrají v reflexním oblouku ejekce mléka velkou roli (Pinho and Gulbenkain, 2007). Ve stěnách dutinového systému mléčné žlázy jsou baroreceptory a chemoreceptory, v kůži struku jsou termoreceptory a mechanoreceptory (Jelínek a Koudela, 2003). Nervové impulzy a podráždění je vyvoláno masáží a sáním struků štěňaty. Impulzy jsou přijaty a vedeny senzitivním ramenem k centrálnímu nervovému systému do mozku. Díky tomuto podnětu je v oblasti jader hypotalamu produkován hormon oxytocin, ten vylučuje zadní lalok hypofýzy do krevního oběhu, kterým se hormon dostává k mamárním komplexům. Tam způsobí smrštění myoepiteliálních buněk, které jsou u koncových úseků mammy, a mléko je ejektováno do mlékovodů (König and Liebich, 2002). Neurohumorální reflex ejekce mléka probíhá po ose: hypotalamus – hypofýza – kůra nadledvin, štítná žláza, vaječníky – mléčná žláza (Jelínek a Koudela, 2003).



Obr. 4 Neurohumorální reflexní oblouk pro regulaci ejekce mléka (Jelínek a Koudela, 2003).

3.1.7 Říjový cyklus a mléčná žláza

Při prvním říjovém cyklu se u fen nemusí projevit všechny příznaky říje v jasné rozpoznatelné formě, často se nazývá říjí neplnohodnotnou (Mikulica, 1992). Podle Kvapila a Kvapilové (2007) můžeme u feny očekávat standardní průběh pohlavního cyklu od druhé (plnohodnotné) říje.

U fen má pohlavní cyklus a jeho fáze velké fyziologicky variabilní rozpětí jejich délky a mohou se objevovat nestandardní příznaky. První fáze pohlavního cyklu, proestrus, se u fen projevuje ve fyziologickém rozpětí 3-27 dní. Druhá fáze, estrus má fyziologické rozpětí 3-21 dní. U 75% fen se celková délka říjového cyklu pohybuje mezi 10-21 dny. Feny jsou diestrická zvířata, říjí mají dvakrát ročně, ale jsou i plemena primitivní u kterých se říje objeví jen jedenkrát do roka (Vitásek a kol., 2011). Označení „primitivní“ v tomto kontextu a v kynologii obecně vyjadřuje plemena psů, která jsou na nejnižším stupni domestikace a

uchovala si mnoho znaků a vlastností svých divokých předků. Například neštěkají, ale pouze vyjí a kňučí. Říje jednou do roka je právě vlastností fen divokých psů. Interval mezi říjemi bývá většinou půl roku (Smrčková a Smrček, 2012). Především malá plemena někdy hárají třikrát do roka (Vitásek a kol., 2011).

Během říjového cyklu jsou zaznamenatelné výrazné změny v histologii mléčné žlázy (Santos et al., 2010). Ve fázi proestru u předpubertálních fen jsou v mezilalokové pojivové tkáni přítomné pouze velké interlobulární kanálky neboli mlékovody, které jsou lemovány jednou vrstvou myoepiteliálních buněk a dvojitou vrstvou buněk epiteliálních (Rehm et al., 2007). Ve fázi proestru u dospělých fen je mléčná žláza neaktivní a je převážně složena z interlobulárních kanálů. Občas zde nacházíme malé lalůčky obklopené velkým množstvím interlobulární a intralobulární pojivové tkáně. V alveolech mohou být alveolární struktury z dřívějších říjových cyklů avšak lemovány epiteliálními zploštělými buňkami. Uvnitř intralobulární tkáně a alveol jsou lokalizovány makrofágy (Sorenmo et al., 2011).

Při nástupu estru dojde k proliferaci intralobulárních buněk, kanálků. Formují a rozrůstají se malé mlékovody, které jsou vystlány vrstevnatým epitelem. Vyskytují se ve volném prostoru pojivové tkáně laloků (Sorenmo et al., 2011). Ve fázi estru při ovulaci jsou v mléčné žláze malé neaktivní laloky spojené s větvemi kanálků. Probíhají zde nevýrazné regresivní změny (Santos et al., 2010).

Na začátku diestru současně se zvýšenou hladinou progesteronu, jsou tvořeny a formulovány lalůčky spolu s velkým rozvojem kanálků (Sorenmo et al., 2011). V časném diestru se mlékovody větví, na konci diestru je lobuloalveolární sestava kompletně diferencována a schopna sekrece mléka (Santos et al., 2010). Na konci diestru vývoj mléčné žlázy feny dosáhne svého vrcholu tvorbou sekrečních alveol na koncové části intralobulárních kanálků (Rehm et al., 2007). Alveoly jsou lemovány kubickými buňkami, ty se postupně mění na cylindrické, vyplněny jsou jasným eozinofilním proteinovým sekretem. Myoepiteliální buňky jsou protažené a tvoří kolem méně vyvinutých lalůček souvislou vrstvu, naopak kolem plně rozvinutých lalůček vrstvu nesouvislou. Lumen intralobulárních kanálků také obsahuje jasný bílkovinný eozinofilní sekret. Lemovány jsou souvislou vrstvou vřetenovitých myoepiteliálních buněk a jednou vrstvou kubických buněk (Sorenmo et al., 2011).

Pro raný anestrus jsou typické alveoly s menším obsahem sekretu. Změny způsobené začátkem regrese mléčné žlázy jsou patrné na několika lalocích. Stoupá množství intralobulární pojivové tkáně. Více patrné jsou změny vlivem regrese mléčné žlázy v pozdním anestru. Laloky se zmenšují, současně se zmenšuje průměr kanálků. V mléčné žláze se infiltrují lymfocyty, makrofágy a plazmatické buňky. Roste množství kolagenních vláken a

intersticia (Sorenmo et al., 2011; Rehm et al., 2007). Na konci anestrů jsou zřejmé delší regresivní procesy v kaudálních částech mléčné žlázy (Santos et al., 2010).

3.1.8 Pseudogavidita – falešná březost a mléčná žláza

Pseudogavidita není onemocnění ani funkční porucha říjového cyklu. Z hlediska pohlavního cyklu je důkazem jeho plnohodnotného průběhu s typickým hormonálním obrazem. Jedná se o klasický průběh metestru u nebřezí fen s přítomnými abnormálními příznaky imitující březost a porod (Kvapil a Kvapilová, 2007).

Tento stav je také označován jako atavismus. Z hlediska smečkového chování pseudogavidita zabezpečuje schopnost nebřezích fen zcela převzít roli matek (Láznička, 2006).

Často se projevuje u dobře živených fen, žijících v dobrých domácích podmínkách a majících úzký vztah s chovatelem. Pudl, labradorský retrievr a jezevčík jsou plemena, u kterých je falešná březost zaznamenávána nejčastěji (Kvapil a Kvapilová, 2007).

Z fyziologického hlediska je vyvolána zvýšenou hladinou hormonu prolaktinu, ten ovlivňuje mamogenezi a laktogenezi. Vzhledem k jeho veliké škále působnosti je i projev falešné březosti velmi různorodý (Láznička, 2006). Zjednodušeně můžeme říci, že i když fena není březí, tak probíhají v jejím organismu stejné hormonální pochody jako u fen nakrytých (Kvapil a Kvapilová, 2007). Příznaky pseudogavidity se zpravidla projevují mezi 45. a 65. dnem po konci hárání (Láznička, 2006). V některých případech se objevují i pět měsíců po estru. Fena může mít mléčnou žlázu slabě oteklou se slabou sekrecí mléka až výrazně oteklou se silnou sekrecí mléka. Je žravá, dutina břišní se zvětšuje. Dalšími vnějšími příznaky může být příprava hnízda pro štěňata, simulovaný porod, nechutenství až stahy břišní stěny. (Kvapil a Kvapilová, 2007). Při „poporodních“ projevech, když fena nosí do pelechu různé hračky a předměty je vhodné jí je odebrat a zamezit tak její péči o ně (Mikulica, 1992). Podle Lázničky (2006) bývají feny mazlivé a vyžadují větší pozornost chovatele, avšak odmítají procházky a po venčení se chtějí vrátit hned domů. Se zvýšenou žravostí se objevuje i časté zvracení. Odmítají cizí psy a hru s nimi až agresí. Nejčastějším příznakem je pozvolné difuzní zvětšování všech oddílů mléčné žlázy, nejvíce je ale pozorovatelné na posledních dvou oddílech.

Přesto, že není v děloze plod, vyvíjí se endometriální žlázy a endometrium hypertrofuje. Uvolňují se vazy a pánevní spona (Reece, 2011). Zvětšení pravé i levé mléčné lišty je symetrické. Inguinální lymfatické uzliny jsou nezvětšeny. Parenchym mléčné žlázy je

na pohmat nebolestivý, měkce elastický. Prodlužují se a zesilují struky. Sekret může být typicky mléčný, krémovitý, hustý, nahnědlý až krvavě vodnatý (Láznička, 2006).

Terapie závisí na opatření chovatele a podávání medikamentů ve spolupráci s veterinárním lékařem (Kvapil a Kvapilová, 2007; Láznička, 2006).

Ve stavu pseudogravidity jsou po říji všechny nezabřezlé feny, ale u většiny tento stav není zevně patrný (Svoboda a kol., 2001).

U fen, jež mají pravidelné příznaky pseudogravidity není riziko vzniku nádorů mléčné žlázy nijak ovlivněno (Sonnenschein et al., 1991; Schneider et al., 1969). Niemand and Sutter (1996) dokonce popisují snížení rizika vývinu neoplazií mléčné žlázy u fen za přispění pravidelné falešné březosti.

4 Nádorová onemocnění mléčné žlázy feny

4.1 Obecný přehled, charakteristika a vzniku nádorů

4.1.1 Definice

Halouzka a kol. (2009) definuje nádor jako místně ohraničené zvětšení objemu tkáně, jehož podstatou je kaskáda genetických změn. Ještě přesnější definice vyjadřuje, že pravý nádor, neboli neoplazie či novotvar je geneticky podmíněné novotvoření buněk a tkáně s klonálním charakterem. Je to abnormální tkáň rostoucí bezúčelně, nekontrolovatelně a nekoordinovaně, která i po ukončení vlivu stimulů a zastavení příčiny vzniku dále pokračuje a do určité míry perzistuje. Svými nutričními a energetickými nároky ochuzuje normální tkáň hostitele. Struktura tumorů je dobře histologicky klasifikovatelná. Finsterle (2007a) uvádí, že rakovinou je obecně nazýván zhoubný nádor.

Neoplazie způsobují široké spektrum onemocnění, jejichž hlavním společným znakem je nekontrolovatelný růst buněk a proliferace (Withrow et al., 2013; Finsterle, 2007a). Tímto nekontrolovatelným množením buněk poškozují nádory organismus tak, že jejich buňky nediferencují, nejsou tedy schopny vykonávat specifickou funkci ve tkáni, ze které vznikly nebo se v ní jen množí. Nejvíce nebezpečné jsou nádory vznikající rychle se množícími a nediferencujícími buňkami. Hlavní nebezpečí u těchto nádorů znamenají metastázy. Buňky rychle rostoucích nádorů během vývoje často získají schopnost se uvolnit z primárního ložiska a dostat se krevní či lymfatickou cestou na jiná místa v organismu například do orgánů a zde vytváří sekundární ložiska (Hořín a kol., 1998). Plíce jsou nejčastějším místem metastáz nádorů mléčné žlázy u fen (Svoboda a kol., 2000).

4.1.2 Genetická podstata nádorových onemocnění a vznik

Pečlivým výzkumem genetické podstaty nádorových onemocnění od počátku 60. let se již identifikovalo několik set abnormalit spojených se vznikem nádorových onemocnění a pokroky v posledním desetiletí umožnily objasnit některé úplné sekvence nádorových genomů (Withrow et al., 2013). Základní podstatou a příčinou vzniku nádorového onemocnění je změna genomu (mutace) DNA, kterou je dysregulována struktura nebo funkce genu. Prakticky u všech novotvarů je poškození buněčného genomu nebo pozměněná exprese genů běžným znakem (Meuten, 2017). Podle Hořina a kol. (1998) je společnou příčinou všech nádorových onemocnění mutace somatické buňky v postnatálním období a proto se řadí do onemocnění genetických. Schopnost odpovědi imunitního systému je také geneticky determinována, a proto je ovlivněn genotypem hostitelského organismu nejen vznik ale i průběh vývoje nádoru.

Mutace DNA somatické buňky může způsobit několik odlišných změn sekvence. Vedle substituce jedné báze za druhou (bodové mutace) je známo ještě vložení či delece (ztráta) malých i větších segmentů DNA a přeskupení, při kterém byla DNA rozdělena a poté znovu připojena k segmentu v jiné části řetězce. Poté následuje zvýšení počtu kopií od dvou do několika set, tzv. zesílení genu nebo amplifikace. Bílkovina kódovaná takto poškozenou DNA může být změněna o aminokyselinu, být zkrácena nebo být produkována v nadměrném množství (Stratton et al., 2009; Villalobos and Kaplan, 2009). Kromě těchto změn DNA může nádorová buňka získat nové sekvence DNA z vnějších zdrojů, například z virového genomu (Talbot and Crawford, 2004; Meuten, 2017). Pro vznik 90% známých somatických mutací vedoucích k nádorovému bujení stačí mutace pouze jedné alely z alelické dvojice, jsou tedy úplně dominantní. Zbýlých 10% tvoří mutace vyžadující změnu obou alel a většinou vedou ke zrušení funkcí bílkovin potlačujících nádorové bujení (Stratton et al., 2009).

Mutace buněčné DNA, jež nejsou opraveny, zodpovídají za vznik novotvarů. Ze strany buněk byl vyvinut systém buněčné odpovědi na takové poškození DNA. Systém zahrnuje například kontrolní body buněčného cyklu, opravu poškozené DNA a řízenou apoptózu buňky (Wang et al., 2017). Při tomto procesu zde hlavní kontrolní úlohu hraje protein, který je nazýván p53 (kontrolován genem TP53) a je velmi důležitým tzv. tumor supresorem (protein potlačující nádorové bujení) (Lane, 1992; Kleiblova et al., 2013; Leslie, 2013). Až polovina všech nádorů je vyvolána mutací v genu pro protein p53 (Hollstein et al., 1991). Tento protein má v takové situaci rozhodnout, nakolik je buňka poškozena a zda má šanci mutaci opravit. Pokud je poškození DNA zásadní, je tímto proteinem aktivována

signální kaskáda vedoucí k smrti dané buňky. Celková odpověď buňky, která je spuštěna v návaznosti na poškození a mutaci DNA je nazývána DDR (DNA damage response) a protein p53 je její hlavní součástí (Kleiblova et al., 2013; Leslie, 2013). Protein p53 brání v hromadění poškozené DNA (Shen et al., 1998). Hlavním úkolem DDR je opravit poškozenou DNA a ulehčit její replikaci (Harper and Elledge, 2007). Když není poškození DNA mutací rozsáhlé, pak je proteinem p53 zablokováno dělení buňky, přesněji je zabráněno vstupu buňky z G1 fáze do fáze S buněčného cyklu (Meuten, 2017) a začne oprava daného úseku DNA. Úspěšná oprava je následována vypnutím reparačních mechanismů proteinem Wip1 (Wild-type p53-Induced Phosphatase 1), ten je kódován genem PPM1D a řazen mezi fosfatázové bílkoviny (Bulavin et al., 2002). Wip1 protein inaktivuje p53 defosforylací, pak nastává obnova buněčného cyklu a dělení (Kleiblova et al., 2013; Leslie, 2013). Pokud ale není tento proces správně kontrolován a opětovné zahájení buněčného cyklu a dělení je indukováno nevhodně, znamená to potencionální základní mechanismus progresu neoplazií (Crescenzi et al., 2013). Sekvence DNA psa pro gen TP53 je z 87% shodná s touto DNA u lidí a jejich funkce v buňce jsou velmi podobné. Jak u lidí, tak u psů bylo prokázáno spojení mutace tohoto genu s mnoha nádorovými onemocněními a neoplazie na mléčné žláze patří mezi nejčastější z nich (Zhang et al., 2009; Meuten, 2017). Někteří autoři ve svých studiích uvádí, že míra exprese proteinu p53 především ve zhoubných nádorech mléčné žlázy hraje roli při jejich progresi (Rezaie et al., 2012; Maciel et al., 2002; Dolka et al., 2013). Dále je uvedeno, že míra exprese p53 v neopláziích mléčné žlázy vyjadřuje velkou měrou prognózu daného nádorového onemocnění, avšak toto zjištění by mělo být více zkoumáno v dalších studiích (Maciel et al., 2002; Dolka et al., 2013).

Podle Jasinové (2002) mutace a vady v genech pro proteiny DDR a tudíž ve schopnosti správně opravit DNA jsou příčinou mnoha nádorových onemocnění. Ve spojitosti s neopláziemi mléčné žlázy je řešena především mutace v genech BRCA1 a BRCA2, která vede kromě jiných k poškození DNA pro protein p53 (Venkitaraman, 2002; Jasin, 2002; Suzuki et al., 1997). Kromě toho, že gen BRCA1 zajišťuje integritu genomu organismu vůbec, tak funkcí obou těchto genů je potlačování nádorového bujení tudíž jejich vlastní mutací dochází k tumorigenezi (Shen et al., 1998). Tumory vyvolány mutací genu BRCA1 postrádají estrogenové a progesteronové receptory a celkově jsou spojovány s horší prognózou než ostatní nádory (Rivera et al., 2009). Zejména mutace genu BRCA1 jsou zodpovědné za většinu případů karcinomu mléčné žlázy ale i vaječníků (Shen et al., 1998). Změnu buňky může vyvolat také deficit BRCA1 či BRCA2 i nedostatky v opravě DNA (Kraakman-van der Zwet et al., 2002).

V neposlední řadě jsou nádory mléčné žlázy způsobeny mutací na samotném genu PPM1D pro protein Wip1, ovšem gen pro protein p53 poškozen není. Tyto mutace způsobí vznik kratší formy jmenovaného proteinu současně se zvýšením jeho syntézy. Za dané situace buňka tedy obsahuje toto zvýšené množství Wip1 proteinu. Také je v ní protein zadržován delší interval než ve zdravé buňce a tím je způsobena inaktivace proteinu p53 ve chvíli, kdy má být DNA reparována. Buněčný cyklus je spuštěn a replikace DNA je zahájena i s mutacemi, které nezastaví replikaci ani v kontrolních bodech. Zvyšuje se počet mutací, hromadí se a tumorigeneze má volnou cestu (Kleiblova et al., 2013; Leslie, 2013). Zmutované buňky mohou pokračovat v buněčném cyklu i s neopraveným poškozením, které vzniklo během replikace DNA (Kraakman-van der Zwet et al., 2002).

Ačkoliv jsou nádorová onemocnění geneticky podmíněná, neznamená to, že jsou vždy dědičná. Velký vliv na vznik mutací buněčných genů má také vystavení faktorům z životního prostředí (mutagenům) jako je například cigaretový kouř a ultrafialové záření (Withrow et al., 2013). Mezi mutageny patří viry a karcinogenní chemické i biologické látky (Meuten, 2017). Podle Moorea a Frimbergerové (2010) bylo dokázáno, že u zvířat žijících v kuřáckých rodinách pasivní užívání tabákového kouře (ETS = „second – hand smoke“) významně ovlivňuje vznik nádorových onemocnění. V moči těchto zvířat bylo prokázáno podstatně vyšší množství metabolitů nikotinu než u jejich majitelů. K tomuto faktu existuje jedno hlavní odůvodnění. Psi a kočky žijící v těchto domácnostech stráví v zakouřeném uzavřeném prostoru podstatně více času než jejich majitelé, kteří domácnost opouštějí mnohem častěji. Do zvířat se kontaminanty dostávají také perorálně při olizování vlastního těla během hygieny. Mají je usazené na srsti.

Volné radikály kyslíku způsobující chronické záněty mohou také působit jako prokarcinogenní mutageny. Dalšími mutageny je tzv. vlastní chybovost enzymů řídících replikaci DNA. Každá dceřiná buňka savčích buněk nese alespoň několik set mutací v DNA řetězci. Většina těchto mutací pro organismus nic neznamená, ale některé mohou vypnout nádorový supresor, jak je popsáno výše či aktivovat protoonkogeny (Withrow et al., 2013). Vzhledem k existenci vlastní chybovosti při replikaci DNA čelí všichni mnohobuněční živočichové téměř jistému vývoji novotvarů za předpokladu, že se dožijí tak dlouho, aby je neoplastická transformace zastihla (Meuten, 2017).

4.1.3 Charakteristika nádorového procesu

Karcinogeneze a tvorba nádorů je vícestupňový proces. Pro karcinogenezi se popisují tři stádia: iniciace, promoce, progres. Faktory, jež jsou schopny navodit mutaci a poškodit

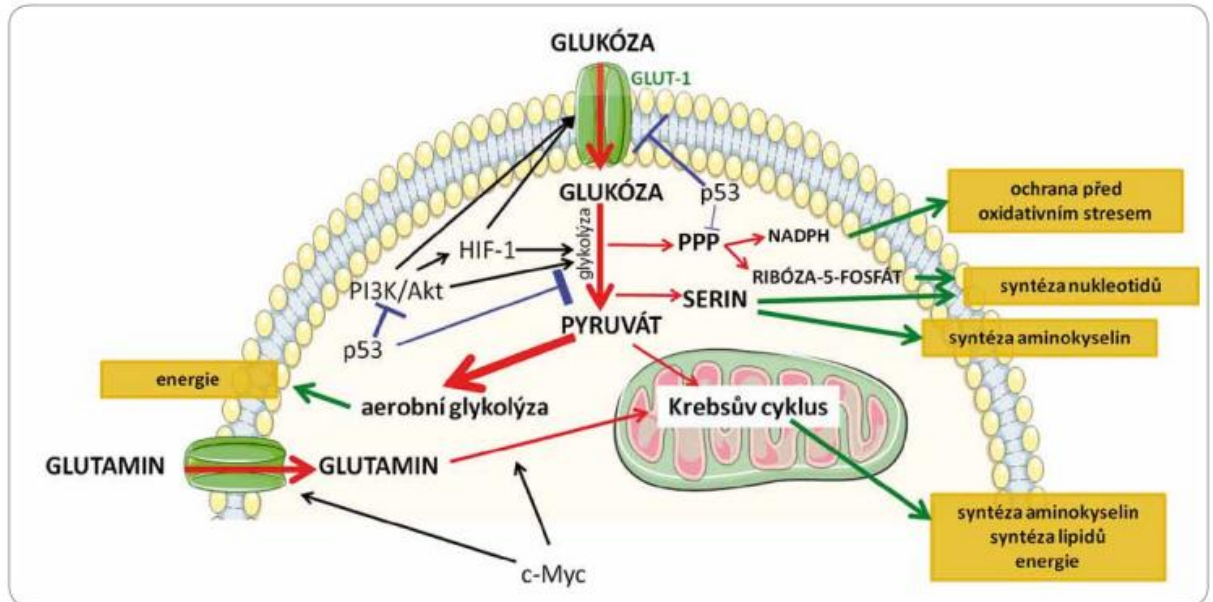
DNA se nazývají mutageny. V iniciačním stádiu tak dochází k nevratnému poškození DNA. Za přítomnosti řady faktorů – promotorů nádorového bujení se ve fázi promoce přeměňuje mutací poškozená buňka v buňku nádorovou. Promoce je na rozdíl od iniciace procesem vratným. Stádium progresu začíná vytvořením se nádorové buňky v organismu. Dále nastává interakce nádorové buňky s obranným systémem organismu. Dále populace nádorových buněk prudce stoupá (Hořín a kol., 1998).

4.1.4 Nádorové buňky

Nádorové buňky mají porušenou regulaci buněčného růstu, změněný typ a rychlost buněčné proliferace, změněnou nebo žádnou diferenciaci a další fenotypické vlastnosti. Všechny buňky jednoho nádoru mají alespoň jeden společný znak, jelikož pochází z jedné transformované nádorové buňky (Halouzka a kol., 2009). Jsou schopny se přizpůsobit stresovým podmínkám z okolí. Schopnost této adaptace je důležitou součástí mechanismu vývoje nádoru (Sommerová et al., 2016). Většina nádorů je mononukleární povahy přičemž genetická nestabilita těchto buněk umožňuje v potomstvu jedné buňky vznik různých genetických variant. Jednou z těchto variant je i získání metastatické schopnosti, která je dále předávána na dceřiné buňky (Hořín a kol. 1998).

Další velmi významnou vlastností je jejich schopnost odolávat a unikat obranným mechanismům hostitelského organismu (Halouzka a kol., 2009). K tomu využívají různé mechanismy jako například ztrátu povrchových antigenů, maskují se různými molekulami, blokují exprese MHC (hlavní histokompatibilní komplex) a další. Tím brání imunitnímu systému v jeho rozpoznávacích schopnostech a útoku (Hořín a kol., 1998). Sommerová et al. (2016) uvádí schopnost nádorových buněk změnit energetický metabolismus, tak že cíleně změní regulaci hlavních metabolických drah k vlastnímu prospěchu a naplnění svých zvýšených nároků na energii a stavební látky k buněčné proliferaci. Novější studie v oblasti výzkumu buněčné smrti nádorových buněk uvádí případy, kdy tyto buňky účinně spolupracují, aby přežily za nepříznivých podmínek (Withrow et al., 2013). Někdy mají schopnost zabíjet ostatní buňky (Stříteský, 2001). Vynikají také v růstu v anaerobním prostředí, glukózový metabolismus v nich výrazně převládá (Cairns et al., 2011). Mají velmi nízkou závislost na metabolických pochodech prostředí, někdy i vlastní sekreční činnost a jsou prakticky nesmrtelné. Chovají se podobně jako samostatný a nezávislý organismus (Halouzka a kol., 2009). Hanahan and Weinberg (2011) popisují šest základních vlastností nádorových buněk takto: 1. nesmrtelný replikační potenciál, 2. nezávislost na růstových supresorech, 3. zvýšená schopnost proliferace buněk, 4. schopnost indukce angiogeneze, 5.

odolnost vůči apoptóze, 6. aktivují invazi a tvorbu metastáz. Dnes je jako další z hlavních vlastností nádorových buněk popisován jejich metabolismus a získávání energie procesem anaerobní glykolýzy. Nádorové buňky mají vysokou spotřebu glukózy a produkci kyseliny mléčné, což vede k acidóze buněk (Granja et al., 2015).



Obr. 5 Schematické znázornění základních metabolických drah přeprogramovaných v nádorových buňkách pro jejich prospěch (Sommerová et al., 2016).

Ve schématu značí metabolismus glukózy červené šipky. Modrá barva znázorňuje inhibiční vliv nádorového supresoru p53, zelená pak značí efekty jednotlivých drah na buňku. Po přechodu do buňky glukóza vstupuje do procesu glykolýzy za produkce ATP, nebo do pentózofosfátové dráhy (PPP) za produkce ribózy-5-fosfátu, který je látkou pro syntézu nukleových kyselin, nukleotidů a NADPH (Sommerová et al., 2016). Před oxidativním stresem, který je v buňce způsoben radikály ji chrání právě NADPH. Radikály mají schopnost poškodit jadernou i mitochondriální DNA a proto je syntéza NADPH pro nádorovou buňku velmi důležitá. PPP hraje hlavní roli v přežití nádorových buněk (Lunt and Vander Heiden, 2011; Patra and Hay, 2014). Prekurzor aminokyseliny serinu, která je významná pro syntézu nukleotidů, lipidů a jiných aminokyselin je produkován při glykolýze přeměnou 3-fosfoglycerátu a byl prokázán v agresivním karcinomu mléčné žlázy u člověka (Possemato et al., 2011).

Hlavní příčinou nekonečného dělení nádorových buněk je enzym telomeráza, který není aktivní v somatických buňkách ale v kmenových, zárodečných a nádorových ano. Telomeráza je ribonukleoproteinový komplex, který je zodpovědný za krátké úseky DNA obsahující 50-200 nukleotidů. Tyto úseky jsou připojeny na telomerách, což jsou specifické

nukleoproteinové struktury nacházející se na chromozomálních koncích. Normální nepoškozené buňky nejsou schopny se rozdělit vícekrát než 60-70krát než dojde k buněčné smrti. Při každém rozdělení buňky dojde ke zkrácení telomer (Blasco et al., 1997; Novak, 2003; Meuten, 2017). Postupné zkracování telomer až na kritickou délku nakonec způsobí přerušení buněčného cyklu a apoptózu buňky. Pro tento proces je důležitá aktivace již zmiňovaného proteinu p53. Pokud je ale gen TP53 poškozen buněčný cyklus pokračuje a mutace mají volnou cestu (Novak, 2003; Wright and Shay, 2009; Renwick et al., 2006; Meuten, 2017). Dle výzkumu Funakoshi et al. (2000) byla aktivita telomeráz zaznamenána nejvíce v maligních nádorech mléčné žlázy, konkrétně v adenokarcinomech z 27%. Adenokarcinomy byly následovány smíšenými maligními nádory s aktivitou telomeráz v 15,7% případech. U benigních nádorů byly telomerázy aktivní nejvíce ve smíšených nádorech a to z 5,5%, následovaly adenomy se 4,4%. V normálních mléčných žlázách bez nádorových neoplazií dosahuje tato aktivita telomeráz pouhých 0,9%.

4.2 Druhá klasifikace nádorů a morfolgie

Podle toho jaký nádorový parenchym buňky obsahují je pak tvořen název daného nádoru (Stříteský, 2001). Morfolgie neoplazií je založena na poměru mezi vlastní transformovanou tkání a částí proliferující tkáně, přesněji řečeno mezi nádorovým parenchymem a netransformovaným, sekundárně proliferujícím stromatem (Halouzka a kol., 2009).

Při volbě léčby je nejdůležitějším aspektem diagnóza, ta musí obsahovat přesný název s informacemi o biologických vlastnostech nádoru, jeho lokalizaci a stupni vývoje (Stříteský, 2001). V latinském jazyce se názvy nádorů tvoří příponou -om, v anglickém -oma. Před příponou je latinský či řecký název tkáně nebo orgánu, ze které vznikly (Halouzka a kol., 2009).

Podrobná vyšetření umožňují definovat buňky a typ nádoru (Hořín a kol., 1998). Pro klasifikaci nádorů byla prezentována již celá řada systémů. Ve veterinární medicíně se nejčastěji používá zatřídění nádorů založené na morfoloickém vyšetření. Určuje se typing, staging a grading nádoru (Halouzka a kol., 2009). Typing je histologické označení nádoru. V klinické praxi má ale jen orientační význam (Hořín a kol., 1998). Anatomický rozsah nádoru a stádia jeho rozvoje stanovuje staging. Růstový a invazivní potenciál neboli stupeň malignity v době diagnózy stanovuje grading (Halouzka a kol., 2009). Histopatologickým grading systémem je hodnocen výskyt tubulárních formací, mitotická aktivita a pleomorfie jader (morfoloické rozdíly). Tyto nádorové vlastnosti jsou bodovány od jednoho do tří bodů

(Hayden et al., 1989). Staging systém nádoru je založen na jeho třech vlastnostech. Ty se označují písmeny TNM – T zhodnocuje velikost primárního nádoru, N hodnotí rozsah rozšíření do regionálních lymfatických uzlin a M potvrzuje či vylučuje hematogenní metastázy (Hořín a kol., 1998; Sorenmo et al., 2011). Charakteristiky nádoru jsou bodovány 1 až 3 body podle závažnosti. Body jsou pak sečteny a celkový výsledek udává stupeň malignity nádoru (Novotný a Halouzka, 2005). Cytologické vyšetření regionálních lymfatických uzlin má obrovský význam pro detekci metastáz u pacientů se solidními nádory (Langenbach et al., 2001). Zásadní význam pro stanovení diagnózy a klasifikaci nádoru má mikroskopické vyšetření, kterým je rozlišován typ nádoru a zařazen do určité skupiny. Mikroskopické rozdíly nádorů jsou velmi výrazné. Systém na těchto rozdílech založen se označuje jako histologická klasifikace (Stříteský, 2001).

První „Mezinárodní histologická klasifikace nádorů v domácích zvířatech“, která obsahovala i nádory mléčné žlázy, byla publikována Světovou zdravotnickou organizací (WHO) v roce 1974 (Goldschmidt et al., 2011).

Tabulka 2 Staging systém nádorů mléčné žlázy u psů dle WHO

Originální Staging systém WHO dle Owen, 1980				Upravený Staging systém WHO dle Withrow et al., 2013			
Stupeň I	T1a,b,c	N0	M0	Stupeň I	T1	N0	M0
Stupeň II	T0	N1	M0	Stupeň II	T2	N0	M0
	T1a,b,c	N1	M0				
		N0 nebo					
	T2a,b,c	N1a	M0				
Stupeň III	T3a,b,c	jakýkoliv N	M0	Stupeň III	T3	N0	M0
	jakýkoliv T						
		jakýkoliv Nb	M0				
Stupeň IV	jakýkoliv T	jakýkoliv N	M1	Stupeň IV	jakýkoliv T	N1	M0
Stupeň V není				Stupeň V	jakýkoliv T	jakýkoliv N	M1

Zkratky:

T: primární nádor (a nefixovaný; b fixovaný na kůži; c fixovaný na sval)

T0: žádný důkaz nádoru

T1 (a, b, c): maximální průměr 3 cm

T2 (a, b, c): maximální průměr 3-5 cm

T3: 5 cm maximální průměr (a, b, c)

N: stav regionálních lymfatických uzlin zhodnocených klinicky či histopatologií

N0: žádná metastáza

N1 (a, b): metastáza ipsilaterální lymf. u.

N2 (a, b): oboustranné metastázy

lymfatických uzlin

M: vzdálené metastázy	zhodnocených histologií nebo cytologií
M0: žádné vzdálené metastázy	N0: žádná metastáza
M1: detekovány vzdálené metastázy	N1: metastázy
T: primární nádor	M: vzdálené metastázy
T1: maximální průměr cm	M0: žádné vzdálené metastázy
T2: maximální průměr 3-5 cm	M1: vzdálené metastázy detekovány
T3: maximální průměr 5 cm	
N: stav regionálních lymfatických uzlin	

4.2.1 Klasifikace nádorů mléčné žlázy psů a koček dle doporučení WHO (World Health Organization)

Cyklické změny, proliferace a diferenciací struktur a buněk mléčné žlázy jsou hlavními faktory, které udávají pestrost neopláziím v mléčné žláze fen. WHO prezentovala doporučení ke klasifikaci nádorů v mléčné žláze psů a koček za účelem zlepšení orientace v tomto pestrém výčtu neoplazií, zvýšení úspěšnosti léčby, zlepšení zdravotnické péče pacientů a zjednodušení interakce mezi veterinárními lékaři, patology a chovateli těchto zvířat. Nádorová onemocnění mléčné žlázy jsou klasifikována na základě vlastností morfologických, histologických a biologických (Novotný a Halouzka, 2005).

Tabulka 3 Klasifikace maligních nádorů mléčné žlázy u psů dle WHO (Misdorp et al., 1999; Novotný a Halouzka, 2005; Gilbertson et al., 1983; Benjamin et al., 1999; Goldschmidt, 2011)

Maligní nádory	výskyt	charakteristika	prognóza - doba života
Neinfiltrující (in situ) karcinom	často, vysoká incidence u psů i koček	makroskopicky nepozorovatelný, buňky jednoho typu neinfiltrující do okolí	
Komplexní karcinom	u fen častý	makr. lobulární struktura, tumorová proliferace epitelu i myoepiteliálních buněk, často expanzivní růst	doba života cca 10 měsíců
Prostý karcinom	dle typu - solidní karcinom u psů častý, kribriformní naopak vzácný	většinou jeden typ epiteliálních lumenálních buněk, vysoká tendence k infiltraci okolní tkáně, šíření pomocí lym. i krevních cév	doba života cca 10 - 12 měsíců, dle typu i kratší kvůli častým metastázám a recidivám
Zvláštní typy karcinomů (a-d)			
a) Karcinom z vřetenovitých buněk	relativně vzácný u psů	skupiny vřetenovitých buněk obklopeny retikulárními vlákny	
b) Dlaždicový karcinom (skvamocelulární)	u psů ne příliš běžný	dlaždicové buňky, nesnadná diferenciacie od jiných druhů	
c) Mucinózní karcinom	Vzácný	produkce pozitivního mucinózního produktu PAS, polyedrické b. s vakuolizovanou cytoplazmou	
d) Karcinom bohatý na lipidy	Vzácný	buňky s pěnitou cytoplazmou a vysokým množstvím neutrálních lipidů	
Sarkom (a-b)	10-15% všech CMT	velké, ohraničené, velmi tuhé, časté metastazování do lym. uzlin a plic, recidivy	špatná díky metastázám, cca 10 měsíců
a) Fibrosarkom		vřetenité b. vytvářející retikulinová a kolagenní vlákna, uspořádání paralelní či chaotické	
b) Osteosarkom		buňky produkující osteoid, pouze kost nebo i vazivo a chrupavka, metastázy	
Karcinosarkom	u psů minimální	buňky morf. podobné buňkám maligním epiteliálním a maligní pojivové tkáni	po odstranění v průměru 18 měsíců
Karcinom nebo sarkom z benigního nádoru	Častý	nodulární útvary a atypické buňky, může přerůst původní neoplastickou tkáň	

Tabulka 4 Klasifikace benigních nádorů a pseudotumorů mléčné žlázy psů dle WHO

Benigní nádory	Výskyt	charakteristika
Prostý adenom	extrémně vzácný	tubulární uspořádání buněk, někdy sekreční funkce, u psů i solidní s vřetenovitými b. = myoepiteliom
Komplexní adenom	Běžný	luminální a myoepiteliální buňky, produkce substancí podobných mucinu, vysoký stupeň diferenciacce, absence nekrózy, nízký mitotický index, typická enkapsulace
Bazaloidní adenom	Běžný	drobné, dobře ohraničeny, nemetastazují, složeny z provazců monomorfních epiteliálních buněk, na povrchu palisádovité uspořádání b. s tenkou bazální membránou
Fibroadenom	Běžný	luminální epiteliální buňky a fibroblasty stromatu někdy i myoepiteliální b., rostou periduktálně i intraduktálně (kolem vývodu, stlačující vývod)
Benigní smíšený tumor	u psů velmi častý	buňky luminálního epitelu, myoepiteliální a buňky stromatu mléčné žlázy, ty mohou produkovat chrupavku, tukovou tkáň i kost
Duktální papilom	Vzácný	papiliformní či laločnaté výběžky epitelu sliznice, forma komplexního nebo prostého adenomu v dilatovaném vývodu mléčné žlázy
Pseudotumory		
Mamární dysplazie/hyperplazie	Běžně	benigní proliferativní regresivní alterace mléčné žlázy, neuspořádaný růst, vysoká proliferace, ztráta uniformity buněk a orientace ve tkáni, dobře palpačně hmatatelné
Duktální hyperplazie	Běžně	hyperplazie epiteliálních buněk v mléčných vývodech, označována jako papilomatóza či epitelioza, uniformní b., málo mitóz, prekanceróza
Lobulární hyperplazie - adenóza	běžný nález	vzrůst počtu malých vývodů a lobulů, proliferace pojiva lobulů, ve stromatu bývá zánětlivý infiltrát
Lobulární hyperplazie - epitelioza	Běžný	proliferace epiteliálních b. v malých lobulárních vývodech, podobný papilomatóze extralobulárních vývodů
Cysty a duktektazie	mnohočetné	progresivní dilatace mléčných vývodů, poškozen epitel, lipid prostupují do stromatu a vyvolávají reakci na cizí těleso
Gynekomastie	u samců	zvětšení mléčné žlázy u samců při feminizačním syndromu, nádor ze Sertolihových buněk, hyperplazie vývodů a stromatu mléčné žlázy

4.2.2 Klasifikace nádorů dle biologických vlastností

Biologické vlastnosti nádoru jsou vyjádřeny jeho chováním vůči organismu, ve kterém se vyvíjí. Jsou rozlišovány dva základní typy: benigní (nezhoubný) a maligní (zhoubný) (Stříteský, 2001). Mezi oběma typy je mnoho přechodných dějů, takže ne vždy je nádor výlučně benigní nebo maligní (Hořín a kol., 1998; Sorenmo et al., 2009). Benignita a malignita jsou pojmy vyjadřující zejména vztah nádoru ke tkáni v jeho okolí. Důležitým aspektem je růst nádoru a způsob šíření (Halouzka a kol., 2009).

BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI NÁDORU				
DÍLČÍ	CELKOVÉ			
	BENIGNÍ	MALIGNÍ		
		Místní malignita	Nizká malignita	Vysoká malignita
Růst	Expanzivní	Infiltrační, agresivní		
Ohraničení	Hranice ostré	Hranice neostře		
Recidivy po operaci	Téměř nikdy	Recidivy časté		
Šíření: Spojité	Téměř nikdy	Přítomno vždy		
Metastázami: Lymfogenní	Nevzniká	Vzniká často, pozdě	Vzniká brzy	
Hematogenní	Nevzniká	Vzniká často, pozdě v menším množství	Vzniká vždy, brzy ve velkém množství	
Porogenní	Nevzniká	Vzniká		
Rychlost růstu	Většinou malá	Často velká		
Kachexie	Nevzniká	Téměř nikdy	Častá	

Obr. 6 Biologické vlastnosti nádorů (Stříteský, 2001).

4.2.2.1 Benigní nádory

Nejběžnějšími typy benigních nádorů v mléčné žláze u žen jsou fibroadenom (benigní smíšený nádor), adenom, intraduktální papilární adenom a komplexní adenom (Withrow et al., 2013; Hampe and Misdorp, 1974; Sleenckx et al., 2011; Fossum, 2013). Benigní nádory jsou charakteristické pomalým růstem, jsou ohraničené, překrývá je volná a pohyblivá kůže a většinou je pohyblivý i samotný nádor (Svoboda a kol., 2001). Složeny bývají většinou z nádorového parenchymu a podpůrné trámčiny i s cévami, mají tzv. organoidní stavbu. Jsou homologního charakteru a mívají vazivové pouzdro. Téměř všechny benigní nádory vykazují expanzivní (rozpínavý) soudržný růst. Popsány jsou jako pomalu rostoucí a zvětšující se masa v místě svého primárního růstu, která mechanicky utlačuje okolní tkáň. Expanzivní růst ovlivňují především minimální rozdíly v povrchové, enzymové charakteristice a vlastnostech mezi povrchy buněk nenádorových a nádorových zhoubných (Hořín a kol., 1998). Mechanickým tlakem vzniká atrofie okolních nenádorových tkání a později převažuje vazivová tkáň pouzdra nádoru. Makroskopicky má tento typ nádoru velmi dobře viditelnou a ostrou hranici (Stříteský, 2001). Podle Finsterleho (2007a) jsou benigní nádory tvořeny ze

shlukujících se buněk v uzlíky, bouličky až masu tkáně. Benigní nádory nemají schopnost infiltrovat, invadovat ani metastazovat do jiných tkání (Hořín a kol., 1998; Restucci et al., 2000). Taktéž migrace buněk benigních nádorů do krevních a lymfatických cév nebyla prokázána, to je typické pro nádory maligní (Finsterle, 2007a).

Benigní nádory se u fen objevují ve výrazně mladším věku než nádory maligní. Nejčastěji však až po 5 letech života (Petrov et al., 2014; Perez Alenza et al., 2000; Sorenmo et al., 2009). Avšak feny s benigním nádorem na mléčné žláze mají více než trojnásobné riziko vývoje nádoru maligního (Fossum, 2013).

4.2.2.2 Maligní nádory

Maligní nádory jsou obecně nazývány jako „rakovina“ (Withrow et al., 2013). V retrospektivní studii Oliveira Filha et al. (2010) bylo z 1465 neoplazií mléčné žlázy fen dokonce 1075 maligních (73,3%) a nejčastějším typem z nich byl jednoduchý karcinom. Jiní autoři ale uvádějí procento malignity CMT podstatně nižší. Shodují se na 30% (Misdorp et al., 1999; Novotný a Halouzka, 2005). Liptak (2017) a Petrov et al. (2014) uvádí procentuální poměr výskytu maligních a benigních nádorů u psů 50% ku 50%.

Maligní nádory můžeme rozdělit především na epiteliální nádory, mezi které jsou zařazovány především karcinomy a jejich varianty, jednoduché karcinomy, komplexní, karcinomy z vřetenovitých buněk, karcinomy, jež jsou bohaté na lipidy, karcinomy z dlaždicových buněk, mucinozní karcinomy a karcinomy vyvolané benigním nádorem. Druhým podtypem jsou sarkomy neboli mezenchymální neoplazie. Sarkomy mléčné žlázy zahrnují především osteosarkomy (z kostní tkáně), chondrosarkomy (z chrupavčité tkáně), fibrosarkomy (z vazivové tkáně) a dále smíšené maligní neoplazie (Hamp and Misdorp, 1974; Sleenckx et al., 2011; Withrow et al., 2013, Stříteský, 2001). Misdorp (1999) označuje osteosarkom a fibrosarkom jako nejčastěji se vyskytující druh sarkomu v mléčné žláze fen. Sarkomy jsou definovány jako zánětlivé karcinomy, pro které je typický hnisavý povrch, zánět mléčné žlázy a rychlejší růst. Jsou velice lokálně agresivní s vysokou tendencí k metastázám a špatně léčitelné. Mléčná žláza zasažená sarkomem je zarudlá, oteklá viz obr. 7 a bolestivá (Perez Alenza et al., 2001; Souza et al., 2009; Susaneck et al., 1983). Podle Stříteského (2001) velmi často metastazují krevním řečištěm do životně důležitých orgánů, jako jsou plíce, játra, mozek ale i kosti. Avšak studie Clemente et al. (2010) toto tvrzení nepotvrzuje, nýbrž spíše vyvracuje. V této studii z 39 sarkomů ani jeden nemetastazoval do kostí a metastázy do plic, jater a ledvin byly méně časté než do močového měchýře a reprodukční soustavy fen. Navíc metastázy do močového měchýře a reprodukční soustavy

byly zjištěny pouze v zánětlivých nádorech, v nezápětlivých nikoliv. Autoři poukazují na metastatický model v sarkomech jako na ukazatele patogeneze těchto forem nádorů v mléčné žláze. Peňa et al. (2003) označil IMC (Infammatory Mammary Carcinoma – Zánětlivý karcinom mléčné žlázy) jako výrazně závažné nádorové onemocnění s velmi špatnou prognózou. Stejně tak tomu je i u lidí s IBC (Inflammatory Breast Carcinoma). Dle studie Perez Alenza et al. (2001) je klasifikováno jako IMC přibližně 7,6% ze všech CMT. Jiní autoři udávají ve svých studiích ještě nižší procento četnosti IMC a to do 5%. V Moultonově et al. (1970) studii IMC představovaly jen 1% a byly označeny za vzácné. Ve studii Dolky et al. (2013) bylo jako IMC určeno pouze 34 neoplazií ze všech 841 a představovaly tak 4%. Nejčastější byl výskyt fibrosarkomu (2,1%) a osteosarkomu (0,9%). Četnost diagnózy sarkomů ze všech maligních nádorů u psů dosahuje maximálně 13% (Moulton et al., 1970; Sleenckx et al., 2011; Misdorp et al., 1971).



Obr. 7 Zánětlivý karcinom mléčné žlázy feny (IMC) (Liptak, 2017).



Obr. 8 IMC – zánětlivý karcinom mléčné žlázy feny (Moore and Frimberger, 2010).

Karcinosarkomy jsou smíšené maligní nádory (Fossum, 2013), které jsou z části tvořeny buňkami původu epitelálního a z části buňkami připomínající tkáň pojivovou (Withrow et al., 2013; Cassali et al., 2017; Goldschmidt et al., 2011; Hampe and Misdorp, 1974; Sleenckx et al., 2011). Jejich výskyt je u psů vzácný (Novotný a Halouzka, 2005). V mléčné žláze až neobvyklý. Epiteliální část nádoru má schopnost metastazovat lymfogenně přes lymfatické cévy až do regionálních lymfatických uzlin a plic. Buňky z části připomínající pojivovou tkáň mohou metastazovat hematogenně přes krevní cévy také až do plic (Withrow et al., 2013).

Ve studii Ežerskyteho et al. (2011), která zahrnovala 80 fen s diagnózou CMT (Canine Mammary Tumours), byl určen pomocí histologické klasifikace jako nejčastější nádor jednoduchý karcinom a to u 46% vyšetřených neoplazií. Komplexní karcinom byl stanoven u 27% nádorů a třetím nejčastějším byl určen karcinosarkom u 13%. Velmi podobné výsledky prezentuje ve své studii také Tavasoly et al. (2013), ve které bylo hodnoceno a klasifikováno 37 CMT. U všech 37 neoplazií byla stanovena malignita. Z toho 32 nádorů byly karcinomy a 5 sarkomy. Nejčastějším karcinomem byl označen jednoduchý karcinom stejně jako ve studii Eržekyšteho et al. (2011), zde však z 56,8% (21 nádorů). Druhým nejčastějším byl také shodně s předchozí studií komplexní karcinom z 13,5% (5 nádorů). Následoval karcinom vyvolaný benigním nádorem z 10,8% (4 nádory). Další dva nádory byly klasifikovány jako zvláštní typ karcinomu (5,4%) přičemž jeden byl označen jako karcinom bohatý na lipidy a druhý jako karcinom z vřetenovitých buněk. Sarkomy byly histologicky rozděleny na typ

karcinosarkom u 4 nádorů a chondrosarkom u 1. Ve studii Dalecka et al. (1998) autoři prezentují jako nejčastější nádor také jednoduchý karcinom. Z 23 fen s CMT byl tento typ stanoven u 52,17%.

Dalším, podle některých studií velmi častým zhoubným nádorem nejen mléčné žlázy je karcinom z benigního smíšeného nádoru (CBMT – carcinomas in benign mixed tumours). Charakterizován je vývojem ohniskovým nebo nodulárním. Epiteliální buňky s různým stupněm malignity a atypickými jádry jsou stále propojeny s primárním benigním nádorem. Buňky maligní části CBMT můžou dokonce napadnout a později úplně přerůst původní benigní lézi. Vyšší počet buněk, pleomorfismus, mitotický index, nekrotická ložiska a infiltrativní růstový potenciál jsou znaky, které umožňují diferenciaci obou částí smíšeného nádoru. CBMT jsou využívány jako model ke studii progresu neoplazií (Cassali et al., 2017; Cassali et al., 2014; Damasceno et al., 2013).

Buňky zhoubných nádoru mají schopnost prostupovat a prorůstat do buněk nenádorových a dostat se tímto pro ně typickým mechanismem i do lymfatických či krevních cév (Finsterle, 2007a; Withrow et al., 2013). Pokud jsou vlastnosti buněčných povrchů nádorových a zdravých buněk rozdílné nebo změněné, nádor se šíří infiltrativně nebo až invazivně. Invazivní šíření nádoru je zprostředkováno enzymy na povrchu nádorových buněk, které mají tkáňově destrukční účinek a velmi poškozují zdravé buňky a jejich funkci. Infiltrativní růst je vysvětlován jako prorůstání nádorových buněk tkáňovými štěrbinami. Maligní buněčný fenotyp je vyznačován především nekontrolovatelným množením a poruchami diferenciace (Hořín a kol., 1998). Maligní nádory mají ohraničení makroskopicky téměř nepozorovatelné neboli tzv. neostrou hranici. Díky infiltrativnímu prorůstání buněk, které se mohou od primárního nádoru oddělit je chirurgické odstranění v takovém případě velmi obtížnou záležitostí. Po vyoperování nádoru mohou neoplastické buňky zůstat v okolních tkáních a z nich vyrůst nádor sekundární. Tento děj je popisován jako recidiva nádorového bujení (Stříteský, 2001).

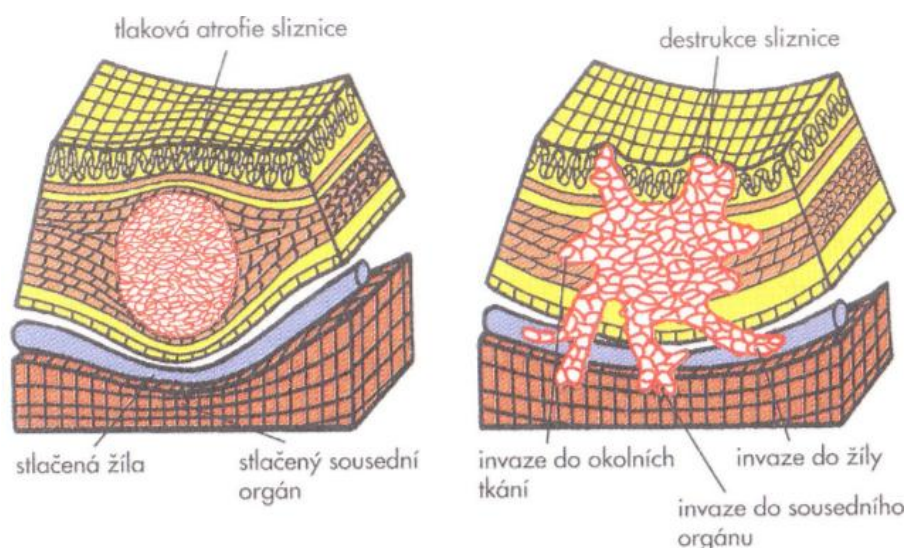
Mezi hlavní vlastnosti maligních nádorů je řazen jejich rychlý a nekontrolovatelný růst, který však nebývá stejné intenzity po celou dobu růstu. Dále pevná fixace pomocí vazivového pouzdra k břišní stěně psa či k jeho kůži (Halouzka a kol., 2009). Dalšími vlastnostmi, kterými jsou maligní nádory odlišovány od benigních je zvýšená pleomorfie jader i buněk, zvýšený až abnormální počet mitóz, abnormální nukleární chromatin uspořádaný do větších hrudek, nekrózy, dystrofické léze, nediferenciované buňky, nesouvislá bazální membrána, vysoká intenzita prostupování nádorových buněk mikrocévami a dramatická ztráta organizační struktury původní tkáně (Withrow et al., 2013; Goldschmidt et

al., 2011; Sleenckx et al., 2011; Misdorp et al., 1971; Mitchell et al., 1974; Restucci et al., 2000; Halouzka et al., 2009).

4.2.2.2.1 Metastázy

Nádorové metastázy jsou definovány jako nově vznikající, dceřiná ložiska ve vzdálených místech organismu od primárního nádoru a to bez morfologické souvislosti (Halouzka a kol., 2009; Finsterle, 2007a). Vývoj metastázy je několika stupňový proces, který závisí na mnoha faktorech. Tento proces je typickým pro nádory zhoubné. Z mléčné žlázy mohou nádory metastazovat hematogenně, lymfogenně či lymfohematogenně. Díky pevnosti stěn arterií dochází mnohem častěji k průniku nádorových buněk do krevního řečiště prostřednictvím žil než prostřednictvím tepen (Halouzka a kol., 2009). Nádorové buňky putují k orgánům i mezibuněčnými prostory neboli porogenně (Finsterle, 2007a). Studie Wonga et al. (2002) dokazuje, že počáteční proliferace nádorové buňky probíhá v některých případech již v cévách, což je potvrzeno i studiemi dalších autorů (Crissman et al., 1988). První fází tvorby metastázy je separace buňky od primárního nádoru, dále transport krevním či lymfatickým systémem a poté průnik do orgánu a tvorba ložisek (Withrow et al., 2013; Silver, 1966; Sleenckx et al., 2011). Metastázy nejsou tvořeny buňkami, které jsou náhodně uvolněny z primárního nádoru a přežijí cestu k cílovému orgánu, nýbrž buňkami ze selektivního růstu specializovaných metastatických subpopulací buněk nádoru, které mají specifické vlastnosti k tomu, aby dokončily každý krok metastatického procesu (Poste and Fidler, 1980; Ramaswamy et al., 2003). Orgán, do kterého buňka proniká, může být definitivně cílovým místem nebo jen přechodným (Withrow et al., 2013). Z 64% jsou metastázy z mléčné žlázy tvořeny v regionálních lymfatických uzlinách. Z orgánů jsou to nejčastěji plíce s 53%. Dále játra (13%), ledviny (11%), srdce (11%), kosti (10%) a výjimečně i jiné orgány (König and Liebich, 2002). Nádorové buňky z nádorů lokalizovaných v kranialní a kaudální hrudní oblasti mléčné žlázy nejčastěji putují do axilárních lymfatických uzlin (Patsikas and Dessiris, 1996a,b; Silver, 1966). Častěji jsou však metastázy diagnostikovány v inguinálních lymfatických uzlinách. To také potvrzuje fakt, že nejčastěji jsou CMTs v komplexech mléčné žlázy této oblasti (Coletto et al., 2018; Matos et al., 2006; de Araújo et al., 2015). Samotnou velikostí nádoru je výskyt metastáz velmi ovlivněn. Zpravidla u nádorů větších rozměrů se metastázy objevují velmi často. Tento fakt posiluje význam diagnózy a včasné léčby CMT (Chang et al., 2005; Oliveira Filho et al., 2010). Vyšetření feny především s maligním nádorem mléčné žlázy zahrnuje hrudní rentgenové snímky a pečlivé vyhodnocení regionálních lymfatických uzlin nejen palpací ale i biopsií. Diagnostikované metastázy

v plicích znamenají pro ženu velmi špatnou prognózu. Metastázy v regionálních lymfatických uzlinách znamenají vyšší riziko recidivy nádoru po operaci, snižují délku života ženy a jsou významným prognostickým ukazatelem (Moore and Frimberger, 2010; Coletto et al., 2018; Meuten, 2017). Ženy s 2 a více zasaženými lymfatickými uzlinami mají míru přežití nízkou až velmi nízkou (de Araújo et al., 2015). Sarkomy vyvíjí metastázy rychleji než karcinomy (Fossum, 2013). Maligní nádory, které destrukují okolní tkáň, ale nemetastazují do vzdálenějších tkání organismu, jsou označovány jako nádory s tzv. lokální malignitou (Hořín a kol., 1998).



Obr. 7 Znázornění expanzivního a invazivního růstu nádoru (Stříteský, 2001)

4.3 Pravděpodobnost a statistiky výskytu nádorů mléčné žlázy žen

Nádory mléčné žlázy jsou nejčastějším nádorovým onemocněním u žen sexuálně intaktních, na tomto faktu se shoduje většina autorů (Dorn et al., 1968; Dobson et al., 2002; Moe, 2001; Egenvall et al., 2005; Bronden et al., 2010; Merlo et al., 2008; Withrow et al., 2013). Autoři studií uvádí, že nádory mléčné žlázy představují 50-70% ze všech nádorových onemocnění žen (Egenvall et al., 2005; Merlo et al., 2008; Withrow et al., 2013; Meuten, 2017). Sleenckx et al. (2011) uvádí toto procento nižší, avšak minimálně 40%. Dorn et al. (1968) ve své studii prezentují výpočet přibližného ročního výskytu maligních CMT na 100000 sexuálně intaktních žen. Uvádí 257,7 zhoubných nádorů. Ve studii Dobsona et al. (2002) na 100000 žen ze Spojeného království připadá 205 všech CMT za rok, bez ohledu na histologii. Egenvall et al. (2005) ve své studii založené na 80000 ženách uvádí v procentech rostoucí riziko vzniku CMT s pokročilým věkem. Ze všech 8 letých žen byl u 6% alespoň jednou diagnostikován nádor mléčné žlázy. U 10 letých to bylo už 13%. Ve studii Benjaminova et al. (1999), ve které se autoři zaměřili na výskyt CMT u 672 vybraných žen biglů, byl

diagnostikován jeden nádor mléčné žlázy během celého života u 476 fen. To představuje 70,8%. U 408 (60,7%) fen byla diagnostikována více než jedna neoplázie mléčné žlázy. Avšak tyto údaje nevystihují výskyt CMT u všech plemen. Ve srovnání s ženami se nádory mléčné žlázy vyskytují u fen 3krát častěji (Hořín a kol., 1998). Mnoho studií uvádí odchylky v pravděpodobnosti výskytu tohoto onemocnění u různých plemen psů, což vypovídá o plemenné predispozici ke vzniku CMT (Withrow et al., 2013). Štourač (2017) uvádí 40% pravděpodobnost vzniku neoplazií mléčné žlázy u nekastrovaných fen boxerů mezi 6. a 12. rokem života.

4.3.1 Nádory mléčné žlázy u samců psa domácího (*Canis lupus familiaris*)

Studie Saba et al. (2008) založena na osmi psech s histologicky diagnostikovanými nádory na mléčné žláze potvrzuje, že pravděpodobnost výskytu tohoto onemocnění u samců psů je velmi malá a tumory na mléčné žláze jsou u nich velmi vzácné. Průměrný věk psů při diagnóze byl 11,5 roku. 7 nádorů bylo epiteliálních, benigních. Jeden maligní s možnou recidivou po odstranění. Metastázy nebyly prokázány ani u jednoho z 8 nemocných psů. Pravděpodobnost vzniku nádorového onemocnění mléčné žlázy u psů je 62krát menší než vznik onemocnění u fen. Nieamnd and Sutter (1996) uvádí, že nádory na mléčné žláze u psů jsou velmi vzácnou záležitostí a vyskytují se spíše ve spojitosti s nádory Sertoliho buněk. Ve studii Benjamin et al. (1999) bylo po celou dobu života kontrolováno 671 bíglů pro výskyt CMT. Nádor mléčné žlázy byl následně diagnostikován ve 2 případech.

4.4 Faktory ovlivňující vznik nádorů mléčné žlázy fen

Na rozvoj nádorového onemocnění mléčné žlázy má u fen vliv mnoho faktorů. Mezi ty nejvýznamnější je řazen věk, sexuálně intaktní stav, kastrace po 2,5 letech života, plemenná příslušnost a genetická predispozice, podávání léků s hormony, obezita a výživa, březost a laktace (Perez Alenza et al., 2000; Sleenckx et al., 2011; Sorenmo et al., 2011; Moore and Frimberger, 2010; Nguyen et al., 2018).

4.4.1 Věk

Většina CMT je diagnostikována u fen středního až staršího věku. Diagnostika CMT u mladých fen je velmi ojedinělou záležitostí (Schneider, 1970; Meuten 2017; Withrow et al., 2013; Brodey et al., 1983; Kurzman and Gilbertson, 1986). CMT a především ty maligní jsou u fen mladších 5 let až extrémně vzácné (Dorn et al., 1968; Schneider, 1970; Withrow et al., 2013; Sleenckx et al., 2011). Riziko vzniku nádorového onemocnění mléčné žlázy je s věkem

výrazně zvyšováno. Feny se zhoubnými nádory jsou výrazně starší než feny s nádory nezhooubnými. Průměrný věk fen s diagnostikovanými maligními nádory je mezi 9 až 11 lety. Feny s nádory benigními se nejčastěji pohybují v rozpětí 7. až 9. roku života (Sorenmo et al., 2009; Taylor et al., 1976; Dorn et al., 1968; Zatloukal et al., 2005). Nejvyšší výskyt CMT bez specifikace zda jde o maligní či benigní nádory je mezi 7-13 rokem života fen (Schneider, 1970; Meuten, 2017; Caldas et al., 2016). Pokud je brán v úvahu fakt, že se větší plemena přirozeně dožívají kratšího věku, než plemena malá, pak u větších plemen bývá v praxi věk při diagnóze CMT nižší než u plemen meších (Meuten, 2017; Withrow et al., 2013). V retrospektivní studii Ežerskyteho et al. (2011) bylo analyzováno 80 CMT u 80 fen. Nejvíce nádorů mléčné žlázy bylo zaznamenáno u fen ve věku od 8 do 10 let (56%). U fen starších 11 let byl výskyt CMT nižší (40%) a ve skupině mladých fen od 1 roku do 5 let CMT představovali jen 4%. Většina nádoru byla lokalizována v kaudálních břišních mléčných žlázách a ve stydké oblasti. Niemand and Sutter (1996) uvádí, že 62% všech CMT je lokalizováno na posledních dvou párech mléčné žlázy v inguinální krajině.

4.4.2 Plemenná příslušnost a genetické predispozice

Nádorová onemocnění mléčné žlázy se objevují u fen všech různých plemen. Avšak dle Sorenmo et al. (2011) jsou taková plemena, u kterých se CMT objevují častěji, protože jejich genetický základ napomáhá vzniku tohoto onemocnění. Vyšší výskyt CMT u plemen loveckých psů v porovnání s boxerem a čivavou ve své studii prezentovali Brodey et al. (1983). Někteří autoři se shodují, že feny čistého původu mají větší pravděpodobnost vzniku CMT než kříženky plemen (Štourač, 2017; Dorn et al., 1968; Kurzman and Gilbertson, 1986; Karayannopoulou et al., 1990; Sleenckx et al., 2011). Štourač (2017) dodává, že u čistokrevných fen s vyšším koeficientem příbuznosti je vyšší také riziko vzniku nádorového onemocnění mléčné žlázy než u fen s nižším koeficientem příbuznosti (Fx). Podle Větvičky (2003) a Zatloukala et al. (2005) jsou nejčastějšími plemeny zasaženými CMT pudli, jezevčici a kokršpaněli. Štourač (2017) zmiňuje ještě boxery a anglické špringršpaněli. Kromě těchto se v ostatních studiích dočteme ještě o dalších plemenech s predispozicí k CMT. Německý ovčák, anglický setr, pointer, bretaňský ohař, maltézský psík, afgánský chrt, jorkšírský teriér, čivava, bígl, bišonek, west highland white teriér a dobrman patří k těm nejčastějším (Sorenmo et al., 2011; Mitchell et al., 1974; Withrow et al., 2013; Moe, 2001; Meuten, 2017; Dorn et al., 1968; Yamagami et al., 1996; Egenvall et al., 2005; Zatloukal et al., 2005; Caldas et al., 2016). Studie dvou rodin bíglů ze stejné kolonie zahrnující 5 generací ukázala u jedné náchylnost ke vzniku CMT a u druhé naopak odolnost k tomuto onemocnění. Tyto výsledky

potvrzují kromě plemenné predispozice také genetický vliv na rozvoj CMT (Schafer et al., 1998). Ve studii Rivera et al. (2009) byl prokázán vliv mutací genů BRCA1 a BRCA2 na zvýšení rizika vzniku nádorových onemocnění mléčné žlázy u anglických špringršpanělů.

Tabulka 5 Výskyt a relativní riziko rozvoje CMTs u 17053 psů vybraných plemen (Zatloukal et al., 2005).

	Počet psů	Psi s CMTs	Psi s maligními CMTs	Relativní riziko rozvoje CMTs	Relativní riziko vývoje maligních CMTs
Všichni psi	17053	217	134	1	1
Pudl	1367	43	29	2,5	2,7
Standardní knírač	271	7	1	2	0,5
Anglický kokršpaněl	797	19	13	1,9	2,1
Jezevčík	2053	43	26	1,6	1,6
Bulteriér	149	3	2	1,6	1,7
Americký kokršpaněl	224	4	4	1,4	2,3
Miniaturní knírač	298	5	2	1,3	0,4
Dobrman	572	8	4	1,1	0,9
Maltézský psík	149	2	2	1,1	1,7
Německý ovčák	1811	24	16	1	1,1
Baset	104	1	1	0,8	1,2
Smíšené plemeno	2272	22	14	0,8	0,8
Trpasličí pinč	155	1	0	0,5	0
Jorkširský teriér	419	2	1	0,4	0,1
Zlatý retriever	200	1	0	0,4	0
Americký pitbulteriér	225	1	0	0,3	0
Boxer	386	1	1	0,2	0,3
Labradorský retrívr	292	0	0	0	0
Rotvajler	343	0	0	0	0
Německý špic	237	0	0	0	0
Německá doga	249	0	0	0	0
Rhodéský ridgeback	146	0	0	0	0
Bígl	113	0	0	0	0
Pekingský palácový psík	224	0	0	0	0
Dalmatin	209	0	0	0	0
Am. stafordširský teriér	142	0	0	0	0
Brazilská fila	102	0	0	0	0
Čivava	119	0	0	0	0
Irský setr	105	0	0	0	0
Francouzský buldoček	139	0	0	0	0
Shar-pei	120	0	0	0	0

4.4.3 Hormonální vliv na vznik CMT

Hormony vaječnicků, progesteron a estrogen významně ovlivňují vznik novotvarů mléčné žlázy feny (Meuten, 2017; Nguyen et al., 2018). Ať už jsou v těle feny vyplavovány přirozeně pomocí vaječnicků, nebo podávány chovatelem formou hormonálních léků (progestiny = gestageny), například za účelem potlačení pohlavního cyklu, výrazně zvyšují riziko tvorby novotvarů mléčné žlázy (Meuten, 2017; Niemand and Sutter, 1996).

MacEwen et al. (1982) prokázali estrogenové receptory u 38 z 62 neoplazií mléčné žlázy feny včetně všech 24 adenokarcinomů. Naproti tomu všechny 3 sarkomy byly na estrogenové receptory (ER) negativní. Autoři poukazují na vyšší výskyt ER v benigních nádorech mléčné žlázy než v maligních. Tento fakt potvrzuje i několik dalších studií (Silveira et al., 2017; de las Mula et al., 2004). Navíc je exprese ER vyšší u komplexních a smíšených neoplazií než u těch jednoduchých (de las Mula et al., 2004). Přibližně 50% CMT pozitivních pro ER jsou taktéž pozitivní pro receptory progesteronové (PR) z nichž je 75% citlivých pro hormonální terapii. ER v CMT zprostředkovávají expresi PR. Neoplázie, jež jsou pozitivní na ER, ale negativní pro PR, jsou jednoznačně méně citlivé na hormonální terapii. Naopak nádory pozitivní pouze na expresi PR jsou na hormonální terapii velmi citlivé (Yamashita et al., 2006; Zuccari et al., 2008; Silveira et al., 2017). Klopffleisch et al. (2010) ve své studii také prokázali přítomnost ER a PR v zhoubných i nezhooubných CMT. Dle autorů je v normální mléčné žláze feny bez neoplazií počet PR velmi vysoký a svou studii prokázali 10x nižší expresi PR u karcinomů a jejich metastáz v lymfatických uzlinách. Toto zjištění potvrzuje teorii prezentovanou i ostatními autory, že exprese obou receptorů současně především v benigních neopláziích mléčné žlázy značí lepší prognózu pro přežití feny (Silveira et al., 2017; Chang et al., 2009; Fossum, 2013). Ze studií taktéž vyplývá, že exprese pouze ER v maligních CMT výrazně snižuje délku života feny a podporuje maligní charakter nádoru. Naopak exprese pouze PR je spojená s nezhooubnými nádory a současně s lepší prognózou (Klopffleisch et al., 2010; Chang et al., 2009; Silveira et al., 2017; Perez Alenza et al., 2000). Estrogenové a progesteronové receptory jsou obsaženy v 50% všech zhoubných CMT a až v 70% nezhooubných CMT (Fossum, 2013).

Opakované a dlouhodobé podávání léků s progestageny a estrogeny na potlačení pohlavního cyklu feny výrazně zvyšuje riziko vzniku nádorů na mléčné žláze a především těch benigních. Mezi látky takto působící jsou řazeny hlavně medroxyprogesteron-acetát (MPA) a megesterol-acetát (Niemand and Sutter, 1996; Støvring et al., 1997; Withrow et al., 2013; Misdorp, 1991). Dlouhodobým podáváním i nízkých dávek progestinů je podporován

rozvoj především benigních nádorů mléčné žlázy, zatímco podávání progestinů v kombinaci s estrogeny vyvolává vývoj maligních neoplazií mléčné žlázy (Misdorp, 1991; Selman et al., 1995; Meuten, 2017). Ve studii Støvring et al. (1997) byla skupina 98 fen vystavena působení MPA ve formě léků tlumících říjový cyklus a druhá kontrolní skupina 98 fen nikoliv. Výsledky studie ukázaly, že u fen z první skupiny bylo po této hormonální léčbě 2,3 krát vyšší riziko vzniku CMT než u fen ze skupiny kontrolní.

4.4.4 Váha, obezita a složení krmné dávky jako faktory ovlivňující vznik CMT

Tělesná hmotnost feny v průběhu několika životních období má velký etiologický význam při pozdějším vzniku neoplazií mléčné žlázy (Withrow et al., 2013). Konkrétně během puberty feny (9. -12. měsíc života) má tělesná váha při pozdějším možném rozvoji CMT podstatný vliv. Mírná podváha feny během puberty snižuje pravděpodobnost vzniku nádorů na mléčné žláze v pozdějším věku. Obezita v době diagnózy CMT jako rizikový faktor potvrzena nebyla (Sonnenschein et al., 1991). Obezita kolem 1. roku života zvyšuje riziko rozvoje CMT, avšak s tímto faktem souvisí i složení krmné dávky feny. Vysoký příjem červeného masa, zejména hovězího a vepřového, současně s nižším příjmem masa drůbežního také napomáhá k vývoji neoplazií mléčné žlázy (Peréz Alenza et al., 1998).

5 Prevence rozvoje CMTs (Canine Mammary Tumours)

5.1 Kastrace (ovariohysterektomie = OHE)

Nádorům mléčné žlázy lze u fen předcházet. Kastrace neboli ovariohysterektomie je chirurgické odstranění vaječníků a dělohy. Kastrací feny, zejména před první říjí, je riziko rozvoje nádorů mléčné žlázy výrazně sníženo (Niemand and Sutter, 1966). Při provedení OHE před první říjí feny (před dosažením 1. roku věku) se riziko vzniku CMT snižuje až na 0,5% (Schneider et al., 1969; Sonnenschein et al., 1991; Meuten, 2017). Toto riziko je pak v porovnání se zbytkem populace sníženo na 15% (Dorn et al., 1968). Vliv OHE na snížení rizika vzniku CMT s každým říjovým cyklem klesá. Pokud je kastrace provedena až po prvním říjovém cyklu, pak je riziko vzniku CMT snížena na 8% (Schneider et al., 1969). Po druhém říjovém cyklu je toto riziko už 26%. Podle autorů této studie kastrace později než před třetím říjovým cyklem nemá téměř žádný vliv na snížení rizika rozvoje nádorových onemocnění mléčné žlázy feny (Schneider et al., 1969). Jiní autoři dodávají, že provedení OHE v pozdějším věku sice nesnižuje riziko rozvoje CMT, ale poskytuje jakousi částečnou

ochranu (Taylor et al., 1976; Sonnenschein et al., 1991). Z těchto studií vyplývá, že nejvyšší míra prevence proti rozvoji CMT pramení v zamezení průběhu už prvního říjového cyklu. Jelikož ovariální hormony mají na mléčnou žlázu v období puberty klíčový a nevratný účinek při jejím rozvoji, pak z hlediska pozdějšího rozvoje tumorů mléčné žlázy je časná kastrace tou nejlepší prevencí (Withrow et al., 2013; Schneider et al., 1969; Štourač, 2017). Avšak kastrace fen před první říjí není doporučována kvůli možnému vzniku zdravotních komplikací, jako je například inkontinence moči a nedokonalý vývoj. Doporučována je pak jen prevence ve formě pravidelné kontroly palpací mléčné žlázy chovatelem a zamezení působení ovlivnitelných faktorů podporujících rozvoj CMT, jako je vyvážená strava a s ní spojená obezita, vystavování zvířete působení karcinogenů a neuvážené podávání hormonálních léků (Svoboda a kol., 2001).

6 Diagnostika nádorů mléčné žlázy fen

Včasná diagnóza a terapie CMTs jsou nejdůležitějšími kroky pro přežití a vyléčení feny (Hořín a kol., 1998). Nádory mléčné žlázy jsou v mnoha případech zjištěny při běžné návštěvě veterinárního lékaře nebo při rutinním fyzikálním vyšetření majitelem, pokud je jím prováděno (Fossum, 2013; Withrow et al., 2013).

6.1 Symptomy

Dle Fossum (2013) jsou feny do veterinární ordinace často přiváděny s abnormálním výtokem z mléčné žlázy. Jsou i případy, kdy chovatel nechá dojít onemocnění tak daleko, že přivádí fenu k lékaři už velmi zesláblou či dušnou. Příčinou jsou většinou kostní a plicní metastázy zhoubného nádoru mléčné žlázy. Withrow et al. (2013) dodává, že přítomnost systémových příznaků CMTs je mezi případy velmi odlišná. Ovšem u zánětlivých nádorů mléčné žlázy bývají příznaky evidentní. Mléčná žláza bývá v zasažených oblastech zarudlá, oteklá, velmi teplá a na pohmat pro fenu bolestivá (Macronato et al., 2009; Perez Alenza et al., 2001; Meuten, 2017). Feny zasažené IMC vykazují celkovou slabost, anorexii, bývají unavené i při nenáročné fyzické aktivitě a mohou kašlat (Fossum, 2013; Petrov et al., 2014). Moore and Frimberger (2010) zdůrazňují, že IMC mají zásadní vliv na kvalitu života feny kvůli jejich specifické agresivě vůči organismu. Zánětlivé karcinomy mléčné žlázy bývají zaměňovány s „pouhou“ mastitidou (zánět mléčné žlázy) nebo s akutní dermatitidou (Withrow et al., 2013; Macronato et al., 2009).

Většina fen s jiným druhem nádoru, než s IMC nevykazuje zjevné příznaky onemocnění a na pohled jsou zdravé (Sorenmo, 2003). Především feny s benigními nádory. V těchto případech jsou symptomy tohoto onemocnění omezeny jen na mléčnou žlázu a pozorování případných bulek na ní (Meuten, 2017; Withrow et al., 2013). V jedné nebo obou řadách mléčných oddílů lze palpací nahmatat tužší masu tkáně, která je často pohyblivá, avšak občas jsou bulky fixovány na sval či fascii. Masy mohou být podkožní nebo vředovité (Fossum, 2013).

6.2 Vyšetření feny s podezřením na nádorové onemocnění mléčné žlázy

6.2.1 Diagnostické metody a předoperační vyšetření

První vyšetření zvířete s podezřením na CMT je založeno na anamnéze a základních údajích o něm. Tento souhrn informací o feně zahrnuje především: věk, věk při OHE pokud byla provedena, historii o případných příznacích, informace o průběhu reprodukčních cyklů, informace o lécích a to především o gestagenech a počet porodů/laktací. Dále lékař zjistí celkový fyzický stav a provede fyzikální vyšetření (Petrov et al., 2014; Sorenmo, 2003; Hořín a kol., 1998).

Fyzikálním vyšetřením může lékař na mléčné žláze diagnostikovat masy různé velikosti, avšak průměrně od 2 mm do 8 cm (Fossum, 2013). Palpace mléčné žlázy je zaměřena na posouzení konzistence parenchymu a vyloučení či potvrzení tuhých tvarů (novotvarů) v něm (Svoboda a kol., 2001). Maligní nádory bývají v průměru výrazně větší než benigní (4,7 vs. 2,1 cm). U 66% fen lékař diagnostikuje více než jeden nádor při jednom vyšetření. Nejčastějším místem lokalizace CMT jsou inguinální mléčné komplexy (Sorenmo et al., 2009). V této oblasti by měla být provedena palpce pečlivě pro detekci i malých nádorů (Benjamin et al., 1999; Withrow et al., 2013). Hmatatelné bývají i zvětšené axilární či inguinální lymfatické uzliny pokud se jedná o maligní nádor s metastázami (Fossum, 2013). Hodnocena je i barva kůže, teplota kůže v oblasti mléčné žlázy a konzistence žlaznaté tkáně. V neposlední řadě zkusí lékař z vemínek vymačkat sekret, a pokud je přítomen, ohodnotí jeho barvu, zápach, konzistenci, vločkovitost a přítomnost krve (Hořín a kol., 1998).

6.2.1.1 Laboratorní vyšetření

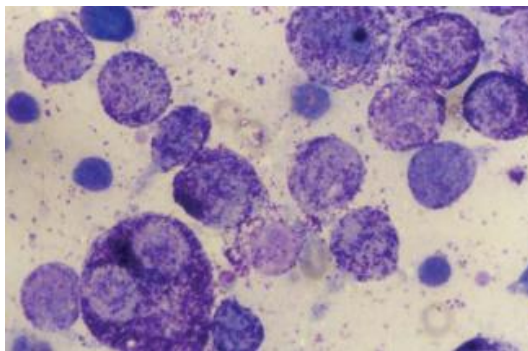
Laboratorní vyšetření zahrnuje kompletní hematologické a biochemické vyšetření krve (Withrow et al., 2013; Fossum, 2013; Hořín a kol., 1998). Výsledky nás informují o celkovém stavu feny, neoplastických syndromech a ovlivňují stanovení přesné prognózy (Hořín a kol.,

1998; Fossum, 2013). Analýza moči spadá taktéž do laboratorních vyšetření při CMT (Fossum, 2013).

6.2.1.2 Cytologické vyšetření nádoru mléčné žlázy

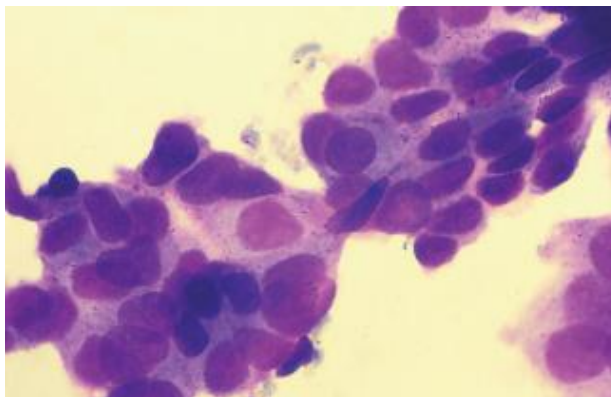
Cytopatologické vyšetření nádorových buněk provádí kvalifikovaný cytopatolog, kterým jsou vyhodnoceny jednotlivé buňky ve vzorku tkáně (Moore and Frimberger, 2010). Odebrání cytologických vzorků neoplazií je relativně jednoduchou metodou, pro organismus minimálně invazivní (Dolka et al., 2018; Hořín a kol., 1998; Moore and Frimberger, 2010). K provedení cytologického vyšetření nádoru se v praxi užívá tzv. tenkojehlové aspirace (FNA – Fine Needle Aspiration) (Withrow et al., 2013; Moore and Frimberger, 2010; Petrov et al., 2014) nebo tenkojehlové aspirační biopsie (FNAB – Fine Needle Aspiration Biopsy) (Teske, 2008). Vzorky jsou získávány z nádorů aspirační jemnou jehlou. Doporučené velikosti jehly jsou 22 G (černá – průměr 0,7 mm) a 23 G (modrá – průměr 0,6 mm) s připojenou 10 ml injekční stříkačkou (Dolka et al., 2018; Petrov et al. 2014; Teske, 2008).

Cytologie neoplazií na mléčné žláze fen je prováděna za účelem odlišení nádorů od zánětů a určit jestli je případný zánět akutní či chronický. Při diagnostice nádoru je dále přistupováno k bioptickému vyšetření (Moore and Frimberger, 2010). Použití cytologie k diagnostice nádorů mléčné žlázy fen je velmi sporné neboť buňky jednoho nádoru mohou být výrazně heterogenní (Polton, 2009). Pokud se jedná skutečně o nádor, cytologickým vyšetřením lze zjistit, zda se jedná o benigní či maligní dle znaků malignity jako je shlukování a tvar chromatinu, abnormální jaderné tvary, počet jader a další (Dolka et al., 2018; Allen et al., 1986). Maligní nádory lze specifikovat podle typu buněk na epiteliální (karcinomy) a mezenchymální (sarkomy). Dále existují charakteristiky vzorku, dle kterých lze diagnostikovat typ nádoru jako například nádor žírných buněk, lymfom, osteosarkom, fibrosarkom (Moore and Frimberger, 2010; Teske, 2008). Pomocí cytologického vyšetření jsou též snadno prokazatelné metastázy v lymfatických uzlinách (Teske, 2009b).



Obr. 8 Metastatické binukleární buňky CMT v lymfatické uzlině (Teske, 2009b).

Z odebraného vzorku je zhotoven nátěr, který je obarven vybranou metodou a dále je vyšetřován pomocí mikroskopu (Teske, 2008).



Obr. 9 Epiteliální tkáň komplexního adenomu mléčné žlázy feny (Teske, 2008).

Dle Fossum (2013) i Hořina a kol. (1998) by měla být cytologicky vyšetřena i pleurální tekutina pro zjištění případných metastatických buněk.

Avšak cytologická diagnostika není 100% přesnou metodou k diferenciaci tumorů (Meuten, 2017). To potvrzují i výsledky nedávné studie zaměřené na porovnání cytologické a histologické diagnostiky nádorů mléčné žlázy u psů. Histologická diagnóza ukázala, že 2 vzorky byly dřívější cytologickou diagnostikou určeny nesprávně, celková shoda mezi oběma metodami byla 86,66% (Acharya et al., 2017). Podobné výsledky jsou prezentovány ve studii Dolky et al. (2018). Ze 73 šetřených vzorků se obě metody shodovaly v 63, což představuje shodu obou metod z 86,3%.

6.2.1.3 Histopatologie nádoru mléčné žlázy

Histopatologické vyšetření je nejspolehlivější metodou k přesné diagnostice nádoru včetně stanovení typu nádoru, benignity či malignity, stupně a prognózy (Meuten, 2017; Polton, 2009). Histologie nádoru je založena na tubulární formaci, jaderném pleomorfismu a mitotickém indexu (Hayden et al., 1989). Nádory jsou dále klasifikovány podle histologického klasifikačního systému viz. kapitola 4.2. Histologické vyšetření je více invazivní než cytologické, náročnější a nákladnější, ovšem má rozhodující význam pro volbu terapie (Teske, 2009a). Pro histologické vyšetření nádoru se pomocí velké jehly odebere část tkáně neoplazie. Biopsie se obvykle provádí pod celkovou anestézií zvířete. Při chirurgické biopsii je pro analýzu odstraněn buď jen malý kus tkáně, nebo celá léze. Pak už toto vyšetření spadá mezi postoperační (Moore and Frimberger, 2010).

6.2.1.4 Další doporučená předoperační vyšetření ženy s CMT

Pro případné prokázání plicních metastáz je doporučováno zhotovit 3 rentgenové snímky hrudníku ze tří různých stran. Další rentgenové snímky by měly být zhotoveny v inguinální a abdominální oblasti se zaměřením na lymfatické uzliny, pokud jsou tumory v inguinálních komplexech mléčné žlázy, nebo jsou-li uzliny evidentně zvětšené (Fossum, 2013; Mysak et al., 2018; Withrow et al., 2013).



Obr. 10 Mnohočetné metastázy v plicích z maligního nádoru mléčné žlázy osmileté ženy foxteriéra (Mysak et al., 2018).

Autory některých studií je doporučena pro diagnostiku plicních metastáz CMTs spíše metoda počítačové tomografie (CT) než rentgenové snímky (RTG) hrudníku (Withrow et al., 2013; Otoni et al., 2010; Eberle et al., 2011; Nemanic et al., 2006). Ve studii Otoniové et al. (2010) RTG snímky neprokázaly žádné plicní metastázy u 20 fen s nádory na mléčné žláze. Naproti tomu byly prokázány plicní metastázy ve dvou případech pomocí CT. Navíc byly pomocí CT zjištěny periferní atelektázy (poškozené oblasti průdušek, jež nejsou schopny plnit funkci výměny dýchacích plynů) u 28,57% fen. V rentgenových snímcích jsou plicní metastázy rozpoznatelné od velikosti 0,5 cm (Niemand and Sutter, 1996).

Pomocí ultrasonografie (ultrazvuk) může být zobrazena vnitřní stavba orgánů a nádoru, což je užitečné pro pozdější chirurgický zákrok a odoperování tumoru. Ultrazvuk je bezpečnou, neinvazivní a bezbolestnou vyšetřovací metodou (Moore and Frimberger, 2010). Pomocí abdominální ultrasonografie mohou být zjištěny také metastázy v břišní dutině (Fossum, 2013; Mysak et al., 2018; Withrow et al., 2013).

7 Prognóza feny s nádorem na mléčné žláze

Klinické, histopatologické a molekulární charakteristiky a výsledky vyšetření feny s CMT jsou základem pro stanovení tzv. prognózy, která napovídá klinický výsledek. Prognostické údaje slouží k vyhodnocení progresu nádorového onemocnění a ke stanovení nejvhodnějšího a nejúčinnějšího způsobu léčby zvířete (Webster et al., 2011). Stanovení prognózy nádorového onemocnění je z praktického hlediska velmi důležité. Prognóza nádorového onemocnění je udávána mnoha faktory. Není stavěna jen na základě poznatků z histologického vyšetření tumoru ale také na celkovém klinickém stavu feny. Přítomnost nádoru v organismu není jen lokálním poškozením, nýbrž znamená pro organismus onemocnění celkové (Svoboda a kol., 2001). Prognóza u fen s chirurgicky odstraněnými nezhoubnými nádory je velmi příznivá. U zhoubných nádorů je velmi proměnlivá dle faktorů, které ji výrazně ovlivňují (Chang et al., 2005; Fossum, 2013). U zánětlivých karcinomů je prognóza velmi nepříznivá, většina pacientů podlehne tomuto onemocnění během 2 měsíců (Polton, 2009).

Mezi faktory ovlivňující prognózu přežití fen s CMT je řazen věk i plemeno. Avšak největší podíl na stanovení prognózy tohoto onemocnění je ovlivněn klinickými prognostickými faktory (Meuten, 2017).

7.1 Histologické vyšetření nádoru a jeho klasifikace jako hlavní prognostické faktory

Většina histologických klasifikačních systémů CMTs vychází ze systému třídění tumorů dle Elstona and Ellise (1991). Tato klasifikace je mnoha autory považována za nejspolehlivější (Sleeckx et al., 2011; Withrow et al., 2013; de las Mulas et al., 2004; Goldschmidt et al., 2011; Karayannopoulou et al., 2005). Histologické preparáty jsou hodnoceny dle tří morfoloických rysů: procentuální zastoupení tubulů, stupeň nukleárního pleomorfismu a přesný mitotický index na definovanou oblast. K hodnocení charakteristik je používán číselný index od 1 do 3 bodů. Body jednotlivých rysů jsou sečteny a nádor je klasifikován dle tohoto součtu do systému, který vyjadřuje stupeň diferenciaci nádoru. Od 3 do 5 bodů jsou nádory řazeny do I. stupně jako dobře diferenciované. II. stupeň vyjadřuje nádory středně diferenciované s bodovým součtem 6 až 7 bodů. III. stupeň charakterizuje nádory slabě diferenciované se součtem od 8 do 9 bodů (Elston and Ellis, 1991). Stupňové ohodnocení nádoru prokazatelně koreluje s prognózou (Withrow et al., 2013; Goldschmidt et al., 2011; Hellmen et al., 1993; Philibert et al., 2003). Tento stupňovitý systém spolu s

klasifikačním staging systémem (TNM) nádorů mléčné žlázy fen (viz. kapitola 4.2) umožňuje předpovídat biologické chování tumoru a tím podstatně udává prognostické informace. Čím vyšší stupeň nádoru tím horší prognóza (Meuten, 2017).

Fossum, (2013) uvádí pravděpodobnost recidivy nádoru během 2 let po chirurgickém odstranění v závislosti na stupni nádorové diferenciaci. U dobře diferenciovaných nádorů I. stupně je 23% pravděpodobnost recidivy onemocnění. U II. stupně je pravděpodobnost zvýšena na 68%. A III. stupeň vykazuje až 90% pravděpodobnost znovupropuknutí nádorového bujení.

7.1.1 Typ zhoubného nádoru jako prognostický ukazatel

Nejhorší prognózu má podtyp karcinomu histologicky klasifikovaný jako anaplastický karcinom mléčné žlázy feny. Průměrná délka přežití fen s tímto typem karcinomu je i po chirurgickém zákroku pouhé 2,5 měsíce (Philibert et al., 2003; Perez Alenza et al., 2001; Peña et al., 2003). Anaplastický karcinom mléčné žlázy je v praxi klinicky diagnostikován jako IMC - zánětlivý karcinom (Withrow et al., 2013). Velmi špatnou prognózu přežití pro feny vyjadřují taktéž sarkomy a především osteosarkomy mléčné žlázy oproti ostatním karcinomům (Langenbach et al., 1998; Hellmén et al., 1998). Feny s diagnostikou jednoduchého karcinomu umírají dříve, než feny s komplexním karcinomem v mléčné žláze. Z tohoto faktu vyplývá, že proliferace myoepiteliálních buněk v tumoru má jakýsi „ochranný“ efekt a tak zlepšuje prognózu délky života feny (Karayannopoulou et al., 2005; Withrow et al., 2013; Chang et al., 2005; Yamagami et al., 1996). Mírou agresivního chování nádoru je předpovídána invaze neoplastických buněk do krevních a lymfatických cév (Elston and Ellis, 1993; Sleenckx et al., 2011; Meuten, 2017; Withrow et al., 2013). Úmrtnost léčených fen s CMTs kolísá mezi 20-55% (Meuten, 2017). Invazivním růstem a ulcerací kůže je naděje na přežití feny rapidně snižována (Perez Alenza et al., 2000; Moore and Frimberger, 2010). V nejnovější studii Nguyen et al. (2018) bylo sledováno 350 fen s invazivním karcinomem na mléčné žláze. Mimo jiného byla u fen sledována doba přežití po mastektomii bez další adjuvantní léčby. Ve spojitosti s původním tumorem zemřelo po operaci 187 fen (53,4%). Průměrná doba přežití od mastektomie do smrti byla 19,5 měsíce, avšak nejkratší byla 2 dny nejdelší 56 měsíců. Míra úmrtnosti v souvislosti s nádorem do 1. roku po diagnóze byla 41,5% a 54,1% do 2. roku.

7.2 Další klinické prognostické faktory CMT

7.2.1 Velikost nádoru

Podle velikosti byly nádory mléčné žlázy taktéž rozděleny do stupňovitého systému. Stupeň T1 zahrnuje neoplazie menší než 3 cm. Stupeň T2 zahrnuje nádory o velikosti 3-5 cm a stupeň T3 nádory větší než 5 cm (Owen, 1980). Withrow et al. (2013) uvádí 4. stupeň, který je charakterizován metastázami v lymfatických uzlinách. Pokud primární nádor metastazuje do lymfatických uzlin, stává se jeho velikost pro prognózu přežití feny ještě významnější (Kurzman and Gilbertson, 1986). Sorenmo et al. (2011) uvádí ještě stupeň 5., který vyjadřuje kromě velikosti tumoru především přítomnost vzdálených metastáz, dodává ale, že velikost nádoru je mnohem významnějším prognostickým faktorem než samotný stav regionálních lymfatických uzlin.

Výraznou šanci na přežití a nejpřívetivější prognózu mají feny s CMTs menšími než 1 cm (Sorenmo et al., 2011; Sorenmo et al., 2009). Ze studií jiných autorů vyplývá, že tumory o velikosti 3 cm (stupeň T1) mají taktéž pro přežití feny příznivou prognózu (Philibert et al., 2003; Kurzman and Gilbertson, 1986).

Velikost nádoru je výrazně spojena s výskytem metastáz. Čím větší nádor, tím větší pravděpodobnost vzniku metastáz v organismu v souvislosti s vzrůstající agresivitou s růstem nádoru (Chang et al., 2005; Oliveira Filho et al., 2010; Coletto et al., 2018).

7.2.2 Stav lymfatických uzlin

Retrospektivní studií Kurzmana and Gilbertsona (1986) byl stav regionálních lymfatických uzlin mléčné žlázy feny označen jako vysoce prognostický. To bylo potvrzeno i dalšími autory (Karayannopoulou et al., 2005; Yamagami et al., 1996; Hellmen et al., 1993; Chang et al., 2005). Pro prognózu přežití se stávají metastázy v regionálních lymfatických uzlinách významné, pokud jsou minimálně 2 mm velké. U mikrometastáz menších než 2 mm nebyl prokázán prognostický význam (Szcubiał and Łopuszynski, 2011).

8 Terapie nádorů mléčné žlázy fen

Standardní terapií nádorového onemocnění mléčné žlázy feny je chirurgická léčba. Feny s neoplaziiemi spadajícími dle staging systému do nízkého stupně jsou ve většině případů léčeny pouze chirurgicky. Kvůli častým metastázám a recidivám u fen s pokročilejším stupněm nádorového onemocnění, které často vedou k podstatnému zkrácení života feny, je další podpůrná léčba potřebná (Stratmann et al., 2008; Withrow et al., 2013;

Kristiansen et al., 2016). Naproti tomu Fossum (2013) uvádí, že není běžné chirurgický zákrok doplňovat další léčbou jako je chemoterapie, radiační terapie a hormonální terapie. U nádorů o velikosti do 1 cm bez evidentní tendence ke zvětšování se, je běžně prováděna jen průběžná kontrola. Větší a rychle rostoucí nádory je třeba neprodleně chirurgicky odstranit pod celkovou narkózou feny (Svoboda a kol., 2001; Niemand and Sutter, 1996).

8.1 Chirurgická terapie

Odstranění (excise) nádoru je terapeutické řešení běžně v praxi užívané u CMTs kromě zánětlivých karcinomů (IMC). Ty jsou vůči organismu tak extrémně agresivní, že chirurgickým zákrokem není docíleno žádného zmírnění onemocnění (Fossum, 2013; Kristiansen et al., 2016). Při zasažení feny IMC je indikována spíše adjuvantní terapie v podobě chemoterapie nebo radiační terapie (Petrov et al., 2014). Excisí nádoru je zlepšována kvalita života feny a je díky ní možné celkové histologické vyšetření nádoru (Fossum, 2013). Výběr chirurgické techniky k odstranění nádoru a s ním určitého množství tkáně mléčné žlázy je odvozen od velikosti nádoru, celkového počtu lézí, metastáz v lymfatických uzlinách, jeho konzistence, umístění, fixaci ke tkáním, celkového stavu feny, a preference veterinárního lékaře (Papazoglou et al., 2014; Svoboda a kol., 2001; Fossum 2013). Pokud je současně s chirurgickým odstraněním nádoru indikována i ovariohysterektomie musí být dodržován správný postup operace v korelaci s vysokou opatrností lékaře, aby nedošlo k přímému šíření nádorových buněk do břišní dutiny feny (Withrow et al., 2013). OHE by měla být provedena před samotnou excisí nádoru/mastektomií, chirurg by měl použít na každý úkon čisté nástroje a rukavice (Fossum, 2013). Operace by měla být provedena takovou technikou a chirurgickým postupem, aby byla co nejjednodušší a vedla k odstranění všech známých neoplazií v mléčné žláze feny (Straw, 2005).

Po chirurgickém odstranění by měly být vždy všechny nádory předloženy k histopatologickému vyšetření, protože u jedné feny může být vyoperováno více nádorů různých typů (benigní i maligní) (Papazoglou et al., 2014).

8.1.1 Chirurgické techniky užívané k odstranění nádorů mléčné žlázy u fen

8.1.1.1 Lumpektomie nebo nodulektomie

Lumpektomie neboli nodulektomie je chirurgické odstranění především malých benigních opouzdřených a neinvazivních na kůži či tkáň fixovaných lézí o velikosti 0,5 až 1 cm v průměru (Chang et al., 2005; Allen and Mahaffey, 1989; Fossum, 2013; Papazoglou et al., 2014). Při lumpektomii je naříznuta kůže nad lézí, která je uchopena kleštěmi a uvolněna z okolní tkáň viz obr. 11 (Papazoglou et al., 2014). U maligních nádorů lumpektomie není standardní chirurgickou technikou z důvodu jisté recidivy (Allen and Mahaffey, 1989).



Obr. 11 Lumpektomie (Papazoglou et al., 2014).

8.1.1.2 Jednoduchá mastektomie

Jednoduchá mastektomie, též nazývána jako mamektomie je popisována jako excise jednoho oddílu mléčné žlázy zasaženého nádorem fixovaným na pokožku nebo tkáň. Indikována je pokud nádor zasahuje centrální oblast uvnitř žlázy nebo pokud zasahuje její většinu (Fossum, 2013; Chang et al., 2005; Papazoglou et al., 2014). Excise celé žlázy zasažené nádorem je vhodnější metodou než odstranění pouhého nádoru, kvůli prevenci pooperačních komplikací jako je únik mléka, či lymfy do rány. Tím může být způsoben zánět rány po operaci (Fossum, 2013). Při jednoduché mastektomii je kůží pomocí skalpelu veden jednoduchý eliptický řez s 2 cm okrajem kolem vemínka žlázy, která je vyříznuta. V mnoha případech je potřeba odstranit i zasaženou část příslušného svalstva oddílu mléčné žlázy, někdy až fascii hlubokého svalu trupu (Papazoglou et al., 2014; Chang et al., 2005). Provedení jednoduché mastektomie je odvozeno od odlišné anatomie jednotlivých oddílů mléčné žlázy (Papazoglou et al., 2014; Straw, 2005).



Obr. 12 Jednoduchá mastektomie (Papazoglou et al., 2014).

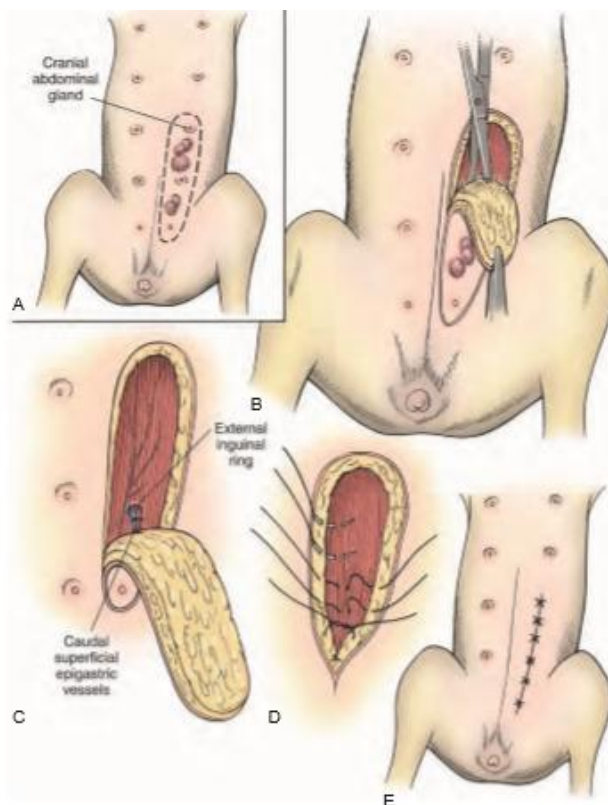
8.1.1.3 Regionální mastektomie

Technika regionální mastektomie je indikována pokud jsou vícečetné nádory umístěny současně v sousedních žlázách v jednom řetězci oddílů mléčných žláz nebo pokud je nádor lokalizován mezi dvěma oddíly viz obr. 13 (Fossum, 2013; Papazoglou et al., 2014). Žlázy, jež sdílí krevní a lymfatické cévy mohou být odstraněny společně jako jednotka i s lokální lymfatickou uzlinou (Straw, 2005; Chang et al., 2005; Stratmann et al., 2008).



Obr. 13 Nádor mléčné žlázy feny mezi 4. a 5. oddílem (Papazoglou et al., 2014).

U tohoto nádoru byla zvolena technika regionální mastektomie 3. až 5. oddílu mléčné žlázy.



Obr. 14 Kaudální regionální mastektomie mléčné žlázy feny (Fossum, 2013).

- A - Kolem oddílů žláz, jež mají být excitovány je chirurgem proveden eliptický řez kůže.
- B - Směrem od kraniálního okraje segmentu ke kaudálnímu je postupně oddělena podkožní tkáň od abdominální fascie pomocí chirurgických ostrých nůžek.
- C - Chirurg musí brát zřetel na kaudální epigastrické cévy.
- D - Kůže je sešita směrem od okraje rány ke středu za pomoci podkožních stehů.
- E - Okraje kůže jsou ještě jednou sešity pomocí jednotlivých stehů (Fossum, 2013; Sadhasivan et al., 2017).

Stratmann et al. (2008) ve své studii zhodnotili výskyt recidivy nádorů ve zbývajících jednotkách řetězce mléčné žlázy feny po regionální mastektomii. Studie zahrnovala 99 fen, které podstoupili excisi části řetězce mléčné žlázy vždy s jedním nádorem. Sledovány byly 1 rok po chirurgickém zákroku. U 58% fen byl vyvinut sekundární nádor v ipsilaterálních (na stejné straně) jednotkách mléčné žlázy. Ze studie vyplývá, že při výběru techniky chirurgického odstranění i jednoho nádoru na mléčné žláze feny je důležité brát v potaz možnou recidivu nádorového bujení na ipsilaterálních komplexech. Při výběru techniky excise nádoru a mléčné žlázy je žádána rozvaha dle předoperačních histologických vyšetření. U maligních nádorů je doporučována spíše jednostranná nebo radikální/oboustranná mastektomie (Withrow et al., 2013).

8.1.1.4 Jednostranná mastektomie (Unilaterální)

Technikou jednostranné mastektomie je míněno odstranění 1. až 5. jednotky řetězce mléčné žlázy jako celek. Unilaterální mastektomie je v mnoha případech jednodušší a šetrnější než několikanásobné použití lumpektomie nebo jednoduché mastektomie (Straw, 2005; Papazoglou et al. 2014; Fossum, 2013). Radikální unilaterální mastektomií je vyjádřeno odstranění celé mléčné lišty s příslušnými regionálními mízními uzlinami (Svoboda a kol., 2001). Pokud jsou nádory detekovány v obou řetězcích mléčné žlázy, může být jednostranná mastektomie provedena na obou řetězcích zvláště v rozestupu 4 až 6 týdnů podle hojení první rány. V případech, kdy je to možné indikuje lékař bilaterální mastektomii (Papazoglou et al., 2014).

8.1.1.5 Oboustranná mastektomie (Bilaterální)

Bilaterální mastektomie je odstranění obou řetězců mléčné žlázy při jednom chirurgickém zákroku. Sešití kůže po takovém rozsáhlém zásahu může být velmi obtížnou záležitostí až nemožnou (Fossum, 2013; Polton, 2009). Strawem (2005) ani Fossum (2013) není oboustranná mastektomie u fen příliš doporučována, při nutnosti odstranit obě lišty mléčné žlázy preferují autoři techniku postupné unilaterální mastektomie. Avšak u fen, které mají kůži v oblasti mléčné žlázy volnější a diagnóza potvrdila výskyt vícečetných tumorů v obou lištách je bilaterální mastektomie indikována (Sadhasivan et al., 2017).



Obr. 15 Sešitá kůže po bilaterální mastektomii feny (Sadhasivan et al., 2017).

8.1.1.6 Provedení OHE současně s mastektomií

Ačkoliv bylo prokázáno, že ovariohysterektomie v mladém věku feny způsobuje preventivní účinek pro další výskyt CMTs, pozitivní vliv souběžné OHE s mastektomií nebo po ní podle některých autorů starších studií prokázán nebyl (Schneider et al., 1969; Taylor et al., 1976; Philibert et al., 2003; Yamagami et al., 1996; Allen and Mahaffey, 1989). Avšak

někteří autoři novějších studií potvrzují u hormonálně závislých (HR) nádorů (kapitola 4.4.3) snížení recidivy a prodloužení délky života za přispění OHE provedené současně s mastektomií (Chang et al., 2005; Petrov et al., 2014; Kristiansen et al., 2016).

8.1.2 Pooperační péče

Sešitá rána by měla být ošetřena sterilním fyziologickým roztokem, antiseptickou mastí a překryta obvazem, aby bylo podpořeno hojení rány (Sadhasivan et al., 2017). Obvaz také absorbuje případný výtok nebo ještě slabé krvácení u čerstvé rány. Obvazy je nutno v prvních 3 dnech měnit každý den, aby byla rána v suchu. Mezi 7. až 10. dnem jsou odstraněny stehy (Fosum, 2013). U fen s maligními nádory je prováděna kontrola případných metastáz každé 3 až 4 měsíce (Kristiansen et al., 2016). Po operaci je potřeba dle potřeby podávat analgetika pro tlumení bolesti. Antibiotika jsou podávány 5-7 dní po zákroku (Svoboda a kol., 2001). Pooperační podávání ketaminu nejprve intravenózně a následně infuzí vyhodnotilo několik autorů studií jako adekvátní analgetické ošetření feny po mastektomii (Nakagawa et al., 2007; Sarrau et al., 2007; Minto et al., 2013).

8.1.2.1 Pooperační komplikace

Zvláště u velkých ran po mastektomii je třeba sledovat případné komplikace a ihned je konzultovat s veterinárním lékařem. Kromě bolesti a neochoty k pohybu může být zaznamenán zánět rány, krvácení, tvorba otoků, hematomů a nekróz. Ke komplikovanému hojení rány může docházet zejména v podpažní oblasti nebo v inguinální (Svoboda a kol., 2001; Fosum, 2013). Některé z těchto procesů jsou běžnou součástí hojení rány a není třeba věnovat jim zvýšenou pozornost, je ale zapotřebí zabránit feně ve vylizování rány použitím límce (Svoboda a kol., 2001; Strítecký, 2001).

8.2 Adjuvantní terapie fen s nádory mléčné žlázy

8.2.1 Chemoterapie

Chemoterapie je často využívána u fen s takovými typy CMTs u kterých hrozí recidiva nebo metastázy. Zpravidla je využívána u maligních nádorů (karcinomů i sarkomů) za současné radioterapie a chirurgické léčby (Withrow et al., 2013; Finsterle, 2007b; Moore and Frimberger, 2010). Doplnková chemoterapie je využívána ve spojení s chirurgickým zákrokem a její funkcí je prodloužení života zvířete, likvidace případných nepatrných metastáz nebo nádorových buněk, které se nepodařilo chirurgicky odstranit (Finsterle, 2007b).

Mnoho chovatelů má ihned obavy při zjištění, že jejich fena by měla podstupovat chemoterapeutickou léčbu, především z toxicity těchto léků a důsledků jejich působení na fenu celkově. Tyto obavy je třeba řešit a potlačit, toho je docíleno vstřícnou a kvalitní komunikací veterinárního lékaře a sestry s majitelem psa. U fen jež mají v diagnóze určeny dva a více špatných prognostických faktorů může systémová chemoterapie zlepšit jejich šance na delší přežití (Moore and Frimberger, 2010). Veterinární lékař indikující chemoterapii musí mít dostatečné znalosti o mechanismu účinku chemoterapeutik na pacienta a jejich dalších vedlejších účinků. Je nutné majitele feny správně informovat o prognóze variability přežití s chemoterapií a bez ní, časové náročnosti terapie a o nákladech (Stříteský, 2001).

Obecně chemoterapeutické léky nejlépe působí na buňky, které se aktivně dělí a jsou v konkrétní fázi buněčného cyklu (Moore and Frimberger, 2010). K chemoterapii jsou používány cytostatika, jejichž působením je tlumena proliferace nádorových buněk, poškozena jejich DNA a způsobena apoptóza (Finsterle, 2007b). Tento účinek chemoterapeutických látek je využitelný při tlumení šíření neoplastických buněk v plicích feny při metastázách do tohoto orgánu (Withrow et al., 2013). Mezi chemoterapeutika užívaná ve veterinární praxi jsou řazeny tyto látky: doxorubican, cyclophosphamid, vencristine sulphate, cyclophosphamide a 5-fluorouracil (Stříteský, 2001). K potlačení výskytu nežádoucích účinků je při léčbě nádorových onemocnění mléčné žlázy fen někdy využíváno tzv. metronomické chemoterapie, kdy nejsou chemoterapeutika aplikována ve vysokých dávkách v intervalech (3 týdny), nýbrž jsou podávány dlouhodobě každý den perorální cestou v nízkých dávkách. Avšak limitujícím faktorem použití metronomické chemoterapie v České republice je nedostupnost některých forem léčiv na zdejším trhu, jako je například tabletová forma cyclophosphamidu (Pfeifer, 2016).

Ve studii Karayannopoulou et al. (2001) byla skupině 8 fen podávána adjuvantní chemoterapie po chirurgické léčbě nádorů mléčné žlázy. Kontrolní skupina byla tvořena také z 8 fen léčených pouze chirurgickou excízí. U všech fen byl stanoven III. stupeň onemocnění dle staging systému WHO. Použitými chemoterapeutiky byly 5-fluorouracil a cyclophosphamid podávány podle přesného protokolu intravenózně po dobu 4 týdnů. Léčba byla zahájena týden po operaci. Výsledkem studie byl výrazný pozitivní vliv adjuvantní léčby na přežití fen 1. skupiny ve srovnání se skupinou 2., léčenou pouze chirurgicky. V dalších studiích autoři zjistili pozitivní vliv na přežití fen se zánětlivým karcinomem mléčné žlázy použitím systémové léčby zahrnující nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) spolu s chemoterapií (Macronato et al., 2009; Souza et al., 2009). Podle studie Trana et al. (2014) není adjuvantní chemoterapií docíleno výrazného zlepšení pro prognózu přežití fen

s pokročilým invazivním nádorem IV. stupně na mléčné žláze. Feny s adjuvantní chemoterapií přežily v průměru 228 dní a skupina fen bez chemoterapeutické léčby 194 dní. Ve studii Ankura et al. (2010) byla skupina 6 fen s CMTs léčena cytostatiky Mitoxantronem (intravenózně) 0., 21. a 42. den. Druhá skupina 6 fen s CMTs byla léčena taktéž Mitoxantronem doplněným Tamoxifenem (tabletová forma – 10mg) 2x denně po dobu 3 měsíců. Vyhodnocení ukázalo u 1. skupiny fen regresní procento nádoru mléčné žlázy o 66,2%. U 2. skupiny bylo regresní procento nepatrně vyšší a to 69,56%. Závěrem autoři dodávají, že chemoterapie cytostatikem Mitoxantron je u fen s CMTs vcelku bezpečná a mírně účinná léčba.

Paliativní chemoterapie je využívána u fen s nádorem, který není chirurgicky odstranitelný a navíc způsobuje bolest. Chemoterapií lze bolest tlumit (Finsterle, 2007b; Pfeifr, 2016). Chemoterapie není doporučována u umírajících zvířat a v případech kdy lze nádorové onemocnění efektivně léčit jinou metodou (Finsterle, 2007b; Withrow et al., 2013).

V době kdy je podávána chemoterapie by měla být vyřazena prevence proti klíšťatům a blechám ve formě tablet. V případě, že majitel na zvířeti objeví přisáté klíště, je aplikováno pouze lokální ošetření. Běžná očkování je doporučováno opozdit a aplikovat je až 6 měsíců po ukončení chemoterapeutické léčby. Dále není během chemoterapeutické léčby doporučováno podávat feně syrové maso, které zvyšuje riziko infekce za současného potlačení imunitního systému cytostatiky (Moore and Frimberger, 2010).

8.2.1.1 Vedlejší účinky chemoterapie a selhání léčby

Podáváním chemoterapeutik, jako u všech léků, jsou pozorovatelné vedlejší účinky v organismu. Nejčastěji cytostatika přímo toxicky působí i na buňky životně důležitých orgánů jako jsou kosti, ledviny a srdce. Neméně pak chemoterapeutika působí toxicky na vylučovací a močovou soustavu, ale také na cévy, jejichž prostřednictvím jsou do organismu dodávány. Často je zaznamenáno zvracení a průjem. V kostní dřeni se toxicita přímo týká dělicích se zárodečných buněk červených a bílých krvinek a krevních destiček. Nejvýznamnějším klinickým projevem vedlejších účinků je pokles bílých krvinek. Proto je někdy nutné podávat také antibiotika jako prevenci k infekcím. Vlivem cytostatik mohou být zaznamenány také alergické reakce v podobě změn na kůži, vypadávání srsti či otoky (Finsterle, 2007b; Pfeifer, 2016). Vypadávání srsti je spojeno s aktivně se dělicími buňkami chlupových folikulů (Pfeifer, 2016).

Příčinou selhání chemoterapie může být špatná volba cytostatika k typu nádoru, který má být léčen, nebo jeho špatné dávkování (Finsterle, 2007b). Přesné a uvážené stanovení

chemoterapeutického protokolu je nutnou záležitostí (Withrow et al., 2013). Další velmi častou příčinou selhání chemoterapie je vývoj rezistence nádorových buněk k těmto lékům. Odolnost na chemoterapeutika může nastat v důsledku spontánních mutací v nádorových buňkách. Pravděpodobnost selhání léčby je vyšší u větších nádorů vzhledem k počtu dělených buněk. Obecně proto platí, že chemoterapie je účinnější proti menším nádorům (mají méně buněk) a po chirurgickém zákroku, kdy je hlavní primární nádor odstraněn a vyskytuje se hrozba v podobě ponechání neodstranitelných nebo opomenutých buněk v organismu ženy. Další vliv na účinnost chemoterapeutik má samotné krevní zásobení nádoru, které bývá u větších lézí horší. Z tohoto důvodu nemusí být cytostatika dopravena k nádorovým buňkám v cytotoxické hladině (Moore and Frimberger, 2010). Pro stanovení budoucího užívání adjuvantní terapie ve formě chemoterapie u žen s CMTs, s veškerými fakty o důsledcích, podpoře léčby a nežádoucích účincích je zapotřebí dostatečně prospektivních studií zaměřených na toto téma (Withrow et al., 2013)

8.2.2 Radioterapie

Na ozařování jsou nejvíce citlivé dělicí se buňky. Záření působí na nádorové buňky podle jejich citlivosti třemi mechanismy: buňky mohou být okamžitě zabity přímo ionizujícím zářením, nebo ho zatím přežijí, ale při pokusu o rozdělení jsou stejně apoptovány a nebo zůstávají živé, ale nedělí se (Moore and Frimberger, 2010). Podle Striteského (2001) může být chemoterapie indikovatelná při neoperabilních a recidivujících CMTs. Výsledkem může být přechodné zlepšení onemocnění. Avšak informace o odezvě na radiační terapii a bližší informace o výsledcích této léčby nebyly zatím dostatečně poskytnuty a přezkoumány. Podobně podle Sleenckxe et al. (2011) není radioterapie běžně používanou metodou k léčbě žen s CMTs, ale může být indikována jako podpůrná léčba ženy po mastektomii, při které se nepodařilo odstranit celý nádor, nebo byly v organismu diagnostikovány metastázy. Taktéž dodává, že další studie o možnostech této léčby žen s CMTs jsou nezbytné.

Radioterapie je více účinná u menších nádorů než u velkých. Citlivost nádorových buněk vůči radioterapii udává jejich vztah s kyslíkem. Hypoxické nádorové buňky jsou vůči radioterapii rezistentní a v určité míře jsou obsaženy v každém nádoru i mezi dobře okysličenými a nekrotickými zónami. U větších nádorů je větší pravděpodobnost abnormálního zásobení krví a tím větší objem hypoxických buněk, proto je radioterapie účinnější na nádory menších rozměrů, ve kterých je těchto buněk méně (Moore and Frimberger, 2010).

9 Závěr

Nádorová onemocnění mléčné žlázy jsou u fen nejčastějším nádorovým onemocněním postihující především starší feny mezi 7. až 13. rokem života bez ohledu na to jestli jsou benigní či maligní. Nádorová onemocnění mléčné žlázy postihují feny všech plemen, ale jsou plemena, u kterých se toto onemocnění vyskytuje častěji díky jejich genetické predispozici. Častěji jsou nádory mléčné žlázy diagnostikovány čistokrevným fenám než fenám smíšeného původu.

Kromě věku a plemenné příslušnosti mají na rozvoj nádorového onemocnění mléčné žlázy vliv především hormony vaječnicků a to už od útlého věku feny, kdy se mléčná žláza rozvíjí a hormony na ní začínají působit. V souvislosti s tím je nejúčinnější prevencí proti tumorům mléčné žlázy včasná kastrace feny před dovršením 3 roku života. Avšak pokud chovatel nechce nechat fenu kastrovat už v mladém věku pak je nutná pravidelná kontrola mléčné žlázy feny z jeho strany formou palpace a vizuální kontroly. Majitelé často podceňují příznaky vyvíjejících se novotvarů na mléčné žláze a do veterinární ordinace dochází s fenou mnohem později než by bylo vhodné. Aby byla léčba zahájena včas a tím dosaženo nejlepších výsledků spolu se zvýšením šance feny na delší život a vyléčení je zapotřebí osvěta chovatelů v odvětví prevence a nepodceňování nádorového onemocnění mléčné žlázy u fen. I nepatrné podezření by mělo majitele přimět ke včasné návštěvě veterinárního lékaře, protože čas je v ohledu zahájení léčby a s ní spojených účinků to nejdůležitější ke vztahu přežití feny.

Tumory mléčné žlázy jsou ve většině případů u fen celkem snadno chirurgicky operovatelné i s příslušnými zasaženými okolními tkáněmi. U maligních nádorů hrozících recidivou či metastázami je užívána adjuvantní léčba formou chemoterapie a radioterapie. Tyto formy léčby mají potenciál v budoucnosti nabýt větší využitelnosti ve veterinární onkologii, neboť jejich účinky působení za současného zlepšení prognózy léčených psů jsou v mnoha ohledech ještě zkoumány.

10 Seznam použité literatury

- Adkins, Y., Lepine, A. J., Lönnerdal, B. 2001. Changes in protein and nutrient composition of milk throughout lactation in dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 62 (8). 1266-1272.
- Acharya, A. T., Ghodasara, D. J., Joshi, B. P., Dave, C. J., Prajapati, K. S., Jani, P. B., Khorajiya, J. H. 2017. Comparative diagnosis of canine mammary tumours by cytology and histopathology. *Indian Journal of Veterinary Pathology*. 41 (3). 210-213.
- Ankur, S., Dhakate, M. S., Upadhye, S. V. 2010. Chemotherapeutic management of canine mammary tumours. *Vetscan*. 5 (1). article 55.
- Allen, S. W., Mahaffey, E. A. 1989. Canine mammary neoplasia: prognostic indicators and response to surgical therapy. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 25 (5). 540-546.
- Allen, S. W., Prasse, K. W., Mahaffey, E. A. 1986. Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*. 23 (6). 649-655.
- Benjamin, S. A., Lee, A. C., Saunders, W. J. 1999. Classification and behavior of canine mammary epithelial neoplasms based on life-span observations in beagles. *Veterinary Pathology*. 36 (5). 423-436.
- Blasco, M. A., Lee, H. W., Hande, M. P., Samper, E., Lansdorp, P. M., DePinho, R. A., Greider, C. W. 1997. Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell*. 91 (1). 25-34.
- Brodey, R. S., Goldschmidt, M. H., Roszel, J. R. 1983. Canine mammary gland neoplasms. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 19. 61-90.
- Bronden, L. B., Nielsen, S. S., Toft, N., Kristensen, A. T. 2010. Data from the Danish veterinary cancer registry on the occurrence and distribution of neoplasms in dogs in Denmark, *Veterinary Record*. 166 (19). 586-590.
- Budras, K-D., McCarthy, P. H., Fricke, W., Richter, R., Horowitz, A., Berg, R. 2007. *Anatomy of the Dog*. 5. edition. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH. Hannover. p. 218. ISBN 9783899930184.

- Bulavin, D. V., Demidov, O. N., Saito, S., Kauraniemi, P., Phillips, C., Amundson, S. A., Ambrosino, C., Sauter, G., Nebreda, A. R., Anderson, C. W. 2002. Amplification of PPM1D in human tumors abrogates p53 tumor-suppressor activity. *Nature Genetics*. 31 (2). 210-215.
- Cairns, R. A., Harris, I. S., Mak, T. W. 2011. Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews Cancer*. 11 (2). 85-95.
- Caldas, S., Miranda, I., Brito, M., Nogueira, V., Cid, G., Costa, S., França, T., Pinto, L. 2016. Clinical and pathological features of mammary tumors in female dogs (*Canis familiaris*). *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*. 38 (2). 81-85.
- Cassali, G. D., Damasceno, K. A., Bertagnolli, A. C., Estrela-Lima, A., Lavalle, G. E., Di Santis, G. W., De Nardi, A. B., Fernandes, C. G., Cogliati, B., Sobral, R. A., da Costa, F. V. A., Ferreira, E., Salgado, B. S., Campos, C. B., D'Assis, M. J. M. H., Silva, L. P., Machado, M. C. A., Firmo, B. F., Nunes, F. C., Nakagaki, K. Y. R. 2017. Consensus regarding the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors: Benign mixed tumors, carcinomas in mixed tumors and carcinosarcomas. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 10 (3). 87-99.
- Cassali, G. D., Lavalle, G. E., Ferreira, E., Estrela-Lima, A., De Nardi, A. B., Ghever, C., Sobral, R. A., Amorim, R. L., Oliveira, L. O., Sueiro, F. A. R., Beserra, H. E. O., Bertagnolli, A. C., Gamba, C. O., Damasceno, K. A., Campos, C. B., Araujo, M. R., Campos, L. C., Monteiro, L. N., Nunes, F. C., Horta, R. S., Reis, D. C., Luvizotto, M. C. R., Magalhães, G. M., Raposo, J. B., Ferreira, A. M. R., Tanaka, N. M., Grandi, F., Ubukata, R., Batschinski, K., Terra, E. M., Salvador, R. C. L., Jark, P. C., Delecordi, J. E. R., Nascimento, N. A., Silva, D. N., Silva, L. P., Ferreira, K. C. R. S., Frehse, M. S., Santis, G. W., Silva, E. O., Guim, T. N., Kerr, B., Cintra, P. P., Silva, F. B. F., Leite, J. S., Mello, M. F. V., Ferreira, L. G., Fukumasu, H., Salgado, B. S., Torres, R. 2014. Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors - 2013. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 7 (2). 38-69.
- Clemente, M., Pérez Alenza, M. D., Peña, L. 2010. Metastasis of canine inflammatory versus non-inflammatory mammary tumours. *Journal of Comparative Pathology*. 143 (2-3). 157-163.
- Coletto, A. F., Wilson, T. M., Soares, N. P., Gundim, L. F., Castro, I. P., Guimarães, E. C., Bandarra, B. M., Medeiros-Ronchi, A. A. 2018. Prognostic Value of Occult

Isolated Tumour Cells within Regional Lymph Nodes of Dogs with Malignant Mammary Tumours. *Journal of Comparative Pathology*. 158. 32-38.

- Costăchescu, E., Hoha, G., Fotea, L. 2011. Research regarding the lactating period of the bitch. *Lucrări Științifice - Seria Zootehnie*. 55. 180-183.
- Crescenzi, E., Raia, Z., Pacifico, F., Mellone, S., Moscato, F., Palumbo, G., Leonardi, A. 2013. Down-regulation of wild-type p53-induced phosphatase 1 (Wip1) plays a critical role in regulating several p53-dependent functions in premature senescent tumor cells. *The Journal of biological chemistry*. 288 (23). 16212-16224.
- Crissman, J. D., Hatfield, J. S., Menter, D. G., Sloane, B., Honn, K. V. 1988. Morphological study of the interaction of intravascular tumor cells with endothelial cells and subendothelial matrix. 48 (14). 4065-4072.
- Černý, H. 2002. *Veterinární anatomie pro studium a praxi 2. vydání*. Noviko, a. s. Brno. 528 s. ISBN: 808654205X.
- Daleck, C. R., Franceschini, P. H., Alessi, A. C., Santana, Á. E., Martins, M. I. 1998. Canine Mammary neoplasia: Clinical and surgical evolution. *Ciência Rural*. 28 (1). 95-100.
- Damasceno, K. A., Bertagnolli, A. C., Estrela-Lima, A., Ribeiro, L. G. R., Rabelo, B. S., Campos, C. B., Barros, A. L. B., Cassali, G. D. 2013. Canine carcinomas in benign mixed tumours: versican expression and association with invasion. *BMC Proceedings*. 7 (2). 39.
- de Araújo, M. R., Campos, L. C., Ferreira, E., Cassali, G. D. 2015. Quantitation of the Regional Lymph Node Metastatic Burden and Prognosis in Malignant Mammary Tumors of Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 29 (5). 1360–1367.
- de las Mulas, J. M., Ordás, J., Millán, M. Y., Chacón, F., De M. L., de los Monteros, E., Jover, R. C. 2004. Immunohistochemical expression of estrogen receptor beta in normal and tumoral canine mammary glands. *Veterinary Pathology*. 41 (3). 269-272.
- Dobson, J. M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., Wood, K. J. 2002. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *Journal of Small Animal Practice*. 43 (6). 240-246.
- Dokoupilová, A., Svobodová, I., Chaloupková, H., Kouřimská, L., Dvořáková, B., Končel, R. 2016. German Shepherd Dog Milk Composition and Its Changes During Lactation. *Scientia Agriculturae Bohemica*. 47 (1). 9-13.

- Dolka, I., Czopowicz, M., Gruk-Jurka, A., Wojtkowska, A., Sapieryński, R., Jurka P. 2018. Diagnostic efficacy of smear cytology and Robinson's cytological grading of canine mammary tumors with respect to histopathology, cytomorphometry, metastases and overall survival. *PLoS ONE*. 13 (1). 1-21.
- Dolka, I., Sapieryński, R., Król, M. 2013. Histopathological and immunohistochemical study of canine mammary sarcomas. *Journal of Comparative Pathology*. 148 (1). 62.
- Dorn, C. R., Taylor, D. O., Schneider, R., Hibbard, H. H., Klauber, M. R. 1968. Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *Journal of the National Cancer Institute*. 40 (2). 307-318.
- Eberle, N., Fork, M., von Babo, V., Nolte, I., Simon, D. 2011. Comparison of examination of thoracic radiographs and thoracic computed tomography in dogs with appendicular osteosarcoma. *Veterinary and Comparative Oncology*. 9 (2). 131-140.
- Egenvall, A., Bonnett, B. N., Ohagen, P., Olson, P., Hedhammar, A., von Euler, H. 2005. Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2000. *Preventive Veterinary Medicine*. 69 (1-2). 109-127.
- Elston, C. W., Ellis, I. O. 1991. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 19 (5). 403-410.
- Evans, H. E., de Lahunta, A. 2013. *Miller's anatomy of the dog* 4th ed. Elsevier Saunders. St. Louis. p. 872. ISBN: 9781437708127.
- Ežerskyte, A., Zamokas, G., Grigonis, A., Juodziukyniene, N. 2011. The retrospective analysis of mammary tumors in dogs. *Veterinarija ir Zootechnika*. 53 (75). 3-8.
- Finsterle, R. 2007a. *Veterinární onkologie. Pes přítel člověka*. 17 (6). 34-36.
- Finsterle, R. 2007b. *Veterinární onkologie – metody terapie. Pes přítel člověka*. 17 (7). 3.
- Fossum, T., W. 2013. *Small animal surgery* 4th ed. Elsevier Mosby. St. Louis. p. 1640. ISBN: 9780323100793.
- Funakoshi, Y., Nakayama, H., Uetsuka, K., Nishimura, R., Sasaki, N., Doi, K. 2000. Cellular Proliferative and Telomerase Activity in Canine Mammary Gland Tumors. *Veterinary Pathology*. 37 (2). 177-183.

- Gilbertson, S. R., Kurzman, I. D., Zachrau, R. E., Hurvitz, A. I., Black, M. M. 1983. Canine mammary epithelial neoplasms: biologic implications of morphologic characteristics assessed in 232 dogs. *Veterinary Pathology*. 20 (2). 127-142.
- Goldschmidt, M., Peña, L., Rasotto, R., Zappulli, V. 2011. Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary pathology*. 48 (1). 117-131.
- Granja, S., Pinheiro, C., Reis, R. M., Martinho, O., Baltazar, F. 2015. Glucose Addiction in Cancer Therapy: Advances and Drawbacks. *Current Drug Metabolism*. 16 (3). 221-242.
- Halouzka, R., Krinke, J., Jelínek, F. 2009. *Veterinární patologie 2. vydání. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 216 s. ISBN: 9788073050627.*
- Hanahan, D., Weinberg, R. A. 2011. Hallmarks of Cancer: the next generation. *Cell*. 144 (5). 646-674.
- Hampe, J. F., Misdorp, W. 1974. Tumours and dysplasias of the mammary gland. *Bulletin of the World Health Organization*. 50 (1-2). 111-133.
- Harper, J. W., Elledge, S. J. 2007. The DNA Damage Response: Ten Years After. *Molecular Cell*. 28 (5). 739-745.
- Hayden D. W., Barnes D. M., Johnson K. H. 1989. Morphologic changes in the mammary gland of megestrol acetate-treated and untreated cats: a retrospective study. *Veterinary Pathology*. 26. 104-113.
- Hellmén, E., Bergström, R., Holmberg, L., Spångberg, I. B., Hansson, K., Lindgren, A. 1993. Prognostic factors in canine mammary tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. *Veterinary Pathology*. 30 (1). 20-27.
- Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., Harris, C. C. 1991. p53 mutations in human cancer. *American Association for the Advancement of Science*. 253 (5015). 49-53.
- Hořín, P., Doubek, J., Scheer, P., Štěpánek, M., Halouzka, R., Jelínek, F., Teske, E., Kučera, J., Čada, F., Velebný, H., Hron, P., Štraus, J. 1998. *Onkologie malých zvířat Sborník ze VI. výroční konference ČAVLMZ. Noviko, a. s. 71 s. ISBN: A1.*
- Chang, C., Tsai, M., Liao, J., Chan, J. P., Wong, M., Chang, S. 2009. Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 235 (4). 391-396.

- Chang, S.-C., Chang, C.-C., Chang, T.-J., Wong, M.-L. 2005. Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 Cases (1998-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 227 (10). 1625-1629.
- Jasin, M. 2002. Homologous repair of DNA damage and tumorigenesis: the BRCA connection. *Oncogene*. 21. 8981-8993.
- Jelínek, P., Koudela, K. 2003. *Fyziologie hospodářských zvířat*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno. 409 s. ISBN: 8071576441.
- Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T. C., Dessiris, A. 2001. Adjuvant Post-operative Chemotherapy in Bitches with Mammary Cancer. *Journal of Veterinary Medicine*. 48 (2). 85-96.
- Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T. C., Dessiris, A. 2005. Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a human grading method. *Journal of Comparative Pathology*. 133 (4). 246-252.
- Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Dessiris, A. 1990. Some epidemiological aspects of canine mammary tumours, treatment and prognosis. *European Journal of Companion Animal Practice*. 1 (1). 41-47.
- König, H. E., Liebich, H. G. 2002. *Anatomie domácích savců 2 Splanchnologie, cévní a nervová soustava*. H&H. Bratislava. 416 s. ISBN: 8088700558.
- Kleiblova, P., Shaltiel, I. A., Benada, J., Ševčík, J., Pecháčková, S., Pohlreich, P., Voest, E. E., Dundr, P., Bartek, J., Kleibl, Z., Medema, R. H., Macurek, L. 2013. Gain-of-function mutations of PPM1D/Wip1 impair the p53-dependent G1 checkpoint. *The Journal of Cell Biology*. 201 (4). 511-521.
- Klopffleisch, R., Klose, P., Gruber, A. D. 2010. The Combined Expression Pattern of BMP2, LTBP4, and DERL1 Discriminates Malignant From Benign Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology*. 47 (3). 446-454.
- Kraakman-van der Zwet, M., Overkamp, W. J. I., van Lange, R. E. E., Essers, J., van Duijn-Goedhart, A., Wiggers, I., Swaminathan, S., van Buul, P. P. W., Errami, A., Tan, R. T. L., Jaspers, N. G. J., Sharan, K. S., Kanaar, R., Zdzienicka, M. Z. 2002. Brca2 (XRCC11) Deficiency Results in Radioresistant DNA Synthesis and a Higher Frequency of Spontaneous Deletions. *Molecular and Cellular Biology*. 22 (2). 669-679.

- Kristiansen, V. M., Peña, L., Díez Córdova, L., Illera, J. C., Skjerve, E., Breen, A. M., Cofone, M. A., Langeland, M., Teige, J., Goldschmidt, M., Sørenmo, K. U. 2016. Effect of Ovariohysterectomy at the Time of Tumor Removal in Dogs with Mammary Carcinomas: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 30 (1). 230-241.
- Kurzman, I. D., Gilbertson, S. R. 1986. Prognostic factors in canine mammary tumors, *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. 1 (1). 25-32.
- Kvapil, R., Kvapilová, R. 2007. *Průvodce psí reprodukci*. Tok. Praha. 78 s. ISBN: 9788086177212.
- Lane, D. P. 1992. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*. 358 (6381). 15-16.
- Langenbach, A., Anderson, M. A., Dambach, D. M., Sonremo, K. U., Shofer, F. D. 1998. Extraskelatal osteosarcoma in dogs: a retrospective study of 169 cases (1986-1996). *Journal of the American Animal Hospital Association*. 34 (2). 113-20.
- Langenbach, A., McManus, P. M., Hendrick, M. J., Shofer, F. S., Sorenmo, K. U. 2001. Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 218 (9). 1424-1428.
- Láznička A. 2006. Pseudogravidita, falešná březost, falešná laktace. *Veterinářství*. 56 (3). 158-159.
- Leslie, M. 2013. Making short work of p53. *The Journal of Cell Biology*. 201 (4). 491.
- Liptak, J. Mammary Tumors [online]. Canada. 6th March 2017. [cit. 2018-03-29]. Dostupné z <https://static1.squarespace.com/static/58051c5bf5e2311a8d64e2bc/581b68955016e14ae76db867/581b6898e3df28f244eba017/1480467181274/repro+mammary+09+ADC+inflammatory+carcinoma.jpg>.
- Lunt, S. Y., Vander Heiden, M. G. 2011. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 27. 441-464.
- MacEwen, E. G., Patnaik, A. K., Harvey, H. J., Panko, W. B. 1982. Estrogen Receptors in Canine Mammary Tumors. *Cancer Research*. 42 (6). 2255-2259.

- Maciel, M. do S., Viegas, L. C., Nonogaki, S., Nishimoto, I. N., Abrão, F. S., Neto, M. M., Brentani, M. M. 2002. P53 expression is a factor for prognostic assessment in breast sarcoma. *Breast Cancer Research and Treatment*. 71 (3). 193-202.
- Marconato, L., Romanelli, G., Stefanello, D., Giacoboni, C., Bonfanti, U., Bettini, G., Finotello, R., Verganti, S., Valenti, P., Ciaramella, L., Zini, E. 2009. Prognostic factors for dogs with mammary inflammatory carcinoma: 43 cases (2003-2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 235 (8). 967-972.
- Matos, A. J. F., Faustino, A. M. R., Lopes, C., Rutteman, G. R., Gärtner, F. 2006. Detection of lymph node micrometastases malignant mammary tumours in dogs by cytokeratin immunostaining. *Veterinary Record*. 158 (18). 626-630.
- Merlo, D. F., Rossi, L., Pellegrino, C., Ceppi, M., Cardellino, U., Capurro, C., Ratto, A., Sambucco, P. L., Sestito, V., Tanara, G., Bocchini, V. 2008. : Cancer incidence in pet dogs: findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 22 (4). 976-984.
- Meuten, D., J. 2017. Tumors in domestic animals. Wiley Blackwell. Iowa. p. 989. ISBN: 9780813821795.
- Mikulica, V. 1992. Poznej svého psa. 2., rozšířené vydání. Dialog. Most. 312 s. ISBN: 8085194260.
- Mila, H., Chastant-Maillard, S. 2016. Canine colostrum. *Veterinary Focus*. 26 (1). 32-38.
- Minto, B. W., Rodrigues, L. C., Steagall, P. V. M., Monteiro, E. R., Brandão, C. V. S. 2013. Assessment of postoperative pain after unilateral mastectomy using two different surgical techniques in dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 55 (1). 60-65.
- Misdorp, W., Cotchin, E., Hampe, J. F., Jabara, A. G., von Sandersleben, J. 1971. Canine malignant mammary tumours. I. Sarcomas. *Veterinary Pathology*. 8 (2). 99-117.
- Misdorp, W., Esle, R. W., Hellmen, E. 1999. Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and Cat (WHO International Classification of Tumors of Domestic Animals). American Registry of Pathology. Washington D. C. p. 59. ISBN: 9781881041665.
- Misdorp, W. 1991. Progestagens and mammary tumours in dogs and cats. *Acta Endocrinologica*. 125 (1). 27-31.

- Mitchell, L., De la Iglesia, F. A., Wenkoff, M. S., Van Dreumel, A. A., Lumb, G. 1974. Mammary tumors in dogs: survey of clinical and pathological characteristics. *The Canadian Veterinary Journal*. 15 (5). 131-138.
- Moe, L. 2001. Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds. *Journal of Reproduction and Fertility* 5. 439-443.
- Moore, A. S., Frimberger, A. E. 2010. *Oncology for Veterinary Technicians and Nurses*. Wiley Blackwell. Iowa. p. 318. ISBN: 9780813812762.
- Moulton, J. E., Taylor, D. O. N., Dorn, C. R., Andersen, A. C. 1970. Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology*. 7 (4). 289-320.
- Mysak, A., Kiełbowicz, Z., Khomyn, N., Pritsak, V., Guty, B. 2018. Graphically x-ray and ultrasound diagnostics for monitoring neoplasia of the mammary gland in bitches. *Ukrainian Journal of Ecology*. 8 (1). 386-393.
- Najbrt, R. 1982. *Veterinární anatomie 2. Státní zemědělské nakladatelství. Praha*. 596 s. ISBN: 07006820450
- Nakagawa, K., Miyagawa, Y., Takemura, N., Hirose, H. 2007. Influence of preemptive analgesia with meloxicam before resection of the unilateral mammary gland on postoperative cardiovascular parameters in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*. 69 (9). 939-944.
- Nemanic, S., London, C. A., Wisner, E. R. 2006. Comparison of thoracic radiographs and single breath-hold helical CT for detection of pulmonary nodules in dogs with metastatic neoplasia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 20 (3). 508-515.
- Nguyen, F., Peña, L., Ibisch, C., Loussouarn, D., Gama, A., Rieder, N., Belousov, A., Campone, M., Abadie, J. 2018. Canine invasive mammary carcinomas as models of human breast cancer. Part 1: natural history and prognostic factors. *Breast Cancer Research and Treatment*. 167 (3), 635-648.
- Niemand, H. G., Sutter, P. F. 1996. *Klinická praxe u psův*. H&H. Bratislava. 786 s. ISBN: 8088700264
- Novak, K. D. 2003. *Telomeres and Telomerases in Cancer*. Medscape General Medicine. 5 (1).
- Novotný, L., Halouzka, R. 2005. Klasifikace nádorů mléčné žlázy psů a koček dle doporučení WHO. *Veterinářství*. 55. 669-672
- Oftedal, O. T. 1984. Lactation in the dog - milk-composition and intake by puppies. *Journal of nutrition*. 114 (5). 803-812.

- Oliveira Filho, J. C., Kommers, G. D., Masuda, E. K., Marques, B. M. P. P., Figuera, R. A., Irigoyen, L. F., Barros, C. S. L. 2010. Retrospective study of 1,647 mammary gland tumors in dogs. *30* (2). 177-185.
- Orfanou, D. C., Pourlis, A., Ververidis, H. N., Mavrogianni V. S., Taitzoglou, I. A., Boscós, C., Fthenakis, G. C. 2010. Histological features in the mammary glands of female dogs throughout lactation. *Anatomia Histologia Embryologia*. *39* (5). 473-478.
- Otoni, C. C., Rahal, S. C., Vulcano, L. C., Ribeiro, S. M., Hette, K., Giordano, T., Doiche, D. P., Amorim, R. L. 2010. Survey radiography and computerized tomography imaging of the thorax in female dogs with mammary tumors. *Acta Veterinaria Scandinavica*. *52* (1). 20-30.
- Owen, L. N. TNM Classification of Tumours in Domestic Animals. [online]. Geneva. World Health Organization. 1980. Dostupné z <<http://apps.who.int/iris/handle/10665/68618>>.
- Papazoglou, L. G., Basdani, E., Rabidi, S., Patsikas, M. N., Karayiannopoulou, M. 2014. Current Surgical Options for Mammary Tumor Removal in Dogs. *Journal of Veterinary Science and Medicine*. *2* (1). 6.
- Patra, K. C., Hay, N. 2014. The pentose phosphate pathway and cancer. *Trends in Biochemical Sciences*. *39* (8). 347-354.
- Patsikas, M. N., Dessiris, A. 1996a. The Lymph Drainage of the Mammary Glands in the Bitch: a Lymphographic Study. Part I: The 1st, 2nd, 4th and 5th Mammary Glands. *Anatomia Histologia Embryologia*. *25* (2). 131-138.
- Patsikas, M. N., Dessiris, A. 1996b. The Lymph Drainage of the Mammary Glands in the Bitch: a Lymphographic Study. Part II: the 3rd Mammary Gland. *Anatomia Histologia Embryologia*. *25* (2). 139-143.
- Peña, L., Perez Alenza M. D., Rodriguez Bertos, A., Nieto, A. 2003. Canine inflammatory mammary carcinoma: Histopathology, immunohistochemistry, and clinical implications of 21 cases. *Breast Cancer Research and Treatment*. *78* (2). 141-148.
- Perez Alenza, M. D., Peña, L., del Castillo, N., Nieto, A. I. 2000. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. *Journal of Small Animal Practice*. *41* (7). 287-291.

- Perez Alenza, D., Rutteman, G. R., Peña, L., Beynen, A. C., Cuesta, P. 1998. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 12 (3). 132-139.
- Perez Alenza, M. D., Tabañera, H., Peña, L. 2001. Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995–1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 219 (8). 1110-1114.
- Petrov, E. A., Ilievska, K., Trojancanec, P., Celeska, I., Nikolovski, G., Gjurovski, I., Dovenski, T. 2014. Canine Mammary Tumours – Clinical Survey. *Macedonian Veterinary Review*. 37 (2). 129-134.
- Pfeifr, J., Úvod do chemoterapie. [online]. Brno. Česká asociace veterinárních lékařů malých zvířat. 2016. Dostupné z <<https://www.cavlmz.cz/sekce/onkologicka-sekce/obecna-veterinari-onkologie/moznost-terapie-onkologickychemocneni/chemoterapie/uvod-do-chemoterapie/>>.
- Philibert, J. C., Snyder, P. W., Glickman, N., Glickman, L. T., Knapp, D. W., Waters, D. J. 2003. Influence of host factors on survival in dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of Veterinary internal medicine*. 17 (1). 102-106.
- Pinho, M. S., Gulbenkain, S. 2007. Innervation of the canine mammary gland: an immunohistochemical study. *Histology and Histopathology*. 22. 1175-1184.
- Playford, R. J., Macdonald, C. E., Johnson, W. S. 2000. Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72 (1). 5-14.
- Polton, G. 2009. Mammary tumours in dogs. *Irish Veterinary Journal*. 62 (1). 50-56.
- Poste, G., Fidler, I. J. 1980. The pathogenesis of cancer metastasis. *Nature*. 283. 139-146.
- Possemato, R., Marks, K. M., Shaul, Y. D., Pacold, M. E., Kim, D., Birsoy, K., Sethumadhavan, S., Woo, H. K., Jang, H. G., Jha, A. K., Chen, W. W., Barrett, F. G., Stransky, N., Tsun, Z. Y., Cowley, G. S., Barretina, J., Kalaany, N. Y., Hsu, P. P., Ottina, K., Chan, A. M., Yuan, B., Garraway, L. A., Root, D. E., Mino-Kenudson, M., Brachtel, E. F., Driggers, E. M., Sabatini, D. M. 2011. Functional genomics reveal that the serine synthesis pathway is essential in breast cancer. *Nature*. 476 (7360). 346-350.
- Ramaswamy, S., Ross, K. N., Lander, E. S., Golub, T. R. 2003. A molecular signature of metastasis in primary solid tumors. *Nature Genetics*. 33. 49-54.

- Reece, W. O. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat druhé, rozšířené vydání. Grada Publishing a. s. Praha. 480 s. ISBN: 9788024732824.
- Renwick, M. G., Argyle, D. J., Long, S., Nixon, C., Gault, E. A., Nasir, L. 2006. Telomerase activity and telomerase reverse transcriptase catalytic subunit expression in canine lymphoma: correlation with Ki67 immunoreactivity. *Veterinary and Comparative Oncology*. 4 (3). 141-150.
- Rehm, S., Stanislaus, D. J., Williams, A. M. 2007. Estrous cycle-dependent histology and review of sex steroid receptor expression in dog reproductive tissues and mammary gland and associated hormone levels. *Developmental and Reproductive Toxicology*. 80 (3). 233-245.
- Restucci, B., de Vico, G., Maiolino, P. 2000. Evaluation of Angiogenesis in Canine Mammary Tumors by Quantitative Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule Immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*. 37 (4). 297-301.
- Rezaie, A., Tavasoli, A., Mehrazma, M., Bahonar, A. 2012. c-erbB2 receptor and P53 protein expression in canine mammary gland carcinoma. *Comparative Clinical Pathology*. 21 (6). 1633-1636.
- Rivera, P., Melin, M., Biagi, T., Häggström, J., Lindblad-Toh, K., von Euler, H. 2009. Mammary Tumor Development in Dogs Is Associated with *BRCA1* and *BRCA2*. *American Association for Cancer Research*. 69 (22). 8770-8774.
- Rozinek, J., Ješeta, M. Praktická anatomie psa [CD-ROM]. Praha. Česká zemědělská univerzita v Praze. 2014. ISBN: 015.
- Saba, C. F., Rogers, K. S., Newman, S. J., Mauldin, G. E., Vail, D. M. 2007. Mammary Gland Tumors in Male Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 21. 1056-1059.
- Sadhasivan, S. B. M., Shafiuizama, M., Shammi, M., Rao, G. V. S., Souza, N. J. D., Senthilnayagam, H., George, R. S., Prabhakar, P. M. 2017. Studies on reconstruction of large skin defects following mammary tumor excision in dogs. *Veterinary World*. 10 (12). 1521-1528.
- Santos, M., Marcos, R., Faustino, A. M. R. 2010. Histological study of canine mammary gland during the oestrous cycle. *Reproduction in domestic animals*. 45 (5). 146-154.

- Sarrau, S., Jourdan, J., Dupuis-Soyris, F., Verwaerde, P. 2007. Effects of postoperative ketamine infusion on pain control and feeding behaviour in bitches undergoing mastectomy. *Journal of Small Animal Practice*. 48 (12). 670-676.
- Selman, P. J., van Garderen, E., Mol, J. A., van den Ingh, T. S. 1995. Comparison of the histological changes in the dog after treatment with the progestins medroxyprogesterone acetate and proligestone. *The Veterinary quarterly*. 17 (4). 128-133.
- Shen, S-X., Weaver, Z., Xu, X., Li, C., Weinstein, M., Chen, L., Guan, X-Y., Ried, T., Deng, C-X. 1998. A targeted disruption of the murine *Brcal* gene causes γ -irradiation hypersensitivity and genetic instability. *Oncogene*. 17 (24). 3115-3124.
- Schafer, K. A., Kelly, G., Schrader, R., Griffith, W. C., Muggenburg, B. A., Tierney, L. A., Lechner, J. F., Janovitz, E. B., Hahn, F. F. 1998. A canine model of familial mammary gland neoplasia, *Veterinary Pathology*. 35 (3). 168-177.
- Schneider, R. 1970. Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer. *Cancer*. 26 (2). 419-426.
- Schneider, R., Dorn, C. R., Taylor, D. O. 1969. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *Journal of the National Cancer Institute*. 43 (6). 1249-1261.
- Silveira, T. L., Campos, L. M., Dufloth, R. M., Miot, H. A., Fêo, H. B., Montoya, L. M., Rocha, N. S. 2017. Cell block sensitivity for immunohistochemical detection of cytokeratin 5, oestrogen and progesterone receptors in canine primary mammary carcinoma. *Austral journal of veterinary science*. 49 (2). 99-104.
- Silver, I. A. 1966. Anatomy of the Mammary Gland of the Dog and Cat. *Journal of small animal practice*. 7 (11). 689-696.
- Sleenckx, N., de Rooster, H., Kroeze, E. J. B. V., Van Ginneken, C., Van Brantegem, L. 2011. Canine mammary tumours, an overview. *Reproduction in domestic animals*. 46 (6). 1112-1131.
- Smrčková, L., Smrček, M. 2012. *Psi celého světa – Rádce pro správný výběr psa*. Grada Publishing, a. s. Praha. 304 s. ISBN: 9788024737591.
- Sommerová, L., Ondroušková, E., Hrstka, R. 2016. Cancer Cells as Dynamic System – Molecular and Phenotypic Changes During Tumor Formation, Progression and Dissemination. *Klinická onkologie Journal*. 29 (4). 6-11.

- Sonnenschein, E. G., Glickman, L. T., Goldschmidt, M. H., McKee, L. J. 1991. Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. *American journal of Epidemiology*. 133 (7). 694-703.
- Sorenmo K. U. 2003. Canine mammary gland tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 33 (3). 573-596.
- Sorenmo, K. U., Kristiansen, V. M., Cofone, M. A., Shofer, F. S., Breen, A. M., Langeland, M., Mongil, C. M., Grondahl, A. M., Teige, J., Goldschmidt, M. H. 2009. Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. *Veterinary and Comparative Oncology*. 7 (3). 162-172.
- Sorenmo, K. U., Rasotto, R., Zappulli, V., Goldschmidt, M. H. 2011. Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. *Veterinary Pathology*. 48 (1). 58-97.
- Souza C. H. M., Toledo-Piza, E., Amorin, R., Barboza, A., Tobias, K. M. 2009. Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: Clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment. *The Canadian Veterinary Journal*. 50 (5). 506-510.
- Støvring, M., Moe, L., Glatte, E. 1997. A population-based case-control study of canine mammary tumours and clinical use of medroxyprogesterone acetate. *Acta pathologica, microbiologica et immunologica Scandinavica*. 105 (8). 590-596.
- Stratmann, N., Failing, K., Richter, A., Wehrend, A. 2008. Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. *Veterinary Surgery*. 37 (1). 82-86.
- Stratton, M. R., Campbell, J. P., Futreal, P. A. 2009. The cancer genome. *Nature*. 458. 719-724.
- Straw, R. C. Treatment of mammary gland tumours and perianal neoplasia. [online]. Orlando, Florida. The North American Veterinary Conference (NAVC). 2005. Dostupné z <<http://aleksabokarev.narod.ru/foreignarticle/14.pdf>>.
- Stříteský, J. 2001. *Patologie*. Epava. Olomouc. 338 s. ISBN: 8086297063.
- Svoboda, M., Senior, F. D., Doubek, J., Klimeš, J. 2000. *Nemoci psa a kočky I. díl*. Noviko, a. s. Brno. 1014 s. ISBN: 8090259529.
- Svoboda, M., Senior, F. D., Doubek, J., Klimeš, J. 2001. *Nemoci psa a kočky II. díl*. Noviko, a. s. Brno. 1024 s. ISBN: 8090259537.

- Susaneck, S. J., Allen, T. A., Hoopes, J., Withrow, S. J., Macy, D. W. 1983. Inflammatory mammary carcinoma in the dog. *The Journal of the American Animal Hospital Association*. 19. 971-976.
- Suzuki, A., de la Pompa, J. L., Hakem, R., Elia, A., Yoshida, R., Mo, R., Nishina, H., Chuang, T., Wakeham, A., Itie, A., Koo, W., Billia, P., Ho, A., Fukumoto, M., Hui, Ch. Ch., Mak, T. W. 1997. Brca2 is required for embryonic cellular proliferation in the mouse. *Genes & Development*. 11. 1242-1252.
- Szczubiał, M., Łopuszynski, W. 2011. Prognostic value of regional lymph node status in canine mammary carcinomas. *Veterinary and Comparative Oncology*. 9 (4). 296-303.
- Štourač M. 2017. Vše o kastraci. *Pes přítel člověka*. 62 (2). 46-49.
- Talbot, S. J., Crawford, D. H. 2004. Viruses and Tumours – an update. *European Journal of Cancer*. 40 (13). 1998-2005.
- Tavasoly, A., Golshahi, H., Rezaie, A., Farhadi, M. 2013. Classification and grading of canine malignant mammary tumors. *Veterinary Research Forum*. 4 (1). 25-30.
- Taylor, G. N., Shabestari, L., Williams, J., Mays, C. W., Angus, W., McFarland, S. 1976. Mammary neoplasia in a closed beagle colony. *Cancer Research*. 36 (8). 2740-2743.
- Teske, E. 2008. Clinical cytology of companion animals: Part I. Introduction. *European Journal of Companion Animal Practice*. 18 (2). 127-134.
- Teske, E. 2009a. Clinical cytology of companion animals: Part II. Cytology of subcutaneous swellings, skin tumours and skin lesions. *Journal of Companion Animal Practice*. 19 (1). 21-29.
- Teske, E. 2009b. Clinical cytology of companion animals: Part III. Cytology of the lymph node. *Journal of Companion Animal Practice*. 19 (2). 1-8.
- Tran, C. M., Moore, A. S., Frimberger, A. E. 2014. Surgical treatment of mammary carcinomas in dogs with or without postoperative chemotherapy. *Veterinary and Comparative Oncology*. 14 (3). 252-262.
- Venkitaraman, A. R. 2002. Cancer Susceptibility and the Functions of BRCA1 and BRCA2. *Cell*. 108 (2). 171-182.
- Větvička, V. 2003. Psi a rakovina. *Pes přítel člověka*. 13 (9). 7-8.
- Villalobos, A., Kaplan, L. 2006. *Canine and Feline Geriatric Oncology: Honoring the Human-Animal Bond*. Blackwell Publishing. Iowa. p. 370. ISBN: 9780813802664.

- Vitásek, R., Číhalová, P., Zajíc, J. 2001. Zkušenosti s určováním vhodné doby krytí fen na základě koncentrace progesteronu v periferní krvi. *Veterinářství*. 51 (1). 9-11.
- Wang, Z-P., Tian, Y., Lin, J. 2017. Role of wild-type p53-induced phosphatase 1 in cancer. *Oncology Letters*. 14 (4). 3893-3898.
- Webster, J. D., Dennis, M. M., Dervisis, N., Heller, J., Bacon, N. J., Bergman, P. J., Bienzle, D., Cassali, G., Castagnaro, M., Cullen, J., Esplin, D. G., Peña, L., Goldschmidt, M. H., Hahn, K. A., Henry, C. J., Hellmén, E., Kamstock, D., Kirpensteijn, J., Kitchell, B. E., Amorim, R. L., Lenz, S. D., Lipscomb, T. P., McEntee, M., McGill, L. D., McKnight, C. A., McManus, P. M., Moore, A. S., Moore, P. F., Moroff, S. D., Nakayama, H., Northrup, N. C., Sarli, G., Scase, T., Sorenmo, K., Schulman, F. Y., Shoeb, A. M., Smedley, R. C., Spangler, W. L., Teske, E., Thamm, D. H., Valli, V. E., Vernau, W., von Euler, H., Withrow, S. J., Weisbrode, S. E., Yager, J., Kiupel, M. 2011. Recommended guidelines for the conduct and evaluation of prognostic studies in veterinary oncology. *Veterinary Pathology*. 48 (1). 7-18.
- Withrow, S., J., Page, R., L., Vail, D., M. 2013. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Elsevier Saunders. St. Louis. p. 750. ISBN: 9781437723625.
- Wong, C. W., Song, C., Grimes, M. M., Fu, W., Dewhirst, M. W., Muschel, R. J., Al-Mehdi, A. B. 2002. Intravascular location of breast cancer cells after spontaneous metastasis to the lung. *American Journal of Pathology*. 161 (3). 749-753.
- Wright, W. E., Shay, J. W. 2000. Telomere dynamics in cancer progression and prevention: fundamental differences in human and mouse telomere biology. *Nature medicine*. 6 (8). 849-851.
- Yamagami, T., Kobayashi, T., Takahashi, K., Sugiyama M. 1996. Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification, *The Journal of Veterinary Medical Science*. 58 (11). 1079-1083.
- Yamashita, H., Yando, Y., Nishio, M., Zhang, Z., Hamaguchi, M., Mita, K., Kobayashi, S., Fujii, Y., Iwase, H. 2006. Immunohistochemical Evaluation of Hormone Receptor Status for Predicting Response to Endocrine Therapy in Metastatic Breast Cancer. *Breast Cancer*. 13 (1). 74-83.

- Zatloukal, J., Lorenzová, J., Tichý, F., Nečas, A., Kecová, H., Kohout P. 2005. Breed and Age as Risk Factors for Canine Mammary Tumours. *Acta Veterinaria Brno*. 74 (1). 103-109.
- Zhang, J., Chen, X., Kent, M. S., Rodriguez, C. O., Chen, X. 2009. Establishment of a dog model for the p53 family pathway and identification of a novel isoform of p21 cyclin-dependent kinase inhibitor. *Molecular Cancer Research*. 7 (1). 67-78.
- Zuccari, D. A. P. C., Berton, C. R., Terzian, A. C. B., Ruiz, C. M. 2008. Fatores prognósticos e preditivos nas neoplasias mamárias-importância dos marcadores immuno-histoquímicos nas espécies humana e canina-estudo comparativo. *Arquivos de Ciências da Saúde*. 15 (4). 189-198.