



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

Využití imunohistochemie při vyšetření biopsie mléčné žlázy

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

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

Autor: Dominika Macháčová

Vedoucí práce: MUDr. Jiří Lenz, Ph.D.

České Budějovice 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou/diplomovou práci s názvem „*Využití imunohistochemie při vyšetření biopsie mléčné žlázy*“ jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

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

V Českých Budějovicích dne „3.5.2019“

Dominika Macháčová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu práce, MUDr. Jiřímu Lenzovi Ph.D, za jeho cenné rady, věcné připomínky, trpělivost a především čas, který mi věnoval při řešení dané problematiky. Dále bych chtěla poděkovat laborantkám z patologicko-anatomického oddělení Nemocnice Znojmo za pomoc při zpracování praktické části práce.

Využití imunohistochemie při vyšetření biopsie mléčné žlázy

Abstrakt

Úvod: Nádorová onemocnění prsu jsou nejčastějším novotvarem ženské populace v České republice. Zdokonalování včasné diagnostiky a terapie vede k postupnému snižování mortality při stále se zvyšující incidenci tohoto onemocnění.

Cíle: Tato práce se zabývá využitím imunohistochemického vyšetření v diagnostice nádorů prsu.

Materiály a metody: Do této studie bylo zahrnuto celkem 22 případů maligních nádorů prsu, materiálem ke zpracování bylo 22 punkčních biopsií prsu a 21 resekátů parciální mastektomie. Zjišťována byla imunohistochemická exprese 5 markerů – estrogenových a progesteronových receptorů, HER2, Ki-67 a E-cadherinu. U 9 případů bylo imunohistochemické vyšetření provedeno i v resekátu, kde byly srovnávány výsledky imunohistochemického barvení provedeného manuálně a na barvicím automatu Ventana Benchmark.

Výsledky: Nejčastějším histologickým subtypem byl invazivní karcinom nespeciálního typu, který se vyskytoval ve čtrnácti případech, následovaný čtyřmi případy invazivního lobulárního karcinomu, dvěma případy atypického medulárního karcinomu, jedním smíšeným (invazivní karcinom nespeciálního typu a invazivní lobulární karcinom) karcinomem a jedním metaplastickým karcinomem. V jednom případě byla stanovena odlišná diagnóza – v punkční biopsii byl diagnostikován invazivní karcinom nespeciálního typu a v resekátu byl diagnostikován metaplastický karcinom. Exprese estrogenových a progesteronových receptorů byla variabilní v rozmezí 10-100 %, (průměrná exprese byla 81,9 % a 38,8 %). Estrogenové receptory byly zjištěny u 18 případů, zatímco progesteronové receptory byly zjištěny u 16 případů. Proliferační index Ki-67 byl exprimován v rozmezí 2-40 % (průměrně 16,5 %). Vyšší hodnoty Ki-67 (≥ 20 %) převažovaly u nádorů s chybějící expresí estrogenových a/nebo progesteronových receptorů a nádorů špatně diferencovaných. Žádný z případů nebyl stanoven jako HER2 pozitivní, přičemž 12 případů bylo hodnoceno jako skóre 0 a 10 případů jako skóre 1+.

Závěr: Při porovnání imunohistochemického barvení prováděného manuálně a na barvicím automatu Ventana Benchmark bylo dosaženo téměř shodných výsledků.

Klíčová slova

Mléčná žláza; maligní nádor; imunohistochemie; estrogenové receptory; progesteronové receptory

The use of immunohistochemistry for the examination of mammary gland biopsy

Abstract

Background: Tumours of the breast are the most common tumours in the female population of the Czech Republic. Improvements in early diagnosis and therapy have led to gradual reduction of mortality with an increasing incidence of this disease.

Aims: The aim of this study was to find out the significance of immunohistochemistry in diagnostics of tumours of the breast.

Materials and methods: A total of 22 cases of malignant neoplasm of the breast were included in our study. Twenty two core-cut biopsies and twenty one resected specimens were examined. Immunohistochemical staining with a total of 5 markers was performed – oestrogen and progesterone receptors, HER2, Ki-67, E-cadherin. In 9 cases, immunohistochemical examination in the resection specimens was also performed. The results of manual immunohistochemical staining and staining performed on autostainer Ventana Benchmark were compared.

Results: The most frequent histologic subtype was invasive carcinoma of no special type in fourteen of cases, followed by four cases of invasive lobular carcinoma, two cases of atypical medullary carcinoma, one case of mixed (invasive carcinoma of no special type and invasive lobular carcinoma) carcinoma and one case of metaplastic carcinoma. In one case, a different diagnosis was made – invasive carcinoma of no special type was diagnosed in the core-cut biopsy while metaplastic carcinoma was diagnosed in the resected specimen. The expression of both oestrogen and progesterone receptors was variable. It ranged between 10-100 % (on average 81,9 % and 38,8 % respectively). Oestrogen receptors were found in 18 of cases while progesterone receptors were found in 16 of cases. The Ki-67 expression ranged between 2 and 40 % (on average 16,5 %); higher Ki-67 values (≥ 20 %) were found in tumours with loss of oestrogen and/or progesterone receptor expression and in poorly differentiated tumours. None of the cases was determined as HER2 positive; a score 0 was used in 12 of the cases and a score 1+ in 10 of the cases.

Conclusion: When comparing manual imunohistochemical staining with staining performed on the autostainer Ventana Benchmark very similar results were obtained.

Key words

Mammary gland; malignant neoplasm; imunohistochemistry; core-cut biopsy; oestrogen receptors; progesteron receptors

OBSAH

1	VŠEOBECNÝ ÚVOD	11
2	KLASIFIKACE NÁDORŮ PRSU	12
2.1	TNM KLASIFIKACE.....	12
2.1.1	Patologická TNM klasifikace.....	13
2.2	DĚLENÍ DLE SOUČASNÉ WHO KLASIFIKACE NÁDORŮ PRSU	13
2.3	GRADING	17
3	EPIDEMIOLOGIE	18
3.1	INCIDENCE A MORTALITA NÁDORŮ PRSU U ŽEN.....	18
3.2	VĚKOVÁ STRUKTURA ŽEN S NÁDOREM PRSU.....	19
3.3	KLINICKÉ STÁDIUM	19
4	RIZIKOVÉ FAKTORY	21
4.1	VĚK	21
4.2	POHLAVÍ.....	21
4.3	ŽIVOTNÍ STYL.....	21
4.4	NENÁDOROVÉ ONEMOCNĚNÍ PRSU	21
4.5	MENSTRUACE	22
4.6	TĚHOTENSTVÍ/POROD	22
4.7	HORMONÁLNÍ SUBSTITUCE	22
4.8	VÝSKYT NÁDOROVÉHO ONEMOCNĚNÍ V RODINĚ	22
4.9	HEREDITÁRNÍ FAKTORY.....	22
5	PATOLOGIE PRSU	23
5.1	VÝVOJOVÉ A ZÍSKANÉ ODCHYLKY	23
5.1.1	Hypoplazie a amastie	23
5.1.2	Makromastie.....	23
5.1.3	Ektopická prsní tkáň	23
5.2	REAKTIVNÍ ZMĚNY A ZÁNĚTY	24
5.2.1	Tuková nekróza	24
5.2.2	Infarkt prsu	24
5.2.3	Mammární duktální ektázie	24
5.2.4	Granulomatózní lobulární mastitida	24
5.3	BENIGNÍ LÉZE.....	25
5.3.1	Adenóza	25
5.3.2	Komplexní sklerózující léze, radiální jizva.....	25
5.3.3	Běžná duktální hyperplazie	25
5.3.4	Atypická duktální hyperplazie	26
5.4	CARCINOMY IN SITU	26
5.4.1	Duktální karcinom in situ.....	26
5.4.1.1	DCIS nízkého gradu	27
5.4.1.2	DCIS středního gradu	27
5.4.1.3	DCIS vysokého gradu.....	27
5.4.2	Lobulární karcinom in situ.....	27

5.5	MALIGNÍ LÉZE.....	27
5.5.1	Invazivní karcinom nespeciálního typu	27
5.5.2	Invazivní lobulární karcinom	28
5.5.3	Tubulární karcinom	28
5.5.4	Medulární karcinom	29
5.5.5	Metaplastický karcinom.....	29
5.5.6	Apokrinní karcinom.....	30
5.5.7	Inflamatorní karcinom	30
5.6	NÁDORY PRSNÍ BRADAVKY.....	30
5.6.1	Pagetův karcinom	30
5.6.2	Adenom bradavky	30
5.6.3	Syngomatózní tumor	31
5.7	PATOLOGIE MUŽSKÉHO PRSU	31
5.7.1	Gynekomastie.....	31
5.7.2	Karcinom mužského prsu	31
6	IMUNOHISTOCHEMIE.....	33
6.1	ZÁKLADNÍ POJMY	33
6.1.1	Antigen.....	33
6.1.2	Protilátky.....	33
6.1.2.1	Polyklonální protilátky	33
6.1.2.2	Monoklonální protilátky	33
6.2	DETEKČNÍ SYSTÉMY	34
6.2.1	Přímá metoda.....	34
6.2.2	Nepřímá dvoustupňová metoda.....	35
6.2.3	Nepřímé trojstupňové metody.....	36
6.2.3.1	Peroxidáza – antiperoxidázový – komplex	36
6.2.3.2	Avidin – biotin komplex	36
6.3	IMUNOHISTOCHEMIE U MAMMÁRNÍCH NEOPLÁZIÍ	37
6.3.1	Myoepiteliální buňky.....	37
6.3.2	Papilární léze	37
6.3.3	Proliferativní duktální epiteliální léze a in situ karcinomy	38
6.3.4	Invazivní karcinom nespeciálního typu a lobulární karcinom	38
6.3.5	Pagetův karcinom bradavky	38
6.3.6	Fibroepiteliální nádory.....	38
6.4	PROGNOSTICKO-PREDIKTIVNÍ MARKERY	39
6.4.1	HER2	40
6.4.2	Hormonální receptory.....	41
6.4.2.1	Estrogenový receptor	41
6.4.2.2	Progesteronový receptor	41
6.4.3	Ki-67	41
7	CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY.....	42
8	METODIKA.....	43
8.1	PREANALYTICKÁ FÁZE	43
8.1.1	Odběr vzorku.....	43
8.1.1.1	Punkční biopsie (Core-cut)	43
8.1.1.2	Lumpektomie	43

8.1.1.3	Mastektomie.....	44
8.1.2	Fixace a transport vzorku.....	44
8.2	ANALYTICKÁ FÁZE.....	44
8.2.1	Přikrajování.....	44
8.2.1.1	Doporučený postup pro zpracování bioptických vzorků prsu	45
8.2.2	Zalévání tkáně do parafínu.....	46
8.2.2.1	Odvodnění.....	46
8.2.2.2	Prosycení intermédiem	46
8.2.2.3	Prosycení zalévacím médiem.....	47
8.2.2.4	Vlastní zalití	47
8.2.3	Krájení	47
8.2.4	Barvení hematoxylinem-eozinem.....	47
8.2.5	Vlastní imunohistochemické vyšetření.....	48
8.2.5.1	Postup při barvení na barvicím automatu Ventana Benchmark.....	48
8.2.5.2	Postup při manuálním barvení	49
8.3	POSTANALYTICKÁ FÁZE.....	50
8.3.1	Hodnocení hormonálních receptorů	50
8.3.2	Hodnocení HER2.....	50
8.3.3	Hodnocení Ki-67	51
9	VÝSLEDKY	52
9.1	HODNOCENÍ PUNKČNÍCH BIOPSÍ	52
9.2	HODNOCENÍ RESEKÁTŮ	54
9.3	STANOVENÍ MOLEKULÁRNÍCH SUBTYPŮ NÁDORU PRSU.....	56
10	DISKUZE	57
11	ZÁVĚR	60
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	61
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	68
	SEZNAM TABULEK	69
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	73

1 Všeobecný úvod

Nádorové onemocnění prsu je komplexní multifaktoriální onemocnění vykazující výraznou heterogenitu (Chovanec et al., 2008). Velká část nádorů prsu má původ v tzv. terminální duktulolobulární jednotce vývodového kmene (Povýšil, 2007).

Nádory prsu patří mezi nádory hormonálně závislé, nejvýznamnější roli v etiologii hrají především estrogeny. Dalšími rizikovými faktory jsou například věk, pohlaví, hormonální substituce nebo životní styl. Převážnou část tvoří tzv. sporadické karcinomy, přibližně 10 % pak představují familiární karcinomy, na jejichž vzniku se podílí mutace v genech BRCA1 a BRCA2 (Chovanec et al., 2008).

Počet nově diagnostikovaných případů tohoto onemocnění stále narůstá. V České republice je nádorové onemocnění prsu na předních příčkách všech malignit. Postihuje výrazně častěji ženy, a to především ženy starší 40 let. Rostoucí incidenci tohoto onemocnění lze pozorovat ve všech vyspělých zemích světa, zejména v severní a západní Evropě a Severní Americe. V celosvětovém měřítku je Česká republika na 26. místě v počtu nově diagnostikovaných nádorů prsu (Mužík et al., 2009). Naopak mortalita vykazuje dlouhodobou stagnaci, a to především díky stále se zlepšující diagnostice zahrnující klinické vyšetření, zobrazovací metody a histopatologické vyšetření včetně imunohistochemického. V současnosti je za nejefektivnější metodu včasné detekce považována mamografie (Prausová, 2010).

Tyto diagnostické metody umožňují stanovit prognostické faktory, na jejichž základě je volena léčebná strategie. Léčba tohoto onemocnění zahrnuje chirurgický výkon, radioterapii a systémovou léčbu, tzn. chemoterapii a hormonální terapii (Chovanec et al., 2008).

2 Klasifikace nádorů prsu

Klasifikovat nádory lze na základě mnoha různých kritérií jako jsou např. anatomická lokalizace, věk pacienta, klinický rozsah onemocnění, histologický typ či stupeň diferenciacie. Jedná se o faktory, které mají významný vliv na finální stav nemoci. (Sobin et al., 2011)

2.1 TNM klasifikace

Používá se pro klasifikaci karcinomů ženského i mužského prsu. Onemocnění by mělo být histologicky ověřeno. Pokud se v jednom prsu vyskytuje více primárních nádorů najednou, je pro klasifikaci použit karcinom s nejvyšší kategorií T. V případě současného výskytu oboustranných nádorů prsu by měly být klasifikovány samostatně, což je umožňuje rozdělit podle histologického typu (Sobin et al., 2011).

Anatomická sublokalizace

1. Bradavka
2. Centrální část
3. Horní vnitřní kvadrant
4. Dolní vnitřní kvadrant
5. Horní zevní kvadrant
6. Dolní zevní kvadrant
7. Axilární výběžek

Regionální mízní uzliny

Axilární: interpektorální uzliny a mízní uzliny podél podpažní žíly a jejích přítoků, je možné je rozdělit do tří etáží.

- a) I. etáž: mízní uzliny laterálně od zevního okraje malého prsního svalu.
- b) II. etáž: mízní uzliny mezi vnějším a vnitřním okrajem malého prsního svalu a mízní uzliny interpektorální.
- c) III. etáž: mízní uzliny mediálně od vnitřního okraje malého prsního svalu a infraklavikulární uzliny.

Vnitřní mammární: mízní uzliny v mezižebním prostoru podél okraje hrudní kosti v nitrohruční fascii.

Supraklavikulární: mízní uzliny v prohlubni nad klíční kostí, v trojúhelníku vymezeném svalovinou a šlachou lopatkojazyčkového svalu, hlavní žilou krku (v. jugularis int.), klíční kostí a podklíčkovou žílou.

Intramammární: mízní uzliny uvnitř prsu, pro účely klasifikace jsou považovány za axilární mízní uzliny (1. etáž).

2.1.1 Patologická TNM klasifikace

pT – primární nádor

Pro patologickou klasifikaci je nutné vyšetření primárního karcinomu bez makroskopického nálezu karcinomu v okrajích resektátu. Klasifikovat pT lze jen případ, kdy je nádor v okrajích resektátu přítomen pouze mikroskopicky.

pN – regionální mízní uzliny

Je nutná resekce a histologické vyšetření alespoň axilárních mízních uzlin I. etáže, přičemž resekce obvykle zahrnuje alespoň 6 mízních uzlin.

pM – vzdálené metastázy

2.2 Dělení dle současné WHO klasifikace nádorů prsu

Pro klasifikaci nádorů prsu je doporučeno používat současnou WHO klasifikaci nádorů prsu z roku 2012 (Tab.1).

Tab.1 Klasifikace nádorů prsu. Dle současné WHO z roku 2012.

Epiteliální nádory
Mikroinvazivní karcinom
Invazivní karcinomy prsu
Invazivní karcinom nespeciálního typu
Pleomorfní karcinom
Karcinom s vícejadernými buňkami typu osteoklastů
Karcinom s rysy choriokarcinomu
Karcinom s melanotickými rysy
Invazivní lobulární karcinom
Klasický lobulární karcinom
Solidní lobulární karcinom
Alveolární lobulární karcinom
Pleomorfní lobulární karcinom
Tubulolobulární karcinom
Smíšený lobulární karcinom
Tubulární karcinom
Kribriformní karcinom
Mucinózní karcinom
Karcinomy s medulárními rysy
Medulární karcinom
Atypický medulární karcinom
Invazivní karcinom nespeciálního typu s medulárními rysy
Karcinom s apokrinní diferenciací
Karcinom z prstenčitých buněk
Invazivní mikropapilární karcinom
Metaplastický karcinom nespeciálního typu
Adenoskvamózní karcinom nízkého gradu
Metaplastický karcinom podobný fibromatóze
Velkobuněčný dlaždicový karcinom
Vřetenobuněčný karcinom
Metaplastický karcinom s
mezenchymální diferenciací
chondroidní diferenciací
oseální diferenciací
ostatními typy mezenchymální diferenciace
Smíšený metaplastický karcinom
Myoepiteliální karcinom
Vzácné typy
Karcinomy s neuroendokrinními rysy
Dobře diferencovaný neuroendokrinní nádor
Špatně diferencovaný neuroendokrinní karcinom
Sekreční karcinom
Invazivní papilární karcinom
Acinický karcinom
Mukoepidermoidní karcinom

<ul style="list-style-type: none"> Polymorfní karcinom Onkocytický karcinom Karcinom bohatý na lipidy Světlobuněčný karcinom bohatý na glykogen Sebaceózní karcinom Nádory slinných žláz/kůže adnexálního typu <ul style="list-style-type: none"> Cylindrom Světlobuněčný hidradenom
Epiteliálně – myoepiteliální nádory
<ul style="list-style-type: none"> Pleomorfní adenom Adenomyoepiteliom <ul style="list-style-type: none"> Adenomyoepiteliom s karcinomem Adenoidně cystický karcinom
Prekurzorové léze
<ul style="list-style-type: none"> Duktální karcinom in situ Lobulární neoplazie <ul style="list-style-type: none"> Lobulární karcinom in situ <ul style="list-style-type: none"> Klasický lobulární karcinom Pleomorfní lobulární karcinom in situ Atypická lobulární hyperplazie
Intraduktální proliferativní léze
<ul style="list-style-type: none"> Běžná duktální hyperplazie Atypická duktální hyperplazie Kolumnocelulární léze zahrnující plošnou epiteliální atypii
Papilární léze
<ul style="list-style-type: none"> Intraduktální papilom <ul style="list-style-type: none"> Intraduktální papilom s atypickou hyperplazií Intraduktální papilom s duktálním karcinomem in situ Intraduktální papilom s lobulárním karcinomem in situ Intraduktální papilární karcinom Enkapsulovaný papilární karcinom <ul style="list-style-type: none"> Invazivní enkapsulovaný papilární karcinom Solidní papilární karcinom <ul style="list-style-type: none"> In situ Invazivní
Benigní epiteliální proliferace
<ul style="list-style-type: none"> Sklerozující adenóza Apokrinní adenóza Mikroglandulární adenóza Radiální jizva/komplexní sklerozující léze Adenom <ul style="list-style-type: none"> Tubulární adenom Duktální adenom Apokrinní adenom Laktační adenom
Mezenchymální nádory

<p>Nodulární fasciitida Myofibroblastom Desmoidní fibromatóza Inflamatorní myofibroblastický tumor Benigní vaskulární léze Hemangiom Angiomatóza Atypická vaskulární léze Pseudoangiomatózní stromální hyperplazie Nádor z granulárních buněk Benigní nádor z pochvy periferního nervu Neurofibrom Schwannom Lipom Angiolipom Liposarkom Rhabdomyosarkom Osteosarkom Leiomyosarkom Leiomyom</p>
Fibroepiteliální nádory
<p>Fibroadenom Fyloidní tumor Benigní Hraničně maligní/borderline Maligní Periduktální stromální nádor nízkého stupně diferenciacce Hamartom</p>
Nádory prsní bradavky
<p>Adenom prsní bradavky Syringomatózní nádor Pagetova choroba prsní bradavky</p>
Maligní lymfomy
<p>Difúzní velkobuněčný B lymfom Burkittův lymfom T-lymfom Anaplastický velkobuněčný lymfom ALK-negativní Extranodální lymfom z buněk marginální zóny Folikulární lymfom</p>
Metastatické nádory
Nádory mužského prsu
<p>Gynekomastie Karcinom Invazivní karcinom In situ karcinom</p>
Klinické typy/clinical patterns

Inflamatorní karcinom
Bilaterální karcinom prsu

(Lakhani et al. WHO Classification of Tumours of the Breast, 2012, s 8-9)

2.3 Grading

Grading (stupeň diferenciacie) nádorů prsu je rutinně prováděn na základě hodnocení tvorby tubulů, pleomorfie jader a počtu mitóz. V tabulce je uvedena Nottinghamská klasifikace dle Elstona a Ellise (Tab.2).

Tab.2 Histopatologický grading nádorů prsu

Patomorfologické znaky	Body	
Tvorba tubulů	Ve více než 75 % plochy nádoru	1
	V 10-75 % plochy nádoru	2
	V méně než 10 % plochy nádoru	3
Pleomorfie jader	Uniformní malá jádra	1
	Zvětšená, vezikulární jádra, s nukleoly	2
	Velká, vezikulární jádra, s prominujícími nukleoly	3
Mitotická aktivita	0-6 mitóz	1
	7-14 mitóz	2
	Více než 14 mitóz	3
	Grade I = skóre 3-5, grade II = skóre 6-7, grade III = skóre 8-9	

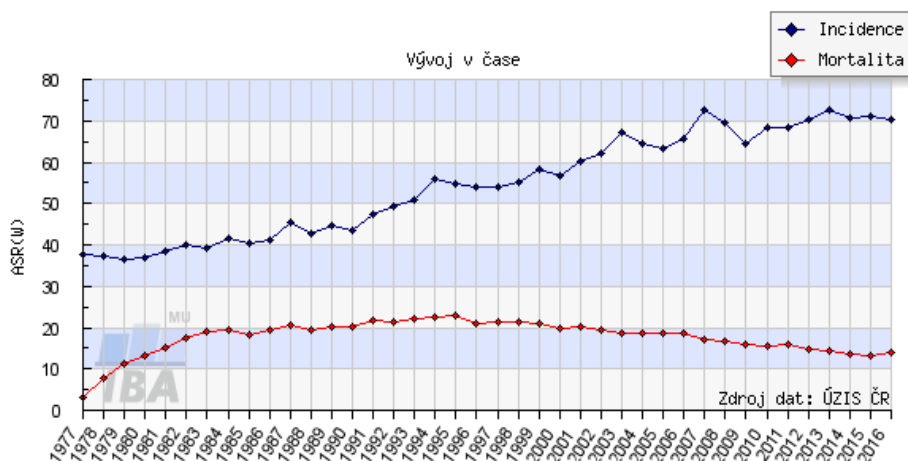
(ELSTON, CW., ELLIS, IO. Histopathology, 1991, 19, s 403-410)

3 Epidemiologie

Epidemiologie je lékařským odvětvím, které se zabývá hodnocením populační zátěže, vymezuje rizikové skupiny populace a hodnotí úspěšnost diagnostiky a léčby (Mužík et al., 2009). V České Republice je hlavním zdrojem dat Národní onkologický registr (NOR). Registrace novotvarů je ze zákona povinná (Mužík et al., 2018).

3.1 Incidence a mortalita nádorů prsu u žen

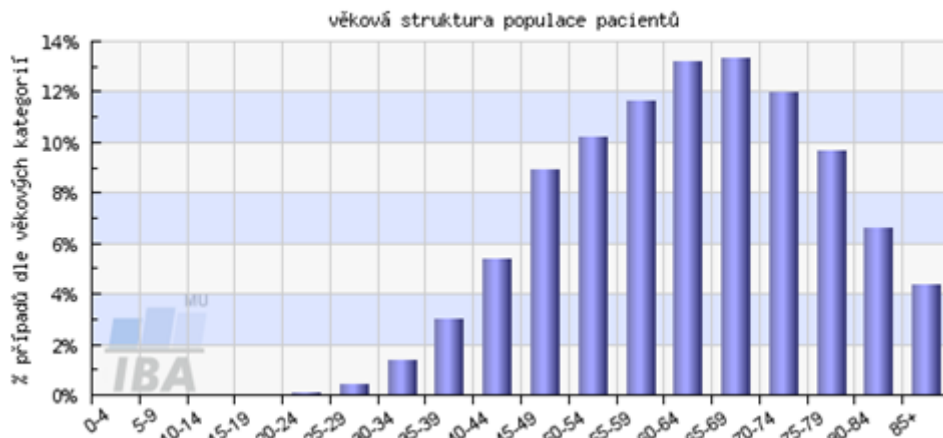
Karcinom prsu je 2. nejčastějším nádorovým onemocněním u žen. V roce 2016 bylo nově diagnostikováno 7220 nádorů prsu. V tomto roce na karcinom prsu zemřelo 1685 žen, což je v porovnání s předešlým rokem o 76 žen více. Od poloviny 90. let lze pozorovat mírné snížení mortality, naopak incidence stále narůstá (Obr.1) (Novotvary 2016). Pro vyjádření výskytu a úmrtnosti lze použít absolutní počet nově diagnostikovaných případů a úmrtí, nebo přepočít těchto údajů na 100 000 žen v populaci. V roce 2016 tato hodnota představovala 134,4 případů na 100 000 žen. Dále je možné využít vyjádření pomocí věkového standardu. Nejčastěji se užívá světový věkový standard ASR-W nebo evropský věkový standard ASR-E. Díky těmto přepočtům je možné porovnávat údaje o incidenci a mortalitě v ČR a ostatních zemích (Mužík et al., 2018).



Obr.1 Časový vývoj incidence a mortality zhoubného nádoru prsu u žen (ÚZIS ČR, © 2010-2019)

3.2 Věková struktura žen s nádorem prsu

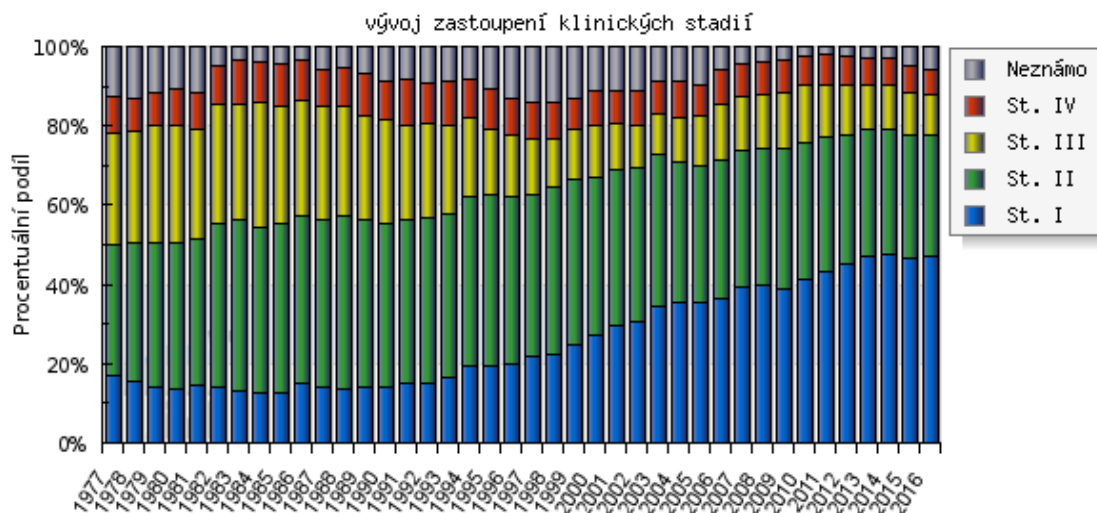
Toto onemocnění nejvíce postihuje ženy po 40. roce života. Nejvyšší výskyt je zaznamenán u žen ve věku 60–69 let. (Obr.2) Incidence zhoubného nádoru prsu v této věkové kategorii výrazně vzrostla po roce 2002, což lze přisoudit vyšší míře záchytu onemocnění díky zavedení celoplošně organizovaného screeningu. Výskyt nádoru prsu u žen do 40 let dlouhodobě stagnuje, u žen mladších 20 let je výskyt onemocnění spíše raritní (Mužik et al., 2009).



Obr.2 Výskyt zhoubného nádoru prsu v různých věkových skupinách
(ÚZIS ČR, © 2010-2019)

3.3 Klinické stádium

Z dostupných dat je patrné, že podíl nově diagnostikovaných onemocnění v časném stádiu stále roste. Tento fakt zvyšuje naději na dlouhodobé přežití. U léčených pacientů s nádorem v I. klinickém stádiu dosahuje míra relativního pětiletého přežití téměř 100 %, u II. klinického stádia téměř 90 % (Obr.3) (Mužik et al., 2018).



Obr.3 Vývoj zastoupení různých klinických stadií zhoubného nádoru prsu
(ÚZIS ČR, © 2010-2019)

4 Rizikové faktory

Karcinom prsu patří mezi nádory hormonálně závislé, nejvýznamnější roli v jeho etiologii hrají především estrogeny. Jedná se však o multifaktoriální onemocnění, na jehož vzniku se kromě hormonálních faktorů podílejí také faktory genetické a faktory životního stylu (Chovanec et al., 2008). Dále lze rizikové faktory rozdělit na exogenní a endogenní. (Tab.3).

Tab.3 Přehled nejvýznamnějších rizikových faktorů

Významné rizikové faktory	
Exogenní faktory	Endogenní faktory
Hormonální substituce	Pohlaví
Nuliparita	Věk
Životní styl	Genetická predispozice
Radiační expozice	Familiární výskyt

4.1 Věk

Riziko vzniku maligního onemocnění prsu stoupá s rostoucím věkem. Nádory prsu jsou velmi vzácné u žen mladších 20 let, pravděpodobnost vzniku však významně stoupá po 50. roce života (Chovanec et al., 2008).

4.2 Pohlaví

Onemocnění se vyskytuje výrazně častěji u žen než u mužů (Petráková et al., 2004).

4.3 Životní styl

Zejména v období po menopauze může vyšší množství tělesného tuku ovlivňovat hladinu estrogenů a tím zvyšovat riziko vzniku onemocnění (Chovanec et al., 2008). Naopak pravidelný sport přiměřené intenzity patří mezi protektivní faktory (Petráková et al., 2004).

4.4 Nenádorové onemocnění prsu

Benigní buněčné změny prsu mohou zvyšovat riziko vzniku maligního onemocnění (Chovanec et al., 2008).

4.5 Menstruace

Ženy, u nichž se první menstruace objevila před 12. rokem života mají vyšší riziko propuknutí nemoci. To platí i pro ženy, u kterých nastala menopauza ve věku 50 let a výše. (Petráková et al., 2004).

4.6 Těhotenství/porod

Ženy, které nemají děti nebo otěhotněly v pozdějším věku patří do ohrožené skupiny. Naopak kojení po dobu alespoň 1,5 roku riziko vzniku onemocnění mírně snižuje (Petráková et al., 2004).

4.7 Hormonální substituce

Dlouhodobé užívání estrogenů v postmenopauzálním období má vliv na vznik maligního onemocnění prsu. Míra rizika se liší podle toho, jestli byl užíván pouze estrogen nebo estrogen v kombinaci s progestinem (Lakhani et al., 2012).

4.8 Výskyt nádorového onemocnění v rodině

Výskyt u členů blízké rodiny (např. rodič či sourozenec) činí riziko onemocnění téměř dvojnásobné (Petráková et al., 2004).

4.9 Hereditární faktory

Na vzniku hereditárních karcinomů se podílí mutace v genech BRCA1 (17. chromozom) a BRCA2 (13. chromozom). Vykazují autozomálně dominantní dědičnost a onemocnění se u pacientek s touto genetickou predispozicí typicky objevuje již v mladém věku (Chovanec et al., 2008).

5 Patologie prsu

5.1 Vývojové a získané odchylky

K velkému množství abnormalit vedou změny ve vývoji a růstu prsní žlázy. Většina z nich je geneticky podmíněná (Rosen et al., 2014).

5.1.1 Hypoplazie a amastie

Mammární hypoplazie může být vrozená i získaná. Rozlišujeme jednostrannou nebo oboustrannou formu. Při jednostranné formě musí rozdíl ve velikosti prsou výrazně přesahovat mírnou asymetrii a druhý prs nesmí být makromastický. Hypoplastická prsní tkáň je složena z fibrózního stromatu a duktálních struktur bez diferencovaných acinů. Extrémní formou hypoplazie je amastie, kde není vůbec vyvinuto jedno nebo oba prsy včetně bradavky (Trier, 1965). Získaná hypoplazie může být důsledkem vystavení radiačnímu záření v dětství. Míra hypoplazie bývá úměrná množství záření (Lundell et al., 1989). Dalšími důvody může být infekční onemocnění nebo chirurgická excize v předpubertálním období (Rosen et al., 2014).

5.1.2 Makromastie

Znamená nadměrný růst prsu. Na základně objemu a hmotnosti rozlišujeme několik typů makromastie. Gigantomastie je definována jako nadměrná prsní tkáň zaujímající více než 3 % celkové tělesné hmotnosti (Dafydd et al., 2011). Adolescentní makromastie je důsledkem progresivního růstu v průběhu jednoho nebo dvou let během dospívání (Sagot et al., 1990). Těhotenská makromastie postihuje méně než 0,01 % gravidit. Rychle se rozvíjí krátce po začátku těhotenství (Szczurowicz, 1996).

5.1.3 Ektopická prsní tkáň

Ektopická prsní žláza se vyskytuje bilaterálně kdekoliv v průběhu mléčné lišty. Postihuje 1-6 % žen, výrazně méně se objevuje u mužů (DeCholnoky, 1951). Nadpočetné prsní žlázy se projeví pouze po dosažení puberty nebo v těhotenství, naproti tomu nadpočetné bradavky lze pozorovat hned po narození (Rosen et al., 2014). V některých případech může být prsní žláza částečně nebo zcela nahrazena tukem (Shrotria, 1994).

5.2 *Reaktivní změny a záněty*

5.2.1 *Tuková nekróza*

Vzniká jako důsledek traumatu, chirurgického zákroku či radiační terapie. Projevuje se bezbolestnou, povrchově umístěnou lézí doprovázenou vtažením kůže. Nejčastěji se vyskytuje v subareolární nebo periareolární oblasti. (Adair, 1947). Mikroskopicky lze pozorovat regresivní změny tukových buněk doprovázené krvácením a záplavou mnohojaderných histiocyty, v pozdějších fázích se může vyskytnout dystrofická kalcifikace. V případě výraznější fibrotizace léze dochází k vazivové retrakci s možnou metaplastickou osifikací (Hooley et al., 1996).

5.2.2 *Infarkt prsu*

Nejčastěji postihuje ženy v těhotenství nebo po porodu a také v průběhu laktace. Makroskopický vzhled léze je proměnlivý, může být patrná hemoragie nebo jedna či více žlutě zbarvených oblastí s prokrvácenými okraji. Mikroskopický nález je ovlivněn délkou trvání infarktu, typický histopatologický obraz představuje kolikvační nekróza postižené tukové tkáně (Rosen et al., 2014).

5.2.3 *Mammární duktální ektázie*

Mezi časně příznaky patří bezbarvý, případně žlutě nebo zeleně zbarvený výtok z prsní bradavky. Může se vyskytnout vtažení bradavky, které je spojováno s periduktální fibrózou (Rahal et al., 2011). Excidovaný vzorek tkáně je tužší konzistence. V mikroskopickém nálezu je typická ektatická dilatace ductů s perifokální fibrózou, event. dystrofickými kalcifikacemi, dále zánětlivé postižení stěny ductů a periduktální tkáně s přítomností lymfocytů, neutrofilů a histiocyty (Davies, 1975). Při narušení integrity stěny ductů dochází k výtoku inspirovaného sekretu do okolní tkáně, což způsobuje intenzivní periduktální obchvatovou reakci s možností formace hnisavé pseudocysty/abscesu (Khoda et al., 1992).

5.2.4 *Granulomatózní lobulární mastitida*

Léze se obvykle objevují po ukončení těhotenství a pravděpodobně nemají souvislost s kojením. Jsou tuhé, vyskytují se v kterékoliv části prsu. Bilaterální forma je neobvyklá, stejně jako výtok z bradavky (Rosen et al., 2014). Histopatologickou

změnou je granulomatózní zánětlivá reakce postihující lobuly. Granulomy jsou složeny z epiteloidních histiocyty, Langhansových buněk, lymfocytů a plazmatických buněk (Kumarasinghe, 1997).

5.3 Benigní léze

Většina benigních lézí je typicky lokalizována v terminální duktulolobulární jednotce. Výskyt těchto lézí má souvislost s věkem pacientky. Příkladem může být fibroadenom vyskytující se typicky u mladších pacientek a cysty postihující nejčastěji ženy mezi 30-50 lety. (Lakhani et al., 2012)

5.3.1 Adenóza

Jedná se o lobulární hyperplázii charakterizovanou zmnožením lobulů s hyperplázií jak luminální, tak i myoepitelové vrstvy buněk (Lakhani et al., 2012). Nejčastějším typem je sklerozující adenóza, která si i přes kompresi acinů fibrózou vždy zachovává lobulocentrické uspořádání. Lobuly jsou obvykle zaoblené a dobře definované. Fibrózní stroma je často hyalinizované, obvyklý je i výskyt dystrofických kalcifikací (Urban, 1949).

5.3.2 Komplexní sklerozující léze, radiální jizva

Jsou obvykle nehmatné, často oboustranné léze. Makroskopicky se jeví jako solidní bělavá ložiska s nepravidelnými okraji. Hvězdovitý vzhled je zapříčiněn pruhy jizevnaté fibrózní tkáně. V okolí jizvy se mohou nacházet lobuly deformované sklerózou a dukty s epitelální hyperplazií (Patterson et al., 2004).

5.3.3 Běžná duktální hyperplazie

Vyznačuje se intraduktální hyperplázií výstelky vývodů, přičemž vždy je zachována myoepiteliální vrstva buněk. Mezi charakteristické histologické rysy patří –intraduktální nepravidelné a často šterbinovité prostory mezi proliferujícími buňkami, které jsou nerovnoměrně uspořádané, dále variabilita velikosti a tvaru buněk či jader (tj. buněčná populace je polymorfní), paralelní uspořádání jader, apokrinní metaplazie, nízká mitotická aktivita a pouze mírný stupeň cytonukleárních atypií. Naopak nekrózy, hemoragie, periduktální fibróza, elastóza nebo chronický zánětlivý infiltrát se u běžné duktální hyperplazie vyskytují velmi vzácně (Rosen et al., 2014).

5.3.4 Atypická duktální hyperplazie

Atypická duktální hyperplazie (ADH) je definována jako proliferace monomorfních, pravidelně uspořádaných epiteliálních buněk postihující struktury terminální duktulolobulární jednotky (Lakhani et al., 2012). Jedná se o skupinu lézí se specifickými architektonickými a cytologickými rysy, které predikují zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu. V mikroskopickém nálezu mají buňky ADH nezřetelné mezibuněčné hranice, rostou v solidních, mikropapilárních či kribriformních formacích, typická je buněčná polarizace. Naopak, překrývání buněk, vírovité formace či buněčné proliferace uspořádané do pruhů nenacházíme (diagnostické rysy typické pro UDH) (Renshaw et al., 2001). Z diferenciálně diagnostického pohledu je ADH obtížně odlišitelná od low-grade DCIS. Nejčastěji používaným kvantitativním kritériem ke stanovení diagnózy low-grade DCIS je homogenní postižení alespoň dvou prostorů ohraničených bazální membránou nebo velikost více než 2 mm. Výše popsané kritérium postižení dvou či více prostorů bylo použito v největších epidemiologických kohortních studiích, které zjišťovaly riziko karcinomu prsu spojené s ADH. Atypická duktální hyperplazie je spojena s relativním rizikem následného rozvoje karcinomu, které je třikrát až pětikrát vyšší než u žen bez ADH; riziko se týká oboustranných prsů (Lakhani et al., 2012).

5.4 Carcinomy in situ

Karcinomy in situ jsou neinvazivní karcinomy, které se vyvinuly z hyperplazií. Vznikají z maligně přeměněných epitelových buněk duktů a lobulů (Prausová, 2010).

5.4.1 Duktální karcinom in situ

Duktální karcinom in situ (DCIS) je neoplastická proliferace epiteliálních buněk duktolobulární části mléčné žlázy. Na periferii duktů jsou zachovány myoepiteliální buňky. Často jsou však hyperplastické a mají změněnou funkční aktivitu (Allinen et al., 2004). Buněčná populace je typicky monomorfní. Bimorfní varianty duktálního karcinomu in situ skládající se ze dvou odlišných buněčných populací jsou neobvyklé (Rosen et al., 2014). Lze klasifikovat 3 typy duktálního in situ karcinomu – DCIS nízkého, středního a vysokého gradu (Lakhani et al., 2012).

5.4.1.1 DCIS nízkého gradu

Skládá se z malých monomorfních buněk rostoucích v kribriformních, mikropapilárních nebo solidních formacích. Velikost jader je uniformní, jádérka jsou nenápadná, typická je buněčná polarizace. Nekrózy se nevyskytují (Schwartz et al., 1989).

5.4.1.2 DCIS středního gradu

Buňky DCIS středního nukleárního gradu vykazují mírnou až střední variabilitu velikosti a tvaru buněk, narušena je buněčná polarizace. Mohou být přítomny mitózy, nekrózy komedonového typu a mikrokalifikace (Lakhani et al., 2012).

5.4.1.3 DCIS vysokého gradu

Sestává z velmi atypických buněk proliferujících nejčastěji v solidních, kribriformních nebo mikropapilárních útvarech. Jádra jsou pleomorfní, nepravidelně rozmístěná, bez patrné polarizace. Obvyklá je nekróza komedonového typu a mikrokalifikace (Lakhani et al., 2012).

5.4.2 Lobulární karcinom in situ

Lobulární karcinom in situ (LCIS) má původ v terminální duktolobulární jednotce a je charakterizován monomorfní proliferací malých, nekohezivních buněk s kulatými, uniformními jádry. Diagnostikovat lze dva typy LCIS - klasický a pleomorfní. Posledně jmenovaný se vyznačuje solidním růstem pleomorfních neoplastických buněk, centrální nekrozou a kalifikací (Rosen et al., 2014).

5.5 Maligní léze

Většinu karcinomů prsu tvoří sporadické karcinomy vznikající na základě sekvenčních mutací některých genů somatických nebo kmenových buněk. Přibližně 10 % pak tvoří tzv. familiární karcinomy (Povýšil, 2007).

5.5.1 Invazivní karcinom nespeciálního typu

Invazivní karcinom prsu nespeciálního typu (NST), běžně známý jako duktální karcinom NST, představuje největší skupinu invazivních nádorů prsu. Jedná se o obtížně definovatelnou entitu zahrnující heterogenní skupinu nádorů, které nevykazují

dostatečné charakteristické rysy jiných specifických histologických typů, jako je lobulární nebo tubulární karcinom. Ani makroskopický nález není specifický. Léze mají variabilní velikost (od méně než 10 mm po více než 100 mm), nepravidelné okraje, hvězdčovitou nebo nodulární konfiguraci (Lakhani et al., 2012). V mikroskopickém nálezu je diagnóza stanovena až po vyloučení ostatních speciálních typů (tzv. per exclusionem). Stupeň cytonukleárních atypií, architektonické uspořádání a mitotická aktivita se liší v závislosti na stupni nádorové diferenciace. Nacházíme solidní, glandulární či kribriformní struktury, dále pruhy, hnízda, syncytiální nádorové formace či jednotlivé nádorové buňky v desmoplastickém vazivovém stromatu. Cytologický nález je rovněž pestrý. Buňky mohou být malé nebo větší s abundantní eosinofilní cytoplazmou, častá je distinkce jednoho či více jader a nepravidelná distribuce hrudkovitého chromatinu jader (Rosen et al., 2014). Dle recentní WHO mezi uznávané varianty invazivního karcinomu nespeciálního typu patří pleomorfní karcinom, karcinom se stromálními obrovskobuněčnými elementy podobnými osteoklastům, karcinom s rysy choriokarcinomu a karcinom s melanocytickými rysy. Prognóza se liší v závislosti na stupni nádorové diferenciace, velikosti nádoru, postižení lymfatických uzlin a vaskulární invazi. Desetileté přežití se pohybuje v rozmezí 35-50 % (ve srovnání s přibližně 55 % nádory prsu jako celku) (Lakhani et al., 2012).

5.5.2 *Invazivní lobulární karcinom*

Invazivní lobulární karcinom (ILC) je tvořen nekohezivními buňkami volně rozptýlenými nebo uspořádanými do jednobuněčných pruhů ve fibrózním stromatu (Rosen et al., 2014). Z tohoto důvodu se jedná o obtížně makroskopicky definovatelné nepravidelné léze. Neoplastické buňky mají kulatá jádra s tenkým lem cytoplazmy s příležitostnými intracytoplazmatickými luminy. Mitotická aktivita je nízká (Dixon et al., 1982).

5.5.3 *Tubulární karcinom*

Skládá se z neoplastických tubulů lemovaných jednou vrstvou buněk (Rosen et al., 2014). Velikost obvykle nepřesahuje 2 cm. Jedná se o tuhé léze, často s infiltrativními okraji. Mikroskopicky se skládá z náhodně proliferujících malých žláz a tubulů, celková konfigurace je hvězdčovitá se špatně definovanými hranicemi (Stalsberg, 2000). Neoplastický epitel je homogenní, má kulatá až oválná jádra, amfofilní cytoplazmu a nenápadná jádérka. Nekrózy se nevyskytují (Rosen et al., 2014). U některých

neobvyklých variant tubulárního karcinomu se můžeme setkat s hlenotvorbou (Eusebi et al., 1979).

5.5.4 Medulární karcinom

Jedná se o dobře ohraničený karcinom tvořený komponentou špatně diferencovaných buněk a denzním lymfoplazmocytním infiltrátem (Rosen et al., 2014). Průměrná velikost se pohybuje od 2 do 2,9 cm. Vyznačuje se vysokou mitotickou aktivitou, syncytiálním typem růstu a absencí tubulárních a žlázových struktur. Nádorové buňky jsou kulaté, disponují hojnou cytoplazmou, pleomorfními jádry s jedním nebo několika jádérky (Lakhani et al., 2012).

5.5.5 Metaplastický karcinom

Metaplastický karcinom zahrnuje skupinu neoplázií charakterizovanou diferenciací neoplastického epitelu do skvamózních buněk a/nebo mesenchymálně vypadajících buněk (vřetenitých, chondroidních, oseálních a rhabdomyoidních). Tyto neoplázie mohou být tvořeny buďto pouze metaplastickou složkou nebo mohou sestávat z komponenty jak karcinomu, tak metaplastických oblastí. (Lakhani et al., 2012) Histopatologicky lze rozlišit několik kategorií metaplastického karcinomu, jedná se o low-grade adenoskvamózní karcinom, skvamózní karcinom, fibromatóze podobný metaplastický karcinom, vřetenobuněčný karcinom, myoepiteliální karcinom nebo karcinom s mesenchymální diferenciací (chondroidní, oseální či jiných typů). U low-grade adenoskvamózního karcinomu lze pozorovat žlázové a tubulární formace ve směsi se solidní skvamózní komponentou. Invazivní složka je charakterizována malými žlázovými strukturami se zaoblenými konturami. Metaplastické nádory podobné fibromatóze se vyznačují nevýraznými vřetenitými buňkami, s bledou eozinofilní cytoplazmou a jemně distribuovaným chromatinem, uloženými ve variabilně kolagenizovaném stromatu (Wargotz, 1990). Postižení lymfatických uzlin je u metaplastického karcinomu signifikantně méně časté ve srovnání s invazivním karcinomem NST podobné velikosti a stupně nádorové diferenciaci. Vzdálené metastázy, vyskytující se predilekčně v mozku nebo plicích, mohou být nalezeny i v případech nepostižených lymfatických uzlin (Lakhani et al., 2012).

5.5.6 Apokrinní karcinom

U tohoto typu nádoru je apokrinní diferenciací patrná u více než 90 % buněk. Tyto buňky se vyznačují hojnou, eosinofilní, granulární cytoplazmou a velkými jádry a výraznými jádérky (Rosen et al., 2014). Velikost nádoru je variabilní a může se vyskytovat v jakékoliv oblasti prsu (Lakhani et al., 2012).

5.5.7 Inflamatorní karcinom

Jedná se o vzácnou, velmi agresivní formu karcinomu prsu (Lucas, 1978). Klinickými příznaky jsou otok a zarudnutí kůže, může dojít k retrakci bradavky. Makroskopické postižení kůže může kromě prsou zasáhnout i celý hrudník. Karcinom je rozsáhlý a neohrazený. Při histologickém vyšetření najdeme v dilatovaných lymfatických cévách kůže nádorové tromby (Lakhani et al., 2012).

5.6 Nádory prsní bradavky

5.6.1 Pagetův karcinom

Představuje asi 1-4 % všech karcinomů prsu (Dalberg et al., 2008). Klinicky se projevuje ekzematózními změnami prsní bradavky, dále výtokem (krvavým i nekrvavým) a vtažením prsní bradavky. Tento karcinom charakterizují maligní žlázové epiteliální buňky v dlaždicovém epitelu bradavky. Mohou zasáhnout i prsní dvorec a okolní kůži (Chaudary et al., 1986). Pagetovy buňky přítomné v epidermis prsní bradavky jsou velké s bohatou cytoplazmou, velkým jádrem a prominujícími jádérky (Valdes, 2006).

5.6.2 Adenom bradavky

Jedná se o benigní epiteliální proliferace lokalizované uvnitř a okolo vývodových struktur. Vyskytuje se u méně než 1 % případů (Perzin, 1972). Průměrný věk pacientů je okolo 43 let. Charakteristická je přítomnost sklerozující adenózy. Vzácně adenóza expanduje a způsobuje erozi pokožky. Tubuly přítomné ve sklerotizující adenóze jsou složeny z myoepiteliálních a lumenálních buněk. Proliferace postihuje oblast velkých mlékovodů a má pseudoinfiltrativní rysy (Lakhani et al., 2012).

5.6.3 Syringomatózní tumor

Jedná se o lokálně invazivní, nemetastázující nádor prsní bradavky, případně oblasti prsního dvorce. Pochází z adnexálních žlázek kůže bradavky. Proliferující epitel obklopuje mlékovody a proniká do hladké svaloviny. Buňky mají slabě eosinofilní cytoplazmu a pravidelná, kulatá jádra. Stroma je sklerotizované, časté jsou myxoidní změny (Lakhani et al., 2012).

5.7 Patologie mužského prsu

Z patologických změn postihujících mužský prs dominuje především gynekomastie. Vzácný, ale možný, je i karcinom mléčné žlázy. Pravděpodobnost vzniku je však u mužů 100krát nižší než u žen (Povýšil, 2007).

5.7.1 Gynekomastie

Gynekomastie je nejběžnější patologickou změnou mužského prsu. Klinicky se projevuje hmatnou bolestivou lézí o velikosti 2-6 cm lokalizovanou v centrální subareolární oblasti. Ve většině případů postihuje oba prsy. Pokud se jedná o unilaterální gynekomastii, objevuje se spíše v prsu levém (Lewinn, 1953).

Floridní gynekomastie je charakterizována epiteliální hyperplazií ductů s mikropapilárními strukturami a mitózami přítomnými v epitelu. Obvykle bývá doprovázená myoepiteliální hyperplazií. Periduktální stroma bývá edematózně zmnožené a vaskulární (Carlson, 1980).

Fibrózní gynekomastie se vyznačuje méně nápadnou epiteliální proliferací. Stroma je více kolagenizované a je zde výrazně redukována vaskularizace a otok (Rosen et al., 2014).

5.7.2 Karcinom mužského prsu

Je vzácnou formou karcinomu. Je histologicky totožný s karcinomy ženského prsu. Vyskytují se invazivní i prekursorové in situ varianty. Projevuje se jako bezbolestná tuhá tkáň v subareolární oblasti, obvykle unilaterální. Nádor je většinou doprovázen krvavým výtokem z prsní bradavky. Invazivní karcinom má makroskopicky hvězdovitou konfiguraci, může postihovat bradavku i přilehlou kůži (Carlsson et al., 1981).

DCIS tvoří asi 10 % všech karcinomů u mužů, naopak LCIS je extrémně vzácný. Invazivní papilární karcinom je běžnější u mužů než u žen, představuje asi 2-4 % případů. Invazivní tubulární karcinom je extrémně vzácný a bývá spojován s estrogenovou a progesteronovou expozicí. Další typy invazivních karcinomů jako je tubulární, mucinózní nebo medulární jsou též velmi vzácné (Anderson et al., 2010).

6 Imunohistochemie

Imunohistochemické vyšetření umožňuje výrazně zpřesnit diagnózu. Pomocí imunohistochemických metod lze určit původ buněk, proliferující buňky v nádorových i nenádorových tkáních či hormonální receptory v buňkách (Kuchynka, 2016). Role imunohistochemie je v současné diagnostice některých onemocnění nezastupitelná (Beranová, 2002).

6.1 Základní pojmy

6.1.1 Antigen

Antigeny jsou látky rozpoznávané imunitním systémem. Antigenem může být látka jakékoliv chemické struktury, obvykle jsou to proteiny, komplexní polysacharidy nebo lipidy. Nejčastější antigeny pochází z vnějšího prostředí, tzv. exoantigeny. Antigeny organismu vlastní se nazývají autoantigeny. Imunitními receptory je rozeznávána pouze určitá oblast antigenu, tzv. epitop (Hořejší, 2009).

6.1.2 Protilátky

Protilátky jsou plazmatické glykoproteiny zvané imunoglobuliny. Molekula imunoglobulinu se skládá ze dvou těžkých a dvou lehkých řetězců navzájem propojených disulfidickými můstky. Fc fragment je oblast na konci těžkého řetězce umožňující vazbu na Fc receptor na buněčném povrchu. Lze je dělit podle typu těžkého řetězce do izotypových tříd IgA, IgG, IgM, IgD, IgE nebo na protilátky polyklonální a monoklonální (Lochmanová, 2014).

6.1.2.1 Polyklonální protilátky

Vznikají aktivací více klonů B lymfocytů po setkání s antigenem. Charakteristická je pro ně různá míra afinity a specifity (Lochmanová, 2014). Záměrnou imunizací experimentálního zvířete lze získat polyklonální antisérum, které reaguje s více epitopy na určitém antigenu (Hořejší, 2009).

6.1.2.2 Monoklonální protilátky

Jsou produkovány jedním klonem plazmatických buněk, jsou zcela identické a mají shodnou specifitu při interakci s antigenem. Monoklonální protilátky mohou

v organismu převládnout při patologických stavech jako je vznik nádoru z plazmatických buněk, tzv. plazmocytom, který se vymkne regulaci, ale stále si zachovává schopnost produkovat protilátky. In vitro homogenní monoklonální protilátky lze získat izolací klonů B lymfocytů produkujících protilátky zvolené specifity, které se pak pěstují v buněčné kultuře. S ohledem na krátkou životnost B lymfocytů je třeba je immortalizovat, obvyklé fúzí s myelomovou buněčnou linií. Výsledkem je hybridom, který produkuje totožné protilátky jako původní B lymfocyt. Tento typ protilátky je využíván v praxi zejména pro diagnostické účely, ale i léčbu některých onemocnění (Hořejší, 2009)

6.2 Detekční systémy

Molekuly protilátek nejsou pozorovatelné pod světelným mikroskopem. Podstatou detekčních systémů je značení primární nebo sekundární protilátky za účelem vizualizace komplexu antigen-protilátka. Jako značky lze použít fluorescenční sloučeniny nebo enzymy. Tyto metody lze dělit na přímé a nepřímé (Beranová, 2002)

6.2.1 Přímá metoda

V tomto případě je protilátka přímo označena chemickou cestou a následně detekována její vazba na antigeny přítomné ve tkáních (Obr.4). Při přípravě značené protilátky je nutné připojit co nejvyšší počet molekul značky ke každé jednotlivé molekule protilátky. Při procesu označování nesmí dojít k deaktivaci protilátky nebo značky. Konečné značené činidlo nesmí obsahovat volné molekuly neznačené protilátky nebo molekuly protilátky spojené s neaktivní značkou. Nejčastěji užívanými značkami jsou peroxidáza, alkalická fosfatáza nebo glukooxidáza (Dabbs, 2010).



Obr.4 Schéma přímé metody (Dvořák et al., Základy histopatologických vyšetřovacích metod, 2008, s 79)

6.2.2 *Nepřímá dvoustepňová metoda*

Je modifikací přímé metody, kdy je označována sekundární protilátka, která se následně váže na protilátku primární (Obr.5). Na primární protilátku může být navázáno více molekul značené sekundární protilátky, což vede ke zvýšení citlivosti metody (Dabbs, 2010).



Obr.5 Schéma nepřímé dvoustepňové metody (Dvořák et al., Základy histopatologických vyšetřovacích metod, 2008, s 79)

6.2.3 Nepřímé trojstupňové metody

6.2.3.1 Peroxidáza – antiperoxidázový – komplex

Peroxidáza-antiperoxidázové (PAP) činidlo se skládá z protilátky proti křenové peroxidáze a antigenu křenové peroxidázy ve formě stabilního imunokomplexu. Tento komplex se skládá ze dvou molekul protilátky a tří molekul křenové peroxidázy (Obr.6). PAP činidlo a primární protilátka musí pocházet ze stejného druhu. Naopak můstek neboli spojovací protilátka pochází z odlišného druhu se specifitou proti primární protilátce. Primární protilátka bývá králičí, sekundární prasečí zaměřená proti králičí. Tento systém byl pro svou vysokou specifitu značně rozšířen v praxi, postupně byl však nahrazen metodou avidin-biotin komplex (ABC) (Dabbs, 2010).

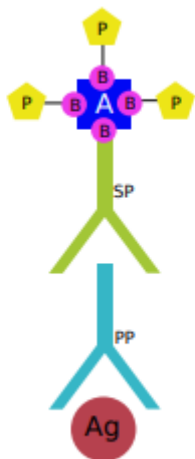


Obr.6 Schéma nepřímé trojstupňové metody PAP (Dvořák et al., Základy histopatologických vyšetřovacích metod, 2008, s 80)

6.2.3.2 Avidin – biotin komplex

Tato metoda využívá vysoce afinitní vazby mezi avidinem a biotinem. Biotin může být chemickou cestou připojen k primární protilátce, čímž vznikne biotinylovaný konjugát. Ten se naváže na antigeny v tkáňovém řezu. Následně je přidán avidin konjugovaný s křenovou peroxidázou (Obr.7). Nevýhodou této metody je, že některé tkáně obsahují

významné množství endogenního biotinu, který se může přímo vázat na ABC a způsobit tak falešnou pozitivitu. Tomuto jevu však jde zabránit vhodnou blokovací technikou (Dabbs, 2010).



Obr.7 Schéma nepřímé trojstupňové metody ABC (Dvořák et al., Základy histopatologických vyšetřovacích metod, 2008, s 81)

6.3 *Imunohistochemie u mammárních neoplázií*

6.3.1 *Myoepiteliální buňky*

Přítomnost myoepiteliálních buněk obklopujících duktulolobulární epitel je důležitým diagnostickým kritériem odlišující neinvazivní a invazivní neoplázie (Ahmed, 1974). Myoepiteliální buňky jsou většinou dobře rozlišitelné na periferii ductů a lobulů, nicméně, pokud jsou tyto struktury dilatované, stlačené nebo naplněné proliferujícími buňkami, je jejich detekce v základním barvení hematoxylin–eosin značně obtížná (Busterson et al., 1982). Markery jako je hladkosvalový actin (SMA), calponin a jaderný marker p63 jsou citlivější a specifitější pro složky cytoplazmy myoepiteliálních buněk a nahradily tak dříve používané protilátky jako je S 100 protein nebo keratin s vysokou molekulovou hmotností (HMWK) (Gimona et al., 1990).

6.3.2 *Papilární léze*

Benigní papilární léze musí obsahovat vrstvu bazálních myoepitelií, zatímco absence těchto buněk je diagnostickým kritériem papilárního karcinomu (Pappotti et al., 1983).

6.3.3 Proliferativní duktální epiteliální léze a in situ karcinomy

Je možné pozorovat rozdíly v expresi cytokeratinů u DCIS a hyperplazie. Protilátka 34E12 rozpoznává cytokeratiny 1,5,10 a 14, které jsou přítomny v duktálním a skvamózním epitelu. Normální myoepiteliální a lumenální buňky exprimují 34E12, stejně jako proliferující epitelie při neatypické duktální hyperplázii. Exprese obvykle chybí u atypické duktální hyperplazie (Lacroix-Triki et al., 2003). Totéž platí pro DCIS, proto protilátka 34E12 nemůže být použita pro rozlišení atypické duktální hyperplazie od duktálního karcinomu in situ. Více specifická je exprese cytokeratinu 5 a 6, která u DCIS chybí (Lacroix-Triki et al., 2003).

6.3.4 Invazivní karcinom nespeciálního typu a lobulární karcinom

Pro rozlišení těchto dvou forem karcinomů je využívána exprese adhezivní molekuly E-cadherin. Tato protilátka vykazuje pozitivitu u invazivního karcinomu nespeciálního typu, zatímco u karcinomu lobulárního je negativní. V některých obtížnějších případech lze pro zvýšení diagnostické přesnosti použít p120 catenin, který je pozitivní u lobulárního karcinomu (Dabbs, 2010).

6.3.5 Pagetův karcinom bradavky

Pro diagnostiku Pagetova karcinomu bradavky se používá cytokeratin 7, který je pozitivní ve většině případů. Dále buňky Pagetova karcinomu vykazují pozitivitu s HER2, a to přibližně v 80–90 % případů (Anderson et al., 2003). Exprese HER2 bývá často prokázána také v přilehlém DCIS nebo v invazivním karcinomu (Meissner et al., 1990). Dalšími možnými pozitivními markery mohou být fluidní protein 15 (GCDFP15+), polyklonální karcinoembryonální antigen (CEA) a hormonální receptory (Tani, 1988). Nicméně je důležité mít na paměti, že estrogenové receptory (ER) a progesteronové receptory (PR) nejsou vhodnými markery pro diagnostiku Pagetova karcinomu. Někdy může být viděna pseudo-pagetova choroba, kdy velké buňky infiltrují epitel a napodobují tak obraz Pagetova karcinomu. Tyto velké buňky jsou však negativní na cytokeratin 7 a silně pozitivní na CD68 (Dabbs, 2010).

6.3.6 Fibroepiteliální nádory

Do této rozsáhlé skupiny nádorů patří fibroadenomy, fyloidní nádory, ale také mammární hamartomy a periduktální stromální nádor. Imunohistochemie je užitečná

pro diagnostiku tzv. myoidních hamartomů, které jsou považovány za variantu fibroadenomu, a adenoidního nádoru s myoidní metaplazií považovaného za variantu mammárního hamartomu. Tyto nádory exprimují hladkosvalový aktin, desmin a vimentin a jsou negativní s barvením proti S-100 proteinu (Garfein et al., 1996; Mathers, 2004). Většina fyloidních nádorů a periduktální stromální nádor exprimují CD34 ve stromatu. Dále jsou u fyloidních nádorů variabilně exprimovány ER a PR, jejich exprese je však omezena na non-neoplastický epitel, v neoplastických stromálních buňkách jsou negativní (Sapino et al., 2006). V závislosti na buněčné proliferaci dochází k jaderné expresi Ki-67. Míra exprese tohoto markeru narůstá se stupněm buněčné proliferace/nádorové diferenciaci (Kleer et al., 2001). Stejný charakter exprese lze pozorovat i u nádorového supresorového genu p53 (Shpitz et al., 2002).

6.4 Prognosticko-prediktivní markery

Z důvodu nedostačujícího zisku informací pro správnou volbu léčby z morfologického vyšetření se běžnou součástí histopatologické diagnózy staly výsledky vyšetření exprese některých biomarkerů. Stanovení těchto markerů je zcela zásadní pro volbu léčebné strategie, jelikož rozhodují o biologickém chování a odpovědi na léčbu (Dabbs, 2010).

Na základě imunohistochemického vyšetření exprese těchto markerů lze nádory prsu rozdělit do 4 skupin (Tab.4).

Tab.4 Klasifikace nádorů prsu podle exprese prognosticko-prediktivních markerů

	Luminální A	Luminální B	HER2 pozitivní	Basal-like
Prognóza	Dobrá	Průměrná	Špatná	Špatná
Vzdálený relaps	Vrchol po 4 letech, riziko relapsu se prodlužuje přes 10-15 let		Vrchol 4-6 let, ale riziko přetrvává 10-15 let	Vrchol po 2 letech, potom snížen na minimum do 10 let
Nejběžnější místo relapsu	Kosti	Kosti	Viscerální orgány	Viscerální orgány
Odpověď na hormonální terapii	Dobrá	Špatná při pouze hormonální terapii	Neodpovídá	Neodpovídá
Odpověď na chemoterapii	Špatná	Průměrná	Dobrá, lepší v kombinaci s Trastuzumabem	Dobrá
Histologický grade	Nízký až střední	Nízký	Vysoký	Vysoký
Proliferační index Ki-67	Nízký	Střední až vysoký	Vysoký	Vysoký
Běžné genetické abnormality	PI3K mutace běžná, mutace p53 vzácná	Mutace p53 běžná	PI3K mutace (20 %)	Častá mutace p53, méně běžná PI3K mutace
Oncotype DX/MammaPrint	Nízké riziko	Vysoké riziko	Vysoké riziko	Vysoké riziko

(Rosen, P.P., et al., Rosen's Breast Pathology, 2014, 4, s 1338)

6.4.1 HER2

Expresi HER2 lze pozorovat na plazmatických membránách adultních i fetálních epitelových buněk. Přibližně u 15-20 % karcinomů prsu byla zjištěna amplifikace a overexprese HER2 (Owens et al., 2004). HER2 pozitivní pacienti mají značně vyšší míru úmrtnosti a recidivy. Tento fakt jasně demonstruje prognostický význam tohoto genu. Ještě důležitější je však význam predikce odpovědi na léčbu založenou na antracyklinu a taxanech (Konecny et al., 2004; Hayes et al., 2007). Dále je pozitivita HER2 ukazatelem míry úspěšnosti léčby trastuzumabem. Trastuzumab je monoklonální protilátka proti HER2. Užití této protilátky samotné nebo v kombinaci s chemoterapií zpomaluje progresi nemoci a zvyšuje míru přežití (Piccart-Gebhart et al., 2005).

6.4.2 Hormonální receptory

6.4.2.1 Estrogenový receptor

Estrogenový receptor je jaderný transkripční faktor stimulující růst normálních epiteliálních buněk prsu po aktivaci estrogenem (Clarke, 2003). Estrogenové receptory jsou exprimovány v buňkách invazivního nádoru prsu (Clune et al., 2009). Při imunohistochemickém vyšetření přibližně 80 % invazivních nádorů prsu exprimuje ER v rozmezí od 1-100 % pozitivních buněk (Harvey et al., 1999). Exprese ER je důležitým prediktivním faktorem odpovědi na hormonální terapii tamoxifenem. Tamoxifen se váže na ER a blokuje estrogenem stimulovaný růst, což vede k výrazně delšímu přežití u ER pozitivních pacientů. Dále pouze ER pozitivní nádory odpovídají na novější typy terapie jako jsou inhibitory aromatázy, které potlačují tvorbu estrogenu (Clune et al., 2009).

6.4.2.2 Progesteronový receptor

Progesteronový receptor je aktivován progesteronem, který stimuluje růst nádorové buňky (Anderson, 2002). Exprese PR je regulována ER, tudíž přítomnost progesteronového receptoru indikuje neporušenost a funkčnost dráhy estrogen – estrogenový receptor (Clarke, 2003). Progesteronové receptory jsou exprimovány v jádrech přibližně 60-70 % buněk invazivního nádoru prsu. Existuje přímá korelace mezi mírou exprese a odpovědí na hormonální terapii, kdy dokonce i nádory s velmi nízkou expresí PR (méně než 1 % pozitivních buněk) mají výraznou šanci na úspěch léčby (Mohsin et al., 2004).

6.4.3 Ki-67

Ki-67 je přítomen ve všech proliferujících buňkách. Jedná se o jaderný nonhistonový protein přítomný ve všech aktivních fázích buněčného cyklu kromě G0 fáze (Nishimura et al., 2010). Ki-67 patří mezi vybraných 21 genů zahrnutých v testu Oncotype DX, používaném k predikci rizika recidivy a určení přínosu chemoterapie u žen s nádory prsu, které jsou estrogen pozitivní a nemají postižené regionální lymfatické uzliny (Paik et al., 2004). Dále je Ki-67 považován za prognostický faktor využívaný zejména pro určení/odhadnutí míry rezistence na chemoterapii nebo endokrinní terapii (Soliman, 2016).

7 Cíle práce a hypotézy

Cílem mé práce bylo podrobně se seznámit s problematikou nádorového onemocnění prsu a vytvořit literární rešerši na toto téma. Dalším stanoveným cílem bylo prakticky provést zpracování bioptického materiálu. Tento proces zahrnuje přikrajování tkáně, její zalití do parafínu, krájení a barvení hematoxylinem-eozinem. Dalším cílem bylo provést imunohistochemické barvení na barvicím automatu Ventana Benchmark, ale i manuálně.

Hypotéza č. 1

Diagnóza stanovená v punkční biopsii bude shodná s diagnózou stanovenou v resekátu.

Hypotéza č. 2

Při manuálním imunohistochemickém barvení bude dosaženo velmi podobných výsledků jako při barvení provedeném na barvicím automatu Ventana Benchmark.

8 Metodika

Metodickou část práce jsem prováděla od 1.6.2018 do 28.2.2019 na patologicko – anatomickém oddělení Nemocnice Znojmo. Ve sledovaném období jsem provedla zpracování vzorků od 22 pacientek, materiálem ke zpracování bylo 22 punkčních biopsií prsu a 21 resekátů parciální mastektomie. U posledního případu nebyla plánovaná resekce provedena před dokončením této práce. U všech případů bylo po stanovení diagnózy maligní neoplázie/karcinomu v preparátech barvených hematoxylinem-eozinem provedeno imunohistochemické vyšetření exprese ER, PR, HER2, Ki-67 a E-cadherinu.

8.1 Preanalytická fáze

8.1.1 Odběr vzorku

8.1.1.1 Punkční biopsie (Core-cut)

Při tomto typu odběru vzorku je z nádoru vyražen trojrozměrný válec tkáně. Core-cut biopsie je prováděna 1-2 mm silnou jehlou, která má přibližně 5 mm proximálně od špičky umístěný vrub dlouhý 1-2 cm a válec s ostrým okrajem. Válec sklouzává nejprve proximálně a následně distálně přes vrub. Nástroj se umístí před nádor a špička jehly je vnořena zhruba 1 cm do nádoru, přičemž zavedení jehly je v případě ultrazvukem prokazatelných lézí provedeno sonograficky. Poté je cylinder katapultován dopředu pomocí péra, čímž dojde k odstřížení tkáně a jejímu odebrání pomocí celého nástroje. Ke stanovení diagnózy je nutné získat nejméně 3 válce z různých částí ložiska (Becker, 2005).

8.1.1.2 Lumpektomie

U resekovaných vzorků vždy platí, že odebraný vzorek by měl být celistvý, jelikož je nutné zhodnotit přítomnost infiltrátu ve všech okrajích resekátu. Pro topografickou orientaci se vzorek označuje alespoň dvěma rozlišnými stehy. Pokud u tkáně byla provedena punkční biopsie, musí být toto místo označeno svorkou, grafitem nebo vodičem. U lumpektomie, je resekce prsní žlázy přizpůsobená velikosti nádoru. Kožní incize je obloukovitá podle křivek mléčné žlázy přímo nad hmatným či označeným nádorem, který je resekován. Resekce je prováděna tak, aby byl uprostřed centrálně

nasměrovaného kužele. Nádor je resekován s bezpečnostním okrajem zdravé tkáně o šíři 1 cm (Becker, 2005).

8.1.1.3 Mastektomie

Při mastektomii je elipsovým kožním řezem částečně nebo zcela odstraněn parenchym prsní žlázy včetně prsní bradavky (parciální nebo radikální mastektomie). Preparace kožního laloku probíhá v podkožní tkáňové vrstvě mezi parenchymem a tkáněmi prsní žlázy. Disekce je provedena z kraniálního směru, nahoře dosahuje až ke spodní hraně klíční kosti, mediálně ke kosti hrudní, dolů k pochvě rektálních svalů a laterálně až k širokému zádovému svalu. Odstraněn musí být i axilární výběžek žlázy. Zpravidla bývá odstraněna i fascie velkého prsního svalu. Excidovaná tkáň axily se zasílá alespoň ve dvou samostatných etážích s oddělenou sentinelovou lymfatickou uzlinou. (Becker, 2005)

8.1.2 Fixace a transport vzorku

Biologický materiál musí být dodán vcelku, diagnosticky významné části je nutné označit různými druhy stehů a jejich deskripci uvést v žádance. Nejzásadnější částí preanalytické fáze je fixace, neboť nefixovaná tkáň podléhá autolýze. Materiál je fixován roztokem 10% pufrovaného formalínu, přičemž objem fixační tekutiny by měl být 10x větší než je objem materiálu. Fixovaný materiál je možno zpracovat i s časovým odstupem, nativní materiál musí být doručen do laboratoře okamžitě po odběru. K materiálu musí být přiložena řádně vyplněná žádanka. Údaje uvedené na žádance musí být shodné s údaji na transportní nádobě.

Při příjmu, který v případě patologicko-anatomického oddělení (PAO) Nemocnice Znojmo probíhá od pondělí do pátku 7:00-15:30, zkontroluje laborantka správnost údajů na transportní nádobě a žádance, poté je vzorek přijat pod laboratorním číslem do nemocničního informačního systému (NIS).

8.2 Analytická fáze

8.2.1 Přikrajování

Prvotní fází zpracování vzorku v laboratoři je jeho prikrajování patologem. Přikrajování probíhá ve speciálních odvětrávaných boxech, aby bylo zamezeno vdechování

toxických par z fixačních tekutin. Cílem je získání excízií pro celou řadu histopatologických metod (Čížková, 2018). Při preparaci patolog tkáň makroskopicky hodnotí, zaznamenává velikost, patologické změny a vyhledává a odebírá lymfatické uzliny. Získané informace jsou zaznamenány v NIS a jsou součástí výsledkového protokolu. Získané excize vkládá laborantka do připravených kazet s číslem z číselné řady (identické s číslem na žádance), na žádanku přepíše k přidělenému číslu počet bloků pro základní a případně speciální barvení. Po přikrojení laborantka provede kontrolu kazet a vloží je do odvodňovacího tkáňového automatu (tzv. autotechnikonu).

8.2.1.1 Doporučený postup pro zpracování bioptických vzorků prsu

Punkční biopsie (core-cut)

Zpracován musí být všechny materiál a počet válečků popsán. Válečky zpracované do parafinových bloků je nutné orientovat v podélné ose. Musí být popsány a prokázány kalcifikace. Pokud patolog shledá vzorek nedostatečně reprezentativním, musí být tento fakt výslovně uveden (Nenutil, 2013).

Lumpektomie

U lumpektomie se celý vzorek mimo kůži označí tuší a následně sériově přikrajuje ve směru kolmém ke kůži. V případě přítomnosti dutiny po předchozí biopsii je nutné tuto důkladně vyšetřit. Ze stěny dutiny by měly být odebrány alespoň 4 bloky. Materiál musí být vždy vyšetřen tak, aby byl zcela zjevný vztah nádoru k resekcčním okrajům. V popisu je zaznamenán tvar, velikost a charakter vzorku. V případě výskytu makroskopicky patrné léze se popisuje její tvar, velikost, konzistence a vzdálenost od všech resekcčních okrajů (Nenutil, 2013).

Mastektomie

Do popisu jsou zahrnuty údaje o typu a velikosti vzorku, kůži, o pohyblivosti spodinové fascie pod ložiskem, vzhledu bradavky a okrajích resektátu. Po kompletním prokrájení se zaznamenávají informace o lokalizaci, tvaru, barvě, konzistenci, vztahu k resekcčním okrajům a velikosti suspektních ložisek. Při zpracování by měl být spodní okraj resektátu zahrnující axilární okraj označen tuší. Při podezření na Pagetův karcinom se sériově přikrajuje celá bradavka, jinak stačí jeden příčný řez přes vrchol bradavky a přilehlou část dvorce. Pokud jsou u axilárního pólu resektátu uloženy lymfatické uzliny, měly by

být vyšetřeny. Při podezření na infiltraci kůže se tumor vyšetřuje v kontinuitě s kůží (Nenutil, 2013).

8.2.2 Zalévání tkáně do parafínu

Pro vyšetření je nutné tkáň nakrájet na řezy o tloušťce 2-5 μm . Krájení takto tenkých řezů je umožněno zalitím tkáně do parafínu, který tkáň dokonale prostoupí. Před samotným zalitím tkáně do parafínu je vzorek vložen do autotechnikonu (Obr.8), kde projde odvodněním, prosycením intermédiumem a prosycením parafínem (Čížková, 2018).



Obr.8 Odvodňovací tkáňový automat (autotechnikon)

8.2.2.1 Odvodnění

Při procesu odvodnění se ze vzorku vzestupnou alkoholovou řadou odstraňuje voda. Vzorky jsou postupně vkládány do 50 %, 70 %, 80 % a 96% alkoholu.

8.2.2.2 Prosycení intermédiumem

Jelikož je alkohol nemísitelný se zalévacím médiem, je potřeba tkáň prosytit intermédiumem, které je mísitelné s alkoholem i zalévacím médiem. Intermédiumem je

nahrazen alkohol ve vzorku, což umožní průnik zalévacího média. Někdy je tento krok nazýván projasnění a používá se k němu xylen (Čížková, 2018).

8.2.2.3 Prosycení zalévacím médiem

Po projasnění tkáně xylenem je vzorek prosycován parafinem rozeřtým na 56°C.

8.2.2.4 Vlastní zalití

Po vyjmutí kazety z autotechnikonu probíhá vlastní zalití tkáně do parafínu o teplotě 56-58 °C, k čemuž se používá zalévací linka. Laborantka odstraní víčko z kazety, vyjme vzorek odvodněné tkáně a vloží ho do kovové formičky s nalitým parafinem. Poté přiloží příslušnou očíslovanou kazetu, doplní parafín a ponechá vzorky na chladicí desce. Po ztuhnutí seřadí bločky dle pořadových čísel a umístí na led.

8.2.3 Krájení

Parafínové bločky jsou krájeny na sáňkovém mikrotomu, čímž se zhotoví tenké histologické řezy. Laborantka si nejprve připraví podložní skla potřená glycerinbílkem. Nalije do nádoby vlažnou vodu, umístí do vodní lázně. Umístí bloček do svorky na bloky, nahrubo ho seřeže a následně krájí řezy o tloušťce 2 µm, které se pomocí preparační jehly přenáší na vodní hladinu a vypínají na teplé lázni. Následně se řezy naloví na podložní sklo a suší v termostatu. Po hodině sušení v termostatu jsou preparáty připraveny k barvení.

8.2.4 Barvení hematoxylinem-eozinem

Po uplynuté hodině vloží laborantka stojánky z termostatu do barvicího automatu. Vzorky projdou v automatu nejprve odparafinováním, které se sestává ze dvou lázní xyleny po 5 minutách a dvou lázní alkoholu po 5 minutách. Poté následuje oplach ve vodě a barvení hematoxylinem po dobu 7 minut. Následuje oplach a modrání ve vodě 10 minut. Poté se preparáty vloží na 5 minut do eozinu. Obarvené preparáty se odvodní v alkoholu a projasní v xyleny. Preparáty musí zůstat v xyleny až do zamontování, aby nevyschly. Po vyjmutí z xyleny preparáty na sklech laborantka osuší filtračním papírem, navrství na ně montovací médium (solakryl) a přiloží krycí sklo.

Takto připravené preparáty prohlíží lékař pod mikroskopem a stanoví nález ze základního barvení. V případě potřeby rozhodne o provedení imunohistochemického

vyšetření. Zapiše na přední stranu žádanky číslo parafinového bloku a typ imunohistochemické reakce, kterou požaduje provést. Laborantka blok standardně zpracuje od fáze krájení. Pro účely imunohistochemie se používají speciální skla potažená silanem.

8.2.5 *Vlastní imunohistochemické vyšetření*

Na PAO Nemocnice Znojmo je využívána souprava Ventana ultraView Universal DAB detection Kit firmy ROCHE, která detekuje specifické myši a králičí primární protilátky vázané na antigen v tkáňových řezech zalitých v parafínu. Specifická protilátka se lokalizuje směsí enzymem značených sekundárních protilátek. Celý komplex je vizualizován pomocí substrátu z peroxidu vodíku a 3, 3'-diamidobenzidin tetrahydrochlorid (DAB) chromogenu, který vytváří hnědou sraženinu. Tu lze snadno pozorovat za pomoci světelného mikroskopu. Použité protilátky jsou uvedeny v tabulce (Tab.5).

Tab.5 Použité protilátky

Název protilátky	Klon
E-cadherin	36*
ER	SP1*
PR	1E2*
HER2	4B5*
Ki-67	30-9*

* Ready to use

8.2.5.1 *Postup při barvení na barvicím automatu Ventana Benchmark*

Nejprve se sklíčka opatří štítkem s čárovým kódem odpovídajícím protokolu, který se má provést. Následně se založí primární protilátka, dávkovače příslušné detekční soupravy a potřebná přídavná činidla do přihrádky pro činidla a umístí se do barvicího automatu. Provede se kontrola nádob na tekutiny a odpad. Sklíčka se vloží do barvicího automatu (Obr.9) a spustí se barvicí cyklus. Po ukončení barvicího cyklu se sklíčka vyjmou z barvicího automatu a promyjí v roztoku mírného saponátu na nádobí, čímž dojde k odstranění krycího roztoku. Sklíčka se opláchnou v destilované vodě, aby byl odstraněn veškerý detergent. Následně jsou preparáty vloženy na 3 minuty do hematoxylinu a poté na 3 minuty do vody. V dalším kroku se preparáty odvodní ve 2

lázních alkoholu po 3 minutách. Poté projasní ve 2 lázních xylenu po 3 minutách. Nakonec se zakryjí permanentním montovacím médiem.



Obr.9 Barvicí automat Ventana Benchmark

8.2.5.2 Postup při manuálním barvení

V případě manuálního provedení imunohistochemické reakce musí být parafinový blok také standardně zpracován od fáze krájení po odparafinování. Používán je EnVision+ Dual link System-HRP firmy DAKO. Systém je založen na polymeru značeném pomocí HRP (křenové peroxidázy) a konjugovaném se sekundárními protilátkami. Polymer neobsahuje avidin ani biotin. Všechny kroky by měly probíhat při pokojové teplotě a činidla by se také měla nechat vytemperovat na pokojovou teplotu. Je nutné dbát na to, aby v žádném kroku preparáty nevyschly.

Nejprve se provede inkubace preparátů v pufru o pH 6 nebo 9 po dobu 30 minut. Nádoba s pufrům je umístěná ve vodní lázni. V tomto kroku dojde k revitalizaci antigenů při teplotě 97°C. Po skončení dané doby se nádoba vyjme z vodní lázně a nechá 20 minut chladnout a preparáty se opláchnou destilovanou vodou. Následně je odstraněna vnitřní peroxidázová aktivita vložением preparátů do 3% peroxidu vodíku na 10 minut. Preparáty se pak vloží na 5 minut do promývacího pufru. Poté jsou vloženy

na 5 minut do antibody diluentu. Následně se vzorek pokryje dostatečným množstvím naředěné primární protilátky a inkubuje při pokojové teplotě 30 minut, po uplynutí doby následuje vložení do promývacího pufru na 5 minut. V následujícím kroku se aplikuje značený polymer v množství dostatečném pro pokrytí preparátu a probíhá inkubace po dobu 30 minut. Po uplynutí této doby se sklíčka nejprve opláchnou pufrovým roztokem a následně vloží na 5 minut do pufrové lázně. Dále probíhá obarvení pomocí substrát – chromogenového roztoku (DAB) po dobu 10 minut, opláchnutí destilovanou vodou. Následuje vložení preparátů na 5 minut do hematoxylinu. Poté se preparáty vloží na 5 minut do vody, kde dochází k modrání jader. Posledním krokem je dehydratace, projasnění a zakrytí permanentním montovacím médiem.

8.3 Postanalytická fáze

8.3.1 Hodnocení hormonálních receptorů

Hodnocena je vždy invazivní složka karcinomu, v případě synchronních vícečetných nádorů s totožnou morfologií je možné vyšetřit pouze jedno ložisko. Pokud je stanoven negativní výsledek, je nutné vždy přihlídnout k vnitřní pozitivní kontrole v řezu. Jestliže je kontrola také negativní, je doporučeno vyšetření opakovat s agresivnějším demaskováním antigenů nebo provést z jiného bloku. V případě, že je výsledek vyšetření opakovaně negativní i ve vnitřní kontrole, hodnotí se jako neinterpretovatelný. Kromě interpretace pozitivní – negativní je nutné vždy uvést % pozitivních jader; práh positivity (cut off) hormonálních receptorů je 1 % pozitivních jader nádorových buněk (Nenutil, 2013).

8.3.2 Hodnocení HER2

Při hodnocení je používáno skóre, které se zakládá na membránové pozitivitě buněk v rozsahu 0 až 3+ (Tab.6) Výsledek 0 a 1+ je považován za negativní. Výsledek 2+ je hraniční a musí být vždy doplněn o vyšetření provedené za pomoci in situ hybridizace (ISH). Skóre 3+ je považováno za silně pozitivní výsledek. Výsledky 2+ a 3+ musí být zaslány k ověření do referenční laboratoře (RL). Dále jsou do RL posílány případy s možným diskordantním fenotypem, což jsou nádory jiné než lobulární, tubulární nebo mucinózní s nízkou až chybějící expresí ER a/nebo PR (Nenutil, 2013).

Tab.6 Hodnocení exprese HER2

0	Žádné či nekompletní slabé barvení membrány u méně než 10 % nádor. buněk
1+	Nekompletní slabé barvení membrány u více než 10 % nádor. buněk
2+	U více než 10 % nádor. buněk je barvení po obvodu membrány nekompletní se střední až silnou intenzitou, nebo kompletní barvení slabé intenzity. Případně kompletní intenzivní barvení membrány u méně než 10 % nádor. buněk.
3+	Kompletní a intenzivní barvení membrány u více než 10 % nádor. buněk

(Nenutil R., Ryška A., Doporučený postup pro zpracování a vyšetření bioptických vzorků prsu, 2013)

8.3.3 *Hodnocení Ki-67*

K hodnocení proliferační aktivity se používá vyjádření procent pozitivních buněk.

9 Výsledky

9.1 Hodnocení punkčních biopsií

Hodnoceno bylo 22 punkčních biopsií prsu (Tab.7), přičemž u každého případu byl stanoven histologický subtyp nádoru. Nejpočetnější skupinu tvořil invazivní karcinom nespeciálního typu (Obr.10), který se vyskytoval v 15 (68,2 %) případech (u 1 případu byla stanovena primární klinická diagnóza inflamatorního karcinomu), invazivní lobulární karcinom (Obr.14) byl diagnostikován ve 4 případech (18,2 %). Atypický medulární karcinom byl zastoupen 2 případy (9,1). Smíšený (invazivní karcinom nespeciálního typu a ILC) karcinom se vyskytoval v 1 případě (4,5 %). U 2 případů (9,1 %) byly nádory dobře diferencované (grade 1), u 12 (54,5 %) středně diferencované (grade 2). U 8 (36,4 %) případů se jednalo o níže diferencované nádory (grade 3). Estrogenové receptory (Obr.11) byly exprimovány u 18 (85,7 %) případů, přičemž exprese u jednotlivých případů byla variabilní od 10-100 % (průměrně 81,9 %). Progesteronové receptory byly exprimovány u 16 (76,2 %) případů v rozmezí 10-90 % (průměrně 38,75 %). Rozsah exprese Ki-67 (Obr.12) byl mezi 2 a 40 % (průměrně 16,3 %). Pro hodnocení exprese HER2 bylo použito skóre 0-3+. Skóre 0 bylo použito u celkem 11 případů, 8 případů odpovídalo skóre 1+. Jeden případ odpovídal skóre 2+. U dvou případů (19 a 21) nebylo vyšetření exprese HER2 provedeno pro nedostatek tumorózní tkáně, přičemž u případu 19 bylo provedeno alespoň vyšetření exprese ER a PR.

Tab. 7 Výsledky punkčních biopsií

Případ	Histol. subtyp nádoru	Expres ER	Expres PR	Expres HER2	Expres Ki-67	Expres E-cadherinu
1	NST	90 %	80 %	0	5 %	++
2	NST	80 %	80 %	0	30 %	++
3	NST	100 %	70 %	1+	10 %	++
4	ILC	100 %	60 %	0	5 %	-
5	NST	100 %	10 %	0	10 %	+
6	NST	50 %	90 %	1+	5 %	++
7	ILC	70 %	40 %	1+	20 %	-
8	NST	100 %	10 %	0	25 %	++
9	AMK	0 %	0 %	0	40 %	++
10	ILC	100 %	0 %	1+	5 %	-
11	NST	60 %	10 %	0	25 %	++
12	NST	0 %	15 %	0	25 %	++
13	SK ¹	100 %/ 100 %	70 %/ 0 %	1+/ 1+	5 %/ 10 %	-/+
14	NST	100 %	0 %	2+	40 %	++
15	NST	10 %	40 %	0	10 %	++
16	ILC	95 %	80 %	0	10 %	-
17	NST	100 %	0 %	1+	30 %	++
18	NST	90 %	90 %	1+	15 %	++
19	NST ²	50 %	10 %	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
20	NST	80 %	30 %	0	2 %	++
21	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
22	AMK	0 %	0 %	1+	25 %	++

Zkratky: NST – invazivní karcinom nespeciálního typu, ILC – invazivní lobulární karcinom, AMK – atypický medulární karcinom, SK – smíšený karcinom

¹ Imunohistochemická exprese byla hodnocena nejprve v ILC a následně NST komponentě

² klinická diagnóza inflamatorní karcinom

9.2 *Hodnocení resekátů*

Hodnoceno bylo celkem 21 resekátů parciální mastektomie (Tab. 8), u každého případu byl znovu stanoven histologický subtyp nádoru. Shodné diagnózy, v porovnání s diagnózou stanovou v punkční biopsii, bylo dosaženo u 20 případů (95 %). Odlišný histologický subtyp byl stanoven v 1 případě, kdy byl v punkční biopsii diagnostikován invazivní karcinom nespeciálního typu a v resekátu metaplastický karcinom (Obr.15). Dále bylo u 9 případů provedeno imunohistochemické vyšetření. Šest případů (4, 6, 7, 11, 15 a 19) bylo použito pro srovnání imunohistochemického barvení prováděného manuálně (případy 4, 6 a 19) a na barvicím automatu Ventana Benchmark (případy 7, 11 a 15). Ve srovnání s výsledky exprese hormonálních receptorů stanovených v punkčních biopsiích bylo u případů 4, 6, 11 dosaženo zcela shodného výsledku. Drobné odchylky byly zaznamenány u případů 15 (v punkční biopsii ER 10 %, PR 40 %; v resekátu ER 30 %, PR 50 %) a 19 (v punkční biopsii PR 10 %; v resekátu 25 %). U případu 7 byly zaznamenány signifikantní rozdíly v expresi jednotlivých markerů v punkční biopsii (ER 70 %, PR 40 %) a resekátu (ER 30 %, PR 0 %). U případu 21 bylo imunohistochemické vyšetření provedeno pouze v resekátu, nelze jej tedy použít pro srovnání. Průměrná exprese ER se téměř nezměnila, u průměrné exprese PR byl zaznamenán minimální nárůst (z 38,5 % na 45,9 %). U případů 12 a 14 bylo v resekátu provedeno vyšetření exprese HER2. Toto vyšetření nebylo provedeno v laboratoři PAO Znojmo, ale v RL, kde bylo imunohistochemické vyšetření navíc doplněno o vyšetření ISH. Výsledek imunohistochemické exprese HER2 u případu 12 byl hodnocen jako skóre 0 (u nás na PAO v punkční biopsii také skóre 0), u případu 14 skóre 1+ (u nás na PAO v punkční biopsii skóre 2+). Při ISH vyšetření nebyla ani u jednoho případu zjištěna amplifikace genu HER2. Dále byl na ISH vyšetření do RL odeslán i případ 19, který byl u nás na PAO v resekátu hodnocen jako 2+ (v punkční biopsii neprovedeno), u kterého taktéž nebyla zjištěna amplifikace genu HER2.

Tab. 8 Výsledky resekátů

Případ	Histol. subtyp nádoru	Expres ER	Expres PR	Expres HER2	Expres Ki-67	Expres E-cadherinu
1	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
2	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
3	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
4	ILC	100 %	60 %	0	5 %	Neprovedeno
5	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
6	NST	50 %	90 %	1+	5 %	Neprovedeno
7	ILC	30 %	0 %	1+	20 %	Neprovedeno
8	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
9	AMK	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
10	ILC	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
11	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	0	Neprovedeno	Neprovedeno
12	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
13	SK	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
14	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
15	NST	30 %	50 %	0	10 %	Neprovedeno
16	ILC	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
17	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
18	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
19	NST ³	50 %	25 %	2+	Neprovedeno	Neprovedeno
20	NST	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno
21	MK	0 %	0 %	0	20 %	Neprovedeno
22	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno	Neprovedeno

Zkratky: NST – invazivní karcinom nespeciálního typu, ILC – invazivní lobulární karcinom, AMK – atypický medulární karcinom, SK – smíšený karcinom, MK – metaplastický karcinom

³ Primární klinická diagnóza inflamatorní karcinom

9.3 Stanovení molekulárních subtypů nádoru prsu

Na základě imunohistochemického vyšetření exprese hormonálních receptorů, HER2 a proliferačního indexu Ki-67 jsme se pokusili o orientační stanovení molekulárních subtypů nádoru prsu (jsme si vědomi, že bez použití metod molekulární genetiky nejsou výsledky validní). Subtyp Luminální A (ER a/nebo PR pozitivní, HER2 negativní, nízké Ki-67, grade <3) byl zastoupen 16 případy (72,7 %), subtyp Luminální B (ER a/nebo PR pozitivní, HER2 negativní, Ki-67 vysoké, grade >1) byl zastoupen 3 případy (13,6 %) a subtyp triple negativní (ER i PR negativní, HER2 negativní) byl zastoupen 3 případy (13,6 %).

10 Diskuze

Před zahájením výzkumné části této práce jsem pracovala se dvěma hypotézami. V rámci první hypotézy jsem předpokládala, že diagnóza stanovená v punkční biopsii se bude shodovat s diagnózou stanovenou v resekátu. Diagnóza byla shodná v 95 % případů. V jednom případě byl v punkční biopsii diagnostikován invazivní karcinom nespeciálního typu a v resekátu byl diagnostikován metaplastický karcinom. Tato hypotéza byla potvrzena pouze částečně.

Shodou diagnózy stanovené v punkční biopsii a resekátu se zabývalo mnoho studií. Jednou z nich byla například studie de Andra de VP et al. (2004). Míra shody se dle publikovaných výsledků pohybovala v rozmezí 66,6-81 %. Z těchto výsledků vyplývá, že histologická subtypizace/klasifikace invazivních nádorů prsu provedená z punkční biopsie by měla být považována za prozatímní. Tyto studie dále uvádějí, že nejčastějším zdrojem odlišné klasifikace jsou heterogenita nádorů a podhodnocení mitotické aktivity.

Dále jsem pracovala s teorií, že při ručním imunohistochemickém barvení dosáhnu téměř stejného výsledku jako při barvení provedeném na barvicím automatu Ventana Benchmark. Tato hypotéza byla potvrzena. Manuálně bylo provedeno imunohistochemické barvení resekovaných materiálů u případů 4, 6 a 19. V případech 4 a 6 bylo dosaženo zcela shodného výsledku jako u punkčních biopsií barvených na barvicím automatu. U případu 19 se vyskytovaly v expresi jednotlivých markerů drobné odchylky. Ty mohou být způsobeny odběrovými artefakty u punkční biopsie či interindividuální variabilitou hodnotících patologů. Opakování imunohistochemického vyšetření v resekátu u případů 7, 11, 15 bylo provedeno na barvicím automatu Ventana Benchmark. U případu 7 byly zaznamenány signifikantní rozdíly v expresi jednotlivých markerů v punkční biopsii (ER 70 %, PR 40 %) a resekátu (ER 30 %, PR 0 %), pravděpodobně z důvodu heterogenní exprese, neboť v punkční biopsii je hodnocena pouze část nádoru, zatímco v resekátu je hodnocen podstatně větší objem nádorové tkáně.

Ve vyšetřovaném souboru byl nejvíce zastoupen invazivní karcinom nespeciálního typu (59,1 %) následovaný invazivním lobulárním karcinomem (18,2 %), atypickým medulárním karcinomem (9,1 %), inflamatorním karcinomem (4,5 %), smíšeným (invazivní karcinom nespeciálního typu a ILC) karcinomem (4,5 %) a metaplastickým karcinomem (4,5 %). Toto zastoupení je ve shodě s literárními údaji.

U smíšeného karcinomu je smíšená morfolgie invazivního karcinomu nespeciálního typu a ILC dle literatury nejčastější. Popisem biologických a klinických charakteristik nádoru prsu s výše popsanou smíšenou morfolgií se zabýval ve své studii Rakha et al. (2009). Tato smíšená morfolgie byla na základě histopatologického vyšetření prokázána u 3,6 % ze 140 případů. Toto procentuální zastoupení přibližně odpovídá námi prezentované studii. Rosen (2014) zdůrazňuje potřebu rozvoje smysluplnější subklasifikace pro tuto heterogenní skupinu nádorů. Jelikož však dosud nebyly zjištěny signifikantní prognostické rozdíly u většiny smíšených histologických subtypů, bývají tyto často klasifikovány jako invazivní karcinom nespeciálního typu.

U všech diagnostikovaných invazivních lobulárních karcinomů byla v naší studii zjištěna absence exprese E-cadherinu. Dle studií, které se zabývaly imunohistochemickou expresí E-cadherinu, je exprese této adhezivní molekuly výrazně redukována až chybějící u většiny případů. Absence imunoreaktivity E-cadherinu u 89 % případů byla zjištěna ve studii Morriongh et al. (2012) a u 90 % případů ve studii Quereshi et al. (2006). Tyto publikované výsledky jsou srovnatelné s výsledky naší studie. Dále jsou dle těchto studií ILC ve většině případů ER pozitivní a HER2 negativní, což se taktéž shoduje s našimi výsledky.

U hodnocení exprese hormonálních receptorů byla dle recentních doporučení použita jako cut-off hodnota 1 % pozitivních nádorových buněk. Tuto cut-off hodnotu doporučují ve svých studiích i Mohsin se spolupracovníky (Mohsin et al., 2004) a Harvey se spolupracovníky (Harvey et al., 1999). Ti navíc tvrdí, že přítomnost ER imunoreaktivity i v méně než 1 % buněk, dokonce i když je slabá, je dostačující k predikci přínosu endokrinní terapie.

Goldstein et al. (2003) se ve své studii zabýval vlivem formalínové fixace na expresi ER. Analyzovali 24 ER silně pozitivních vzorků, které byly fixovány 3, 6, 8 a 12 hodin po dobu 1, 2 a 7 dní. K hodnocení exprese použili semikvantitativní Q skóre 0-7. Po 3 hodinách fixace při demaskování antigenů po dobu 40 minut bylo průměrné skóre 2,46 a po 8 hodinách vzrostlo na 6,70. Při fixaci po dobu 7 dní bylo průměrné Q skóre 6,60. Při demaskování antigenů po dobu 25 minut bylo průměrné skóre po 3 hodinách fixace 1,75 a postupně vzrůstalo s prodlužováním času fixace. Po 10 hodinách fixace byla průměrná hodnota 6,62. Při fixaci po dobu 7 dní skóre kleslo na hodnotu 3,79. Námi zvolený způsob fixace 10% formolem po dobu delší než 8 hodin, výrazně však

nepřesahující 24 hodin při demaskování antigenů po dobu 30 minut se tedy ukázal jako vhodný.

Z hlediska exprese hormonálních receptorů byl nejčastěji zastoupeným imunofenotypem ER+/PR+ (74 %), dále ER+/PR- (26,3 %), ER-/PR-(15,8 %), ER-/PR+ (5,3 %). Námi zjištěné výsledky jsou přibližně srovnatelné s výsledky Stolnicu et al. (2018), přičemž v jejich studii byl druhým nejčastěji zastoupeným imunofenotypem ER-/PR-. Rozdíl může být dán malým počtem případů v naší studii. Ve většině studií je dále uváděno, že v případě chybějící exprese jednoho z hormonálních receptorů je častější fenotyp ER+/PR-, což je v souladu s našimi výsledky.

Proliferační index Ki-67 byl vyšší u špatně diferencovaných a triple negativních nádorů. K tomuto výsledku ve svých studiích došli i Trihia et al. (2003) nebo Pinder et al. (1995). Thor et al. (1999) navíc uvádí, že hodnota Ki-67 je signifikantně vyšší u invazivního karcinomu nespeciálního typu v porovnání s invazivním lobulárním karcinomem.

Při hodnocení exprese HER2 bylo u 2 případů použito skóre 2+, přičemž ani u jednoho z případů nebyla potvrzena overexprese/amplifikace HER2 při vyšetření v referenční laboratoři. Většina studií uvádí, že shoda mezi imunohistochemickým vyšetřením a in situ hybridizací je vyšší než 90 %. To se neshoduje s výsledky naší práce, ke srovnání však nemáme dostatečný počet případů. Jednou z příčin diskordantního výsledku (IHC+/ISH- nebo naopak) může být falešná pozitivita nebo negativita u některé z metod. Dalším důvodem může být inherentní biologický charakter daných nádorů (Ryška, 2012).

11 Závěr

Cílem mé práce bylo obeznámení se s problematikou nádorového onemocnění prsu a sepsání literární rešerše na toto téma. Teoretická část byla rozdělena na dvě části. V první části jsem se zabývala samotným onemocněním, včetně epidemiologie, nejčastějších rizikových faktorů a morfologie jednotlivých patologií mléčné žlázy. Druhá část byla věnována imunohistochemii, její obecné deskripci, dále aplikací imunohistochemie u mammárních neoplázií a významem stanovení prognosticko-prediktivních markerů. Dalším stanoveným cílem bylo prakticky provést rutinní zpracování histologického preparátu (přikrájování, zalití do parafinu, krájení a barvení hematoxylinem-eozinem) a imunohistochemické barvení na barvicím automatu Ventana Benchmark i manuálně. Oba stanovené cíle byly splněny.

Vyšetřovaný soubor zahrnoval 22 případů maligních nádorů prsu. U každého z nich byla provedena punkční biopsie následovaná resekcí u 21 případů. Nejčastějším histologickým subtypem byl invazivní karcinom nespeciálního typu zastoupený 14 případy, následovaný 4 případy invazivního lobulárního karcinomu, 2 atypickým medulárními karcinomy, 1 smíšeným (invazivní karcinom nespeciálního typu a invazivní lobulární karcinom) a 1 metaplastickým karcinomem. Imunohistochemickým vyšetřením byl zjištěna průměrná exprese estrogenových a progesteronových receptorů 80,1 % a 45,9 %. Proliferační index Ki-67 byl exprimován v rozmezí 2-40 %. Žádný z případů nebyl stanoven jako HER2 pozitivní, u 12 případů bylo při hodnocení použito skóre 0, u 10 pak skóre 1+.

Z výsledků této práce vyplývá, že při imunohistochemickém barvení prováděném manuálně a na barvicím automatu Ventana Benchmark je dosaženo téměř shodných výsledků.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ADAIR, F.E. a J.T. MUNGER, 1947. Fat necrosis of the female breast report of 110 cases. *The American Journal of Surgery*. (74), 117-128.
2. AHMED, A., 1974. The myoepithelium in human breast carcinoma. *The Journal of Pathology*. (113), 129-135.
3. ALLINEN ET AL., M., 2004. Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer. *Cancer Cell*. (6), 17-32.
4. ANDERSON ET AL., J.M., 2003. Assessment of Her-2/Neu status by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization in mammary Paget disease and underlying carcinoma. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. (11), 120-124.
5. ANDERSON ET AL., W.F., 2010. Male breast cancer: a population- based comparison with female breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. (28), 232-239.
6. ANDERSON, E., 2002. The role of oestrogen and progesterone receptors in human mammary development and tumorigenesis. *Breast Cancer Research*. (4), 197-201.
7. BECKER, Horst D., 2005. *Chirurgická onkologie*. Praha: Grada. ISBN 80-247-0720-9.
8. BERANOVÁ, Milena a Zbyněk TONAR, 2002. *Principy a příklady imunohistochemie* [online]. Ústav histologie a embryologie LF UK v Plzni [cit. 2019-03-13]. Dostupné z: http://www.lfp.cuni.cz/Histologie/education/guides/ihc_hi_res.pdf
9. BUSTERSON ET AL., B.A., 1982. Distribution of myoepithelial cells and basement membrane proteins in the normal breast and in benign and malignant breast diseases. *Cancer Research*. (42), 4763-4770.
10. CARLSON, H.E., 1980. Gynecomastia. *The New England Journal of Medicine*. (303), 795-799.
11. CARLSSON ET AL., G., 1981. Male breast cancer. *Clinical Oncology*. (7), 149-155.
12. CLARKE, R.B., 2003. Steroid receptors and proliferation in the human breast. *Steroids*. (68), 789-794.

13. CLUNE ET AL., J.E., 2009. Nipple adenoma in infancy. *Journal of Pediatric Surgery*. (44), 2219-2222.
14. ČÍŽKOVÁ, Kateřina, 2018. *Základy histochemických metod* [online]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci [cit. 2019-04-23]. ISBN 9788024453163. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=tOd1DwAAQBAJ&pg=PP1&lpg=PP1&dq=z%C3%A1klady+histochemick%C3%BDch+metod&source=bl&ots=hlv8Vuyfl5&sig=ACfU3U20Ohkrd5SIV1iGHDULDkIzh-h0Eg&hl=cs&sa=X&ved=2ahUKEwjqvM6XsaXhAhVKKVAKHQFDaggQ6AEwAnoECAoQAQ#v=onepage&q=z%C3%A1klady%20histochemick%C3%BDch%20metod&f=false>
15. DABBS, David J., 2010. *Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier. ISBN 978-1-4160-5766-6.
16. DAFYDD ET AL., H., 2011. Redefining gigantomastia. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. (64), 160-163.
17. DALBERG ET AL., K., 2008. Paget's disease of the nipple in a population based cohort. *Breast Cancer Research and Treatment*. (111), 313-319.
18. DAVIES, J.D., 1975. Inflammatory damage to ducts in mammary dysplasia: a cause of duct dilation. *The Journal of Pathology*. (117), 47-54.
19. DECHOLNOKY, T., 1951. Accessory breast tissue in the axilla. *New York State Journal of Medicine*. (5), 2245-2248.
20. DIXON ET AL., J.M., 1982. Infiltrating lobular carcinoma of the breast. *Histopathology*. (6), 149-161.
21. EUSEBI ET AL., V., 1979. Tubular carcinoma: a variant of secretory breast carcinoma. *Histopathology*. (3), 407-419.
22. EUSEBI ET AL., V., 1993. Microglandular adenosis, apocrine adenosis, and tubular carcinoma of the breast. An immunohistochemical comparison. *The American Journal of Surgical Pathology*. (17), 99-109.

23. GARFEIN ET AL., C.F., 1996. Epithelioid cells in myoid hamartoma of the breast: A potential diagnostic pitfall for core biopsies. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. (120), 676-680.
24. GIMONA ET AL., M., 1990. Smooth muscle specific expression of calponin. *FEBS. FEBS Letters*. (274), 159-162.
25. HARVEY ET AL., J.M., 1999. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligandbinding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. (17), 1474–1481.
26. HOOLEY ET AL., R., 1996. Calcifications in axillary lymph nodes caused by fat necrosis. *American Journal of Roentgenology*. (167), 627-628.
27. HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTUŇKOVÁ, 2009. *Základy imunologie*. 4. vyd. Praha: Triton. ISBN 978-80-7387-280-9.
28. CHAUDARY ET AL., M.A., 1986. Paget's disease of the nipple: a ten year review including clinical, pathological, and immunohistochemical findings. *Breast Cancer Research and Treatment*. (8), 139-146.
29. CHOVANEC ET AL., Josef, 2008. Karcinom prsu - aktuální problém. *Interní medicína* [online]. **10**(2) [cit. 2019-01-20]. Dostupné z: https://www.internimedicina.cz/artkey/int-200802-0010_Karcinom_prsu-aktualni_problem.php
30. KHODA ET AL., J., 1992. Management of periareolar abscess and mammillary fistula. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*. (175), 306-308.
31. KLEER ET AL., C.G., 2001. Pathologic, immunohistochemical, and molecular features of benign and malignant phyllodes tumors of the breast. *Modern Pathology*. (14), 185-190.
32. KRAUS, F.T. a R.D. NEUBECKER, 1962. The differential diagnosis of papillary tumors of the breast. *Cancer*. (15), 444-455.
33. KUCHYNKA, Pavel, 2016. *Oční lékařství*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-802-4750-798.
34. KUMARASINGHE, M.P., 1997. Cytology of granulomatous mastitis. *Acta Cytologica*. (41).

35. LACROIX-TRIKI ET AL., M., 2003. Value of cytokeratin 5/6 immunostaining using D5/16 B4 antibody in the spectrum of proliferative intraepithelial lesions of the breast. A comparative study with 34betaE12 antibody. *Virchows Arch.* (442), 548-554.
36. LAKHANI ET AL., Sunil, ed., 2012. *WHO Classification of Tumours of the Breast*. 4th Edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer. ISBN 978-92-832-2433-4.
37. LEWINN, E.B., 1953. Gynecomastia during digitalis therapy; report of eight additional cases with liver-function studies. *The New England Journal of Medicine.* (248), 316-320.
38. LOCHMANOVÁ, Alexandra, 2014. *Základy imunologie: skriptum*. Vyd. 1. Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě. ISBN 978-80-7464-570-9.
39. LUCAS, F.V. a C. PEREZ - MESA, 1978. Inflammatory carcinoma of the breast. *Cancer.* (41), 1595–1605.
40. LUNDELL ET AL., M., 1989. Breast hypoplasia following irradiation of the female breast in infancy and early childhood. *Acta Oncologica.* (28), 519-523.
41. MATHERS, M.E. a J. SHRIMANKAR, 2004. *Lobular neoplasia within a myoid hamartoma of the breast.* (10), 58-59.
42. MEISSNER ET AL., K., 1990. Study of neu-protein expression in mammary Paget's disease with and without underlying breast carcinoma and in extramammary Paget's disease. *Am. The American Journal of Pathology.* (137), 1305-1309.
43. MOHSIN ET AL., S.K., 2004. Progesterone receptor by immunohistochemistry and clinical outcome in breast cancer: a validation study. *Modern Pathology.* (17), 1545-1554.
44. MUŽÍK ET AL., Jan, 2009. Stručný přehled epidemiologie zhoubného novotvaru prsu v České republice. *Onkologie* [online]. 3(1) [cit. 2019-01-12]. Dostupné z: https://www.onkologiecs.cz/artkey/xon-200901-0002_Strucny_prehled_epidemiologie_zhoubneho_novotvaru_prsu_v_Ceske_republ ice.php

45. MUŽÍK ET AL., Jan, 2018. Epidemiologie karcinomu prsu v České republice. *Mamo.cz* [online]. [cit. 2019-01-12]. Dostupné z: <http://www.mamo.cz/index.php?pg=pro-lekare--epidemiologie-karcinomu-prsu>
46. NENUTIL, Rudolf a Aleš RYŠKA, 2013. *Doporučený postup pro zpracování a vyšetření bioptických vzorků prsu* [online]. [cit. 2019-04-23]. Dostupné z: <http://www.patologie.info/standardy/24>
47. NISHIMURA ET AL., R., 2010. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*. (1), 747-754.
48. *Novotvary 2016* [online], 2010. Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR [cit. 2019-01-20]. ISSN:1210-857X. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/katalog/zdravotnicka-statistika/novotvary>
49. OWENS ET AL., M.A., 2004. HER2 amplification ratios by fluorescence in situ hybridization and correlation with immunohistochemistry in a cohort of 6556 breast cancer tissues. *Clinical Breast Cancer*. (5), 63-69.
50. PAIK ET AL., S., 2004. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *The New England Journal of Medicine*. (351), 2817-2826.
51. PAPPOTTI ET AL., M., 1983. Immunohistochemical analysis of benign and malignant papillary lesions of the breast. *The American Journal of Surgical Pathology*. (7), 451-461.
52. PATTERSON ET AL., J.A., 2004. Radial scar, complex sclerosing lesion and risk of breast cancer. Analysis of 175 cases in Northern Ireland. *European Journal of Surgical Oncology*. (30), 1065-1068.
53. PERZIN, K.H. a R. LATTES, 1972. Papillary adenoma of the nipple (florid papillomatosis, adenoma, adenomatosis). A clinicopathologic study. *Cancer*. (29), 996-1009.
54. PETRÁKOVÁ ET AL., Katarína, 2004. *Co by měly ženy vědět o prevenci rakoviny prsu?* [online]. 2. Brno: Masarykův onkologický ústav [cit. 2019-01-20]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/pomoc-v-nemoci/kde-hledat>

informace/publikace-pro-pacienty-a-jejich-blizke/co-by-mely-zeny-vedet-o-prevenci-rakoviny-prsu/

55. PICCART-GEBHART ET AL., M.J., 2005. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *The New England Journal of Medicine*. (353), 1659-1672.
56. POVÝŠIL, Ctibor a Ivo ŠTEINER, 2007. *Speciální patologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén. ISBN 978-80-7262-494-2.
57. PRAUSOVÁ, Jana, 2010. Karcinom prsu - problém i v 21. století. *Interní medicína* [online]. 12(1), 26-32 [cit. 2019-02-06]. Dostupné z: https://www.internimedica.cz/artkey/int-201001-0005_Karcinom_prsu-problem_i_v_21_stoleti.php
58. RABBAN ET AL., J.T., 2006. Solid papillary ductal carcinoma in situ versus usual ductal hyperplasia in the breast: A potentially difficult distinction resolved by cytokeratin 5/6. *Human Pathology*. (37), 787-793.
59. RAHAL ET AL., R.M., 2011. Mammary duct ectasia: an overview. *The Breast Journal*. (17), 694-695.
60. RENSHAW ET AL., A.A., 2001. Atypical ductal hyperplasia in breast core needle biopsies. *American Journal of Clinical Pathology*. (116), 92-96.
61. ROSEN ET AL., P., 2014. *Rosen's breast pathology*. Fourth edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health. ISBN 978-1-4511-7653-7.
62. RYŠKA, A., 2012. HER2 testování v algoritmu cílené léčby trastuzumabem u karcinomu prsu. *Zdravotnictví a medicína*. (4).
63. SAGOT ET AL., P., 1990. Virginal breast hypertrophy at puberty: a case report. *European Journal Of Obstetrics Gynecology And Reproductive Biology*. (34), 289-292.
64. SAPINO ET AL., A., 2006. Estrogen receptor-beta is expressed in stromal cells of fibroadenoma and phyllodes tumors of the breast. *Modern Pathology*. (19), 599-606.
65. SHPITZ ET AL., B., 2002. Immunoreactivity of p53, Ki-67, and c-erbB-2 in phyllodes tumors of the breast in correlation with clinical and morphologic features. *Journal of Surgical Oncology*. (79), 86-92.

66. SHROTRIA, S. a M.W. GHILCHIK, 1994. Axillary accessory breasts: a clinicopathological study of 35 patients with axillary masses. *Breast Disease*. (7), 43-52.
67. SCHWARTZ ET AL., G.F., 1989. Nonpalpable in situ ductal carcinoma of the breast. Predictors of multicentricity and microinvasion and implications for treatment. *Archives of Surgery*. (124), 29-32.
68. SNEIGE ET AL., N., 2001. Low-grade (fibromatosis-like) spindle cell carcinoma of the breast. *The American Journal of Surgical Pathology*. (25), 1009-1016.
69. SOBIN ET AL., L.H., 2011. *TNM Klasifikace zhoubných novotvarů* [online]. 7. Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR [cit. 2019-03-13]. ISBN 978-80-904259-6-5. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/publikace/tnm-klasifikace-zhoubnych-novotvaru-7-vydani-original-2011>
70. SOLIMAN, Nahed A. a Shaimaa M. YUSSIF, 2016. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer molecular subtype. *Cancer Biology & Medicine* [online]. **13**(4), 496–504 [cit. 2019-03-24]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5250608/>
71. STALSBERG, H. a W.H. HARTMANN, 2000. The delimitation of tubular carcinoma of the breast. *Human Pathology*. (31), 601-607.
72. SZCZUROWICZ, A. a A. SZYMULA, 1996. Gravidic macromastia. A problem for the patient and for the doctor. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. (23), 177-180.
73. TANI, E.M. a L. SKOOG, 1988. Immunocytochemical detection of estrogen receptors in mammary Paget cells. *Acta Cytologica*. (32), 825-828.
74. TRIER, W.C., 1965. Complete breast absence. Case report and review of the literature. *Plastic and Reconstructive Surgery*. (36), 430-439.
75. URBAN, J.A. a F.E. ADEIR, 1949. Sclerosing adenosis. *Cancer*. (2), 625-634.
76. VALDES, E.K. a S.M. FELDMAN, 2006. Paget's disease of the breast. *Breast*. (12), 83.
77. WARGOTZ, E.S. a H.J. NORRIS, 1990. Metaplastic carcinomas of the breast: V. Metaplastic carcinoma with osteoclastic giant cells. *Human Pathology*. (21), 1142-1150.

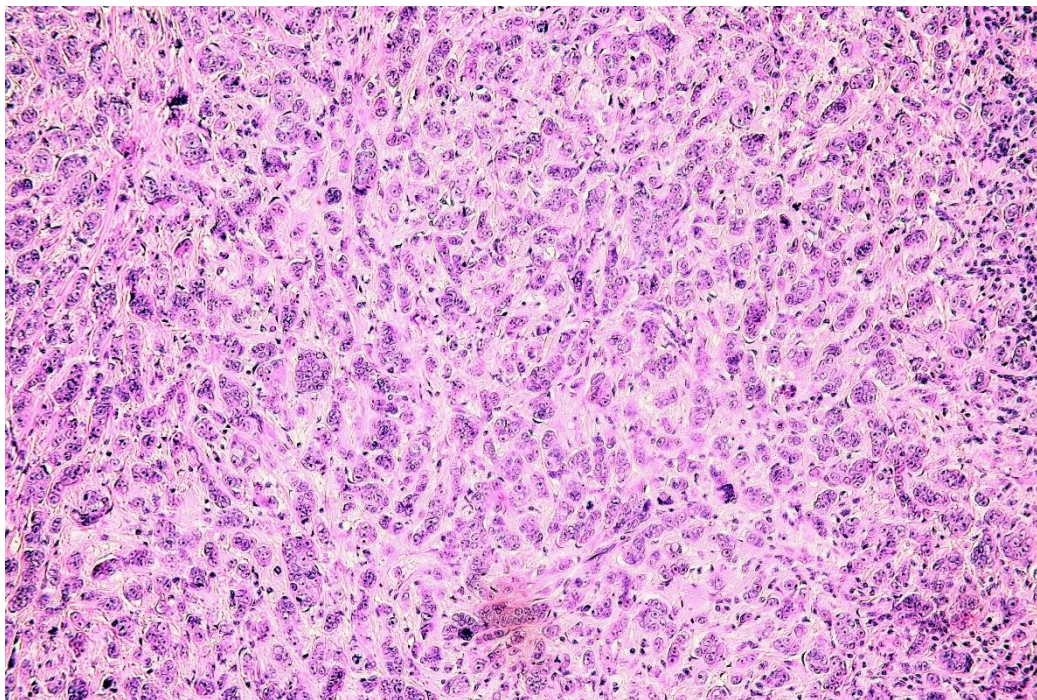
SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr.1 Časový vývoj incidence a mortality zhoubného nádoru prsu u žen (ÚZIS ČR, © 2010-2019).....	18
Obr.2 Výskyt zhoubného nádoru prsu v různých věkových skupinách	19
Obr.3 Vývoj zastoupení různých klinických stádií zhoubného nádoru prsu	20
Obr.4 Schéma přímé metody (Dvořák et al., Základy histopatologických vyšetřovacích metod, 2008, s 79).....	35
Obr.5 Schéma nepřímé dvojstupňové metody (Dvořák et al., Základy histopatologických vyšetřovacích metod, 2008, s 79)	35
Obr.6 Schéma nepřímé trojstupňové metody PAP (Dvořák et al., Základy histopatologických vyšetřovacích metod, 2008, s 80)	36
Obr.7 Schéma nepřímé trojstupňové metody ABC (Dvořák et al., Základy histopatologických vyšetřovacích metod, 2008, s 81)	37
Obr.8 Odvodňovací tkáňový automat (autotechnikon)	46
Obr.9 Barvicí automat Ventana Benchmark	49
Obr.10 Invazivní karcinom nespeciálního typu.	70
Obr.11 Exprese ER ve tkáni invazivního karcinomu nespeciálního typu.	70
Obr.12 Exprese Ki-67 ve tkáni invazivního karcinomu nespeciálního typu.	71
Obr.13 Exprese E-cadherinu ve tkáni invazivního karcinomu nespeciálního typu.	71
Obr.14 Invazivní lobulární karcinom.	72
Obr.15 Atypický medulární karcinom (zvětšeno 400x)	72

SEZNAM TABULEK

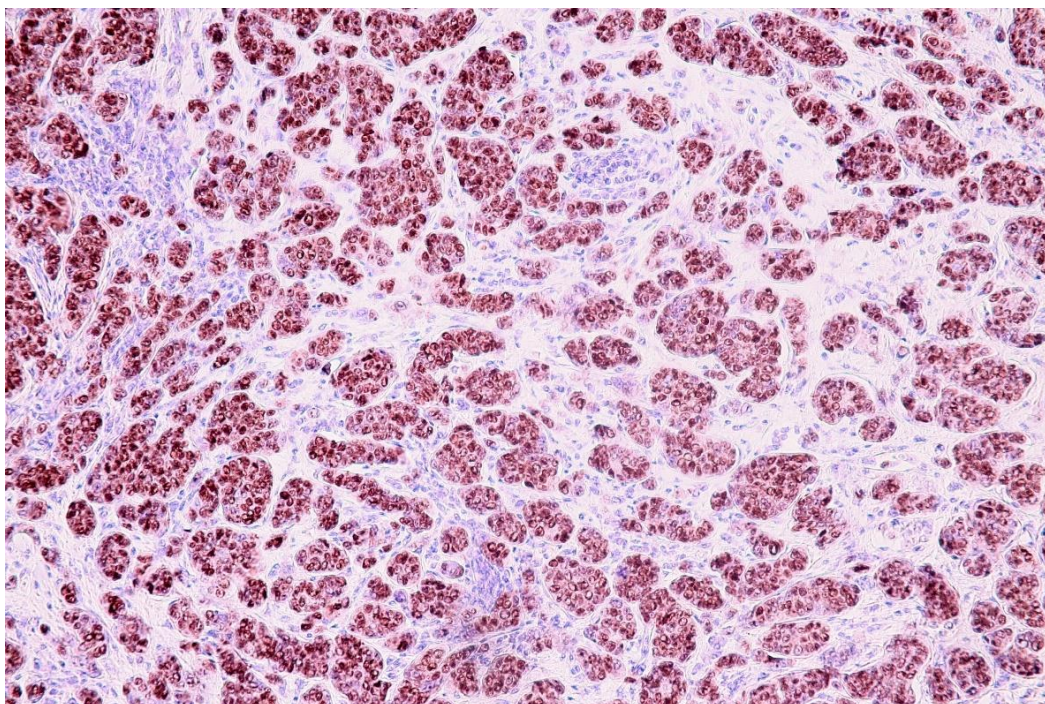
Tab.1 Klasifikace nádorů prsu. Dle současné WHO z roku 2012.	14
Tab.2 Histopatologický grading nádorů prsu	17
Tab.3 Přehled nejvýznamnějších rizikových faktorů	21
Tab.4 Klasifikace nádorů prsu podle exprese prognosticko-prediktivních markerů	40
Tab.5 Použité protilátky	48
Tab.6 Hodnocení exprese HER2.....	51
Tab. 7 Výsledky punkčních biopsií.....	53
Tab. 8 Výsledky resekátů	55

PŘÍLOHY



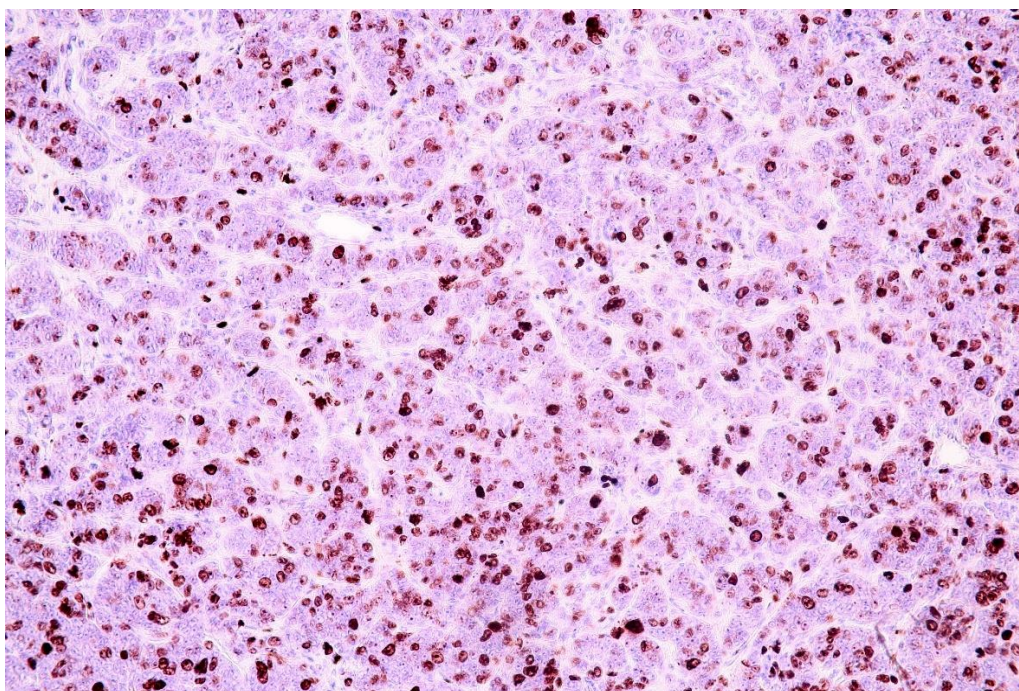
Obr.10 Invazivní karcinom nespeciálního typu.

Solidně rostoucí struktury invazivního karcinomu nespeciálního typu (HE, zvětšeno 200x).



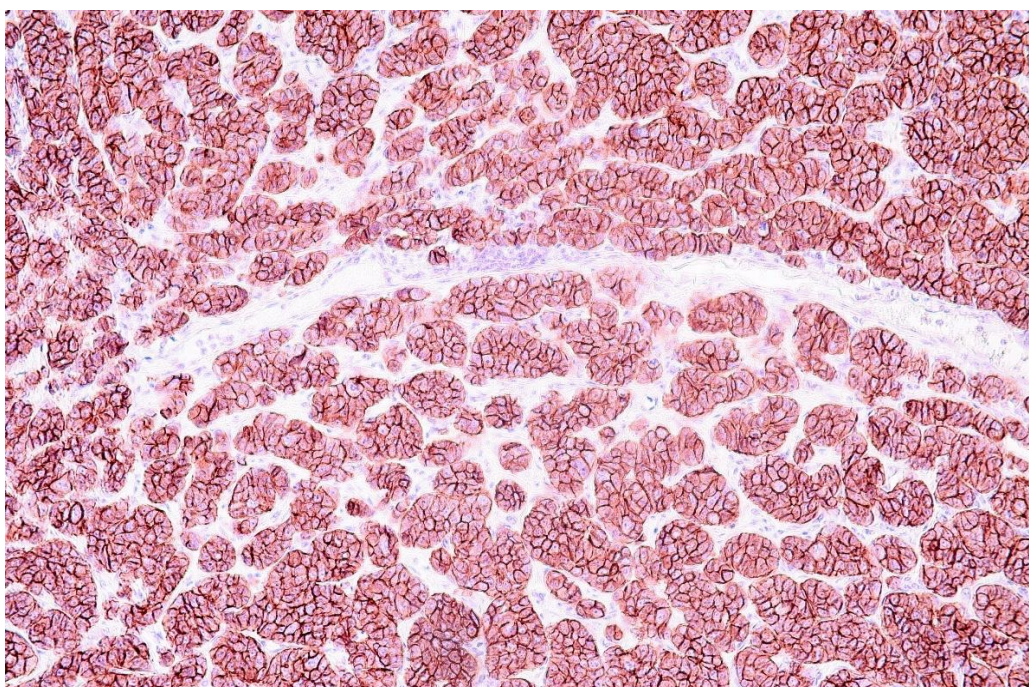
Obr.11 Exprese ER ve tkáni invazivního karcinomu nespeciálního typu.

Jaderná pozitivita ER přibližně v 60 % nádorových buněk (IHC, zvětšeno 200x).



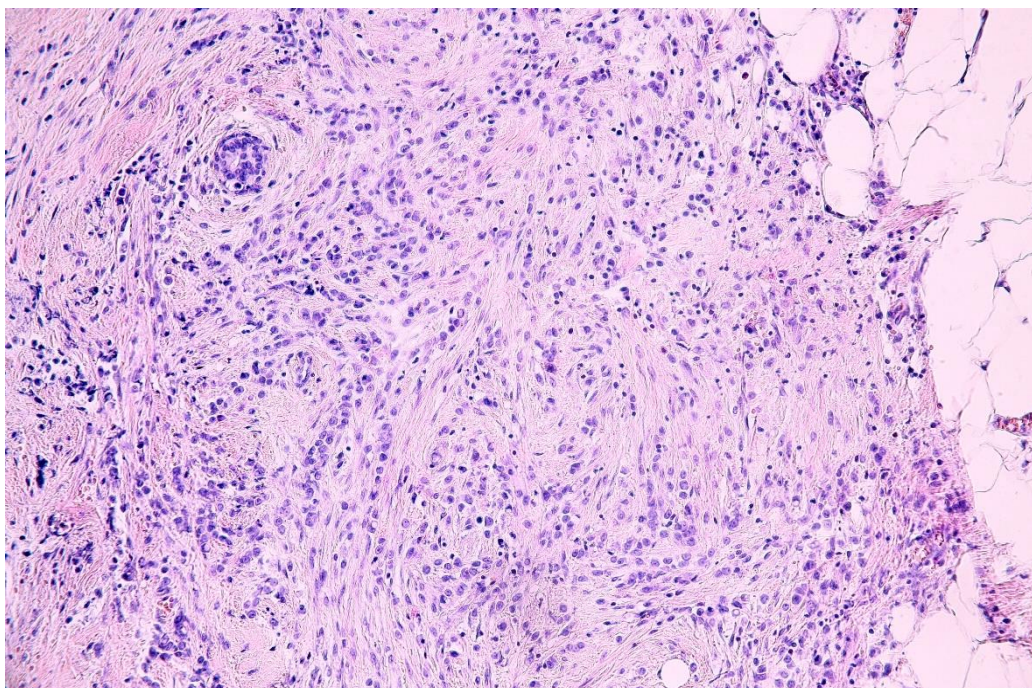
Obr.12 Exprese Ki-67 ve tkáni invazivního karcinomu nespeciálního typu.

Jaderná exprese proliferačního indexu Ki-67 v rozsahu přibližně 20 % nádorových buněk (IHC, zvětšeno 200x).



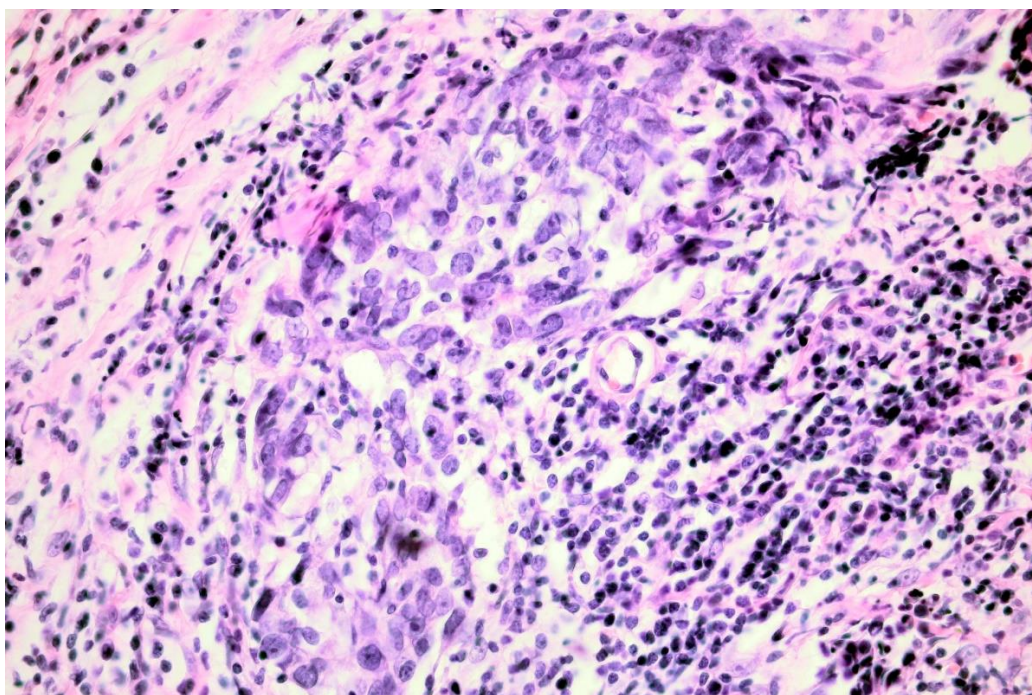
Obr.13 Exprese E-cadherinu ve tkáni invazivního karcinomu nespeciálního typu.

Difuzní membránová pozitivita adhezivní molekuly E-cadherin (IHC, zvětšeno 200x).



Obr.14 Invazivní lobulární karcinom.

Invazivní lobulární karcinom s diskohezivním růstem („indian file“) (HE, zvětšeno 200x).



Obr.15 Atypický medulární karcinom (zvětšeno 400x)

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

WHO	World Health Organization/ Světová zdravotnická organizace
NOR	Národní onkologický registr
ASR-W	Age standardised rates-World/ světový věkový standard
ASR-E	Age standardised rates-Europe/ evropský věkový standard
DCIS	Duktální karcinom in situ
LCIS	Lobulární karcinom in situ
ADH	Atypická duktální hyperplázie
ILC	Invazivní lobulární karcinom
IgA	Imunoglobulin A
IgD	Imunoglobulin D
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
IgE	Imunoglobulin E
PAP	Peroxidáza-antiperoxidáza
ABC	Avidin-biotin komplex
SMA	Smooth muscle actin/ hladkosvalový aktin
HMWK	High molecular weight keratin/ keratin s vysokou molekulovou hmotností
ER	Estrogenový receptor
PR	Progesteronový receptor
DAB	3,3'Diamidobenzidin tetrachlorid
IHC	Imunohistochemie
ISH	In situ hybridizace
CEA	Carcinoembryonic antigen/ karcinoembryonální antigen
RL	Referenční laboratoř

PAO	Patologicko-anatomické oddělení
NIS	Nemocniční informační systém
HRP	Horseradish peroxidase/ křenová peroxidáza
NST	No special type/ nespeciálního typu
Tj.	To je
Tzn.	To znamená
Tzv.	Takzvaně