

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD

Nemocnice Kolín – porovnání histochemických výsledků
estrogenových a progesteronových receptorů v nádorech prsu

Bakalářská práce



Školitel: MUDr. Jiří Hochmann, CSc.

Hradec Králové 2008

Olga Karásková

Poděkování:

Děkuji školiteli MUDr. Jiřímu Hochmannovi, CSc. za všestrannou pomoc při vzniku této práce.

OBSAH

1.	SOUHRN	5
2.	ÚVOD	6
3.	TEORETICKÁ ČÁST	7
3.1.	Karcinom prsu	7
3.2.	Statistické údaje	7
3.3.	Diagnostika	8
3.3.1.	Morfologické dělení nádorů prsu- Klasifikace podle WHO	8
3.3.2.	Staging nádoru	9
3.3.3.	Grading nádoru	9
3.3.4.	Rating nádoru	10
3.4.	Hormonální receptory, Her-2	10
3.4.1.	Estrogenový receptor	10
3.4.2.	Progesteronový receptor	12
3.4.3.	Her-2/neu (c-erbB-2)	12
3.5.	Hormonální léčba	13
3.6.	Vyšetření bioptických vzorků prsu	15
3.7.	Vyšetření hormonálních receptorů	16
3.8.	Vyšetření Her-2/neu (c-erbB-2)	16
4.	PRAKTICKÁ ČÁST	17
4.1.	Imunohistochemická reakce – obecně	17
4.2.	Materiály a reagensy	17
4.2.1.	Primární protilátky	17
4.2.2.	EnVision + Dual Link Systém – HRP (DAB+)	20
4.2.3.	Pufry	20
4.3.	Pracovní postup imunohistochemické metody	21
4.3.1.	Krok za krokem/ testování	21
4.3.2.	Konečná verze pracovního postupu	23
5.	VÝSLEDKY	24
5.1.	Porovnání a optimalizace metod	24
5.1.1.	Hormonální receptory - PR, ER	24
5.1.2.	Expresse onkoproteinu c-erbB-2	25
5.2.	Vyhodnocení pražských výsledků – rok 2003- 2007	27
5.3.	Samostatná kolínská vyšetření – rok 2008	29

6.	DISKUZE	29
6.1.	Období před zaváděním metod v Kolíně	29
6.2.	Zavádění metod v Kolíně	29
6.3.	Nejnovější výsledky v Kolíně	30
6.4.	Obecné poznámky	30
7.	ZÁVĚR	32
8.	PŘÍLOHY	33
9.	SEZNAM ZKRATEK	64
10.	POUŽITÁ LITERATURA, ZDROJE	65

1.SOUHRN

V teoretické části této práce se zabýváme problematikou karcinomu prsu obecně, použili jsme zde i několik statistických údajů vztahujících se ke screeningovému programu. V dalších kapitolách jsme popsali několik diagnostických faktorů, jako je morfologické dělení nádorů prsu podle klasifikace WHO, staging, grading a rating nádorů.

Při diagnostikovaném karcinomu invazivního typu je povinností diagnostikujícího pracoviště provést, popřípadě zajistit, vyšetření hormonálních receptoů a exprese onkoproteinu c-erbB-2. Výsledky těchto vyšetření jsou důležité pro strategii léčby.

Zabýváme se zde vyšetřením hormonálních receptorů z bioptických tkání, uvádíme doporučení jejich zpracování i doporučení vyšetření receptorů a Her-2. Naším hlavním zájmem je vyšetřování nádorové tkáně imunohistochemickou metodou, již se věnujeme v části praktické. Popisujeme jednotlivé kroky reakce a zavedení metody do praxe na oddělení patologie v Oblastní nemocnici Kolín a.s.. Uvádíme výsledky z průběhu testování metody a konečnou verzi postupu, který v současné době používáme.

Velkou část této práce zaujmají výsledky vyšetření exprese progesteronových, estrogenových receptorů, Her-2, která byla provedena u pacientek s diagnostikovaným karcinomem prsu na oddělení patologie v Oblastní nemocnici Kolín, a.s.

Nasbíraná data z let 2003- 2008 jsme zpracovali do tabulek a grafů v různých závislostech(ER na věku, PR na věku, Her-2 na věku a na ER) a výsledky vyhodnotili. Dále jsme graficky zpracovali i testovací vzorky, které jsme použili při zavádění metody. Grafy nám pomohly posoudit úspěšnost výsledků.

V roce 2008 jsme dohledali u nádorů i jejich grade a v grafech porovnali jeho závislost na věku a expresi ER.

2. ÚVOD

Cílem této práce je přiblížit problematiku imunohistochemického vyšetření nádorových markerů u karcinomů prsu, zpracování a vyhodnocení výsledků těchto vyšetření, provedených u pacientek s diagnostikovaným karcinomem prsu v Oblastní nemocnici Kolín, a.s. v letech 2003-2008.

Výsledky vyšetření exprese estrogenových, progesteronových receptorů a Her-2 v letech 2003 - 2007 bylo realizováno v Ústavu patologie VFN a 1. LF UK v Praze, kam jsme tkáňové bloky jako konzultaci v těchto letech zasílali pro málo zkušeností s vyšetřením na našem oddělení. V roce 2007 jsme metodu začali na oddělení patologie v Kolíně testovat a od ledna 2008 zavedli. Nabyté poznatky, zkušenosti a závěry z testování v této práci uvádíme. Práce by mohla proto být přínosem ostatním laboratořím, které uvažují o zavedení vyšetření hormonálních receptorů. Tato práce by mohla posloužit i k zaškolení nových laborantek, které se budou touto metodou vyšetření zabývat. Námi zpracované výsledky mohou také posloužit k mezilaboratornímu porovnání.

Hlavním cílem této práce je porovnání závislosti exprese jednotlivých markerů na věku pacientky a závislost markerů mezi sebou navzájem.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1. KARCINOM PRSU

Karcinom prsu je nejčastějším nádorovým onemocněním u žen a kvůli vysoké incidenci představuje dlouhodobě jednu z nejpřednějších oblastí zájmu v onkologii (Svoboda, 2008).



*Karcinom prsu.
Foto: gynrad.idr.med.uni-erlangen.de*

Obrázek č.1- převzato z: Lékařské listy –/Petružalka, Konopásek, Tesařová/-Hormonální léčba- 2007

3.2. STATISTICKÉ ÚDAJE

V roce 2002 se toto onemocnění zařadilo na 2. místo v celosvětovém počtu nově zjištěných nádorů a nyní ročně postihuje přibližně 1, 2 milionu žen. Ve vyspělých zemích u nich představuje téměř čtvrtinu všech zhoubných onemocnění a přes pokroky v léčbě je stále spojeno s významnou mortalitou.

Česká republika se v tomto ohledu mezi vyspělé země řadí a podle Národního onkologického registru incidence stále narůstá, za což lze částečně děkovat na vysoké úrovni organizovanému screeningu v podobě preventivních mammografií, díky nimž dochází k záchytu vyššího počtu pacientek s nádory neinvazivními, mikrokarcinomy a tumory ve stadiu I oproti dříve nejčastějšímu stadiu II. Podle zveřejněné zprávy se v roce 2006 screeningového programu zúčastnilo 340 408 žen. Celkem bylo od roku 2003 vyšetřeno

833 640 žen ve věku 45- 69 let z celkového přibližného počtu kolem 1 700 000 (Svobodník, Májek, Daneš a kol. 2007).

3.3. DIAGNOSTIKA

Prognóza tohoto typu rakoviny je velmi závislá na tom, v jakém stadiu je nádorový proces zachycen. Nicméně léčení závisí nejen na stadiu, ale i na kvalitě chirurgického zákroku a především na kvalitě diagnostického procesu. Zcela zásadní a nezastupitelnou roli v tomto procesu má určení morfologie nádoru, což je doména patologické anatomie.

Patologie nádorů prsu patří k nejtěžším v lidské patologii. Správná diagnóza závisí nejen na správném zpracování, ale samozřejmě i na kvalitě a zkušenosti odečítajícího patologa (Michal M., 2007).

3.3.1. Morfologické dělení nádorů prsu

Klasifikační systém podle WHO:

Invazivní karcinom prsu

- Invazivní duktální karcinom NOS (not otherwise specified)
- Invazivní lobulární karcinom
- Tubulární karcinom
- Invazivní kribriřformní karcinom
- Medulární karcinom
- Mucin produkující karcinomy
- Neuroendokrinní karcinomy
- Invazivní papilární karcinom
- Invazivní mikropapilární karcinom
- Apokrinní karcinom
- Metaplastický karcinom
- Karcinom bohatý na lipidy
- Sekretorický karcinom
- Onkocytický karcinom
- Adenoidní cystický karcinom
- Acinický karcinom
- Na glykogen bohatý světlobuněčný karcinom
- Sebaceozní karcinom

- Inflamatorní karcinom
- Bilaterální karcinom prsu

Prekurzorové léze

Lobulární neoplazie. Intraduktální proliferativní léze. Mikroinvazivní karcinom. Intraduktální papilární neoplazie.

Ostatní

Benigní epiteliální léze. Myoepiteliální léze. Mezenchymální nádory. Fibroepiteliální nádory. Tumory prsní bradavky. Maligní lymfoma metastatické nádory. Nádory mužského prsu (Fattaneh A. Tavassoli & Peter Devilee, IARC Press, Lyon 2003).

3.3.2. Staging nádoru

Určení stádia léze - TNM klasifikace. Patří mezi prognostické parametry karcinomu prsu. Hodnotícími kritérii jsou velikost nádoru (T), postižení lymfatických uzlin (N), přítomnost vzdálených metastáz (M). Klasifikace je možná pouze tehdy, je-li léze kompletně odstraněna a je jasný vztah k okolním strukturám (Kolář, Nenutil, Ryška, 2006).

3.3.3. Grading nádoru

Jedná se o stupeň diferenciací nádoru, standardně vyjadřovaný hodnotou ze třístupňové škály – grade 1 (dobře diferencovaný), grade 2 (středně diferencovaný), grade 3 (nizce diferencovaný). Grading neinvazivních lobulárních a duktálních neoplasií vychází z doporučení WHO. Grading invazivních duktálních karcinomů je prováděn dle tzv. Nottinghamské klasifikace (systém totožný se systémem publikovaným Elston a Elisem v roce 1991, který je rovněž doporučován WHO) (Kolář, Nenutil, Ryška, 2006), která vychází z kvantifikace a skórování tří morfolozických parametrů, a to tvorby tubulů, jaderné polymorfie a počtu mitóz (bioptická laboratoř s.r.o.2007).

3.3.4. Rating nádoru

Jedná se o stanovení estrogenového receptoru (ER), progesteronového receptoru (PR) a Her-2, je nutné provádět vždy v případě potvrzení diagnózy invazivního karcinomu.

Povinností je vyšetřovat hormonální receptory u všech invazivních karcinomů i u DCIS. Patologicko- anatomická pracoviště, která provedou první diagnózu invazivního karcinomu, jsou zodpovědná za zajištění imunohistochemického vyšetření ER, PR i Her-2, stejně jako za potvrzení 2+pozitivity Her-2 pomocí FISH. V případě, že nemá pracoviště patřičné vybavení či zkušenosti s imunohistochemickou technikou, požádá některé z jiných adekvátně vybavených pracovišť o provedení patřičných vyšetření (Kolář, Nenutil, Ryška, 2006).

3.4. HORMONÁLNÍ RECEPTORY, HER-2

Účinek ovariálních steroidů hraje důležitou roli při růstu a vývoji jak normální, tak i nádorové tkáně mléčné žlázy (Strnad, 2007).

Přibližně 70% karcinomů prsu exprimuje v době diagnózy estrogenové a/nebo progesteronové receptory (Petrásková, Nenutil, Grell, Svoboda, Fabián, Palácová, Vyzula, 2007).

Objev hormonálních receptorů umožnil identifikaci nádorů senzitivních k hormonální léčbě. V dnešní době je již nepředstavitelné zahájit léčbu bez znalosti této základní informace.

Vyšetření exprese hormonálních receptorů je podmínkou zahájení léčby a predikuje odpověď na hormonální terapii. Hormonální manipulace u nádorového onemocnění bez imunohistochemicky prokázané exprese receptorů je neúčinná a zbytečná (Petružalka, Konopásek, Tesařová, 2007).

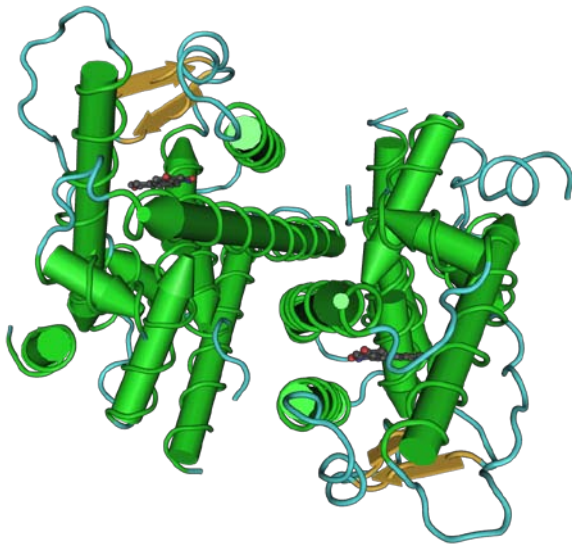
Nízké a střední riziko recidivy je u nádorů s vyšší expresí ER, grade 1-2 a při Her-2 negativitě. Naproti tomu nádory ve skupině vysokého rizika mají nižší expresi ER, vyznačují se nižší diferenciací a často zvýšenou expresí Her-2 (Petružalka, Konopásek, Tesařová, 2007).

3.4.1. Estrogenový receptor

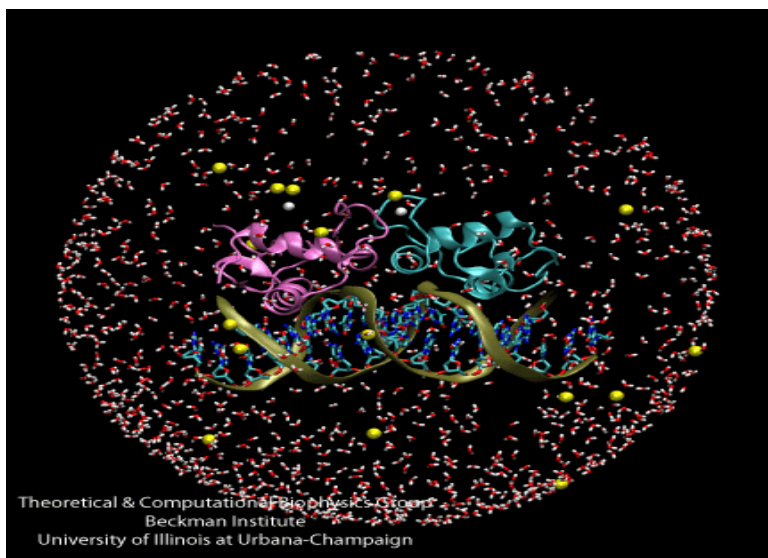
V současné době známe dva druhy estrogenových receptorů: ER α a ER β . I když receptor ER β exprimován nádorovými buňkami karcinomu prsu, nebyla jeho funkce

v normální i nádorové tkáni dosud přesně definována. Naopak receptor ER α je detailně prostudován a slouží jako prediktivní marker pro hormonální léčbu. Patří do skupiny nukleárních receptorů aktivovaných ligandy. Po vstupu do buňky se estrogen naváže na ER, ten se oddělí od heat-shock proteinů, na které je vázán, prostorově se změní, fosforyluje a dimerizuje. Následně se naváže na úseky genů, které v oblasti svých promotorů obsahují úsek závislých na estrogeneru (ERE- estrogen response element). Tím dochází k transkripci genů (Petráková, Nenutil, Grell, Svoboda, Fabián, Palácová, Vyzula, 2007).

Obr.č.3- ER- beta – převzato z: internetové stránky- upload.wikimedia.org



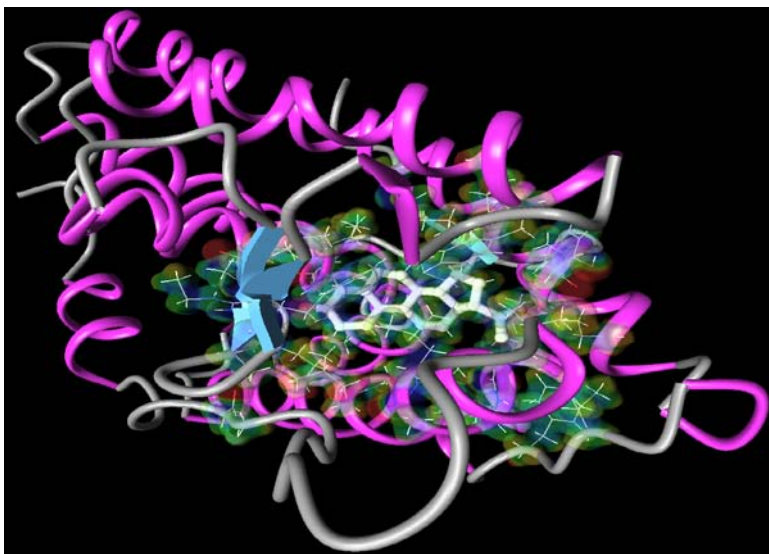
Obr.č.3- ER- převzato z: internetové stránky- www.ks.uiuc.edu



3.4.2. Progesteronový receptor

Za nádory s pozitivními steroidními receptory jsou označovány všechny nádory, které mají pozitivní ER a/nebo PR. Vzhledem k tomu, že promotor genu pro PR obsahuje úsek závislý od estrogenu, měla by exprese PR sloužit i jako marker endokrinní závislosti. Navíc preklinické studie potvrdily, že blokádou funkce PR lze u buněk navodit inhibici proliferace a indukci apoptózy (Petrásková, Nenutil, Grell, Svoboda, Fabián, Palácová, Vyzula, 2007).

Obr.č.4- PR-převzato z: internetové stránky- www.ifh.ee.ethz.ch



3.4.3. Her-2/ Neu (c-erbB-2)

Onkogen Her-2/Neu (human EFG receptor/neuroglioblastoma) byl lokalizován na chromozomu 17q21. Jeho produkt je homologii s proteinem EGFR (epidermal growth factor receptor), který na membránách okolních buněk vytváří receptorová místa pro růstové faktory. Her-2 patří do systému tyrozinkináz. Změny tyroxinkinázové aktivity jsou vázány na progresi buněčného cyklu ve fázi G1/S a mohou hrát roli v procesu maligní transformace.

Amplifikace Her-2 se vyskytuje ve 40% všech vyšetřovaných vzorků karcinomu prsu a nadprodukce (overexpres) jeho onkoproteinu bývá přítomna až v 50% případech. Ve vyšší koncentraci byl Her-2 protein nalezen u metastatických karcinomů a u karcinomů s negativitou ER a PR. Tyto nádory byly charakterizovány častějším postižením lymfatických uzlin, měly kratší interval bez recidivy i dobu přežití, jejich prognóza byla všeobecně horší oproti nádorům bez overexpres c-erbB-2 (Strnad, 2001).

3.5. HORMONÁLNÍ LÉČBA

Estrogeny mohou zprostředkovaně aktivací buněčné signální cesty prostřednictvím specifických jaderných hormonálních receptorů ovlivňovat nádorový růst. Snížení produkce estrogenů lze dosáhnout různými způsoby:

- Ablativně

Odstranění nebo vyřazení funkce orgánu produkujícího estrogeny (chirurgická ovariectomie, radiační ovariectomie, medikamentózní vyřazení funkce vaječnicků)

- Kompetitivní inhibicí

Inhibice přenosu signálů obsazením vazebného místa, nebo degradací receptorových proteinů. Selektivní modulátory ER (antiestrogeny-tamoxifen) vazbou na ER antagonizují jejich funkci. Steroidní „čisté“ antiestrogeny (fulvestran) nejen antagonizují transkripční aktivaci ER, ale způsobují též degradaci receptorů.

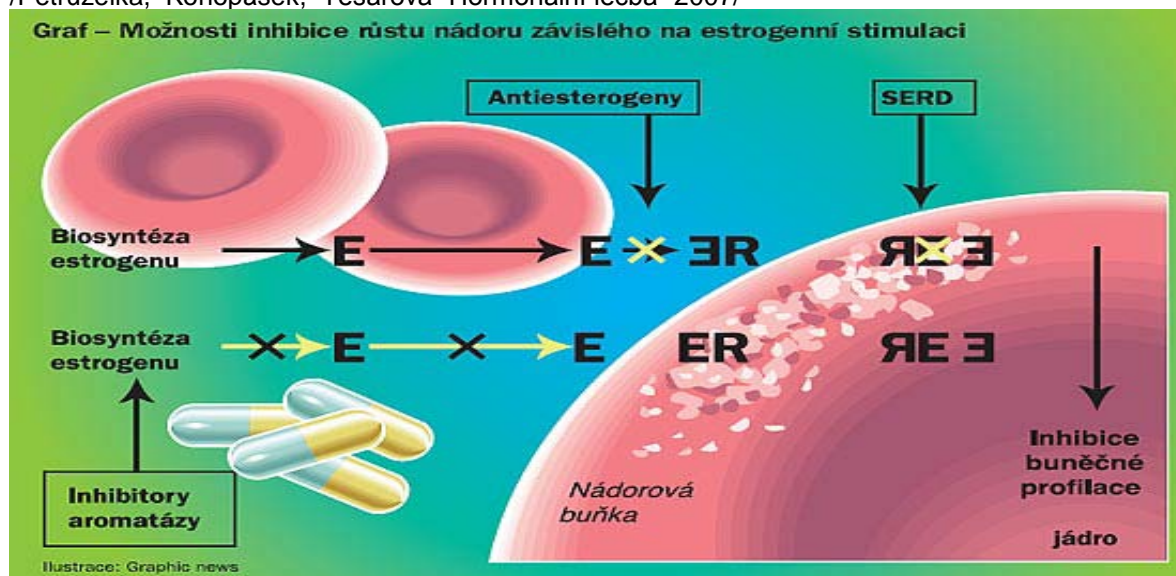
- Inhibicí syntézy estrogenů

Blokádou enzymů zodpovědných za syntézu estrogenů (inhibitory aromatáz- anastrozol, letrozol)

- Aditivní blokádou

Blokádou vazby na hormonální receptory vyššími dávkami gestagenů (megestrol acetát) (Petruželka, 2004).

Obrázek č.5: možnosti inhibice růstu nádoru závislého na estrogenní stimulaci- převzato z: /Petruželka, Konopásek, Tesařová- Hormonální léčba- 2007/



Odpověď na hormonální léčbu je odhadována podle výsledků Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group takto:

75 % u nádorů ER+/ PR+

27 % u nádorů ER+/ PR-

46 % u nádorů ER-/ PR+

11 % u nádorů ER-/ PR-

(Strnad, 2001)

3.6. VYŠETŘENÍ BIOPTICKÝCH VZORKŮ PRSU

Bioptické vzorky prsu jsou odebírány pro určení diagnózy a dalších charakteristik patologické léze v případě nálezu hmatného nebo zobrazovacími metodami prokazatelného ložiska.

ROZDĚLENÍ PODLE ODBĚRU VZORKU

A) Primárně diagnostické

-Punkční biopsie

Jedná se o metodu punkce tlustou jehlou (core-cut), většinou bioptickým „dělem“ (biopsy gun). Získán je váleček tkáně síly jehly, délky až 2cm, ze kterého je již možné provést histopatologický rozbor tkáně. (Strnad, 2001)

Vyhodnocení- histotypizace léze dle WHO, z důvodů zhmoždění je u nádorů někdy obtížné stanovení „grade“, nutný je průkaz a popis kalcifikací. Není-li vzorek podle mínění patologa reprezentativní z hlediska zastižení rentgenology popisované léze, nutno to výslovně uvést.

Stanovení exprese estrogenových a progesteronových receptorů popř. c-erbB-2/Her-2/neu je možné, ale přesnější výsledek je jednoznačně možné dosáhnout až z definitivního vzorku. Proto je doporučováno jejich stanovení provádět jen ve vyjimečných případech, kdy není k dispozici další vzorek získaný radikálnějším výkonem (Kolář, Nenutil, Ryška, 2006) .

- Excizní biopsie

Jedná se o chirurgický výkon směřující k částečnému či úplnému odstranění léze. Je nutné tuší značit resekční okraje (pomocí vatového tamponu).

B) Definitivně diagnostické

- Kvadrantektomie

Jde o resekce částí prsu zaujímající celou oblast léze nebo kvadrantu prsu.

- Mastektomie

Klasifikují se jako jednoduché (bez současné disekce axilárních uzlin), nebo radikální (včetně disekce axily) (Kolář, Nenutil, Ryška, 2006) .

3.7. VYŠETŘENÍ HORMONÁLNÍCH RECEPTORŮ

Doporučený postup

Imunohistochemické vyšetření ER a PR má být prováděno na formalínem fixovaných a parafínem zalitých tkáňových vzorcích všech invazivních karcinomů prsu a jeho recidiv. Možnost detekce může být negativně ovlivněna prodlouženou fixací ve formalínu, případně u objemných vcelku fixovaných resekátů autolýzou.

Při vyhodnocení je třeba vždy uvádět % pozitivních jader. Po dohodě s kliniky lze případně použít i jiný skórovací systém, např. jednoduché H-skóre (procenta pozit. jader x intenzita barvení vyjádřena subjektivně třemi stupni: 1- slabá, 2- střední, 3- silná). Je doporučeno vždy uvést, jaký je rozsah škály možných hodnot výsledného skóre. Morfometrie (určení % pozit. jader) by měla být kalibrována pomocí počítačové obrazové analýzy. Práh positivity ER a PR doporučujeme stanovit na 5 % pozitivních jader nádorových buněk.

Do výsledků je doporučeno zaznamenávat užitou protilátku (Kolář, Nenutil, Ryška, 2006) .

3.8. VYŠETŘENÍ Her-2/neu (c-erbB-2)

Doporučený postup

Imunohistochemické vyšetření slouží k určení nadměrné exprese tohoto proteinu na membránách. Naopak DNA hybridizační vyšetření zjišťuje, zda je zvýšen počet kopií tohoto genu v chromozomech. Protože u většiny karcinomů prsu předchází nadměrné expresi proteinu zmnožení počtu kopií genu pro c-erbB-2, je stanovení amplifikace, prováděné pomocí fluorescenční in situ hybridizace DNA (FISH) na formalínem fixovaných tkáních, velmi silným prediktivním znakem.

K léčbě Herceptinem jsou indikovány pacientky, které jsou imunohistochemicky 3+pozitivní a/nebo FISH pozitivní. K hodnocení positivity imunohistochemie je doporučeno se řídit pravidly výrobce standardizovaného HercepTestu firmy Dako: membránová pozitivita se hodnotí jako 0 až 3+, přičemž stupně 0 a 1+ se považují za negativní výsledek. Výsledek 2+ je hraniční a měl by vždy být validován FISH vyšetřením. Výsledek 3+ je jednoznačně pozitivní (Kolář, Nenutil, Ryška, 2006) .

4. PRAKTICKÁ ČÁST

V roce 2007 jsme začali na oddělení patologie v Kolíně samostatně testovat metodu k imunohistochemickému vyšetření hormonálních receptorů a Her-2.

4.1. IMUNOHISTOCHEMICKÁ REAKCE – obecně

1. odparafínování tkáňových řezů
2. blokování nespecifických a neimunitních vazeb
3. blokování endogenní enzymatické aktivity
4. demaskování epitopů
5. reakce s primární protilátkou
6. reakce se značenou sekundární protilátkou
7. vizualizační reakce pomocí chromogenu
8. dobarvení jader hematoxylinem

4.2. MATERIÁLY A REAGENCIE

4.2.1. Primární protilátky

I. fáze testování

Firma LabVision nám nabídla testovací vzorky protilátek.

- Progesterone Receptor (Clone SP2) - rabbit monoclonal antibody
- Estrogen Receptor (Clone SP1) - rabbit monoclonal antibody
- c-erbB-2/HER-2/neu (Clone SP3) - rabbit monoclonal antibody

Jednalo se o protilátky předředené - Ready To Use, bohužel po několika testech se ukázalo, že tyto protilátky jsou pro naše využití nevhodné. Při opakování vyšetření se výsledky významně rozcházely a pozitivita jevila různý stupeň intenzity. Rozdíly v porovnání s výsledky pražskými byly značné. Konkrétní výsledky v této práci neuvádíme.

II. fáze testování

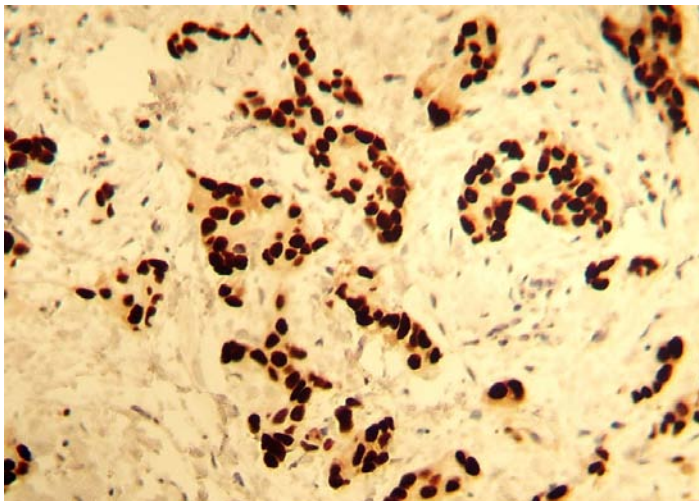
Většina pracovišť k vyšetření receptorů v nádorech prsu využívá protilátek od firmy DakoCytomation , proto jsme pro další testování zvolili právě tyto protilátky. Jejich použití, jak se ukázalo z dosahovaných výsledků u testovacích preparátů, se osvědčilo. V této práci jsme použili výsledky kterých bylo dosaženo pomocí těchto protilátek. Jedná se o všechny kolínské výsledky.

- Monoclonal Mouse Anti- Human Progesterone Receptor

Klon: PgR 636 , Izotyp: IgG, kappa

Monoklonální protilátka, předředená (Ready-To-Use), která slouží k laboratornímu kvalitativnímu průkazu progesteronových receptorů za použití světelné mikroskopie. Tato protilátka reaguje s epitopy PR- A i PR- B.

Obrázek č.6: PR pozitivní reakce, foto: prim. MUDr. Radim Žalud

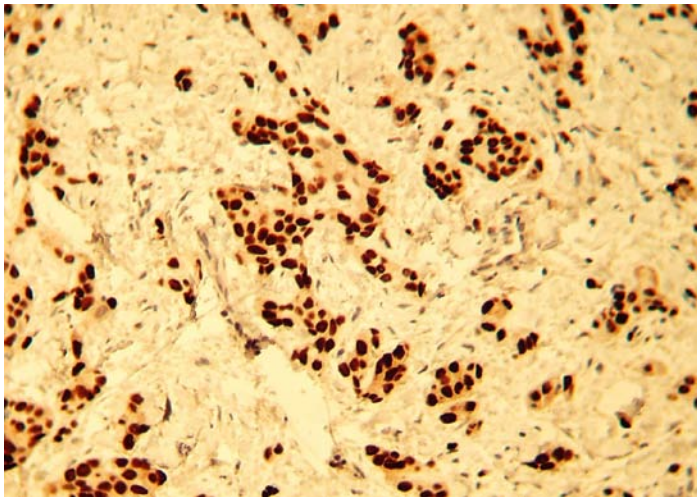


- Monoclonal Mouse Anti- human Estrogen Receptor

Klon: 1D5 , Izotyp: IgG, kappa

Monoklonální protilátka, předředená (Ready-To-Use), která je určena k laboratornímu použití pro semikvantitativní identifikaci epitopu umístěného v N-terminální doméně estrogenového receptoru. Anti- ER, 1D5 však nerozpozná ER β .

Obrázek č.7: ER pozitivní reakce, foto: prim. MUDr. Radim Žalud

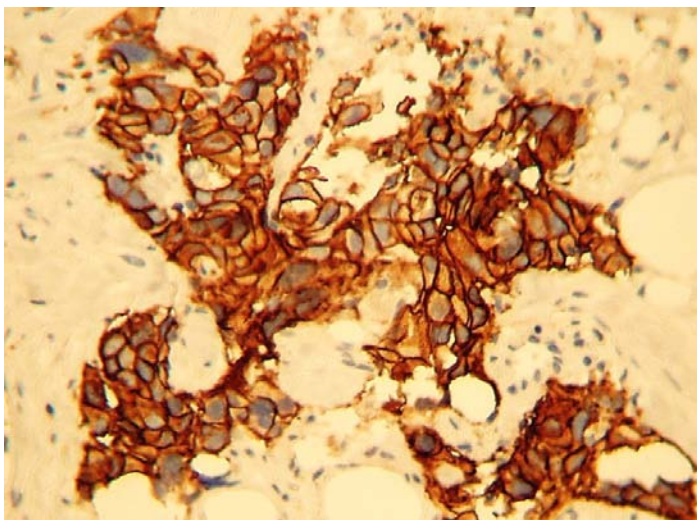


- Polyclonal Rabbit Anti- Human c-erbB-2 Onkoprotein

Polyklonální protilátka, která značí vnitrobuněčnou doménu onkoproteinu c-erbB-2. V imunocytochemii zobrazují buněčné linie karcinomu prsu s expresí onkoproteinu c-erbB-2 očekávanou intenzitu značení buněčných membrán. Protilátka je dodávána v neředěné formě, doporučené ředění v rozmezí 1: 250 - 1: 350.

K ředění používáme DakoCytomation Antibody diluent- Tris-HCl pufr se stabilizačním činidlem, určený k ředění primárních protilátek.

Obrázek č.8: c-erbB-2 – pozitivní reakce 3+, foto: prim. MUDr. Radim Žalud



Informace o protilátkách jsme použili z jejich příbalových letáků.

4.2.2. EnVision+Dual Link Systém- HRP(DAB+)

Jedná se o kit, který je určen pro vizualizaci reakce s primární protilátkou, kterou lze použít myši (mouse) i králíci (rabbit) .

Součástí kitu jsou:

- 1) Dual endogenous enzyme block
0, 3% peroxid vodíku, který obsahuje azid sodný a levamizol.
- 2) Labelled polymer- HRP
polymer značený křenuvou peroxidázou, konjugát imunoglobulinů
v Tris- HCl pufru
- 3) DAB+ substrate buffer
substrátový pufr pH 7, 5 s obsahem peroxidu vodíku
- 4) DAB+ chromogen
roztok 3, 3'- diaminobenzidin chromogenu.

4.2.3. Pufry

Při vyšetření hormonálních receptorů je právě pH jeden z nejdůležitějších faktorů, který je odpovědný za správnost reakce. Mezi jednotlivými kroky používáme k oplachu fosfátový pufr PBS.

PBS pufr- pH 7, 2

příprava: NaCl.....8, 0g

Na₂HPO₄.....2, 9g

KH₂PO₄.....0, 2g

KCl.....0, 2g do 1000ml destil. vody

K demaskování antigenu používáme citrátový pufr pH 6 (Target Retrieval Solution) od firmy DakoCytomation, určený pro vyšetření hormonálních receptorů.

4.3. PRACOVNÍ POSTUP IMUNOHISTOCHEMICKÉ METODY

4.3.1. Krok za krokem/ testování

Imunohistochemické vyšetření se provádí z nádorové tkáně fixované neutrálním formalínem a zalité do parafínových bloků.

Krájí se tenké řezy, které napínáme na podložní sklo. Pro lepší přilnavost tkáňových řezů se nám osvědčilo použití speciálních skel SuperFrost od firmy DakoCytomation.

Před začátkem celé reakce je nutné tkáňové řezy zbavit parafínu pomocí xylenu. Následuje převod z hydrofobního prostředí do prostředí hydrofilního – pomocí alkoholu. Pak následuje hydratace – v destilované vodě. Mezi každým krokem v průběhu celé metody řezy oplachujeme destilovanou vodou a PBS puřrem z důvodu důkladného vymytí nenavázaných složek jednotlivých kroků a tím zabránění falešné positivity a také z důvodu zachování potřebného pH reakce.

Blokování nespecifických vazeb se provádí z důvodu přibarvování pozadí. K vysycení pozadí se nám osvědčila poměrně levná alternativa, kterou jsme se inspirovali v Brně. K blokovaní používáme roztok sušeného mléka s přidavkem azidu sodného. Mléko by nemělo být obohaceno o vitamíny apod.

Blokování endogenní enzymové aktivity. K vyvolání barevné reakce se využívá křenová peroxidáza, většina tkání však přirozeně obsahuje endogenní peroxidázu, která může vyvolat falešnou pozitivitu, proto musíme tento enzym v tkáni blokovat 0, 3% peroxidem vodíku, který je součástí kitu EnVision+Dual Link Systém-HRP.

Demaskování antigeních struktur je velmi citlivý krok reakce a právě zde jsme testovali několik možností. K demaskování, respektive revitalizaci antigeních struktur, dochází během varu v pufru vhodného pH. Vyzkoušeli jsme var v mikrovlné troubě, v citrátovém pufru a zároveň ve stejném pufru ve vodní lázni pro účely imunochemie. Nesrovnatelně lepších výsledků jsme docílili ve vodní lázni. Úskalí mikrovlné trouby je i časté „plavání“ řezů, obzvlášť prsní tkáně, které může znemožnit vyhodnocení reakce. Jednoznačná volba pro naše další testy byla vodní lázeň. Snad jediné mínus ve srovnání s mikrovlnou troubou je čas, použití vodní lázně- 40 min. , mikrovlná trouba- 10 min. . Důležitou roli v tomto kroku hraje použitý pufr a jeho pH. Používáme pufr pro hormonální receptory doporučený firmou Dako, Target Retrieval Solution pH6.

Reakce s primární protilátkou je hlavní bod reakce. V několika testech jsme vyzkoušeli protilátky firmy LabVision, které se ukázali jako zcela nevhodné. Přistoupili jsme k testování protilátek firmy DakoCytomation. Protilátky anti-PR a ER jsou dodávány v naředěné formě-Ready-To-Use. Protilátka anti-c-erbB-2 je v koncentrované formě a je nutné ji před použitím naředit. Doporučené ředění 1: 250-1: 350. Pro vysokou citlivost jsme zvolili ředění vyšší 1: 400. Dalším zájmem bylo zvolit vhodnou dobu inkubace s primární protilátkou. Testovali jsme doporučených 30 min. při pokojové teplotě a inkubaci 24h v lednici(4°C).

U PR a ER jsme dosahovali lepších a přesnějších výsledků při 24hod inkubaci, naopak c-erbB-2 při inkubaci 30 min. . Při inkubaci 24h u c-erbB-2 docházelo k přebarvení a hrozilo nadhodnocení výsledků. Zvolili jsme inkubaci 30 min. u c-erbB-2 a 24h u PR a ER.

Navázání sekundární protilátky značené křenovou peroxidázou (Labelled polymer-HRP), umožní reakci chromogenu za vzniku barevné reakce. Sekundární protilátka i chromogen jsou součástí kitu.

Dobarvení okolních struktur a jader pro lepší orientaci v řezu při hodnocení Gillovým hematoxylinem. Odvodnění, projasnění a montování, vyhodnocení pomocí světelné mikroskopie.

4.3.2. Konečná verze pracovního postupu

1. odparafínování- xylén (3x 5´) → 96 % alkohol (3x 5´)
→ oplach d. H₂O, PBS
2. blokování pozadí- 1 % roztok sušeného mléka.....30´
→ oplach d. H₂O, PBS
3. Dual endogenous enzyme block (kit)..... 10- 15´
→ oplach d. H₂O, PBS
4. demaskování antigenu - citrátový pufr pH 6
vodní lázeň/ 98°C..... 40´
→ chlazení.....30´
→ oplach d. H₂O, PBS
5. inkubace s primární protilátkou- PR, ER.....24h/ 4°C
-c-erbB-2 (1: 400).....30´/ pokojová teplota
→ oplach d. H₂O, PBS
6. Labelled Polymer- HRP (kit).....30´
→ oplach d. H₂O, PBS
7. chromogen.....10- 15´
(1ml DAB⁺ substrate buffer+ 1kapka DAB+ chromogen)
→ oplach pramenitou vodou
8. dobarvení jader Gillovým hematoxylinem.....5´
→ modránání v pramenité vodě, oplach d. H₂O
9. odvodnění (alkohol 96 %) → projasnění (xylén) → montování (solakryl- montovací medium)

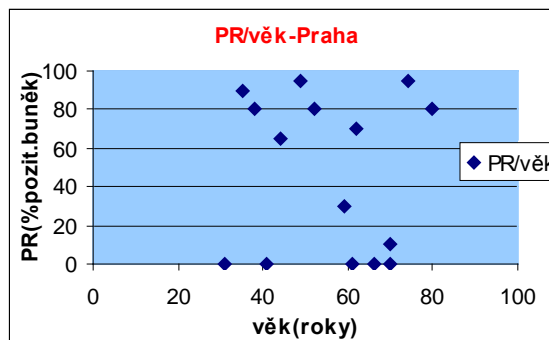
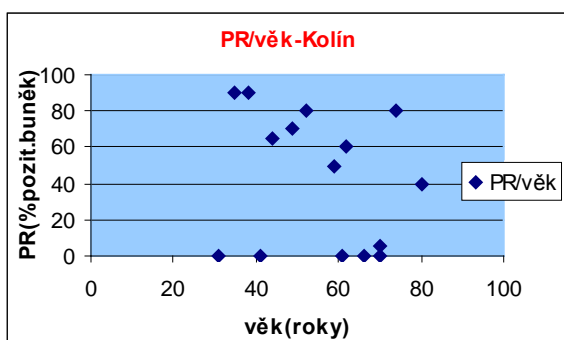
5. VÝSLEDKY

Porovnali jsme výsledky testovaných preparátů vyšetřovaných duplicitně na patologii v Praze a v Kolíně. Pro porovnání jsme zvolili grafickou závislost markerů na věku pacientek.

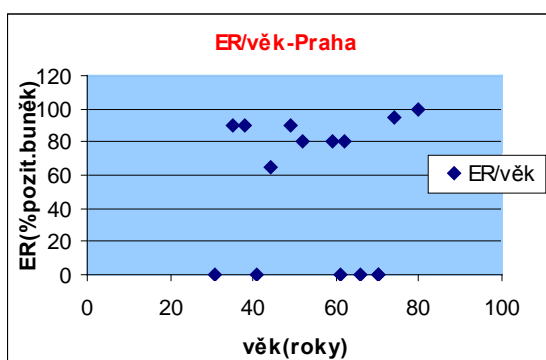
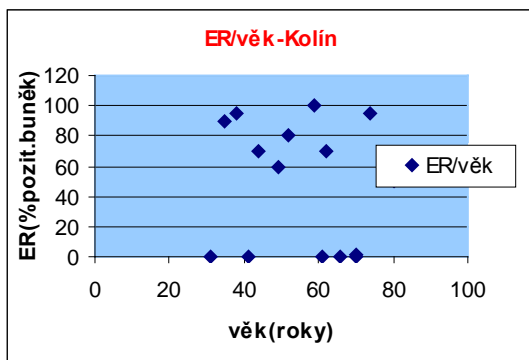
5.1. POROVNÁNÍ A OPTIMALIZACE METOD

5.1.1. Hormonální receptory- PR, ER

Progesteronové receptory v závislosti na věku



Estrogenové receptory v závislosti na věku



V případě PR jsme nezaznamenali žádné významné rozdíly. Vyšetřené hodnoty na patologii v Kolíně se téměř shodují s výsledky z Prahy. Tím je ovšem míněno, že v žádném případě v kolínských preparátech nešlo o vznik negativity tam, kde pražský výsledek byl pozitivní (ať rozhraní pro pozitivitu je 5 nebo 15 %). A nádory negativní v pražské laboratoři byly negativní i v kolínské laboratoři.

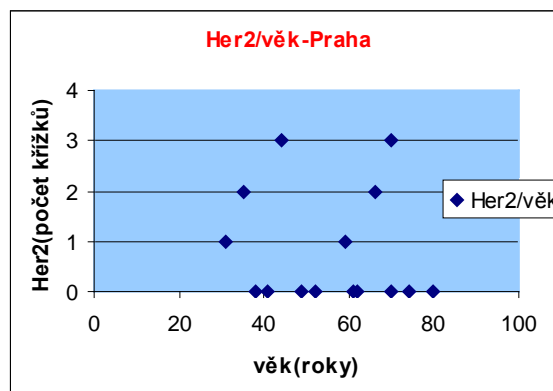
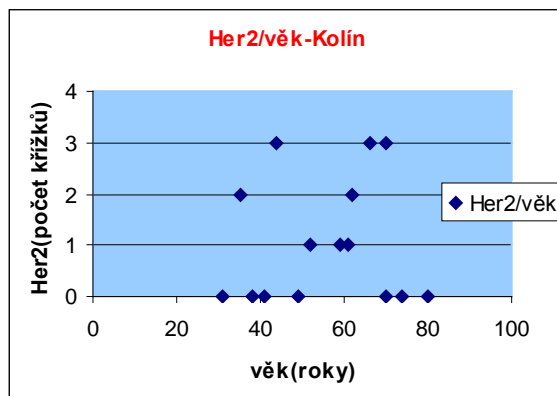
U pacientek PR+ se u pražských výsledků množství pozitivních buněk pohybuje kolem střední hodnoty 80 %. U kolínských pacientek je tato střední hodnota nebo průměrná

hodnota jen nepatrně nižší. Ale některá pacientka má pražský výsledek odlišný od kolínského výsledku i o 30 %.

Jednou je vyšší výsledek v Kolíně, jindy naopak. Z uvedených důvodů je možno říci, že z hlediska kvantity se pozitivita PR v nádoru liší – místo od místa – nezávisle na tom, která laboratoř tkáň zpracovala, neboť i rozptyl kolem střední hodnoty je přibližně stejný.

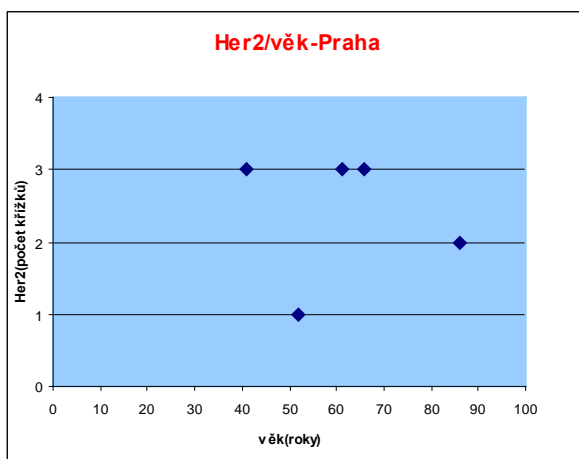
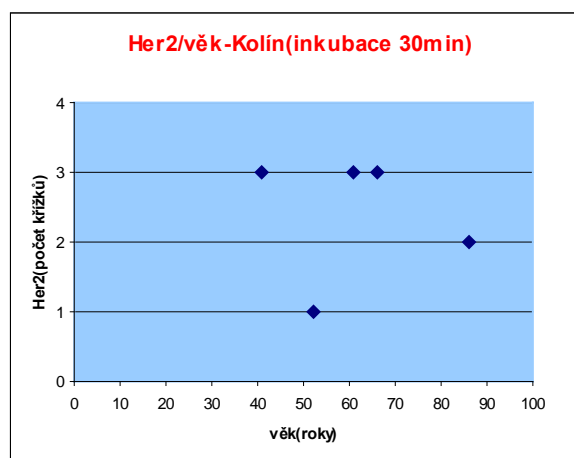
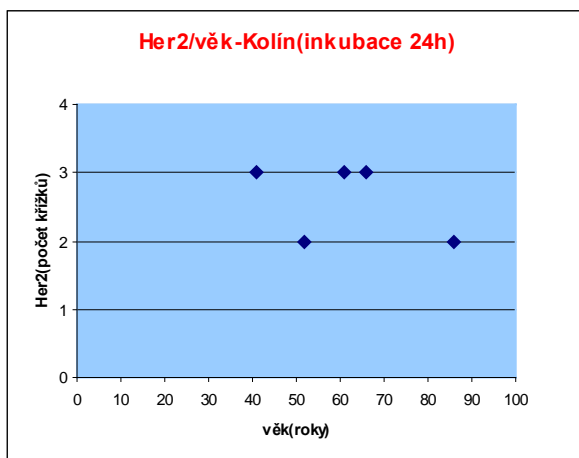
Ani v případě ER jsme žádné rozhodující rozdíly nepozorovali (respektive – v žádném případě v kolínských preparátech nešlo o vznik negativity tam, kde pražský výsledek byl pozitivní a podobně). Jen u pacientky č.6 (viz tabulka č.14 v příloze) se výsledky více rozcházejí, ovšem tato rozdílnost není pro pacientku nijak rozhodující z hlediska její positivity či negativity. Jen rozdíl v síle positivity je u ní nadměrný (v Praze 100 % a v Kolíně 50 %). Ostatní kolínské výsledky ER jsou ale v průměru jen o málo nižší než pražské, takže uvedený rozdíl jedné pacientky by mohl být způsoben také především variabilitou uvnitř nádoru a jen z části způsoben nižší citlivostí metodiky v Kolíně.

5.1.2. Expresí onkoproteinu c-erbB-2



Zde jsme zaznamenali jeden významný rozdíl u pacientky č.2 (viz příloha, tabulka č.14), kdy jsme hodnotili expresi c-erbB-2 jako 2+, naproti tomu v Praze hodnotili expresi jako negativní. Protože se jednalo o jednu z prvních hodnocených pacientek, lze vysvětlit tento rozdíl ještě malou zkušeností s metodou i vyhodnocením. Ostatní výsledky se v podstatě shodují. Avšak z grafu je vidět, že počet pražských pozitivních výsledků je i tak menší než u kolínských.

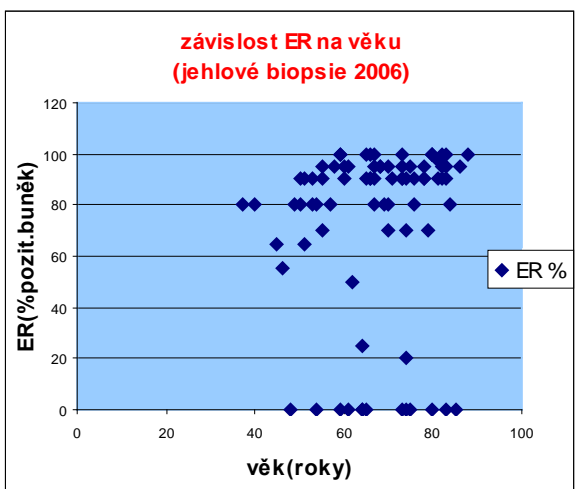
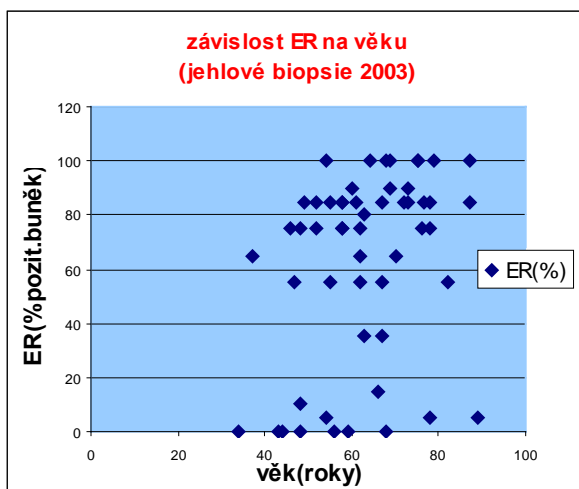
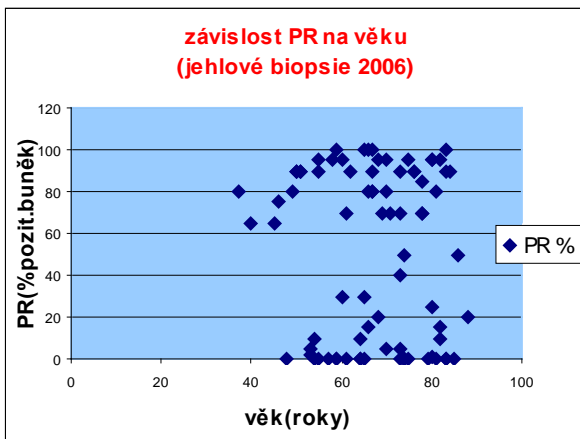
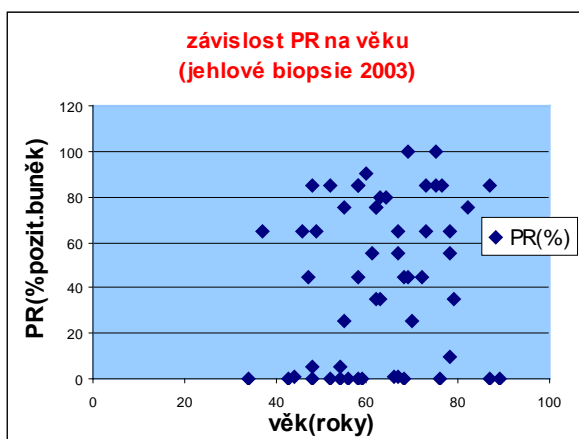
Dále jsme vyšetřovali malý počet pacientek jen na expresi c-erbB-2 s inkubací 30 min. a 24h.



U naší 30ti minutové inkubace se výsledky naprosto shodují s pražskými výsledky u inkubace 24h je jeden výsledek nadhodnocen. Je to způsobeno příliš dlouhou inkubací s primární protilátkou, reakce je příliš silná a může potom dojít ke zkreslení výsledků.

5.2. VYHODNOCENÍ PRAŽSKÝCH VÝSLEDKŮ – ROK 2003 - 2007

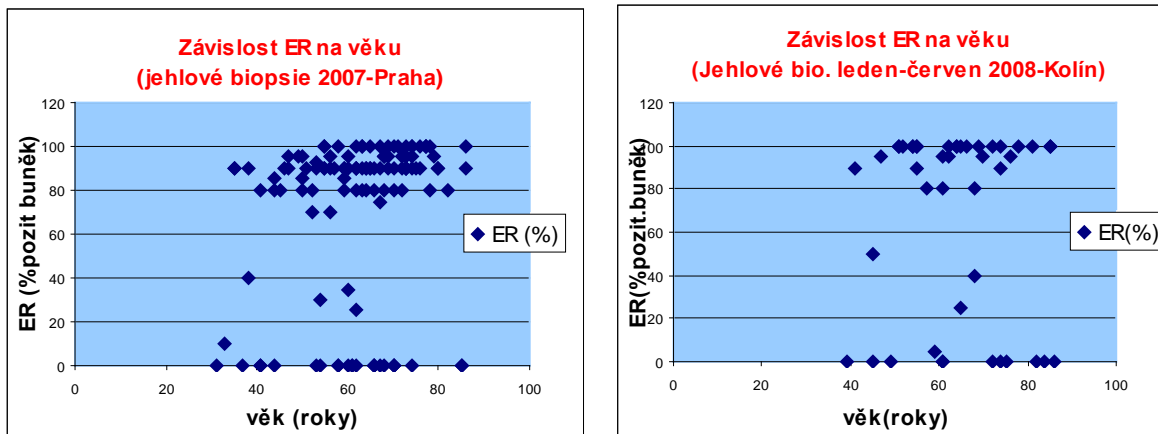
Naměřené hodnoty se ve všech letech zhruba shodují, s tím, že některé rozdíly mezi jednotlivými roky nejsou při tomto grafickém zpracování zřetelné. Rok 2003 se však velmi nápadně vymyká standardu ostatních let, reprezentovanému zde rokem 2006. Hodnoty (především PR) v roce 2003 jsou více rozptýlené, dosahují častěji středních hodnot ve srovnání s lety následujícími, kde pozorujeme největší zastoupení hodnot vysokých, nebo naopak velmi nízkých, respektive negativních. Avšak procento negativních jsme nevyočítávali. Obdobně je možno hovořit o ER. Jak u ER tak u PR je u mladších pozitivních pacientek z r. 2006 vidět věkový nárůst jejich positivity.



5.3. SAMOSTATNÁ KOLÍNSKÁ VYŠETŘENÍ - ROK 2008

Výsledky vzniklé v tomto roce byly vyšetřovány již jen v Kolíně. V porovnání s výsledky vyšetřeními v Praze v letech 2003 - 2007 nijak významně nevybočují. Respektive – jako nejsprávnější jsme v následujících grafech uvedli porovnání roku 2008 s rokem 2007 – u ER. Výsledky jsou nahloučené především v horní části pole grafu.

porovnání ER vyšetřených v Praze- r. 2007 a v Kolíně- r. 2008



U malého počtu karcinomů diagnostikovaných v roce 2008 a zároveň již vyšetřovaných jen na našem oddělení jsme dohledali ještě typ a grade nádoru. Ten jsme porovnali s věkem pacientky a také s hodnotou ER (% pozit. buněk). Zatímco závislost GRADEu na věku se také z našich výsledků nijak neprokázala (graf č.74 viz příloha), určitou závislost ER (% pozit. buněk) na GRADEu pozorovat lze. Pacientky s nádorem G1 mají ER pozitivní v rozmezí 80 - 100 % buněk. G2 dosahují hodnot ER vysokých i nízkých. Pacientky s nádory G3 vykazují většinou ER negativní, vyšší hodnoty jsou jen ojedinělé (graf č. 73 viz příloha).

6. DISKUZE

6.1. OBDOBÍ PŘED ZAVÁDĚNÍM METOD V KOLÍNĚ

Za časové období r. 2003 - 2008 jsme nasbírali velký objem dat, která jsme se pokusili co nejprehledněji zpracovat do tabulek (viz přílohy). Tyto výsledky našich pacientek vyšetřené v Praze jsme uspořádali a předložili ve formě tabulek, které jsou vhodné pro následné zpracování z různých hledisek. Avšak vymykalo by se rozsahu této práce provést dokonale statistické studie, které by mohly na to navazovat.

Naměřené hodnoty hormonálních receptorů a exprese c-erbB-2 jsme alespoň graficky zpracovali v různých závislostech. Sledovali jsme závislosti ER na věku pacientky, PR na věku pacientky, Her-2 na věku pacientky a ER na Her-2 (viz příloha).

Je možno poukázat, že ani výsledky velmi zkušeného pracoviště nejsou ušetřeny výkyvů např. v kvalitě protilátek a ostatních reagensů. Mezi výsledky v jednotlivých letech jsou rozdíly viditelné i v našich grafech – tedy i bez přesného statistického přístupu.

Z toho vyplývá, že i v průběhu dalších let, kdy budeme již vyšetřovat steroidní receptory sami, musíme počítat s tím, že standardnost našich výsledků bude neustále ohrožená. Právě možnost zpětné kontroly výsledků naznačené v této bakalářské práci, ale i analogická možnost takovéto průběžné kontroly prováděné laborantkou by mohla některým nepřesnostem zabránit.

Pokud jsou např. pražské výsledky v jednom roce nápadně nižší – jak u ER tak současně i u PR, mohla by být na vině sekundární protilátka nebo vybarvovací reakce. Zlomek ER/ PR u podezřelé skupiny pacientek by se v takovém případě např. ve svém průměru nelišil od několikaletého standardu.

6.2. ZAVÁDĚNÍ METOD V KOLÍNĚ

Velmi užitečné závěry lze učinit při porovnávání pražských a kolínských preparátů od stejných pacientek. Jestliže obě laboratoře dávají v průměru stejné výsledky, pak různé tkáňové bločky od stejné pacientky by daly rozdílný výsledek i kdyby byly vyšetřeny ve stejné laboratoři.

Vzhledem k tomu, jak se pozitivita PR v nádoru z hlediska kvantity liší – místo od místa – nezávisle na tom, která laboratoř tkáň zpracovala – je možno považovat imunohistochemické vyšetření nádorů pouze za kvalitativní. To je v souladu s tím, jak jsou obecně tyto výsledky interpretovány. Totéž lze říci i o ER.

Ale výsledky tohoto porovnávacího vyšetření ER i PR byly z hlediska kvantitativního v Kolíně poněkud nižší než v Praze. Proto úsilí kolínské laboratoře spěje průběžně k tomu, Analogická situace se týká výsledků vyšetření HER-2. Ale výsledky HER-2 byly v době zavádění metod v Kolíně naopak trochu vyšší než v Praze. Tam již byla v případech kolínských pacientek použita kratší inkubační doba s primární protilátkou. Pokud by se ukazovalo, že citlivost je v Kolíně stále nápadně vyšší než v Praze, nebude problém dále upravovat inkubační podmínky a podobně. Metodiku je tedy možno považovat za zavedenou.

6.3. NEJNOVĚJŠÍ VÝSLEDKY V KOLÍNĚ

Tím, že kolínské výsledky z r. 2008 se při našem grafickém porovnání v principu neliší od pražských výsledků z r. 2007, zde dokumentujeme, že metodu jsme zavedli zodpovědně a že klinici se na naše výsledky mohou spolehnout. Tím však není řečeno, že není potřeba i v budoucnosti naše výsledky kontrolovat. Za velmi nebezpečné v tomto směru považujeme nestandardnost kvality komerčních imunohistochemických protilátek. Podali jsme ovšem důkazy, že je v našich silách tyto problémy průběžně řešit.

Porovnání histologického stupně nádorů (GRADE) v závislosti na ER, které jsme provedli v rámci (už jenom našich – kolínských) výsledků reprezentuje další přístup ke kontrole našich výsledků – směřující k jejich porovnání s mezinárodní odbornou literaturou.

Pokud by byly receptory naměřeny chybně, vyšla by místo studované závislosti naprostá nezávislost. Avšak bylo by již nad rámec časových možností bakalářské práce pokusit se o spolehlivý průkaz této závislosti pomocí většího počtu pacientek (dostatečného ze statistického hlediska). Vše, co bylo v tomto směru řečeno se týká i např. porovnání věkového nárůstu ER s literaturou.

6.4. OBECNÉ POZNÁMKY

Z tabulek a grafů vyplývá, že průměrný věk pacientek s diagnostikovaným karcinomem prsu se pohybuje kolem 63. roku. Další poznatek který z tabulek vyplývá je nárůst počtu pacientek s diagnostikovaným nádorem prsu. V roce 2003 se hormonální receptory vyšetřovaly u 70ti pacientek, v letech 2004 - 2006 byl počet shodně 90. V roce 2007 počet pacientek vyšetřovaných na hormonální receptory prudce vzrostl, téměř na 140. V roce 2008 bylo od ledna do června vyšetřeno již 60 pacientek. Tento nárůst je pravděpodobně částečně i důsledkem screeningu v podobě preventivní mammografie, který využívá stále větší počet žen.

Dále jsme zjistili, že vyšetření hormonálních receptorů je velmi citlivá metoda a spolehlivost výsledků značně závisí nejen na zvolených protilátkách, ale důležitou roli hraje i pH při kterém reakce probíhá. pH používaných pufrů může být pozměněno vlivem teploty a reakce tím může být ovlivněna a výsledky potom zkreslené, nebo dokonce nesprávné. Dnešní trend proto směřuje k plně klimatizovaným laboratořím ve kterých se vyšetření receptorů provádí.

Z tabulek je také zřejmé, že na našem oddělení se hormonální receptory vyšetřují převážně z jehlových biopsií. V teoretické části sice uvádíme, že tento postup není dle doporučení zpracování bioptických vzorků prsu zcela standardní, naše zkušenosti jsou však jiné. Z mammografického centra dostáváme zcela reprezentativní vzorky tkáně s nádorem, proto je možné vyšetření z punkcí běžně provádět, přesvědčili jsme se, že výsledky z punkcí s výsledky z definitivní excize korelují.

Vyšetření PR, ER i Her-2 provedená z jehlových biopsií, mají i pozitivní dopad pro pacientku, které na základě těchto výsledků může být onkologem mnohem dříve nasazena hormonální terapie. Avšak, pokud (v průběhu léčby např. tamoxifenem) bude následovat operační excize karcinomu bude nutno důrazně informovali histochemickou laboratoř, že předoperační hormonální léčba by mohla arteficiálně změnit výsledek imunohistochemického vyšetření operační biopsie.

7. ZÁVĚR

Zpracovali jsme hodnoty získané z vyšetření hormonálních receptorů a exprese onkoproteinu c-erbB-2, u pacientek s diagnostikovaným karcinomem prsu v letech 2003-2008 na oddělení patologie Oblastní nemocnice Kolín a.s. do tabulek a grafů. V letech 2003-2007 tato vyšetření byla pro naše oddělení formou konzultace prováděna na oddělení patologie v Praze. Tyto tabulky jsou předloženy též v elektronické formě, která může okamžitě posloužit pro následné (detailnější) statistické zpracování.

V roce 2007 se nám podařilo imunohistochemické vyšetření hormonálních receptorů zavést i v Kolíně. Od ledna 2008 vyšetření standardně provádíme a naše výsledky není nutno kontrolovat na jiném imunohistochemickém pracovišti.

Z grafů se nám závislost ER, PR, Her-2 na věku, Her-2 na ER, ani GRADEu na věku nepodařila přesvědčivě prokázat. Není ovšem vyloučeno, že některou z uvedených závislostí by bylo možno prokázat pomocí detailního statistického vyhodnocení (nad rámec této bakalářské práce).

Například z grafu, kde porovnáваме závislost GRADEu na ER, určitý vztah lze předpokládat. Nádory s G1 dosahují vysokých hodnot exprese ER v rozmezí 80-100 % pozit. buněk, zatímco u nádorů s G3 převážně pozorujeme negativní expresi ER.

Započetím takovýchto porovnávacích studií přispíváme ke zvýšení samostatnosti a prestiže našeho pracoviště, neboť můžeme kontrolovat naše výsledky už nejen vyšetřováním našich bločků v cizích laboratořích, ale dostáváme se ke kontrole pomocí odborné literatury – z hlediska např. závislosti různých faktorů na ER.

8.PŘÍLOHY

Imunohistochemické vyšetření hormonálních receptorů PR, ER a Her-2 v tabulkách a grafech.

Období : leden 2003- červen 2008.

Rok 2003

Tabulka č.1: vyšetření hormonálních receptorů rok 2003 (Praha) - jehlové biopsie

číslo	pacientka	část r.č.	datum punkce	PR%	ER%	Her-2	Věk	ER/ PR
1	HV	545630	21.1.2003	65	85	2	49	1, 307692308
2	KE	355704	21.2.2003	45	100	1	68	2, 222222222
3	ŠM	415711	25.2.2003	75	65	2	62	0, 866666667
4	FD	515708	11.3.2003	0, 1	85	3	52	850
5	ŠV	355606	12.3.2003	0, 1	0, 1	1	68	1
6	SM	305621	17.3.2003	85	90	1	73	1, 058823529
7	MJ	455417	26.3.2003	85	85	2	58	1
8	MD	576127	23.4.2003	65	75	2	46	1, 153846154
9	VD	455709	29.4.2003	85	85	1	58	1
10	FJ	416221	2.5.2003	35	55	2	62	1, 571428571
11	MD	256020	26.5.2003	55	5	1	78	0, 090909091
12	NJ	696117	27.5.2003	0, 1	0, 1	2	34	1
13	PJ	446018	3.6.2003	0, 1	0, 1	3	59	1
14	PJ	455531	3.6.2003	0, 1	75	1	58	750
15	ŠB	405411	4.6.2003	35	35	2	63	1
16	ŠJ	275403	20.6.2007	0, 1	75	3	76	750
17	RL	255328	25.6.2003	65	75	1	78	1, 153846154
18	ST	455425	25.6.2003	45	75	1	58	1, 666666667
19	NL	525608	25.6.2003	75	75	2	61, 8	1
20	KD	555823	3.7.2003	5	10	3	48	2
21	KO	495917	4.7.2003	5	100	3	54	20
22	NV	395722	9.7.2003	80	100	3	64	1, 25
23	KM	245116	15.7.2003	35	100	2	79	2, 857142857
24	KM	495507	17.7.2003	0, 1	5	0	54	50
25	ChM	255123	17.7.2003	10	85	2	78	8, 5
26	ŠE	555805	21.7.2003	0, 1	0, 1	0	48	1
27	BM	145119	22.7.2003	0, 1	5	3	89	50
28	PV	405426	1.8.2003	80	80	0	63	1
29	ŠE	486113	7.8.2003	25	55	0	55	2, 2
30	LZ	566013	25.8.2003	45	55	3	47	1, 222222222
31	(tm)	475121	4.9.2003	0, 1	0, 1	2	56	1
32	NJ	555513	16.9.2003	85	75	0	48	0, 882352941
33	SL	466003	17.9.2003	1	35	1	67	35
34	ŘJ	165119	6.10.2003	85	85	2	87	1
35	ML	285716	8.10.2003	100	100	0	75	1
36	AM	165123	10.10.2003	0, 1	100	2	87	1000
37	HM	345412	20.10.2003	100	100	1	69	1
38	ČJ	435311	21.1.2003	90	90	1	60	1
39	BM	375318	21.10.2003	1	15	2	66	15
40	ZM	365220	23.10.2003	55	55	2	67	1
41	ChL	485216	10.11.2003	75	85	2	55	1, 133333333
42	PH	335801	14.11.2003	25	65	3	70	2, 6
43	MF	515115	20.11.2003	85	75	2	52	0, 882352941

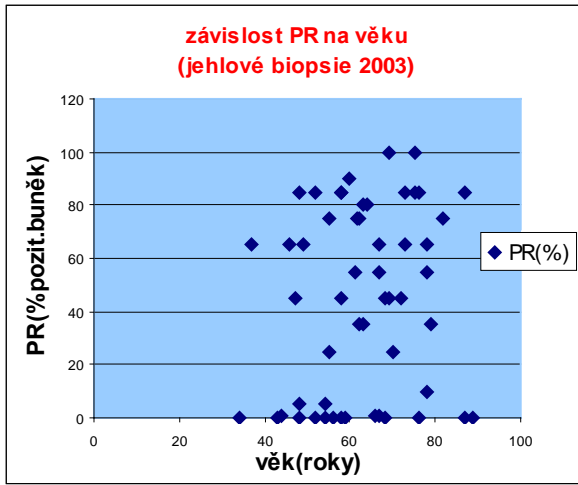
Číslo	Pacientka	Část r.č.	Datum operace	PR %	ER %	Her-2	Věk	ER/ PR
44	MA	425726	24.11.2003	55	85	2	61	1, 545454545
45	ŠM	286228	27.11.2003	85	100	2	75	1, 176470588
46	PL	346222	28.11.2003	45	90	1	69	2
47	RE	365318	28.11.2003	65	85	2	67	1, 307692308
48	JM	315516	28.11.2003	45	85	2	72	1, 888888889
49	PE	606111	3.12.2003	0, 1	0, 1	2	43	1
50	KL	415921	4.12.2003	85	85	1	76, 4	1
51	HZ	595408	4.12.2003	1	0, 1	1	44	0, 1
52	SD	665730	9.12.2003	65	65	2	37	1
53	KM	305406	16.12.2003	65	85	1	73	1, 307692308
54	SB	215515	18.12.2003	75	55	1	82	0, 733333333
MEDIANY				45	75	2	62, 5	

Tabulka č.2: vyšetření hormonálních receptorů rok 2003(Praha)- operace

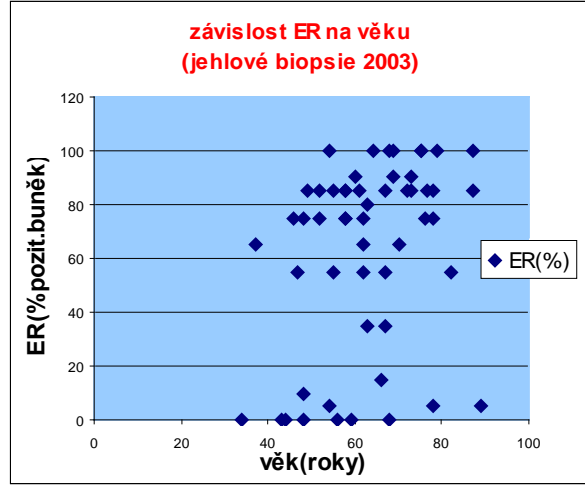
číslo	pacientka	část r.č.	datum operace	PR%	ER%	Her-2	věk	ER/ PR
1	KB	215508	5.2.2003	0, 1	0, 1	2	82	1
2	LM	306210	13.3.2003	40	40	1	73	1
3	KA	425506	26.3.2003	55	25	0	61	0, 454545455
4	FH	345405	31.3.2003	55	75	0	69	1, 363636364
5	UD	315214	10.4.2003	35	55	0	72	1, 571428571
6	PO	285225	2.5.2003	0, 1	75	0	75	750
7	KM	505729	14.5.2003	25	55	3	53	2, 2
8	TE	156001	16.6.2003	1	65	3	88	65
9	EK	256123	19.6.2003	85	75	2	78	0, 882352941
10	PM	326216	10.9.2003	85	0, 1	0	71	0, 001176471
11	ŠL	236211	2.10.2003	55	45	2	80	0, 818181818
12	JI	335522	27.10.2003	15	85	2	70	5, 666666667
13	PJ	475201	25.11.2003	85	85	2	56	1
14	LM	365527	22.12.2003	0, 1	0, 1	0	73	1
MEDIANY				37, 5	55	1, 5	72, 5	

Graf č.1- 6 : vyšetření hormonálních receptorů rok 2003 (Praha) - jehlové biopsie

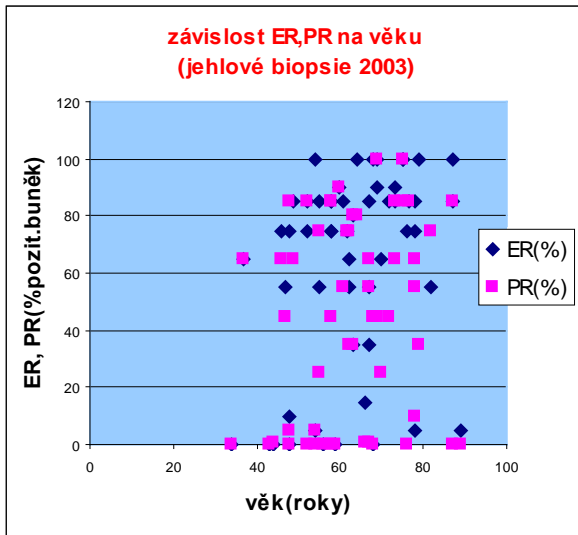
Graf č. 1



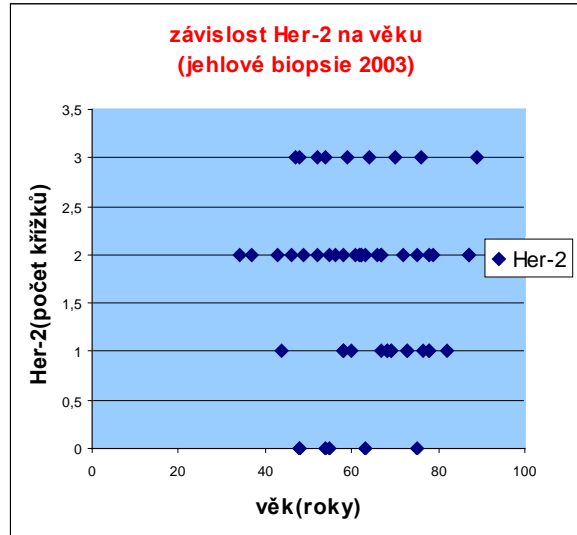
Graf č. 2



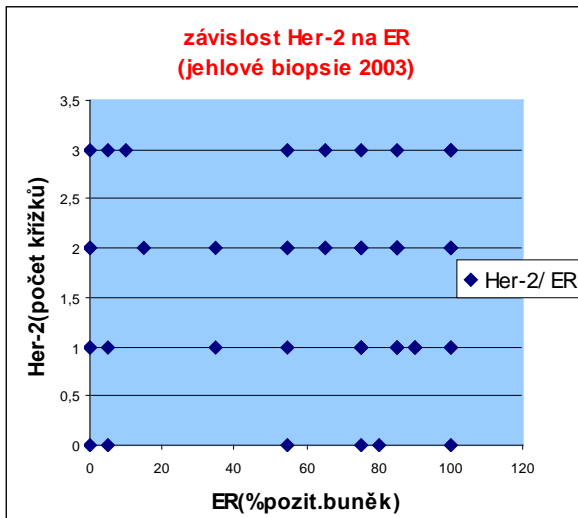
Graf č.3



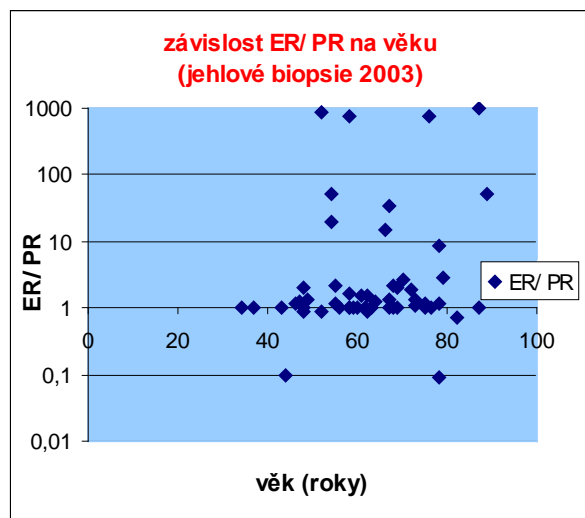
Graf č. 4



Graf č. 5

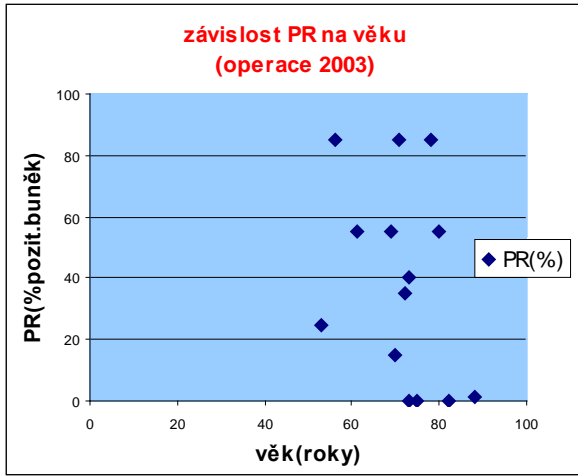


Graf č.6

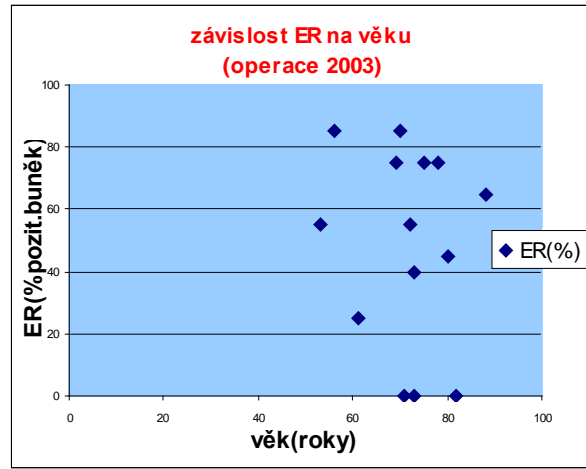


Graf č.7 -12: vyšetření hormonálních receptorů rok 2003 (Praha)-operace

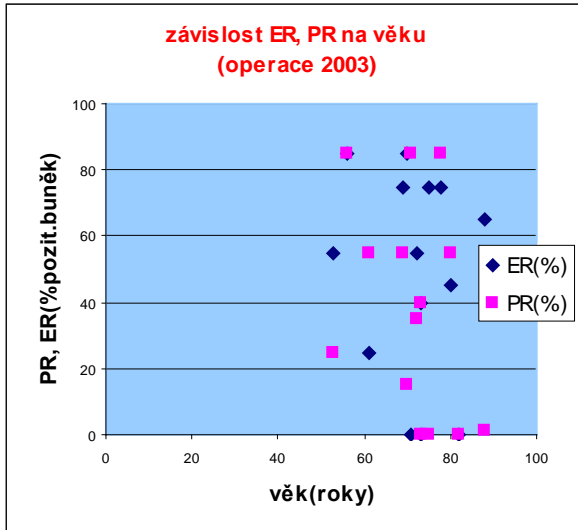
Graf č.7



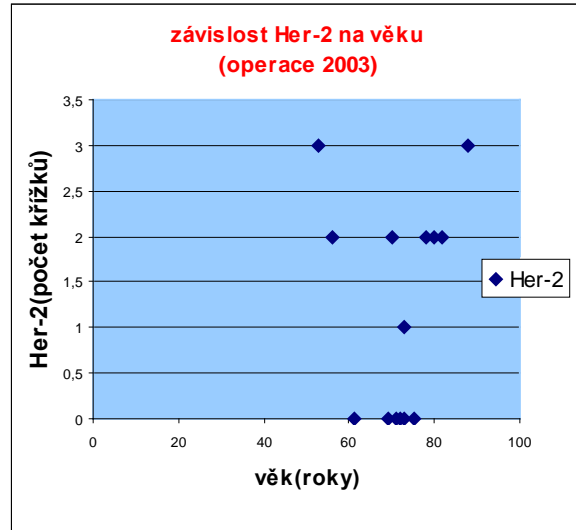
Graf č.8



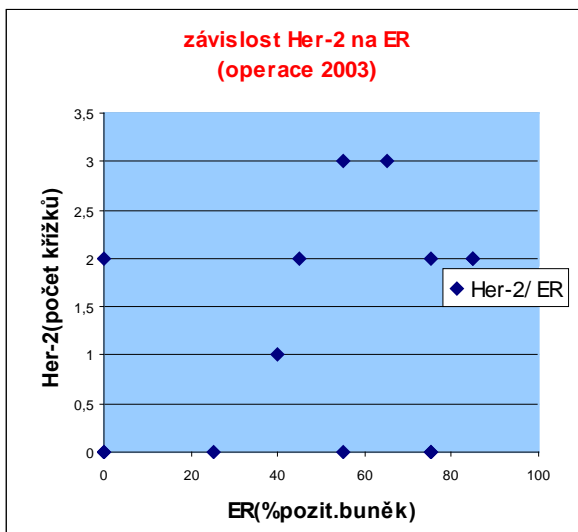
Graf č. 9



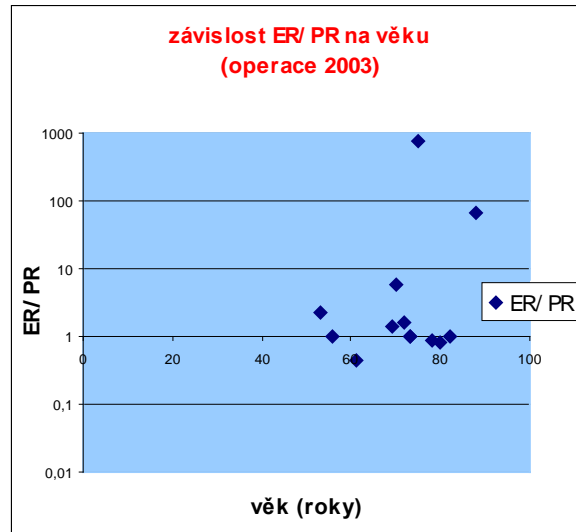
Graf č.10



Graf č.11



Graf č. 12



ROK 2004

Tabulka č.3 : vyšetření hormonálních receptorů, rok 2004 (Praha) - jehlové biopsie

číslo	pacientka	část r.č.	datum punkce	PR%	ER%	Her-2	věk	ER/ PR
1	LZ	425719	9.1.2004	0, 1	90	2	62	900
2	HM	546210	9.1.2004	0, 1	85	2	50	850
3	MJ	466216	14.1.2004	0, 1	0, 1	3	58	1
4	VM	445123	30.1.2004	35	55	2	60	1, 571428571
5	KA	475120	2.2.2004	0, 1	90	2	57	900
6	ŠE	236007	5.2.2004	95	95	3	81	1
7	SZ	255408	19.2.2004	35	100	2	79	2, 857142857
8	TJ	405521	2.3.2004	80	100	3	64	1, 25
9	VA	556115	5.3.2004	30	100	2	49	3, 333333333
10	PZ	365708	9.3.2004	100	100	2	68	1
11	VV	265418	9.3.2004	30	100	1	78	3, 333333333
12	VM	225823	12.3.2004	10	0, 1	1	82	0, 01
13	JE	515214	12.3.2004	0, 1	0, 1	3	53	1
14	HJ	295125	16.3.2004	0, 1	0, 1	1	75	1
15	PV	375825	29.3.2004	90	90	1	67	1
16	KM	535428	29.3.2004	100	100	3	51	1
17	PK	285518	2.4.2004	30	100	2	76	3, 333333333
18	KH	255627	5.4.2004	30	100	3	79	3, 333333333
19	PA	305721	5.4.2004	20	95	2	74	4, 75
20	ŠE	585914	5.4.2004	100	100	1	46	1
21	MJ	425429	16.4.2004	92, 5	92, 5	1	62	1
22	DJ	505504	21.4.2004	7, 5	25	3	54	3, 333333333
23	JM	345226	26.4.2004	90	90	2	70	1
24	GI	485222	13.5.2004	20	100	2	56	5
25	SM	296018	14.5.2004	100	100	3	75	1
26	HH	635423	14.5.2004	0, 1	0, 1	1	41	1
27	PK	545612	17.5.2004	30	80	1	50	2, 666666667
28	BZ	296114	19.5.2004	40	60	1	75	1, 5
29	GV	395110	19.5.2004	0, 1	70	3	65	700
30	GV	395110	19.5.2004	0, 1	100	3	65	1000
31	DA	405221	21.5.2004	90	90	3	64	1
32	KH	256027	25.5.2004	90	90	2	79	1
33	JP♂	471003	28.5.2004	40	90	3	57	2, 25
34	DJ	345908	2.6.2004	90	100	3	70	1, 111111111
35	JJ	505211	2.6.2004	90	80	1	54	0, 888888889
36	BJ	516115	2.6.2004	0, 1	0, 1	3	53	1
37	KA	426126	8.6.2004	0, 1	0, 1	2	62	1
38	SB	215522	9.6.2004	70	70	3	83	1
39	MP	336007	16.6.2004	10	100	1	71	10
40	KR	215502	16.6.2004	40	100	3	83	2, 5
41	VJ	415810	22.6.2004	5	95	1	63	19
42	NM	595911	28.6.2004	90	100	2	45	1, 111111111
43	ŠJ	285312	28.6.2004	0, 1	0, 1	0	76	1
44	TH	435517	7.7.2004	0, 1	100	3	61	1000
45	TH	595309	7.7.2004	85	85	3	45	1
46	VV	305107	21.7.2004	75	100	3	74	1, 333333333
47	HK	316208	26.7.2004	70	50	2	73	0, 714285714

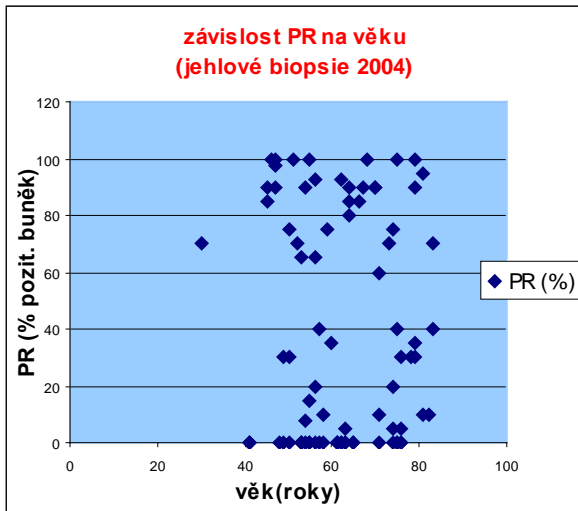
Číslo	Pacient	Část r.č.	Datum operace	PR %	ER %	Her- 2	Věk	ER/ PR
48	HM	335809	26.8.2004	0, 1	0, 1	1	71	1
49	PV	255628	6.9.2004	100	100	2	79	1
50	LH	575805	13.9.2004	90	90	3	47	1
51	TV	235206	13.9.2004	10	100	1	81	10
52	ŠJ	475818	16.9.2004	0, 1	65	1	63	650
53	MJ	506128	27.9.2004	0, 1	80	3	54	800
54	SV♂	410809	29.9.2004	0, 1	0, 1	1	63	1
55	ŠV	435605	4.10.2004	0, 1	0, 1	3	61	1
56	NZ	485209	6.10.2004	65	85	2	56	1, 307692308
57	PM	286221	7.10.2004	5	0, 1	3	76	0, 02
58	RM	515326	13.10.2004	0, 1	0, 1	2	53	1
59	LB	495807	18.10.2004	100	100	3	55	1
60	FJ	496221	18.10.2004	15	75	3	55	5
61	KJ	745608	20.10.2004	70	80	3	30	1, 142857143
62	ŽR	335808	20.10.2004	60	90	2	71	1, 5
63	KJ	385530	20.10.2004	85	85	3	66	1
64	KJ	636009	25.10.2004	0, 1	0, 1	3	41	1
65	KM	485506	26.10.2004	92, 5	92, 5	2	56	1
66	KM	305911	27.10.2004	5	80	3	74	16
67	NM	285825	3.11.2004	0, 1	0, 1	3	76	1
68	DM	405217	8.11.2004	85	100	2	64	1, 176470588
69	KJ	636009	15.11.2004	0, 1	5	3	41	50
70	HM	576001	16.11.2004	100	100	1	47	1
71	ŽE	295410	18.11.2004	0, 1	90	3	75	900
72	PJ	465201	22.11.2004	10	20	3	58	2
73	BV	495312	23.11.2004	0, 1	0, 1	3	55	1
74	MA	485123	24.11.2004	0, 1	0, 1	3	56	1
75	PM	526012	25.11.2004	70	90	2	52	1, 285714286
76	PJ	515805	30.11.2004	65	92, 5	3	53	1, 423076923
77	ŠD	495121	2.12.2004	0, 1	0, 1	3	55	1
78	VV	575527	3.12.2004	97, 5	97, 5	1	47	1
79	HR	455402	6.12.2004	75	92, 5	3	59	1, 233333333
80	DZ	546007	6.12.2004	75	75	2	50	1
81	RJ	435609	6.12.2004	0, 1	0, 1	3	61	1
82	SM	565720	14.12.2004	0, 1	5	3	48	50
83	HV	555615	20.12.2004	0, 1	0, 1	3	49	1
84	VB	306229	22.12.2004	0, 1	20	1	74	200
MEDIANY				30	87, 5	2	61, 5	

Tabulka č.4: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2004 (Praha) - operace

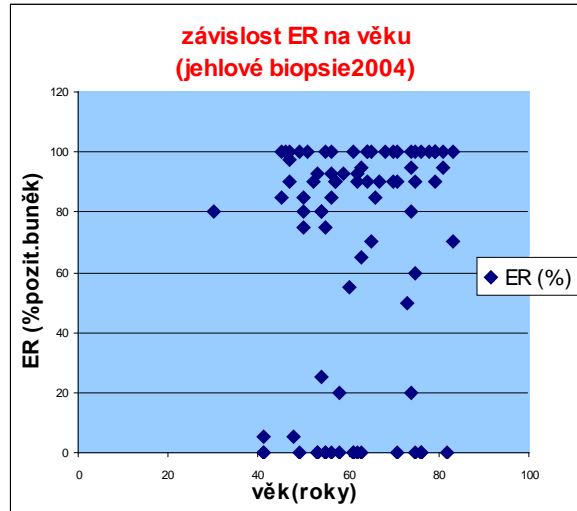
číslo	pacientka	část r.č.	datum operace	PR %	ER%	Her-2	věk	ER/ PR
1	JH	315727	20.4.2004	20	75	3	73	3, 75
2	PV	275610	18.5.2004	80	90	1	77	1, 125
3	LI	585501	23.6.2004	75	85	2	46	1, 133333333
4	KJ	636009	15.11.2004	0, 1	5	3	41	50
5	BD	546205	24.11.2008	92, 5	92, 5	2	50	1
6	BZ	515908	1.12.2004	15	90	2	53	6
MEDIANY				47, 5	87, 5	2	51, 5	

Graf č. 13 – 18 : vyšetření hormonálních receptorů rok 2004 (Praha) - jehlové biopsie

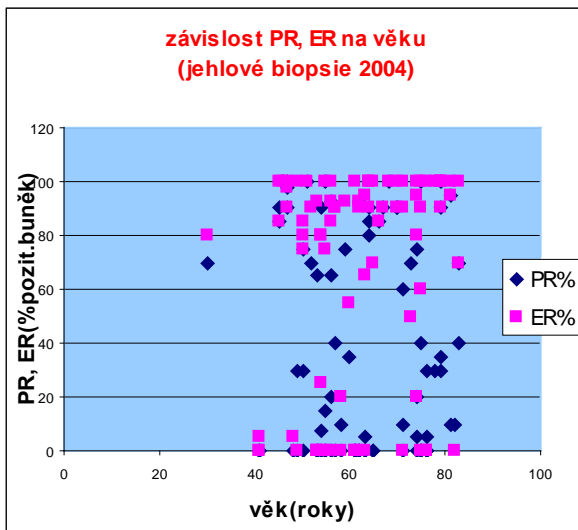
Graf č.13



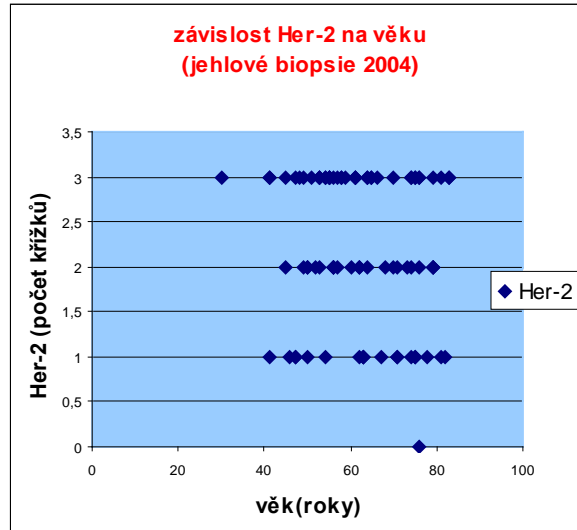
Graf č.14



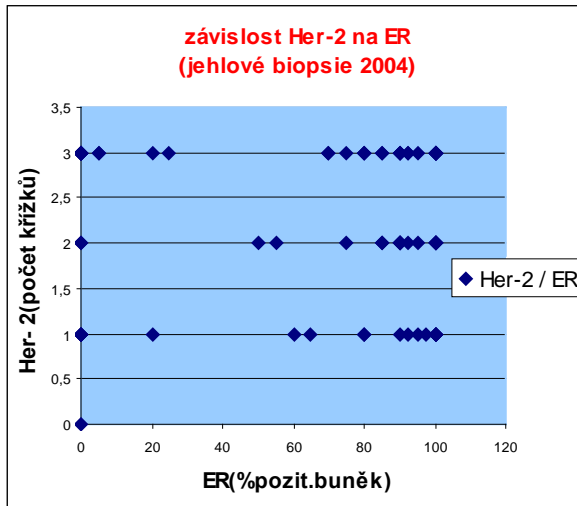
Graf č.15



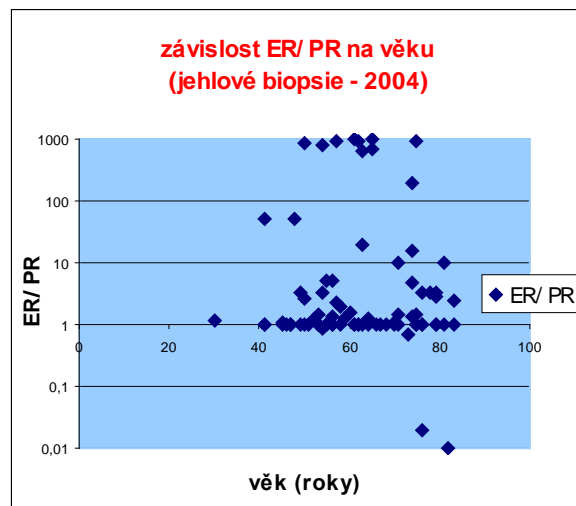
Graf č.16



Graf č. 17

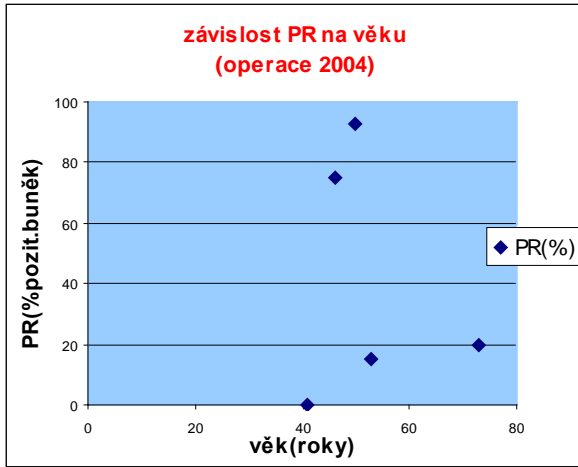


Graf č.18

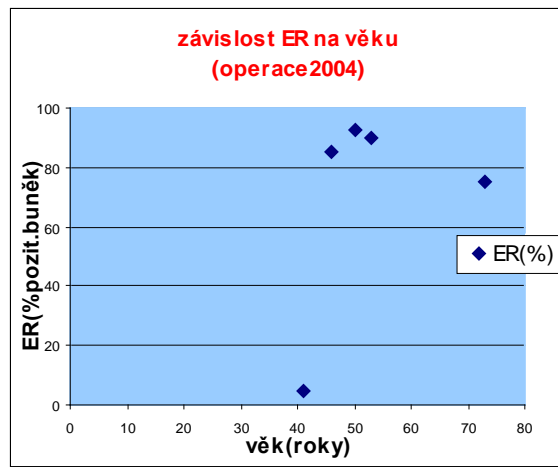


Graf č.19 - 24: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2004 (Praha) - operace

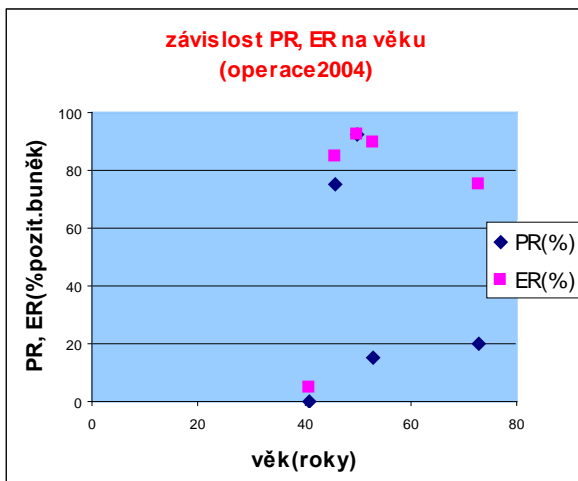
Graf č. 19



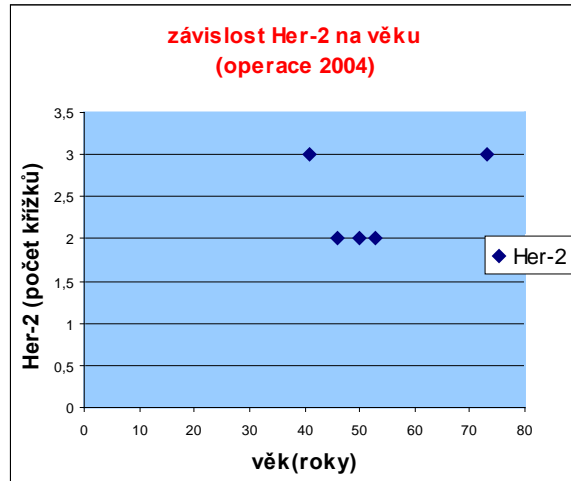
Graf č. 20



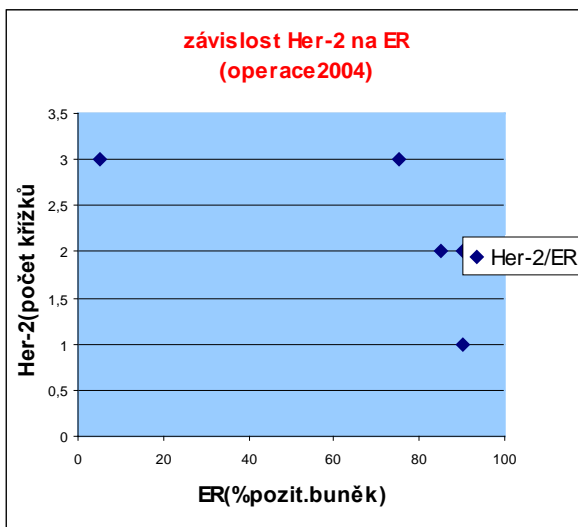
Graf č. 21



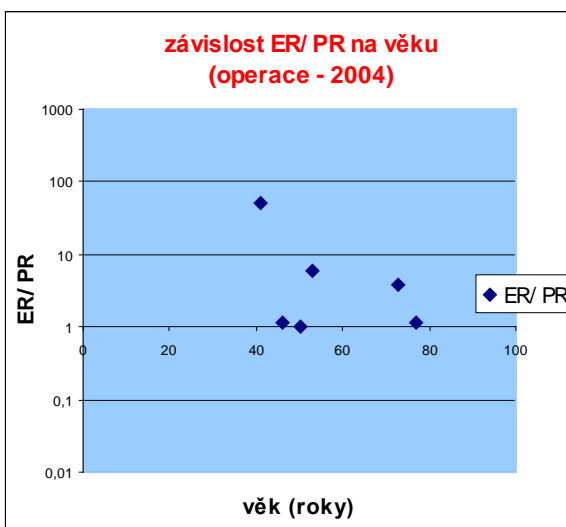
Graf č. 22



Graf č. 23



Graf č. 24



Rok 2005

Tabulka č.5: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2005 (Praha) - jehlové biopsie

číslo	pacientka	část r.č.	datum punkce	PR %	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
1	ChD	306116	4.1.2005	45	95	2	75	2, 111111111
2	GI	515163	5.1.2005	85	85	1	54	1
3	DV	515821	10.1.2005	25	85	1	54	3, 4
4	LL	685905	10.1.2005	70	90	3	37	1, 285714286
5	DS	375514	17.1.2005	90	90	1	68	1
6	JR	525513	26.1.2005	0, 1	0, 1	3	53	1
7	KA	725627	27.1.2005	0, 1	0, 1	3	33	1
8	SH	336120	28.1.2005	5	100	3	72	20
9	SH	336120	28.1.2005	5	90	3	72	18
10	NJ	355328	31.1.2005	90	100	3	70	1, 111111111
11	MJ	545129	2.2.2005	85	95	3	51	1, 117647059
12	KP♂	650531	2.2.2005	95	95	3	40	1
13	VK	365509	9.2.2005	0, 1	100	3	69	1000
14	ZM	325627	11.2.2005	30	95	3	73	3, 166666667
15	BH	535919	15.2.2005	35	95	3	52	2, 714285714
16	KM	385826	15.2.2005	90	90	3	67	1
17	JI	585509	15.2.2005	85	85	3	47	1
18	ŠH	416224	22.2.2005	70	95	3	64	1, 357142857
19	KM	445611	22.2.2005	95	95	3	61	1
20	NM	385405	2.3.2005	75	100	3	67	1, 333333333
21	JJ	435221	10.3.2005	0, 1	0, 1	3	62	1
22	SJ	435429	14.3.2005	10	90	1	62	9
23	BE	465123	14.3.2005	70	85	3	59	1, 214285714
24	DL	525714	16.3.2005	0, 1	0, 1	2	53	1
25	AO	305429	18.3.2005	90	90	2	75	1
26	MM	326106	24.3.2005	90	90	3	73	1
27	ŠA	225620	25.3.2005	90	90	3	83	1
28	JS	515527	30.3.2005	5	100	3	54	20
29	GK	585802	4.4.2005	90	25	3	47	0, 277777778
30	GK	585802	4.4.2005	90	90	3	47	1
31	PA	405609	4.4.2005	90	90	2	65	1
32	VA	515703	6.4.2005	75	85	3	54	1, 133333333
33	SJ	395106	7.4.2005	90	90	2	66	1
34	VM	405126	13.4.2005	20	80	0	65	4
35	TJ	375211	15.4.2005	90	90	3	68	1
36	PI	386128	19.4.2005	80	95	3	67	1, 1875
37	KV	365816	25.4.2005	95	80	2	69	0, 842105263
38	KO	525725	27.4.2005	95	80	2	53	0, 842105263
39	DJ	495306	27.4.2005	95	70	2	56	0, 736842105
40	ŠA	435922	10.5.2005	0, 1	0, 1	3	62	1
41	LE	476101	23.5.2005	0, 1	0, 1	0	58	1
42	GB	315126	24.5.2005	90	100	1	74	1, 111111111
43	PI	605522	7.6.2005	80	90	2	45	1, 125
44	VJ	455615	14.6.2005	75	5	0	60	0, 066666667
45	FJ	485804	22.6.2005	95	95	0	57	1
46	BJ	476215	27.6.2005	0, 1	0, 1	3	58	1

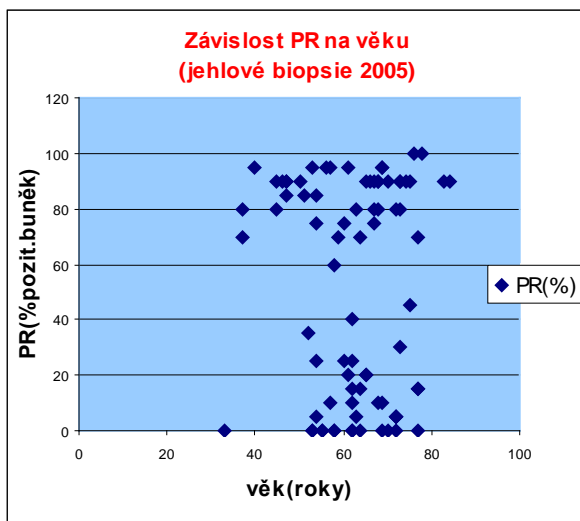
Číslo	Pacientka	Část r. č.	Datum operace	PR %	ER %	Her-2	Věk	ER/ PR
47	VB	356108	7.7.2005	0, 1	0, 1	3	70	1
48	DB	485517	7.7.2005	10	70	3	57	7
49	SM	505115	22.7.2005	0, 1	0, 1	3	55	1
50	ŠZ	435810	22.7.2005	25	85	1	62	3, 4
51	ČB♂	400918	10.8.2005	20	70	1	65	3, 5
52	PJ	365117	10.8.2005	10	50	3	69	5
53	TL	215501	11.8.2005	90	90	2	84	1
54	ZA	415320	11.8.2005	0, 1	0, 1	1	64	1
55	NJ	446020	16.8.2005	20	95	1	61	4, 75
56	HH	595169	23.8.2005	90	90	0	46	1
57	JE	325829	19.9.2005	80	100	0	73	1, 25
58	AV	426008	20.9.2005	80	95	1	63	1, 1875
59	ČO	375524	29.9.2005	80	90	1	68	1, 125
60	NE	336206	29.9.2005	5	90	1	72	18
61	ČA	605902	4.10.2005	90	80	3	45	0, 888888889
62	SM	475327	11.10.2005	60	90	0	58	1, 5
63	BI	556029	17.10.2005	90	80	0	50	0, 888888889
64	HJ	426016	18.10.2005	5	5	0	63	1
65	VE	415830	26.10.2005	15	55	2	64	3, 666666667
66	RJ	335219	1.11.2005	80	90	0	72	1, 125
67	PV	285627	1.11.2005	15	85	2	77	5, 666666667
68	PH	325115	2.11.2005	90	90	1	73	1
69	LM	276220	8.11.2005	100	100	1	78	1
70	PI	335205	14.11.2005	0, 1	0, 1	0	72	1
71	ŽD	505927	15.11.2005	0, 1	30	3	55	300
72	JM	375612	16.11.2005	10	60	3	68	6
73	SM	455902	28.11.2005	25	100	3	60	4
74	DR	365601	6.12.2005	95	95	1	69	1
75	SK	295427	7.12.2005	100	100	2	76	1
76	SZ	285202	9.12.2005	15	90	1	77	6
77	BE	686218	14.12.2005	80	90	2	37	1, 125
78	HA	286007	14.12.2005	70	90	2	77	1, 285714286
79	HA	286007	14.12.2005	0, 1	80	2	77	800
80	LA	435120	21.12.2005	40	50	1	62	1, 25
81	LA	435120	21.12.2005	15	90	1	62	6
MEDIANY				70	90	2	63	

Tabulka č.6: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2005 (Praha) - operace

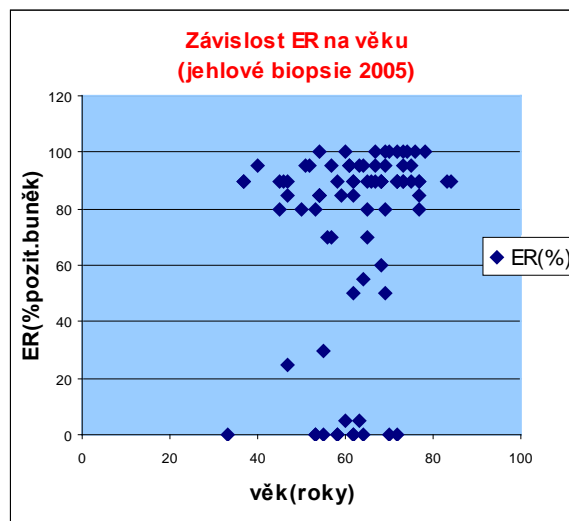
číslo	pacientka	část r.č.	datum operace	PR %	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
1	HM	375423	25.1.2005	0, 1	30	nelze	68	300
2	MM	545927	16.3.2005	40	90	3	51	2, 25
3	PN	545328	6.4.2005	90	90	2	51	1
4	BJ	476215	20.7.2005	0, 1	0, 1	3	58	1
5	KJ	235203	4.8.2005	50	0, 1	0	82	0, 002
6	RM	425408	24.8.2005	0, 1	0, 1	0	63	1
7	VS	535322	26.10.2005	30	80	2	52	2, 666666667
8	TJ	605421	9.12.2005	0, 1	0, 1	0	45	1
9	TH	385924	19.12.2005	90	90	0	67	1
MEDIANY				30	30	1	58	

Graf č.25 - 30: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2005 (Praha) - jehlové biopsie

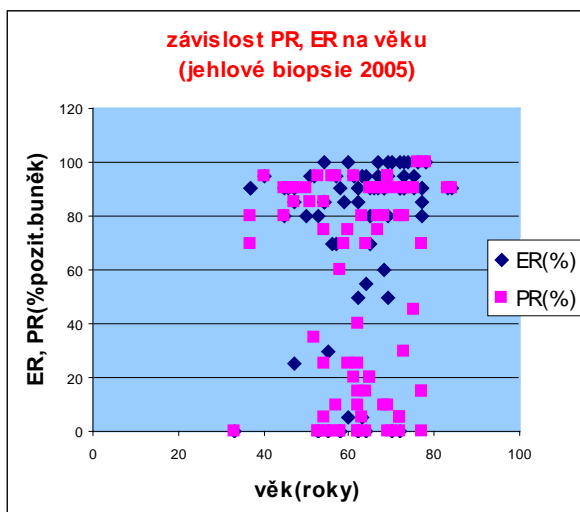
Graf č.25



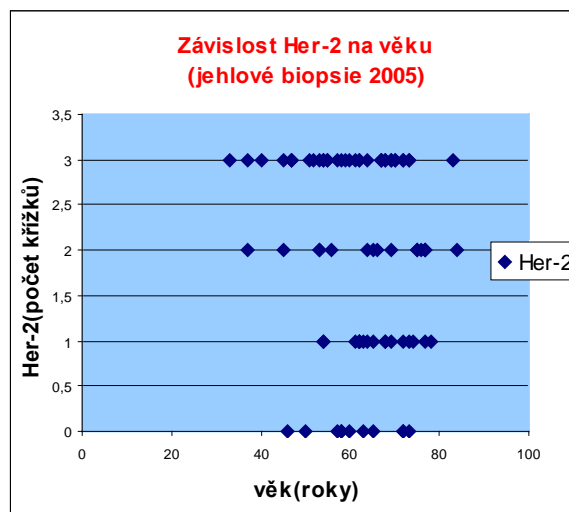
Graf č.26



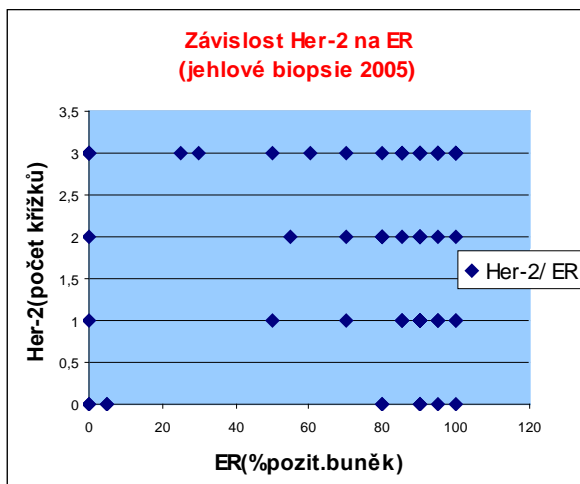
Graf č.27



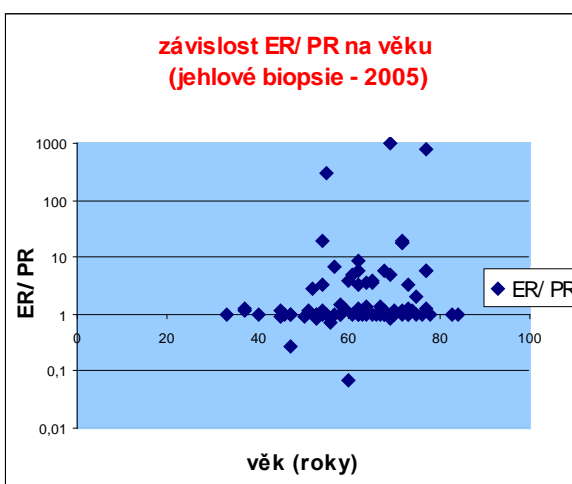
Graf č.28



Graf č.29

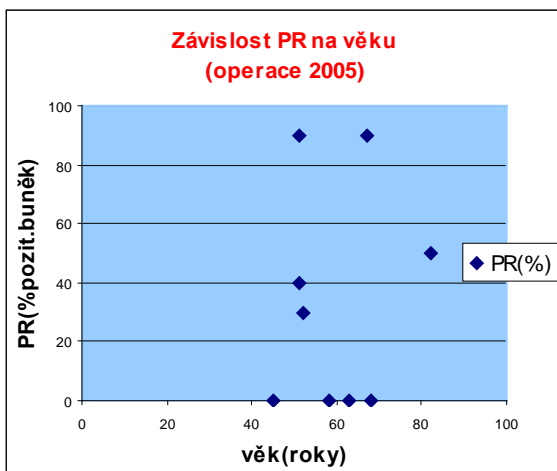


Graf č.30

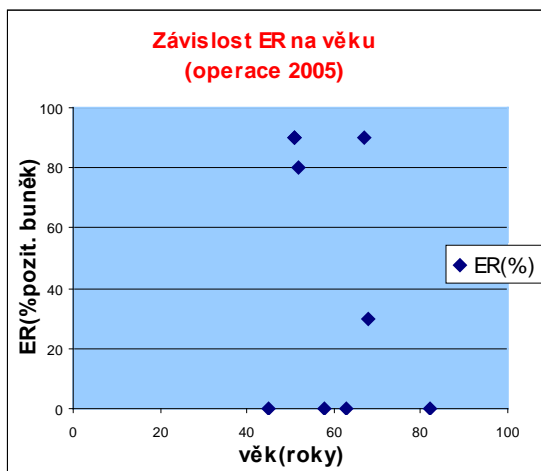


Graf č.31 - 36: vyšetření hormonálních receptorů rok 2005 (Praha) - operace

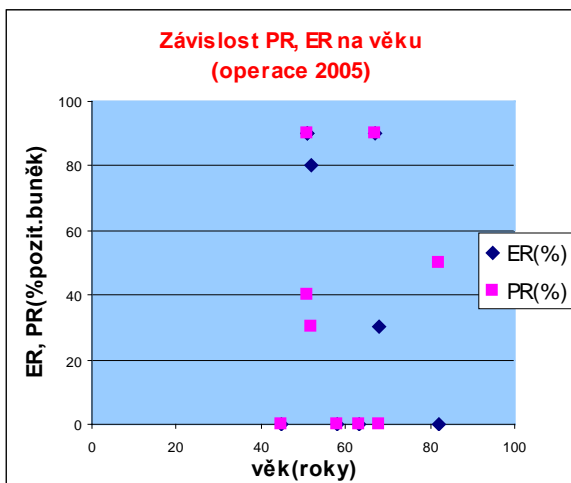
Graf č.31



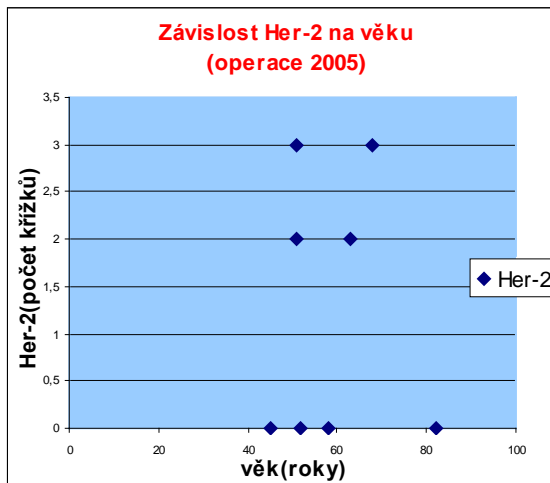
Graf č.32



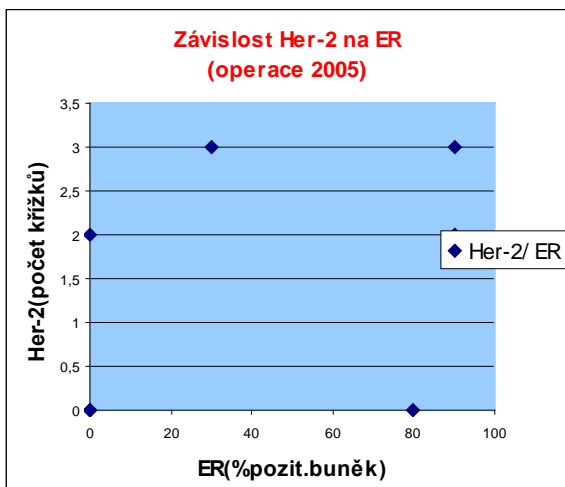
Graf č. 33



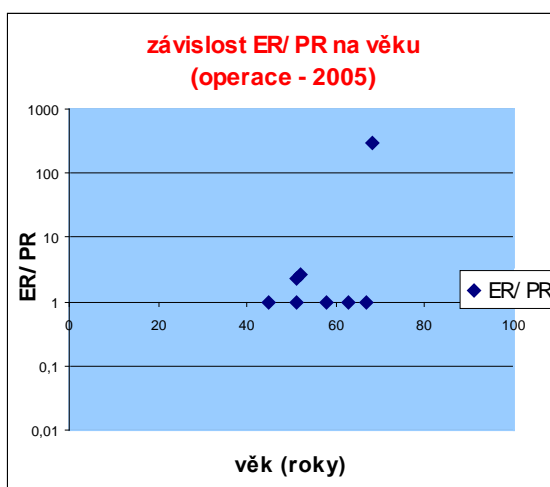
Graf č. 34



Graf č. 35



Graf č. 36



Rok 2006

Tabulka č.7: vyšetření hormonálních receptorů rok 2006 (Praha) - jehlové biopsie

číslo	pacientka	část r.č.	datum punkce	PR %	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
1	JK	475901	3.1.2006	30	90	1	60	3
2	AV	465328	4.1.2006	70	95	1	61	1, 357143
3	MP	706120	10.1.2006	80	80	0	37	1
4	EČ	375610	17.1.2006	95	95	1	70	1
5	MS	675406	25.1.2006	65	80	0	40	1, 230769
6	MH	486113	31.1.2006	0, 1	100	2	59	1000
7	VK	475712	1.2.2006	95	95	1	60	1
8	JŽ	335514	6.2.2006	0, 1	70	3	74	700
9	MP	405519	8.2.2006	90	90	1	67	1
10	MV	565129	14.2.2006	90	90	1	51	1
11	JK	375917	14.2.2006	80	80	2	70	1
12	ML	246212	7.3.2006	0, 1	95	3	83	950
13	MV	245928	7.3.2006	0, 1	0, 1	0	83	1
14	JZ	345705	14.3.2006	70	95	0	73	1, 357143
15	JH	586231	21.3.2006	80	80	0	49	1
16	VP	535618	28.3.2006	0, 1	0, 1	0	54	1
17	AM	245720	11.4.2006	90	90	3	83	1
18	BK	315731	19.4.2006	90	80	1	76	0, 888889
19	RT	265416	3.5.2006	0, 1	97, 5	0	81	975
20	MP	335908	9.5.2006	50	90	0	74	1, 8
21	MP	335908	9.5.2006	0, 1	20	0	74	200
22	HS	575415	12.5.2006	90	90	0	50	1
23	ED	615227	15.5.2006	75	55	1	46	0, 733333
24	ZB	546208	16.5.2006	5	90	0	53	18
25	KL	275917	22.5.2006	1	100	0	80	100
26	OŠ	385317	29.5.2006	70	80	1	69	1, 142857
27	JP	465201	29.5.2006	0, 1	0, 1	3	61	1
28	LCH	276126	31.5.2006	95	100	0	80	1, 052632
29	LCH	276126	31.5.2006	95	100	0	80	1, 052632
30	DN	595922	6.6.2006	0, 1	0, 1	3	48	1
31	SB	436011	12.6.2006	0, 1	0, 1	0	64	1
32	VN	285526	19.6.2006	0, 1	70	0	79	700
33	BČ	425316	20.6.2006	0, 1	0, 1	2	65	1
34	JČ	235103	21.6.2006	90	80	2	84	0, 888889
35	MM	276104	3.7.2006	25	0, 1	2	80	0, 004
36	SS	225929	11.7.2006	0, 1	0, 1	3	85	1
37	JJ	405703	18.7.2006	80	80	0	67	1
38	MO	395427	18.7.2006	95	95	0	68	1
39	DV	575406	8.8.2006	90	80	0	50	0, 888889
40	HP	345317	15.8.2006	0, 1	100	1	73	1000
41	HP	375106	15.8.2006	5	70	2	70	14
42	MZ	335912	22.8.2006	0, 1	0, 1	0	74	1
43	LL	415302	23.8.2006	80	100	0	66	1, 25
44	LB	255429	29.8.2006	95	90	1	82	0, 947368
45	VP	435306	5.9.2006	10	25	3	64	2, 5
46	ES	365830	6.9.2006	70	90	0	71	1, 285714
47	RJ	255823	19.9.2006	15	100	0	82	6, 666667

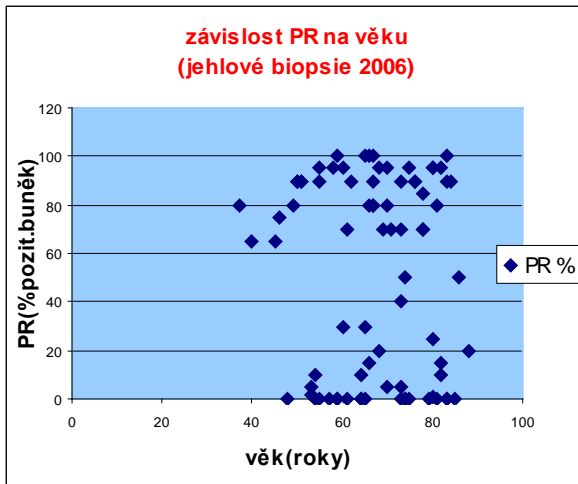
číslo	pacientka	část r.č.	datum punkce	PR %	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
48	DK	405322	19.9.2006	80	95	0	67	1, 1875
49	ZV	415602	3.10.2006	15	90	2	66	6
50	JH	565519	3.10.2006	90	65	0	51	0, 722222
51	JV	625415	10.10.2006	65	65	3	45	1
52	MO	395213	10.10.2006	20	95	3	68	4, 75
53	IŠ	526020	10.10.2006	95	95	0	55	1
54	VH	196201	18.10.2006	20	100	0	88	5
55	RP	405313	18.10.2006	100	100	0	67	1
56	LL	245222	19.10.2006	100	100	0	83	1
57	LK	325509	24.10.2006	95	95	0	75	1
58	VK	295228	24.10.2006	70	90	0	78	1, 285714
59	VK	295228	24.10.2006	70	90	0	78	1, 285714
60	HT	296122	25.10.2006	85	95	0	78	1, 117647
61	LK	325210	26.10.2006	0, 1	0, 1	0	75	1
62	LH	535521	7.11.2006	10	80	1	54	8
63	AR	545317	9.11.2006	2	80	1	53	40
64	RJ	265703	9.11.2006	80	90	0	81	1, 125
65	KJ	525421	9.11.2006	0, 1	90	0	55	900
66	VP	255317	14.11.2006	10	95	0	82	9, 5
67	VŠ	495526	14.11.2006	95	95	0	58	1
68	MP	485607	22.11.2006	0, 1	0, 1	0	59	1
69	MV	505926	27.11.2006	0, 1	80	0	57	800
70	AŠ	345904	27.11.2006	40	90	0	73	2, 25
71	AŠ	345904	27.11.2006	90	90	0	73	1
72	EH	415426	29.11.2006	100	90	0	66	0, 9
73	EK	486123	5.12.2006	100	100	0	59	1
74	VM	435106	6.12.2006	0, 1	0, 1	1	64	1
75	MM	345908	7.12.2006	5	0, 1	3	73	0, 02
76	JS	455331	8.12.2006	90	50	0	62	0, 555556
77	OR	215709	12.12.2006	50	95	0	86	1, 9
78	JN	425514	12.12.2006	100	100	0	65	1
79	OŠ	315724	13.12.2006	90	90	2	76	1
80	JR	425101	15.12.2006	30	90	0	65	3
81	LCH	525917	19.12.2006	90	70	0	55	0, 777778
MEDIANY				70	90	0	68	

Tabulka č.8: vyšetření hormonálních receptorů rok 2006 (Praha) – operace

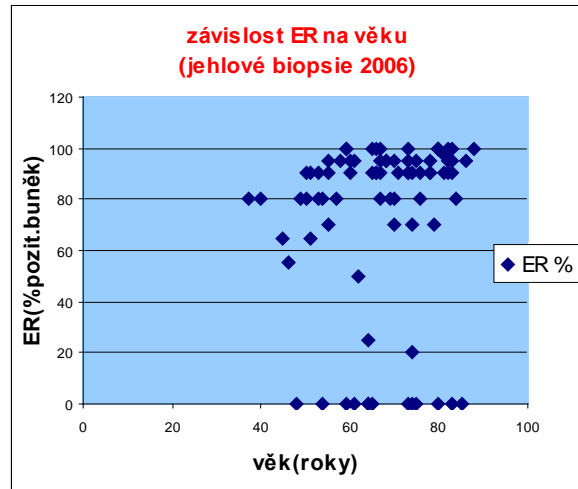
číslo	pacientka	rodné číslo	datum operace	PR%	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
1	IH	456021	28.2.2006	0, 1	50	0	62	500
2	LJ	475512	13.3.2006	95	95	0	60	1
3	BK	306216	10.4.2006	30	70	2	77	2, 333333
4	EJ	515214	14.6.2006	0, 1	0, 1	1	56	1
5	AV	465328	21.6.2006	45	0, 1	1	61	0, 002222
6	HP	465604	27.6.2006	75	0, 1	0	61	0, 001333
7	LK	355118	28.6.2006	25	0, 1	1	72	0, 004
8	MM	485415	3.8.2006	40	75	0	59	1, 875
9	JN	375516	9.8.2006	0, 1	0, 1	0	70	1
10	MP	376216	23.8.2006	80	95	1	70	1, 1875
11	JV	415519	18.9.2006	85	95	0	66	1, 117647
MEDIANY				40	50	0	62	

Graf č. 37- 42: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2006 (Praha) - jehlové biopsie

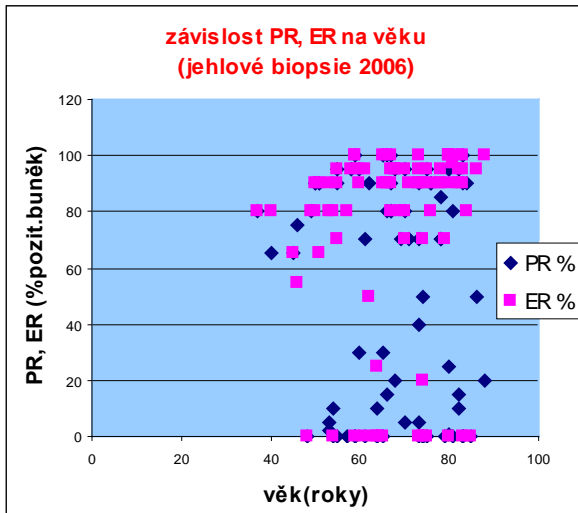
Graf č.37



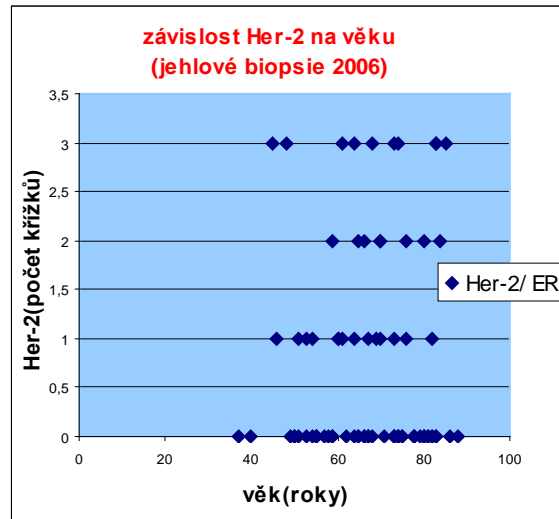
Graf č.38



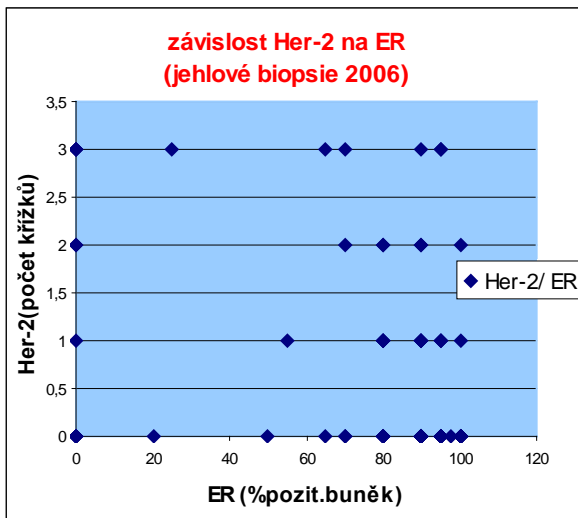
Graf č.39



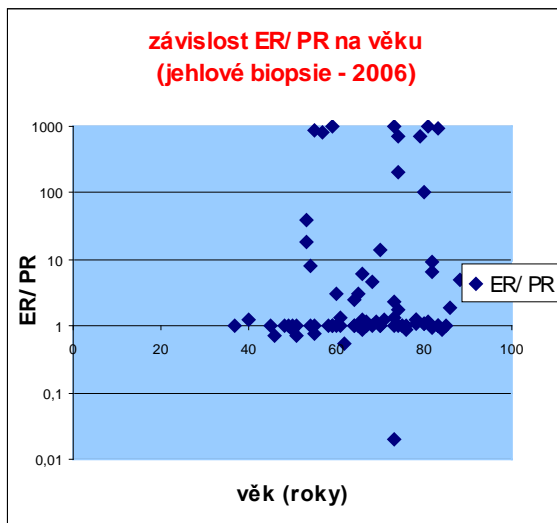
Graf č.40



Graf č. 41

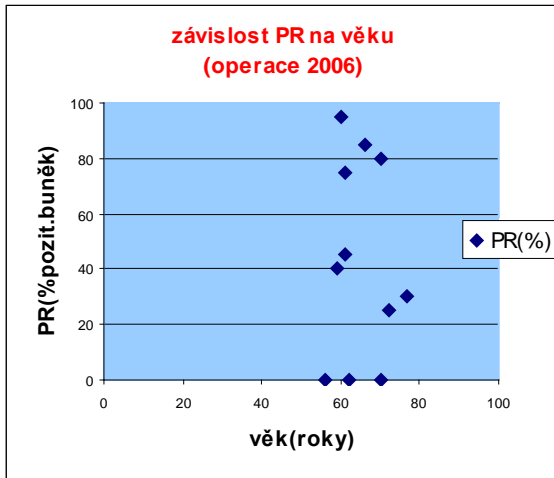


Graf č. 42

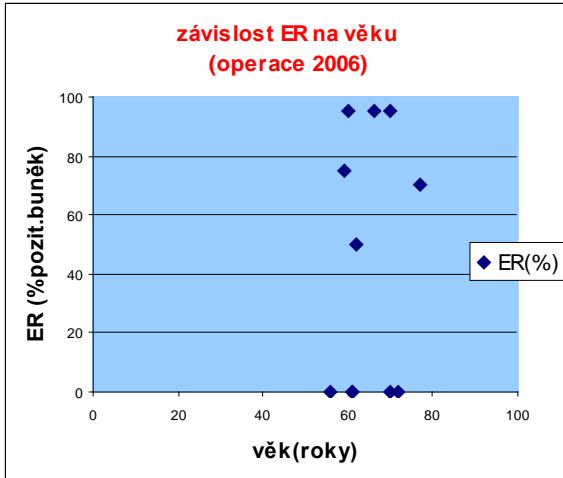


Graf č. 43 - 48: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2006 (Praha) - operace

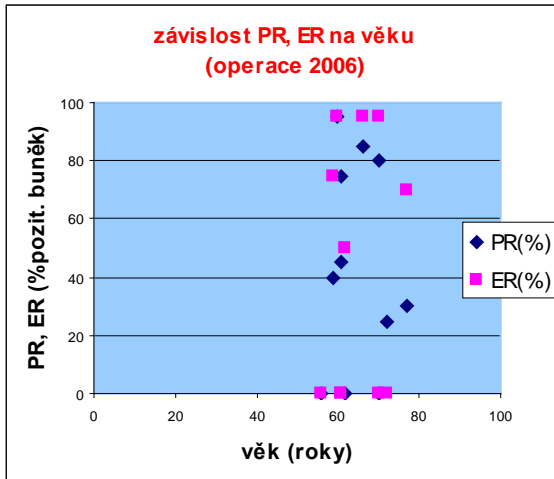
Graf č. 43



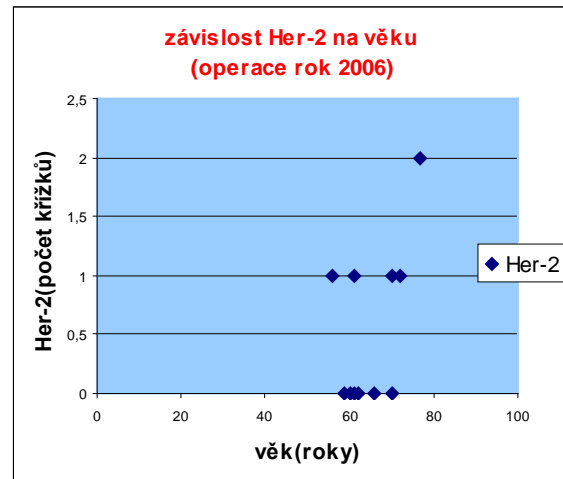
Graf č. 44



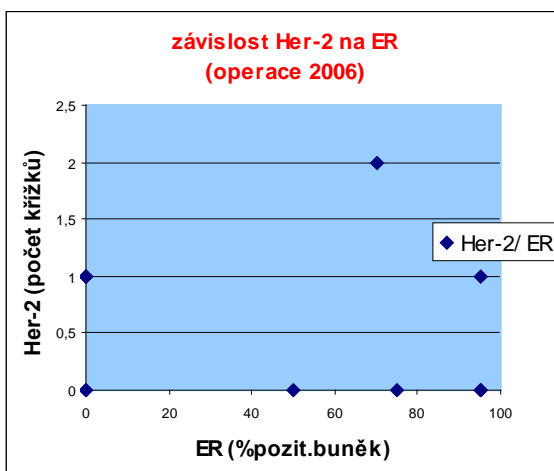
Graf č. 45



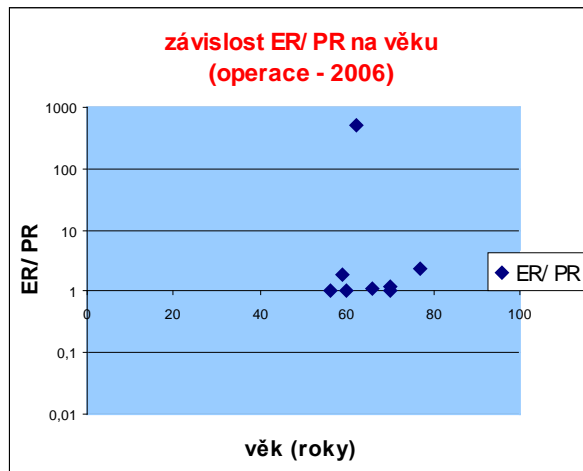
Graf č. 46



Graf č. 47



Graf č. 48



Rok 2007

Tabulka č. 9 : vyšetření hormonálních receptorů, rok 2007 (Praha) -jehlové biopsie

číslo	pacientka	rodné číslo	datum punkce	PR %	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
1	MH	376002	3.1.2007	80	80	0	70	1
2	AŠ	475228	9.1.2007	95	95	1	60	1
3	PF	726007	10.1.2007	90	90	2	35	1
4	MS	396227	17.1.2007	0, 1	0, 1	0	68	1
5	ZK	275614	18.1.2007	80	90	1	80	1, 125
6	MJ	345504	23.1.2007	50	95	0	73	1, 9
7	MH	726031	30.1.2007	100	90	0	35	0, 9
8	MB	705720	6.2.2007	0, 1	0, 1	0	37	1
9	JR	495531	13.2.2007	0, 1	0, 1	3	58	1
10	VS	385311	19.2.2007	10	90	0	69	9
11	VS	385311	19.2.2007	10	95	0	69	9, 5
12	HN	525509	19.2.2007	80	90	0	55	1, 125
13	JB	486021	20.2.2007	90	90	0	59	1
14	DK	606008	6.3.2007	95	95	0	47	1
15	BŽ	355929	7.3.2007	90	80	0	72	0, 888888889
16	ZB	475919	8.3.2007	75	35	0	60	0, 466666667
17	DK	515514	8.3.2007	5	70	3	56	14
18	HH	455918	13.3.2007	0, 1	0, 1	3	62	1
19	VH	525929	16.3.2007	100	100	0	55	1
20	JK	535928	20.3.2007	0, 1	0, 1	3	54	1
21	MJ	275920	20.3.2007	0, 1	90	0	80	900
22	ZH	285310	20.3.2007	70	95	0	79	1, 357142857
23	ZH	345612	27.3.2007	90	90	0	73	1
24	RK	475409	29.3.2007	0, 1	0, 1	3	60	1
25	OL	495404	3.4.2007	0, 1	0, 1	3	58	1
26	HN	435611	6.4.2007	90	90	0	64	1
27	ZJ	505322	11.4.2007	90	90	0	57	1
28	SS	305912	17.4.2007	100	100	0	77	1
29	BČ	415116	17.4.2007	0, 1	0, 1	0	66	1
30	ZB	345607	17.4.2007	90	90	0	72	1
31	VG	455317	18.4.2007	25	25	0	62	1
32	HV	405614	19.4.2007	75	75	1	67	1
33	JW	635620	9.5.2007	15	85	3	44	5, 666666667
34	JW	635620	9.5.2007	0, 1	80	3	44	800
35	LT	495402	9.5.2007	20	100	3	58	5
36	JM	316219	14.5.2007	10	100	0	76	10
37	JM	316219	14.5.2007	90	90	1	76	1
38	HČ	485530	15.5.2007	60	90	0	59	1, 5
39	MV	335223	15.5.2007	100	100	0	74	1
40	BV	455303	15.5.2007	90	90	0	62	1
41	VD	215409	17.5.2007	100	100	0	86	1
42	JP	625428	21.5.2007	100	80	0	45	0, 8
43	MV	525123	29.5.2007	7, 5	100	0	55	13, 33333333
44	JK	405416	29.5.2007	2	100	0	67	50
45	HV	306012	1.6.2007	0, 1	100	2	77	1000
46	MB	415217	5.6.2007	0, 1	80	0	66	800
47	MB	415217	5.6.2007	30	90	0	66	3

číslo	pacientka	rodné číslo	datum punkce	PR %	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
48	JK	465129	5.6.2007	0, 1	0, 1	3	61	1
49	VŠ	335223	12.6.2007	90	90	0	74	1
50	VŠ	475222	12.6.2007	90	90	0	60	1
51	MČ	225322	12.6.2007	0, 1	0, 1	0	85	1
52	HN	375802	12.6.2007	0, 1	0, 1	3	70	1
53	BK	515729	15.6.2007	100	90	1	56	0, 9
54	JF	665708	15.6.2007	0, 1	0, 1	3	41	1
55	DK	545128	15.6.2007	92, 5	92, 5	3	53	1
56	IB	556029	19.6.2007	70	70	1	52	1
57	MD	345601	19.6.2007	5	100	0	73	20
58	MK	456109	25.6.2007	15	90	0	62	6
59	MV	465830	27.6.2007	5	0, 1	0	61	0, 02
60	JH	395410	27.6.2007	5	95	2	68	19
61	JH	395410	27.6.2007	70	95	0	68	1, 357142857
62	JK	565129	29.6.2007	90	90	0	51	1
63	JJ	226129	2.7.2007	0, 1	0, 1	0	85	1
64	MŠ	425515	4.7.2007	70	90	0	65	1, 285714286
65	MN	335524	31.7.2007	45	100	0	74	2, 222222222
66	MV	385707	7.8.2007	5	100	0	69	20
67	MV	365407	13.8.2007	80	100	0	71	1, 25
68	MB	435915	17.8.2007	30	90	0	64	3
69	MJ	575601	20.8.2007	40	80	0	50	2
70	AT	216007	28.8.2007	20	90	2	86	4, 5
71	VK	415114	28.8.2007	0, 1	0, 1	3	66	1
72	HS	295130	30.8.2007	70	80	0	78	1, 142857143
73	AS	415503	4.9.2007	0, 1	0, 1	2	66	1
74	BZ	455903	4.9.2007	70	80	0	62	1, 142857143
75	JK	446011	11.9.2007	20	90	0	63	4, 5
76	JR	515714	14.9.2007	70	95	0	56	1, 357142857
77	EM	436206	18.9.2007	90	80	0	64	0, 888888889
78	AV	635620	18.9.2007	0, 1	0, 1	0	44	1
79	ID	666128	18.9.2007	0, 1	0, 1	0	41	1
80	EK	296220	19.9.2007	100	100	0	78	1
81	KM	325323	25.9.2007	40	90	0	75	2, 25
82	JF	345509	25.9.2007	100	90	0	73	0, 9
83	OH	316016	25.9.2007	100	100	0	77	1
84	JV	446006	25.9.2007	15	100	0	63	6, 666666667
85	MK	405303	2.10.2007	60	90	1	67	1, 5
86	IH	666110	2.10.2007	90	80	0	41	0, 888888889
87	JB	765317	5.10.2007	0, 1	0, 1	0	31	1
88	JV	485323	9.10.2007	10	85	1	59	8, 5
89	JK	745813	15.10.2007	10	10	3	33	1
90	MS	575625	16.10.2007	95	95	0	50	1
91	JB	455304	16.10.2007	90	90	0	62	1
92	HK	395905	23.10.2007	0, 1	95	0	68	950
93	MN	356021	30.10.2007	40	95	0	72	2, 375
94	DN	336105	30.10.2007	0, 1	0, 1	0	74	1
95	LH	695905	30.10.2007	10	40	0	38	4
96	DŠ	445331	6.11.2007	90	80	0	63	0, 888888889
97	AP	455430	6.11.2007	100	100	0	62	1
98	JR	525301	13.11.2007	15	90	0	55	6

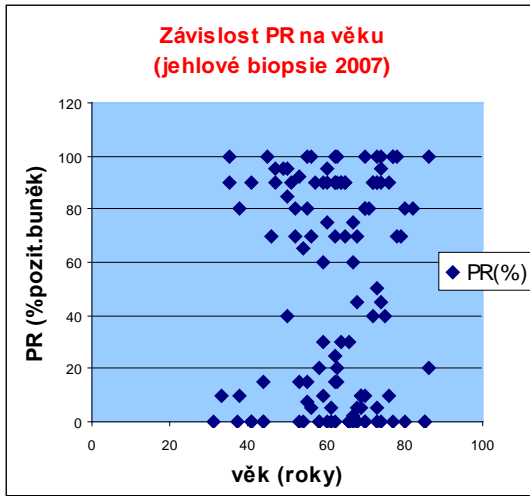
číslo	pacientka	rodné číslo	datum punkce	PR %	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
99	EB	605122	13.11.2007	90	90	1	47	1
100	BZ	425316	13.11.2007	90	100	0	65	1, 111111111
101	EM	425610	13.11.2007	90	90	1	65	1
102	JJ	545309	13.11.2007	15	90	2	53	6
103	DJ	546225	14.11.2007	0, 1	0, 1	3	53	1
104	LH	615608	20.11.2007	70	90	0	46	1, 285714286
105	BF	345224	20.11.2007	90	90	0	73	1
106	AB	395919	20.11.2007	45	80	1	68	1, 777777778
107	VB	345701	20.11.2007	0, 1	90	0	73	900
108	LD	576115	21.11.2007	85	85	1	50	1
109	AČ	536122	27.11.2007	65	30	0	54	0, 461538462
110	JK	375204	27.11.2007	80	90	3	70	1, 125
111	EC	375328	3.12.2007	10	0, 1	0	70	0, 01
112	HŠ	485814	3.12.2007	30	80	1	59	2, 666666667
113	LW	336205	4.12.2007	95	95	0	74	1
114	AŠ	375827	4.12.2007	0, 1	0, 1	3	70	1
115	RS	696010	7.12.2007	80	90	0	38	1, 125
116	BŠ	446027	11.12.2007	100	100	0	63	1
117	HV	376228	18.12.2007	100	100	0	70	1
118	JP	405514	18.12.2007	0, 1	0, 1	1	67	1
119	HK	586118	18.12.2007	95	95	0	49	1
120	AD	255624	18.12.2007	80	80	0	82	1
121	PL	555415	18.12.2008	80	80	0	52	1
MEDIANY				60	90	0	63	

Tabulka č. 10: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2007 (Praha) - operace

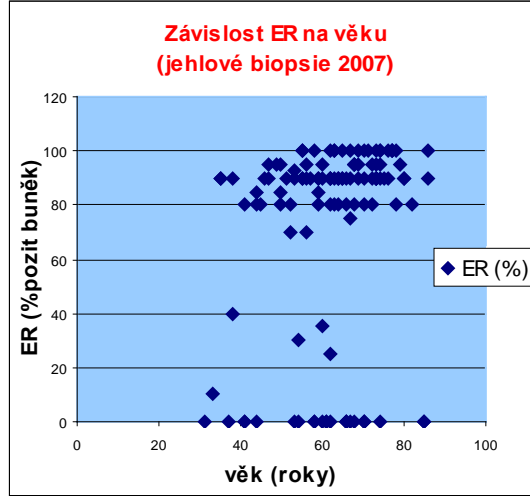
číslo	pacientka	část r.č.	datum operace	PR %	ER %	Her-2	věk	ER/ PR
1	BZ	146101	16.1.2007	95	95	0	93	1
2	VA	535825	31.1.2007	10	90	0	54	9
3	IC	255409	31.1.2007	90	80	1	82	0, 888888889
4	RP	455111	14.3.2007	60	80	0	62	1, 333333333
5	MH	355921	14.3.2007	0, 1	5	0	72	50
6	MJ	376023	22.3.2007	25	25	3	70	1
7	RL	235612	3.4.2007	80	70	0	84	0, 875
8	HH	455918	3.5.2007	0, 1	0, 1	3	62	1
9	JB	476215	5.6.2007	0, 1	0, 1	3	60	1
10	RD	335207	26.6.2007	0, 1	0, 1	3	74	1
11	RS	446117	27.6.2007	25	0, 1	1	63	0, 004
12	DD	615609	16.7.2007	90	70	1	46	0, 777777778
13	OK	665101	12.9.2007	0, 1	0, 1	0	41	1
14	KM	366028	2.10.2007	95	95	0	71	1
15	MN	276207	5.10.2007	80	100	0	80	1, 25
MEDIANY				25	70	0	70	

Graf č. 49 - 54: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2007 (Praha) - jehlové biopsie

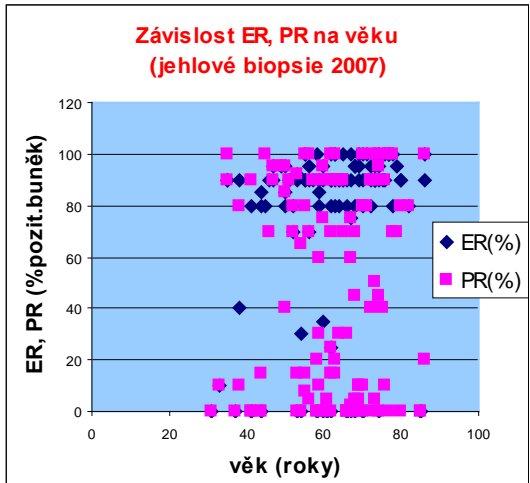
Graf č. 49



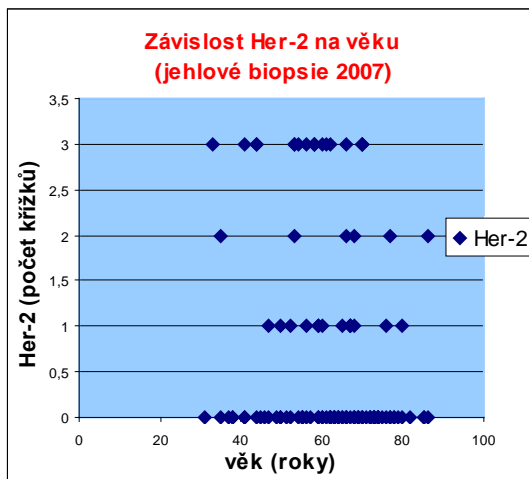
Graf č. 50



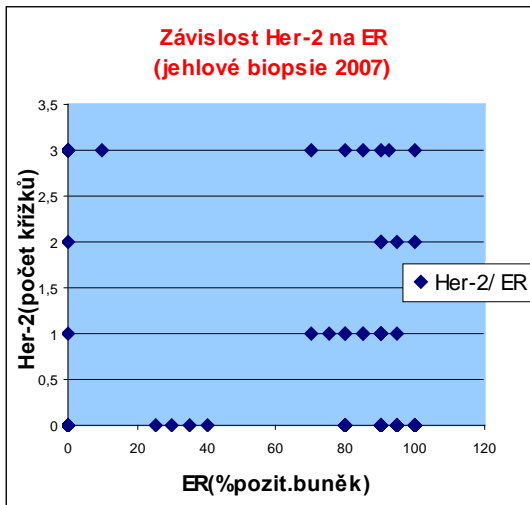
Graf č. 51



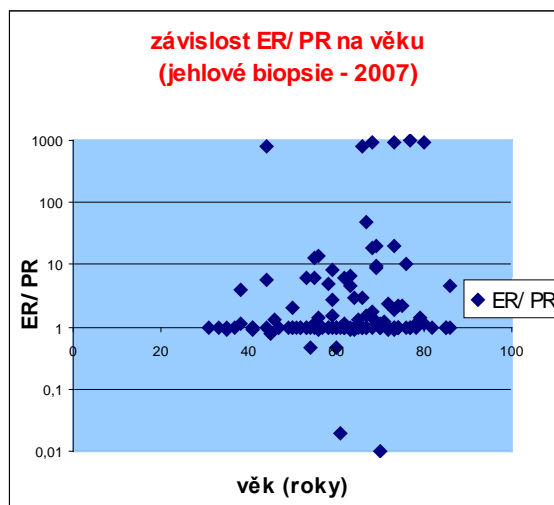
Graf č. 52



Graf č. 53

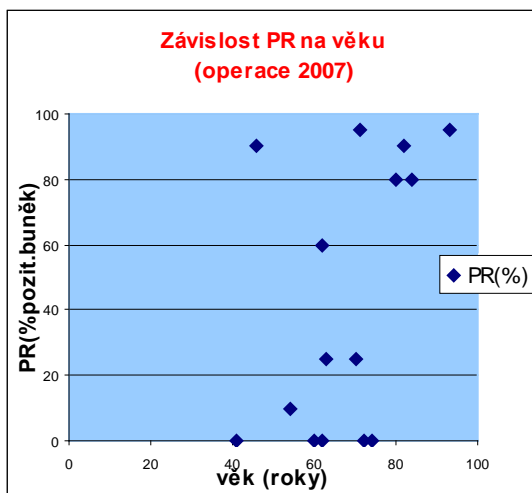


Graf č. 54

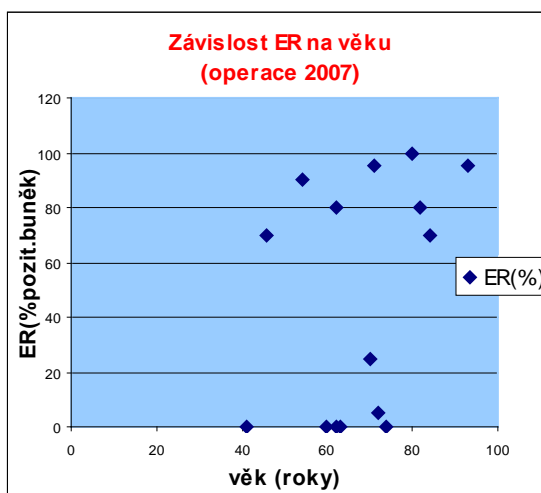


Graf č. 55 – 60: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2007 (Praha) - operace

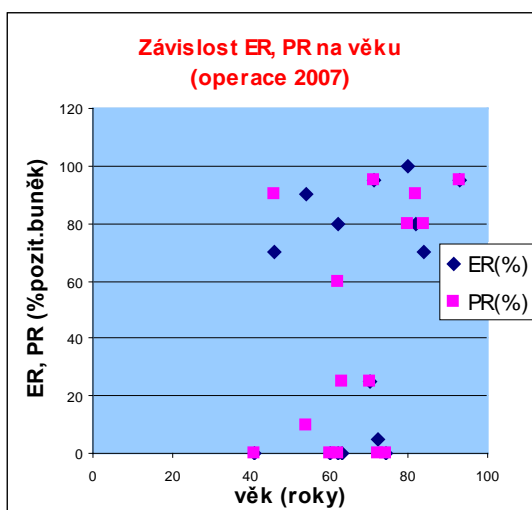
Graf č. 55



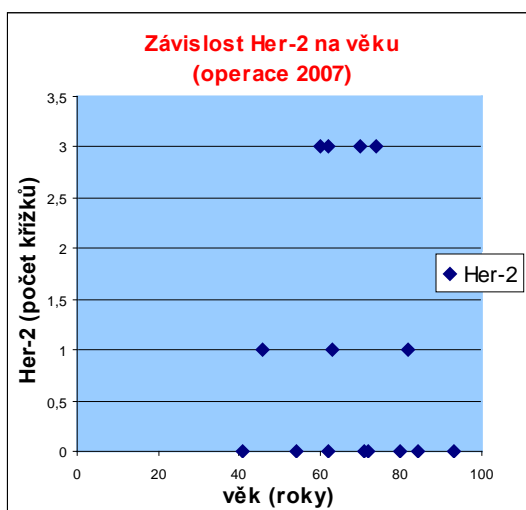
Graf č. 56



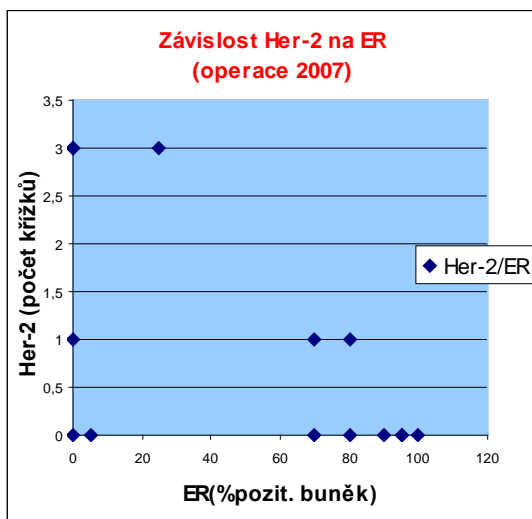
Graf č. 57



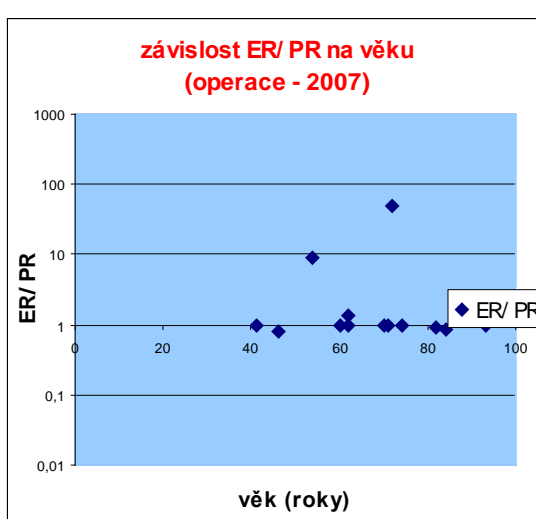
Graf č. 58



Graf č. 59



Graf č. 60



Rok 2008 / leden - červen/

Tabulka č.11: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2008 (Kolín) - jehlové biopsie

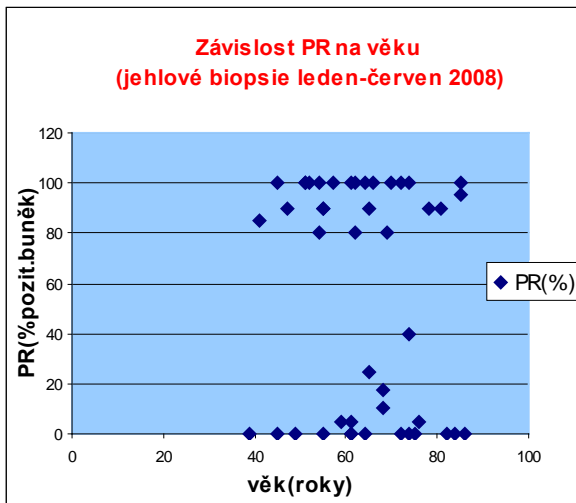
číslo	pacientka	rodné číslo	datum punkce	PR%	ER%	Her-2	věk	typ nádoru/ GRADE	ER/ PR
1	JP	235525	8.1.2008	95	100	2	85	IDC/G2	1, 052632
2	MŠ	615925	8.1.2008	90	95	1	47	IDLC	1, 055556
3	JN	696117	15.1.2008	0, 1	0, 1	0	39	IDC/G3	1
4	IH	346230	15.1.2008	100	100	0	74	IDC	1
5	HN	476106	15.1.2008	5	80	3	61	DCIS	16
6	MP	405403	22.1.2008	17, 5	40	2	68	kribriformní CIS	2, 285714
7	MP	405403	22.1.2008	10	80	2	68	IDC/G1	8
8	RF	235330	22.1.2008	100	100	0	85	ILC	1
9	PM	336007	5.2.2008	0, 1	0, 1	0	75	karcino.sarkom	1
10	DŠ	635507	5.2.2008	0, 1	0, 1	1	45	IDC/G3	1
11	IK	575510	5.2.2008	100	100	1	51	IDC/G1	1
12	OB	575104	6.2.2008	100	100	2	51	IDC/G2	1
13	VZ	365520	11.2.2008	0, 1	0, 1	0	72	nízce dif.karcinom	1
14	RH	465830	12.2.2008	100	100	1	62	ILC	1
15	AN	385601	13.2.2008	100	95	2	70	IDC/G1	0, 95
16	JD	635910	19.2.2008	100	50	0	45	IDC/G3	0, 5
17	HŠ	476021	19.2.2008	0, 1	0, 1	0	61	nízce dif.karcinom	1
18	AB	515311	26.2.2008	100	80	0	57	IDC/G2	0, 8
19	MP	445825	26.2.2008	0, 1	100	0	64	IDC/G3	1000
20	VC	535602	26.2.2008	0, 1	100	1	55	IDC	1000
21	DB	465927	27.2.2008	80	95	1	62	IDC/G1	1, 1875
22	VP	545315	27.2.2008	80	100	0	54	Mucin. karcinom	1, 25
23	MN	495827	29.2.2008	5	5	3	59	IDC/G3	1
24	VM	596123	4.3.2008	0, 1	0, 1	1	49	IDC/G3	1
25	MK	445331	10.3.2008	100	100	1	64	ILC	1
26	MH	435524	19.3.2008	25	25	3	65	IDC/G3	1
27	PD	475524	1.4.2008	100	95	2	61	sekretorický karc.	0, 95
28	JM	545428	1.4.2008	100	100	1	54	tubulární karc.	1
29	DV	565901	8.4.2008	100	100	3	52	IDC/G1	1
30	JK	395503	15.4.2008	80	100	0	69	IDC/G2	1, 25
31	MP	436206	22.4.2008	90	100	2	65	IDC/G3	1, 111111
32	LD	345314	29.4.2008	0, 1	0, 1	0	74	IDC/G3	1
33	MT	306030	13.5.2008	90	100	2	78	papilární karcinom	1, 111111
34	MH	225214	13.5.2008	0, 1	0, 1	3	86	IDC/G3	1
35	AV	536028	20.5.2008	90	90	2	55	ILC	1
36	KŠ ♂	341030	20.5.2008	40	90	2	74	IDC/G3	2, 25
37	ZS	325410	23.5.2008	5	95	1	76	DC	19
38	MV	365310	26.5.2008	100	100	0	72	Mucin. karcinom	1
39	HČ	675211	27.5.2008	85	90	2	41	IDC/G2	1, 058824
40	HK	476014	27.5.2008	0, 1	0, 1	2	61	IDC/G3	1
41	ECH	425401	3.6.2008	100	100	0	66	IDC/G1	1
42	MŽ	245120	3.6.2008	0, 1	0, 1	3	84	HG	1
43	MČ	276114	5.6.2008	90	100	0	81	IDC/G3	1, 111111
44	DB	536217	17.6.2008	90	100	1	55	ILC	1, 111111
45	AP	265524	24.6.2008	0, 1	0, 1	0	82	nízce dif.karcinom	1
MEDIANY				80	95	1	64		

Tabulka č.12: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2008 (Kolín) - operace

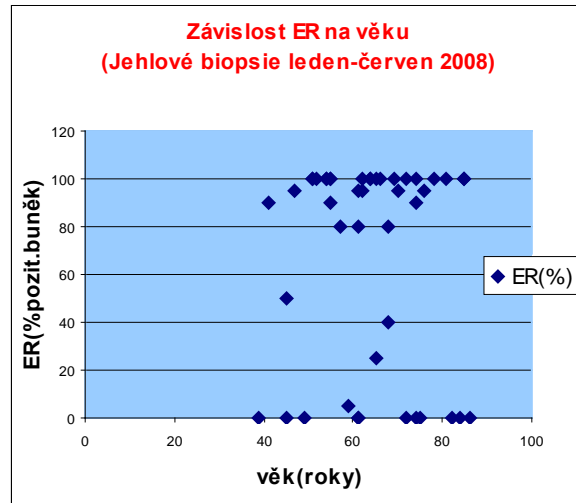
číslo	pacientka	rodné číslo	datum operace	PR%	ER%	Her-2	věk	typ nádoru/ GRADE	ER/ PR
1	MČ	485305	20.2.2008	5	65	0	60	ILC	13
2	MP	336007	4.3.2008	0, 1	0, 1	0	75	IDC/G3	1
3	HB	426010	19.3.2008	90	80	1	66	IDC/G2	0, 888889
4	VM	465702	31.3.2008	0, 1	0, 1	3	62	IDC/G3	1
5	DJ	546225	2.4.2008	0, 1	0, 1	3	54	IDC/G3	1
6	LV	525121	7.4.2008	0, 1	80	0	56	IDC	800
7	JS	465104	16.4.2008	100	100	0	62	Mikroinv.DC/G1	1
8	JS	465104	16.4.2008	50	15	2	62	DCIS	0, 3
9	JS	465104	16.4.2008	80	90	3	62	LCIS	1, 125
10	JV	386207	2.5.2008	0, 1	0, 1	2	70	IDC	1
11	ZM	486026	21.5.2008	0, 1	0, 1	3	60	IDC/G3	1
12	JJ	215319	23.3.2008	100	100	2	87	ILC	1
13	HŠ	476021	10.6.2008	100	100	0	61	IDC/G1	1
14	HŠ	476021	10.6.2008	0, 1	0, 1	0	61	ILC	1
15	JV	386207	13.6.2008	0, 1	0, 1	2	70	IDC/G3	1
MEDIANY				0, 1	15	2	62		

Graf č. 61-66: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2008 (Kolín) - jehlové biopsie

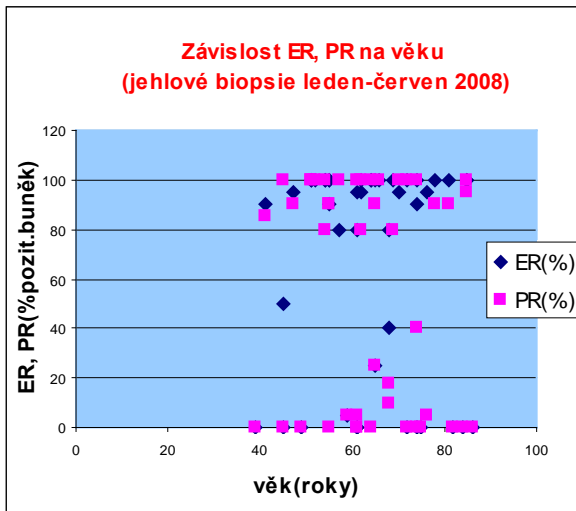
Graf č. 61



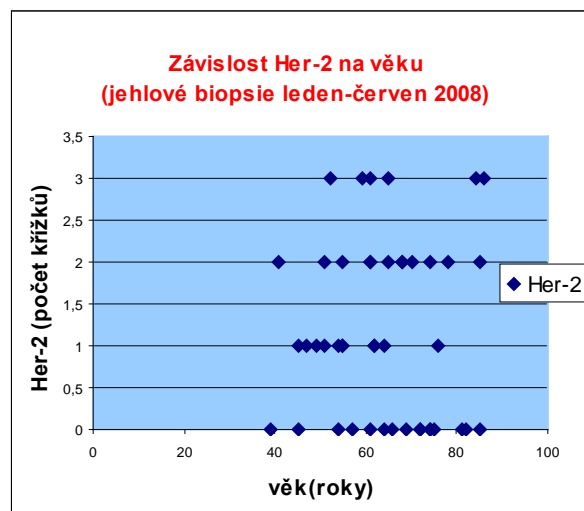
Graf č.62



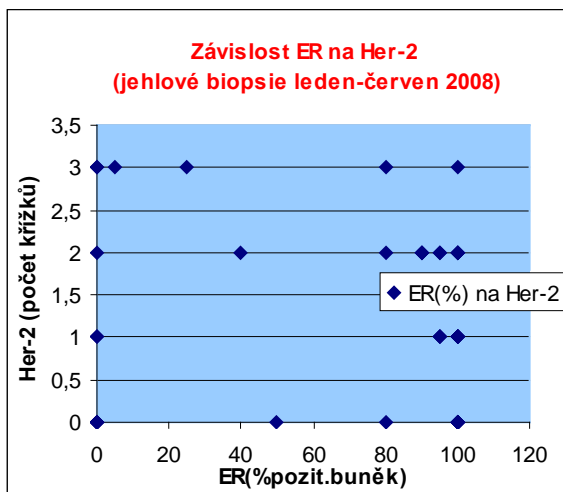
Graf č. 63



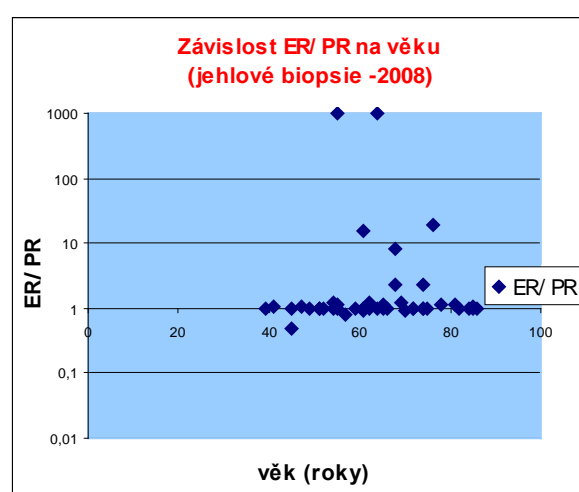
Graf č.64



Graf č. 65

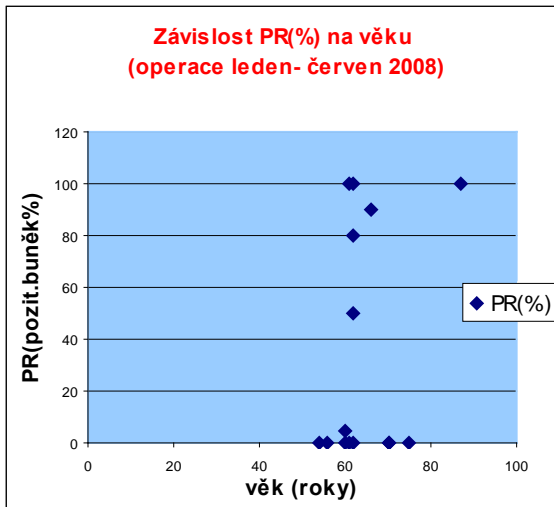


Graf č. 66

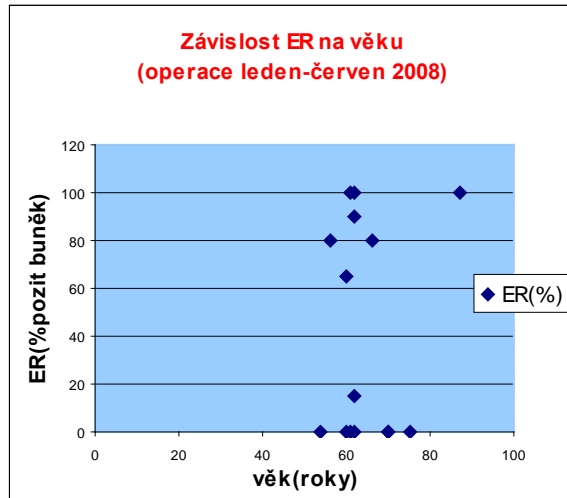


Graf č. 67- 72: vyšetření hormonálních receptorů, rok 2008 (Kolín) - operace

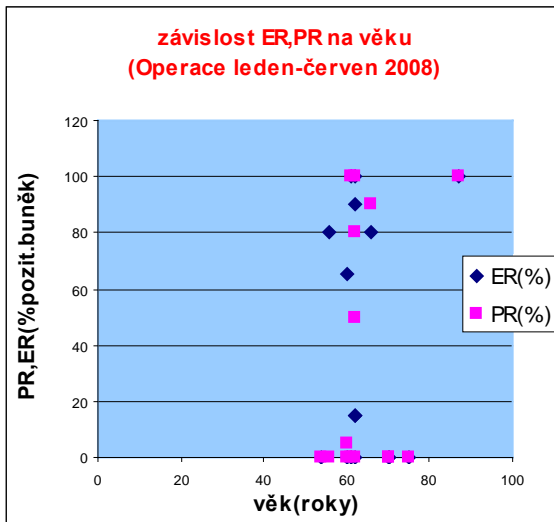
Graf č. 67



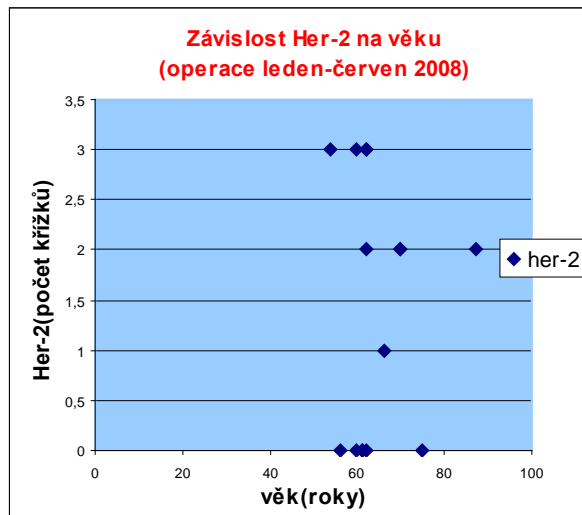
Graf č. 68



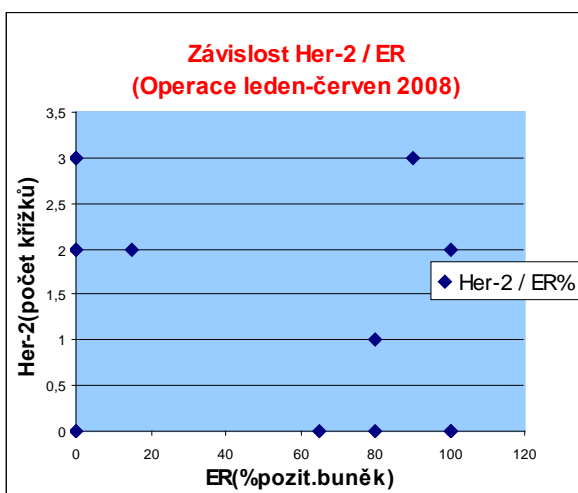
Graf č. 69



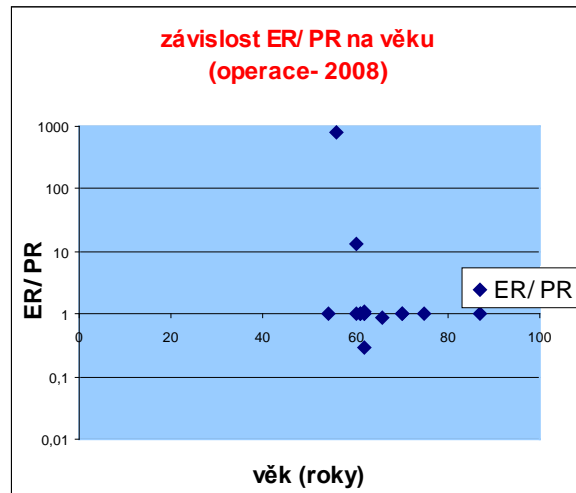
Graf č. 70



Graf č. 71



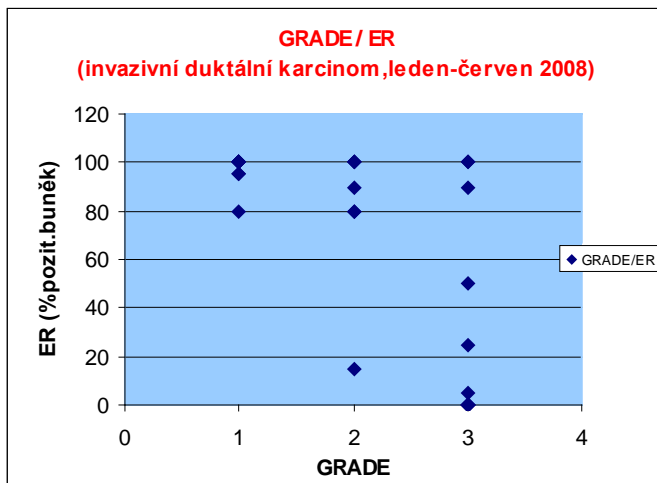
Graf č. 72



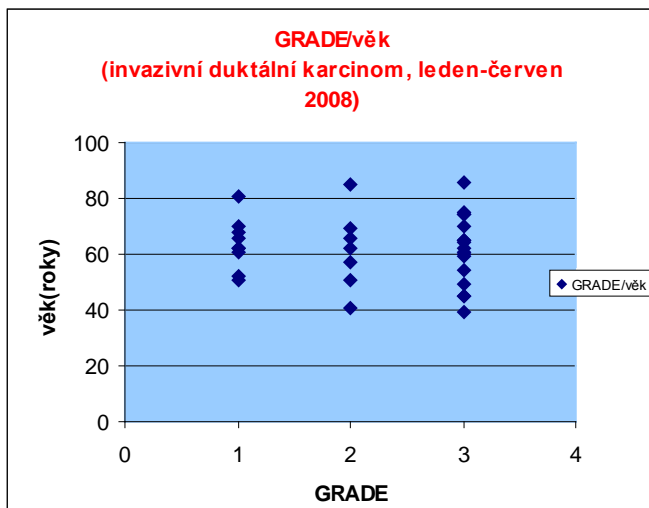
Tabulka č.13: invazivní duktální karcinom, rok 2008(Kolín)- jehlové biopsie+operace vztah GRADEu a hormonálních receptorů

číslo	pacientka	PR%	ER%	GRADE	věk
1	JP	95	100	2	85
2	JN	0, 1	0, 1	3	39
3	MP	10	80	1	68
4	DŠ	0, 1	0, 1	3	45
5	IK	100	100	1	51
6	OB	100	100	2	51
7	AN	100	95	1	70
8	JD	100	50	3	45
9	AB	100	80	2	57
10	MP	0, 1	100	3	64
11	DB	80	95	1	62
12	MN	5	5	3	59
13	PM	0, 1	0, 1	3	75
14	VM	0, 1	0, 1	3	49
15	HB	90	80	2	66
16	MH	25	25	3	65
17	VM	0, 1	0, 1	3	62
18	DJ	0, 1	0, 1	3	54
19	DV	100	100	1	52
20	JK	80	100	2	69
21	JS	100	100	1	62
22	JS	50	15	2	62
23	MP	90	100	3	65
24	LD	0, 1	0, 1	3	74
25	MH	0, 1	0, 1	3	86
26	KŠ♂	40	90	3	74
27	ZM	0, 1	0, 1	3	60
28	HČ	85	90	2	41
29	HK	0, 1	0, 1	3	61
30	ECH	100	100	1	66
31	MČ	90	100	1	81
32	HŠ	100	100	1	61
33	JV	0, 1	0, 1	3	70
	MEDIANY	50	80	3	62

Graf č. 73: Závislost ER(% pozit.buněk) na GRADEu u pacientek s invazivním duktálním karcinmem, rok 2008(Kolín) - jehlové biopsie + operace



Graf č. 74: Závislost GRADEu invazivního duktálního karcinomu na věku pacientky, rok 2008 (Kolín) - jehlové biopsie + operace



Testovací preparáty rok 2007

Tabulka č.14:vyšetření hormonálních receptorů – porovnání výsledků Kolín vs. Praha

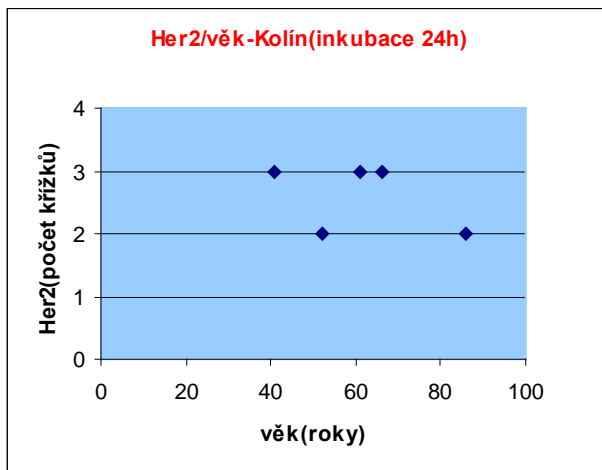
číslo	pacientka	část r.č.	PR%(Kolín)	PR%(Praha)	ER%(Kolín)	ER%(Praha)	Her2(Kolín)	Her2(Praha)	věk
1	AS	415503	0,1	0,1	0,1	0,1	3	2	66
2	BZ	455903	60	70	70	80	2	0	62
3	OK	665101	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0	41
4	MV	465830	0,1	0,1	0,1	0,1	1	0	61
5	JB	765317	0,1	0,1	0,1	0,1	0	1	31
6	MN	276207	40	80	50	100	0	0	80
7	EC	375328	5	10	1	0,1	0	0	70
8	HŠ	485814	50	30	100	80	1	1	59
9	LW	336205	80	95	95	95	0	0	74
10	AŠ	375827	0,1	0,1	0,1	0,1	3	3	70
11	RS	696010	90	80	95	90	0	0	38
12	HK	586118	70	95	60	90	0	0	49
13	PL	555415	80	80	80	80	1	0	52
14	PF	726007	90	90	90	90	2	2	35
15	JV	625415	65	65	70	65	3	3	44

Tabulka č.15: vyšetření Her2- porovnání výsledků Kolín vs. Praha

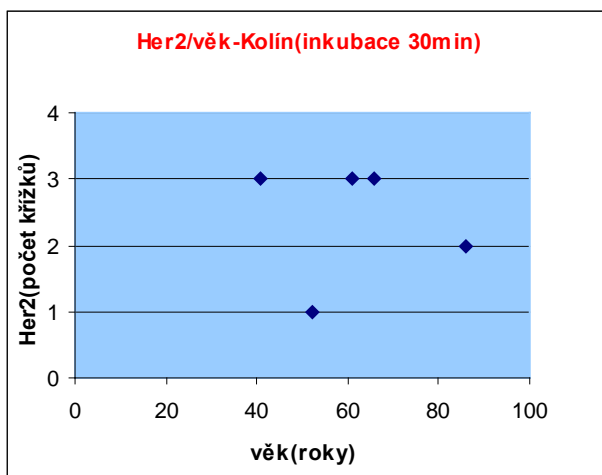
číslo	pacientka	část r.č.	Her2-Kolín(24h inkubace)	Her2-Kolín(30min inkubace)	Her2-Praha	věk
1	JK	465129	3	3	3	61
2	JF	665708	3	3	3	41
3	IB	556029	2	1	1	52
4	AT	216007	2	2	2	86
5	VK	415114	3	3	3	66

Graf č. 75 - 77: Závislost Her-2 na věku - Kolín s 24 h inkubací / Kolín s 30 min inkubací / Praha

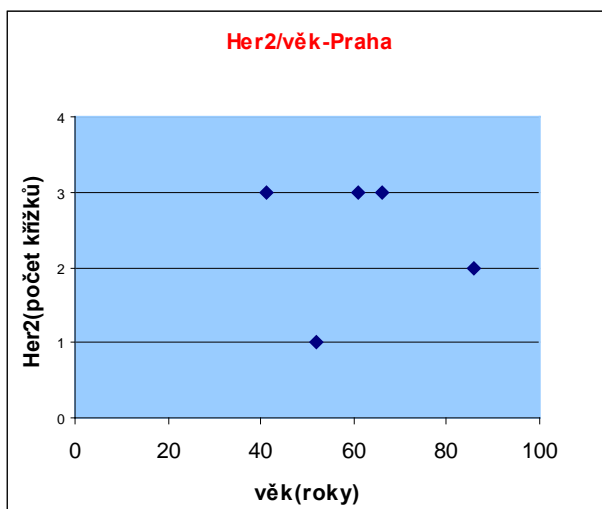
Graf č. 75



Graf č. 76

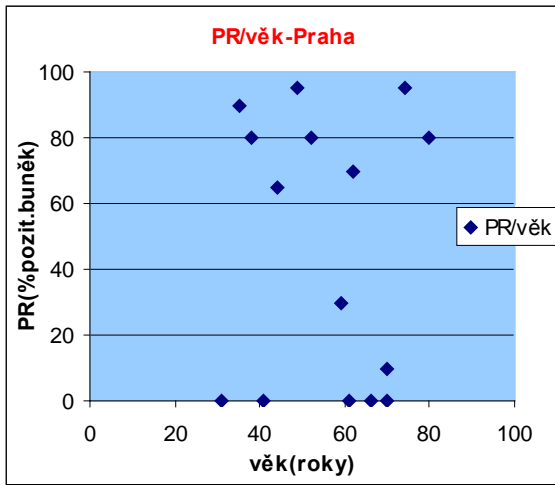


Graf č. 77

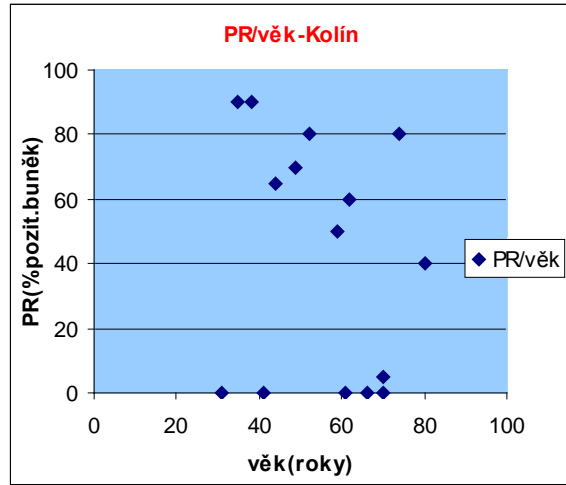


Graf č.78 - 83: vyšetření hormonálních receptorů, testovací preparáty- Kolín vs. Praha

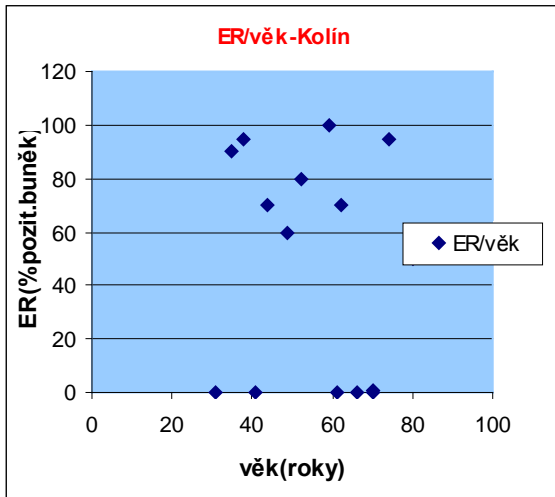
Graf č.78



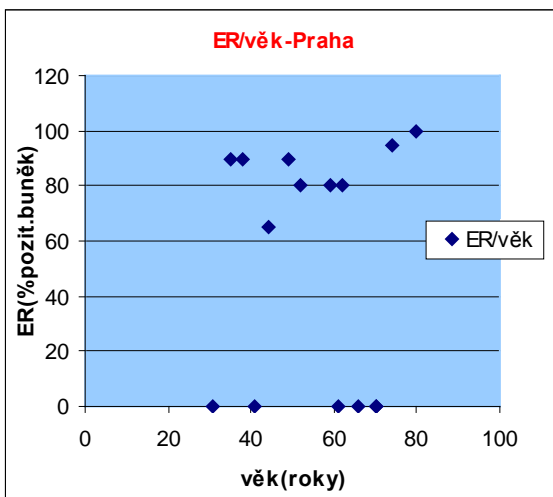
Graf č. 79



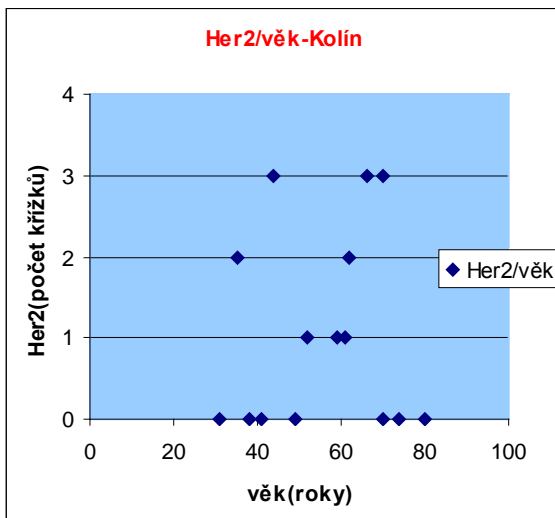
Graf č. 80



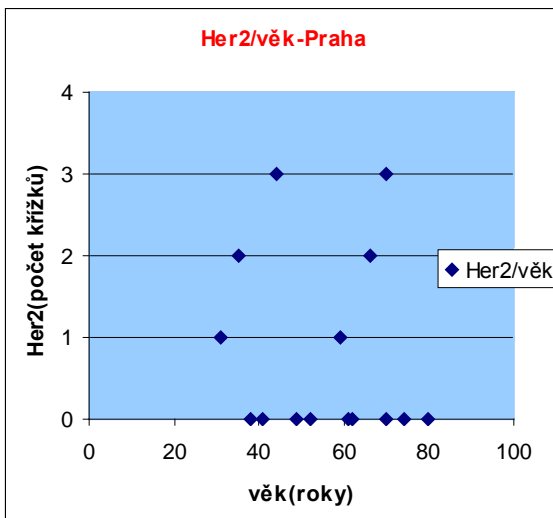
Graf č. 81



Graf č. 82



Graf č. 83



9. SEZNAM ZKRATEK

CIS	karcinom in situ
DAB	3, 3'diaminobenzidin
DCIS	duktální karcinom in situ
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ER	estrogenový receptor
FISH	fluorescenční hybridizace in situ
G1, G2, G3	stupeň diferenciacie nádoru (grade)
HER-2/neu	human EFG receptor/neuroglioblastoma
HRP	křenová peroxidáza
IDC	invazivní duktální karcinom
IDLC	invazivní duktální a lobulární karcinom
IgG	imunoglobulin třídy G
ILC	invazivní lobulární karcinom
LCIS	lobulární karcinom in situ
PBS	fosfátový pufr
PR	progesteronový receptor
TC	tubulární karcinom
WHO	světová zdravotnická organizace
(+)	pozitivita
(-)	negativita

10. POUŽITÁ LITERATURA, ZDROJE

DAVID J. DABBS MD (ed.), Diagnostic Immunohistochemistry, second edition, r. 2006.

FATTANEH A. TAVASSOLI & PETER DEVILEE (ed.), World Health Organization Classification of Tumours. Pathology & Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs, IARC Press, Lyon 2003.

CHRISTOPHER D.M.FLETCHER MD FRCPath(ed.) Diagnostic Histopathology of Tumors, third edition, r. 2007

KOLÁŘ Z. , NENUTIL R. , RYŠKA A. , Doporučený postup pro zpracování a vyšetření bioptických vzorků prsu, Hradec Králové r. 2006.

LUKÁŠ Z., DRÁBEROVÁ E., FEIT J., VOJTĚŠEK B., Imunohistochemické metody v biologii a v bioptické diagnostice, Sborník prací lékařské fakulty v Brně č.112, Vydala: Masarykova universita v Brně r. 1997.

PETRÁKOVÁ K., NENUTIL R., GRELL P., SVOBODA M., FABIÁN P., PALÁCOVÁ M., VYZULA R., Masarykův onkologický ústav Brno, Mechanizmy rezistence na tamoxifen, Klinická onkologie 20.6. 2007, NR 8270-3/20.

PETRUŽELKA L., KONOPÁSEK B., TESAŘOVÁ P., onkologická klinika 1. LF UK a VFN, ústav radiační onkologie 1. LK UK a FNB, Praha, Hormonální léčba- Nové perspektivy a nové možnosti léčby postmenop. žen s hormonálně dependent. karcinomem prsu, Lékařské listy, 7.5. 2007

PETRUŽELKA LUBOŠ, Onkologická klinika 1.LF UK a VFN Praha, Hormonální léčba, ZN, publikováno :19.8. 2004

STRNAD PAVEL, Univerzita Karlova v Praze, 2.LF a FN Motol, G-P-klinika: Karcinom prsu, ZN, publikováno: 17. 9. 2001.

STRNAD PAVEL, Kancerogeneze prsu v postmenopauze a hormonální léčba, Postgraduální medicína, publikováno: 10.10. 2007

SVOBODA TOMÁŠ, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Plzeň, Komplexní onkologické centrum, Adjuvantní léčba karcinomu prsu, Postgraduální medicína, publikováno: 6. 3. 2008.

SVOBODNÍK A. , MÁJEK O. , DANEŠ J. a kol. , Oficiální výsledky národního programu screeningu karcinomu prsu v ČR za období 2003- 2006. IBA Brno, 2007.

Internetové odkazy: vyhledávač- Google
[www. mamma](http://www.mamma), [www. ifh.ee.ethz.ch](http://www.ifh.ee.ethz.ch), [www. few.uu.ne](http://www.few.uu.ne), [upload. wikimedia.org](http://upload.wikimedia.org)

Prohlášení:

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a zdroje jsou uvedeny v seznamu literatury a v práci řádně citovány.

Použitá data i výsledky vyšetření, jsou reálné hodnoty získané z vyšetření pacientek v Oblastní nemocnici Kolín, a.s. v letech 2003- 2008.