

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

Nemocnice Hradec Králové – porovnání histochemických výsledků  
estrogenových a progesteronových receptorů v nádorech prsu s dalšími  
nádorovými markery

**Bakalářská práce**

Školitel: MUDr. Jiří Hochmann, CSc.      Vypracovala: Pezlarová Zuzana  
Hradec Králové, 2011

**Prohlášení:**

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne 5. 12. 2011

.....

## **Poděkování:**

Děkuji mému školiteli MUDr. Jiřímu Hochmannovi, CSc. za cenné rady a připomínky a za ochotu věnovat svůj volný čas nám, studentům.

Dále bych chtěla poděkovat všem pracovníkům Fingerlandova ústavu v čele s přednostou prof. MUDr. Alešem Ryškou, Ph.D. a Zdenou Fejglovou za umožnění vypracování této práce, zvláště pak MUDr. Evě Hovorkové za cennou pomoc při pronikání do tajů nemocniční databáze.

Na neposledním místě bych chtěla poděkovat mé rodině za to, že se o mně doma tak pěkně starala.

V Hradci Králové dne 5. 12. 2011

.....

# OBSAH

1. ZADÁNÍ PRÁCE – CÍL PRÁCE.....	6
2. SOUHRN.....	7
3. SUMMARY.....	8
4. ÚVOD.....	9
5. TEORETICKÁ ČÁST.....	10
<b>5.1. Stručná charakteristika problému.....</b>	<b>10</b>
5.1.1. Stavba prsu.....	10
5.1.2. Karcinom prsu.....	10
5.1.3. Situace v České republice.....	11
<b>5.2. Diagnostika.....</b>	<b>12</b>
5.2.1. Diagnostický proces.....	12
5.2.2. Klasifikace nádorů.....	13
5.2.3. ICD-O klasifikace.....	13
5.2.4. TNM klasifikace.....	15
5.2.5. Prognostické a prediktivní faktory.....	17
<b>5.3. Hormonální receptory.....</b>	<b>18</b>
5.3.1. Estrogenový receptor.....	18
5.3.2. Progesteronový receptor.....	18
<b>5.4. Onkoproteiny HER-2/neu a p53 a proliferační marker Ki-67.....</b>	<b>19</b>
5.4.1. Onkoprotein HER-2/neu (c-erbB-2).....	19
5.4.2. Onkoprotein p53.....	20
5.4.3. Proliferační marker Ki-67.....	20
<b>5.5. Hormonální léčba.....</b>	<b>20</b>
<b>5.6. Biologická léčba.....</b>	<b>21</b>
<b>5.7. Bioptické vyšetření vzorků z prsu.....</b>	<b>22</b>
<b>5.8. Imunohistochemické vyšetření.....</b>	<b>23</b>
5.8.1. Imunohistochemické vyšetření hormonálních receptorů.....	24
5.8.2. Imunohistochemické vyšetření HER-2/neu, Ki-67 a p53.....	24
6. PRAKTICKÁ ČÁST.....	27
<b>6.1. Příprava tkáně k imunohistochemickému vyšetření.....</b>	<b>27</b>
<b>6.2. Obecný průběh imunohistochemické reakce.....</b>	<b>27</b>
<b>6.3. Materiály a reagensie.....</b>	<b>28</b>
6.3.1. Odparafinovací řada.....	28
6.3.2. Demaskování a tlumení.....	28
6.3.3. Primární a sekundární protilátky.....	29
6.3.4. Vizualizace.....	30
6.3.5. Promívací pufr PBS.....	30
6.3.6. Dobarvení.....	31

6.3.7. Odvodnění a zamontování.....	31
<b>6.4. Pracovní postup.....</b>	<b>31</b>
6.4.1. Pracovní postup v kostce.....	34
<b>6.5. Vyjádření výsledků.....</b>	<b>35</b>
6.5.1. Hodnocení ER. PR.....	35
6.5.2. Hodnocení Ki-67.....	36
6.5.3. Hodnocení p53.....	36
6.5.4. Hodnocení HER-2/neu.....	36
<b>7. ZPŮSOB HODNOCENÍ VĚKOVÉ ZÁVISLOSTI.....</b>	<b>37</b>
<b>8. VÝSLEDKY.....</b>	<b>39</b>
8.1. Závislost ER na věku.....	39
8.2. Závislost PR na věku.....	41
8.3. Závislost poměru ER/PR na věku.....	43
8.4. Závislost Ki-67 na věku.....	44
8.5. Závislost p53 na věku.....	46
8.6. Závislost HER-2 na věku.....	48
8.7. Rok 2009 – pacientky léčené.....	49
<b>9. DISKUZE.....</b>	<b>52</b>
9.1. Závislost ER na věku.....	52
9.2. Závislost PR na věku.....	52
9.3. Závislost poměru ER/PR na věku.....	53
9.4. Závislost Ki-67 na věku.....	53
9.5. Závislost p53 na věku.....	53
9.6. Závislost HER-2 na věku.....	54
9.7. Rok 2009 – pacientky léčené.....	54
<b>10. ZÁVĚR.....</b>	<b>55</b>
<b>11. SEZNAM ZKRATEK.....</b>	<b>56</b>
<b>12. POUŽITÁ LITERATURA A ZDROJE.....</b>	<b>58</b>
<b>13. PŘÍLOHY.....</b>	<b>62</b>

# 1. Zadání práce – cíl práce

**Katedra biologických a lékařských věd**

**Akademický rok:** 2010/2011

**Jméno a příjmení:** Zuzana Pezlarová

**Studijní program:** Zdravotnická bioanalytika – kombinovaná forma studia

**Vedoucí bakalářské práce:** MUDr. Jiří Hochmann, CSc.

**Název bakalářské práce:** Nemocnice Hradec Králové – porovnání histochemických výsledků estrogenových a progesteronových receptorů v nádorech prsu s dalšími nádorovými markery

**Název bakalářské práce v angličtině:** Hospital Hradec Králové – comparison of the histochemical results of estrogen and progesterone receptors in the breast tumours with the other tumour markers

## **Zásady pro vypracování:**

1. Vypsání a zpracování poznatků z české učebnicové, časopisové a internetové literatury.
2. Vypracování přehledu z doporučených diplomových a bakalářských prací.
3. Zhotovení tabulky výsledků různých vyšetření u pacientek s karcinomem prsu u sledované nemocnice v programu Excel.
4. Zhotovení grafů vzájemných závislostí výsledků jednotlivých vyšetření.
5. Slovní popis zjištěných závislostí a jejich porovnání s analogickými výsledky z jiných nemocnic.
6. Celkové vyhodnocení v Diskuzi a Závěru.
7. Rozsah práce 30 stran.

## **Seznam odborné literatury:**

1. Diplomová práce Hanáková, Dvořáková
2. Bakalářské práce Bláhová, Karásková, Pešinová, Pöpperlová
3. Učebnice např. onkologie
4. Internetové databáze – především česky psané časopisové zdroje

**Poznámka:** Experimentální bakalářská práce musí citovat minimálně 15 relevantních informačních zdrojů.

## 2. SOUHRN

V teoretické části práce se věnujeme stručné stavbě prsu, obecným otázkám vzniku nádorového bujení v této lokalizaci a popisujeme vlastnosti charakterizující karcinomu prsu. Dále uvádíme několik statistických údajů.

Zabýváme se diagnostickým postupem od prvního kontaktu pacientky s lékařem až po stanovení diagnózy. Uvádíme základní principy morfologické klasifikace nádorů. Zmiňujeme mezinárodní klasifikaci nádorů vydanou Světovou zdravotnickou organizací, pravidla určování stádia nádorového onemocnění, grading a také prognostické a prediktivní faktory.

Soustředíme se na stanovení těchto pěti nádorových markerů: estrogenového a progesteronového receptoru, proteinu HER-2/neu, proliferačního markeru Ki-67 a proteinu p53. Vysvětlujeme význam vyšetření těchto nádorových markerů pro možnost využití hormonální a biologické léčby.

Vyšetření hormonálních receptorů (estrogenového a progesteronového) a onkoproteinu HER-2/neu je dnes prováděno u každé pacientky s diagnózou invazivního karcinomu prsu. Vyšetření proliferační aktivity nádorových buněk a exprese proteinu p53 pak pomáhá stanovit progózu onemocnění.

V praktické části stručně popisujeme zpracování vyšetřované tkáně běžnou histologickou technikou a obšírněji pak popisujeme hlavní předmět našeho zájmu – imunohistochemické vyšetření nádorové tkáně. Uvádíme pracovní postup se slovním popisem jednotlivých kroků a snažíme se o zdůraznění bodů, které jsou důležité pro správný průběh imunohistochemické reakce.

Zpracovali jsme výsledky imunohistochemických vyšetření estrogenových a progesteronových receptorů, onkoproteinu HER-2/neu, proliferačního markeru Ki-67 a supresorového proteinu p53 provedených ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové u pacientek s invazivním karcinomem prsu v roce 2009.

Údaje jsme zpracovali formou tabulek a graficky a vyhodnotili jsme závislost jednotlivých markerů na věku pacientek. Dále jsme srovnávali výsledky získané jehlovou biopsií a při operaci. Tyto výsledky jsme srovnávali v závislosti na gradu (stupni vyzrálosti) nádoru.

### **3. SUMMARY**

In the theoretical part of the work we briefly discuss about composition of the breast, general questions about carcinogenesis in this localization and some of the features of the breast cancer. Below we show in several statistical data.

We describe diagnostic order from first contact of the patient with doctor to time of the determination of definitive diagnosis. We mention basic principles of morphological classification of the tumors as well as international classification of the tumors published by World Health Organization, basic rules how to define staging, grading, prognostic and predictive markers of the breast cancer.

We concentrate on determination of these five tumor markers: estrogen and progesterone receptors, protein HER-2/neu, proliferation marker Ki-67, and tumor suppressor protein p53. We explain value of examination those markers for later on use for hormonal and biological treatment.

Today routine is to do examination of hormonal receptors (estrogen and progesterone) and onkoprotein HER-2/neu to every patient with invasive breast cancer. The other markers such as proliferation marker Ki-67 and expression of the protein p53 help us to predict prognosis of the illness.

In the practical part we shortly describe process of the tissue examination with standard histological technique and after we more extensively describe the main subject of our interest – imunohistochemical examination of the tumor tissue. We will go throught the working steps with the short description of each one and we will point out those parts which are the most important for correct running of imunohistochemical reaction.

We processed the results of imunohistochemical examination of our markers (estrogen and progesterone receptors, onkoprotein HER-2/neu, proliferation marker Ki-67 and tumor suppressor protein p53). The examination was done on material obtained from patients with invasive breast cancer from the year 2009 in Faculty Hospital Hradec Králové.

At the end, information which we obtained, we put into the tables and graphs and we assessed correlation between our markers and age of the patients. After all we compare results from needle biopsies before and after operation. These results we compare depending on grading of the tumors.



## 4. ÚVOD

Naším cílem při zpracování této práce bylo nastínit problematiku imunohistochemických vyšetření markerů, používaných v diagnostice karcinomu prsu. Zaměřili jsme se na pět nádorových markerů v praxi standardně využívaných. Zpracovali a vyhodnotili jsme výsledky těchto vyšetření u pacientek, kterým byl diagnostikován invazivní karcinom prsu ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové v roce 2009.

Využili jsme bohatých zkušeností s imunohistochemickým vyšetřením nádorových markerů u karcinomu prsu na Fingerlandově ústavu patologie, kde vyšetřujeme nejen vzorky z Královéhradecka, ale nezanedbatelné množství vzorků přichází z celé České republiky jako konzultační. Nádorové markery jsou zde u karcinomu prsu vyšetřovány již více než deset let.

Námi zpracované výsledky mohou sloužit především k porovnání výsledků těchto nádorových markerů s jinými laboratořemi.

Hlavním cílem této práce je porovnání závislosti výsledků nádorových markerů na věku pacientek a porovnání výsledků získaných jehlovou biopsií s výsledky získanými při operaci.

## 5. TEORETICKÁ ČÁST

### 5.1. Stručná charakteristika problému

#### 5.1.1. Stavba prsu

Prs obsahuje tkáň různého původu. Obsahuje především samotnou mléčnou žlázu tvořenou 15-20 žlázovými laloky se svými vývody. Žlázové laloky obsahují tuboalveolární žlázy. Alveoly jsou vlastní sekretorickou částí mléčných žláz.

Mléčná žláza je ektodermového původu, vyvíjí se za nitroděložního života jedince z pruhovitého ztluštění epitelu známého jako mléčná lišta. U dospělé ženy jsou vytvořeny vlastně pouze základy žlázových lalůčků-lobulů, které počínají proliferovat a vytvářet skutečné sekretorické části žlázy až v době těhotenství. Dále je prs tvořen množstvím tkáně tukové, tkání vazivovou, je samozřejmě cévně a nervově zásoben a povrch prsu je kryt kůží s bradavkou.

Klinicky nejdůležitější je lymfatická drenáž prsu. Většina lymfy je odváděna do axilárních uzlin, zbytek odtéká do uzlin parasternálních. Případné nádorové buňky jsou tedy jako první zaneseny právě do axily. Z praktického hlediska je důležité, že mezi lymfatickými cévami obou prsů existují spojky.

V normě je většina lymfy, tj. 75 – 95 % odváděna do axilárních uzlin. Zbývajících 5 – 25 % odtéká do uzlin parasternálních. Tento poměr odpovídá počtu vyskytujících se metastáz (Eliška, Elišková, 1998).

Tkáň prsu jsou hormonálně dependentní a podléhají výrazným změnám v závislosti na hladině hormonů, především estrogenů, gestagenů a prolaktinu.

Hlavním gestagenem je progesteron. Progesteron stimuluje hypertrofii alveolů v prsní žláze. Estrogeny v prsní žláze zvyšují růst a diferenciaci epitelu žlázových vývodů a zvyšují proliferaci cylindrických buněk těchto vývodů. Zvyšují obsah pojivové tkáně v prsu (Nečas, 2004).

#### 5.1.2. Karcinom prsu

V prsu, tak jako v jakémkoliv jiné lokalizaci, může dojít ke vzniku jak nenádorových změn, tak ke vzniku nezhooubného a zhoubného nádorového bujení. Mezi nenádorové změny spojené s proliferací buněk patří fibrózní a cystické mastopatie-změny objevující se v prsní žláze vlivem hormonů a různé typy hyperplázií. Rozlišujeme hyperplázie typické a atypické podle vzhledu buněk a vzhledu jejich mitóz. Z klinického hlediska je důležité, že některé atypické hyperplázie jsou spojeny s vyšší pravděpodobností vzniku invazivního karcinomu.

Mezi časté benigní nádory v prsu patří fibroadenom. Je dobře ohraničený a dobře hmatný a u žen do 30 let častý.

I když se v prsu velmi vzácně může vyskytnout i jiný typ nádoru, zhoubný nádor v prsu bývá

prakticky vždy karcinom, tedy nádor původem ze žlázo­vého epitelu. Karcinomy dělíme na invazivní a neinvazivní neboli karcinomy in situ. Karcinomy in situ mají buňky proliferující jen v epitelové vrstvě bez porušení bazální membrány epitelu. 70–80 % všech karcinomů tvoří invazivní duktální karcinom. Nádorové buňky pocházejí z epitelu žlázo­vých vývodů. Druhým nejčastějším typem je invazivní lobulární karcinom. Nádorové buňky původem ze žlázo­vých lalůček jsou roztroušeny ve vazivu mezi normálními vývody. Může se vyskytnout i karcinom smíšený, s duktální i lobulární složkou.

Karcinom prsu patří k nádorům pozdně metastazujícím. Je nutno zdůraznit, že se tedy jedná o systémové onemocnění a nikoliv o lokální záležitost.

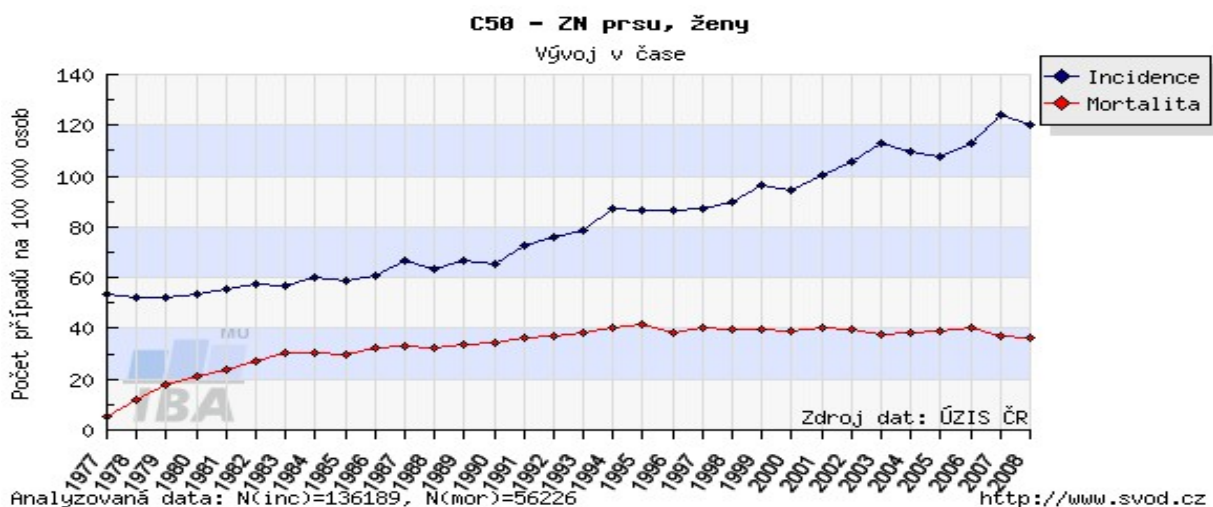
Karcinom prsu je v současné době považován za systémové onemocnění. Jestliže je zachycen v časném stádiu, může být za určitých podmínek postačující lokální léčba (Abrahámová, 2002).

Karcinom prsu postihuje převážně ženy a to nejčastěji mezi 60–64 lety. U mužů se vyskytuje vzácně a představuje necelé 1 % všech zhoubných nádorů u mužů.

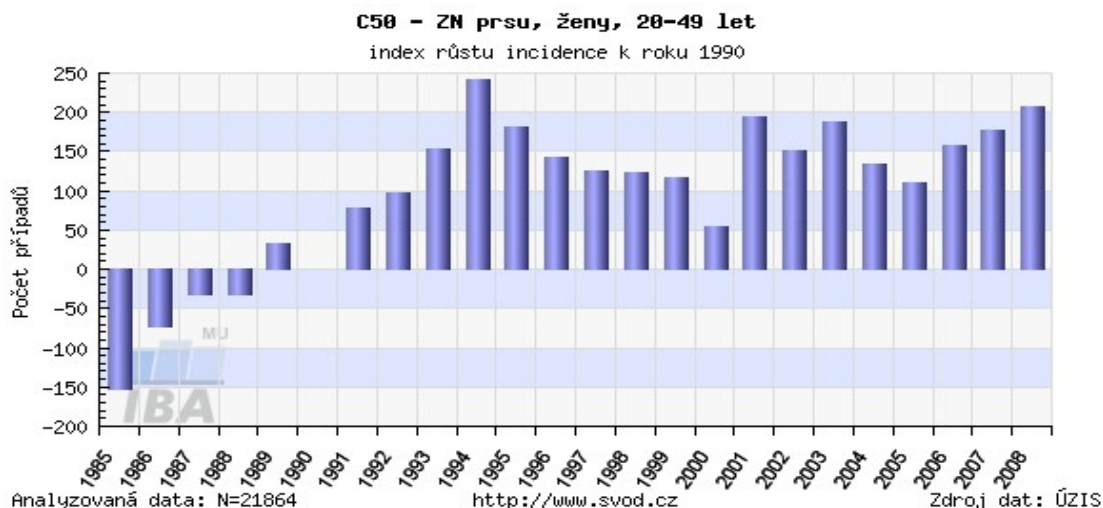
Incidence karcinomu prsu se zvyšuje s věkem, zdvojuje se každých 10 let až do menopauzy a poté se dále každoročně dramaticky zvyšuje. Nejprudší vzestup je po 50. roce věku. Před 20. rokem je výskyt karcinomu prsu vzácný (Abrahámová, Büchler, 2007).

### 5.1.3. Situace v České republice

Karcinom prsu je nejčastěji se vyskytující nádorové onemocnění žen u nás. I přes určité pokroky v časnějším záchytu onemocnění a v léčbě patří nadále k velmi závažným. Incidence tohoto onemocnění má dlouhodobě stoupající tendenci a také úmrtnost na toto onemocnění je stále ještě vysoká (viz obrázek č. 1). Alarmující fakt devadesátých let min. století, kdy mezi postiženými ženami se objevovaly ve větším počtu mladší ročníky, se zdá být minulostí a další nárůst v mladších věkových kategoriích již není tak výrazný (viz obrázek č. 2).



Obrázek č. 1: Incidence a mortalita u zhoubných nádorů prsu žen v ČR (Dušek et al., 2005)



Obrázek č. 2: Růst incidence u zhoubných nádorů prsu žen mezi 20 a 49 lety, vztaheno k r. 1990 (Dušek et al., 2005)

Podstatně se zvýšil záchyt karcinomu prsu v časných stádiích. Asi pětina karcinomů prsu je již čtvrtý rok zachycována v rámci organizovaného mammárního screeningu. Existuje také funkční program pro záchyt a dispenzarizaci žen s dědičně zvýšeným rizikem karcinomu prsu. Jsou pojmenována komplexní onkologická centra (Žaloudík, 2006).

## 5.2. Diagnostika

### 5.2.1. Diagnostický proces

Včasné a kvalitní určení diagnózy je u karcinomu prsu zásadní pro správnou volbu léčebného postupu a pro prognózu dalšího vývoje onemocnění. S pacientkou přichází jako první do styku praktický či klinický lékař, který při podezření na patologický proces v prsu zpravidla odesílá pacientku ke specialistovi. Žádný nález necharakteristických příznaků onemocnění prsu či dokonce hmatného útvaru v prsu nesmí být podceňován. Základem je zjištění úplné osobní a rodinné anamnézy zaměřené na přítomnost rizikových faktorů. Mezi prokázané rizikové faktory patří: věk, karcinom prsu u pokrevních příbuzných, karcinom druhostranného prsu, delší doba estrogenní stimulace, pozdní věk prvního těhotenství, atypická hyperplázie prsu, ozáření prsu, obezita a pravděpodobně i dlouhodobé užívání estrogenů. Také výskyt jiného maligního onemocnění zvyšuje riziko vzniku karcinomu prsu.

Základní zobrazovací vyšetřovací metodou je mamografie a ultrazvukové vyšetření.

Pro schopnost odhalit ve větší míře i malé nehmavné nádory je mamografie vhodná pro screening karcinomu prsu a dále při dispenzarizaci pacientek s maligní lézí či s vysokým rizikem vzniku karcinomu. Prakticky žádný chirurgický výkon nesmí být proveden bez předchozí mamografie (Konopásek, Petruželka, 1997).

Ultrazvukové vyšetření prsu doplňuje mamografii a je metodou první volby u žen mladých,

těhotných a kojících, pro které naopak není vhodná mamografie.

Při pozitivním výsledku je nutno ověřit, o jaký typ nádoru se jedná a pokusit se předpovědět jeho biologické vlastnosti a chování. Toto je možné pouze mikroskopicky okem zkušeného patologa. Histologická verifikace je podmínkou pro zahájení léčby.

Histopatologické vyšetření léze za účelem její diagnostické klasifikace má podle současných poznatků absolutní prioritu před vyšetřením molekulárně-biologickým, mikrobiologickým či kryokonzervací v tkáňové bance. Odběr části tkáně pro tyto účely může provádět pouze erudovaný patolog a to jen za předpokladu, že odběr tkáně nepovede k ohrožení validity histopatologické klasifikace léze (Kolář, Nenutil, Ryška, 2007).

### **5.2.2. Klasifikace nádorů**

Klasifikace je zařazení nádoru do určité skupiny nádorů, které mají shodnou morfolologii, vlastnosti a chování.

Úkolem histopatologa je:

- určení histologického typu nádoru; skládá-li se nádor z vícero složek, určení typu každé z nich a jejich poměrné zastoupení – typizace (typing).
- určení stupně diferenciaci nádoru – grading.
- určení velikosti nádoru v mm.
- určení přesné vzdálenosti tumoru od okraje chirurgického řezu v mm.
- určení typu šíření nádoru do okolí, velikosti intraduktální komponenty v procentech, vyjádření se k případné invazi nádorových buněk do lymfatických nebo krevních cév (lymfangioinvaze, angioinvaze), případně přítomnosti perineurálního šíření.

Pokud je provedena exenterace axily, vyjadřuje se histopatolog také k tomu, kolik uzlin bylo odstraněno, kolik vyšetřeno a kolik z nich je postiženo metastatickým procesem. Na základě těchto informací histopatolog určuje stádium nádorového procesu – staging.

U 25 % patientek s negativními axilárními uzlinami při rutinním histologickém vyšetřování se při pečlivém prokrájení a imunohistochemickém vyšetření najdou okultní metastázy. Přítomnost těchto okultních axilárních metastáz ovlivňuje celkové přežití a přežití bez příznaků nemoci u premenopauzálních patientek, ale nikoliv u postmenopauzálních (Cummings et al., 2002).

### **5.2.3. ICD-O klasifikace**

Existuje podrobná mezinárodní klasifikace nádorů ICD-O (z anglického International classification of diseases in oncology) vydaná Světovou zdravotnickou organizací, jejímž cílem je jednoznačná identifikace každého nádorového onemocnění.

Každý nádor má přiřazeny dva kódy: jeden, určující jeho topografii a druhý morfologický, určující histologický typ nádoru. Karcinom prsu má topologický kód C50 a dalším číslem

v pořadí je ještě upřesněna jeho lokalizace:

C50 – Zhoubný novotvar prsu

C500 – Bradavka – mamilla a dvorec – areola

C501 – Střední část prsu

C502 – Horní vnitřní kvadrant prsu

C503 – Dolní vnitřní kvadrant prsu

C504 – Horní zevní kvadrant prsu

C505 – Dolní zevní kvadrant prsu

C506 – Axilární část prsu

C508 – Léze přesahující prs

C509 – Prs, NS

D05 – Carcinoma in situ prsu

D050 – Lobulární carcinoma in situ

D051 – Intraduktální carcinoma in situ

D057 – Jiné carcinoma in situ prsu

D059 – Carcinoma in situ prsu, NS

D24 – Nezhoubné novotvary prsu

D486 – Novotvary nejistého nebo neznámého chování jiných a neurčených lokalizací – prs.

N60 – Nezhoubná dysplázie prsu

N600 – Solitární cysta prsu

N601 – Difúzní cystická mastopatie

N602 – Fibroadenóza prsu

N603 – Fibroskleróza prsu

N604 – Rozšíření mléčného vývodu

N608 – Jiná benigní dysplázie prsu

N609 – Benigní dysplázie prsu, NS

N62- Hypertrofie prsu

- Gynekomastie

- Hypertrofie prsu, NS

N63 – Neurčitá bulka v prsu

N64 – Jiná onemocnění prsu

N641 – Tuková nekróza prsu

N643 – Galaktorea nesdružená s porodem

N644 – Mastodynie

N645 – Jiné příznaky a symptomy prsu

N648 – Jiná neurčená onemocnění prsu

N649 – Onemocnění prsu, NS

Pozn.: NS .....nespecifikován

Morfologický kód (M-kód) je pětímístné číslo a určuje prvními čtyřmi číslicemi histologický typ nádoru. Pátá číslice za zlomkovou čarou pak charakterizuje biologické vlastnosti nádoru.

Uvádíme příklady M-kódů těch typů karcinomů (carcinoma – zkratka ca), které se

vyskytují u pacientek v této práci:

#### I. Neinfiltrující – karcinomy in situ (prekancerózy)

8500/2	Intraduktální neinfiltrující ca, NS
8503/2	Intraduktální neinfiltrující papilární ca
8520/2	Lobulární ca neinfiltrující

#### II. Infiltrující

8520/3	Invazivní lobulární ca
8500/3	Invazivní duktální ca
8503/3	Invazivní papilární ca
8522/3	Kombinovaný duktální a lobulární ca
8480/3	Mucinózní ca (koloidní ca)
8211/3	Tubulární ca
8050/3	Papilární ca, NS
8430/3	Mukoepidermoidní ca
8140/3	Adenokarcinom, NS

Pozn.: NS .....nespecifikován

Poslední, šestá číslice, vyjadřuje stupeň vyzrálosti nádoru neboli podobnost s tkání původní, ze které nádor vzešel tzv. grade. Také se označuje písmenem G a je důležitým prognostickým a prediktivním údajem:

G<sub>x</sub> ..... nelze stanovit stupeň diferenciac

G<sub>1</sub> ..... dobře diferencovaný nádor

G<sub>2</sub> ..... středně diferencovaný nádor

G<sub>3</sub> ..... málo diferencovaný nádor

G<sub>4</sub> ..... nediferencovaný nádor

Histopatologický grading neinvazivních lobulárních a duktálních neoplázií vychází z doporučení WHO. Grading invazivních karcinomů prsu vychází z Nottinghamského systému (totožný se systémem publikovaným Elston a Elisem v roce 1991, který je rovněž doporučován WHO) (Kolář, Nenutil, Ryška, 2007).

#### **5.2.4. TNM klasifikace**

Název je dán třemi komponentami, které sledujeme: tumor, nodus a metastáza.

TNM klasifikace slouží k posouzení stádia nádorového onemocnění. Je to nejvíce používaný způsob klasifikace. Rozlišujeme TNM klasifikaci klinickou (předoperační) neboli cTNM

založenou na klinickém vyšetření včetně zobrazovacích metod a TNM klasifikaci patologickou (pooperační) neboli pTNM, která upřesňuje klasifikaci klinickou a je rozhodující pro odhad prognózy onemocnění.

Rozsah nemoci nám charakterizují 3 složky:

T (tumor) – primární nádorové ložisko

N (nodus) – metastáza v regionálních lymfatických uzlinách

M (metastáza) – vzdálená metastáza

Zhodnocení těchto tří složek nám umožní rozdělení do klinických stadií:

Stadium 0

Tis No Mo (ca in situ, žádné metastázy v regionálních lymf. uzlinách ani vzdálené metastázy)

Stadium I

T1 No Mo (nádor má v největším průměru 20 mm a méně)

Stadium IIA

To N1 Mo (není přítomen primární nádor, metastáza stejnostranných axilárních lymf. uzlin)

T1 N1 Mo

T2 No Mo (velikost primárního ložiska je od 20 do 50 mm)

Stadium IIB

T2 N1 Mo

T3 No Mo (nádor je větší než 50 mm v největším průměru)

Stadium IIIA

To N2 Mo (metastáza stejnostranných axilárních lymf. uzlin, fixace postižené uzliny k okolí)

T1 N2 Mo

T2 N2 Mo

T3 N1 Mo

T3 N2 Mo

Stadium IIIB

T4 jakékoli N Mo (primární nádor jakékoliv velikosti, který se šíří na hrudní stěnu či na kůži)

jakékoli T N3 Mo (metastázy v lymf. uzlinách podél tepny a. mammaria interna)

Stadium IV

jakékoli T jakékoli N M1 (přítomnost vzdálené metastázy včetně metastázy do supraklavikulárních lymf. uzlin)

Informace o metastáze v lymfatické uzlině může být doplněna a upřesněna, např. o velikost metastázy – používá se zkratka „mi“ pro mikrometastázy (metastázy do velikosti 2 mm). Údaj o přítomnosti vzdálené metastázy bývá doplněn zkratkou charakterizující její lokalizaci. Používá se ještě několik dalších zkratek, které doplňují základní informace, např. zkratka „r“ pro recidivující nádor apod.

Aby mohl histopatolog stanovit pTNM, je potřeba odstranit celé primární ložisko. Při odebrání regionálních lymfatických uzlin musí být dosaženo určitého minimálního počtu uzlin, který je dán empirickými zkušenostmi v této oblasti. Vzdálená metastáza musí být ověřena mikroskopicky.

Klasifikace je možná pouze tehdy, je-li léze kompletně odstraněna a je jasný vztah k okolním strukturám (Kolář, Nenutil, Ryška, 2007).



### 5.2.5. Prognostické a prediktivní faktory

Histologickým potvrzením diagnózy karcinomu prsu a určením stádia onemocnění se pacientka řadí mezi určitou skupinu nemocných. Cílem u každé pacientky je pokusit se stanovit prognózu onemocnění, pravděpodobnost relapsu nemoci a dále též pokusit se o predikci, neboli o odhad účinnosti léčby. Prognostické faktory jsou často, ale ne vždy, též prediktivními faktory.

Mezi prokázané prognostické faktory patří:

- postižení axilárních lymfatických uzlin – je nejdůležitějším faktorem.

Počet uzlin odebraných, histopatologicky vyšetřených a počet uzlin postižených, včetně zhodnocení extrakapsulárního šíření, jsou pro onkologa základními informacemi pro další léčebný postup (Konopásek, Petruželka, 1997).

- velikost nádoru – statisticky platí, že čím větší je primární léze, tím kratší je pětileté přežití.

Je důležité vědět, že makroskopicky (klinicky) hodnocená velikost nádoru špatně koreluje s velikostí prokázanou mikroskopicky. O prognóze rozhoduje velikost invazivní komponenty nádoru (Skálová, Fínek, 2006).

- histopatologický typ nádoru a grading – některé typy karcinomů jsou spojeny s lepší prognózou. Obecně platí, že čím nezralejší je nádor, čím více se jeho buňky morfologicky odchyľují od původní tkáně, tím horší je prognóza. Také přítomnost invaze nádorových buněk do cév, perineurální šíření nádoru a nebo přítomnost nekróz je spojena s horší prognózou.
- přítomnost hormonálních receptorů – je jednoznačně pozitivním faktorem, neboť je statisticky spojena s delší dobou přežití a navíc nám umožňuje vyčlenit pacientky, u kterých by měla být účinná hormonální léčba.
- proliferační aktivita nádorových buněk – větší procento buněk v S-fázi buněčného cyklu je prognosticky nepříznivé.

Prognostické faktory mohou být vzájemně závislé, např. nepřítomnost estrogenových receptorů – exprese proteinu p53 a nízký stupeň diferenciacie nádoru. Když se změní jeden z těchto faktorů, změní se i druhý a předpověď tedy není o mnoho přesnější, když jsou vyšetřeny oba. Naopak dva nezávislé prognostické faktory určí prognózu přesněji, neboť každý z nich prozrazuje jinou skupinu patogenních mechanismů.

Nutno podotknout, že stanovení jednotlivých faktorů má význam malý. Teprve vícero faktorů současně poskytne komplexní pohled a umožní předpovědět další průběh nemoci a její chování.

Prognostické faktory korelují s délkou přežití bez ohledu na systémovou terapii a určují rizikové pacientky. Prediktivní faktory naopak korelují s léčebnou odpovědí. Systémová adjuvantní chemoterapie či hormonální terapie významně zvyšují dobu přežití bez známek recidivy (Skálová, Fínek, 2006).

## 5.3. Hormonální receptory

Přítomnost estrogenového (ER) a progesteronového (PR) receptoru je prognostickým a prediktivním markerem u karcinomu prsu. Z četných studií vyplývá, že vyšší exprese jak ER tak PR je spojena s delším přežitím a též s lepší odpovědí na hormonální terapii. Vyšetření hormonálních receptorů patří v současné době mezi vyšetření základní a je podmínkou k zahájení onkologické léčby.

Hormonální receptory jsou za normálních okolností přítomny v buňkách zdravé prsní žlázy. Přítomnost těchto receptorů v buňkách nádorových znamená, že tumor si doposud zachovává závislost na regulaci ženskými pohlavními hormony (estrogenem a progesteronem), čehož lze následně využít v tzv. antihormonální terapii. V případě, že buňka tyto receptory již nevytváří, ztrácí se závislost na hormonální regulaci a tato léčba je zpravidla neúčinná (Ryška, 2010a).

### 5.3.1. Estrogenový receptor

Estrogenové receptory patří spolu s kortikoidními, progesteronovými a androgenovými receptory do I.třídy nukleárních receptorů.

Estrogenové receptory se nacházejí nejenom v jádře – „klasické“ nukleární ER, ale také jako receptory asociované s G proteinem na membráně endoplazmatického retikula (GPER-1) a jako tzv. sirotčí nukleární receptory (EPR - estrogen related receptors). Jejich úloha v působení estrogenů na organismus se zkoumá.

Endogenní účinnou látkou, která se váže na klasický ER, je 17- $\beta$  estradiol.

ER se nacházejí v cytoplazmě v neaktivní formě ve vazbě na jeden ze stresových neboli HSP proteinů (heat shock proteins). Teprve v přítomnosti specifického ligandu dojde k vytvoření vazby mezi ligandem a receptorem a současně se rozpadá vazba receptor – HSP. Konformační změna receptorové molekuly umožní vznik dimeru schopného migrovat do jádra, vázat se na estrogen responzivní element DNA a ovlivňovat tak transkripci genů.

Rozlišujeme ER- $\alpha$  a ER- $\beta$ . ER- $\beta$  snižuje citlivost ER- $\alpha$  k estrogenu. Zdá se, že exprese varianty alfa je vyšší v karcinomech s vyšším invazivním potenciálem. Při stanovení obsahu estrogenového receptoru ve vlastním tumoru může být zastoupení jednotlivých forem důležitější než doposud prováděné sumační stanovení (Valík, Vyzula, Jandáková, 2001).

### 5.3.2. Progesteronový receptor

Progesteronový receptor se podobně jako ER nachází v neaktivní formě v cytoplazmě, princip přenosu signálu do jádra je podobný. Také PR ovlivňuje transkripci genů vazbou na

specifický úsek DNA.

PR má dvě formy, lehčí formu A a těžší B. Endogenním ligandem receptoru je progesteron. Bývá exprimován tam, kde jsou přítomny také estrogenové receptory.

Exprese progesteronového receptoru má silný prognostický význam u ER-pozitivního onemocnění, nemá však prediktivní hodnotu z hlediska prospěchu endokrinní terapie (Dowsett, 2008).

## **5.4. Onkoproteiny HER-2/neu a p53 a proliferační marker Ki-67**

Onkoproteiny jsou produkty onkogenů. Onkogeny patří do jedné ze tří hlavních skupin genů zodpovědných za regulaci buněčného dělení. Druhou takovou hlavní skupinou genů jsou tumorsupresorové geny, mezi které patří i gen kódující protein p53. Výrazem „onkoprotein p53“ je myšleno pouze to, že nedostatek zdravého p53 (který se prozradí nadbytkem jeho mutované formy) se účastní procesu maligní transformace buňky.

### **5.4.1. Onkoprotein HER-2/neu (c-erbB-2)**

HER-2/neu (human epidermal growth factor receptor-2) označovaný také jako c-erbB-2 nebo zkráceně jen HER-2 je tyrozinkinázový transmembránový receptor přítomný u normálních epiteliálních buněk. U karcinomu prsu je cenným prognostickým a prediktivním markerem. Bývá exprimován tam, kde nejsou přítomny hormonální receptory a u nádorů níže diferencovaných. Patří do rodiny receptorů pro epidermální růstové faktory, kam kromě EGFR (epidermal growth factor receptor) a HER-2/neu patří ještě HER-3 (human epidermal growth factor receptor-3) a HER-4 (human epidermal growth factor receptor-4). Pro přenos signálu do nitra buňky je zapotřebí stejně jako u hormonálních receptorů dimerizace.

Právě HER-2/neu je jediným členem rodiny, který není přímo aktivován svým ligandem, ale podílí se nejochotněji z celé skupiny na procesu dimerizace. Aktivace signální dráhy vede ke zvýšené proliferaci, zablokování apoptózy, zvýšené vaskularizaci nádoru a vyššímu metastatickému potenciálu (Ryška et al., 2010).

Genom nádorových buněk je nestabilní a v nádorové buňce bývají přítomny různé chromozomální aberace a genové mutace. Diagnosticky a prognosticky významnou mutací u karcinomu prsu je právě amplifikace genu HER-2/neu na dlouhém raménku chromozomu 17. Jejím důsledkem bývá overexprese (nadměrná exprese) HER-2/neu neboli mnohonásobně vyšší exprese tohoto proteinu než u normálních buněk. To je sice prognosticky nepříznivé, neboť nádory HER-2 pozitivní se chovají agresivněji, nicméně dá se očekávat

příznivý výsledek anti-HER-2 biologické léčby.

Nádory s nadměrnou přítomností (expresí) HER-2 mají horší prognózu a vyžadují agresivnější léčbu. Takových nádorů je asi 20 % (Nový, 2009).

#### **5.4.2. Onkoprotein p53**

Gen p53 patří mezi tumorsupresorové geny. Jeho produkt – protein p53 je pojmenován podle své molekulové hmotnosti (53 kilodaltonů). Kontroluje přechod buněk z G<sub>1</sub> do S-fáze buněčného cyklu a v případě neopravitelného poškození DNA indukuje apoptózu. Mutace genu nebo jeho delece jsou nejčastějšími mechanismy ztráty jeho funkce, které se uplatňují při vzniku nádoru.

Porucha jeho funkce se předpokládá u většiny nádorů. Exprese proteinu p53 se vyskytuje u více než poloviny karcinomů prsu, nikoliv však u benigních afekcí a normálních tkání. Navíc tato exprese je u řady nádorů známkou horší prognózy. Tyto nádory častěji relabují nebo metastazují a hlavně hůře odpovídají na léčbu (Eckschlager, Průša, 2002).

#### **5.4.3. Proliferační marker Ki-67**

Název je odvozen od německého města Kiel, kde byl objeven. Patří mezi markery buněčného dělení, který se nachází v jádře. Je exprimován pouze těmi buňkami, které se hodlají dělit. Nenachází se u buněk v G<sub>0</sub>-fázi – buněk klidových, jejichž buněčný cyklus je pozastaven.

Jeho vysoká exprese ukazuje na vysokou proliferační aktivitu a je spojena se špatnou prognózou.

Je rychle odbouráván, jakmile se buňka dostane do neproliferativního stavu (Scholzen, Gerdes, 2000). Proliferační aktivita v karcinomu koreluje s gradem a s prognózou (Skálová, Michal, 1997).

### **5.5. Hormonální léčba**

Hormonální léčba má smysl pouze tehdy, pokud jsou přítomny v nádorové tkáni hormonální receptory. Nejvíce je tkáň prsu ovlivněna estrogyeny. Ty působí nepřímo prostřednictvím růstových faktorů jak na zdravou tak na nádorovou tkáň a podněcují ji k růstu. U premenopauzálních žen jsou estrogyeny produkovány především vaječníky. Po menopauze, kdy ustane činnost ovárií, se estrogyeny tvoří v organismu dále, a to ve svalové a tukové tkáni přeměnou mužských pohlavních hormonů – androgenů pocházejících z nadledvinek.

Již před objevem estrogenních receptorů se pacientky s karcinomem prsu podrobovaly hormonální léčbě v podobě ovariektomie, někdy se odstraňovaly nadledvinky a dokonce i hypofýza.

Asi 30 % žen s tumorem pozitivním buďto na estrogenní nebo progesteronové receptory a asi 60 % žen s oběma receptory pozitivními reaguje na hormonální léčbu. Ženy s vysokými hladinami estrogenových a/nebo progesteronových receptorů reagují lépe než ženy s nižšími hladinami (Sedláček, Horowitz, 1984).

Druhy hormonální léčby:

1. Ablativní hormonální léčba chirurgická a radiační – odstranění nebo ozáření ovárií u premenopauzálních žen.
2. Medikamentózní ablace – utlumení činnosti ovárií léky u premenopauzálních žen. Používají se LHRH antagonisté (antagonisté gonadotropiny uvolňujícího hormonu hypothalamu) jako je goserelin, které snižují hladinu gonadotropinů hypofýzy a tím vedou k poklesu hladiny estrogenů. Výhodou je, že tento stav je reverzibilní.
3. Antiestrogeny u premenopauzálních a postmenopauzálních žen – např. Tamoxifen, jehož nejdůležitější protinádorový účinek je blokáce vazby estrogenu na ER. Je snaha o vyvinutí nových antiestrogenních léků, neboť Tamoxifen má nežádoucí účinky. Hlavním nežádoucím účinkem je vyšší riziko vzniku endometriálního karcinomu.
4. Inhibitory aromatázy u žen postmenopauzálních a u žen po ovariální ablacii. Inhibuje se syntéza estrogenů v periferních tkáních.

Příznivou léčebnou odpověď můžeme očekávat tam, kde byla v předchozí historii nemocné odpověď na hormonální léčbu, tam, kde je delší období bez projevů choroby, a u žen v postmenopauze (Abrahámová, 2002).

## 5.6. Biologická léčba

Biologická léčba je nejmodernější způsob léčby karcinomu prsu. Je to léčba cílená výhradně na buňky nádorové. Podávají se protilátky proti receptorům na povrchu nádorových buněk nebo inhibitory nitrobuněčných kináz.

Nejnámější je Herceptin – monoklonální protilátka proti extracelulární doméně HER-2. Blokuje dimerizaci HER-2 a stimuluje imunitní systém. Tato léčba je účinná pouze při dostatečném počtu HER-2 receptorů na povrchu buněk.

Pozitivita HER-2 je prediktorem odpovědi na léčbu humanizovanou monoklonální protilátkou proti tomuto receptoru – trastuzumabem (Herceptin). Pro zahájení terapie trastuzumabem je proto vyžadováno potvrzení nadměrné exprese/amplifikace HER-2

v nádorových buňkách (Ryška, 2010b).

## 5.7. Bioptické vyšetření vzorků z prsu

Biopsie prsní žlázy se provádí při pozitivním nebo nejasném nálezů na mamografu či ultrazvuku. Provádí se:

- punkční biopsie: nabodnutí vyšetřovaného útvaru jehlou:  
stereotaktická vakuová biopsie – za kontroly rentgenem nebo ultrazvukem a v lokální anestézii se po přesném zaměření nejasného ložiska odebírá bioptickou jehlou několik vzorků k mikroskopickému vyšetření. Vzorky jsou do jehly nasávány podtlakem.

Spolehlivost histologické diagnózy při vakuové biopsii je srovnatelná s operační biopsií (Vymětalová, 2011).

Core cut biopsie – neboli biopsie silnou jehlou se provádí velmi podobně, zavádění jehly je kontrolováno ultrazvukem nebo mamografem. Na rozdíl od vakuové biopsie nezatěžuje tolik pacientku a není tak technicky a finančně náročná. Je metodou standardní.

Biopsie tenkou jehlou – je uvedena pro úplnost. Používá se hlavně k aspiraci tekutiny např. z cysty v prsu. Jehla je zaváděna za kontroly ultrazvukem.

Punkční biopsie postihuje jen velmi malou část celého tumoru a vzorek tedy nemusí být reprezentativní.

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 výjimečných případech, kdy není k dispozici další vzorek získaný radikálnější výkonem (Kolář, Nenutil, Ryška, 2007).

- duktografie: do vývodu mléčné žlázy, ze kterého vychází sekrece, se aplikuje kontrastní látka a prs se zrentgenuje. Viditelné jsou i drobné útvary vyrůstající směrem do nitra vývodů.
- excize z tumoru: vyříznutí části z tumoru za účelem zjištění diagnózy, je náročnější než punkce a provádí se výjimečně.
- extirpace tumoru: vyjmutí nádoru v celkové anestézii. Tumor by měl zůstat vcelku, aby se bylo možno vyjádřit k okrajům.
- je možná také verifikace peroperační biopsií: u větších lézí, aby bylo dostatek materiálu jak pro operační biopsii, tak pro definitivní zpracování.

Definitivní diagnóza se pak stanovuje zpracováním vzorků získaných z nádoru prsu při

chirurgických výkonech parciálních: lumpektomie, segmentektomie, kvadrantektomie, a při radikální mastektomii.

Základním cílem konzervativního výkonu je odstranění tumoru s dostatečným lemem zdravé tkáně při zachování co nejpříznivějšího kosmetického efektu. Po histologickém odečtení je akceptabilní lem od 2 mm výše. Při lemu menším je vhodné doresekování (Chrenko, Fait, 2006).

## 5.8. Imunohistochemické vyšetření

Imunologická diagnostika nádorů neboli imunofenotypizace hraje velmi důležitou a nezastupitelnou roli v nádorové diagnostice. Její význam bude ještě vzrůstat, neboť monoklonální protilátky začínají být využívány též v terapii jako vysoce specifická, cílená léčiva.

Imunohistochemickým vyšetřením můžeme na řezu tkáně pomocí monoklonální protilátky zviditelnit přítomné antigeny. Častěji se v diagnostice využívá antigenů, jejichž exprese je kvantitativně odlišná u normální a u nádorové buňky. Je proto zapotřebí stanovit hranici, od které budeme vzorek považovat za pozitivní.

Ke zviditelnění antigenů se standardně používá enzymová reakce. Před tím je „zviditelňovací“ enzym chemicky výrobcem navázán na imunologicky neaktivní konec protilátky. Nejčastěji peroxidáza přeměňuje substrát na stálobarevný produkt. Oblíbený DAB (diaminobenzidin) poskytuje hnědavé zbarvení. Navíc existuje složitější, ale citlivější metoda. Ta se nazývá nepřímá, protože značená není přímo primární protilátka proti hledanému antigenu, ale protilátka sekundární, která se na primární protilátku specificky váže. Zdánlivě komplikovanější postup detekce je velmi výhodný z hlediska zvýšení citlivosti – signál je tímto postupem mnohonásobně zesílen.

K provedení imunohistochemického vyšetření je vhodný vzorek, který obsahuje invazivní karcinom prsu, má dostatek nádorových struktur a není pohmožděný ani jinak poškozený, např. autolýzou. Také se nehodí vzorky prokrvácené.

Metoda by měla u neléčených pacientek poskytnout stejný výsledek nezávisle na tom, zda je vzorek získán jehlovou biopsií nebo odejmutím části nebo celého prsu při operaci. Jehlovou (core cut) biopsií se získají proužky či tenké válečky tkáně, které jsou křehké a i při šetrném zacházení náchylné k pohmoždění a k autolýze jak při transportu, tak při samotném zpracování. Někdy i vzorek získaný jehlovou biopsií obsahuje pouze malé množství nádorových buněk a je proto nereprezentativní. Lékař v takovém případě upozorní ve výsledkovém protokolu klinika na některou z těchto skutečností a zdůrazní nutnost opětovného histologického vyšetření včetně vyšetření hormonálních receptorů a eventuelně

dalších markerů ze vzorku odebraného při operaci.

Mezi standardní imunohistochemické metody patří u karcinomu prsu: vyšetření ER a PR, vyšetření proliferační aktivity nádoru pomocí stanovení proliferačního antigenu Ki-67 a vyšetření onkoproteinu p53.

Imunohistochemie je poměrně jednoduchá a levná, je snadno proveditelná i na menších pracovištích, jde o metodu časově nenáročnou. Na druhou stranu však hrozí poměrně významné riziko falešně negativních i falešně pozitivních výsledků (Ryška, 2010a).

### **5.8.1. Imunohistochemické vyšetření hormonálních receptorů**

Patologicko-anatomická pracoviště, která provedou první diagnózu invazivního karcinomu, jsou zodpovědná za zajištění imunohistochemického vyšetření ER, PR a HER-2, stejně jako za potvrzení v případě positivity HER2 na 2+ objasnit pomocí FISH, zda se jedná zároveň o amplifikaci genů pro HER2. 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, 2007).

Hodnocení ER, PR je semikvantitativní, hodnotí se procento buněk s pozitivním jádrem a slovně intenzita positivity.

Práh positivity ER a PR se doporučuje stanovit na 5 % pozitivních jader nádorových buněk. Do výsledků se doporučuje zaznamenat použitou protilátku (zdroj, u monoklonálních i klon) (Kolář, Nenutil, Ryška, 2009).

### **5.8.2. Imunohistochemické vyšetření HER-2/neu, Ki-67 a p53**

HER-2/neu se vyšetřuje pouze v invazivním karcinomu, nikoliv v karcinomu in situ.

V případě, že nádor sestává z invazivní i neinvazivní složky, in situ komponenta se nehodnotí. Vzhledem k tomu, že relativně často se liší exprese c-erbB-2 v invazivní a neinvazivní složce, výsledky získané u neinvazivní frakce nádoru nemusí odpovídat skutečnosti (Kolář, Nenutil, Ryška, 2007).

HER-2/neu lze vyšetřit buď jako produkt genu – protein metodou imunohistochemickou (obrázek č. 5) nebo lze vyšetřit amplifikaci genu HER-2/neu molekulárně genetickým vyšetřením (obrázek č. 6). Standardně se provádí metodou FISH (fluorescenční in situ hybridizace). Tato metoda je v poslední době nahrazována CISH (chromogenní in situ hybridizace) a SISH (in situ hybridizace s impregnací stříbrem), která má oproti FISH několik výhod, jednou z nich je např. to, že preparáty lze archivovat.

Výsledek imunohistochemického vyšetření hodnotíme ve čtyřech stupních membránové positivity:

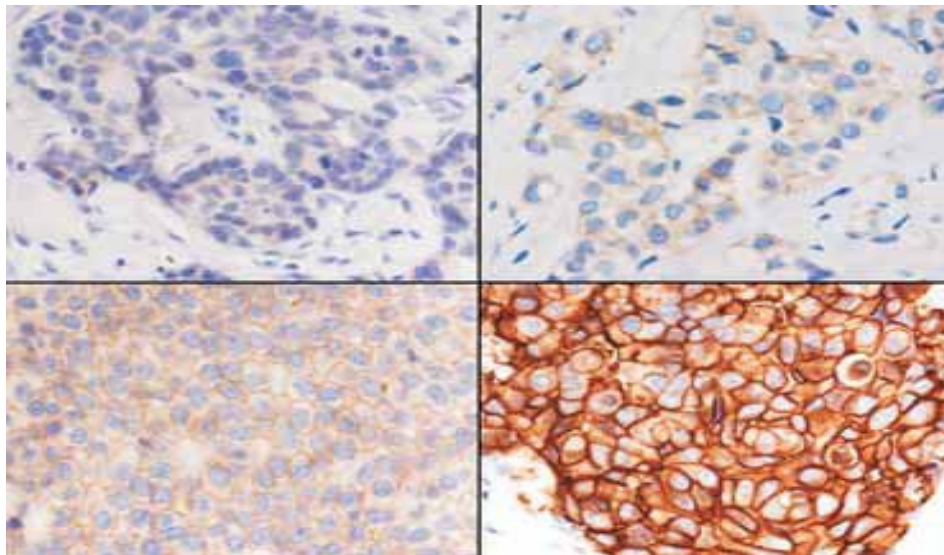
- stupeň 0 a stupeň 1+ – negativní



- stupeň 2+ – hraniční
- stupeň 3+ – pozitivní

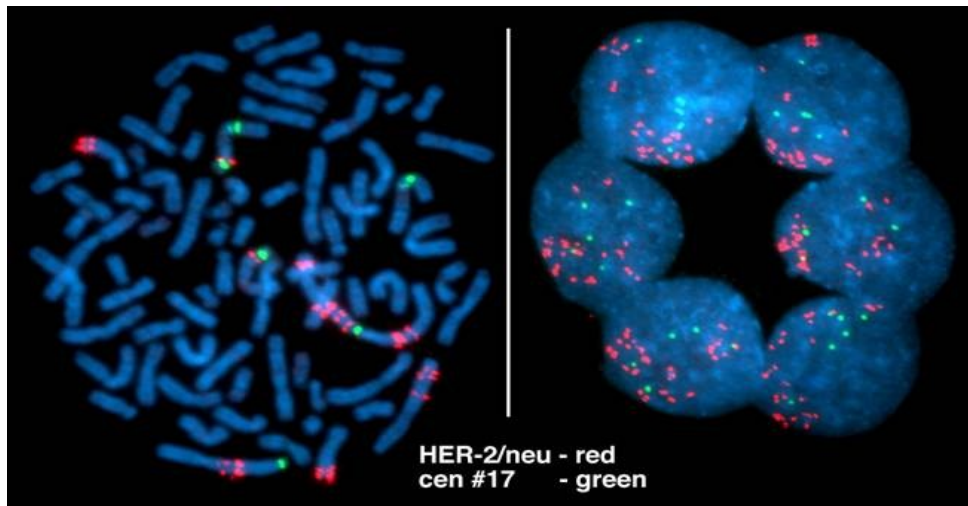
U hraničního výsledku imunohistochemického vyšetření je třeba ještě vyšetřit amplifikaci genu HER-2/neu metodou FISH. Imunohistochemická pozitivita (3+) dobře koreluje s amplifikací genu HER-2/neu. Opět je doporučeno zaznamenat do výsledkového protokolu použitou protilátku.

Stanovení c-erbB- je třeba provádět a interpretovat ve vzájemném kontextu histologického, imunohistochemického a hybridizačního vyšetření kvalifikovaným histopatologem, zejména za účelem objektivního rozlišení struktur invazivního a neinvazivního karcinomu (Kolář, Nenutil, Ryška, 2007).



*Stupně exprese proteinu HER-2/neu při imunohistochemickém vyšetření certifikovaným kitem - typické obrazy exprese 0, 1+, 2+ a 3+.*

Obrázek č. 3: Imunohistochemické vyšetření proteinu HER-2/neu: vlevo nahoře – stupeň 0, vpravo nahoře – stupeň 1+, vlevo dole – stupeň 2+ a vpravo dole – stupeň 3+ (Kolář, Nenutil, Ryška, 2009)



Obrázek č. 4: Dvoubarevná FISH: amplifikace genu HER-2/neu (červená fluorescence) a centromera chromozomu 17 (zelená fluorescence) v buňce nádoru prsu, vlevo – metafáze, vpravo – interfáze

(Workgroup Functional Tumorgenetics, Institut für Klinische Genetik, Technische Universität Dresden, 2011?)

Velikost exprese proteinu Ki-67 nám ukazuje, kolik nádorových buněk z celkového počtu právě proliferuje. Určuje se tzv. Ki-67 index – procento proliferujících nádorových buněk. Zajímavé je, že v klinické praxi se pro imunohistochemické stanovení tohoto proteinu nepoužívá monoklonální protilátka, pomocí které byl objeven, ale protilátka jiná. To proto, že nebyla schopná lokalizovat antigen u tkáně fixované formalínem a zalité do parafínového bloku.

Monoklonální protilátka MIB-1 detekuje Ki-67 antigen v rutinně zpracovávané formalínové tkáni zalité do parafínu. Detekce proliferční aktivity pomocí MIB-1 protilátky je spolehlivá (Skálová, Fínek, 2006).

Imunohistochemickým vyšetřením proteinu p53 se zachytí pouze jeho mutovaná forma a ne normální protein (který je v buňce odbourán dříve, než může být danou metodou zachycen). Stanovuje se v jádře, opět jako procento pozitivních nádorových buněk z jejich celkového počtu.

P53 je užitečným prognostickým markerem u pacientek bez uzlinových metastáz. Význam p53 ale ještě nebyl ověřen klinickými studiemi. Zatím není detekce p53 proteinu rutinní součástí diagnózy (Skálová, Fínek, 2006).

## 6. PRAKTICKÁ ČÁST

Na Fingerlandově ústavu patologie v Hradci Králové se již v roce 1998 imunohistochemicky vyšetřovaly jak hormonální receptory, tak standardně také marker proliferační aktivity buněk antigen Ki-67 a také protein p53. Antigen HER-2/neu byl vyšetřován nejprve v rámci grantu a v dubnu roku 2000 bylo jeho imunohistochemické vyšetření nabídnuto klinikům a jejich pacientkám jako rutinní.

Celkově se imunohistochemických vyšetření hormonálních receptorů a antigenu HER-2/neu u karcinomu prsu provedlo v roce 2009 přes 500.

### 6.1. Příprava tkáně k imunohistochemickému vyšetření

Nádorová tkáň určená k imunohistochemickému vyšetření se zpracuje běžnou histologickou technikou:

1. dokonalé prosycení tkáně fixativem – neutrálním 10 % formalínem
2. proplach v tekoucí vodě – odstranění zbytků fixativa
3. odvodnění – vzestupná řada alkoholů (lázeň 70 % a několik lázní 96 % alkoholu)
4. prosycení rozpouštědlem pro parafín – alespoň tři lázně xylenů
5. prosycení parafínem – alespoň tři lázně parafínu o teplotě 56 – 58 °C
6. zalití tkáně do parafínu a ztuhnutí parafínu – vytvoření parafínového bločku
7. krájení tenkých řezů na mikrotomu – po vychlazení parafínového bločku se krájí řezy tenké cca 3 až 5  $\mu\text{m}$ , které klademe na hladinu destilované vody na speciální podložní sklo
8. napínání řezů – na vyhřívané plotýnce; zbytek vody slijeme a odsajeme filtračním papírem, čímž se řez napne a přichytí na podložní sklo.

Takto připravené tkáňové řezy můžeme použít pro imunohistochemické vyšetření.

### 6.2. Obecný průběh imunohistochemické reakce

Jedním z nejkritičtějších momentů pro zdárný průběh imunohistochemické reakce je přesné dodržení požadovaného pH. Již v průběhu fixace je třeba, aby pH bylo optimální – tedy přibližně neutrální. Doporučuje se fixace neutrálním formalínem při pokojové teplotě. Také ve všech dalších krocích je pH stěžejní a mělo by být pro ten který krok ideální.

Obecný průběh imunohistochemické reakce:

1. usušení tkáňových řezů
2. odparafinování tkáňových řezů
3. demaskování epitopu hledaného antigenu
4. tlumení – inhibice endogenní enzymatické aktivity
5. inkubace s primární protilátkou
6. inkubace se značenou sekundární protilátkou
7. vizualizace – přidání chromogenu a jeho přeměna na barevný produkt
8. dobarvení jader
9. odvodnění a zamontování preparátů

Ke tkáňovým řezům zpracovávaným současně je vždy přiřazena příslušná pozitivní kontrola. Pozitivní kontrolou je řez zhotovený z kontrolního bločku nebo kontrolní vzorek dodaný výrobcem. Tento pak prochází spolu s vyšetřovanou tkání všemi kroky reakce za týchž podmínek.

## **6.3. Materiály a reagentie**

### **6.3.1. Odparafinovací řada**

Odparafinovací řadu tvoří lázně xylenu, 96 % alkoholu, 70 % alkoholu a destilované vody: čistý xylen (směs izomerů), 96 % líh s methanolem (dodala Nemocniční lékárna FN HK), 70 % líh s methanolem (k 700 ml 96 % lihu s methanolem přidáme 260 ml destilované vody), destilovaná voda (dodala Nemocniční lékárna FN HK).

### **6.3.2. Demaskování a tlumení**

K demaskování antigenu ve vodní lázni jsme použili **Target Retrieval Solution pH=9** od firmy DakoCytomation. Tento před použitím naředíme 1 : 10 destilovanou vodou. Ředěný roztok lze uchovávat v lednici (2-8 °C) až 3 týdny.

Ke tlumení neboli blokaci endogenní aktivity enzymů jsme použili peroxid vodíku (dodala Nemocniční lékárna FN HK). Denně je potřeba si připravit čerstvý 3 % vodný roztok (3 ml zásobního peroxidu vodíku doplníme do 100 ml destilovanou vodou).

Zásobní roztok peroxidu vodíku nesmí být příliš starý, jinak dochází k nespecifické reakci a přibarvuje se tkáňové pozadí. Můžeme ho uchovávat v lednici při 2-8 °C 3 týdny až měsíc.

### **6.3.3. Primární a sekundární protilátky**

Pro většinu imunohistochemických vyšetření se na našem pracovišti dlouhodobě využívá protilátek od firmy DakoCytomation. Všechny informace o protilátkách jsou převzaty z jejich příbalových letáků.

#### **Primární protilátky:**

##### **Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor**

Klon: PgR 636

Izotyp: IgG<sub>1</sub>, kappa

Monoklonální myší neředěná protilátka v kapalně podobě pro semikvantitativní detekci progesteronových receptorů (PR) ve světelném mikroskopu.

Reaguje s PR-A i s PR-B formou a reaguje jak s volným, tak s hormonem vázaným PR (Press et al., 2002). Epitop se nachází v N-terminální doméně PR-A i B.

##### **Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor $\alpha$**

Klon: 1D5

Izotyp: IgG<sub>1</sub>, kappa

Monoklonální myší neředěná protilátka v kapalně podobě pro semikvantitativní detekci estrogenových receptorů (ER) světelnou mikroskopií. Váže se specificky na epitop lokalizovaný v N-terminální doméně ER  $\alpha$ , neumí detegovat ER  $\beta$ .

##### **Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein**

Klon: DO-7

Izotyp: IgG<sub>2</sub> b, kappa

Monoklonální myší neředěná protilátka k semikvantitativní detekci mutovaného proteinu p53 světelným mikroskopem. Rozpoznává epitop, který je tvořen aminokyselinami č. 35 až 45 na N-konci proteinu.

##### **Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen**

Klon: MIB-1

Izotyp: IgG<sub>1</sub>, kappa

Monoklonální myší neředěná protilátka v kapalně podobě k semikvantitativní detekci antigenu Ki-67 ve světelném mikroskopu. MIB-1 reaguje s epitopem, kódovaným úsekem DNA, který se nachází uvnitř genu pro Ki-67. Tento klon byl ustanoven jako referenční pro průkaz antigenu Ki-67 ve vzorcích fixovaných formalínem a zalitých do parafinu.

### **Polyclonal Rabbit Anti-Human HER-2 Protein**

Polyklonální králičí protilátka typu ready to use (k okamžitému použití) k semikvantitativnímu stanovení nadměrné exprese proteinu HER-2 ve tkáních karcinomu prsu pro světelnou mikroskopii. Váže se na intracytoplazmatickou část proteinu HER-2.

K ředění výše uvedených primárních protilátek jsme použili reagentie: **Dako Antibody Diluent** od firmy DakoCytomation. Konkrétní ředění viz kapitola 4.4. Pracovní postup. Dako Antibody Diluent je Tris pufr o pH=7,2 s obsahem 15 mmol/l azidu sodného a stabilizačního proteinu.

Jak primární protilátky v originálním balení, tak výše zmíněný ředící pufr i protilátky naředěné lze skladovat v lednici při teplotě 2-8 °C. (Pro další podrobnosti odkazujeme na výrobce.)

### **Sekundární protilátky:**

Komerčně vyráběná sekundární protilátka je pro námi použité primární protilátky společná, neboť reaguje jak s myšimi, tak s králičími imunoglobuliny. Jedná se o: **En Vision Dual Link System Peroxidase**, opět produkt firmy DakoCytomation, někdy také označovaný jako systém s HRP (z anglického: horseradish peroxidase). Je to dextranový polymer konjugovaný s molekulami sekundární protilátky a značený křenovou peroxidázou v pufru Tris-HCl, který obsahuje stabilizující protein a antimikrobiální prostředek. Neředí se.

### **6.3.4. Vizualizace**

Ke zviditelnění proběhlé reakce: antigen – primární protilátka – sekundární protilátka jsme použili: **Dako Liquid DAB + Substrate Chromogen System**.

Tento systém obsahuje:

1. **DAB + Chromogen** (3,3'-diaminobenzidin v chromogenovém roztoku)
2. **DAB + Substrate Buffer** (substrátový Imidazol-HCl pufr o pH=7,5 obsahující peroxid vodíku a antimikrobiální prostředek).

Příprava pracovního roztoku:

Přidáme 20 µl DAB + chromogenu na každý ml DAB substrátového pufru.

Nepotřebný pracovní roztok DAB je stabilní až 2 týdny při 2-8 °C.

### **6.3.5. Promívací pufr PBS**

Během barvicího postupu používáme v mnoha krocích promívacího fosfátového pufru PBS o pH=7,2. Používáme PBS s tzv. smáčedlem – detergentem, což je komerčně vyráběné činidlo **DakoCytomation Tween 20**. V jednom kroku (po demaskování antigenu) pak použijeme PBS bez Tweenu.

Složení pufru PBS: KCl, NaCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  a destilovaná voda.

Příprava:

navážit: KCl.....0,4 g  
NaCl.....16 g  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....0,4 g  
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ .....5,8 g

nechat rozpustit a doplnit do 2000 ml destilovanou vodou. Změřit pH pH-metrem. V případě odchýlení pH na stranu kyselou, přidáváme po kapkách podle potřeby zásadu – 1 molární roztok NaOH (4 g na 100 ml destilované vody). V případě odchýlení na stranu zásaditou přidáváme po kapkách kyselinu – 2 molární roztok HCl (10 ml do 125 ml destilované vody) až dosáhneme požadovaného pH.

Pro lepší rozprostření reagensů, které kapeme na tkáňový řez, použijeme smáčedlo, a to: 0,5 ml činidla **DakoCytomation Tween 20** na 1 litr pufru PBS.

### 6.3.6. Dobarvení

Jádra buněk a další struktury tkáně dobarvujeme Koďouskovým hematoxylinem (připravujeme si sami).

Obsahuje: hematoxylin, síran draselno-hlinitý krystalický, jodičnan sodný, kyselinu vinnou a destilovanou vodu.

### 6.3.7. Odvodnění a zamontování

Standardně montujeme do médií, která jsou na bázi organických rozpouštědel a proto je nutné tkáňové řezy před zamontováním odvodnit.

Odvodňovací řadu tvoří lázně popsané v kap. 6.3.1. v obráceném pořadí, jen před prvním xylenem ještě zařadíme jednu lázeň čistého acetonu.

Montujeme ručně do montovacího média pro světelnou mikroskopii: Pertex od firmy Bamed.

## 6.4. Pracovní postup

### 1) sušení tkáňových řezů

Tkáňový řez ukrojený na mikrotomu je usušen v termostatu spolu s pozitivní kontrolou. Osvědčilo se sušení 1 hodinu při 60 °C. Poté necháme preparáty volně na vzduchu zchladit.

Velmi důležité je nepřesáhnout stanovenou dobu sušení, neboť může dojít až ke ztrátě specifické reaktivity ve vzorku. Ještě teplé preparáty přímo z termostatu nelze použít v dalším kroku, řezy by na podložním skle nedržely a uplavaly by.

## 2) odparafínování tkáňových řezů

Protože imunohistochemická reakce probíhá ve vodném prostředí, je třeba tkáň nejprve dokonale zbavit parafínu a pak ji převést až do destilované vody. K tomu slouží odparafínovací řada: tři lázně xylenu, dvě lázně 96 % alkoholu, jedna lázeň 70 % alkoholu a jedna lázeň destilované vody. V každé lázni xylenu necháme preparát 10 minut a v každé další lázni 5 minut. Také dokonalé zbavení tkáně parafínu je důležité. Při nedodržení odparafínovacích časů mohou ve tkáni ulpět zbytky parafínu a nespecificky se barvit.

## 3) odmaskování antigenu

Před vlastním barvením necháme všechny reagenty vytemperovat na teplotu místnosti (20-25 °C).

K odmaskování epitopů použijeme odmaskovací roztok od firmy DakoCytomation: **Target Retrieval Solution pH=9**. Tento roztok před použitím naředíme v poměru 1 : 10 destilovanou vodou. Ředěný roztok je nejprve třeba předehtát na teplotu 97 °C ve vodní lázni. Do předehtátého roztoku pak řezy ponoříme a inkubujeme 40 minut. Po celou dobu inkubace je bezpodmínečně nutné udržovat teplotu v rozmezí 95–99 °C, přičemž nesmí dojít k varu. Při nedodržení teploty a času inkubace nebo při použití nevhodného odmaskovacího roztoku může být výsledek imunohistochemické reakce falešně negativní. Odmaskovací roztok musí mít přesně definované pH, vhodné pro průběh konkrétní reakce. Toto pH však může být pro jiné protilátky, než zde uvádíme, jiné.

Po uplynutí doby inkubace necháme řezy, stále ještě ponořené v roztoku, chladnout při pokojové teplotě 20 minut. Poté roztok slijeme a 2–3 x opláchneme řezy v promývacím pufru PBS bez Tweenu (bez smáčedla) o pH=7,2. Následuje oplach v destilované vodě. Zbytek destilované vody, který ulpěl na sklíčku, z okolí řezu opatrně odsajeme filtračním papírem.

Každý řez obkroužíme olejovou tužkou Pan-Pen (DakoCytomation) a upevníme do vlhké komůrky. Pracujeme rychle, řezy nesmí v žádném kroku imunohistochemické reakce vyschnout, jinak by mohlo dojít k vývinu nespecifického zbarvení.

## 4) tlumení

K tlumení aktivity endogenní peroxidázy nebo pseudoperoxidázy používáme 3 % vodný roztok peroxidu vodíku. Získáme ho naředěním koncentrovaného zásobního peroxidu vodíku dodaného lékárnou (3 ml peroxidu vodíku doplníme do 100 ml destilovanou vodou).

Kapeme 3 kapky (nebo 100 µl) na jeden řez a inkubujeme 10 minut při pokojové teplotě ve vlhké komůrce. Následuje oplach destilovanou vodou 3 x a pak oplach promývacím pufrem PBS, tentokrát se smáčedlem (PBS s Tweenem), také 3 x. Přebytný pufr opět opatrně odsajeme z okolí řezu.



## 5) inkubace s primární protilátkou

Výrobce dodanou primární protilátku ředíme takto: Anti-ER 1 : 50, Anti-PR 1 : 300, Anti-p53 1 : 300, Anti-Ki-67 1 : 50 a Anti-HER-2 neředíme.

K ředění použijeme **Dako Antibody Diluent** s pH=7,2.

Na každý řez kapeme 3 kapky (nebo 100 µl) a inkubujeme 30 minut při pokojové teplotě ve vlhké komůrce. Následuje oplach v promývacím pufru PBS se smáčedlem 3 x. Zbytky pufru opatrně odsajeme z okolí řezu.

## 6) inkubace se značenou sekundární protilátkou

Značenou sekundární protilátkou je reagensie: **En Vision Dual Link System Peroxidase**, která se neředí. Opět kapeme 3 kapky (nebo 100 µl) na jeden řez a inkubujeme stejně dlouho – 30 minut při pokojové teplotě ve vlhké komůrce. Opláchneme 3 x v PBS pufru se smáčedlem a opatrným otřením odstraníme zbytky pufru z okolí řezu.

## 7) vizualizace – zviditelnění proběhlé reakce

Posledním krokem imunohistochemické reakce je přeměna substrátu použitého enzymu na stálobarevný produkt vhodný k odečtení světelným mikroskopem. K tomuto účelu nám slouží **Dako Liquid DAB + Substrate Chromogen System**, který obsahuje:

**DAB + Chromogen** (3,3'- diaminobenzidin v chromogenovém roztoku) a substrátový pufr.

Před použitím si připravíme pracovní roztok: přidáme 20 µl DAB + chromogenu na každý ml DAB substrátového pufru. Celkové množství spočítáme podle počtu vyšetřovaných skl. Na jedno sklo potřebujeme asi 100 µl.

Kapeme pracovní roztok – 3 kapky (nebo 100 µl) na jeden řez a inkubujeme: u Anti-HER-2 protilátky 10 minut a u všech ostatních protilátek pak 5 minut při pokojové teplotě ve vlhké komůrce. Následuje oplach destilovanou vodou 3 x.

## 8) dobarvení kontrastním barvivem

Výsledný produkt enzymatické přeměny není rozpustný ani v alkoholu ani ve vodě a proto lze jako kontrastní barvivo použít hematoxylin. Pro účely imunohistochemie používáme Kodouuskův hematoxylin. Řezy ponoříme na 1 minutu a pak necháme „modrat“ v tekoucí vodě 5 minut. Před odvodněním opláchneme v destilované vodě.

## 9) odvodnění

Tkáňové řezy ihned po nabarvení důkladně opláchneme destilovanou vodou a necháme je postupně projít těmito lázněmi:

jednou lázní 70 % alkoholu...3 minuty – dvěma lázněmi 96 % alkoholu...v každé 3 minuty –

jednou lázní acetonu...2 minuty a třemi lázněmi xyleny...v každé 3 minuty. V poslední lázni xyleny již můžeme preparáty bez obav nechat déle.

### **10) zamontování**

Na krycí sklíčko kápneme trochu montovacího média (Pertexu) a pomalu přiklopíme na podložní sklo na tu stranu, kde máme tkáňový řez. Případné vzduchové bubliny opatrně vytlačíme. Otřeme čistým hadříkem a necháme uschnout.

Správně odvodněný a zamontovaný preparát lze archivovat velmi dlouho (i desítky let).

### **6.4.1. Pracovní postup v kostce**

**1) sušení:** termostat 60 °C..... 60' → chladnutí

#### **2) odparafinování:**

xylen 3 x 10' → 96 % alkohol 2 x 5' → 70 % alkohol 1 x 5' → destilovaná voda 1 x 5'

#### **3) demaskování antigenu:**

ředěný **Target Retrieval Solution pH=9**

ve vodní lázni 95–99 °C..... 40'

→ chladnutí..... 20'

→ slít a oplach v PBS bez Tweenu pH=7,2 3 x

→ oplach v destilované vodě

#### **4) tlumení endogenních enzymů:**

3 % vodný roztok **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** (3 kapky)..... 10'

→ oplach destilovanou vodou 3 x

→ oplach PBS s Tweenem 3 x

#### **5) inkubace s primární protilátkou:**

ředíme: **Dako Antibody Diluentem pH=7,2**

Anti-ER a Anti-Ki-67 1 : 50 Anti-PR a Anti-p53 1 : 300 Anti-HER-2 neředíme

→ pokojová teplota (3 kapky)..... 30'

→ oplach PBS s Tweenem 3 x

#### **6) inkubace se sekundární protilátkou:**

**En Vision Dual Link System Peroxidase**

→ pokojová teplota (3 kapky)..... 30'

→ oplach PBS s Tweenem 3 x

#### **7) vizualizace:**

naředíme pracovní roztok DAB:

**DAB + Chromogen** 1 kapka (20 µl) + 1 ml **DAB substrátový pufr**

→ pokojová teplota (3 kapky)..... 10' Anti-HER-2

..... 5' ostatní protilátky

—> oplach destilovanou vodou 3 x

### **8) kontrastní barvení:**

Kořouskův hematoxylin..... 1'

—> modrání v tekoucí vodě..... 5'

—> oplach v destilované vodě

### **9) odvodnění:**

70 % alkohol 1 x 3'—> 96 % alkohol 2 x 3' —> aceton 1 x 2' —> xylen 3 x 3'

### **10) zamontování:** Pertex

### **11) výsledek:**

jádra a ostatní struktury tkání modré, hnědé zbarvení v místě, kde je přítomen antigen.

## **6.5. Vyjádření výsledků**

Primární protilátky proti ER, PR, Ki-67, p53 a HER-2 patří k protilátkám s kvantitativním (přesněji se semikvantitativním) hodnocením výsledku reakce. Hodnocení výsledku reakce u nich vychází z literárních pramenů. To znamená, že každé originální balení dané primární protilátky obsahuje v příbalovém letáku informace o tom, jakým způsobem máme výsledek hodnotit (při dodržení výrobcem daných podmínek) a obsahuje odkazy na odbornou literaturu.

### **6.5.1. Hodnocení ER, PR**

Hodnocení výsledků vyšetření ER a PR je semikvantitativní. Je založeno na posouzení procenta pozitivních jaderných buněk a na intenzitě jaderné positivity.

Intenzita jaderné positivity se hodnotí body:

0 bodů – negativní , 1 bod – slabá, 2 body – střední a 3 body – silná pozitivita.

Procento pozitivních buněk se také hodnotí body:

1 bod – méně než 10 % buněk pozitivních

2 body – 10 až 50 % buněk pozitivních

3 body – 51 až 80 % buněk pozitivních

4 body – více než 80 % pozitivních buněk.

Násobek počtu bodů za obě položky pak určuje tzv. IRS skóre (Immuno Reactive Score), které může být v rozmezí 0 – 12 bodů.

Na našem pracovišti hodnotíme přítomnost ER a PR v % pozitivních jaderných buněk a navíc uvádíme ještě IRS skóre, které zohledňuje také jadernou pozitivitu. Za pozitivní, z hlediska možné hormonální léčby, považujeme výsledek, kdy je přítomno alespoň 10 % buněk jakékoliv intenzity (IRS skóre 2).

### **6.5.2. Hodnocení Ki-67**

Proliferační aktivita se hodnotí jako procento pozitivních jaderných buněk:  
nízká proliferační aktivita – méně než 10 % pozitivních jader buněk  
střední proliferační aktivita – 11 až 19 % pozitivních jader  
vyšší proliferační aktivita – 20 až 35 % pozitivních jader  
vysoká proliferační aktivita – 36 až 50 % pozitivních jader  
a extrémně vysoká proliferační aktivita – více než 50 % pozitivních jader.

### **6.5.3. Hodnocení p53**

Hodnocení vyšetření antigenu p53 je semikvantitativní a výsledek může být hodnocen buď jako % pozitivních jaderných buněk nebo jako intenzita jaderné positivity (slabá, střední, silná).

Na našem pracovišti hodnotíme přítomnost proteinu p53 v % pozitivních jaderných buněk.

### **6.5.4. Hodnocení HER-2/neu**

U tohoto antigenu se hodnotí intenzita membránové positivity (slabá, střední, silná) a její kompletnost. Výsledkem je tzv. HER-skóre, které může být v rozmezí 0 až 3+:

- 0 žádné zbarvení nebo membránová pozitivita u méně než 10 % buněk
- 1+ slabá či střední, ale nekompletní membránová pozitivita u více než 10 % buněk
- 2+ slabá či střední kompletní membránová pozitivita u více než 10 % buněk
- 3+ silná a kompletní membránová pozitivita u více než 10 % buněk.

Hodnotit lze však pouze invazivní složku karcinomu. Pokud není invazivní složka přítomna, nelze HER-skóre stanovit.

Při HER-skóre 0 a 1+ je výsledek hodnocen jako negativní. Při HER-skóre 2+ jako hraniční a při skóre 3+ jako pozitivní. Výsledek 2+ musí být standardně ještě doplněn vyšetřením amplifikace genu pro HER-2 fluorescenční in situ hybridizací (FISH), aby bylo možno potvrdit či vyvrátit HER-2 pozitivitu.

## 7. ZPŮSOB HODNOCENÍ VĚKOVÉ ZÁVISLOSTI

Porovnali jsme výsledky vyšetření vzorků získaných jehlovou biopsií a vzorků z tkáně odebrané při operaci. Pro porovnání jsme zvolili grafickou závislost markerů na věku pacientek.

V původním souboru pacientek z roku 2009 jsme měli i pacientky, které byly před odběrem vzorku léčeny. Tyto pacientky, o kterých jsme to bezpečně věděli, jsme ze souboru vyřadili a jejich výsledky zpracovali zvlášť. Jednalo se o 22 pacientek.

Náš soubor pacientek – s dohledaným histologickým typem a gradem nádoru jsme rozdělili na dva soubory: jehlové biopsie a operace. V každém máme dva podsoubory: v jednom jsou pacientky s určeným gradem bez ohledu na histologický typ nádoru a ve druhém pacientky pouze s invazivním duktálním a invazivním lobulárním karcinomem bez ohledu na grading.

Zpracovali jsme tedy výsledky celkem 276 pacientek z roku 2009, u nichž bylo provedeno imunohistochemické vyšetření ER, PR, Ki-67, p53 a HER-2. Věk pacientek se pohybuje od 25 do 89 let. Počty pacientek v jednotlivých skupinách viz tabulka č.1.

Tab. č.1: počty premenopauzálních a postmenopauzálních pacientek a jejich průměrný věk

	premenopauzální pacientky	postmenopauzální pacientky	celkem	průměrný věk
operace				
G1	—	14	14	64,57
G2	11	87	98	61,82
G3	10	27	37	58,22
invaz. duktál. ca	18	105	123	60,67
invaz. lobulár. ca	1	14	15	65,67
jehlové biopsie				
G1	—	5	5	76,40
G2	13	83	96	64,22
G3	9	28	37	57,00
invaz. duktál. ca	20	97	117	61,89
invaz. lobulár. ca	2	8	10	59,30

Pro utajení osobních údajů pacientek jsme použili jejich iniciály a věk.

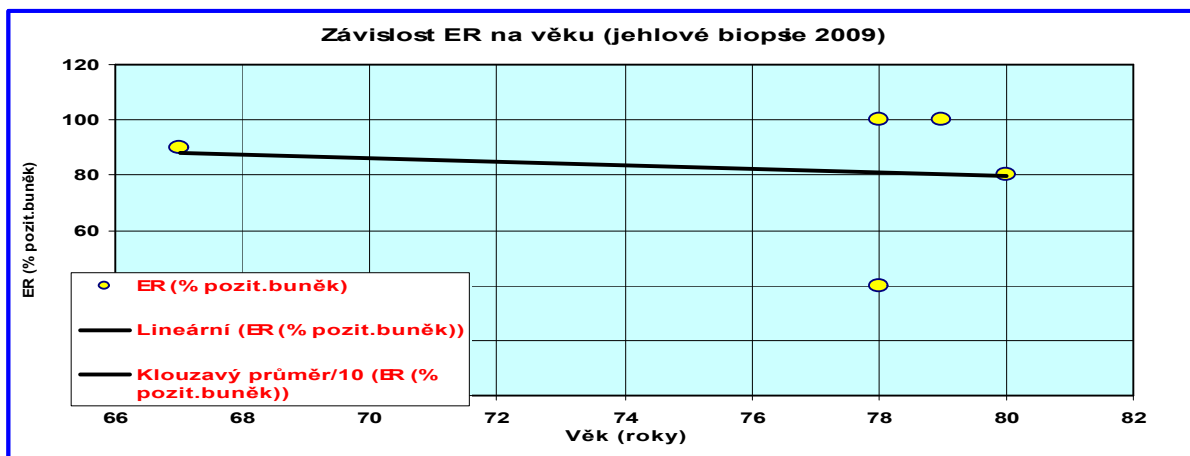
U nulových hodnot vyšetření jsme namísto nuly zadávali hodnotu 0,1, protože nulou dělit nelze. To je důležité především u výpočtů kvocientu (poměru) ER/PR. V grafech jsme jednak proložili výslednými hodnotami přímkou a jednak jsme orientačně zobrazili i klouzavý průměr – takovým způsobem, aby bylo naznačeno, ve kterém věku je nápadný pokles nebo vzestup – ale aby tak nevznikaly nepřiliš ostré vlny.

## 8. VÝSLEDKY

### 8.1. Závislost ER na věku

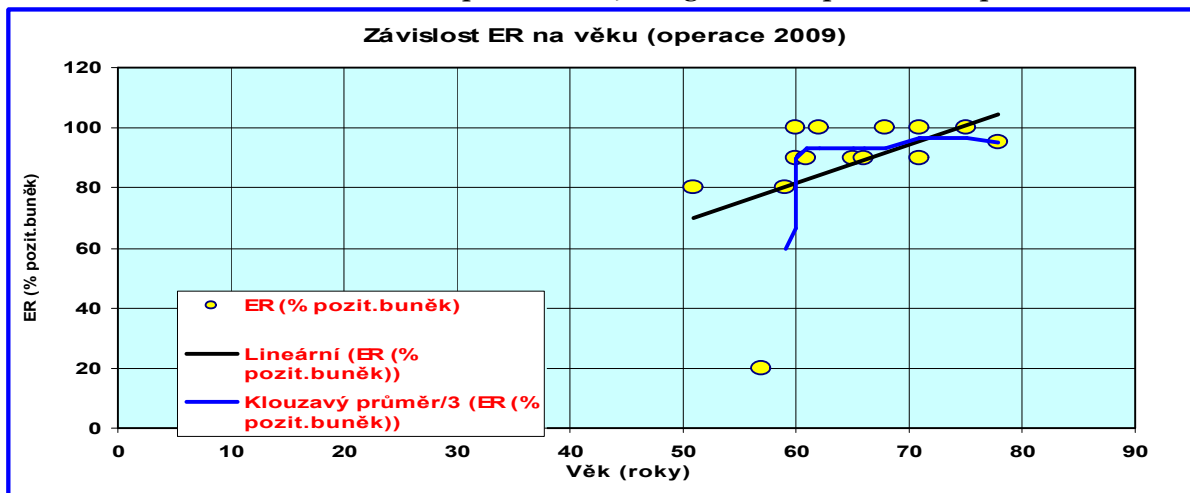
**Grade 1:** u jehlových biopsií nelze mluvit o jakékoliv tendenci závislosti ER na vzrůstajícím věku, pacientek v tomto souboru je pouze pět. Žádná pacientka není ER negativní.

Graf č. 1: Závislost ER na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 1, v procentech pozitivních buněk



U pacientek operovaných je již vidět očekávaný vzestup závislosti ER na věku. Pacientek v souboru je 14. Všechny jsou ale v postmenopauzálním věku (tedy nad 50 let) – a tedy nelze porovnávat premenopauzální s postmenopauzálními. Proto sledování věkové závislosti zde nemá smysl. Je zde velmi malý rozptyl hodnot u ER. Hodnoty leží mezi 80 a 100 % pozitivních buněk až na jednu pacientku se 20 % pozitivních buněk. Žádná pacientka není ER negativní.

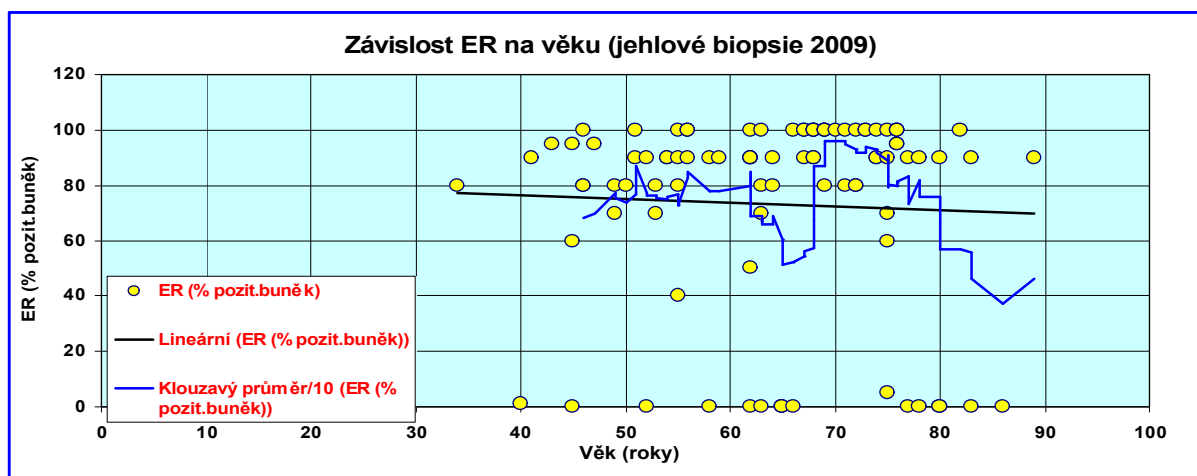
Graf č. 2: Závislost ER na věku (operace 2009) – grade 1, v procentech pozitivních buněk



Směr proložené přímky nelze považovat za spolehlivý ani v jednom z grafů, neboť pacientek je málo a nejsou zde žádné premenopauzální pacientky. Totéž platí pro náznak vlnového průběhu v grafech.

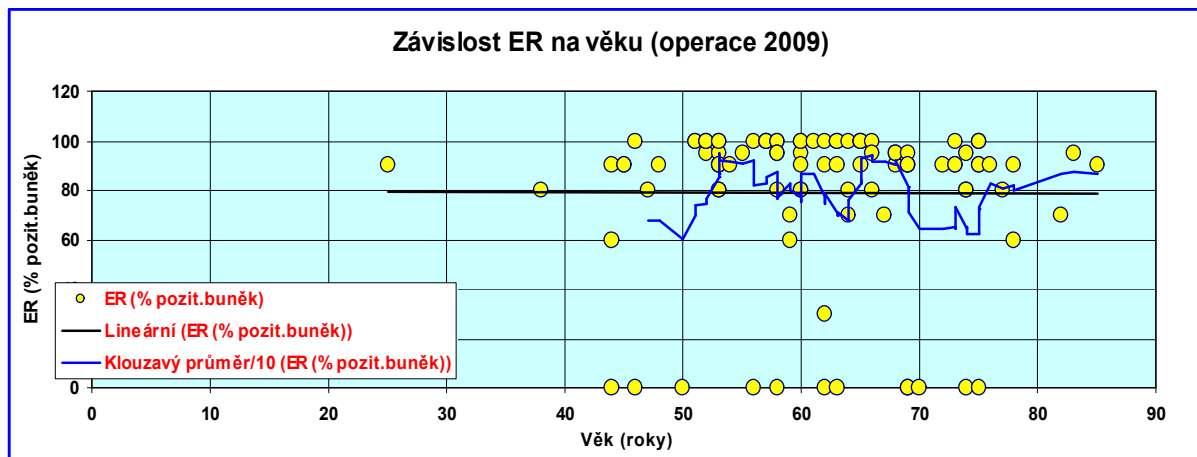
**Grade 2:** soubor jehlových biopsií obsahuje 96 pacientek s věkovým průměrem 64,22 let, z toho 13 mladších padesáti let. ER se zvyšujícím se věkem mírně klesá. Pacientek ER negativních je 15,8 %.

Graf č. 3: Závislost ER na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 2, v procentech pozitivních buněk



Soubor operovaných pacientek čítá 98 pacientek, jejichž věkový průměr je 61,82 let. Z tohoto počtu je 11 pacientek pod věkovou hranicí 50 let. Proložená přímka je takřka vodorovná, o vzrůstající nebo klesající závislosti zde nelze mluvit. Zajímavější je skutečnost, že v tomto grafu (s nádory grade 2) je pravděpodobně relativně větší počet nulových hodnot než v případě grade 1. Pacientek ER negativních je 12,4 %.

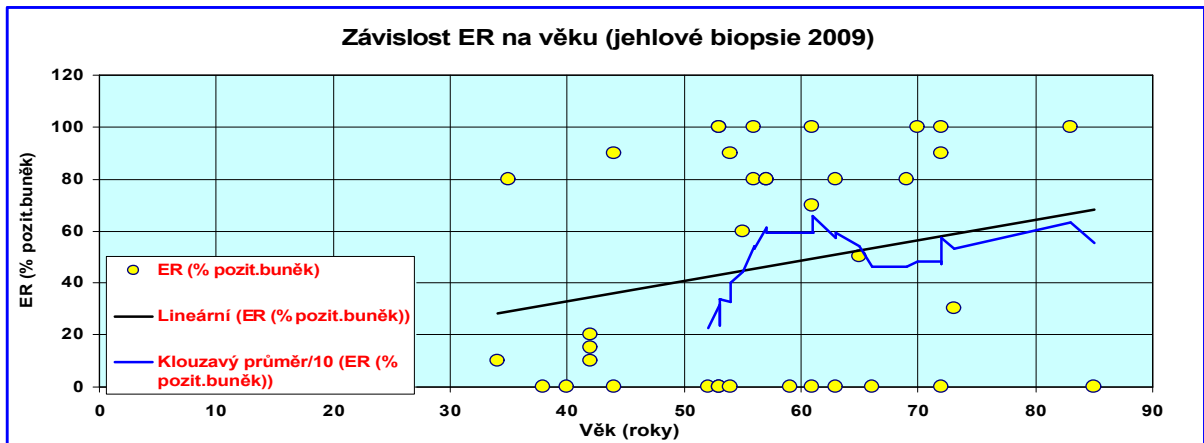
Graf č. 4: Závislost ER na věku (operace 2009) – grade 2, v procentech pozitivních buněk



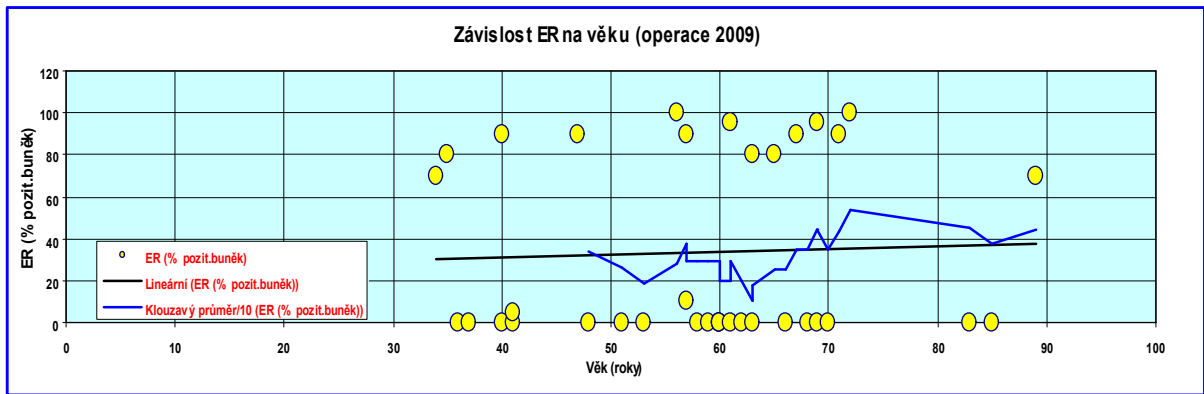


**Grade 3:** u jehlových biopsií máme v souboru 37 pacientek s věkovým průměrem 57 let. Z toho 9 pacientek je premenopauzálních. Operovaných pacientek obsahuje soubor 37, věkový průměr je 58,22 let, 10 pacientek je mladších padesáti let. U obou grafů s grade 3 je vidět vzrůstající závislost ER na věku. Je zde na rozdíl od gradu 1 a 2 patrný vyšší počet pacientek ER negativních: u jehlových biopsií je jich 35,1 % a u operací 56,7 %.

Graf č. 5: Závislost ER na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 3, v procentech pozitivních buněk



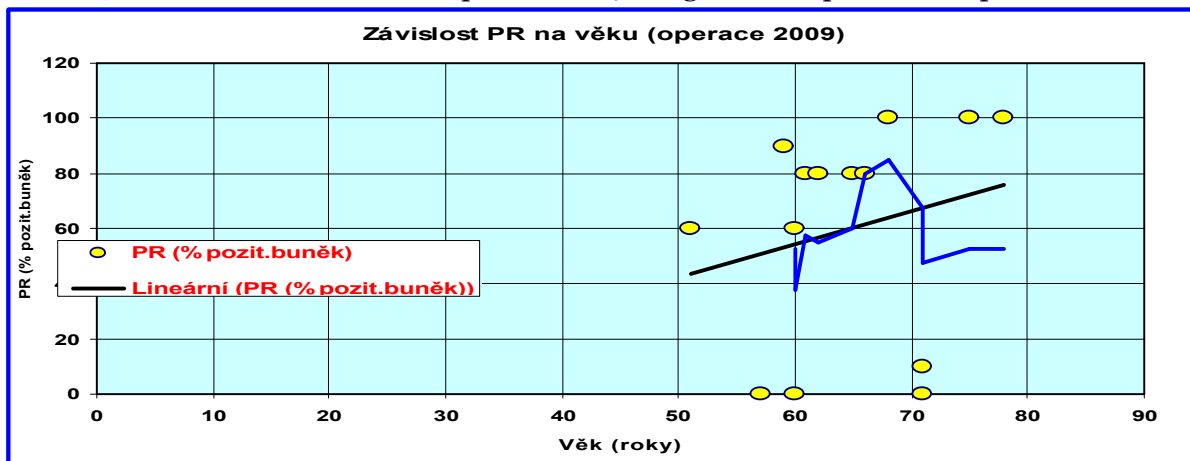
Graf č. 6: Závislost ER na věku (operace 2009) – grade 3, v procentech pozitivních buněk



## 8.2. Závislost PR na věku

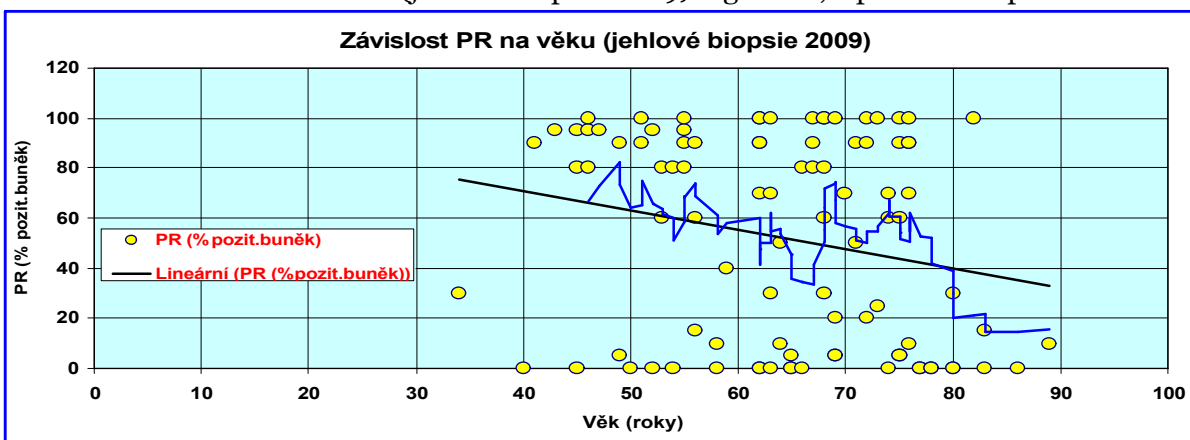
**Grade 1:** u operací vidíme stoupající tendenci závislosti PR na věku. Soubor má 14 pacientek. Počet pacientek je tak malý, že je možno prohlásit, že jde pravděpodobně o náhodný vzestup. Počet PR negativních pacientek je 21,4 %.

Graf č. 7: Závislost PR na věku (operace 2009) – grade 1, v procentech pozitivních buněk

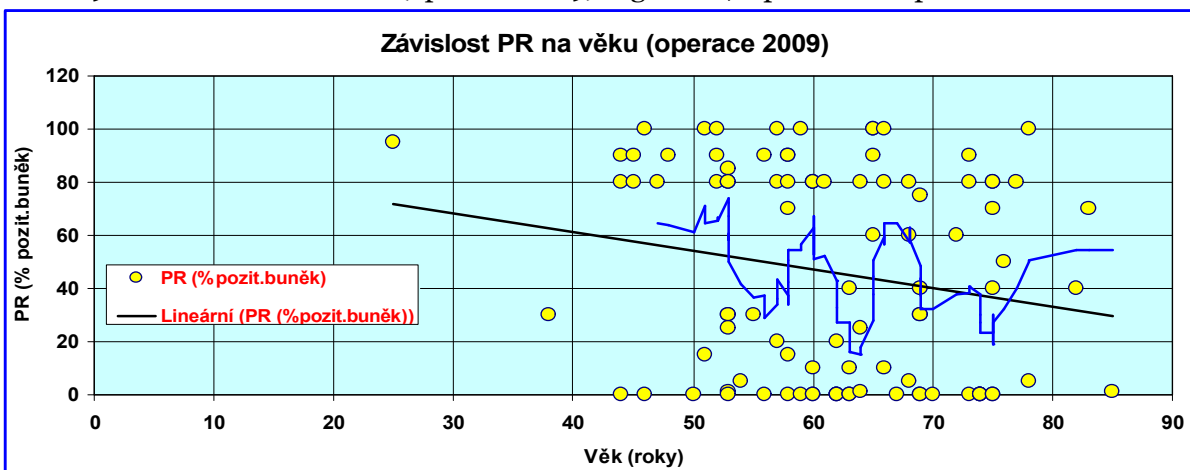


**Grade 2:** jak u jehlových biopsií tak u operací vidíme pokles závislosti PR na věku. Je zde velký rozptyl hodnot PR pozit. buněk, jen málo hodnot leží blízko průměru. Procento negativních hodnot PR je u jehlových biopsií 22,1 % a u operací 25,8 %.

Graf č. 8: Závislost PR na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 2, v procentech pozit. buněk

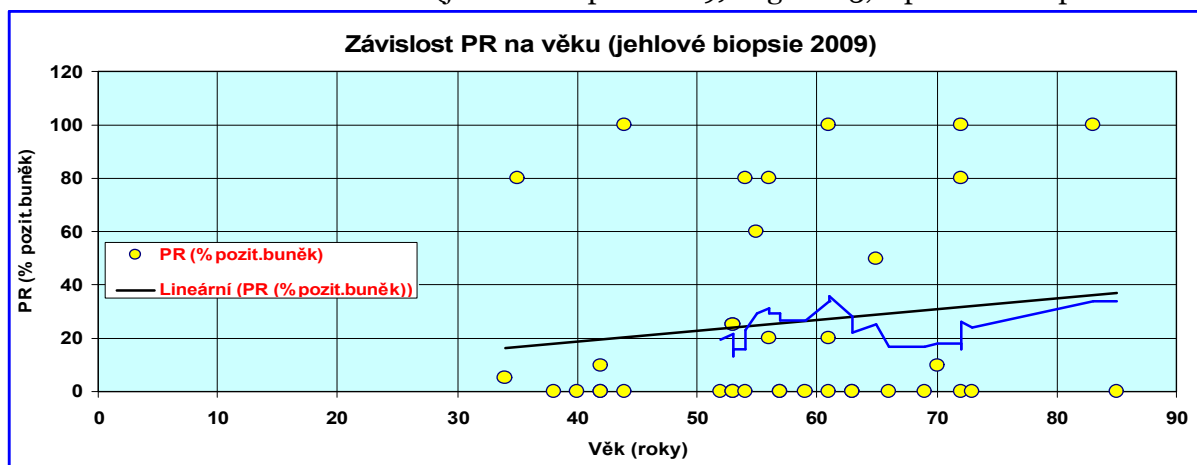


Graf č. 9: Závislost PR na věku (operace 2009) – grade 2, v procentech pozit. buněk

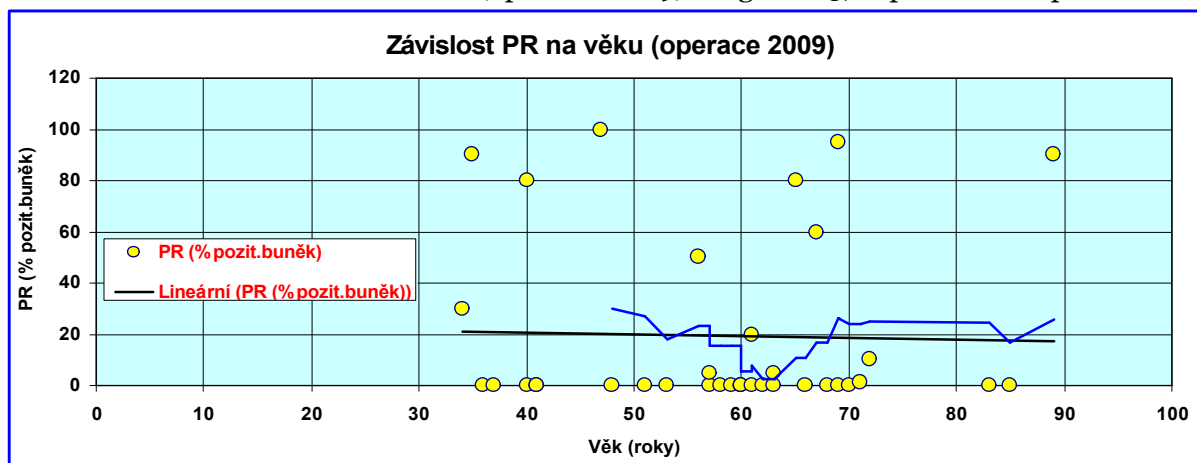


**Grade 3:** u jehlových biopsií je v grafu naznačena vzrůstající tendence závislosti PR na věku, u operací není závislost jednoznačná. 54 % pacientek v obou souborech je PR negativních.

Graf č. 10: Závislost PR na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 3, v procentech pozit. buněk



Graf č. 11: Závislost PR na věku (operace 2009) – grade 3, v procentech pozit. buněk



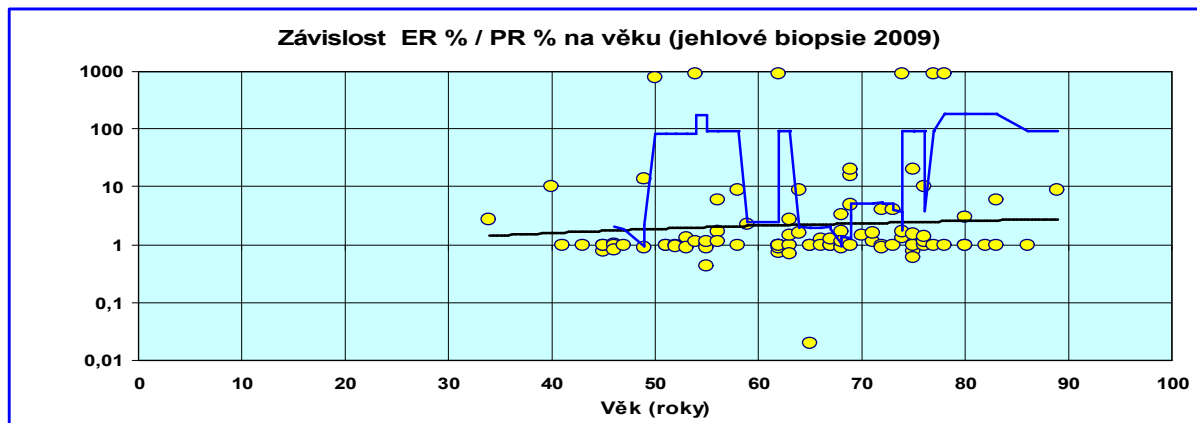
### 8.3. Závislost poměru ER/PR na věku

**Grade 2:** u jehlových biopsií je poměr ER/PR v 80 případech z 90 roven jedné nebo je větší, u operací je to v 92 případech z 97, což je v souladu s literaturou o postmenopauzálních pacientkách, kde je převaha ER nad PR častější než převaha PR nad ER.

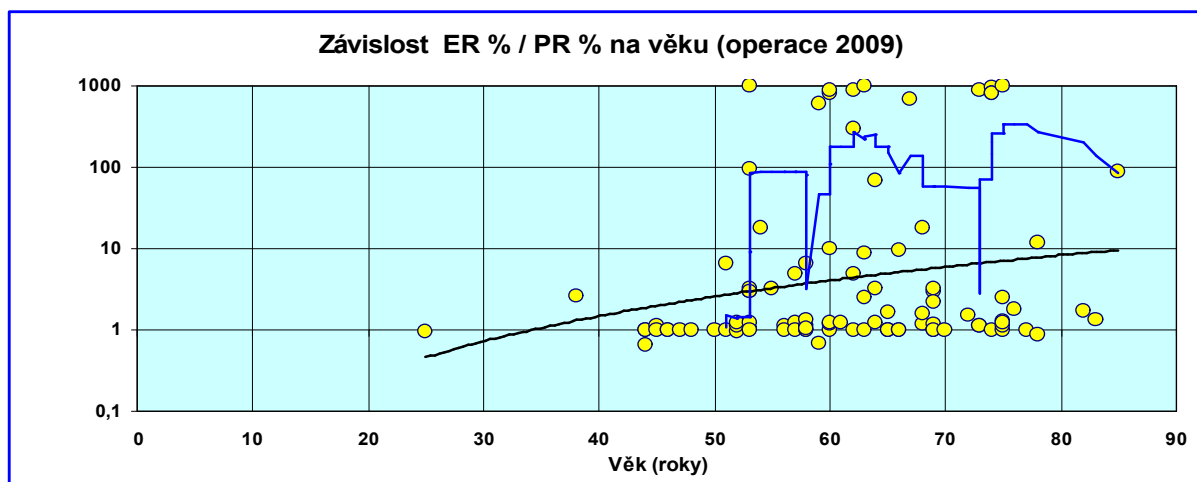
Křivka klouzavého průměru zde dává falešně markantní vlny – a to proto, že na ose y mají hodnoty logaritmicke-normální distribuci. Tisícínásobná převaha ER nad PR přetáhne klouzavý průměr k hodnotě 100, přestože dalších 10 pacientek má např. hodnotu ER/PR

dovnou 1,0. Na ose y je v podstatě logaritmická stupnice – jinak by nebylo možno zjištěné rozdíly zobrazit.

Graf č. 12: Závislost ER/PR na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 2, poměr procent pozit. buněk



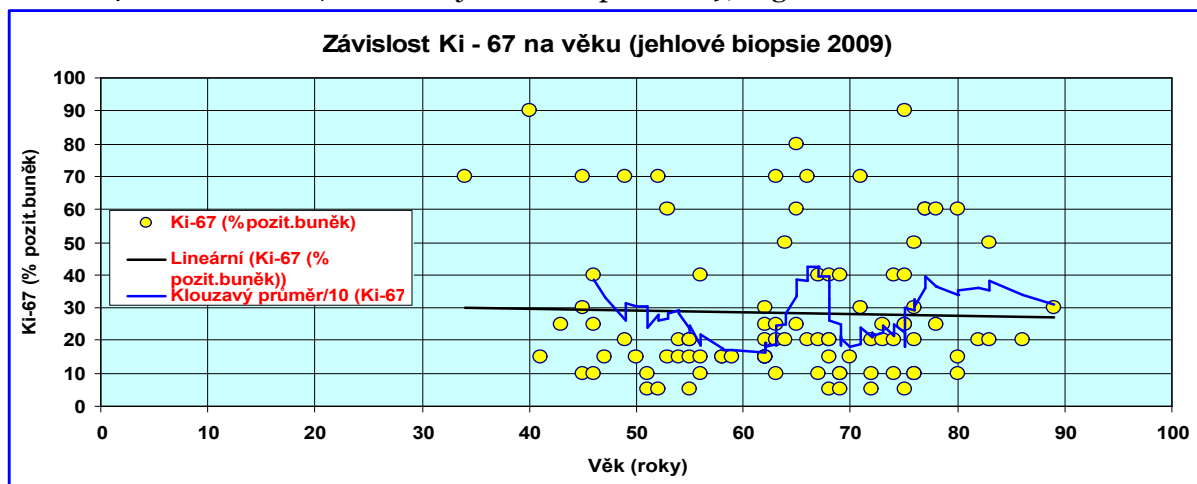
Graf č. 13: Závislost ER/PR na věku (operace 2009) – grade 2, poměr procent pozit. buněk



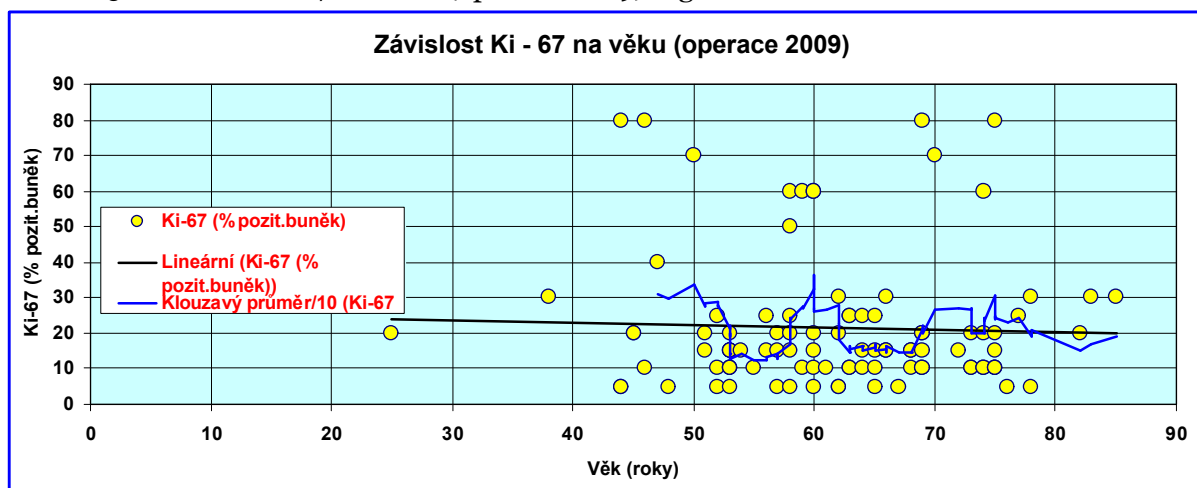
## 8.4. Závislost Ki-67 na věku

**Grade 2:** jak u jehlových biopsií tak u operací není průkazný vzestup ani pokles závislosti hodnot Ki-67 na věku. Patrné je však nahloučení bodů v dolní části grafu, tj. u jehlových biopsií je hodnot mezi 0 a 30 % pozitivních buněk 69 případů z 95 (72,6 %) a u operací je hodnot mezi 0 a 30 % pozitivních buněk 84 případů z 97 (86,6 %).

Graf č. 14: Závislost Ki-67 na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 2

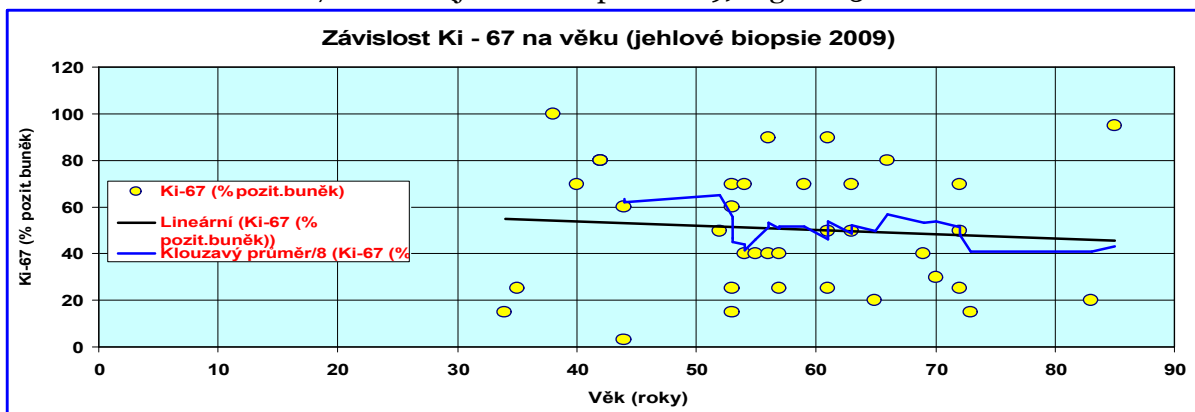


Graf č. 15: Závislost Ki-67 na věku (operace 2009) – grade 2

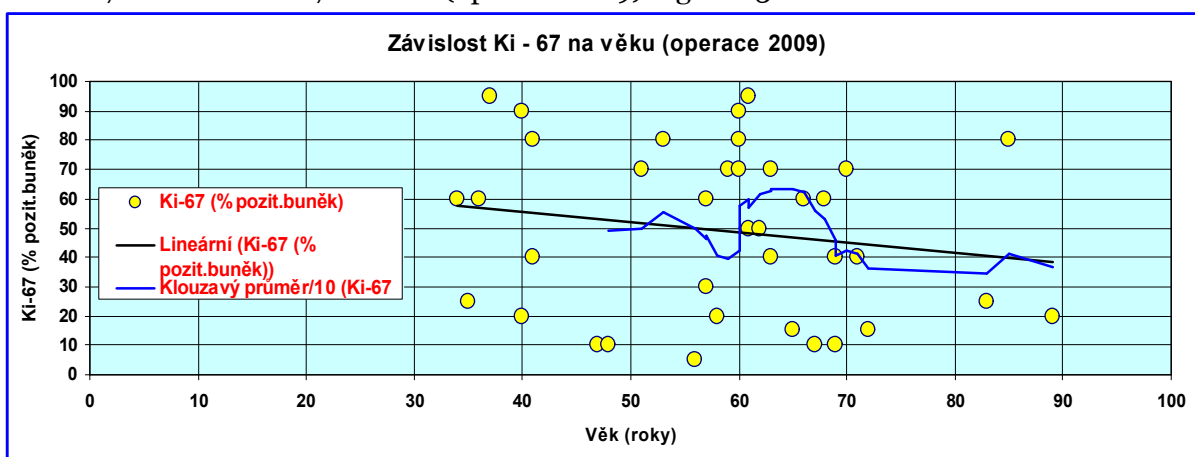


**Grade 3:** tady jak u jehlových biopsií tak u operací vypadají grafy závislosti Ki-67 na věku jinak než u gradu 2. Dá se říci, že hodnoty jsou rovnoměrněji rozptýleny kolem průměru a je tu slabě naznačen pokles Ki-67 s věkem. Samozřejmě jej nepokládáme za statisticky významný. Navíc je u operací způsoben pouze malou skupinkou hodnot nejstarších pacientek. V obou souborech je však pouze 37 pacientek.

Graf č. 16: Závislost Ki-67 na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 3



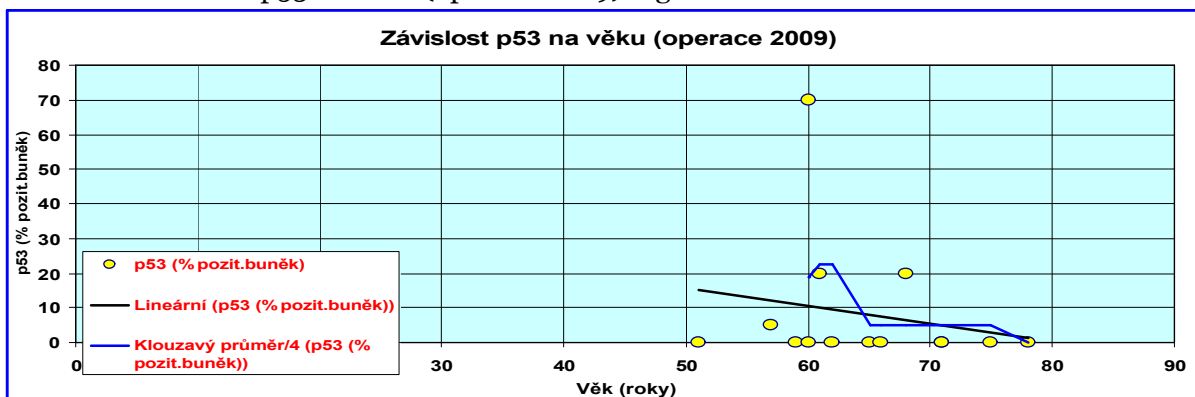
Graf č. 17: Závislost Ki-67 na věku (operace 2009) – grade 3



## 8.5. Závislost p53 na věku

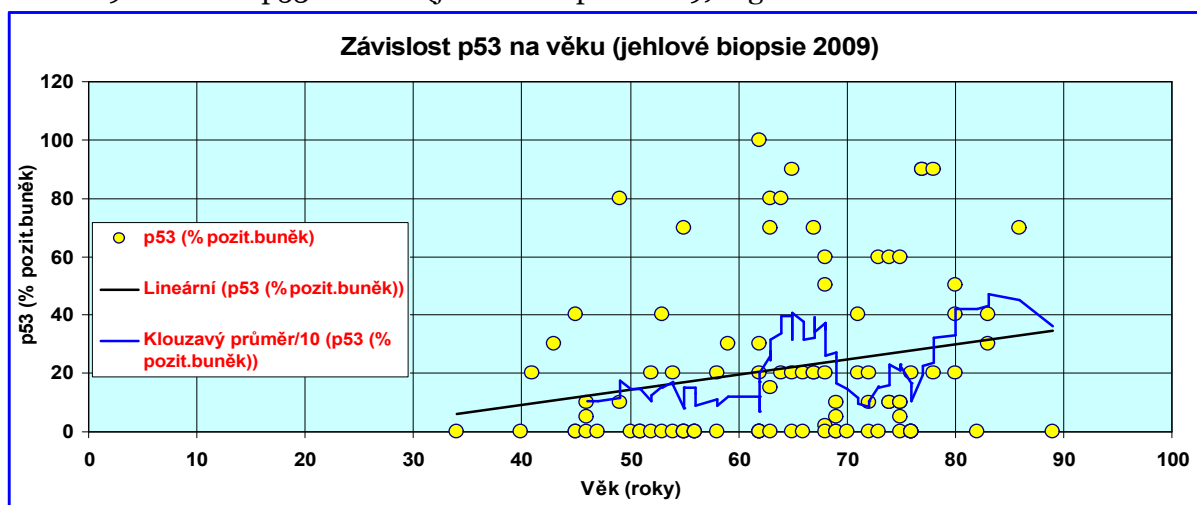
**Grade 1:** u operací vidíme převážně nulové hodnoty p53. Soubor má však pouze 14 pacientek.

Graf č. 18: Závislost p53 na věku (operace 2009) – grade 1

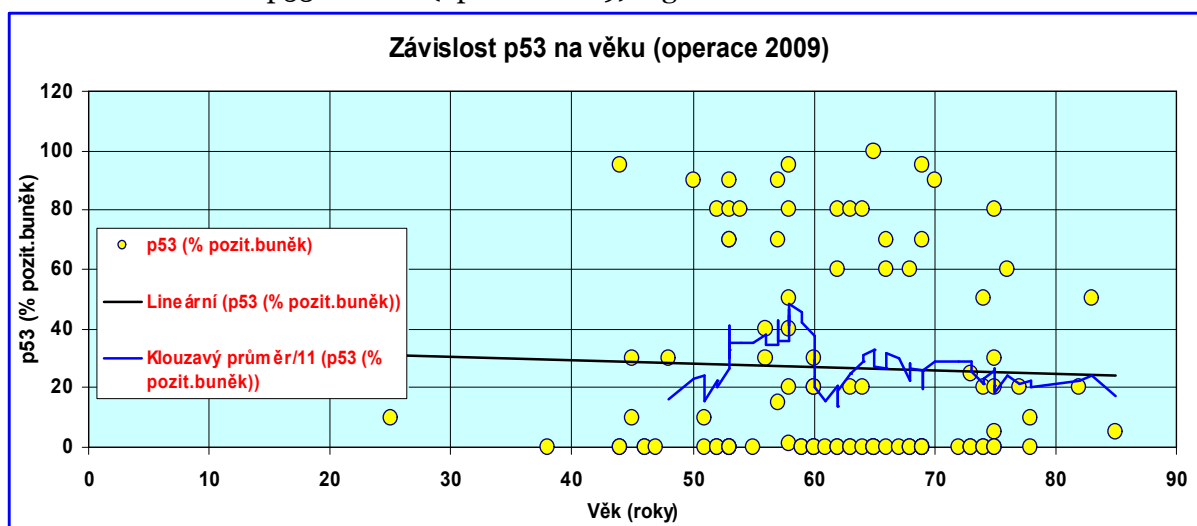


**Grade 2:** tady jsou již hodnoty rozptýlenější, stále ještě vidíme množství negativních hodnot: u jehlových biopsií v 39 případech z 95 (41 %) a u operací v 44 případech z 97 (45,3 %).

Graf č. 19: Závislost p53 na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 2

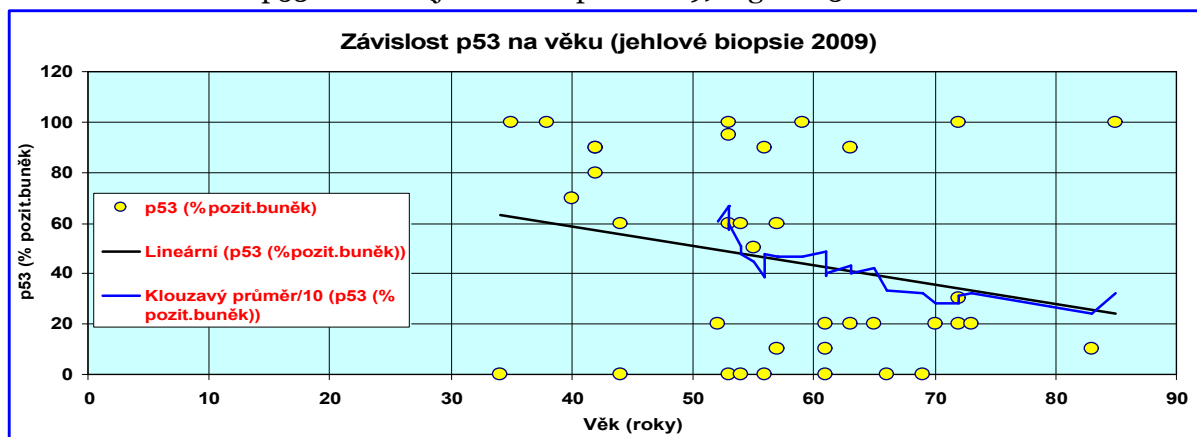


Graf č. 20: Závislost p53 na věku (operace 2009) – grade 2

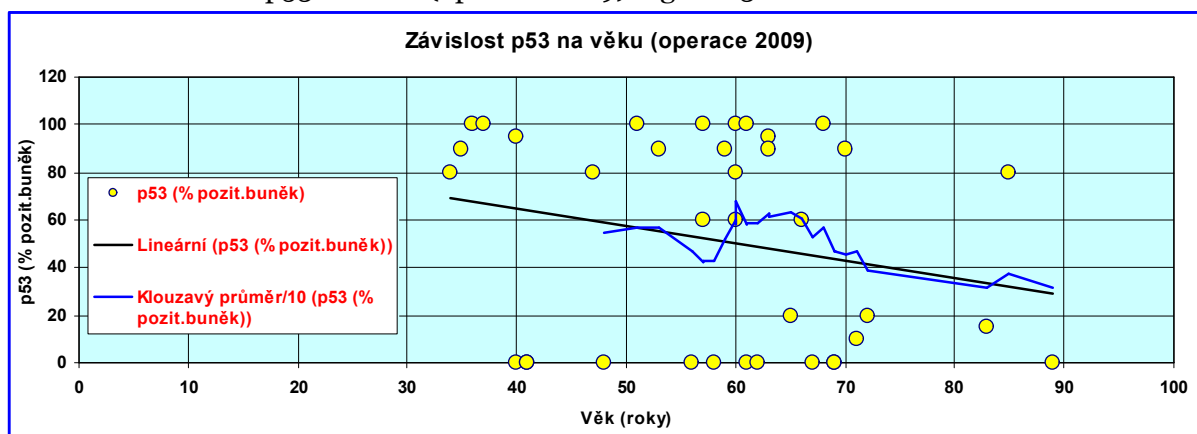


**Grade 3:** u jehlových biopsií leží 18 hodnot ze 37 (48,6 %) mezi 50 a 100 %, u operací leží v tomto rozmezí 21 ze 37 hodnot (56,8 %). Proložená přímka sice má klesající tendenci, ale z takto malého množství pacientek nelze dělat závěry. V případě grade 3 se ale zjištěné hodnoty nápadně málo vyskytují v oblasti proložené přímkou. Lze se domnívat, že v případě grade 3 se soubor rozděluje na dva podsoubory (jednak nízký a jednak vysoký) – se snadno stanovitelným rozhraním – asi 40 %.

Graf č. 21: Závislost p53 na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 3



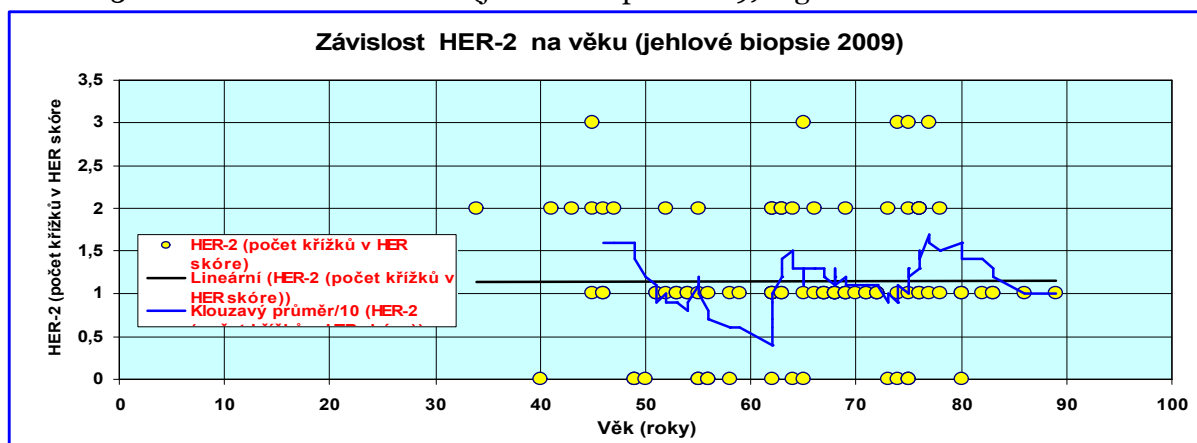
Graf č. 22: Závislost p53 na věku (operace 2009) – grade 3



## 8.6. Závislost HER-2 na věku

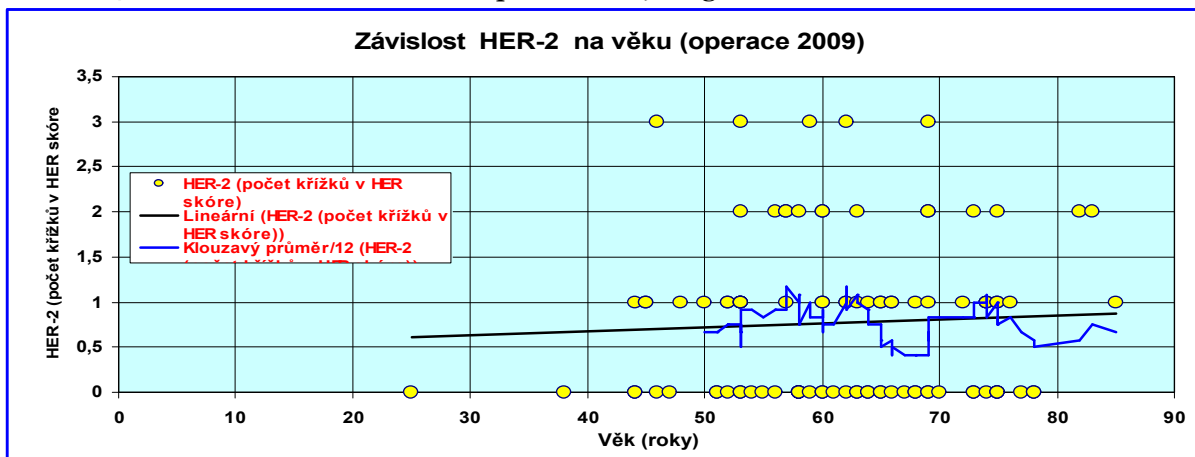
**Grade 2:** ani u jehlových biopsií ani u operací není vidět žádná přesvědčivá závislost HER-2 na věku.

Graf č. 23: Závislost HER-2 na věku (jehlové biopsie 2009) – grade 2





Graf č. 24: Závislost HER-2 na věku (operace 2009) – grade 2

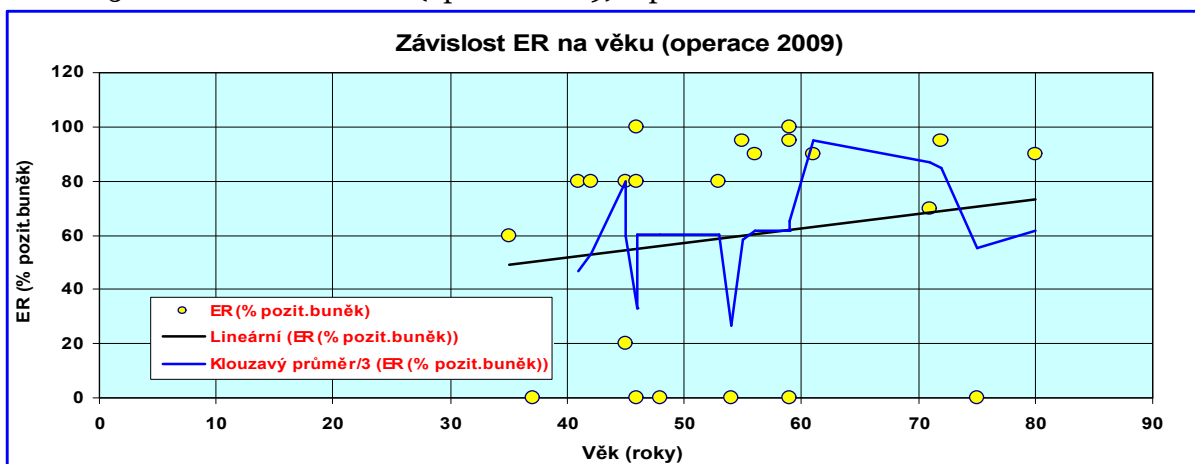


## 8.7. Rok 2009 – pacientky léčené

Jedná se o 22 pacientek, o kterých jistě víme, že podstoupily před odběrem vzorku nějaký druh léčby. V šestnácti případech jde o neoadjuvantní chemoterapii, ve dvou případech podstoupily pacientky radioterapii, dvě pacientky byly léčeny nějakým druhem hormonální léčby a dvě pacientky byly léčeny jak neoadjuvantní chemoterapií tak radioterapií.

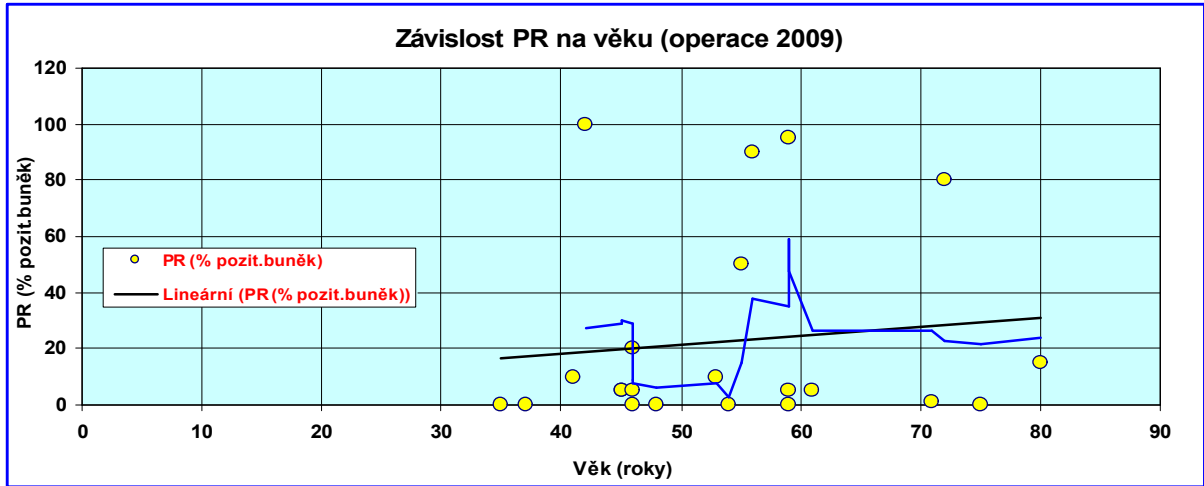
**Závislost ER na věku:** rozptyl hodnot je velký, vyskytují se i negativní hodnoty, ale hodnot vyšších – nad 80 % pozitivních buněk je zřetelně více – 13 případů z 22, tj. 59 %. V následujícím grafu by snad bylo možno také hovořit o tom, že se zjištěné hodnoty nápadně málo vyskytují v oblasti proložené přímkou. Lze se domnívat, že v případě ER se soubor léčených před vyšetřením rozděluje na dva podsoubory (jednak nízký a jednak vysoký) – se snadno stanovitelným rozhraním – opět asi 40 %.

Graf č. 25: Závislost ER na věku (operace 2009) – po léčbě



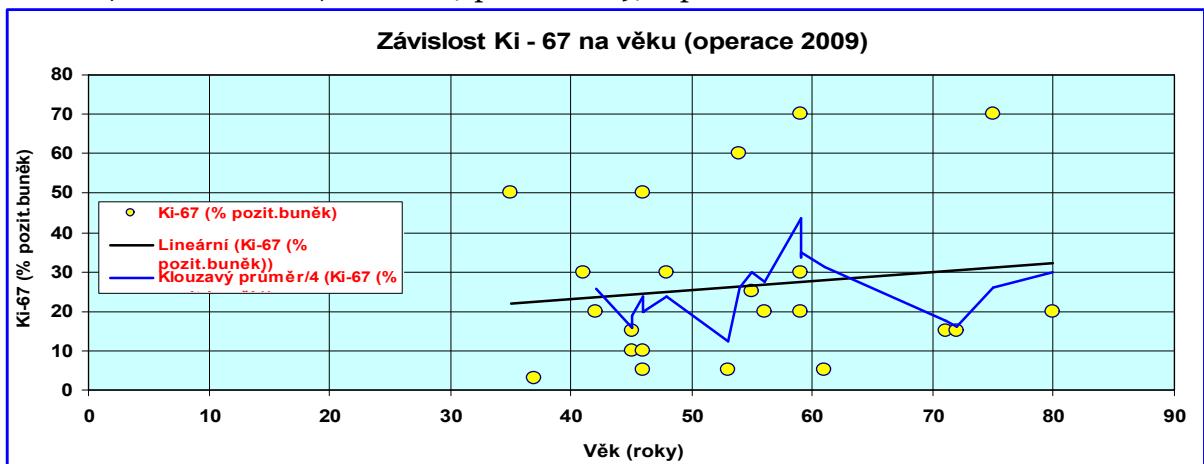
**Závislost PR na věku:** stoupající tendence této závislosti, kterou zde vidíme, není přesvědčivá pro malý počet patientek. Větší množství bodů je v dolní části grafu – 15 hodnot z 22 (68,2 %) leží mezi nulou a 10 %. PR negativních je 31,8 %.

Graf č. 26: Závislost PR na věku (operace 2009) – po léčbě



**Závislost Ki-67 na věku:** z grafu je patrná mírně stoupající tendence této závislosti, ta je ale pravděpodobně arteficiální. Stejně jako u patientek v předešlých souborech, kde léčba nebyla potvrzena, se tu vyskytuje 17 hodnot z 22 v rozmezí 0 až 30 % pozitivních buněk, což je 77,3 %.

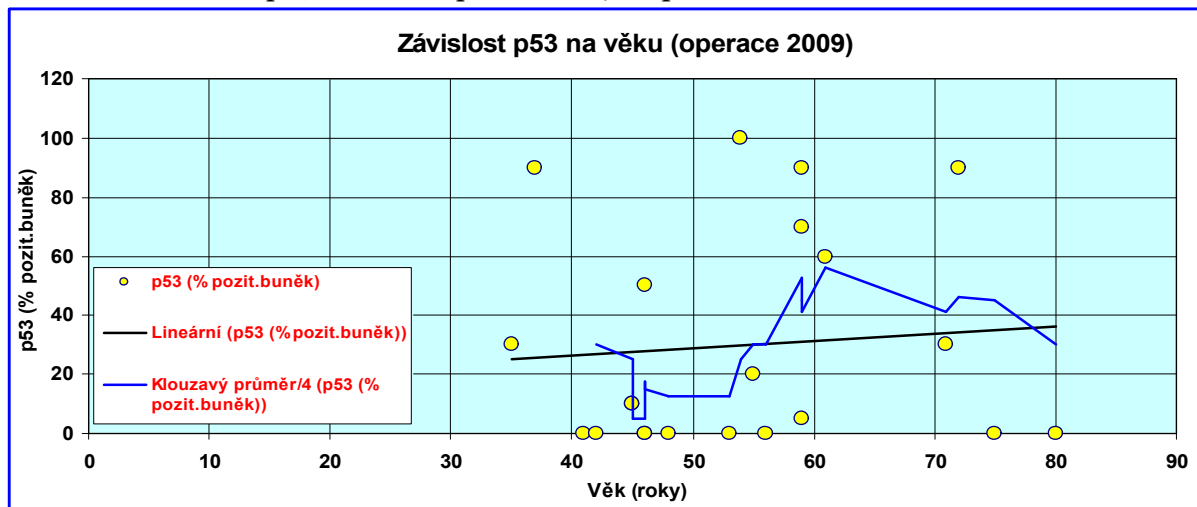
Graf č. 27: Závislost Ki-67 na věku (operace 2009) – po léčbě



**Závislost p53 na věku:** graf se nijak výrazně neliší od grafů patientek s neprokázanou léčbou. Tady však vidíme místo náznaku klesající tendence závislosti tendenci stoupající,

stejně jako v grafu č. 19 na str. 47. Lze snad říci, že vlna u věku 60 let je opět náhodná.

Graf č. 28: Závislost p53 na věku (operace 2009) – po léčbě



## 9. DISKUZE

### 9.1. Závislost ER na věku

Vzrůstající závislost ER na věku je nejlépe patrná z grafů, kde máme vzorky s gradem 3. Dále je také vidět u grafu, kde jsou vzorky s gradem 1 u operací. To je v souladu s literaturou, i když pro větší spolehlivost směru proložené přímky by bylo třeba mít v souboru více premenopauzálních pacientek. Naopak klesající závislost ER na věku je vidět u grafu se vzorky s gradem 2 u jehlových biopsií. V grafu se vzorky s gradem 2 u operací není tato závislost ani vzrůstající ani klesající.

U vzorků nádorů s gradem 1 u pacientek operovaných je velmi malý rozptyl hodnot ER, které leží až na jednu mezi 80 a 100 %. Příčina by mohla být ve výběru pacientek pro toto vyšetření, neboť ER negativní pacientky se ve statistických souborech vyskytují velice často. Další příčinou by mohlo být předávkování protilátek. Pokud by byly např. vzorky z jehlových biopsií a operací zpracovávány zvlášť, přicházela by v úvahu tato možnost. Vzorky ale zvlášť zpracovávány nejsou. Také vzhledem k tomu, že u jehlových biopsií je ER negativních výsledků dostatek, je možnost předávkování protilátek málo pravděpodobná.

Zajímavé je to, že pacientky s nádory s gradem 3 mají ve zvýšené míře hodnoty ER negativní. Nic takového u pacientek s gradem nižším nepozorujeme. Také tento fakt je v literatuře popsán.

Jediný, nejmarkantnější námi nalezený rozdíl mezi vzorky získanými jehlovou biopsií a operací je v hodnotách ER negativních pacientek s gradem 3: u jehlových biopsií je jich ER negativních 35,1 % a u operací 56,7 %.

### 9.2. Závislost PR na věku

U vzorků pacientek operovaných s gradem 1 zjišťujeme stoupající závislost PR na věku. Tento výsledek však nemusí nic znamenat, vzhledem k velmi malému počtu pacientek v tomto souboru. U pacientek s gradem 2 však již vidíme pokles závislosti hodnot PR na věku, což je ve shodě s literaturou. U vzorků s gradem 3 není opět závislost jednoznačná.

Asi polovina pacientek, shodně jak u jehlových biopsií, tak u operací je zde PR negativních. To je sice v souladu s odbornou literaturou, ale opět vzhledem k nevelkému souboru pacientek nelze jednoznačný závěr učinit. Procento PR negativních pacientek je u vzorků s gradem 2: u

jehlových biopsií 22,1 % a u operací 25,8 %. Procento PR negativních pacientek u vzorků s gradem 3 je vyšší: 54 % jak u jehlových biopsií tak u operací.

Ukazuje se, že problematika závislosti PR na věku je mnohem složitější než u ER.

Zajímavá může být vlna současného poklesu ER a PR v 65 letech, která je dobře patrná.

### **9.3. Závislost poměru ER/PR na věku**

Za spolehlivý údaj lze považovat, že u vzorků jehlových biopsií s gradem 2 je zlomek ER/PR v 80 případech z 90 roven jedné nebo je větší, u operací je to v 92 případech z 97, což je částečně v souladu s literaturou o postmenopauzálních pacientkách, kde převaha ER nad PR je častější než převaha PR nad ER.

Za již méně spolehlivý údaj můžeme považovat nárůst zlomku ER/PR s věkem. Bez dostatečného počtu premenopauzálních pacientek však takový výsledek ztrácí na zajímavosti.

### **9.4. Závislost Ki-67 na věku**

Závislost Ki-67 na věku jsme neprokázali. Možná může být ale jeho závislost na gradu, neboť u vzorků s gradem 2 máme kolem 80 % hodnot do 30 % pozitivitu, kdežto u vzorků s gradem 3 je hodnot ve stejné oblasti jednoznačně méně. Tuto domněnku by bylo ale třeba statisticky otestovat.

### **9.5. Závislost p53 na věku**

Také závislost p53 na věku se nám nepodařilo spolehlivě prokázat. Stejně jako u Ki-67 lze však usuzovat na možnou závislost p53 na gradu. U vzorků s gradem 2 se ještě vyskytuje množství (téměř polovina) negativních hodnot, kdežto u vzorků s gradem 3 je již patrný velký rozptyl hodnot, negativní hodnoty zde již nepřevládají.

V případě grade 3 se zjištěné hodnoty nápadně málo vyskytují v oblasti proložené přímkou. Lze se domnívat, že v případě grade 3 se soubor rozděluje na dva podsoubory (jednak nízký a jednak vysoký) – se snadno stanovitelným rozhraním – asi 40 %.

## 9.6. Závislost HER-2 na věku

Ani tady jsme nenašli přesvědčivou závislost na věku.

## 9.7. Rok 2009 – pacientky léčené

Na souboru 22 pacientek jsme se pokusili zjistit, zdali se závislosti markerů u nich naměřených na věku budou nějak lišit od závislostí zjištěných u souborů pacientek uvedených výše – tedy u těch, u nichž o jejich případné léčbě nemáme informace, respektive léčbu nepředpokládáme. Podaná hormonální léčba v menopauze by mohla měnit počet hormonálních receptorů a mohla by mít za následek falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledky.

Za zmínku stojí převažující vysoké hodnoty ER (nad 80 % pozitivních buněk) a naopak převažující nízké hodnoty PR (mezi 0 a 10 % pozitivních buněk) v souboru léčených pacientek. Přesvědčivé závěry z toho však nelze dělat. K tomu bychom museli dohledat údaje o léčbě u všech pacientek.

U grafu závislosti ER na věku by snad bylo možno hovořit o tom, že se zjištěné hodnoty nápadně málo vyskytují v oblasti proložené přímkou. Lze se domnívat, že v případě ER se soubor léčených před vyšetřením rozděluje na dva podsoubory (jednak nízký a jednak vysoký) – se snadno stanovitelným rozhraním – asi 40 %.

PR negativních léčených pacientek je 31,8 %, kdežto u operovaných pacientek bez léčby je PR negativních: u gradu 1 – 21,4 %, u gradu 2 – 25,8 % a u gradu 3 – 54 %.

Je vidět, že nelze srovnávat náš soubor léčených pacientek se soubory pacientek, o jejichž léčbě nemáme žádné údaje. Proto by mohlo být přínosné vzít v potaz některé z klinických údajů. Ty by mohlo poskytnout např. onkologické pracoviště nemocnice. Údajů pro další statistické zpracování je v takto velké nemocnici dostatek. Detailnější zpracování a u většího souboru pacientek je však nad rámec této bakalářské práce.

## 10. ZÁVĚR

Podařilo se nám zpracovat výsledky imunohistochemických vyšetření markerů u karcinomu prsu u pacientek vyšetřených ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové v roce 2009.

Naším hlavním cílem bylo porovnat, jestli se liší výsledky vyšetření získaných jehlovou biopsií a operací. Pro porovnání jsme zvolili závislost markerů na věku pacientek. Potvrdilo se nám, že vyšetření provedená jak z jehlových biopsií tak z operací dávají v průměru velice podobné výsledky. Odlišnosti u výsledků těchto vyšetření u konkrétních pacientek jsou pak pravděpodobně způsobeny variabilitou uvnitř nádoru.

Jediný, nejmarkantnější námi nalezený rozdíl mezi vzorky získanými jehlovou biopsií a operací je v hodnotách ER negativních pacientek s gradem 3: u jehlových biopsií je jich ER negativních 35,1 % a u operací 56,7 %.

Za spolehlivý námi zjištěný údaj lze považovat, že u vzorků jehlových biopsií s gradem 2 je zlomek ER/PR v 80 případech z 90 roven jedné nebo je větší, u operací je to v 92 případech z 97, což je částečně v souladu s literaturou o postmenopauzálních pacientkách, kde převaha ER nad PR je častější než převaha PR nad ER.

## 11. SEZNAM ZKRATEK

ca	carcinoma, karcinom
c-erbB-2	jiná zkratka pro HER-2 (c-cellular, erbB-erythroblastosis oncogene B
CISH	chromogenní in situ hybridizace
cTNM	klinická klasifikace maligních tumorů (clinic Tumor-Node-Metastasis)
DAB	3,3' - diaminobenzidin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EGFR	epidermal growth factor receptor
EPR	estrogen related receptors
ER	estrogenový receptor
FISH	fluorescenční in situ hybridizace
FN HK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
G	stupeň diferenciacce (grade)
GPER-1	estrogenový receptor 1 asociovaný s G proteinem
G protein	GTP (guanosintrifosfát) vázající protein
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peroxid vodíku
HCl	kyselina chlorovodíková
HER-2	human epidermal growth factor receptor-2
HER-2/neu	human epidermal growth factor receptor-2/neuroglioblastoma
HRP	křenuv peroxidáza (horseradish peroxidase)
HSP	heat shock proteins
ICD-O	International classification of diseases in oncology
IDC	intraduktální karcinom
ILC	intralobulární karcinom
IgG <sub>1</sub>	imunoglobulin třídy G, podtřídy 1
IRS	Immuno Reactive Score
KCl	chlorid draselný
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	dihydrogenfosforečnan draselný
Ki-67	marker buněčné proliferace
LHRH	luteinizing hormone-releasing hormone
M	metastáza
M-kód	morfologický kód
N	nodus, lymfatická uzlina



Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O	dodekahydrát hydrogenfosforečnanu disodného
NaCl	chlorid sodný
NaOH	hydroxid sodný
NS	nespecifikován
p53	protein o molekul. váze 53 kD (kilodaltonů)
PBS	fosfátový promývací pufr (Phosphate Buffered Saline)
pH	potentia Hydrogenii
PR	progesteronový receptor
pTNM	patologická klasifikace maligních tumorů (pathologic Tumor-Node-Metastasis)
SISH	in situ hybridizace s impregnací stříbrem
T	tumor
TNM	klasifikace maligních tumorů (Tumor-Nodus-Metastasis)
Tris	tris-(hydroxymethyl)-aminomethan pufr
WHO	Světová zdravotnická organizace

## 12. POUŽITÁ LITERATURA A ZDROJE

ABRAHÁMOVÁ, J. Současné možnosti léčby karcinomu prsu. *Remedia*, 2002, roč. 12, č. 4, s. 233–246.

ABRAHÁMOVÁ, J., BÜCHLER, T. *Karcinom prsu* [online]. © 2007, [cit. 2011-08-27].

Dostupné z:

<[http://www.medicabaze.cz/index.php?&sec=term\\_detail&termId=2747&tname=Karcinom+prsu](http://www.medicabaze.cz/index.php?&sec=term_detail&termId=2747&tname=Karcinom+prsu)>.

CUMMINGS, M.C., WALSH, M.D., HOHN, B.G., BENNETT, I.C., WRIGHT, R.G., McGUICKIN, M.A. Occult axillary lymph node metastases in breast cancer do matter: results of 10-year survival analysis. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2002, vol. 26, no. 10, s. 1286–1295. Abstrakt databáze PubMed.

DOWSETT, M. *Faktory predikující odpověď a rezistenci na endokrinní terapii u karcinomu prsu* [online]. Komentář Luboš Petruželka. © 2008, [cit. 2011-08-27].

Dostupné z: <<http://www.linkos.cz/odbornici/vzdelavani/asco/vypis.php?id=24&t>>.

DUŠEK, L., et al. *Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice*. Verze 7.0 (2007) [online]. Masarykova univerzita, 2005, [cit. 2011-07-17]. ISSN 1802-8861.

Dostupné z www: <<http://www.svod.cz>>.

ECKSCHLAGER, T., PRŮŠA, R. *Laboratorní vyšetření v onkologii: molekulárně biologické a imunologické vyšetření pacientů s nádory*. 1. vyd. Praha: Triton, 2002. 254 s.

ISBN 80-7254-186-2.

ELIŠKA, O., ELIŠKOVÁ, M. Lymfatická drenáž mléčné žlázy a prsu. In *Systematická, topografická a klinická anatomie*. Díl VII.: srdce a cévní systém. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1998. s. 181–184. ISBN 80-7184-119-6.

CHRENKO, V., FAIT, V. Taktika chirurgického řešení časného karcinomu prsu. In *Diagnostika a léčba nádorů prsu. Sborník přednášek z XIII. Jihočeských onkologických dnů konaných ve dnech 19. – 21. 10. 2006 v Českém Krumlově*. České Budějovice: Nemocnice České Budějovice, a.s., 2006. s. 18–27.

JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J., KELLY, O.R. *Základy histologie*. Přeložil Richard Jelínek. 1. vyd. Jinočany: Nakladatelství a vydavatelství H&H, 1999. 502 s. ISBN 80-85787-37-7. Kapitola 23, Ženský reprodukční systém: mléčné žlázy, s. 439–443.

KARÁSKOVÁ, O. *Nemocnice Kolín – porovnání histochemických výsledků estrogenových a progesteronových receptorů v nádorech prsu*. Hradec Králové: Univerzita Karlova. Farmaceutická fakulta. Katedra biologických a lékařských věd, 2008. 66 s. Vedoucí bakalářské práce MUDr. Jiří Hochmann, CSc.

KOLÁŘ, Z., NENUTIL, R., RYŠKA, A. *Doporučený postup pro zpracování a vyšetření bioptických vzorků prsu* [online]. 2007, [cit. 2011-07-20].  
Dostupné z: <[http://www.patologie.info/soubor/standardy/8-standard%20prs\\_definit.doc](http://www.patologie.info/soubor/standardy/8-standard%20prs_definit.doc)>.

KOLÁŘ, Z., NENUTIL, R., RYŠKA, A. *Doporučený postup pro histologické vyšetření karcinomu prsu* [online]. 2009, poslední aktualizace 4.12.2009 [cit. 2011-07-20].  
Dostupné z: <<http://www.patologie.info/soubor/standardy/13-Prs.pdf>>.

KONOPÁSEK, B., PETRUŽELKA, L. *Karcinom prsu: manuál diagnostiky a léčby*. 1. vyd. Praha: Galén, 1997. 125 s. ISBN 80-85824-66-3.

MAČÁK, J., MAČÁKOVÁ, J. *Patologie*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing a.s., 2004. 347 s. ISBN 80-247-0785-3. Kapitola 14.5, Patologie prsu, s. 286–290.

*Mezinárodní klasifikace nemocí: mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů ve znění 10. decenální revize*. 1. vyd. Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, 1992. 646 s.

*Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii*. 3. vyd. Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, 2004. 293 s. ISBN 80-7280-373-5.

NEČAS, E. Patofyziologie reprodukčního systému. In *Patologická fyziologie orgánových systémů*. Část II. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2004. Kapitola 6.8, s. 600–625.  
ISBN 80-246-0674-7.

NOVÝ, F. *Význam vyšetření HER2 u nádoru prsu* [online]. © 2009, [cit. 2011-07-20].  
Dostupné z: <<http://www.mammahelp.cz/vyznam-vysetreni-her2-u-nadoru-prsu.php>>.

PETERA, J., FILIP, S. *Nechirurgická léčba časných stadií karcinomu prsu*. 1. vyd. Praha: Galén, 2001. 87 s. ISBN 80-7262-117-3.

PRESS, M., SPAULDING, B., GROSHEN, S., KAMINSKY, D., HAGERTY, M., SHERMAN, L., CHRISTENSEN, K., EDWARDS, D.P. Comparison of different antibodies for detection of progesterone receptor in breast cancer. *Steroids*, 2002, vol. 67, no. 9, s. 799–813.

RYŠKA, A. *Histologické vyšetření karcinomu prsu* [online]. 2010a, [cit. 2011-07-20]. Dostupné z:

<<http://www.linkos.cz/nadory-prsu-c50/histologicke-vysetreni-karcinomu-prsu/>>.

RYŠKA, A. *Vybrané novinky v diagnostice a klasifikaci invazivního karcinomu prsu* [online]. 2010b, poslední aktualizace 1.2.2010 [cit. 2011-07-20].

Dostupné z: <[http://www.mojemedicina.cz/files/leciva/prezentace/herceptin/19\\_25.pdf](http://www.mojemedicina.cz/files/leciva/prezentace/herceptin/19_25.pdf)>.

RYŠKA, A., LACO, J., HOVORKOVÁ, E., HORNYCHOVÁ, H. Novinky v histopatologickém vyšetřování karcinomu prsu. *Farmakoterapie, příloha: Biologická léčba HER2/neu- pozitivních solidních nádorů* [online]. Říjen 2010, roč. 6, poslední aktualizace 15.11.2010 [cit. 2011-07-20]. s. 14-16. Dostupné z: <<http://www.mojemedicina.cz/prezentace-a-clanky-1/novinky-v-histopatologickem-vysetrovani-karcinomu-prsu/>>.

SEDLÁČEK, S.M., HOROWITZ, K.B. The role of progestins and progesterone receptors in the treatment of breast cancer. *Steroids*, 1984, vol. 44, s. 467–484.

SCHOLZEN, T., GERDES, J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J. Cell. Physiol.*, 2000, vol. 182, s. 311–322. Abstrakt databáze PubMed.

SKÁLOVÁ, A., FÍNEK, J. Prognostické a prediktivní faktory v diagnóze invazivního karcinomu prsu. In *Diagnostika a léčba nádorů prsu. Sborník přednášek z XIII. Jihočeských onkologických dnů konaných ve dnech 19. – 21. 10. 2006 v Českém Krumlově*. České Budějovice: Nemocnice České Budějovice, a.s., 2006. s. 4–6.

SKÁLOVÁ, A., MICHAL, M. Význam stanovení proliferčních markerů a hormonálních receptorů v karcinomu mléčné žlázy. *Čas. Lék. čes.*, 1997, roč. 136, s. 473–478.

SLÍVA, J. Receptory pro estrogen a strukturně obdobné molekuly. *Moderní babičtví* [online]. Červen 2010, č. 19 [cit. 2011-08-20].

Dostupné z: <<http://www.levret.cz/publikace/casopisy/mb/2010-19/?pdf=103>>.

VALÍK, D., VYZULA, R., JANDÁKOVÁ, E. Prediktory účinnosti hormonální léčby karcinomu prsu. *Zdravotnické noviny, příloha: Lékařské listy* [online]. Listopad 2001, č. 46 [cit. 2011-08-20]. Dostupné z: <<http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/prediktory-ucinnosti-hormonalni-lecby-karcinomu-prsu-140545>>.

VYMĚTALOVÁ, J. *Metody vyšetření prsu* [online]. © 2011, poslední aktualizace 9.1.2011 [cit. 2011-07-25]. Dostupné z: <<http://www.silesiamedical.cz/komplexni-sluzby/centrum-pro-nemoci-prsu/centrum-pro-nemoci-prsu.html>>.

Workgroup Functional Tumorgenetics. Institut fur Klinische Genetik. Technische Universitat Dresden [online]. 2011?, poslední aktualizace 20.5.2011 [cit. 2011-07-25].

Dostupné z:

<[http://tu-dresden.de/die\\_tu\\_dresden/fakultaeten/medizinische\\_fakultaet/inst/kge/ag/tumorgenetik/document\\_view?set\\_language=en](http://tu-dresden.de/die_tu_dresden/fakultaeten/medizinische_fakultaet/inst/kge/ag/tumorgenetik/document_view?set_language=en)>.

ŽALOUDÍK, J. Současné hlavní úkoly v boji s rakovinou prsu. In *Diagnostika a léčba nádorů prsu. Sborník přednášek z XIII. Jihočeských onkologických dnů konaných ve dnech 19. – 21. 10. 2006 v Českém Krumlově*. České Budějovice: Nemocnice České Budějovice, a.s., 2006. s. 3. ISBN 80-239-7483-1.

## 13. PŘÍLOHY

Imunohistochemická vyšetření hormonálních receptorů ER, PR, markeru proliferační aktivity Ki-67, onkoproteinů p53 a HER-2 v tabulkách a grafech.

Období: leden až prosinec 2009.

Tabulka č.2: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – jehlové biopsie, grade 1

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	ZH	425311	16.11.2009	C504	90	12	80	8	10	20	0	67	1,125	848031
2	CHJ	315522	26.5.2009	N63	40	6	10	3	5	0	0	78	4	850031
3	MZ	306021	5.8.2009	N63	100	12	100	12	15	0	0	78	1	850031
4	JE	305527	15.7.2009	N63	100	12	90	12	5	0	0	79	1,11111111	848031
5	KO	285930	30.3.2009	N645	80	3	95	12	5	0	0	80	0,84210526	850331

Tabulka č.3: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – jehlové biopsie, grade 2

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	KM	745316	16.1.2009	N609	80	6	30	4	70	0	2	34	2,66666667	850032
2	HV	686128	24.4.2009	C505	1	1	0,1	0	90	0	0	40	10	850032
3	ČD	675519	21.1.2009	N63	90	12	90	12	15	20	2	41	1	850032
4	DM	665413	16.9.2009	N63	95	8	95	8	25	30	2	43	1	850032
5	DI	645725	17.12.2009	C504	60	4	80	6	10	0	2	45	0,75	850032
6	KV	636018	13.10.2009	N601	0,1	0	0,1	0	70	0	3	45	1	850032
7	KM	636228	11.3.2009	N63	95	12	95	12	30	40	1	45	1	850032
8	ČO	635117	16.12.2009	N63	100	6	95	8	25	0	2	46	1,05263158	850032
9	HJ	626220	15.6.2009	C502	80	9	80	9	10	10	1	46	1	850032
10	BH	625525	14.1.2009	C509	80	6	100	12	40	5	1	46	0,8	852032
11	JL	625317	11.11.2009	C509	95	12	95	12	15	0	2	47	1	850032
12	VJ	596021	8.7.2009	N63	80	4	90	12	20	10	0	49	0,88888889	852032
13	KR	605531	24.6.2009	N63	70	6	5	2	70	80	0	49	14	850032
14	KJ	586214	13.3.2009	C504	80	9	0,1	0	15	0	0	50	800	850032
15	KZ	585402	14.10.2009	C509	90	8	90	8	10	0	1	51	1	850032
16	RM	585224	4.3.2009	C509	100	12	100	12	5	0	1	51	1	852032
17	NM	575308	20.5.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	0	2	52	1	850032
18	HE	575630	11.9.2009	C504	90	9	95	12	5	20	1	52	0,94736842	850032
19	MZ	565616	11.11.2009	N63	80	9	60	9	15	40	1	53	1,33333333	850032
20	KV	556007	9.9.2009	C509	70	4	80	9	60	0	1	53	0,875	850032
21	RB	555130	25.11.2009	N649	90	12	80	9	20	20	1	54	1,125	850032
22	KM	555111	21.10.2009	N63	90	12	0,1	0	15	0	1	54	900	852032
23	KI	545324	12.10.2009	C509	80	4	80	4	20	0	2	55	1	850032
24	KK	536117	22.4.2009	N63	40	2	95	12	5	0	1	55	0,42105263	852032
25	JH	535678	6.3.2009	C502	90	8	100	12	20	70	0	55	0,9	850032
26	NI	536201	13.1.2009	N645	100	12	90	12	15	0	0	55	1,11111111	852032
27	ČD	535210	18.11.2009	N609	100	8	60	3	10	0	0	56	1,66666667	850032
28	ŠA	535208	9.9.2009	C509	100	12	90	12	15	0	0	56	1,11111111	850032
29	BM	526108	15.7.2009	N645	90	12	15	3	40	0	1	56	6	850032
30	ČA	515205	20.5.2009	C509	0,1	0	0,1	0	15	20	0	58	1	850032
31	TA	516003	13.10.2009	N645	90	12	10	3	15	0	1	58	9	850032

32	MB	505909	22.9.2009	C504	90	12	40	3	15	30	1	59	2,25	848032
33	SM	465804	6.5.2009	N609	100	12	100	12	15	0	0	62	1	848032
34	PB	475429	10.6.2009	N649	90	12	0,1	0	15	0	1	62	900	852032
35	KA	475215	9.11.2009	C505	50	6	70	9	15	20	2	62	0,71428571	850032
36	ŠZ	475224	15.10.2009	C503	90	9	90	9	30	0	1	62	1	850032
37	HM	466107	21.5.2009	N63	0,1	0	0,1	0	20	100	2	62	1	850032
38	VB	475403	8.4.2009	N63	90	12	100	12	15	0	1	62	0,9	850032
39	KJ	465723	3.2.2009	C509	90	12	90	12	25	30	1	62	1	850032
40	HM	465517	6.11.2009	N63	0,1	0	0,1	0	25	80	2	63	1	850032
41	BD	455720	8.6.2009	C504	70	6	100	12	10	15	1	63	0,7	850032
42	LB	465108	8.4.2009	N63	100	10	70	6	20	0	2	63	1,42857143	850032
43	EB	456019	20.2.2009	N645	80	9	30	6	70	70	1	63	2,66666667	850032
44	VM	455329	10.6.2009	C509	90	8	10	3	20	20	2	64	9	850032
45	SV	455802	23.10.2009	N63	80	6	50	4	50	80	0	64	1,6	850032
46	AE	436009	29.7.2009	N63	0,1	0	5	1	80	0	1	65	0,02	850032
47	RŠ	445530	9.12.2009	C502	0,1	0	0,1	0	25	20	0	65	1	850032
48	MH	435613	17.4.2009	C503	0,1	0	0,1	0	60	90	3	65	1	850032
49	MM	435421	11.11.2009	N63	100	12	80	6	20	0	1	66	1,25	850032
50	SE	435526	2.11.2009	C504	0,1	0	0,1	0	70	20	2	66	1	850032
51	KJ	425303	29.9.2009	C502	90	10	90	10	10	20	1	67	1	850032
52	NJ	415926	1.6.2009	C502	100	12	100	12	20	70	1	67	1	850032
53	JK	415920	4.2.2009	N63	100	12	80	9	40	20	1	67	1,25	850032
54	KR	415613	7.10.2009	N63	100	12	100	12	20	50	1	68	1	850032
55	NH	415312	10.8.2009	C505	90	12	100	12	20	60	1	68	0,9	850032
56	HE	405614	20.5.2009	C509	100	12	30	6	40	20	1	68	3,33333333	850032
57	OV	405426	4.3.2009	C509	100	12	60	6	5	2	1	68	1,66666667	848032
58	HJ	405926	25.2.2009	C509	90	12	80	9	15	0	1	68	1,125	850032
59	RM	395615	13.5.2009	N63	100	12	100	12	10	10	2	69	1	850032
60	MV	396027	25.9.2009	C502	80	9	5	3	5	5	1	69	16	850032
61	LM	405510	28.8.2009	C502	100	12	20	6	40	0	1	69	5	850032
62	FA	395709	26.6.2009	D24	100	12	5	1	10	0	1	69	20	850032
63	LB	385729	22.7.2009	N63	100	12	70	9	15	0	1	70	1,42857143	850032
64	HH	375722	10.6.2009	C509	100	12	90	12	30	20	1	71	1,11111111	850032
65	SM	385102	31.3.2009	C504	80	9	50	6	70	40	1	71	1,6	850032
66	ŠM	375101	3.6.2009	D24	80	6	20	6	10	10	1	72	4	852032
67	NA	375302	29.5.2009	N645	100	12	100	12	20	20	1	72	1	850032
68	HM	366112	13.2.2009	N63	80	6	90	8	5	0	1	72	0,88888889	850032
69	SJ	356209	6.5.2009	N609	100	12	100	12	20	60	0	73	1	848032
70	PL	356213	21.10.2009	C509	100	12	25	4	25	0	2	73	4	850032
71	SŠ	345902	20.4.2009	C505	90	12	70	9	10	10	0	74	1,28571429	850032
72	HZ	345312	25.2.2009	N649	100	12	60	6	20	60	1	74	1,66666667	850032
73	KO	346122	14.1.2009	C509	90	12	0,1	0	40	10	3	74	900	850032
74	VM	345921	29.9.2009	C502	70	9	90	12	5	0	0	75	0,77777778	850032
75	AE	336224	15.10.2009	C504	100	12	5	2	25	60	2	75	20	850032
76	UM	345716	7.10.2009	C509	5	1	5	1	90	10	3	75	1	850032
77	VZ	345204	8.4.2009	C504	60	9	100	12	25	5	1	75	0,6	850032
78	ŠE	336122	28.1.2009	C509	90	12	60	9	40	10	0	75	1,5	850032
79	MB	335721	19.8.2009	N63	95	12	90	12	10	0	1	76	1,05555556	852032
80	VL	335709	2.12.2009	N63	100	12	100	12	50	0	2	76	1	850032
81	VE	326208	21.10.2009	C509	100	12	90	12	10	0	1	76	1,11111111	848032
82	RL	335313	19.5.2009	N63	100	12	10	2	30	20	2	76	10	850032
83	KV	325323	18.2.2009	N63	95	12	70	6	20	0	2	76	1,35714286	850032
84	VA	325801	10.9.2009	C504	90	10	0,1	0	60	90	3	77	900	850032
85	NM	315718	20.5.2009	C509	0,1	0	0,1	0	60	90	1	77	1	850032

86	VD	315515	29.10.2009	C509	90	8	0,1	0	60	20	2	78	900	850032
87	BE	306124	3.6.2009	C509	0,1	0	0,1	0	25	90	1	78	1	850032
88	HL	295122	14.10.2009	C509	90	12	30	4	15	20	1	80	3	850032
89	HJ	295330	30.9.2009	N63	0,1	0	0,1	0	10	50	1	80	1	850032
90	BA	295509	7.7.2009	C502	0,1	0	0,1	0	60	40	0	80	1	850032
91	ŠM	265924	9.9.2009	C509	100	12	100	12	20	0	1	82	1	850032
92	LV	256112	21.7.2009	C503	90	12	15	4	20	30	1	83	6	850032
93	AJ	255411	21.1.2009	N63	0,1	0	0,1	0	50	40	1	83	1	805032
94	VD	235327	19.8.2009	N63	0,1	0	0,1	0	20	70	1	86	1	848032
95	NV	205217	11.11.2009	N63	90	12	10	1	30	0	1	89	9	848032

Tabulka č.4: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – jehlové biopsie, grade 3

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	ŠL	746231	3.6.2009	C504	10	1	5	1	15	0	2	34	2	850033
2	MI	745119	13.5.2009	N63	80	9	80	9	25	100	2	35	1	850033
3	RR	706211	11.2.2009	N63	0,1	0	0,1	0	100	100	0	38	1	850033
4	MR	685530	26.5.2009	C505	0,1	0	0,1	0	70	70	0	40	1	850033
5	SK	675107	15.4.2009	C504	10	1	0,1	0	80	90	1	42	100	850033
6	BL	665506	4.2.2009	N63	15	4	10	2	80	90	0	42	1,5	850033
7	NZ	665213	21.1.2009	N63	20	2	0,1	0	80	80	2	42	200	850033
8	PI	655702	27.11.2009	D24	0,1	0	0,1	0	60	60	1	44	1	850033
9	HŠ	655205	22.7.2009	N63	90	8	100	12	3	0	1	44	0,9	850033
10	KD	565809	7.5.2009	C503	0,1	0	0,1	0	50	20	0	52	1	850033
11	VD	566113	9.12.2009	C509	100	12	25	4	25	60	0	53	4	850033
12	DM	556002	21.5.2009	C509	0,1	0	0,1	0	60	100	1	53	1	850033
13	EM	556123	26.3.2009	N63	100	12	25	6	15	0	1	53	4	850033
14	AL	555403	4.2.2009	N63	0,1	0	0,1	0	70	95	1	53	1	850033
15	TJ	546230	4.5.2009	C505	0,1	0	0,1	0	70	0	3	54	1	850033
16	SA	545316	6.3.2009	C504	90	12	80	9	40	60	1	54	1,125	850033
17	KJ	545221	9.11.2009	C504	60	9	60	9	40	50	1	55	1	850033
18	ČJ	525924	24.6.2009	N63	100	12	20	4	90	0	1	56	5	850033
19	ŠA	525728	30.1.2009	N645	80	9	80	9	40	90	1	56	1	850033
20	KU	525112	4.11.2009	N645	80	9	0,1	0	40	10	2	57	800	850033
21	ŠJ	515817	22.7.2009	N63	80	9	0,1	0	25	60	0	57	800	850033
22	ŠH	505603	10.6.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	100	0	59	1	850033
23	KS	476009	1.7.2009	C509	100	12	100	12	25	20	1	61	1	850033
24	HD	476027	15.7.2009	N63	0,1	0	0,1	0	90	0	0	61	1	850033
25	BJ	485219	11.5.2009	C504	70	6	20	4	50	10	1	61	3,5	850033
26	RJ	465518	29.7.2009	N63	0,1	0	0,1	0	50	90	0	63	1	850033
27	DM	465624	20.11.2009	C508	80	8	0,1	0	70	20	3	63	800	850033
28	KM	435525	6.5.2009	N609	50	6	50	6	20	20	1	65	1	850033
29	NE	426224	17.2.2009	C502	0,1	0	0,1	0	80	0	0	66	1	850033
30	TJ	395918	7.4.2009	C504	80	6	0,1	0	40	0	3	69	800	850033
31	SJ	395408	27.5.2009	C509	100	12	10	3	30	20	1	70	10	850033
32	HM	375906	30.9.2009	N645	0,1	0	0,1	0	70	100	1	72	1	850033
33	PV	375324	15.6.2009	C505	90	12	80	9	25	30	1	72	1,125	850033
34	KM	375329	1.4.2009	N63	100	12	100	12	50	20	1	72	1	850033
35	VH	366105	11.12.2009	C509	30	2	0,1	0	15	20	1	73	300	852033
36	ŠM	265411	29.4.2009	C509	100	12	100	12	20	10	1	83	1	850033
37	KV	235820	25.2.2009	C509	0,1	0	0,1	0	95	100	1	85	1	850033



Tabulka č.5: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – jehlové biopsie, invazivní duktální karcinom

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	ŠL	746231	3.6.2009	C504	10	1	5	1	15	0	2	34	2	850033
2	KM	745316	16.1.2009	N609	80	6	30	4	70	0	2	34	2,66666667	850032
3	MI	745119	13.5.2009	N63	80	9	80	9	25	100	2	35	1	850033
4	RR	706211	11.2.2009	N63	0,1	0	0,1	0	100	100	0	38	1	850033
5	MR	685530	26.5.2009	C505	0,1	0	0,1	0	70	70	0	40	1	850033
6	HV	686128	24.4.2009	C505	1	1	0,1	0	90	0	0	40	10	850032
7	ČD	675519	21.1.2009	N63	90	12	90	12	15	20	2	41	1	850032
8	SK	675107	15.4.2009	C504	10	1	0,1	0	80	90	1	42	100	850033
9	BL	665506	4.2.2009	N63	15	4	10	2	80	90	0	42	1,5	850033
10	NZ	665213	21.1.2009	N63	20	2	0,1	0	80	80	2	42	200	850033
11	DM	665413	16.9.2009	N63	95	8	95	8	25	30	2	43	1	850032
12	PI	655702	27.11.2009	D24	0,1	0	0,1	0	60	60	1	44	1	850033
13	HŠ	655205	22.7.2009	N63	90	8	100	12	3	0	1	44	0,9	850033
14	DI	645725	17.12.2009	C504	60	4	80	6	10	0	2	45	0,75	850032
15	KV	636018	13.10.2009	N601	0,1	0	0,1	0	70	0	3	45	1	850032
16	KM	636228	11.3.2009	N63	95	12	95	12	30	40	1	45	1	850032
17	ČO	635117	16.12.2009	N63	100	6	95	8	25	0	2	46	1,05263158	850032
18	HJ	626220	15.6.2009	C502	80	9	80	9	10	10	1	46	1	850032
19	JL	625317	11.11.2009	C509	95	12	95	12	15	0	2	47	1	850032
20	KR	605531	24.6.2009	N63	70	6	5	2	70	80	0	49	14	850032
21	KJ	586214	13.3.2009	C504	80	9	0,1	0	15	0	0	50	800	850032
22	KZ	585402	14.10.2009	C509	90	8	90	8	10	0	1	51	1	850032
23	KD	565809	7.5.2009	C503	0,1	0	0,1	0	50	20	0	52	1	850033
24	NM	575308	20.5.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	0	2	52	1	850032
25	HE	575630	11.9.2009	C504	90	9	95	12	5	20	1	52	0,94736842	850032
26	MZ	565616	11.11.2009	N63	80	9	60	9	15	40	1	53	1,33333333	850032
27	VD	566113	9.12.2009	C509	100	12	25	4	25	60	0	53	4	850033
28	KV	556007	9.9.2009	C509	70	4	80	9	60	0	1	53	0,875	850032
29	DM	556002	21.5.2009	C509	0,1	0	0,1	0	60	100	1	53	1	850033
30	EM	556123	26.3.2009	N63	100	12	25	6	15	0	1	53	4	850033
31	AL	555403	4.2.2009	N63	0,1	0	0,1	0	70	95	1	53	1	850033
32	RB	555130	25.11.2009	N649	90	12	80	9	20	20	1	54	1,125	850032
33	TJ	546230	4.5.2009	C505	0,1	0	0,1	0	70	0	3	54	1	850033
34	SA	545316	6.3.2009	C504	90	12	80	9	40	60	1	54	1,125	850033
35	KJ	545221	9.11.2009	C504	60	9	60	9	40	50	1	55	1	850033
36	KI	545324	12.10.2009	C509	80	4	80	4	20	0	2	55	1	850032
37	JH	535678	6.3.2009	C502	90	8	100	12	20	70	0	55	0,9	850032
38	ČD	535210	18.11.2009	N609	100	8	60	3	10	0	0	56	1,66666667	850032
39	ŠA	535208	9.9.2009	C509	100	12	90	12	15	0	0	56	1,11111111	850032
40	BM	526108	15.7.2009	N645	90	12	15	3	40	0	1	56	6	850032
41	ČJ	525924	24.6.2009	N63	100	12	20	4	90	0	1	56	5	850033
42	ŠA	525728	30.1.2009	N645	80	9	80	9	40	90	1	56	1	850033
43	KU	525112	4.11.2009	N645	80	9	0,1	0	40	10	2	57	800	850033
44	ŠJ	515817	22.7.2009	N63	80	9	0,1	0	25	60	0	57	800	850033
45	ČA	515205	20.5.2009	C509	0,1	0	0,1	0	15	20	0	58	1	850032
46	TA	516003	13.10.2009	N645	90	12	10	3	15	0	1	58	9	850032
47	ŠH	505603	10.6.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	100	0	59	1	850033

48	KS	476009	1.7.2009	C509	100	12	100	12	25	20	1	61	1	850033
49	HD	476027	15.7.2009	N63	0,1	0	0,1	0	90	0	0	61	1	850033
50	BJ	485219	11.5.2009	C504	70	6	20	4	50	10	1	61	3,5	850033
51	KA	475215	9.11.2009	C505	50	6	70	9	15	20	2	62	0,71428571	850032
52	ŠZ	475224	15.10.2009	C503	90	9	90	9	30	0	1	62	1	850032
53	HM	466107	21.5.2009	N63	0,1	0	0,1	0	20	100	2	62	1	850032
54	VB	475403	8.4.2009	N63	90	12	100	12	15	0	1	62	0,9	850032
55	KJ	465723	3.2.2009	C509	90	12	90	12	25	30	1	62	1	850032
56	RJ	465518	29.7.2009	N63	0,1	0	0,1	0	50	90	0	63	1	850033
57	DM	465624	20.11.2009	C508	80	8	0,1	0	70	20	3	63	800	850033
58	HM	465517	6.11.2009	N63	0,1	0	0,1	0	25	80	2	63	1	850032
59	BD	455720	8.6.2009	C504	70	6	100	12	10	15	1	63	0,7	850032
60	LB	465108	8.4.2009	N63	100	10	70	6	20	0	2	63	1,42857143	850032
61	EB	456019	20.2.2009	N645	80	9	30	6	70	70	1	63	2,66666667	850032
62	VM	455329	10.6.2009	C509	90	8	10	3	20	20	2	64	9	850032
63	SV	455802	23.10.2009	N63	80	6	50	4	50	80	0	64	1,6	850032
64	KM	435525	6.5.2009	N609	50	6	50	6	20	20	1	65	1	850033
65	AE	436009	29.7.2009	N63	0,1	0	5	1	80	0	1	65	0,02	850032
66	RŠ	445530	9.12.2009	C502	0,1	0	0,1	0	25	20	0	65	1	850032
67	MH	435613	17.4.2009	C503	0,1	0	0,1	0	60	90	3	65	1	850032
68	MM	435421	11.11.2009	N63	100	12	80	6	20	0	1	66	1,25	850032
69	SE	435526	2.11.2009	C504	0,1	0	0,1	0	70	20	2	66	1	850032
70	NE	426224	17.2.2009	C502	0,1	0	0,1	0	80	0	0	66	1	850033
71	KJ	425303	29.9.2009	C502	90	10	90	10	10	20	1	67	1	850032
72	NJ	415926	1.6.2009	C502	100	12	100	12	20	70	1	67	1	850032
73	JK	415920	4.2.2009	N63	100	12	80	9	40	20	1	67	1,25	850032
74	KR	415613	7.10.2009	N63	100	12	100	12	20	50	1	68	1	850032
75	NH	415312	10.8.2009	C505	90	12	100	12	20	60	1	68	0,9	850032
76	HE	405614	20.5.2009	C509	100	12	30	6	40	20	1	68	3,33333333	850032
77	HJ	405926	25.2.2009	C509	90	12	80	9	15	0	1	68	1,125	850032
78	RM	395615	13.5.2009	N63	100	12	100	12	10	10	2	69	1	850032
79	MV	396027	25.9.2009	C502	80	9	5	3	5	5	1	69	16	850032
80	LM	405510	28.8.2009	C502	100	12	20	6	40	0	1	69	5	850032
81	FA	395709	26.6.2009	D24	100	12	5	1	10	0	1	69	20	850032
82	TJ	395918	7.4.2009	C504	80	6	0,1	0	40	0	3	69	800	850033
83	SJ	395408	27.5.2009	C509	100	12	10	3	30	20	1	70	10	850033
84	LB	385729	22.7.2009	N63	100	12	70	9	15	0	1	70	1,42857143	850032
85	HH	375722	10.6.2009	C509	100	12	90	12	30	20	1	71	1,11111111	850032
86	SM	385102	31.3.2009	C504	80	9	50	6	70	40	1	71	1,6	850032
87	HM	375906	30.9.2009	N645	0,1	0	0,1	0	70	100	1	72	1	850033
88	PV	375324	15.6.2009	C505	90	12	80	9	25	30	1	72	1,125	850033
89	NA	375302	29.5.2009	N645	100	12	100	12	20	20	1	72	1	850032
90	KM	375329	1.4.2009	N63	100	12	100	12	50	20	1	72	1	850033
91	HM	366112	13.2.2009	N63	80	6	90	8	5	0	1	72	0,88888889	850032
92	PL	356213	21.10.2009	C509	100	12	25	4	25	0	2	73	4	850032
93	SŠ	345902	20.4.2009	C505	90	12	70	9	10	10	0	74	1,28571429	850032
94	HZ	345312	25.2.2009	N649	100	12	60	6	20	60	1	74	1,66666667	850032
95	KO	346122	14.1.2009	C509	90	12	0,1	0	40	10	3	74	900	850032
96	VM	345921	29.9.2009	C502	70	9	90	12	5	0	0	75	0,77777778	850032
97	AE	336224	15.10.2009	C504	100	12	5	2	25	60	2	75	20	850032
98	UM	345716	7.10.2009	C509	5	1	5	1	90	10	3	75	1	850032
99	VZ	345204	8.4.2009	C504	60	9	100	12	25	5	1	75	0,6	850032
100	ŠE	336122	28.1.2009	C509	90	12	60	9	40	10	0	75	1,5	850032
101	VL	335709	2.12.2009	N63	100	12	100	12	50	0	2	76	1	850032

102	RL	335313	19.5.2009	N63	100	12	10	2	30	20	2	76	10	850032
103	KV	325323	18.2.2009	N63	95	12	70	6	20	0	2	76	1,35714286	850032
104	VA	325801	10.9.2009	C504	90	10	0,1	0	60	90	3	77	900	850032
105	NM	315718	20.5.2009	C509	0,1	0	0,1	0	60	90	1	77	1	850032
106	CHJ	315522	26.5.2009	N63	40	6	10	3	5	0	0	78	4	850031
107	VD	315515	29.10.2009	C509	90	8	0,1	0	60	20	2	78	900	850032
108	MZ	306021	5.8.2009	N63	100	12	100	12	15	0	0	78	1	850031
109	BE	306124	3.6.2009	C509	0,1	0	0,1	0	25	90	1	78	1	850032
110	HL	295122	14.10.2009	C509	90	12	30	4	15	20	1	80	3	850032
111	HJ	295330	30.9.2009	N63	0,1	0	0,1	0	10	50	1	80	1	850032
112	BA	295509	7.7.2009	C502	0,1	0	0,1	0	60	40	0	80	1	850032
113	ŠM	265924	9.9.2009	C509	100	12	100	12	20	0	1	82	1	850032
114	ŠM	265411	29.4.2009	C509	100	12	100	12	20	10	1	83	1	850033
115	LV	256112	21.7.2009	C503	90	12	15	4	20	30	1	83	6	850032
116	KV	235820	25.2.2009	C509	0,1	0	0,1	0	95	100	1	85	1	850033

Tabulka č.6: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – jehlové biopsie, invazivní lobulární karcinom

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	BH	625525	14.1.2009	C509	80	6	100	12	40	5	1	46	0,8	852032
2	VJ	596021	8.7.2009	N63	80	4	90	12	20	10	0	49	0,88888889	852032
3	RM	585224	4.3.2009	C509	100	12	100	12	5	0	1	51	1	852032
4	KM	555111	21.10.2009	N63	90	12	0,1	0	15	0	1	54	900	852032
5	KK	536117	22.4.2009	N63	40	2	95	12	5	0	1	55	0,42105263	852032
6	NI	536201	13.1.2009	N645	100	12	90	12	15	0	0	55	1,11111111	852032
7	PB	475429	10.6.2009	N649	90	12	0,1	0	15	0	1	62	900	852032
8	ŠM	375101	3.6.2009	D24	80	6	20	6	10	10	1	72	4	852032
9	VH	366105	11.12.2009	C509	30	2	0,1	0	15	20	1	73	300	852033
10	MB	335721	19.8.2009	N63	95	12	90	12	10	0	1	76	1,05555556	852032

Tabulka č.7: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – operace, grade 1

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	SE	585613	17.7.2009	N609	80	6	60	6	20	0	0	51	1,33333333	850031
2	PV	515929	11.2.2009	C505	20	2	0,1	0	25	5	0	57	200	843031
3	ZO	496002	9.3.2009	N609	80	9	90	12	5	0	0	59	0,88888889	821131
4	MR	485815	13.3.2009	C502	100	12	60	9	10	70	0	60	1,66666667	850031
5	PV	486230	27.2.2009	C509	90	12	0,1	0	10	0	0	60	900	850031
6	DM	475716	27.5.2009	C509	90	8	80	9	5	20	0	61	1,125	850031
7	JJ	465925	11.3.2009	C509	100	12	80	9	5	0	0	62	1,25	850031
8	BJ	445520	10.6.2009	C509	90	12	80	9	10	0	0	65	1,125	850031
9	KA	435309	11.12.2009	C504	90	12	80	6	5	0	1	66	1,125	850031
10	KR	415613	23.10.2009	C504	100	8	100	12	15	20	0	68	1	850031
11	HZ	375731	14.5.2009	N63	100	12	10	3	5	0	3	71	10	850031
12	BV	376015	12.3.2009	C504	90	12	0,1	0	1	0	0	71	900	850031
13	PM	335720	21.5.2009	D24	100	12	100	12	10	0	0	75	1	850321
14	PI	315120	7.8.2009	C504	95	8	100	12	10	0	2	78	0,95	850031

Tabulka č.8: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – operace, grade 2

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	ZP	836103	11.6.2009	C503	90	8	95	12	20	10	0	25	0,94736842	850032
2	KM	715511	8.7.2009	C503	80	5	30	3	30	0	0	38	2,66666667	850032
3	PI	655702	16.12.2009	C504	0,1	0	0,1	0	80	95	0	44	1	850032
4	KL	655527	20.8.2009	C509	60	6	80	8	5	0	1	44	0,66666667	850032
5	VL	655109	10.7.2009	C504	90	8	90	12	5	0	0	44	1	850032
6	KM	636228	22.4.2009	C505	90	10	80	9	20	30	1	45	1,125	850032
7	CHL	636202	8.4.2009	C502	90	6	90	12	20	10	1	45	1	850032
8	KV	636018	29.10.2009	C508	0,1	0	0,1	0	80	0	3	46	1	850032
9	HJ	626220	22.7.2009	C501	100	4	100	12	10	0	0	46	1	850032
10	LA	625127	19.8.2009	C504	80	6	80	9	40	0	0	47	1	850032
11	AL	615313	24.6.2009	C502	90	8	90	8	5	30	1	48	1	850032
12	ŠJ	585609	11.3.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	90	1	50	1	850032
13	FO	585408	30.10.2009	C501	100	8	100	10	20	10	0	51	1	850032
14	MJ	585308	26.6.2009	C501	100	12	15	2	15	0	0	51	6,66666667	850032
15	HE	575630	9.10.2009	C504	95	8	100	12	10	80	1	52	0,95	850032
16	HJ	565817	20.3.2009	C504	100	12	90	12	5	0	1	52	1,11111111	850032
17	TZ	565530	18.3.2009	N63	100	12	80	9	25	0	0	52	1,25	850032
18	MZ	565616	4.12.2009	C504	90	12	85	12	15	80	1	53	1,05882353	850032
19	HS	565903	25.11.2009	C504	100	8	80	4	15	70	0	53	1,25	850032
20	AD	565218	13.11.2009	C504	90	10	30	3	10	0	1	53	3	852032
21	KA	565101	25.9.2009	C509	95	10	1	2	15	90	2	53	95	850032
22	EM	556123	15.4.2009	C504	80	9	25	6	10	0	1	53	3,2	850032
23	PM	565113	20.2.2009	C509	80	3	80	6	20	0	0	53	1	852032
24	EJ	555704	6.2.2009	D050	90	12	30	6	5	70	1	53	3	852022
25	JH	556214	16.1.2009	N609	100	12	0,1	0	10	0	3	53	1000	850032
26	KM	555111	25.11.2009	C501	90	10	5	2	15	80	0	54	18	852032
27	JV	545209	22.5.2009	C504	95	12	30	4	10	0	0	55	3,16666667	850032
28	ČD	535210	16.12.2009	C505	100	6	90	8	15	30	2	56	1,11111111	850032
29	FM	525408	20.3.2009	C504	0,1	0	0,1	0	25	40	0	56	1	850032
30	ŠJ	525805	8.12.2009	N63	100	10	80	8	15	70	1	57	1,25	850032
31	RM	516017	8.10.2009	C509	100	12	20	3	5	90	2	57	5	850032
32	DM	516105	29.9.2009	C504	100	12	100	12	20	15	2	57	1	850032
33	SZ	515305	2.10.2009	C503	100	12	15	2	50	1	0	58	6,66666667	850032
34	ŠI	515331	17.9.2009	C509	0,1	0	0,1	0	60	95	2	58	1	850032
35	ŠI	515122	31.7.2009	C502	80	6	80	6	25	40	0	58	1	850032
36	JM	505401	6.2.2009	C505	100	8	90	8	20	50	0	58	1,11111111	850032
37	KZ	505506	6.2.2009	D051	95	12	70	9	5	20	0	58	1,35714286	850022
38	PI	505223	16.1.2009	C502	95	12	90	12	15	80	0	58	1,05555556	850032
39	BE	496028	27.2.2009	C501	60	4	0,1	0	60	0	3	59	600	850032
40	MV	495322	7.1.2009	C504	70	6	100	12	10	0	0	59	0,7	850032
41	MJ	495808	11.12.2009	C509	80	6	80	6	60	20	0	60	1	850032
42	DL	495115	2.12.2009	C503	80	4	0,1	0	60	0	2	60	800	850032
43	HM	495310	4.9.2009	C504	95	10	80	8	10	0	0	60	1,1875	850032
44	SM	495227	31.7.2009	C504	100	12	80	6	5	20	1	60	1,25	850032
45	RM	486021	21.7.2009	D24	90	12	0,1	0	20	30	1	60	900	850032
46	PB	485612	28.1.2009	N601	100	12	10	2	15	0	2	60	10	850032
47	KB	476025	12.6.2009	C504	100	12	80	9	10	0	0	61	1,25	850032
48	HM	466107	19.6.2009	C501	0,1	0	0,1	0	30	80	3	62	1	850032
49	KJ	465723	1.4.2009	C504	30	2	0,1	0	5	0	1	62	300	850032
50	KJ	465723	1.4.2009	C504	90	8	0,1	0	5	0	1	62	900	850032

51	HM	466001	2.4.2009	N63	100	12	20	4	20	60	0	62	5	850032
52	HM	465517	2.12.2009	C504	0,1	0	0,1	0	25	80	2	63	1	850032
53	ČJ	465429	18.5.2009	C509	90	8	10	2	10	0	0	63	9	852032
54	HV	465412	7.5.2009	N63	100	12	40	4	25	0	1	63	2,5	850032
55	MJ	455916	6.5.2009	C504	100	12	0,1	0	10	20	0	63	1000	852232
56	SV	455802	20.11.2009	C509	70	6	1	1	25	80	0	64	70	850032
57	VA	455706	14.10.2009	C502	100	10	80	9	10	0	1	64	1,25	852032
58	VM	455329	15.7.2009	C504	80	6	25	4	15	20	0	64	3,2	850032
59	HM	445529	27.11.2009	C502	100	8	100	10	15	100	0	65	1	850032
60	PH	436119	30.9.2009	C504	100	12	100	12	10	0	1	65	1	852032
61	VZ	445720	22.7.2009	C503	90	8	90	8	25	0	1	65	1	850032
62	HM	436218	29.5.2009	C504	100	12	60	6	5	0	0	65	1,66666667	850032
63	BM	435906	6.11.2009	C505	100	12	100	12	15	70	1	66	1	852032
64	HB	426212	13.3.2009	C509	95	8	10	2	15	0	0	66	9,5	850032
65	WA	425215	16.1.2009	C501	80	9	80	9	30	60	1	66	1	850032
66	KM	415906	3.4.2009	C508	70	6	0,1	0	5	0	0	67	700	850032
67	PH	405628	7.5.2009	N63	90	12	5	3	10	0	0	68	18	848032
68	OV	405426	25.3.2009	C501	95	12	80	9	15	60	0	68	1,1875	850032
69	KJ	406203	2.2.2009	C504	95	12	60	9	15	0	1	68	1,583333333	850032
70	SB	405204	23.9.2009	C509	0,1	0	0,1	0	80	95	0	69	1	850032
71	LM	405510	16.9.2009	C502	90	12	30	5	20	0	2	69	3	850032
72	KM	405527	17.6.2009	C509	90	12	75	9	10	0	2	69	1,2	850032
73	VZ	405318	20.5.2009	C505	95	12	30	2	15	0	0	69	3,16666667	850032
74	HD	396214	20.5.2009	C509	90	8	40	6	20	0	1	69	2,25	850032
75	DE	395906	25.2.2009	C505	0,1	0	0,1	0	10	70	3	69	1	850032
76	MO	395823	16.10.2009	C502	0,1	0	0,1	0	70	90	0	70	1	850032
77	HL	375102	27.2.2009	C501	90	12	60	9	15	0	1	72	1,5	852032
78	BM	356015	22.7.2009	C504	100	8	90	8	10	0	0	73	1,111111111	850032
79	SJ	356209	8.6.2009	C505	90	8	80	6	20	25	0	73	1,125	850032
80	SV	355815	15.4.2009	N601	90	12	0,1	0	10	0	2	73	900	852032
81	DE	355505	26.8.2009	D051	0,1	0	0,1	0	20	50	1	74	1	850032
82	PZ	346003	22.4.2009	C502	95	12	0,1	0	10	0	1	74	950	852032
83	KM	346229	18.3.2009	C509	80	6	0,1	0	60	20	1	74	800	850032
84	FJ	345906	16.1.2009	C504	80	6	0,1	0	10	0	0	74	800	852032
85	UM	345716	4.11.2009	C505	0,1	0	0,1	0	80	30	2	75	1	850032
86	VM	345921	3.11.2009	C509	90	12	70	6	10	80	1	75	1,28571429	850032
87	KK	345226	29.9.2009	C509	100	6	0,1	0	10	5	0	75	1000	850032
88	MH	345811	2.9.2009	N63	100	12	40	4	20	20	1	75	2,5	850032
89	HL	335702	29.5.2009	N63	90	12	80	6	15	0	0	75	1,125	850032
90	HZ	345312	20.3.2009	C509	100	10	80	6	10	0	0	75	1,25	850032
91	TM	335601	9.9.2009	N601	90	12	50	4	5	60	1	76	1,8	850032
92	MB	316219	25.9.2009	C503	80	8	80	9	25	20	0	77	1	848032
93	FA	305713	21.5.2009	C509	90	8	100	12	5	10	0	78	0,9	852032
94	JM	305812	29.1.2009	C509	60	3	5	2	30	0	0	78	12	850032
95	ŘM	266203	20.11.2009	C504	70	6	40	4	20	20	2	82	1,75	852032
96	MA	255907	29.4.2009	C509	95	12	70	9	30	50	2	83	1,35714286	850032
97	RM	235374	11.3.2009	C509	90	12	1	3	30	5	1	85	90	850032

Tabulka č.9: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – operace, grade 3

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	KM	745316	6.3.2009	C502	70	6	30	2	60	80	1	34	2,33333333	850033
2	MI	745119	28.5.2009	C502	80	4	90	8	25	90	1	35	0,88888889	850033
3	KJ	735108	24.7.2009	C503	0,1	0	0,1	0	60	100	0	36	1	850033
4	BJ	725531	10.6.2009	C504	0,1	0	0,1	0	95	100	0	37	1	850033
5	KP	686225	12.11.2009	N63	90	8	80	6	20	95	0	40	1,125	850033
6	HV	686128	27.5.2009	C504	0,1	0	0,1	0	90	0	0	40	1	850033
7	SA	685329	23.4.2009	N63	0,1	0	0,1	0	80	0	1	41	1	850033
8	TJ	675430	20.3.2009	C501	5	1	0,1	0	40	0	1	41	50	814033
9	JL	625317	21.12.2009	C505	90	6	100	12	10	80	0	47	0,9	852033
10	SI	605801	28.1.2009	N601	0,1	0	0,1	0	10	0	0	48	1	850023
11	BN	575813	23.4.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	100	0	51	1	850033
12	DM	556002	12.6.2009	C504	0,1	0	0,1	0	80	90	0	53	1	850033
13	KI	525331	14.1.2009	C509	100	8	50	2	5	0	0	56	2	850033
14	ŠJ	515817	14.8.2009	C504	90	8	0,1	0	60	60	0	57	900	850033
15	DJ	515824	25.3.2009	C504	10	3	5	3	30	100	2	57	2	850033
16	MD	515621	10.7.2009	C504	0,1	0	0,1	0	20	0	3	58	1	850033
17	PŽ	495508	30.1.2009	C505	0,1	0	0,1	0	70	90	0	59	1	850033
18	PZ	485810	8.4.2009	C504	0,1	0	0,1	0	70	80	0	60	1	850033
19	UM	485626	23.1.2009	C501	0,1	0	0,1	0	90	60	0	60	1	850033
20	HD	485726	14.1.2009	N63	0,1	0	0,1	0	80	100	2	60	1	850033
21	HD	476027	7.8.2009	C504	0,1	0	0,1	0	95	0	0	61	1	850033
22	PJ	475825	9.1.2009	C509	95	8	20	4	50	100	0	61	4,75	850033
23	KM	466129	13.2.2009	C504	0,1	0	0,1	0	50	0	0	62	1	850033
24	RJ	465518	16.9.2009	C502	0,1	0	0,1	0	70	95	1	63	1	850033
25	EB	456019	13.3.2009	C509	80	9	5	3	40	90	2	63	16	850033
26	MM	445118	20.11.2009	C503	80	5	80	8	15	20	1	65	1	850033
27	JR	426118	9.9.2009	C504	0,1	0	0,1	0	60	60	1	66	1	850033
28	HK	416031	4.5.2009	C509	90	8	60	3	10	0	0	67	1,5	852033
29	EA	415316	6.11.2009	D051	0,1	0	0,1	0	60	100	1	68	1	850033
30	PI	395826	11.2.2009	N63	95	12	95	12	10	0	0	69	1	852233
31	JA	396125	6.1.2009	N63	0,1	0	0,1	0	40	0	2	69	1	850033
32	HE	385324	5.3.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	90	3	70	1	850033
33	HL	375626	10.6.2009	C501	90	12	1	2	40	10	1	71	90	850033
34	RB	375117	12.6.2009	C504	100	12	10	1	15	20	0	72	10	850033
35	HM	265217	7.7.2009	C509	0,1	0	0,1	0	25	15	2	83	1	850033
36	PV	245611	11.12.2009	C504	0,1	0	0,1	0	80	80	2	85	1	850033
37	MA	205730	6.11.2009	C509	70	8	90	12	20	0	0	89	0,77777778	850033

Tabulka č.10: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – operace, invazivní duktální karcinom

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	ZP	836103	11.6.2009	C503	90	8	95	12	20	10	0	25	0,94736842	850032
2	KM	745316	6.3.2009	C502	70	6	30	2	60	80	1	34	2,33333333	850033
3	MI	745119	28.5.2009	C502	80	4	90	8	25	90	1	35	0,88888889	850033
4	KJ	735108	24.7.2009	C503	0,1	0	0,1	0	60	100	0	36	1	850033
5	BJ	725531	10.6.2009	C504	0,1	0	0,1	0	95	100	0	37	1	850033
6	KM	715511	8.7.2009	C503	80	5	30	3	30	0	0	38	2,66666667	850032

7	KP	686225	12.11.2009	N63	90	8	80	6	20	95	0	40	1,125	850033
8	HV	686128	27.5.2009	C504	0,1	0	0,1	0	90	0	0	40	1	850033
9	SA	685329	23.4.2009	N63	0,1	0	0,1	0	80	0	1	41	1	850033
10	PI	655702	16.12.2009	C504	0,1	0	0,1	0	80	95	0	44	1	850032
11	KL	655527	20.8.2009	C509	60	6	80	8	5	0	1	44	0,66666667	850032
12	VL	655109	10.7.2009	C504	90	8	90	12	5	0	0	44	1	850032
13	KM	636228	22.4.2009	C505	90	10	80	9	20	30	1	45	1,125	850032
14	CHL	636202	8.4.2009	C502	90	6	90	12	20	10	1	45	1	850032
15	KV	636018	29.10.2009	C508	0,1	0	0,1	0	80	0	3	46	1	850032
16	HJ	626220	22.7.2009	C501	100	4	100	12	10	0	0	46	1	850032
17	LA	625127	19.8.2009	C504	80	6	80	9	40	0	0	47	1	850032
18	AL	615313	24.6.2009	C502	90	8	90	8	5	30	1	48	1	850032
19	ŠJ	585609	11.3.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	90	1	50	1	850032
20	FO	585408	30.10.2009	C501	100	8	100	10	20	10	0	51	1	850032
21	SE	585613	17.7.2009	N609	80	6	60	6	20	0	0	51	1,33333333	850031
22	MJ	585308	26.6.2009	C501	100	12	15	2	15	0	0	51	6,66666667	850032
23	BN	575813	23.4.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	100	0	51	1	850033
24	HE	575630	9.10.2009	C504	95	8	100	12	10	80	1	52	0,95	850032
25	HJ	565817	20.3.2009	C504	100	12	90	12	5	0	1	52	1,11111111	850032
26	TZ	565530	18.3.2009	N63	100	12	80	9	25	0	0	52	1,25	850032
27	MZ	565616	4.12.2009	C504	90	12	85	12	15	80	1	53	1,05882353	850032
28	HS	565903	25.11.2009	C504	100	8	80	4	15	70	0	53	1,25	850032
29	KA	565101	25.9.2009	C509	95	10	1	2	15	90	2	53	95	850032
30	DM	556002	12.6.2009	C504	0,1	0	0,1	0	80	90	0	53	1	850033
31	EM	556123	15.4.2009	C504	80	9	25	6	10	0	1	53	3,2	850032
32	JH	556214	16.1.2009	N609	100	12	0,1	0	10	0	3	53	1000	850032
33	JV	545209	22.5.2009	C504	95	12	30	4	10	0	0	55	3,16666667	850032
34	ČD	535210	16.12.2009	C505	100	6	90	8	15	30	2	56	1,11111111	850032
35	FM	525408	20.3.2009	C504	0,1	0	0,1	0	25	40	0	56	1	850032
36	KI	525331	14.1.2009	C509	100	8	50	2	5	0	0	56	2	850033
37	ŠJ	525805	8.12.2009	N63	100	10	80	8	15	70	1	57	1,25	850032
38	RM	516017	8.10.2009	C509	100	12	20	3	5	90	2	57	5	850032
39	DM	516105	29.9.2009	C504	100	12	100	12	20	15	2	57	1	850032
40	ŠJ	515817	14.8.2009	C504	90	8	0,1	0	60	60	0	57	900	850033
41	DJ	515824	25.3.2009	C504	10	3	5	3	30	100	2	57	2	850033
42	SZ	515305	2.10.2009	C503	100	12	15	2	50	1	0	58	6,66666667	850032
43	ŠI	515331	17.9.2009	C509	0,1	0	0,1	0	60	95	2	58	1	850032
44	ŠI	515122	31.7.2009	C502	80	6	80	6	25	40	0	58	1	850032
45	MD	515621	10.7.2009	C504	0,1	0	0,1	0	20	0	3	58	1	850033
46	JM	505401	6.2.2009	C505	100	8	90	8	20	50	0	58	1,11111111	850032
47	PI	505223	16.1.2009	C502	95	12	90	12	15	80	0	58	1,05555556	850032
48	BE	496028	27.2.2009	C501	60	4	0,1	0	60	0	3	59	600	850032
49	PŽ	495508	30.1.2009	C505	0,1	0	0,1	0	70	90	0	59	1	850033
50	MV	495322	7.1.2009	C504	70	6	100	12	10	0	0	59	0,7	850032
51	MJ	495808	11.12.2009	C509	80	6	80	6	60	20	0	60	1	850032
52	DL	495115	2.12.2009	C503	80	4	0,1	0	60	0	2	60	800	850032
53	HM	495310	4.9.2009	C504	95	10	80	8	10	0	0	60	1,1875	850032
54	SM	495227	31.7.2009	C504	100	12	80	6	5	20	1	60	1,25	850032
55	RM	486021	21.7.2009	D24	90	12	0,1	0	20	30	1	60	900	850032
56	PZ	485810	8.4.2009	C504	0,1	0	0,1	0	70	80	0	60	1	850033
57	MR	485815	13.3.2009	C502	100	12	60	9	10	70	0	60	1,66666667	850031
58	PV	486230	27.2.2009	C509	90	12	0,1	0	10	0	0	60	900	850031
59	PB	485612	28.1.2009	N601	100	12	10	2	15	0	2	60	10	850032
60	UM	485626	23.1.2009	C501	0,1	0	0,1	0	90	60	0	60	1	850033

61	HD	485726	14.1.2009	N63	0,1	0	0,1	0	80	100	2	60	1	850033
62	HD	476027	7.8.2009	C504	0,1	0	0,1	0	95	0	0	61	1	850033
63	KB	476025	12.6.2009	C504	100	12	80	9	10	0	0	61	1,25	850032
64	DM	475716	27.5.2009	C509	90	8	80	9	5	20	0	61	1,125	850031
65	PJ	475825	9.1.2009	C509	95	8	20	4	50	100	0	61	4,75	850033
66	HM	466107	19.6.2009	C501	0,1	0	0,1	0	30	80	3	62	1	850032
67	KJ	465723	1.4.2009	C504	30	2	0,1	0	5	0	1	62	300	850032
68	KJ	465723	1.4.2009	C504	90	8	0,1	0	5	0	1	62	900	850032
69	HM	466001	2.4.2009	N63	100	12	20	4	20	60	0	62	5	850032
70	JJ	465925	11.3.2009	C509	100	12	80	9	5	0	0	62	1,25	850031
71	KM	466129	13.2.2009	C504	0,1	0	0,1	0	50	0	0	62	1	850033
72	HM	465517	2.12.2009	C504	0,1	0	0,1	0	25	80	2	63	1	850032
73	RJ	465518	16.9.2009	C502	0,1	0	0,1	0	70	95	1	63	1	850033
74	HV	465412	7.5.2009	N63	100	12	40	4	25	0	1	63	2,5	850032
75	EB	456019	13.3.2009	C509	80	9	5	3	40	90	2	63	16	850033
76	SV	455802	20.11.2009	C509	70	6	1	1	25	80	0	64	70	850032
77	VM	455329	15.7.2009	C504	80	6	25	4	15	20	0	64	3,2	850032
78	HM	445529	27.11.2009	C502	100	8	100	10	15	100	0	65	1	850032
79	MM	445118	20.11.2009	C503	80	5	80	8	15	20	1	65	1	850033
80	VZ	445720	22.7.2009	C503	90	8	90	8	25	0	1	65	1	850032
81	BJ	445520	10.6.2009	C509	90	12	80	9	10	0	0	65	1,125	850031
82	HM	436218	29.5.2009	C504	100	12	60	6	5	0	0	65	1,66666667	850032
83	KA	435309	11.12.2009	C504	90	12	80	6	5	0	1	66	1,125	850031
84	JR	426118	9.9.2009	C504	0,1	0	0,1	0	60	60	1	66	1	850033
85	HB	426212	13.3.2009	C509	95	8	10	2	15	0	0	66	9,5	850032
86	WA	425215	16.1.2009	C501	80	9	80	9	30	60	1	66	1	850032
87	KM	415906	3.4.2009	C508	70	6	0,1	0	5	0	0	67	700	850032
88	EA	415316	6.11.2009	D051	0,1	0	0,1	0	60	100	1	68	1	850033
89	KR	415613	23.10.2009	C504	100	8	100	12	15	20	0	68	1	850031
90	OV	405426	25.3.2009	C501	95	12	80	9	15	60	0	68	1,1875	850032
91	KJ	406203	2.2.2009	C504	95	12	60	9	15	0	1	68	1,58333333	850032
92	SB	405204	23.9.2009	C509	0,1	0	0,1	0	80	95	0	69	1	850032
93	LM	405510	16.9.2009	C502	90	12	30	5	20	0	2	69	3	850032
94	KM	405527	17.6.2009	C509	90	12	75	9	10	0	2	69	1,2	850032
95	VZ	405318	20.5.2009	C505	95	12	30	2	15	0	0	69	3,16666667	850032
96	HD	396214	20.5.2009	C509	90	8	40	6	20	0	1	69	2,25	850032
97	DE	395906	25.2.2009	C505	0,1	0	0,1	0	10	70	3	69	1	850032
98	JA	396125	6.1.2009	N63	0,1	0	0,1	0	40	0	2	69	1	850033
99	MO	395823	16.10.2009	C502	0,1	0	0,1	0	70	90	0	70	1	850032
100	HE	385324	5.3.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	90	3	70	1	850033
101	HL	375626	10.6.2009	C501	90	12	1	2	40	10	1	71	90	850033
102	HZ	375731	14.5.2009	N63	100	12	10	3	5	0	3	71	10	850031
103	BV	376015	12.3.2009	C504	90	12	0,1	0	1	0	0	71	900	850031
104	RB	375117	12.6.2009	C504	100	12	10	1	15	20	0	72	10	850033
105	BM	356015	22.7.2009	C504	100	8	90	8	10	0	0	73	1,11111111	850032
106	SJ	356209	8.6.2009	C505	90	8	80	6	20	25	0	73	1,125	850032
107	DE	355505	26.8.2009	D051	0,1	0	0,1	0	20	50	1	74	1	850032
108	KM	346229	18.3.2009	C509	80	6	0,1	0	60	20	1	74	800	850032
109	UM	345716	4.11.2009	C505	0,1	0	0,1	0	80	30	2	75	1	850032
110	VM	345921	3.11.2009	C509	90	12	70	6	10	80	1	75	1,28571429	850032
111	KK	345226	29.9.2009	C509	100	6	0,1	0	10	5	0	75	1000	850032
112	MH	345811	2.9.2009	N63	100	12	40	4	20	20	1	75	2,5	850032
113	HL	335702	29.5.2009	N63	90	12	80	6	15	0	0	75	1,125	850032
114	HZ	345312	20.3.2009	C509	100	10	80	6	10	0	0	75	1,25	850032



115	TM	335601	9.9.2009	N601	90	12	50	4	5	60	1	76	1,8	850032
116	PI	315120	7.8.2009	C504	95	8	100	12	10	0	2	78	0,95	850031
117	JM	305812	29.1.2009	C509	60	3	5	2	30	0	0	78	12	850032
118	HM	265217	7.7.2009	C509	0,1	0	0,1	0	25	15	2	83	1	850033
119	MA	255907	29.4.2009	C509	95	12	70	9	30	50	2	83	1,35714286	850032
120	PV	245611	11.12.2009	C504	0,1	0	0,1	0	80	80	2	85	1	850033
121	RM	235374	11.3.2009	C509	90	12	1	3	30	5	1	85	90	850032
122	MA	205730	6.11.2009	C509	70	8	90	12	20	0	0	89	0,77777778	850033

Tabulka č.11: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – operace, invazivní lobulární karcinom

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % / PR %	ICD-O kód
1	JL	625317	21.12.2009	C505	90	6	100	12	10	80	0	47	0,9	852033
2	AD	565218	13.11.2009	C504	90	10	30	3	10	0	1	53	3	852032
3	PM	565113	20.2.2009	C509	80	3	80	6	20	0	0	53	1	852032
4	KM	555111	25.11.2009	C501	90	10	5	2	15	80	0	54	18	852032
5	ČJ	465429	18.5.2009	C509	90	8	10	2	10	0	0	63	9	852032
6	VA	455706	14.10.2009	C502	100	10	80	9	10	0	1	64	1,25	852032
7	PH	436119	30.9.2009	C504	100	12	100	12	10	0	1	65	1	852032
8	BM	435906	6.11.2009	C505	100	12	100	12	15	70	1	66	1	852032
9	HK	416031	4.5.2009	C509	90	8	60	3	10	0	0	67	1,5	852033
10	HL	375102	27.2.2009	C501	90	12	60	9	15	0	1	72	1,5	852032
11	SV	355815	15.4.2009	N601	90	12	0,1	0	10	0	2	73	900	852032
12	PZ	346003	22.4.2009	C502	95	12	0,1	0	10	0	1	74	950	852032
13	FJ	345906	16.1.2009	C504	80	6	0,1	0	10	0	0	74	800	852032
14	FA	305713	21.5.2009	C509	90	8	100	12	5	10	0	78	0,9	852032
15	ŘM	266203	20.11.2009	C504	70	6	40	4	20	20	2	82	1,75	852032

Tabulka č.12: vyšetření hormonálních receptorů, Ki-67, p53 a HER-2: rok 2009 – operace, pacientky léčené před odběrem vzorku

č.	pac.	část r.č.	datum odběru	diagnóza	ER %	IRS	PR %	IRS	Ki-67 %	p53 %	HER - 2	věk	ER % /PR %	ICD-O kód	léčba
1	VR	745627	17.7.2009	C509	60	3	0,1	0	50	30	1	35	600	850032	ncht,rt
2	ŠM	725529	8.7.2009	C501	0,1	0	0,1	0	3	90	0	37	1	850032	ncht
3	JM	685401	3.6.2009	C509	80	9	10	3	30	0	0	41	8	850033	ncht
4	ME	666219	18.3.2009	C504	80	4	100	12	20	0	0	42	0,8	850033	ncht
5	KH	636030	17.6.2009	C502	80	6	5	1	10	10	0	45	16	850033	ncht
6	OH	635705	12.6.2009	C509	20	4	5	2	15	10	1	45	4	850033	ncht
7	LI	626019	10.7.2009	C504	0,1	0	5	3	50	0	1	46	0,02	850033	ncht
8	KM	626203	25.3.2009	C501	80	9	20	2	5	50	1	46	4	850033	ncht
9	PD	626118	11.3.2009	C504	100	10	0,1	0	10	0	1	46	1000	852032	ncht
10	HH	615117	15.5.2009	C501	0,1	0	0,1	0	30	0	0	48	1	850022	ncht
11	VL	565609	26.6.2009	C509	80	9	10	2	5	0	1	53	8	850033	ncht
12	AL	555403	15.7.2009	C504	0,1	0	0,1	0	60	100	1	54	1	850033	ncht
13	NJ	545101	8.4.2009	C504	95	10	50	4	25	20	1	55	1,9	850033	ncht
14	KJ	525325	23.1.2009	C504	90	8	90	8	20	0	0	56	1	850032	ncht
15	ŠH	505603	29.7.2009	C504	0,1	0	0,1	0	70	90	1	59	1	850032	ncht
16	SZ	496103	18.6.2009	C501	95	8	95	12	20	70	1	59	1	850032	ncht
17	JA	505410	15.4.2009	C502	100	12	5	1	30	5	1	59	20	850033	rt

18	BJ	485219	18.12.2009	C504	90	12	5	2	5	60	0	61	18	850033	ncht
19	MM	385125	9.12.2009	C501	70	3	1	1	15	30	2	71	70	850033	ncht,rt
20	HL	375502	18.9.2009	C501	95	6	80	6	15	90	1	72	1,1875	850033	ht
21	VH	345713	23.10.2009	C509	0,1	0	0,1	0	70	0	0	75	1	850033	rt
22	RA	295521	4.12.2009	C509	90	12	15	4	20	0	0	80	6	850033	hnt