

**UNIVERZITA KARLOVA**

**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

**KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD**



**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**CORE – CUT BIOPSIE PRSU**

**RADKA PĚLUCHOVÁ**

**Vedoucí bakalářské práce: PhDr. Zdenka Kudláčková, Ph.D.**

**Konzultant: MUDr. Romana Andělová**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2019**

## Poděkování

Touto cestou bych chtěla vyslovit poděkování PhDr. Zděnce Kudláčkové, Ph.D. za odborné vedení mé práce, za cenné rady a čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat MUDr. Andělové za poskytnutí informací a odborné literatury. Poděkování patří také mým kolegyním v laboratoři, které mi svou pomocí a vstřícností umožnily realizaci bakalářské práce i celého studia. Velké poděkování patří rodině za podporu a trpělivost.

„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 jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 3. 4. 2019

Radka Pělučová

## Obsah

### 1. OBSAH

1. Obsah .....	4
2. ABSTRAKT.....	6
3. ABSTRACT .....	7
4. ÚVOD .....	8
5. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE.....	9
6. TEORETICKÁ ČÁST .....	10
6.1 Prs a mléčná žláza .....	10
6.1.1 Základní anatomie.....	10
6.1.2 Základní histologie .....	12
6.1.3 Základní histopatologie.....	14
6.1.3.1 Benigní histologické nálezy .....	14
6.1.3.2 Nálezy prekurzorových lézí .....	16
6.1.3.3 Maligní nálezy .....	18
6.1.3.4 Nádory mužského prsu .....	21
6.2 Karcinom prsu .....	21
6.2.1 Epidemiologie.....	21
6.2.2 Rizikové faktory .....	23
6.2.3 Prognostické a prediktivní faktory v diagnóze karcinomu prsu.....	25
6.2.4 Prevence a screening .....	27
7. PRAKTICKÁ ČÁST .....	30

7.1	Odběr tkáně - Novojičínské diagnostické centrum s.r.o.....	30
7.2	Histologické zpracování tkáně - oddělení patologie Laboratoří Agel a.s. Nový Jičín.....	31
7.2.1	Příprava materiálu pro laboratorní zpracování.....	31
7.2.2	Odvodnění a prosycení tkáně .....	32
7.2.3	Příprava preparátů pro mikroskopické vyšetření: zalévání, řezání bločků a barvení preparátů .....	33
7.2.4	Histochemická analýza .....	36
7.2.5	Imunohistochemická analýza .....	37
7.3	Výběr core - cut biopsií mléčné žlázy za období 2016 - 2018 .....	41
7.4	Výsledky .....	42
8.	DISKUSE.....	47
9.	ZÁVĚR.....	49
10.	POUŽITÉ ZKRATKY .....	50
11.	SEZNAM TABULEK.....	52
12.	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	53
13.	SEZNAM GRAFŮ .....	54
14.	POUŽITÁ LITERATURA.....	55

## 2. ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřená na nádorová onemocnění mléčné žlázy, zejména na laboratorní postupy zpracování biologického materiálu získaného punkční core - cut biopsií prsu.

Teoretická část se zabývá anatomickou i histologickou stavbou mléčné žlázy. Popisuje základní rozdělení nádorů, se kterými se v této lokalitě setkáváme nejvíce. Pojednává o epidemiologické situaci karcinomu prsu, který patří mezi nejfrekventovanější nádorová onemocnění žen v České republice. Podrobně jsou probrány rizikové faktory, které mohou být ovlivnitelné např. snížená fyzická aktivita, nadváha, konzumace nutričně nevyvážené stravy či hormonální vlivy a neovlivnitelné, kterými jsou věk a genetické zatížení. V úzké souvislosti s rizikovými faktory jsou také možnosti prevence, které jsou primárně zaměřeny na zdravý styl života. Sekundární prevence je o plošném aktivním vyhledávání časných stadií nemoci u zatím bezpříznakových žen tzv. mamografický screening, který byl v České republice zahájen v roce 2002.

Praktická část popisuje odběr vzorku punkční core - cut biopsie mléčné žlázy a následné zpracování biologického materiálu v histopatologické laboratoři. Detailně popisuje jednotlivé laboratorní metody zpracování tkáně a histochemické barvení. Zmiňuje i imunohistochemické vyšetření, které je dnes součástí rutinní patologické diagnostiky.

Cílem bakalářské práce je porovnat nálezy v core - cut biopsiích mléčné žlázy během tříletého období. Poměr maligních a benigních diagnóz byl v celkovém úseku vyrovnaný. Nejvíce provedených core - cut biopsií bylo u žen mezi 40 - 49 lety. Maligní diagnózy začaly výrazně převažovat po 60. roce věku pacientek, invazivní duktální karcinom byl stanoven 72 %. Všechny dosažené výsledky korelují s celorepublikovými statistickými.

**Klíčová slova:** mléčná žláza, karcinom prsu, patologie, nádorové onemocnění, mamografie, screening, core - cut biopsie, histologické zpracování, mikroskopická analýza, imunohistochemická analýza.

### 3. ABSTRACT

The bachelor's work is focused on tumorous diseases of mammary gland, mainly on laboratory procedures of biologic material processing gained by puncture core-cut of breast biopsy.

The theoretical part concerns of anatomic and histologic structure of mammary gland. It describes the basic sorting of tumors to which we meet in this location in the most cases. It deals about the epidemiological situation of breast carcinoma which is the most frequent tumorous disease of women in the Czech Republic. It is explained into details the risk factors which can be influenceable e.g. reducing of physical activity, overweight, consumption of nutritive not well-balanced diet or hormonal influences and non-influenceable which are the age and the genetical loading. In the narrow connection with the risk factors are the possibilities of prevention which are primary focused on the healthy life style. The secondary prevention is about global active searching for early stages of disease with the asymptomatic women yet, so called mammography screening that was started in the Czech Republic in 2002.

The practical part describes the sampling of puncture core - cut of breast biopsy and following processing of biological materials in the histopathological laboratory. It describes into details the individual laboratory methods of the tissue processing and the histochemical dyeing. This part mentions also the immunohistochemical examination which is nowadays the part of routine pathological diagnostics.

The aim of the bachelor's work is comparing the findings in core - cut of the breast biopsies for three years period. The ratio of malignant and benign diagnosis was balanced in total part. The most done core -cut of breast biopsies were with women from 40 till 49 ages. The malignant diagnoses started to well - marked prevail with patients aged more than 60 years old. The invasive ductal carcinoma was set on 72 %. All achieved results are in connection with the whole republic statistics.

**Keywords:** mammary gland, breast cancer, pathology, cancer, mammography, screening, core - cut biopsy, histological processing, microscopic analysis, immunohistochemical analysis.

## 4. ÚVOD

Nádorová onemocnění prsu žen, zejména karcinomy, jsou celosvětově nejčastějšími onkologickými onemocněními se stále stoupající incidencí.

Hlavním tématem mé bakalářské práce je zpracování a vyšetření core - cut biopsie prsu s použitím speciální imunohistochemie pro důkaz karcinomu prsu z pohledu histologické laborantky na úseku biopsie. Vybrala jsem si toto téma, protože již několik let pracuji v histopatologické laboratoři a odběry biologického materiálu z mléčné žlázy nejen žen, ale i mužů, denně zpracováváme. Množství těchto vzorků mě vedlo k porovnání věkových skupin, u kterých byly core - cut biopsie provedeny. A také mne zajímalo, zda převládají diagnózy benigní nebo maligní.

Teoretická část přibližuje všeobecné poznatky o anatomické i histologické stavbě mléčné žlázy, o klasifikaci nádorů prsu a jejich prognostické a prediktivní faktory. Dále se zabývá problematikou karcinomu prsu, jeho epidemiologií a rizikovými faktory. Také poukazuje na důležitost prevence formou screeningových vyšetření karcinomu mléčné žlázy v České republice. Tato vyšetření vedou k záchytu nádorových onemocnění v raných stádiích nemoci a tím zvyšují šance pacientek na úplné vyléčení nebo delší dobu přežití.

Praktická část je zaměřená na odběr biologického materiálu a přesné laboratorní postupy při jeho zpracování, histochemické i imunohistochemické metody, kterými laborantka přispívá ke stanovení správné diagnózy patologem. Vyhodnocení dostupných dat core – cut biopsií mléčné žlázy zpracovaných na oddělení patologie Laboratoří Agel a.s. v Novém Jičíně v období 2016 - 2018.



## 5. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je důkladně popsat jednotlivé kroky laboratorního zpracování biologického materiálu z core - cut biopsií mléčné žlázy, které laborantka připravuje pro mikroskopické vyšetření patologem.

Porovnat zastoupení benigních a maligních nálezů v core - cut biopsiích u vybraných pacientek oddělení patologie Laboratoří Agel a.s. v Novém Jičíně za období 2016 - 2018. Poukázat na nejčastější diagnózy a také tyto pacientky porovnat podle věkových skupin.

## 6. TEORETICKÁ ČÁST

### 6.1 Prs a mléčná žláza

#### 6.1.1 Základní anatomie

Prs (*mamma*) je párový útvar polokulovitého tvaru a různé velikosti, uložený na přední straně hrudníku před velkým prsním a pilovitým předním svalem. Je tvořen kůží, mléčnou žlázou a tukovým vazivem. Pevná povázka slouží k přichycení prsu ke svalům (MERKUNOVÁ, A., OREL, M., 2008).

Kůže prsu je bohatě inervovaná. Je tenká a světlá, proto jí prosvítají podkožní žíly. Vrchol prsu tvoří tmavě pigmentovaný prsní dvorec (*areola mammae*) o průměru asi 3 - 5 cm, po jehož obvodu jsou malinké kožní bulky podmíněné Montgomeryho žlázkami (*glandulae areolares*), které jsou svou stavbou shodné s mléčnou žlázou. Jejich funkce je lubrikace během kojení. Střed dvorce tvoří prsní bradavka (*papilla mammae*), která je převážně lehce vystouplá, jen někdy mírně vkleslá. Mlékovody (*ductus lactiferi*) přicházejí z hloubi žlázy a ústí na hrotu papily přibližně 15 - 20 otvůrky (*area cribriformis papillae*).

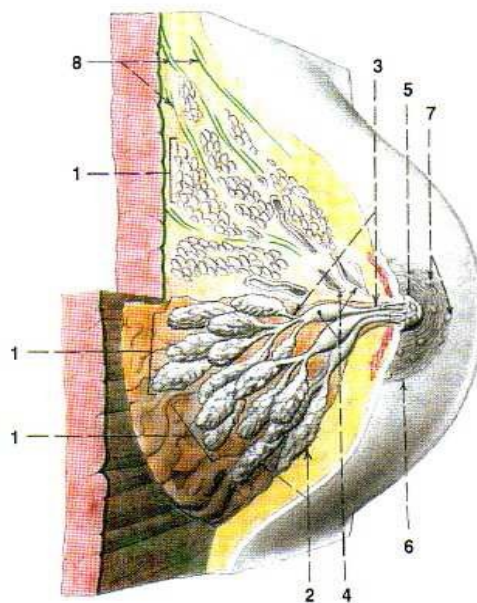
Tukový polštář v prsu obaluje mléčnou žlázu a je tvořen vrstvou premammární a vrstvou retromammární. Premammární tuk vystýlá jamky mezi jednotlivými lalůčky žláz, vyrovnává nerovnosti, dává prsu finální tvar. Retromammární tuk je přibližně 0,5 - 1 cm silná vrstva, která odděluje žlázu od prsního svalu (*musculus pectoralis*).

Mléčná žláza (*glandula mammae*) je anatomicky největší kožní žlázou s apokrinní funkcí. Je ovlivněna pohlavními hormony, zejména luteálním hormonem pro rozvoj alveolů, prolaktinem a hormony placenty. Těleso žlázy (*corpus mammae*) je bělošedý, tuhý a laločnatý útvar nerovného povrchu, tvořený samotnou žlázou uvnitř prsu. Jeho hmotnost se pohybuje mezi 130 g - 200 g, při laktaci se zvyšuje až na 300 g - 500 g. Těleso se skládá z 15 - 20 laloků mléčné žlázy (*lobi mammae*), které jsou členěny na

menší lalůčky mléčné žlázy (*lobuli mammae*), skládající se ze žlázových alveolů. V každém lalůčku se nachází mléčné vývody (*ductuli lactiferi*). Tyto vývody se spojují vždy v jeden vývod (*ductus lactifer*) z laloku žlázy (*obr. 1*).

Distribuce krve do prsu je zprostředkována *a.mammaria interna*, *a.thoracica superficialis* a *aa.intercostales*. Odvod lymfy lymfatickými cestami směřuje zejména do axilárních uzlin, v menší míře do supraklavikulárních a retrosternálních uzlin (ČIHÁK, R., 2016).

**Obrázek 1: Stavba prsu a žlázového tělesa (ČIHÁK, R., 1988).**



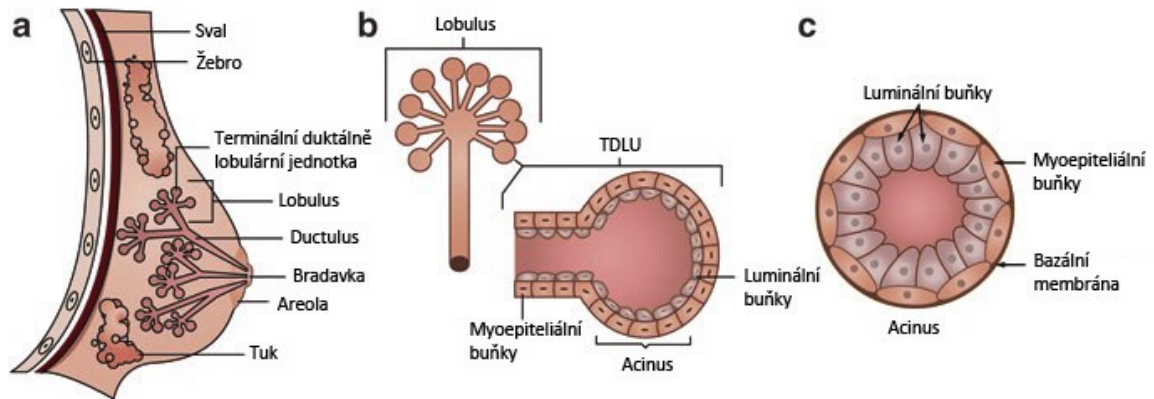
1 - laloky mléčné žlázy, 2 - lalůčky mléčné žlázy, 3 - mlékovody, 4 - mlékovodní zátoky,  
5 - prsní bradavka s vyústěním mlékovodů, 6 - prsní dvorec, 7 - dvorcové žlázy, 8 - prsní  
závěsné vazy

## 6.1.2 Základní histologie

Vývoj mléčné žlázy začíná již v šestém týdnu nitroděložního života, kdy dojde k pruhovitému ztluštění ektodermu - tzv. mléčné lišty. Základy mléčné žlázy leží na přední straně hrudníku v rozsahu mezi horními a dolními končetinami. V druhém trimestru se na hrudníku plodu objeví 15 - 20 epitelových čepů vrůstajících do přítomného vaziva, které jsou základem mlékovodů. Zbylá část mléčné lišty vymizí. V době porodu jsou žlázy skládající se z vývodů u obou pohlaví průměru 3,5 - 9 mm a často je v nich nahromaděn sekret. K dalšímu vývoji mléčné žlázy dochází u dívek v období puberty, kdy se prsy nakupením tukové a vazivové tkáně zvětšují a bradavky se stávají jasně viditelné. U mužů k proliferaci nedochází a prsy zůstávají ploché (*JUNQUIERA, L. C., CARNEIRO, J., KELLY, R. O., 1992*).

Mléčná žláza je tvořena 15 - 20 lalůčky, každý z nich ústí v samostatný mlékovod na bradavce. Jednotlivé dukty se několikrát větví, až dospějí v tzv. terminální vývod s pokračujícími výchlípkami - duktuly a aciny. Tento terminální vývod s aciny je charakteristickou funkční jednotkou mléčné žlázy a je označován jako terminální duktálně - lobulární jednotka - TDLU (*obr. 2*). Aciny, duktuly i terminální duktuly jsou vystlány dvouřadým cylindrickým epitelem. Luminální vrstva má sekreční vlastnosti, bazální vrstva je tvořena myoepiteliemi, které jsou schopny kontrakce. Kostrou prsu je prostorová síť Cooperova vaziva. Výplň mezi jednotlivými žlázovými strukturami je různě mohutná tuková tkáň. Bradavka je obklopena areolou, jejíž pigmentace je v průběhu těhotenství výraznější. Toto ztmavnutí způsobí nahromadění melaninu. Po porodu může dojít k lehkému vyblednutí, ale nikoli k návratu k prvotnímu odstínu. Bradavky i dvorce jsou kryty dlaždicovým epitelem. Erektivita bradavky je zapříčiněna přítomností hladkých svalových vláken ve vazivu. Tato vlákna jsou uspořádaná cirkulárně i longitudinálně (*COUFAL, O., FAIT, V. a kol., 2011*).

**Obrázek 2: TDLU - terminální duktálně – lobulární jednotka** (THOMAS P. A., 2011)



*a - průřez prsu s naznačenou TDLU, b - terminální duktálně - lobulární jednotka a její vztah k lobulu, c - detail acinu*

V mléčné žláze probíhají změny histologické stavby, které závisí nejen na věku, pohlaví, ale i na momentální funkční situaci. Menstruační cyklus doprovází jen mírné změny. Zejména při ovulaci dochází k proliferaci buněk ductů, kterou způsobí kulminace kolujících estrogenů v krvi. Také se objevuje zbytnění prsů v premenstruační fázi, které souvisí s hydratací vaziva. V období těhotenství prochází mléčná žláza výraznými změnami. Proliferace alveolů na koncích terminálních interlobulárních vývodů vede k intenzivnímu růstu žlázy. Před porodem se v buňkách alveolů začínají tvořit sekreční vakuoly i lipidové kapénky, jejichž množství se během laktace intenzivně zvyšuje vlivem prolaktinu. V posledním trimestru zřetelně převažují epitelové struktury nad tukovou tkání a vazivem. Po ukončení kojení dojde k degeneraci žlázových alveolů vzniklých v průběhu gravidity. Involuční změny přicházejí po menopauze. Dochází nejen ke zmenšení prsů, ale také zanikají sekreční struktury a částečně i mlékovody. Atrofií intralobulárního vaziva zaniká rozlišení mezi inter a intralobulárním stromatem (JUNQUIERA, L. C., CARNEIRO, J., KELLY, R. O., 1992).

### 6.1.3 Základní histopatologie

V prsní žláze se setkáváme s rozsáhlým spektrem nádorů. Nalézáme zde nádory benigní i maligní. Benigní (nezhoubné) nádory jsou charakteristické svým pomalým růstem, bývají ohraničené, opouzdřené a rostou expanzivně - zvětšují svůj objem a utlačují buňky nebo tkáně v okolí. Jejich odoperování bývá snadné, nemají tendenci se opakovat a netvoří metastázy. Naopak nádory maligní (zhoubné) jsou typické svým rychlým růstem, bez ohraničení, rostou infiltrativně a destruktivně. Do okolních tkání se šíří nezávisle na hlavní nádorové mase, jejich operabilita je nesnadná, často se opakují a tvoří metastázy (MAČÁK, J., MAČÁKOVÁ, J., DVOŘÁČKOVÁ, J., 2012).

Podle buněk, které jsou postiženy, rozdělujeme nádory na epitelové, mezenchymové, nádory s myoepiteliální diferenciací či smíšené s mezenchymální i epitelovou složkou. Existuje více druhů klasifikací, kdy se všechny snaží přesně rozdělit a popsat jednotlivé nádory. Na základě těchto rozdělení pak lékaři volí přesnější a účinnější terapii, a také vysloví přibližný vývoj onemocnění. Známé systémy jsou: Klasifikační systém podle Rosen's Breast Pathology, Klasifikační systém AFIP, a v naší republice nejčastěji používaný Klasifikační systém podle WHO (viz příloha 1). V mé práci zmiňuji jen některá, častěji se objevující onemocnění prsu.

#### 6.1.3.1 Benigní histologické nálezy

##### **Reaktivní změny**

- **tuková nekróza** - vzniká nejčastěji po traumatu, v pozdějším vývojovém stupni kolem ní dochází ke zjizvení, kalcifikaci a granulomatózní reakci, což na mamografu velice věrně připomíná karcinom.

- **hemoragická nekróza** - nalézáme ji po antikoagulační terapii, dochází k edému a krvácení.

- **infarkt prsu** - bývá důsledkem hypoxie při intenzivní hyperplazii v období laktace.

- **diabetická mastopatie** - jedná se o ložisko proliferujícího mamárního stromatu napodobující nádor.

### **Záněty**

- **puerperální mastitida** - objevuje se v prvních týdnech laktace, je způsobena stázou mléka v dilatovaných duktech. Bývá velice bolestivá, tvoří se abscesy, případně píštěle.

- **duktektázie** - dochází ke zmnožení vaziva a kolem rozšířených velkých duktů nacházíme zánětlivou infiltraci v subareolární části, výjimkou není přetrvávající sekrece.

### **Fibrózní a fibroepitelové nenádorové léze**

- **fibrocystická nemoc** - hormonální či zánětlivé příčiny způsobují komplexní fibrózu. Dochází k zániku žláзовého parenchymu vytvořením různě velkých cyst, hyperplazií duktálního nebo lobulárního epitelu. Pokud je hyperplazie hodnocena jako atypická, výrazně stoupá riziko vzniku karcinomu.

- **radiální jizva a komplexní sklerotizující léze** - odlišností je pouze rozměr léze, do 10mm se jedná o radiální jizvu. Většinou mnohonásobné benigní léze, které makroskopicky připomínají karcinom ve tvaru hvězdy. Ústřední část je fibroelastická a k ní paprskovitě míří ve shlucích nenádorové dukty a lobuly.

### **Epitelové nenádorové léze**

- **cysty** - jsou to rozšířené komponenty TDLU s výstelkou onkocytárně či dlaždicově metaplastickou, vyskytují se od nepatrných rozměrů až po několikacentimetrové dutinky, samostatně nebo mnohočetně. Okolí může být zánětlivě změněno.

- **epitelióza** - pojem označuje intraduktální, většinou papilární či mikropapilární hyperplazii výstelky vývodů. Někdy nacházíme buněčné atypie, ovšem myoepitelová vrstva zůstává.

- **adenóza** - označení pro lobulární hyperplazii, pro kterou je typické zmnožení lobulů s hyperplazií luminální, myoepitelovou a nezděka i stromatu. Známe více forem. Nejčastěji se vyskytující je sklerozující adenóza - okolo léze je zřetelný vazivový okraj se zmnožením intralobulárního vaziva. Myoepitelová vrstva je zachována, buněčné atypie

přítomny nejsou, ale dochází k výraznému zesílení bazální membrány duktulů. Floridní adenóza - možno zjistit i pohmatem, tvoří se tuhé uzly hyperplastických lobulů s hypercelulárním stromatem. U mikroglandulární adenózy ve vazivu nalézáme hojně nerovnoměrně roztroušené malé mikrotubuly, buněčné atypie chybí a není patrna ani myoepitelová vrstva. Duktální adenóza - jde o nakupení duktulů, které ovšem nemají počátek v lobulech. Adenóza úspěšně imituje tubulární dobře diferencovaný karcinom (POVÝŠIL, C., ŠTEINER, I., 2007).

### **Benigní epitelové nádory**

- **adenomy** - jsou to léze vyskytující se v prsní žláze výjimečně, ale pro diferenciální diagnostiku maligních nádorů je jejich znalost podstatná. U mladých žen se nejčastěji objevuje tubulární adenom, jehož epitel je dvouřadý, plně diferencovaný. Tvoří solidní, ohraničené uzly do 40mm v největším rozměru. Laktační adenom je podtypem výše jmenovaného tubulárního adenomu, vyskytující se při laktaci, ale i v průběhu těhotenství, luminální buňky vykazují nadměrnou sekreční činnost. Apokrinní adenom je varianta s výraznou apokrinní metaplazií, zaznamenán je výhradně u mladých žen, tvoří se novotvary menší než 20mm. Duktální adenom se prezentuje jako dobře ohraničený sklerotizující uzlík, solitární nebo multifokální. Pleomorfní adenom je podobné morfologie jako smíšený tumor slinných žláz.

- **fibroadenom** - nejčastější benigní tumor prsu u adolescentních a mladých žen. Dobře ohraničený, lehce opouzdřený, pohyblivý útvar tuhé konzistence, bělavé barvy. Histologicky jde o smísení stromální a epiteliální proliferace s dvěma typy uspořádání- perikanalikulárním a intrakanalikulárním. Stroma je různě buněčné, bez atypií a mitóz, může podléhat hyalinizaci, kalcifikaci či myxoidní přeměně. V epitelové složce nacházíme různou škálu změn proliferativních nebo metaplastických (SOKOL, L. A., 2000).

#### **6.1.3.2 Nálezky prekurzorových lézí**

V mléčné žláze probíhá kontinuálně obnova a diferenciace buněk stejně jako ve všech jiných tkáních. Pokud se objeví vrozená nebo získaná porucha některého z anti-onkogenních mechanismů např. BRCA (BReast CAncer), může dojít k nesprávné aktivaci růstových signálů např. cyklin D1, dráhy EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) a



zároveň blokaci zpětné informace o optimálním složení buněčné populace např. Wnt -  $\beta$  catenin. Tyto defekty se v buňkách dále shromažďují, získávají schopnost migrace a osídlují v rozličném rozsahu struktury mléčné žlázy, až začnou netransformovaný mamární epitel vytlačovat. Tento postup probíhá různou rychlostí, klasicky i desítky let. Jedná se o skupinu poměrně častých lézí vznikajících v TDLU, které mohou vést ke vzniku invazivních a metastazujících karcinomů prsu. Nejčastěji jsou zachyceny náhodně v komplexu s jinými změnami např. s fibrocystickou nemocí, adenózou nebo fibroadenomem.

- **atypická hyperplazie** - duktální nebo lobulární hyperplazie bývají nejmírnějším obrazem výše uvedených morfologických změn. Nález těchto lézí je vždy spojen s nárůstem rizika vzniku karcinomu asi o dvojnásobek proti běžné populaci. Mohou ovšem dlouhodobě zůstat na stejné úrovni nebo i regredovat.

- **intraduktální papilární neoplazie** - nacházíme je v různých částech duktálního systému od bradavky až po terminální dukto - lobulární jednotku. Papilomy jsou benigní povahy, papilokarcinomy maligní. Pro papilom je typická pravidelná cylindrická nebo kubická výstelka s bazálním myoepiteliálním lemlem, mitózy nejsou. Solitární centrální papilom se velice často projeví hemoragickou sekrecí, je uložen ve velkých mlékovodech pod bradavkou. K postižení TDLU dochází mnohočetnými periferními papilomy, které bývají nehmatné a jsou rizikovější. Atypický papilom označuje léze, kde kribriformní nebo solidní epitelové proliferace vykazují odlišný stupeň atypií, postihující proměnlivý rozsah tumoru. Pro papilokarcinom je charakteristická strukturální a cytologická atypie bez souvislé myoepiteliální vrstvy, která může na vnějším okraji duktu částečně ložiskově přetrvávat. Přítomna je mitotická aktivita. Rozlišit papilokarcinom od atypického papilomu je dost složité a je vhodné prohlédnout i okolní vzhled ductů. Přítomnost duktálního in situ karcinomu v těsném okolí léze jasně dokazuje její maligní charakter.

- **karcinom in situ** - biologicky zcela nádorově změněná buněčná populace, která není schopna proniknutí přes bazální membránu. Schopnost invaze nemusí část těchto karcinomů vůbec nabýt. Histologicky rozlišujeme dva typy - lobulární karcinom in situ (LCIS) a duktální karcinom in situ (DCIS).

**LCIS** - proliferace malých, pravidelných buněk s uniformními jádry TDLU, při imuno-histochemickém vyšetření je E - cadherin negativní, protože nejsou kohezivní. Lobuly jsou rozšířeny a úplně vyplněny atypickými buňkami. Bazální membrána je neporušená, mitotická aktivita nízká. Je považován za ukazatele zvýšeného rizika vzniku invazivního karcinomu, nikoli za jeho přímý prekursor. V populaci se vyskytuje 0,5 - 5 % těchto lézí, běžné zobrazovací metody jej neodhalí, většinou jde o náhodný nález při vyšetřování jiné léze (COUFAL, O., FAIT, V. a kol., 2011).

**DCIS** - jde o skupinu různorodých lézí, které jsou charakteristické proliferací nádorových buněk v duktálně - lobulárním systému mléčné žlázy, ale nevykazují známky invaze do okolního stromatu. Všechny jsou spojeny s významně vyšším rizikem vzniku invazivního karcinomu, riziko stoupá s gradem DCIS. DCIS dělíme nejčastěji dle Van Nuyeskové klasifikace do 3 hlavních kategorií na základě jaderného gradu a přítomnosti nekróz (tabulka 1).

**Tabulka 1: Grading duktálního karcinomu in situ** (COUFAL, O., FAIT, V. a kol., 2011).

jaderný grade	nekrózy	grade Van Nuys	dvoustupňová klasifikace
nízký	ne	1	non – high grade
nízký nebo střední	ne	1	non – high grade
	ano	2	
vysoký	nezáleží (mohou a nemusí být, podle subtypu)	3	high grade

### 6.1.3.3 Maligní nálezy

Pokud se v in situ lézi objeví buňky schopné infiltrace do okolí (tuk, vazivo), vzniká invazivní karcinom. Bývá zde již přítomna různě intenzivní stromální reakce a proto je možno tuto lézi zjistit i pohmatem. Nejčastěji jde o solidní tuhé bíložluté ložisko. Klasi-

fikace karcinomů v dnešní době zahrnuje více hledisek a prochází neustálým vývojem. Morfologicky je možné karcinomy rozdělit na dva základní typy: duktální a lobulární.

- **invazivní duktální karcinom NOS** (Not Otherwise Specified) - vyskytuje se ze všech invazivních karcinomů prsu nejčastěji a jeho hlavním znakem je vysoká schopnost invaze do okolních tkání se sklonem metastazovat i do odlehlejších míst.

Histologická stavba invazivního duktálního karcinomu (IDC) je velice rozmanitá, nacházíme růst trabekulární, kribriformní, tubulární i glandulární aj. Stroma je opět vysoce variabilní od desmoplastických nádorů přes nález ložisek elastózy i hyalinizace, v některých případech je stroma přítomno v minimální míře. IDC může také v desmoplastickém stromatu utvářet jednobuněčné pásy napodobující lobulární karcinom a diagnostiku duktálního růstu nám potvrdí pozitivní membránový antigen E-cadherin.

IDC můžeme rozdělit do 5 skupin:

- smíšený typ IDC je tvořen z 50 a více procent lobulárním nebo tubulárním karcinomem a duktální složka je zastoupena v 10 až 49 % celkového objemu nádoru.

- pleomorfní IDC je varianta high grade invazivního duktálního karcinomu s nepříznivou prognózou. Vícejaderné a bizarní pleomorfní buňky nalézáme ve více než 50 % objemu nádoru, nekrózy i mitózy jsou typické.

- IDC s vícejadernými buňkami typu osteoklastů

- IDC s rysy choriokarcinomu je vzácně se vyskytující typ IDC, kde vícejaderné buňky pozitivně reagují na hCG (Human Chorionic Gonadotropin).

- IDC s melanotickými rysy - maligní melanom kombinovaný s IDC NOS.

Nově se ve skupině grade 3 IDC vymezuje tzv. basal-like karcinom, jehož charakteristikou je triple negativní fenotyp (neexprimuje ER- $\alpha$ , PgR a Her-2/neu receptory) a zároveň exprese vysokomolekulárních cytokeratinů (CK 14 a CK5/6). Jedná se o častou lézi u mladých žen, která se chová značně agresivně a metastazuje nejčastěji do plic a mozku (SKÁLOVÁ, A. *et al.*, 2003).

- **invazivní lobulární karcinom (ILC)** - jedná se o druhý nejčastěji se vyskytující typ invazivního karcinomu prsu a tvoří 8 - 14 % všech nádorů prsu. ILC častěji než IDC metastazuje do gastrointestinálního traktu, do plic, do kostí a méně často nacházíme metastázy v axilárních uzlinách.

ILC má četné varianty:

- u klasické formy jsou charakteristické uniformní malé buňky negativní na E - cadherin, které vytvářejí v desmoplastickém stromatu jednobuněčné řádky (husí pochod) a trabekulární struktury. Rostou lineárně podél zachovaných mammárních ductů a proto jsou na mamografu hůře odhalitelné. Mitózy časté nejsou, kolem 90 % ILC je pozitivních na estrogenové receptory a až 70 % na progesteronové. Většinou se jedná o low - grade nádory (*PETRÁKOVÁ, K., 2016*).

- u solidní i alveolární varianty nejsou buňky tolik pravidelné, mohou se vyskytovat mitózy, někdy v cytoplasmě nacházíme vakuolu.

- pleomorfní lobulární karcinom už má buňky značně polymorfní, absence E - cadherinu.

- tubulo - lobulární karcinom se skládá z tubulárního karcinomu a z invazivního karcinomu klasické struktury nebo některé z variant.

- smíšený typ karcinomu má lokálně strukturu ductálního invazivního a lokálně lobulárního invazivního karcinomu.

- **tubulární karcinom** - je variantou IDC s příznivou prognózou. Vyskytuje se v méně než 2 procentech invazivních karcinomů, protože dle doporučení WHO se tento karcinom diagnostikuje jen v případě, že tubulární struktury tvoří 90 a více procent karcinomu. Právě přítomnost tubulárních struktur se zejícím lumen, který je vystlán jedinou řadou buněk s nevýraznou mitotickou aktivitou a nevýraznou polymorfií, je pro tento druh karcinomu charakteristická. Dalším důležitým diagnostickým znakem je chybějící zevní myoepitelová vrstva a desmoplastické buněčné stroma (*SKÁLOVÁ, A. et al., 2003*).

#### **6.1.3.4 Nádory mužského prsu**

Mezi patologické změny postihující mužský prs především náleží:

- **gynekomastie** - nejčastější klinická a patologická abnormalita mužského prsu. Reverzibilní zbytnění rudimentárního vývodného systému s epiteliální i okolní mezenchymální proliferací, podobající se fibroadenomatózní hyperplazii ženského prsu. Charakteristická je nepřítomnost lobulů. Jde o steroid - dependentní nenádorové zvětšení obou prsů, většinou klinicky převažuje jedna strana. Fyziologicky se vyskytuje ve třech životních periodách - neonatální, adolescentní a v šesté a sedmé dekádě života. Gynekomastie není považována za přímý prekursor karcinomu mužského prsu.

- **karcinom mužského prsu** - se na rozdíl od ženského vyskytuje velice vzácně, představuje méně než 1 % ze všech diagnostikovaných karcinomů prsu. Histologická stavba je shodná s karcinomem prsu žen a nalézt můžeme obě varianty in situ i invazivní tumory v poměru 1 : 25. V převážné většině se jedná o DIC, lobulární léze jsou vzácností. Klinicky jde většinou o nebolestivou tuhou masu v subareolární oblasti, umístěnou excentricky k bradavce. Je také nutné zjistit, zda se nejedná o metastázu, kdy primárním ložiskem často bývá prostata, močový měchýř a GIT, příp. maligní melanom a lymfom. Vyskytuje se u mužů v mírně vyšším věku, než je tomu u žen, okolo 67 let (*LAKHANI, S., R., 2012*).

## **6.2 Karcinom prsu**

### **6.2.1 Epidemiologie**

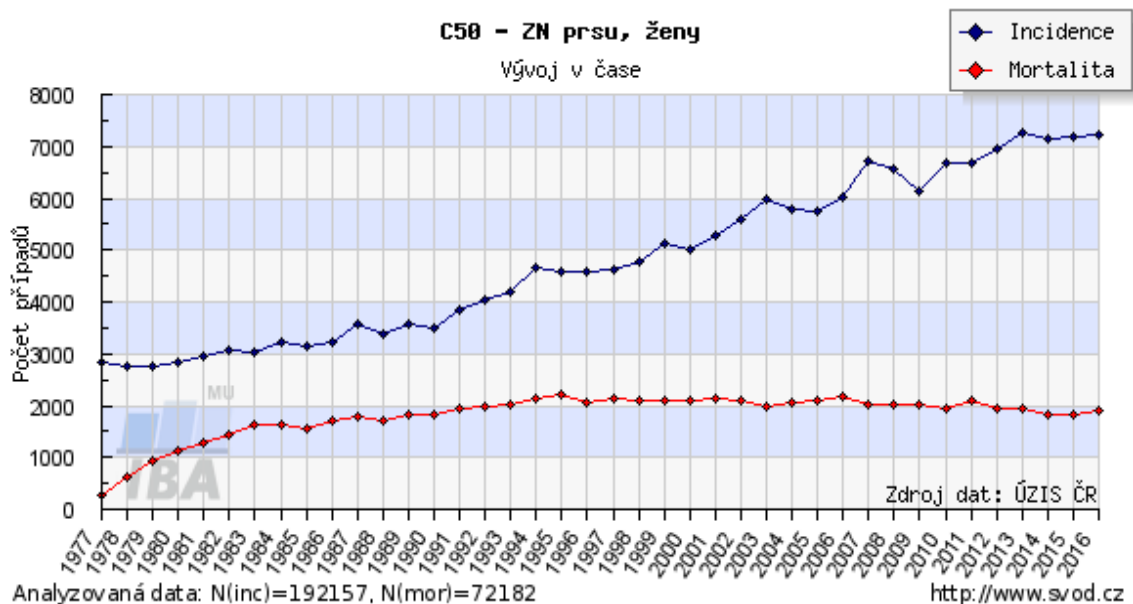
Nejčastějším onkologickým onemocněním žen v České republice je po jiných kožních nádorech karcinom prsu. Každoročně je diagnostikováno přes 7000 nových případů, což zaujímá 18 % všech zhoubných onemocnění žen. Přes 1600 žen ročně na tuto diagnózu umírá (*obr. 3*). Počet onkologických onemocnění se každým rokem mírně zvyšuje. Je to přičítáno stoupajícímu průměrnému věku obyvatelstva, na kterém se nemalou měrou podílí stoupající kvalita lékařské péče. Také nové diagnostické metody a screeningové programy odhalují zhoubné novotvary v časnějších stádiích a tím umožňují

nasadit včasnou léčbu a snížit úmrtnost pacientů na onkologické nemoci. V posledních letech je míra incidence i úmrtnosti karcinomu prsu stabilizovaná (*Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2017*).

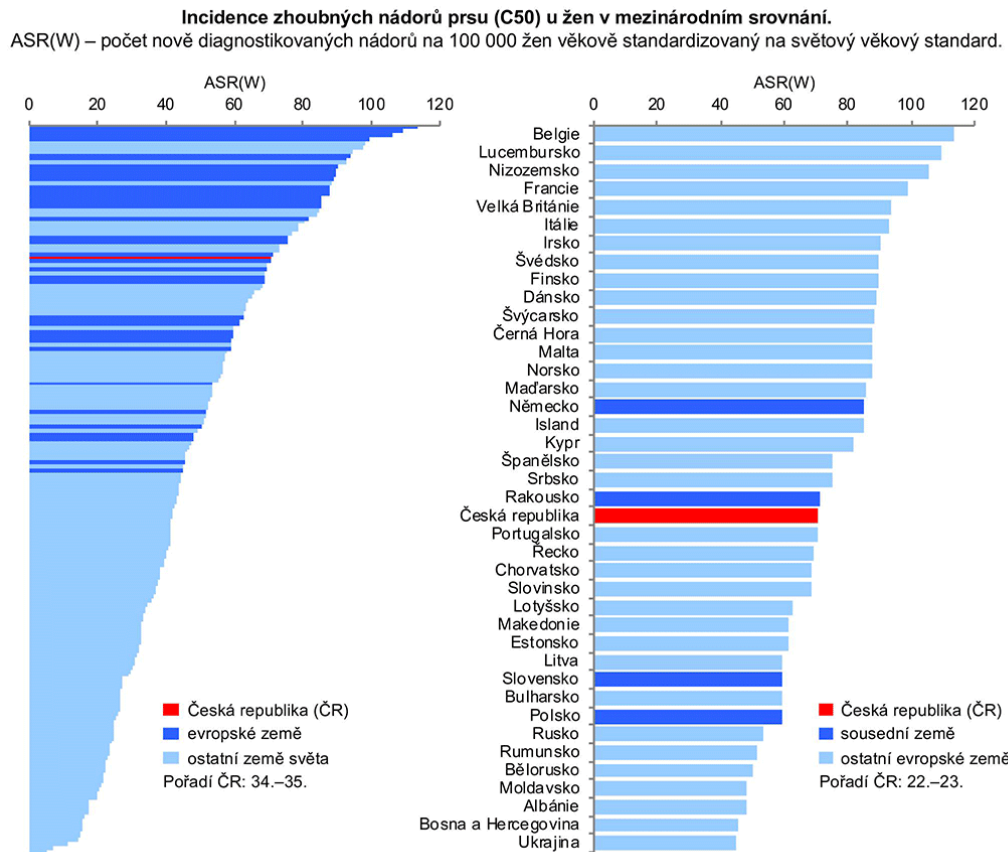
Ve světovém srovnání se Česká republika v incidenci zhoubných nádorů prsu u žen (počet nově hlášených případů na 100 000 žen) řadí na 34. - 35. místo, mezi evropskými zeměmi zaujímá 22. - 23. pozici (*obr. 4*). V mortalitě obsazuje ČR světové 133. - 135. místo a 34. - 35. místo v Evropě (*Global Cancer Observatory: Cancer Today, 2018*).

Rakovina prsu se v současnosti stává jedním z nejzávažnějších epidemiologických problémů, který tvrdě zasahuje do života postižených žen a jejich rodinných příslušníků.

**Obrázek 3: Incidence a mortalita karcinomu prsu žen v ČR v letech 1977 - 2016** (*Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice, 2016*).



**Obrázek 4: Karcinomy prsu žen v mezinárodním porovnání** (Global Cancer Observatory: Cancer Today, 2018).



## 6.2.2 Rizikové faktory

Etiologie vzniku karcinomu mléčné žlázy zatím není přesně známa. Víme však, že některé rizikové faktory, jakými jsou věk, dědičnost, hormonální vlivy nebo zdravý životní styl, nám mohou pravděpodobnost onemocnění zvýšit. Tyto rizikové vlivy můžeme rozdělit do dvou skupin: na hlavní a vedlejší.

Hlavní či výrazné rizikové faktory neumíme bohužel ovlivnit:

**Věk** je jedním z největších rizikových faktorů vzniku rakoviny prsu. Se stoupajícím věkem prudce narůstá i riziko onemocnění. Typické stáří pacientky s karcinomem prsu v České republice je mezi 60 - 69 lety, ale ve velké míře postihuje také ženy

v produktivním věku a to až v 37 %. Žen s diagnostikovaným karcinomem prsu do 35 let je asi jen 1 %, do 45 let okolo 4 %, pak incidence onemocnění rapidně narůstá (*Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2019*).

**Genetická zátěž** nehraje výraznou roli. Asi jen v 5 - 10 % onemocnění se jedná o dědičnou záležitost, projevující se zvýšeným rizikem oboustranného nádoru, diagnózou v mladším věku nebo přidruženým novotvarem na vaječníku. Zárodečné mutace genů BRCA 1 a BRCA 2 jsou nejčastěji zodpovědné za dědičné predispozice ke vzniku nádorů prsu i ovaria, ale i tumorů z jiných lokalit. Jedná se o tzv. supresorové geny, které u jedinců zdravých, bez mutace, tlumí vznik a vývoj nádorů. Gen BRCA 1 je lokalizován na 17. chromozomu, gen BRCA 2 na 13. chromozomu. Pro nosičku těchto genů je celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu mezi 40 - 85 %, přičemž gen BRCA 2 nese riziko o něco nižší. Mutace těchto genů je přenášena autozomálně dominantně, což znamená bez rozdílu pohlaví. Muži s mutací BRCA 2 mají celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu asi 100x vyšší než běžná mužská populace, s BRCA 1 asi 50x. Může se zvýšit výskyt i jiných typů nádorů, především kolorektální karcinom, karcinom prostaty či slinivky. Pokud se u ženy v rodinné anamnéze vyskytuje zhoubný nádor vaječníků nebo prsu, zejména v mladším věku u blízkých příbuzných (sestra, matka, babička, teta, příp. karcinom prsu u muže), je tady podezření na familiární výskyt nádoru. Tato žena by měla být vyšetřena ve specializované genetické laboratoři (*KLINICKÁ ONKOLOGIE, 2009*).

**Výskyt premaligních lézí** - zejména se jedná o DCIS, LCIS a případně proliferativní benigní léze s atypiami (atypická duktální nebo lobulární hyperplazie). Zvyšují riziko vzniku karcinomu asi 4 – 5x proti běžné populaci.

Vedlejší rizikové faktory jsou ovlivnitelné, mají však jen omezený význam:

**Hormonální a gynekologické faktory** mohou ovlivnit vznik karcinomu prsu delší expozicí estrogenů, kterou může způsobit např. nástup menarche před 11. rokem, menopauza v pozdějším věku, první porod až po 30. roce života, krátká laktace, nuliparita.

**Dietní faktory a zdravý životní styl** - riziko vzniku zhoubného nádoru prsu zvyšuje obezita, nedostatek fyzické aktivity, kouření.



**Vlivy zevního prostředí** - ionizující záření zejména před 40. rokem života (*COUFAL, O., FAIT, V. a kol., 2011*).

### 6.2.3 Prognostické a prediktivní faktory v diagnóze karcinomu prsu

Prognóza pacientky s karcinomem prsu závisí na klinickém i patologickém stadiu nádorového onemocnění v době jeho diagnostiky = staging. Další činitel, který má vliv na léčbu a délku přežití, je histologická typizace nádoru a stupeň jeho diferenciacce = grading (*FITZGIBBONS, P. L., PAGE, D. L., WEAVER, D. et al., 2000*).

Ke klasifikaci rozsahu karcinomu prsu je využívána mezinárodní klasifikace TNM, která je nejsilnějším prognostickým faktorem a podle které se volí strategie léčby. TNM se používá k posouzení velikosti primárního nádoru, uzlinových nebo vzdálených metastáz a rozdělujeme ji na klasifikaci klinickou a histopatologickou. Klinický staging cTNM obnáší posouzení tumoru, regionálních uzlin a případných metastáz na základě klinického vyšetření a všech dostupných zobrazovacích metod. Patologický staging ptám je vydán na základě histopatologických vyšetření, nejčastěji po operačním výkonu a vyšetření resekátu, upřesní klinickou klasifikaci a podá indikace k následné léčbě.

**T** - tumor - popisuje jeho rozsah, T0 - bez známek primárního tumoru, Tis - karcinom in situ, T1 - nádor do 2 cm nebo méně v největším rozměru, T2 - rozsah mezi 2 - 5 cm, T3 - nádor velikosti do 5 cm nebo T4 - nádor jakékoliv velikosti s přímým šířením do hrudní stěny nebo do kůže, TX - primární nádor nelze hodnotit.

**N** - hodnocení stavu regionálních lymfatických uzlin, N - v regionálních uzlinách nejsou metastázy, N1 - metastázy v pohyblivé stejnostranné axilární uzlině, N2 - metastázy ve fixované stejnostranné axilární uzlině nebo metastázy ve vnitřní mamární uzlině bez klinicky evidentních metastáz v axilárních uzlinách, N3 - metastázy ve stejnostranných infraklavikulárních nebo supraklavikulárních uzlinách, nebo současné metastázy v axilárních a vnitřních mamárních uzlinách, NX - nelze hodnotit.

**M** - popisuje přítomnost vzdálených metastáz, nejčastějšími místy jsou plíce, kosti, játra a mozek, M0 - nejsou vzdálené metastázy, M1 - jsou vzdálené metastázy, MX - nelze hodnotit (*Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2019*).

Podle stanovení TNM se určí rozdělení do 4 klinických stadií, které není náhodné, ale respektuje prognózu onemocnění. Čím vyšší stadium, tím horší prognóza pro pacientku.

Grading neboli histologický stupeň je důležitým determinantem prognózy, který zároveň dovoluje stratifikaci rizika v daném nádorovém stadiu. Grading je možno provést i z punkčních válečků a je prokázána dobrá korelace s následným gradingem resekátu. Pro grading se užívá kombinace 3 morfologických parametrů - počet mitóz, stupeň jaderné polymorfie a počet tubulárních struktur v nádoru, které představuje tzv. Nottinghamská klasifikace (*tabulka 2 a tabulka 3*).

Počet mitóz ve vyšetřované části nádoru neboli mitotický index nám stanovuje proliferační aktivitu karcinomu. Vysoký mitotický index odpovídá výrazně horší prognóze.

Status hormonálních receptorů představuje prediktivní faktor pro odpověď na hormonální léčbu, proto je součástí všech rutinních vyšetření karcinomů prsu stanovení estrogenních (ER) a progesteronových (PR) receptorů. Výsledek by měl být uváděn procentuálním zastoupením pozitivních buněk (*SKÁLOVÁ, A., FÍNEK, J., 2006*).

**Tabulka 2: Nottinghamská klasifikace** (*SKÁLOVÁ, A. a kol., 2012*).

Kriterium		Skóre (počet bodů)
Tvorba tubulů	Tvoří většinu nádoru (> 75 %)	1
	Střední množství (10 – 75 %)	2
	Málo nebo žádné (< 10)	3
Jaderná polymorfie	Malá a pravidelná jádra	1
	Středně velká a mírně polymorfní jádra	2
	Výrazně polymorfní jádra	3
Počet mitóz v 10 HPF	0 - 3	1
	4 - 6	2
	> 7	3

*HPF – high power fields*

**Tabulka 3: Grading karcinomu podle počtu bodů Nottinghamské klasifikace (SKÁLOVÁ, A. a kol., 2012).**

GRADE 1	3 - 5
GRADE 2	6 - 7
GRADE 3	8 - 9

## 6.2.4 Prevence a screening

Cílem primární prevence je snížit vznik zhoubných nádorových onemocnění. Jedná se o odstranění či redukci nebezpečných faktorů, u kterých byl prokázán přímý negativní dopad na naše zdraví.

Nadváha nebo obezita se stává celosvětovým problémem, který se netýká jen dospělých, ale bohužel i dětí. BMI (Body Mass Index) a obvod pasu jsou hlavními kritérii při hodnocení, zda má člověk ještě normální váhu nebo již nadváhu. Byla prokázána spojitost mezi vyšší tělesnou hmotností a vznikem mnoha typů nádorů např. prsu, jícnu, tlustého střeva, jater, slinivky i ledvin. Proto jedním z nejdůležitějších preventivních opatření je udržovat tělesnou hmotnost v rozumných mezích BMI 18,5 - 24,9.

Pohybová aktivita je dalším důležitým krokem v prevenci, pomáhá nám zejména udržovat ideální tělesnou hmotnost. Také nás chrání před vznikem kolorektálního karcinomu, o čemž již existují přesvědčivé důkazy. Dále se předpokládá, že fyzická aktivita chrání ženy před vznikem rakoviny prsu v premenopauzálním i postmenopauzálním věku.

Nutričně vyvážená a pestrá strava vede opět k udržení tělesné váhy ve vhodných mezích BMI a tím snižuje riziko vzniku nádorových, ale také dalších onemocnění jako jsou vysoký krevní tlak, cukrovka a nemoci srdce a cév. Doporučuje se konzumovat potraviny s vysokým podílem vlákniny, dostatečné množství ovoce a zeleniny. Červené maso vyměnit za ryby a drůbeží maso. Výrazně snížit příjem cukru omezením cukrovinek a zejména sladkých nápojů. Vyvarovat se přílišnému solení, potravinám s vysokým

podílem tuků a jídlům rychlého občerstvení. Konzumace alkoholu by měla být také minimální (*Cancer Prevention Recommendations, 2018*).

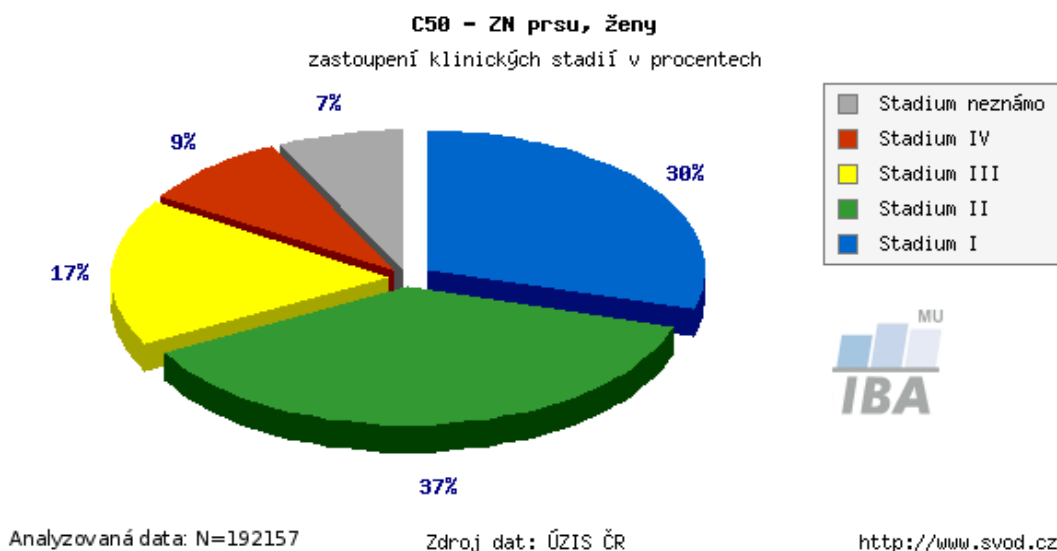
Sekundární prevence má za cíl odhalit zhoubný novotvar v raném stadiu, kdy je ještě možnost plného vyléčení. U nádorových onemocnění prsu se jedná mamografický screening, ultrazvukové vyšetření a samovyšetření prsu.

**Mamografie (MG)** je v mamární diagnostice nejdůležitější zobrazovací metodou z několika důvodů. Je to metoda velice rozšířená, snadno dostupná a finančně nepřiliš náročná. Také je v současné době již standardně využíván mamografický obraz v digitální podobě, který je dobře uchovatelný a reprodukovatelný, nabízející možnost porovnání starších i současných vyšetření. Citlivost MG pro záchyt karcinomu je závislá na denzitě mléčné žlázy, resp. na věku ženy. Senzitivita mamografie u žen pod 40 let je menší než 50 %, naopak nad 60 let může zachytit až 95 % karcinomů. Proto se ženám mladším 40 let doporučuje ultrasonografie (USG) a mamografické vyšetření se stává metodou první volby až po 45 roce věku ženy. Důležité je rozlišovat indikace pro mamografické vyšetření: diagnostickou MG a screeningovou MG.

Diagnostická mamografie se týká všech žen bez věkového omezení tzv. symptomatických, které mají v prsní žláze hmatný nález nebo jinou klinickou patologii (*COUFAL, O., FAIT, V. a kol., 2011*).

Mamografický screening znamená pravidelné preventivní vyšetřování mléčné žlázy žen, které nemají jakékoliv příznaky onemocnění. Cílem je zachycení počínajícího zhoubného nádoru v co nejčasnějším stadiu, a tím jeho snadnější léčitelnost. Léčba drobného nádorku je méně zatěžující, nabízí velkou možnost zachování celého prsu a vede k vyšší kvalitě i délce života pacientky. Pětileté přežití pacientek s diagnostikovaným karcinomem prsu v klinickém stadiu I nebo dokonce prekurzorovým novotvarem in situ tvoří téměř 100 %. V České republice začal plošný bezplatný program mamografického screeningu v roce 2002, kdy všechny ženy nad 45 let mají nárok na vyšetření mamografem každý druhý rok zdarma. Z dostupných dat je zřejmé, že se podíl záchytu časných klinických stadií u nově diagnostikovaných případů v poslední době výrazně zvyšuje a to zejména zásluhou mamografického screeningu (*obr. 5*).

**Obrázek 5: Klinická stadia zhoubného novotvaru prsu (dg. C50), ženy (Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice, 2016).**



**Ultrasonografie** neboli ultrazvukové vyšetření je druhou základní zobrazovací metodou v mamární diagnostice. Je metodou dobře dostupnou, která nám podává jiné informace než mamografie, a proto se obě metody dobře doplňují. Z důvodu vysoké mamografické denzity mléčné žlázy je USG metodou první volby u žen mladších 40 let, u žen těhotných nebo kojících. Jen v případě pozitivního nebo suspektního nálezu na ultrazvuku je u těchto žen indikováno mamografické vyšetření.

**Samovyšetřování prsů** a jejich pozorování je vhodná metoda pro každou ženu. Nejlépe je opakovat ji pravidelně každý měsíc, vždy po ukončení menstruace, kdy jsou hormonální změny v prsech nejmenší. Jde o sledování sebemenších změn, které mohou být prvními příznaky zhoubného bujení. Nejedná se jen o dobře viditelné výtoky či krvácení z bradavek, otoky nebo zarudnutí kůže prsu. Velice nenápadné může být vtlačení kůže a vytvoření malinkého důlku, který bývá právě znakem začínajícího růstu nádorku, který na sebe přitahuje okolní tkáň. V žádném případě není samovyšetření metoda zastupující mamografii. Je více než vhodným doplněním dlouhého dva roky trvajícího období mezi preventivní mamografií (SKOVAJSOVÁ, M., 2018).

Terciární prevence nastává u pacientek po léčbě karcinomu prsu. Jde o pravidelné sledování, které má za cíl včas odhalit potenciální relaps onemocnění.

## 7. PRAKTICKÁ ČÁST

### 7.1 Odběr tkáně - *Novojičínské diagnostické centrum s.r.o.*

Diagnostické centrum je členem skupiny Agel a součástí Komplexního onkologického centra v Novém Jičíně od roku 2013, kdy převzalo činnost nestátního zdravotnického zařízení Mudr. Zdeňka Mutiny, který jej provozoval již od roku 1994. Je centrem s oprávněním Ministerstva zdravotnictví ČR k provádění screeningů nádorů prsu.

Ženy do tohoto zařízení přicházejí z preventivních důvodů na vyšetření ultrazvukem, mamografem nebo již s podezřením na nějakou patologii v prsní žláze. Po důkladném klinickém, USG a MG vyšetření obou prsů i axilárních uzlin a zjištění suspektního ložiska či ložisek, je nutno přistoupit k vyšetření bioptickému. Odebraná tkáň je pak podrobená histopatologickému vyšetření.

**Punkční core - cut biopsie** cílená zobrazovacími technikami je metodou první volby. Pacientka leží na zádech případně na boku, místo odběru je pečlivě desinfikováno a provedeno znecitlivění lokálním anestetikem. Samotný odběr se provádí speciální jehlou nasazenou na pružinové nastřelovací pistoli. Jedná se o miniinvazivní zákrok, při kterém je odebráno několik válečků tkáně se zachovanou architektonikou. Počet válečků záleží na charakteru ložiska, pokud jde o jednoznačnou lokalizaci, postačí 2 - 4 vzorky. Pokud je oblast nejasná, nepravidelných struktur, provede se odběr většího počtu vzorků z celé oblasti. Nejčastější z navigačních technik je ultrasonografická navigace, při které pacientka leží a lékař využívá výhody reálného obrazu s možností kontroly léze i hrotu punkční jehly. Jedná se o metodu rychlou a levnou. Pouze léze, které jsou USG nedetekovatelné se odebírají pod mamografickou kontrolou.

**Vakuová biopsie - mamotomie** využívá podtlaku, který tkáň nasaje do odběrové jehly. Jehla zůstává po celou dobu v základní pozici a pro potřebný odběr z více míst se pouze otáčí v rozsahu 360 stupňů, takto lze odebrat až 36 vzorků, které jsou automaticky jehlou posouvány do zásobníku nebo k odebrání. Tato metoda odběru je proti core – cut biopsii bolestivější, s vyšším rizikem vzniku hematomu. Také cena punkční jehly je vyšší. K vakuové mamotomii se přistupuje zpravidla při výskytu mikrokalciфикаcí.

## **7.2 Histologické zpracování tkáně - oddělení patologie Laboratoří Agel a.s. Nový Jičín**

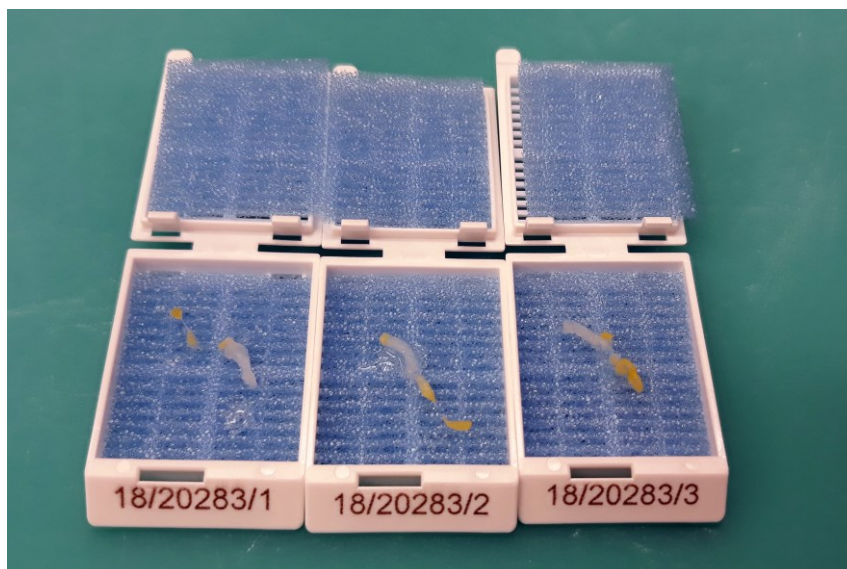
### **7.2.1 Příprava materiálu pro laboratorní zpracování**

Klinikem odebraná tkáň je ihned vložena do odběrové nádoby s fixační tekutinou. Fixací zabráníme denaturaci bílkovin a autolýze buněk, ke které dochází po smrti organismu. Nejpoužívanějším fixativem v naší histologické laboratoři je 10 % formalín. Jeho vlastnosti nejlépe odpovídají potřebám světelné mikroskopie a imunohistochemického vyšetření. Rychle proniká do tkání, dobře sráží bílkoviny, nerozpouští tuky a také zachovává dobrou barvitelnost tkání. Další nespornou výhodou je, že ve formalínu můžeme tkáně uchovávat po delší čas.

Je nutné, aby byla zvolena vhodná velikost přepravní nádoby. Pro kvalitní fixování materiálu potřebujeme dostatečné množství roztoku formaldehydu, přibližně 10 násobek objemu odebrané tkáně, která musí být fixativem obklopena ze všech stran. Doba fixace se odvíjí od velikosti fixovaného materiálu, u prsních punkčních válečků je minimální doba 6 hodin a maximální 24 hodin. Do naší laboratoře přichází vzorek v přepravní nádobce označené jménem a rodným číslem pacientky, s průvodní bioptickou žádankou.

Laborantka převezme materiál, zkontroluje správnost údajů na odběrové nádobě s údaji na žádance a přidělí bioptické číslo. Pod tímto číslem materiál putuje celým procesem histologického zpracování a je pod tímto číslem také zaveden v elektronické databázi našeho oddělení. Dostatečně fixované punkční válečky jsou na příkrajovacím pracovišti makroskopicky popsány lékařem a vloženy do kazetek, které jsou vystlány molitanovými podložkami (*obr. 6*). Tyto plastové kazety jsou již i s tkání vloženy zpět do formalínu a čekají na další zpracování.

**Obrázek 6: Punkční válečky v bioptických kazetkách** (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).



### 7.2.2 Odvodnění a prosycení tkáně

K odvodnění a prosycení tkání formol - parafínovou metodou je využíván vakuový tkáňový procesor VIP 6 AI. Denní kapacita je až 300 bioptických kazet a celý cyklus trvá přibližně 14 hodin. Nejprve dochází k odvodnění tkáně vzestupnou etanolovou řadou, tzn. 70 % etanol a po něm 96 % etanol. Pokud bychom tkáň vložili přímo do vysoce koncentrovaného alkoholu, došlo by k jejímu smrštění. Dalším krokem je bezvodý izopropylalkohol, který z tkáně odstraní již nežádoucí etanol a pokračuje lázní xylenu, který dobře rozpouští parafín. Následuje poslední fáze prosycení v tekutém parafínu, kdy dojde k úplnému odstranění xylenu. Tkáň je postupně projasňována ve čtyřech lázních parafínu po celkovou dobu 4 hodin. Teplota tekutého parafínu nemůže přesáhnout 56 °C, protože by tkáň ztvrdla, špatně se krájela i barvila (VACEK., Z., 1995).



### 7.2.3 Příprava preparátů pro mikroskopické vyšetření: zalévání, řezání bločků a barvení preparátů

K zalévání tkání do parafinových bločků používáme zalévací linku AUTO TEC5, parafín zkvalitněný přidáním včelího vosku, roztopený na teplotu 56 - 60 °C a kovové zalévací formičky. Z bioptické kazety odstraníme víčko, dno zalévací formičky pokryjeme tenkou vrstvou parafínu a pinzetou vložíme zpracovávanou tkáň (obr. 7 a 8). Pro budoucí mikroskopické vyšetření je velice důležité tkáň správně orientovat a v případě punkčních válečků dobře vsadit do roviny. Nasadíme spodní část bioptické kazety označenou příslušným vyšetřovacím číslem, doplníme parafínem až po okraj a přesuneme na kryomodul vedle zalévací linky. Zde je teplota nastavena přibližně na - 16 °C, během několika minut dojde ke ztuhnutí a hotový parafinový blok snadno z formičky vytáhneme.

**Obrázek 7: Zalévání tkáně do parafínu** (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).



**Obrázek 8: Zalévání tkáně do parafínu** (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).



Tkáň zalitá v parafínovém bločku je připravena ke krájení na mikrotomu. V naší laboratoři používáme zejména manuální rotační mikrotomy, kdy dobře nachlazený parafínový blok vložíme do rychloupínací svorky a nejdříve sérií silnějších řezů skrojíme přebytečný parafín a vrchní část válečku mikrotomovou žiletkou. Ve správné hloubce tkáň přepneme na řезы tenké 2  $\mu\text{m}$  (obr. 9), zhotovíme několik kvalitních řezů, které vypneme na vodní hladině a poté nanese na podložní sklo. V případě core - cut biopsií prsu máme pro každý bloček přichystány 2 podložní skla označená nejen příslušným bioptickým číslem, ale i barvicí metodou. Nyní máme histologický preparát, který je nutné nabarvit, abychom zvýraznili základní struktury tkáně. Ještě před začátkem každého barvení je nutné preparát nechat osušit, aby řez dobře přilnul na podložní sklo.

**Obrázek 9: Rotační mikrotom – zhotovení parafinových řezů** (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).



V histologii používáme barviva zásaditá, která barví např. bazofilní granula a jaderný chromatin. Nejhojněji používaným bazickým barvivem je hematoxylin. Kyselá barviva barví cytoplazmu většiny buněk a nejpoužívanějším je eozin. Základní přehledné barvení pro všechny preparáty v běžné histologické praxi je tedy jejich kombinace hematoxylin - eozin (HE). V obarveném preparátu vidíme modrá jádra a růžovou cytoplazmu. Převážně používáme barviva rozpustná ve vodě, proto musíme z tkáňových řezů vždy před barvením odstranit parafín (VACEK., Z., 1995).

#### **Metoda hematoxylin - eozin:**

- Odparafinování začíná 2 x 3 minutovou lázní xylenu, pro rozpuštění parafínu. Pro odstranění xylenu použijeme sestupnou alkoholovou řadu - 96 % etanol 3 minuty, 70 % etanol 3 minuty.
- Vlastní barvení začínáme propíráním řezů pod tekoucí vodou 30 vteřin, poté Koďouskův hematoxylin 8 minut, modrání jader pod tekoucí vodou 5 minut, dobarvení řezů eozinem 5 minut a konec barvení opět proplach tekoucí vodou 3 minuty.

- Odvodnění probíhá vzestupnou řadou alkoholů - 70 % etanol 3 minuty, 96 % etanol 3 minuty, aceton 1 minutu, aceton / xylenu 2 minuty a projasnění v xylenu 2 lázně po 3 minutách.

V naší praxi máme pro nejčastěji používané metody barvení barvicí a montovací automatickou linku Prisma  $\alpha$  Film s výkonem až 660 sklíček za hodinu a najednou do něj můžeme vložit i 60 preparátů. Skla jsou umístěna do speciálních barvicích nosičů a 1 - 3 nosiče jsou vloženy do startovací stanice automatu, kde na barevné dotykové obrazovce, která je součástí přístroje, navolíme příslušný typ barvení. Přístroj již sám přenesení nosiče se skly do sušicí stanice na 20 minut a dále barvení pokračuje dle zvoleného barvicího protokolu. Na barvicí automat plynule navazuje montovací automat, který obarvené preparáty zamontuje speciálním, pryskyřicí potaženým filmem.

#### **7.2.4 Histochemická analýza**

První válečky barvíme základním barvením HE a současně ihned doplňujeme i speciální histochemickou reakcí na průkaz polysacharidů tzv. reakce PAS (Periodic Acid Schiff). Mukoproteiny, neutrální mukopolysacharidy a glykogen jsou PAS pozitivní substance, které se nám barví růžovofialově. Jádra buněk dobarvíme hematoxylinem modře (VACEK., Z., 1995).

##### **PAS reakce:**

- Odparafinování začíná 2 x 3 minutovou lázní xylenu, pro rozpuštění parafínu. Pro odstranění xylenu použijeme sestupnou alkoholovou řadu - 96 % etanol 3 minuty, 70 % etanol 3 minuty.
- Vlastní barvení začínáme vložением řezů do destilované vody na 30 vteřin, poté oxidujeme v 0,5 % kyselině jodisté 5 minut, řezy propereme v tekoucí vodě 1 minutu, následuje Schiffovo reagens 12 minut, vypírání řezů pod tekoucí vodou 10 minut, Koďouskův hematoxylin 8 minut a modrání jader pod tekoucí vodou 5 minut.

- Odvodnění probíhá vzestupnou řadou alkoholů - 70 % etanol 3 minuty, 96 % etanol 3 minuty, aceton 1 minutu, aceton / xylen 2 minuty a projasnění v xylenu 2 lázně po 3 minutách.

Touto reakcí se sklíčka barví opět v barvicím automatu Prisma, kde také před samotným barvením zůstávají 20 minut v sušící stanici. K nabarveným preparátům HE i PAS je přiložena žádanka a jsou připraveny k mikroskopické analýze lékařem.

## 7.2.5 Imunohistochemická analýza

Imunohistochemie (IHC) je progresivní metoda, která je v dnešní době nedílnou součástí histopatologické diagnostiky. Základním principem metody je vazba antigen - protilátka. Jedná se o využití specifických protilátek k detekci těch genů, které patologovi pomohou identifikovat a odlišit základní typy buněk i tkání. Pomocí širokého spektra protilátek může lékař určit přesně tkáň, ze které nádor pochází, určit tedy jeho histogenezi a přesně jej pojmenovat, dále určit proliferační aktivitu nádorových buněk.

Přímá IHC - aplikace značené primární protilátky, po interakci s antigenem vzniká barevná reakce. Přímých metod se dnes používá jen zřídka, jsou málo citlivé, je nutné užití nadměrného množství protilátek. Nepřímá IHC - využívá dvou protilátek, značená sekundární protilátka se naváže na specifickou protilátku primární. Metoda je citlivější a nejčastěji využívaná (DVOŘÁK, K., LUKÁŠ, Z., DVOŘÁKOVÁ, Z., *et al.*, 2008).

V naší laboratoři používáme pro imunohistochemické metody plně automatizované zařízení Ventana BENCHMARK ULTRA, které má schopnost současně zpracovávat 1 - 30 sklíček. Za pracovní směnu dokáže zhotovit až 90 preparátů s nezávislým zpracováním, funkcí i teplotou pro každou pozici. Aplikace všech reagensů probíhá v přesně stanoveném pořadí i množství, které nám zaručí správně pokrytou plochu celého preparátu. Krájíme řezy tloušťky 1,5  $\mu\text{m}$ , napínáme je na sklíčka se speciálně upraveným, vysoce přilnavým povrchem a poté sušíme 60 min v termostatu při teplotě 56 °C. Každé sklíčko je označeno speciálním čárovým kódem a vloženo do automatu. Software tento kód načte a zpracuje preparát dle protokolu pro příslušnou protilátku. Nejdříve

všechny řezy projdou procesem sušení, odparafínování a rehydratace tkáně. Dalším krokem je tzv. odmaskování antigenů, které jsou fixací schovány do složitých struktur. Pomocí enzymů, citrátového nebo Tris pufru dojde k jejich revitalizaci. Velmi důležité je zablokování endogenní peroxidázy, enzymu přítomného ve všech tkáních, aby se zabránilo falešně pozitivním výsledkům. Nejprve se aplikuje primární protilátka na tkáň a dojde k navázání na specifický antigen, poté sekundární protilátka značená endogenní peroxidázou. K detekci je používán pufrovaný substrát s chromogenem, který vazbu antigen - protilátka zviditelní formou barevného nerozpustného komplexu. Nakonec dojde k dobarvení jader hematoxylinem. Preparáty jsou z automatu vyjmuty, promyty vodou, odvodněny vzestupnou řadou alkoholů, acetonu, projasněny v xylenu a v lepícím automatu zamontovány.

K interní kontrole využíváme řezy tkání s ověřenou pozitivitou, umístěné na sklíčku mezi čárovým kódem a vyšetřovanou tkání. Současným barvením pozitivní kontroly i diagnostikované tkáně si ověříme, že imunohistochemické barvení proběhlo správně.

Pro diagnostiku karcinomu prsu je v naší laboratoři rutinně stanovován tzv. mamma panel, který se skládá z protilátek ER, PR, Ki67 a Her2/neu.

**ER** - estrogenový receptor je důležitý prognostický marker, jehož vyšší exprese je spojena s lepší odpovědí na hormonální léčbu i s lepším přežitím. Pozitivita: jaderná (*obr. 10*).

**PR** - progesteron je exprimován v tkáních hormonálně dependentních, je stejně jako ER velice důležitý prognostický a prediktivní marker. Pozitivita: jaderná.

**Ki67** - jedná se o jaderný protein exprimovaný všemi fázemi jaderného cyklu kromě G0 fáze, indukuje růst a dělení buňky. Je nejdůležitějším znakem proliferační aktivity zejména u karcinomu mléčné žlázy, ale i adenokarcinomu prostaty nebo sarkomu měkkých tkání. Pozitivita: jaderná (*obr. 11*).

**Her2/neu** - jedná se o transmembránový protein, jehož overexprese je spojována s horší prognózou.

Další velice často vyšetřované protilátky, které lékaři pomohou stanovit správný nálezy, jsou:

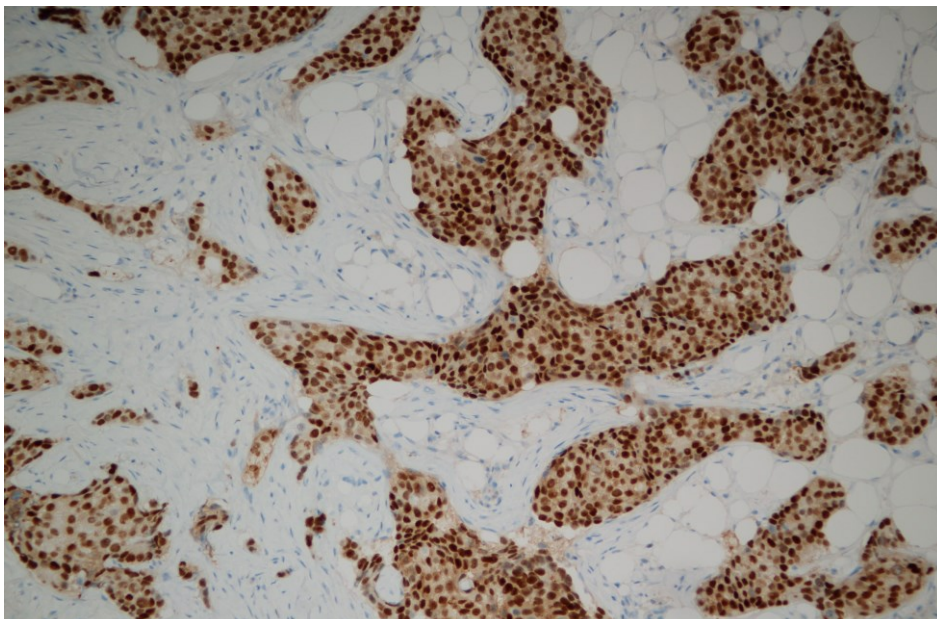
**E - cadherin** - se nachází na epiteliálních buňkách jako transmembránová molekula mezibuněčných spojů. Používá se k diferenciální diagnostice mezi karcinomy duktálního a lobulárního původu, kdy se pozitivita projeví v duktálních karcinomech, v lobulárních zůstává negativní. Platí to i pro in situ léze. Pozitivita: membránová (*obr. 12*).

**p63** - jaderný protein vysoce exprimovaný bazálními a progenitorovými buňkami různých epitelových tkání, charakteristický pro epitel dlaždicový a přechodný. Pozitivní obarvení myoepitelových buněk v duktech mléčné žlázy značí benigní žlázky nebo neinvazivní lézi. Proto je používán k diferenciaci karcinomu in situ a karcinomu invazivnímu. Pozitivita: jaderná.

**Calponin** - protein reagující s aktinem a tropomyosinem, vyskytuje se pouze v buňkách hladké svaloviny. K diferenciaci benigních lézí od karcinomu. Pozitivita: cytoplazmatická (*obr. 13*).

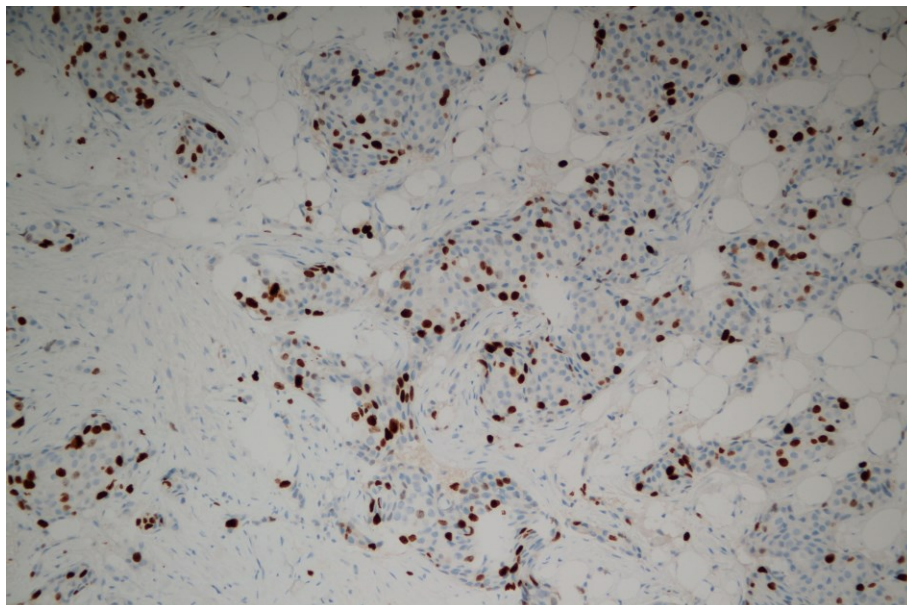
**CK 5/6** - cytokeratiny jsou významnou součástí cytoskeletu většiny epiteliálních buněk. CK 5 přítomen u stratifikovaných epitelů, u složených a přechodných epitelů a mezoteliomu, CK 6 u skvamózního epitelu. Využití v diferenciální diagnostice atypických proliferací prsu. Pozitivita: cytoplazmatická (*STRÍTECKÁ, D., JEŘÁBKOVÁ, L., 2018*).

**Obrázek 10: Estrogen receptor - jaderná pozitivita karcinomu prsu, zvětšení 20x** (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).

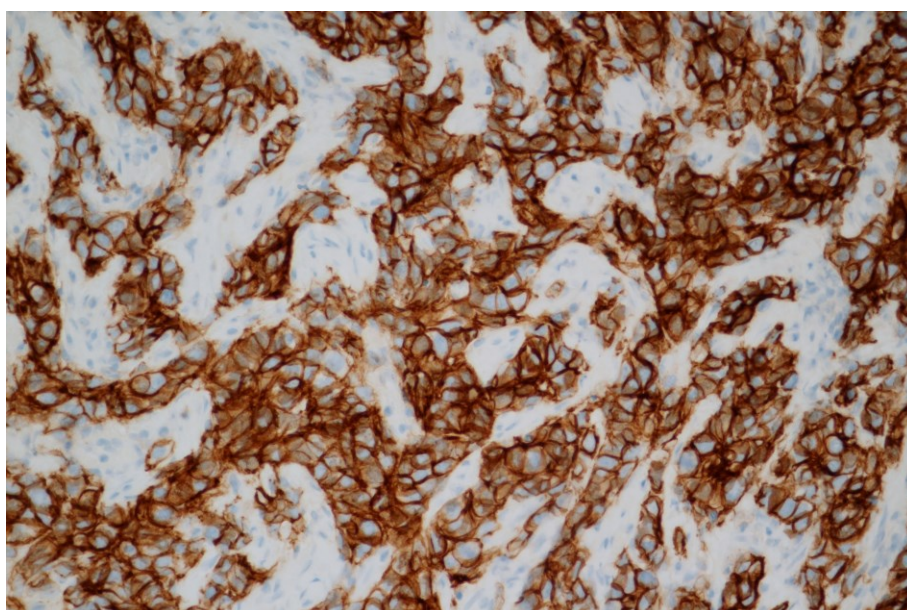




**Obrázek 11: Ki67 - jaderná pozitivita karcinomu prsu, zvětšení 20x** (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).

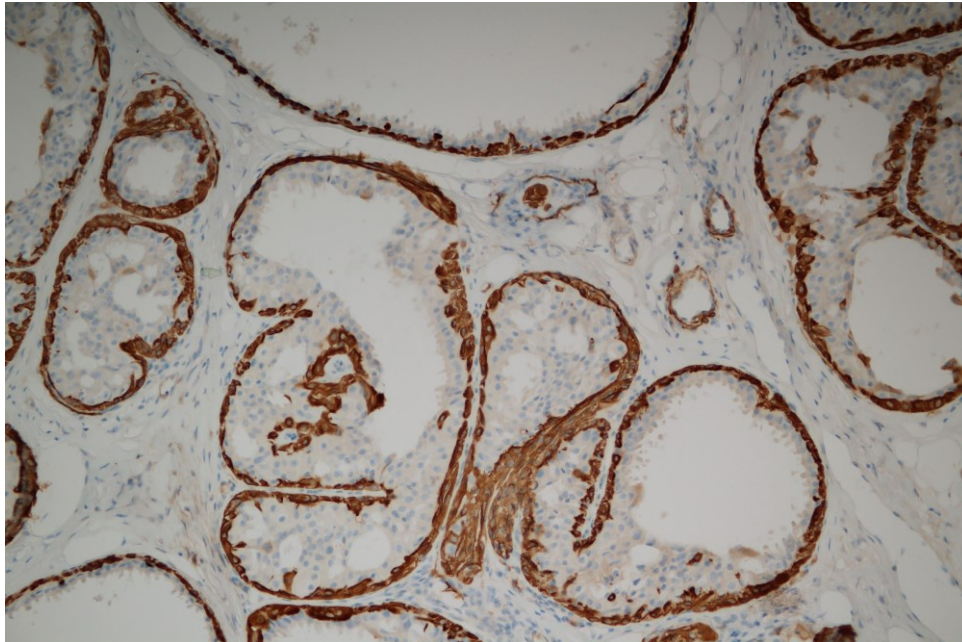


**Obrázek 12: E - cadherin - membránová pozitivita karcinomu prsu, zvětšení 40x** (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).





**Obrázek 13: Calponin - cytoplazmatická pozitivita karcinomu prsu, zvětšení 20x (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).**



### **7.3 Výběr core - cut biopsií mléčné žlázy za období 2016 - 2018**

Pro bakalářskou práci jsme zvolili všechny core - cut biopsie mléčné žlázy, které byly na oddělení patologie laboratoří Agel a.s. v Novém Jičíně dodány z Novojičínského diagnostického centra s.r.o. v letech 2016, 2017 a 2018. Pomocí elektronické databáze našich laboratoří jsme u těchto vyšetření sledovali, zda se jedná o benigní nebo maligní nálezy a které diagnózy se vyskytují nejčastěji. Také jsme seřadili pacientky dle věku v době provedení biopsie.

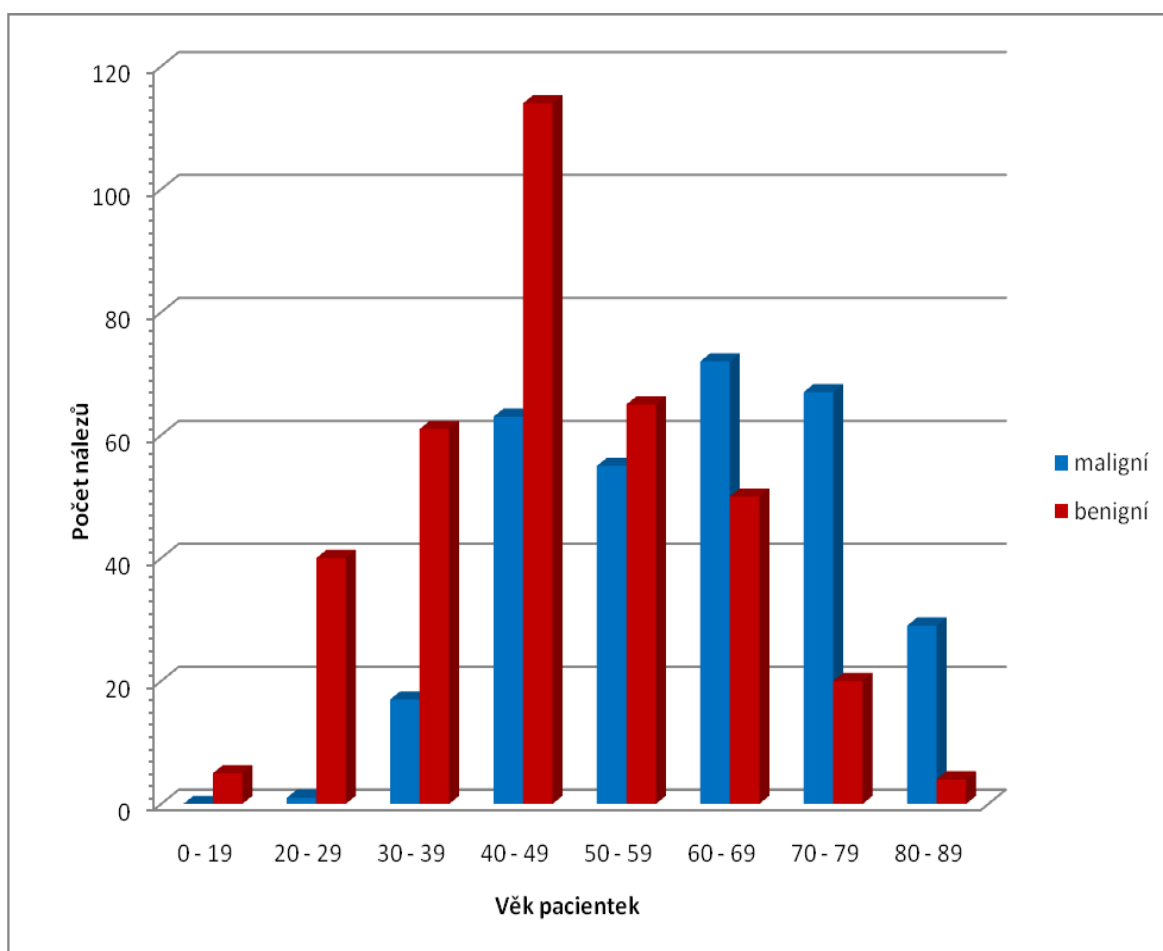
## 7.4 Výsledky

V období 2016 - 2018 bylo na oddělení patologie zpracováno celkem 663 core - cut biopsií prsu, které byly odebrány pro suspektní ložisko v mléčné žláze. Z toho 7 vzorků patřilo mužům. V 46 % byl diagnostikován karcinom prsu (*tabulka č. 4*).

**Tabulka 4: Nález v core - cut biopsiích v letech 2016, 2017, 2018**

	Maligní nálezy	Benigní nálezy
<b>2016</b>	139	132
<b>2017</b>	94	154
<b>2018</b>	70	74
<b>Celkem</b>	<b>303</b>	<b>360</b>

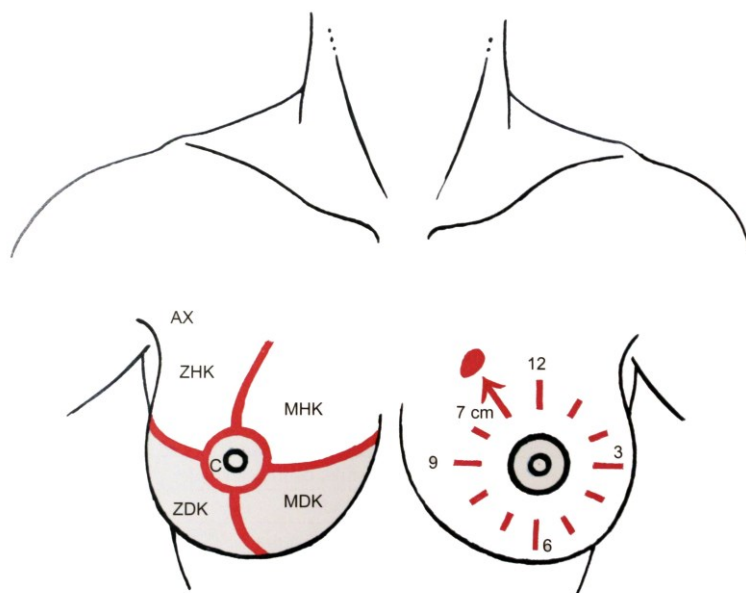
**Graf 1: Četnost maligních a benigních nálezů dle věku žen v období 2016 - 2018**



S věkem pacientek se liší i histologické nálezy. Nejvíce punkčních biopsií bylo provedeno mezi 40. - 49. rokem života a převažují zde benigní diagnózy. Maligní i benigní nálezy mezi 50. - 59. rokem jsou poměrně vyrovnané. Po 60. roce věku již začínají převažovat nálezy maligní a k nejméně výraznějšímu nárůstu malignity dochází po 70. roce. Alarmující je ovšem výskyt zhoubných novotvarů u nescreeningové věkové skupiny 30 - 39 let (*graf 1*).

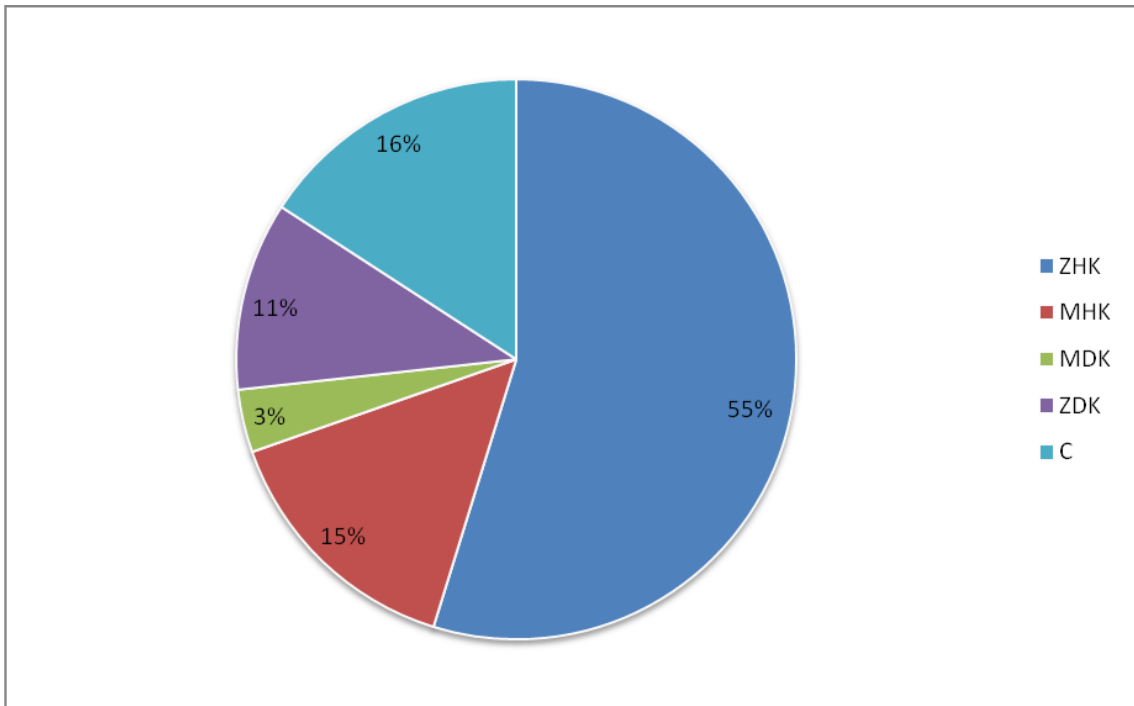
Počet punkcí z levého a pravého prsu je téměř vyrovnaný, jen velice mírně převažují biopsie z levé strany. Zaznamenáno bylo 163 zhoubných nádorů levé mammy, to je o pouhých 6 % více než výskyt u pravé mammy, kde jich bylo diagnostikováno 140. Prs se z anatomického hlediska může rozdělit na 4 kvadranty, které se využívají pro přesný topografický popis lézí (*obr. 14*).

**Obrázek 14: Topografická lokalizace afekcí v prsu pomocí kvadrantů** (COUFAL O., FAIT V. a kol., 2011).



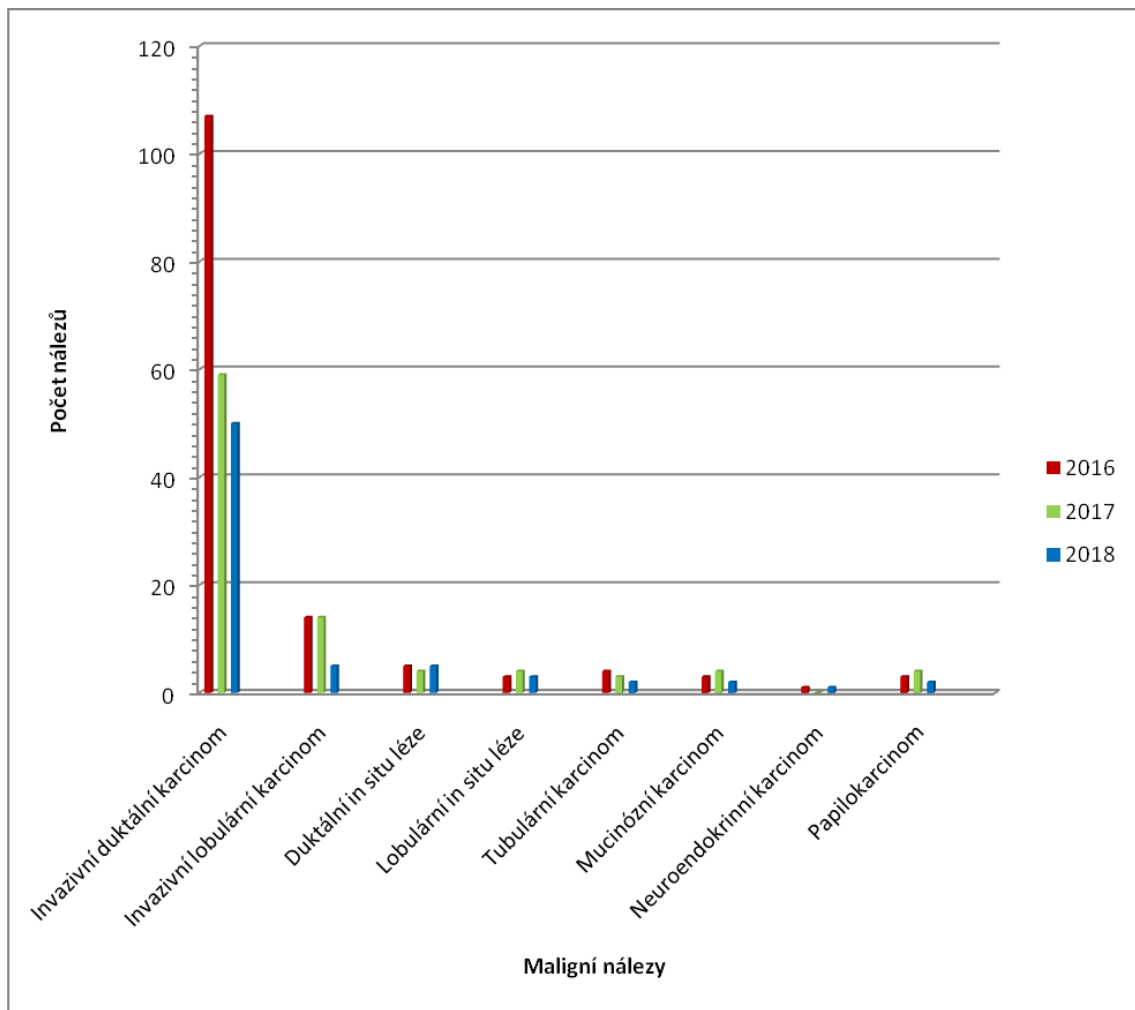
ZHK - zevní horní kvadrant, MHK - mediální horní kvadrant, MDK - mediální dolní kvadrant, ZDK - zevní dolní kvadrant, AX - axilární výběžek, C - centrální segment.

**Graf 2: Procentuální vyjádření lokalizace maligních lézí v kvadrantech prsu v období 2016 - 2018**



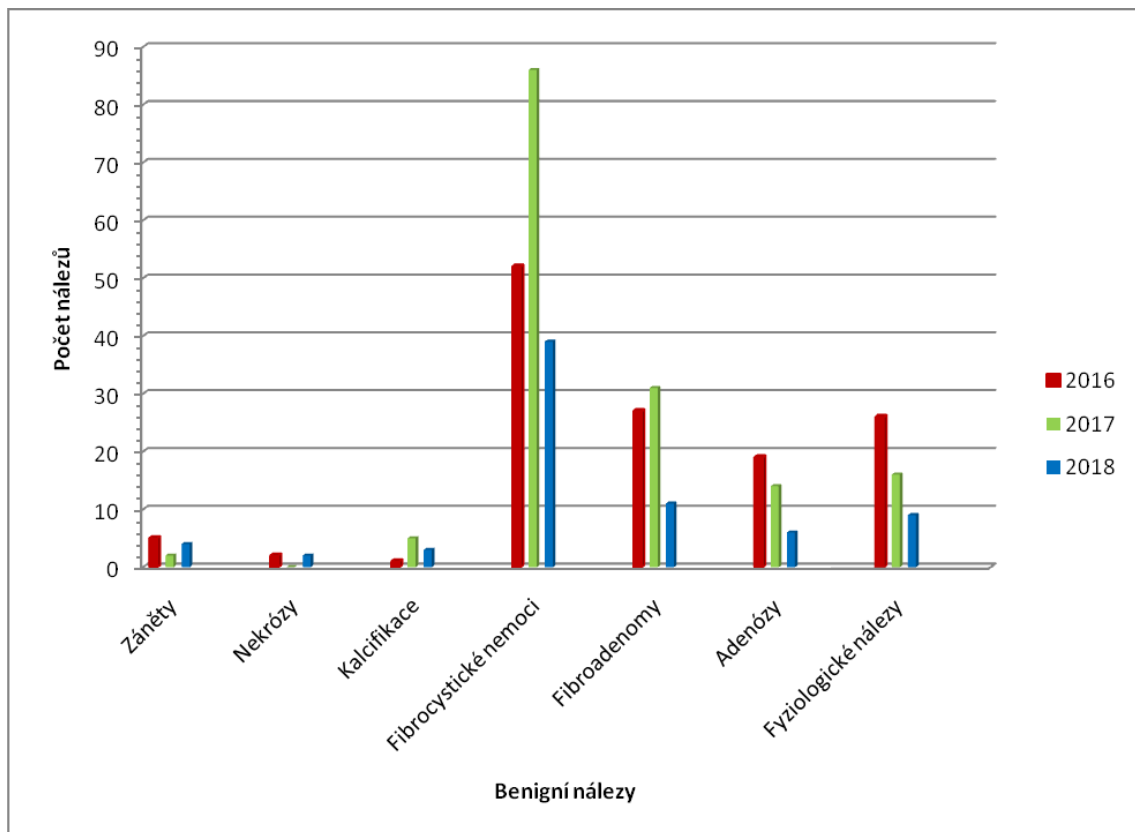
Nejčastěji se maligní léze vyskytují v zevním horním kvadrantu (ZHK) a to v 55 %. V mediálním dolním kvadrantu (MDK) se maligní nálezy objevily v pouhých 3 %. Zbývající 2 kvadranty mediální horní (MHK) i zevní dolní (ZDK) mají počty nálezů docela vyrovnané. V centrálním segmentu (C) nazývaném také subareolární oblast byly maligní léze zachyceny v 16 % (graf 2).

**Graf 3: Maligní nálezy v core – cut biopsiích v období 2016 - 2018**



**Maligní nálezy** diagnostikovali lékaři ve 46 % všech punkčních biopsií. Nejvýraznější zastoupení zaujal invazivní duktální karcinom (71,5 %). Na druhém místě byl invazivní karcinom lobulární (11 %). In situ léze duktální i lobulární se pohybovaly kolem 4 %. Zastoupení dalších karcinomů bylo již v minimálním procentu (*graf 3*).

**Graf 4: Benigní nálezy v core – cut biopsiích v období 2016 – 2018**



**Benigní nálezy** se v suspektních ložiscích mléčné žlázy objevovaly v 54 %. Nejčastěji se vyskytovala fibróza a fibrocystická nemoc (49 %), následoval fibroadenom (19 %) a adenóza (11%). Ostatní nálezy nebyly výrazněji zastoupeny. V 15 % stanovili lékaři fyziologický nálezy (*graf 4*).

## 8. DISKUSE

Celosvětově patří nádorová onemocnění mléčné žlázy k nejčastějším malignitám postihující ženy. Velký důraz je kladen na prevenci vedenou aktivním vyhledáváním časných stadií nemoci u ještě zcela asymptomatických žen. U mladších věkových skupin je k vyšetření nejčastěji používán ultrasonograf, po 40. roce věku je zobrazovací metodou první volby mamografie. Při nálezů jakéhokoliv suspektního ložiska, se pro potvrzení nebo vyvrácení podezření na karcinom, provede punkční core - cut biopsie mléčné žlázy cílená zobrazovacími metodami, nejčastěji ultrazvukem. Tato preanalytická fáze odběru je velice důležitým krokem ke stanovení správné diagnózy a je kladen důraz na vybavenost a erudovanost radiologického pracoviště. Mohou nastat chyby vedoucí k opakovanému odběru nebo chyby, které výrazně ovlivní nález a tím pacientce uškodí: lékaři se nepodaří odebrat vzorek přímo ze suspektního ložiska, tkáň není vložena do správné fixační tekutiny, dojde k záměně pacientek.

Následujícím krokem je zpracování tkáně v laboratořích patologie, které v posledních letech procházejí výraznými změnami souvisejícími s vyšším počtem vzorků, vyššími nároky na diagnostiku a širokou nabídkou navazujících vyšetření. Všechny tyto změny vedou k automatizaci provozu. Přesto se histopatologické zpracování tkáně od jiných laboratorních vyšetření odlišuje několika kroky manuálního zpracování, které nelze nahradit žádnou přístrojovou technikou. Je velmi důležité dodržet správný laboratorní postup a dbát na precizní provedení jednotlivých operací. Soubor provedených analýz vzorku nabídne patologovi indicie ke stanovení nálezu, který je důležitý pro diagnostiku onemocnění a rozhoduje o dalším průběhu terapie pacientek. I drobná chyba v analytické fázi např. nedostatečná délka fixace, nesprávně odvodněná a prosycená tkáň, nekvalitní či nekompletní tkáňové řezy nebo špatně nabarvené preparáty, může znesnadnit nebo přímo znemožnit stanovení správné diagnózy. V případě nově diagnostikovaného invazivního karcinomu je vždy nutné imunohistochemické stanovení prognostických a prediktivních kritérií - ER, PR a Her2/neu (*Společnost českých patológů, 2013*).

V letech 2016 - 2018 bylo z Novojičínského diagnostického centra s.r.o. na oddělení patologie laboratoří Agel a.s. zasláno 663 core - cut biopsií ze suspektních ložisek

mléčné žlázy. Nejvyšší počet odběrů (177) proběhl u žen věkové kategorie 40 - 49 let, o 100 biopsií více než u kategorie 30 - 39 let. Domníváme se, že k tomuto poměrně prudkému nárůstu provedených biopsií došlo zejména zásluhou bezplatného screeningového mamografického programu, který je určen ženám nad 45 let. Maligní a benigní nálezy byly v této kategorii v téměř rovnovážných poměrech. Z celkového počtu vyšetřovaných biopsií zaujímaly maligní diagnózy 54 %. Nejvyšší zastoupení zhoubných nádorů bylo stanoveno u žen 60 - 69 let. Tento věkový interval je uváděn jako typický věk pacientek s karcinomem prsu (*Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice, 2016*). Velice překvapivým bylo zjištění, že celých 27 % maligních diagnóz bylo stanoveno u žen v plně produktivním věku do 39 let, tzv. ne screeningových žen. Invazivní duktální karcinom byl diagnostikován v 72 %. Je velice důležité, v jakém klinickém stadiu se tento karcinom prsu diagnostikuje, protože velice často metastazuje již v poměrně časných stadiích, a také často recidivuje. U mladších žen se nezdálo, že se jedná o agresivnější formu nemoci. Z našich srovnávaných dostupných dat z punkčních biopsií vyplývá, že plošné screeningové vyšetření pomocí zobrazovacích technik je jednou ze zásadních metod včasného zachytu zhoubných nádorů prsu. A diagnostika včasného stadia karcinomu vede ke zvýšené šanci pacientky na přežití i na kvalitu dalšího života. 27 % maligních diagnóz ve věkové kategorii do 39 let je skutečně alarmujícím výsledkem, který poukazuje na důležitost preventivních vyšetření. Ženy by proto neměly čekat s prvním vyšetřením mléčné žlázy až do věku 45 let, kdy mamografii hradí pojišťovna.



## 9. ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo podrobně popsat odběr a zpracování punkčních válečků prsu pro histopatologické vyšetření. Práce obsahuje detailní proces odběru i zpracování biologického materiálu z pohledu histopatologické laborantky.

Dalším cílem bylo porovnat výsledky core - cut biopsií mléčné žlázy za tříleté období. Z dostupných dat vyplynulo, že 46 % nálezů je maligních a 54 % benigních a fyziologických. Mezi benigními nálezy byly nejčastěji zastoupeny fibróza a fibrocystické onemocnění a to až ve 49 %, dále se v benigních nálezech velmi často objevoval fibroadenom. Benigní nálezy se týkaly zejména žen mladších věkových skupin. S rostoucím věkem se poměr maligních a benigních nálezů vyrovnával a po 60. roce věku již převažovaly diagnózy maligní. Z celkového počtu 663 biopsií mléčné žlázy byl u 216 případů stanoven ductální karcinom, což představuje 72 % všech maligních nálezů a téměř jednu třetinu všech odběrů. Punkční válečky byly jen nepatrně častěji odebírány z levé mléčné žlázy, a taktéž maligní diagnóza byla v levém prsu stanovena jen o 6 % častěji než v prsu pravém. Nález maligního ložiska byl v 55 % lokalizován v zevním horním kvadrantu a nejméně často, jen ve 3 %, v mediálním dolním kvadrantu.

## 10. POUŽITÉ ZKRATKY

zkratka	význam zkratky	český význam
a	<i>Arteria</i>	tepna
aa	<i>Arteriola</i>	tepénka
AFIP	<i>Armed Forces Institute of Pathology</i>	Armádní patologický ústav
AX		axilární výběžek
BMI	<i>Body Mass Index</i>	index tělesné hmotnosti
BRCA	<i>Breast Cancer</i>	gen pro familiární karcinom prsu/vaječníku
C		centrální segment prsu
DCIS	<i>Ductal Carcinoma In Situ</i>	duktální karcinom in situ
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>	receptor epidermálníhorůstového faktoru
ER	<i>Estrogen Receptor</i>	estrogenový receptor
hCG	<i>Human Chorionic Gonadotropin</i>	humánní choriový gonadotropin
HE	<i>Haematoxylin and Eosin</i>	hematoxylin - eozin
HPF	<i>High Power Fields</i>	četnost v zorných polích
IDC	<i>Invasive Ductal Carcinoma</i>	invazivní duktální karcinom
IHC	<i>Immunohistochemistry</i>	imunohistochemie
ILC	<i>Invasive Lobular Carcinoma</i>	invazivní lobulární karcinom
LCIS	<i>Lobular Carcinoma In Situ</i>	lobulární karcinom in situ
MDK		mediální dolní kvadrant prsu
MG	<i>Mammography</i>	mamografie
MHK		mediální horní kvadrant prsu
NOS	<i>Not Otherwise Specified</i>	blíže nespecifikováno
PAS	<i>Periodic Acid Schiff</i>	reakce pro důkaz sacharidů

<b>PR</b>	<i>Progesterone Receptor</i>	progesteronový receptor
<b>TDLU</b>	<i>Terminal Ductal Lobular Unit</i>	terminální dukto – lobulární jednotka
<b>USG</b>	<i>Ultrasonography</i>	ultrasonografie
<b>WHO</b>	<i>World Health Orgazination</i>	Světová zdravotnická organizace
<b>ZDK</b>		zevní dolní kvadrant prsu
<b>ZHK</b>		zevní horní kvadrant prsu

## 11. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Grading duktálního karcinomu in situ (COUFAL, O., FAIT, V. a kol., 2011)... 18	18
Tabulka 2: Nottinghamská klasifikace (SKÁLOVÁ, A. a kol., 2012). .... 26	26
Tabulka 3: Grading karcinomu podle počtu bodů Nottinghamské klasifikace (SKÁLOVÁ, A. a kol., 2012). .... 27	27
Tabulka 4: Nálezy v core - cut biopsiích v letech 2016, 2017, 2018 ..... 42	42

## 12. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Stavba prsu a žlázového tělesa (ČIHÁK, R., 1988). .....	11
Obrázek 2: TDLU - terminální duktálně – lobulární jednotka (THOMAS P. A., 2011).....	13
Obrázek 3: Incidence a mortalita karcinomu prsu žen v ČR v letech 1977 - 2016 (Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice, 2016). .....	22
Obrázek 4: Karcinomy prsu žen v mezinárodním porovnání (Global Cancer Observatory: Cancer Today, 2018). .....	23
Obrázek 5: Klinická stadia zhoubného novotvaru prsu (dg. C50), ženy (Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice, 2016).....	29
Obrázek 6: Punkční válečky v bioptických kazetkách (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019). .....	32
Obrázek 7: Zalévání tkáně do parafínu (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).....	33
Obrázek 8: Zalévání tkáně do parafínu (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).....	34
Obrázek 9: Rotační mikrotom – zhotovení parafínových řezů (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).....	35
Obrázek 10: Estrogen receptor - jaderná pozitivita karcinomu prsu, zvětšení 20x (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019). .....	39
Obrázek 11: Ki67 - jaderná pozitivita karcinomu prsu, zvětšení 20x (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019).....	40
Obrázek 12: E - cadherin - membránová pozitivita karcinomu prsu, zvětšení 40x (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019). .....	40
Obrázek 13: Calponin - cytoplazmatická pozitivita karcinomu prsu, zvětšení 20x (foto autora, Laboratoře Agel a.s., Laboratoře patologie 2019). .....	41
Obrázek 14: Topografická lokalizace afekcí v prsu pomocí kvadrantů (COUFAL O., FAIT V., 2011). .....	43

## 13. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Četnost maligních a benigních nálezů dle věku žen v období 2016 - 2018 .....	42
Graf 2: Procentuální vyjádření lokalizace maligních lézí v kvadrantech prsu v období 2016 - 2018 .....	44
Graf 3: Maligní nálezy v core – cut biopsiích v období 2016 - 2018.....	45
Graf 4: Benigní nálezy v core – cut biopsiích v období 2016 – 2018 .....	46

## 14. POUŽITÁ LITERATURA

Cancer Prevention Recommendations. *World Cancer Research Fund International* [online]. Londýn, 2018 [cit. 2019-01-13]. Dostupné z:

<https://www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-prevention-recommendations>

COUFAL O., FAIT V.: *Chirurgická léčba karcinomu prsu*. Praha: Grada, 2011, 414 s. ISBN 978-80-247-3641-9, s. 20 - 24, 45 - 49, 63 - 68, 337 - 338.

ČIHÁK R.: *Anatomie 3*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2016, 832 s. ISBN 978-80-247-5636-3, s. 571 - 574.

DUŠEK L., MUŽÍK J., KUBÁSEK M., KOPTÍKOVÁ J., ŽALOUDEK J., VYZULA R.: Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, Brno 2007 [cit. 2019-03-31]. Dostupný z WWW: <http://www.svod.cz>. ISSN 1802-8861.

DVOŘÁK K., LUKÁŠ Z., DVOŘÁKOVÁ Z., et al.: *Základy histopatologických vyšetřovacích metod*. Verze 0,61. Brno: Masarykova univerzita, 2008, 117 s., s. 78 - 79, 85.

FITZGIBBONS, P. L., PAGE D. L., WEAVER D., et al. : Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* [online]. 2000, 2000 July, (volume 124) [cit. 2019-03-11]. DOI: 10.1043/0003-9985 (2000) 124< 0966 : PFIBC > 2.0.CO ; 2. ISSN 1543-2165.

*Global Cancer Observatory: Cancer Today* [online]. Lyon, Francie: International Agency for Research on Cancer, 2018 [cit. 2019-02-06]. Dostupné z: <https://gco.iarc.fr/today>

JUNQUEIRA L., CARNEIRO J., O KELLEY R.: *Základy histologie*. 7.vyd. Jinočany: H&H, 1997, 502 s. ISBN 80-857-8737-7, s. 439 - 441.

LAKHANI S. R. et al.: ed. *WHO Classification of Tumours of the Breast*. 4. th. Lyon: IARC, 2012, 240 s. ISBN 978-92-832-2433-4.

MAČÁK J., MAČÁKOVÁ J., DVOŘÁČKOVÁ J.: *Patologie*. 2., dopl. vyd. Praha: Grada, 2012, 347 s. ISBN 978-80-247-3530-6, s. 126 - 127.

MERKUNOVÁ A., OREL M.: *Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory*. Praha: Grada, 2008. Psyché (Grada). ISBN 978-80-247-1521-6, s. 186 - 187.

Národní onkologický registr (NOR). *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR* [online]. Praha, 2019 [cit. 2019-02-10]. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/registry-nzis/nor>

NENUTIL R., RYŠKA A.: Doporučený postup pro zpracování a vyšetření bioptických vzorků prsu. In: *Společnost českých patologů* [online]. 2013, s. 8 [cit. 2019-03-31]. Dostupné z: <http://www.patologie.info/standardy/24>

Novotvary 2016. In: *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR* [online]. Praha, 2017 [cit. 2018-10-26]. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/publikace/novotvary-2016>

PETRÁKOVÁ K.: Lobulární karcinom prsu. In: 2016 XL. Brněnské onkologické dny a XXX. Konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky [online]. 25. 4. 2016 [cit. 2018-11-04]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/kongresy/po-kongresu/databaze-tuzemskych-onkologickych-konferencnich-abstrakt/lobularni-karcinom-prsu/>

PLEVOVÁ P., NOVOTNÝ J., PETRÁKOVÁ K., et al.: Syndrom hereditárního karcinomu prsu a ovarií. *Klinická Onkologie* [online]. Brno: Medica Healthworld, a. s, 2009, **22**(supplement), s. 8-11 [cit. 2019-02-10]. ISSN 1802-5307.

POVÝŠIL C., ŠTEINER I.: *Speciální patologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2007. ISBN 978-80-7262-494-2, s. 276 - 283.

SKÁLOVÁ A., et al.: Klasifikace nádorů prsu. *Nádory prsu* [online]. Plzeň, 2003 [cit. 2018-11-04]. Dostupné z: <http://www.mamma.cz/klasifikace/who-01.html>

SKÁLOVÁ A., FÍNEK J.: Prognostické a prediktivní faktory v diagnóze invazivního karcinomu prsu. In: *XIII. Jihočeské onkologické dny* [online]. 2006, 20. 10. 2006 [cit. 2019-03-11]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/kongresy/po-kongresu/databaze-tuzemskych-onkologickych-konferencnich-abstrakt/prognosticke-a-prediktivni-faktory-v-diagnoze-invazivniho-karcinomu-prsu/>



SKOVAJSOVÁ M.: Rakovina prsu: preventivní samovyšetření prsu. *Mamo.cz* [online]. Praha, 2018 [cit. 2019-02-07]. Dostupné z: <http://www.mamo.cz/index.php?pg=pro-verejnost--rakovina-prsu--samovysetreni-prsu>

SOKOL L. A.: *Biopsia mammy I + II*. HIS - Dg, 2000, 378 s. ISBN 80-968387-0-9, s. 153 - 169.

STŘÍTECKÁ D., JEŘÁBKOVÁ L.: *Základní imunohistochemické metody*. 1. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotních oborů, 2018, 108 s. ISBN 978-80-7013-595-2, s. 9 - 15, 44, 52, 54, 62, 69, 70.

TNM Klasifikace zhoubných novotvarů, 7. vydání (originál 2011). In: *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR* [online]. Praha, 2011 [cit. 2019-03-11]. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/publikace/tnm-klasifikace-zhoubnych-novotvaru-7-vydani-original-2011>

VACEK Z.: *Histologie a histologická technika*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1995, 184 s. ISBN 80-701-3202-7, s. 34 - 37, 68, 127 - 128.

## **Příloha 1: Klasifikační systém podle WHO**

### **Invazivní karcinom prsu**

Invazivní duktální karcinom NOS (not otherwise specified)

Invazivní lobulární karcinom

Tubulární karcinom

Invazivní kribriformní karcinom

Medulární karcinom

Mucin produkující karcinomy

Neuroendokrinní karcinomy

Invazivní papilární karcinom

Invazivní mikropapilární karcinom

Apokrinní karcinom

Metaplastický karcinom

Karcinom bohatý na lipidy

Sekretorický karcinom

Onkocytický karcinom

Adenoidně cystický karcinom

Acinický karcinom

Na glykogen bohatý světlobuněčný karcinom

Sebaceozní karcinom

Inflamatorní karcinom

Bilaterální karcinom prsu

### **Prekurzorové léze**

Lobulární neoplazie

Intraduktální proliferativní léze

Mikroinvazivní karcinom

Intraduktální papilární neoplazie

### **Ostatní**

Benigní epiteliální léze

Myoepiteliální léze

Mesenchymální nádory

Fibroepiteliální nádory

Tumory prsní bradavky

Maligní lymfom a metastatické nádory

Nádory mužského prsu