

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Plzni
Chirurgická klinika



MUDr. Monika Černá

STANOVENÍ PERIOPERAČNÍCH PROGNOSTICKÝCH FAKTORŮ KARCINOMU MLÉČNÉ ŽLÁZY

Obor: chirurgie

Autoreferát disertační práce

Plzeň 2012

Disertační práce byla vypracována v rámci postgraduálního doktorandského studia na Chirurgické klinice FN a LF UK v Plzni.

Uchazeč: MUDr. Monika Černá
Chirurgická klinika FN a LF v Plzni
Alej Svobody 80
304 60 Plzeň

Školitel: Prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.
Chirurgická klinika FN a LF v Plzni

Oponenti: MUDr. Jiří Gatěk, PhD.
Přednosta Chirurgického oddělení
Nemocnice Atlas Zlín, a.s.

MUDr. Pavel Jandík, PhD.
Vedoucí lékař Komplexního onkologického centra
Fakultní nemocnice Hradec Králové

Doc. MUDr. Jiří Šiller, PhD.
Přednosta Chirurgické kliniky
Pardubická krajská nemocnice, a.s.

Stanovisko k dizertační práci vypracovalo vedení Chirurgické kliniky LF UK a FN v Plzni.

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba disertační práce před komisí pro obhajobu disertačních prací v oboru chirurgie se koná dne:.....

Místo obhajoby: Chirurgická klinika FN, Aula, Alej Svobody 80, Plzeň

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátě Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Husova 3, Plzeň.

Prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.
předseda komise pro obhajobu disertačních prací
doktorského studijního programu chirurgie

Obsah

1.	Poděkování.....	- 4 -
2.	Seznam použitých zkratk.....	- 4 -
3.	Přehled současné problematiky karcinomu prsu	- 6 -
4.	Teoretické znalosti vybraných nádorových markerů a růstových faktorů.....	- 9 -
4.1	Nádorové markery.....	- 9 -
4.2	Růstové faktory	- 10 -
5.	Cíle dizertační práce.....	- 13 -
6.	Metodiky	- 14 -
6.1	Metodika laboratorního zpracování.....	- 14 -
6.2	Metodika histologického zpracování.....	- 15 -
6.3	Metodika statistického zhodnocení, užití analýzy	- 16 -
7.	Výsledky	- 16 -
8.	Diskuze.....	- 25 -
9.	Význam vědecké práce pro klinickou praxi	- 30 -
10.	Závěry	- 31 -
11.	Citovaná literatura.....	- 32 -
12.	Publikační a prezentační činnost autora	- 38 -
13.	Summary	- 39 -

1. Poděkování

Ráda bych poděkovala všem osobám, kteří přispěli ke vzniku dizertační práce. Jmenovitě a zejména svému školiteli prof. MUDr. Vladislavovi Třeškovi, DrSc. za poskytnutí zajímavého tématu k vědecké práci, systematické odborné vedení, poskytnutí svých znalostí i praktických zkušeností v průběhu celého studia a podnětných připomínek při vypracování dizertační práce. Velké poděkování zasluhuje celý kolektiv lékařských i nelékařských pracovníků bioptické laboratoře Šiklova patologicko-anatomického ústavu FN v Plzni pod vedením prof. MUDr. Ondřeje Hese, Ph.D a Oddělení imunoanalýzy FN v Plzni pod vedením prof. MUDr. Ondřeje Topolčana, CSc. Další poděkování zasluhuje celá mammologická skupina Chirurgické kliniky FN v Plzni, která se podílela na sběru klinických dat, operativě a dispenzární péči o nemocné, sesterskému kolektivu Chirurgické kliniky, který zajišťoval odběr biologického materiálu. Za pomoc při statistickým zpracování náleží zvláštní poděkování ing. Stanislavovi Kormundovi. V neposlední řadě bych ráda poděkovala i své rodině a přátelům, zejména za jejich trpělivost a psychickou podporu.

2. Seznam použitých zkratk

BMI	body mass index
CA 15-3	specifický marker karcinomu prsu
CEA	karcinoembryonální antigen
CT	počítačová tomografie
DFI	disease free interval (bezpříznakový interval přežití)
EGF	epidermal growth factor = epidermální růstový faktor
EGFR	skupina receptorů pro epidermální růstový faktor
ER	estrogenový receptor(y)
FGF	fibroblast growth factor = fibroblastový růstový faktor
FISH	fluorescenční in situ hybridizace
GF	growth factor(s) = růstový faktor(y)

HATK	hormonální antikoncepce
HGF	hepatocyte growth factor = hepatocytární růstový faktor
HIF	hypoxia inducible factor
IDCa	invazivní ductální karcinom
IGF-1	insulin-like growth factor = inzulínu podobný růstový faktor
IGFBP-3	insulin-like growth factor binding protein 3 = vazebný protein IGF
ILCa	invazivní lobulární karcinom
IRMA	imunoradiometrická analýza
MIB1	mitotická aktivita
mTOR	mammalian target of rapamycin
NM	nádorový marker(y)
OA	osobní anamnéza
OS	overall survival (celkové přežití)
PARP	poly ADP-ribose polymerase
PET/CT	fúze výsledků pozitronové emisní tomografie a počítačové tomografie
PR	progesteronový receptor(y)
RA	rodinná anamnéza
RF	růstový faktor(y)
RTG	rentgen
TGF	transforming growth factor = transformující růstový faktor
TK	thymidinkináza
TM	tumor marker(s) = nádorový marker(y)
TNM	mezinárodní klasifikace zhoubných novotvarů
TPA	tkáňový polypeptidový antigen
USG	ultrasonografie
VEGF	vascular endothelial growth factor = vaskulární endoteliální růstový faktor
VEGFR	receptor pro vaskulární endoteliální faktor

3. Přehled současné problematiky karcinomu prsu

Karcinom prsu zůstává stále nejčastějším maligním onemocněním žen s pomalu narůstající incidencí. Prudký nárůst byl zaznamenán zejména po roce 2003 v souvislosti se zavedením plošného mammárního screeningu. V roce 2005 dosáhl počet nově diagnostikovaných nádorů prsu u žen počtu 5533, v roce 2009 počtu 5975, což představuje v přepočtu 111,9 nádorů na 100 tisíc žen. V současné době karcinom prsu představuje $\frac{1}{4}$ všech maligních novotvarů u žen, postihuje asi 6% ženské populace a přestože je jeho léčba zejména v raných stádiích velmi úspěšná, představuje pro ženy nejčastější onkologickou příčinu úmrtí [1,75]. Česká republika zaujímá ve srovnání s ostatními zeměmi světa 23. místo v počtu nově diagnostikovaných nádorů na 100 tis. žen, ve srovnání s evropskými zeměmi pak 17. místo. Incidence nádorů prudce stoupá do 40. roku věku, maximální výskyt tohoto onemocnění je kolem 65. roku ženy. Na straně druhé se právě díky mammárnímu screeningu, moderním diagnostickým metodám, komplexní a cílené onkologické léčbě v posledních 10 letech podařilo výrazně snížit mortalitu [2].

Moderní diagnostické možnosti dovolují nejen časnou diagnostiku primární nádorové léze, přesné určení její biologické povahy před zahájením léčby, ale taktéž mají klíčovou roli v časné diagnostice lokálních i regionálních recidiv včetně diagnostiky metastatických ložisek ve vzdálených orgánech.

V diagnostice kromě mamografie má své opodstatnění i sonografické vyšetření, zejména u mladých žen a u žen s denzním žlázatým tělesem. Ve správně indikovaných případech velmi dobře doplňuje mamografické vyšetření a zvyšuje její senzitivitu o 3-5% [3]. Obě vyšetřovací metody mají své místo rovněž na poli diagnostickém, pod jejichž kontrolou lze provést miniinvasivní technikou odběr tkáně z podezřelé léze k histologické verifikaci. Standardní metodikou je core-cut biopsie, v případě nálezu mikrokalcifikací se provádí odběr vakuovou bipsií (mamotom) [4,5]. Z dalších doplňkových vyšetřovacích metod mají své místo v mammární diagnostice magnetická rezonance, duktografie a metody využívající odlišných fyzikálních vlastností nádorové tkáně od zdravé mléčné žlázy (elastografie, termografie, CT laserová tomografie, elektroimpedanční mamografie). Po histologické verifikaci jsou nezbytná tzv. stagingová vyšetření zaměřená na vyloučení vzdálených metastáz v predilekčních parenchymatózních orgánech a kostech (rtg plic, USG jater, scintigrafie kostí). Uvedené vyšetřovací metody jsou zaměřeny na diagnostiku zhoubných onemocnění prsu v časných stádiích, pooperačně na včasnou diagnostiku lokálních, regionálních recidiv i vzdálených metastáz.

V rámci follow up a terciální prevence má své místo i PET CT, zejména při hodnocení odpovědi na onkologickou léčbu u diseminovaného nádorového onemocnění stejně jako vyšetření nádorových markerů, které nelze využít v primární ani diferenciální diagnostice, nicméně může pomoci odhalit progredující nádorové onemocnění.

Etiologie karcinomu prsu stejně jako u zhoubných nádorů jiných orgánů není známá, přesto existují rizikové faktory, o nichž je prokázáno, že zvyšují relativní riziko rakoviny prsu. Jsou to především pozitivní rodinná anamnéza, výskyt karcinomu prsu v předchorobí, délka menoaktivního období (menarche-klimakterium), nulliparita, dlouhodobé užívání estrogenů, ozařování hrudníku v mladém věku, proliferující mastopatie (hyperplazie a buněčné atypie, mikrokalcifikace), demografické faktory, strava bohatá na tuky a sní související obezita, zvýšená konzumace alkoholu, kouření.

Z patogeneze nádorového onemocnění vyplývá, že klíčovou roli maligní transformace zdravé buňky v buňku nádorovou hrají růstové faktory (RF), stejně jako v řízení proliferačních, diferenciacních a apoptotických pochodů. RF se fyziologicky uplatňují již v době ontogeneze, kdy jsou zodpovědné za růst, proliferaci a diferenciaci buněk, účastní se signalizace mezi buňkami, stejně tak v dospělosti se uplatňují v regeneračních a reparačních procesech. Svou biologickou funkci uplatňují prostřednictvím více či méně specifických membránových receptorů, po jejichž navázání dochází k fosforylaci cytoplasmatické domény příslušného receptoru a aktivaci intracelulární kaskády dějů stimulující transkripci a proliferaci. Citlivost buňky k RF je dána jednak jeho sérovou koncentrací, na druhé straně počtem příslušných receptorů, prostřednictvím nichž daný RF působí. Tento poznatek je dobře patrný v patologických, resp. nádorových onemocnění, jenž jsou charakterizovány zvýšenou proliferační aktivitou, alterovanou diferenciacní aktivitou a sníženou apoptózou. RF jsou tedy zodpovědné nejen za lokální progresi a zvětšování objemu primárního nádorového ložiska, ale rovněž za migraci nádorových buněk z primárního tumoru. V procesu kancerogeneze se uplatňují nejen RF, ale rovněž další produkty onkogenů, které jsou zodpovědné za signalizaci mezi buňkami. Právě v procesu metastazování je patrné, že v důsledku poruchy funkce proteinových produktů onkogenů dochází ke zvýšené migraci nádorových buněk a zakládání metastáz ve vzdálených orgánech. S procesem růstu nádoru a metastazování souvisí novotvorba cév podmíněná specifickými RF produkovanými vlastními nádorovými i mezenchymálními buňkami, která je pro progresi nádorových i metastatických ložisek klíčová [6].

Charakteristických vlastností RF a jejich uplatnění v patogenezi nádorového onemocnění je využíváno nejen na poli diagnostickém, ale i terapeutickém. Na podkladě dosavadních znalostí je snahou stále cílenější léčba ovlivňující alterované biologické pochody na molekulární úrovni.

Pod pojmem progresi nádorového onemocnění rozumíme na jedné straně lokální či regionální recidivu, na druhé straně zakládání vzdálených metastáz. Lokální recidiva znamená znovuobjevení nádorového onemocnění ve stejnostranné pectorální oblasti v místě uložení původního nádoru, zatímco za regionální recidivu je považován opětovný výskyt nádoru v oblasti stejnostranných regionálních mízních

uzlin. Četnost lokálních recidiv během 10 let po operaci dosahuje dle literárních údajů 2-9% po mastektomii a 4-20% po prs šetřícím chirurgickém výkonu s radioterapií. Po prs šetřících operacích převažují lokální recidivy v operovaném prsu, zatímco po totální mastektomii jsou častější recidivy v oblasti regionálních mízních uzlin (regionální recidivy). Při adekvátní léčbě je akceptovatelné 1% lokálních recidiv ročně [7,8,9]. Prediktory vzniku lokální recidivy se částečně rozcházejí podle rozsahu chirurgického výkonu. V případě parciální mastektomie představuje hlavní rizikový faktor vzniku lokální recidivy těsný, resp. pozitivní resekční okraj, rozsah (multicentricita, přítomnosti složky DCIS) a biologické vlastnosti vlastního nádoru [10]. Po totální mastektomii je náhled na vznik lokální recidivy odlišný, neboť vlastní operací je naprostá většina mammárního parenchymu odstraněna a za hlavní příčinu vzniku recidivy se považuje pozdější proliferace nádorových buněk v lymfatických cévách kůže a hrudní stěny. Proto nejsilnějším prediktorem rizika po mastektomii je stupeň postižení lymfatických uzlin [11]. Z dalších faktorů se uplatňují velikosti nádoru, postižení kůže a hrudní stěny, šíře resekčního okraje a biologické vlastnosti tumoru [7,8,9,12]. Regionální recidivy nejsou v praxi příliš časté. Teoreticky mohou vzniknout rozšířením nádorových buněk z ložiska lokální recidivy do lymfatických uzlin nebo jde o klinickou manifestaci původně postižených uzlin při nedostatečné léčbě. Prakticky se na vzniku regionálních recidiv může podílet falešná negativita sentinelové biopsie, nedostatečná disekce axily z ponechaných pozitivní uzlin nebo relaps v uzlinách mimo rozsah standardní disekce [8,12,13].

Karcinom prsu metastazuje nejčastěji do kostí, plic, jater a mozku [14]. Nález synchronních metastáz je vzácný (do 5%), u většiny nemocných se rozvinou až s odstupem (metachronní metastázy). Pro diseminované onemocnění je vymezeno klinické stádium IV, obecně považováno za nevyléčitelné, odkázané na paliativní systémovou léčbu. Medián přežití se udává kolem 2 let, ale v případě izolovaného kostního postižení může být onemocnění dlouhodobě stabilní, na druhé straně v případě mozkových či viscerálních metastáz je prognóza horší [8]. Stále neexistují jednotná a ucelená indikační kritéria k řešení vzdálených metastáz. Dle dosavadních zkušeností v individuálních případech lze zvažovat chirurgický resekční výkon v případě solitárních a radikálně resekovatelných metastáz [15]. Pro správné rozhodnutí je vždy nezbytné individuální posouzení poměru rizika a potenciálního prospěchu operace [16]. V současné době je prokazatelné signifikantní prodloužení celkového přežití u nemocných po resekci orgánových metastáz ve správně indikovaných případech [14,17].

K hodnocení výsledků léčby karcinomu prsu se používá vyhodnocení doby bez příznaků nemoci (disease free interval – DFI), doby celkového přežití (disease free survival - DFS) a přežití v 5letém a 10letém intervalu.

Mezi základní prognostické faktory vlastního nádoru jsou řazeny stádium nádorového onemocnění v době stanovení diagnózy určené dle TNM klasifikace vyhodnocením velikosti nádoru, postižení regionálních lymfatických uzlin a

přítomnosti vzdálených metastáz [18], grading, mitotická aktivita, histologický typ, přítomnost hormonálních receptorů estrogenových a progesteronových a overexprese membránového proteinu HER-2 neu.

4. Teoretické znalosti vybraných nádorových markerů a růstových faktorů

4.1 Nádorové markery

Nádorové markery jsou látky, které vznikají v souvislosti se změněným metabolismem nádorově transformované buňky, a proto jejich hladiny v přítomnosti malignity výrazně stoupají. Lze je prokázat přímo v nádorové tkáni (celulární markery) nebo v tělních tekutinách (humorální nádorové markery).

V případě diagnózy karcinomu prsu má význam sledování dynamiky kombinace čtyř nádorových markerů. Jako hlavní nádorový marker stanovujeme specifický marker karcinomu prsu (CA 15-3), vedlejším markerem je karcinoembryonální antigen (CEA) a jako doplňkové thymidinkináza (TK) a tkáňový polypeptidický antigen (TPA). Nově byl mezi vyšetřované nádorové markery v rámci našeho výzkumu zařazen MonoTotal.

Specifický marker karcinomu prsu (CA 15-3)

Je povrchním antigenem žlazových buněk ve vývodech mléčné žlázy. Zvýšené hladiny nalézáme kromě karcinomu prsu i u nemocných s bronchogenním karcinomem, karcinomem žaludku, jater, pankreatu, ovarií, endometria a dělohy.

K elevaci dochází i u benigních onemocnění prsu, benigních onemocnění gastrointestinálního traktu, jaterní cirhózy, hemodialyzovaných pacientů s chronickou renální insuficiencí, u HIV infekce, onemocnění dýchacího systému (chronické bronchitidě, bronchopneumonii, tuberkulóze), u akutní i chronické hepatitidy, revmatických onemocnění a fyziologicky v těhotenství.

CA 15-3 je hlavní nádorový marker, který se používá k monitoraci nemocných s karcinomem prsu.

Karcinoembryonální antigen (CEA)

Patří do skupiny onkofetálních antigenů. U dospělých je produkován ve stopovém množství epiteliálními buňkami bronchů, mléčné žlázy a gastrointestinálního traktu. Z maligních onemocnění způsobují zvýšení hladiny zejména malignity v oblasti gastrointestinálního traktu (karcinom tračníku, rekta, žaludku), karcinom plic, prsu, vaječníků, dělohy a prostaty. Nespecificky bývá zvýšen u kuřáků, při chronickém onemocnění ledvin, jater, u chronické pankreatitidy, nespecifických střevních zánětech, onemocnění plic (chronická bronchitida, tuberkulóza, bronchopneumie), u

autoimunitních onemocnění, v tekutině cyst mléčné žlázy a vaječníků, v kloubní tekutině u revmatoidní artritidy.

Praktické využití má zejména v onkologii trávicího ústrojí ke sledování léčby a stanovení prognózy u karcinomu tračniku, rekta, žaludku. U karcinomu prsu je využíván ke kontrole léčby společně s CA 15-3 a proliferáčními markery [19].

Thymidinkináza (TK)

U zdravého jedince se séru nacházejí pouze velice nízké koncentrace, vyšší hodnoty se vyskytují u neoplastických onemocnění, virových infekcí, zánětlivých onemocnění plic a GIT a revmatických onemocnění.

U karcinomu prsu stejně jako u jiných malignit slouží jako doplňkový marker odrážející stupeň proliferace a poskytuje informace o agresivitě nádorového procesu.

Tkáňový polypeptidický antigen (TPA)

Tkáňový polypeptidický antigen představuje fragmenty cytokeratinových intermediárních filament, které jsou uvolňovány do tělních tekutin během proliferace nádorových buněk či během buněčné nekrózy. Proto bývá označován jako proliferáční nádorový marker. U zdravých dospělých ho lze zjistit v epiteliiální výstelce vývodů mléčné žlázy, močového měchýře, plicích a v orgánech trávicího traktu. Nespecificky může být zvýšen při některých onemocnění jater (cirhóza, hepatitida) a infekčních onemocnění. TPA je typickým nespecifickým nádorovým markerem, který je schopen poukázat na maligní růst v různých orgánech. Jeho klinické využití spočívá v monitoraci maligního onemocnění, včetně karcinomu prsu.

MonoTotal

MonoTotal je polypeptid ze solubilních fragmentů cytokeratinů, velmi nespecifický nádorový marker, který odráží intenzitu aktivity nádorových buněk a jeví se jako užitečný ukazatel časného záchytu recidivy a ukazatel prognózy [20]. MonoTotal je nádorovým markerem vhodným především pro monitorování a hodnocení účinnosti terapie malobuněčného karcinomu plic [21,22]. Nespecificky může být zvýšen při některých onemocněních jater (cirhóza, hepatitida), rovněž tak u infekčních onemocnění.

4.2 Růstové faktory

Růstové faktory (RF) jsou specifické látky zejména bílkovinné povahy stimulující buněčnou proliferaci, růst a migraci buněk. Zpravidla se účastní i signalizace mezi buňkami. Fyziologicky se uplatňují jak v průběhu ontogeneze, tak v dospělosti při reparaci a regeneraci poškozených tkání.

EGF = epidermal growth factor = epidermální růstový faktor

Jeho hlavní úloha je stimulace buněčného růstu, proliferace a diferenciaci. Působí prostřednictvím EGFR (epidermal growth factor receptor), což je transmembránový receptor s tyrosinkinázovou intracelulární doménou, jenž je exprimován na povrchu zdravých i nádorových epiteliálních buněk. Vazba na receptor vede ke zvýšení intracelulární koncentrace kalia, glykolýze a proteosyntéze [23]. Výsledkem je stimulace genové exprese, jejímž produktem je EGFR a tudíž autokrinní zvýšení vnímavosti buňky k EGF [24].

Stimulace EGFR vede k podpoře nejen růstové aktivity buňky, ale taktéž k podpoře angiogeneze a migrace buněk, která je podkladem pro vznik vzdálených metastáz [25].

Ve zdravé tkáni výše popsaný proces podléhá přísné kontrole a ztráta regulace v důsledku overexprese EGFR na pokladě genové amplifikace vede k rozvoji, resp. progresi nádorového onemocnění.

VEGF = vascular endothelial growth factor = vaskulární endoteliální růstový faktor

VEGF je důležitým proteinem pro vaskulogenezi, jehož cílovými buňkami jsou endotelie. VEGF stimuluje buněčnou mitózu a migraci buněk, zvyšuje permeabilitu cév a má vazodilatační účinek [26].

VEGF je skupina proteinů tvořena podtypy A, C, D působící prostřednictvím receptorů VEGFR 1-3. Zatímco VEGF-A stimuluje angiogenezi, subtypy C a D stimuluje spíše lymfangiogenezi [27,28,29]. Účinným stimulem syntézy VEGF je hypoxia inducible factor (HIF) – transkripční faktor, který je produkován buňkami z nedostatku kyslíku [30].

HGF = hepatocyte growth factor = hepatocytární růstový faktor

HGF je produkován jako inaktivní prekurzor proHGF, je proteolyticky štěpen za vzniku biologicky aktivního HGF. Cílovými buňkami jsou epitelové a endotelové buňky, hepatocyty. V případě mléčné žlázy syntézu zajišťují stromální buňky a cílovými buňkami jsou epitelie ductů, které jsou jejím prostřednictvím stimulovány k růstu a proliferaci.

HGF působí prostřednictvím tyrosinkinázového receptoru Met-R [31,32,33], jehož stimulací se spouští signální dráha podporující růst nádoru, novotvoření cév a migraci nádorových buněk. Jeho exprese je stimulována HIF (hypoxia inducible factor) produkováného hypoxickými buňkami, čímž je zajištěna zvýšená senzitivita cílové buňky k HGF a zároveň zvýšena produkce VEGF [30]. Mezi další účinky HGF patří inhibice apoptózy, zvyšování přežívání buněk a stimulace syntézy proteáz vedoucí k disociaci buněk, jejich migraci a podpoře metastatického procesu [34,35].

IGF = insulin-like growth factor = inzulínu podobný růstový faktor

Primárně je produkován v játrech jako endokrinní hormon, jehož sekrece je stimulována růstovým hormonem. Existují 2 subtypy – IGF-1 a IGF-2, jejichž cílovými buňkami jsou všechny buňky a působí prostřednictvím specifické skupiny receptorů IGFBR 1-6 a nespecifických inzulínových receptorů. Až 95% IGF je vázáno na vazebné proteiny (binding proteins – BP), 80% z nich na IGFBP-3. Svou vazbou na receptor stimuluje syntézu DNA, proliferaci a inhibuje apoptózu [36,37,38].

V případě karcinomu prsu je IGF-1 produkován stromálními, nikoliv nádorovými buňkami, dostává se do krevního oběhu a stimulace růstu nádorových buněk je zajištěna para- a endokrinně [39]. IGF-2 produkují stromální i nádorové buňky, jeho účinek je tedy para – i autokrinní. Hlavní mitogenní efekt je zajištěn vazbou na IGF1R a inzulínové receptory [40,41].

Leptin

Leptin je peptidový hormon syntetizován především tukovou tkání a jeho hladina je přímo úměrná množství tělesného tuku jedince. Klíčovou roli hraje v regulaci příjmu a výdeje energie, snižuje chuť k jídlu a zvyšuje metabolismus. Kromě bílé tukové tkáně je produkován též hnědou tukovou tkání, epitelovými buňkami mléčné žlázy, slizničními žlázkami žaludku, oocyty, kosterními svaly, hypotalamem, hypofýzou a ve fetálním období placentou.

Leptin jako růstový faktor funguje jako aktivátor transkripce, stimuluje buněčnou proliferaci, migraci buněk, syntézu ostatních růstových faktorů a inhibuje apoptózu [40,42].

Působí prostřednictvím 6 receptorů ObRa-ObRf. Pouze přes receptor ObRb aktivuje intracelulární buněčné signály a navozuje cestou hypotalamu pocit sytosti a informuje CNS o dostatku přijaté energie [43]. U obezních nemocných je tento zpětnovazebný mechanismus narušen v důsledku rezistence na hyperleptinémii [44]. Z toho důvodu je obezita považována za rizikový faktor karcinomu prsu [45,46].

TGF = transforming growth factors = transformující růstové faktory

TGF zahrnuje skupinu polypeptidových cytokinů, které jsou odlišné geneticky i strukturálně a působí prostřednictvím odlišných receptorů. TGF lze rozdělit na 2 podskupiny – *TGF α* a *TGF β* .

TGF α indukují vývoj epitelových buněk, je produkován mikrořágy, keratinocyty. Svou strukturou je podobný EGR, proto působí prostřednictvím jeho receptoru (EGFR) se stejným efektem. *TGF α* je produkován taktéž nádorovými buňkami a vazbou na EGFR autokrinně stimulují jejich růst a proliferaci [47].

TGF β fyziologicky hraje důležitou roli v regeneraci buněk, buněčné diferenciaci a regulaci imunitního systému. *TGF β* je produkován prakticky všemi buňkami lidského těla a mezi jeho hlavní funkce patří: inhibice proliferace, imunosuprese, podpora diferenciaci, regulace embryonálního vývoje, podpora regenerace (uplatňuje

se v procesu hojení ran) a indukce apoptózy [48]. Jeho biologická podstata tedy spočívá v antikancerogenním působení [47,49]. Mutace TGF β či jeho signální dráhy způsobí nekontrolovatelnou proliferaci nádorových buněk, změna složení extracelulární matrix mění adhezivní vlastnosti a zvyšuje migraci buněk, imunosupresivní účinek podporuje růst tumoru [50,51,52,53].

5. Cíle dizertační práce

Náplní naší práce bylo sledovat hladiny vybraných růstových faktorů předoperačně a změny jejich koncentrací po operačním odstranění nádoru. Získané výsledky jsme korelovali s běžně používanými prognostickými faktory vlastního tumoru - histopatologický typ nádoru, hormonální dependence, grading, exprese HER2-neu, velikostí tumoru, přítomnosti/nepřítomnosti metastatického postižení axilárních mízních uzlin a známými rizikovými faktory - věk v době diagnózy, genetická zátěž, hormonální faktory (délka menoaktivního období, hormonální substituční léčba, hormonální antikoncepce), nulliparita, věk 1. porodu, druhostranný karcinom, jiné malignity v osobní anamnéze a body mass index (BMI) [42].

Dispenzární péče spočívala v pravidelných kontrolách nemocných s cílem časného záchytu lokoregionální recidivy či generalizace.

Jednotlivé cíle:

- I. Posouzení vztahu jednotlivých růstových faktorů (RF) a nádorových markerů (NM) ke stádiu nádorového onemocnění v době stanovení diagnózy a jejich dynamiky po operačním odstranění nádoru
- II. Posouzení vztahu předoperačních a časných pooperačních hodnot definovaných RF a NM k celkovému přežití a přežití bez nádorové recidivy
- III. Definování rizikové skupiny pacientek stran časné generalizace a lokální recidivy v korelaci s anamnestickými rizikovými faktory a nepříznivými prognostickými vlastnostmi nádoru
- IV. Aplikace závěrů vědecké práce do klinické praxe, metody zlepšení follow up a prodloužení disease free intervalu (DFI) a dlouhodobého přežití (OS), možnosti uplatnění neoadjuvantní systémové léčby

6. Metodiky

Jedná se o prospektivní nerandomizovanou studii. Do studie byly zařazeny pacientky s primárně chirurgicky léčeným karcinomem mléčné žlázy. Pacientky byly rozděleny do 2 základních skupin, nemocné s maligním onemocněním dále do 3 podskupin.

1. skupinu tvořily nemocné s maligním onemocněním prsu (N=98) a 2. skupina byla kontrolní, pacientky operované pro benigní lézi (N=25).

1. podskupina – G1 – klinické stádium I - tvořena souborem 54 nemocných,

2. podskupina – G2 – klinické stádium IIa - tvořena souborem 25 nemocných a

3. podskupina – G3 – zahrnující klinické stádium IIb a III - tvořena počtem 19 nemocných.

Toto rozdělení respektuje TNM klasifikaci a zároveň bylo stanoveno s ohledem na rozdílnou prognózu časných karcinomů bez postižení regionálních mízních uzlin, časných karcinomů s postižením mízních uzlin a lokálně pokročilejších karcinomů.

Ve 2. skupině - kontrolní skupině – K- jsou zahrnuty pacientky operované pro benigní léze prsu (N=25).

V obou základních skupinách byly odebírány 2 vzorky krve, jeden srážlivé a jeden nesrážlivé krve. Odběry krve byly realizovány těsně před operací a 9. pooperační den.

Ze všech vzorků séra byly stanovovány růstové faktory - epidermální růstový faktor (EGF), vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), jaterní růstový faktor (HGF), transformující růstový faktor (TGF), inzulinu podobný růstový faktor 1 (IGF1), vazebný protein 80% IGF (IGFBP-3), Leptin a panel nádorových markerů - karcinoembryonální antigen (CEA), specifický marker karcinomu prsu (CA 15-3), nádorový marker buněčné proliferace - thymidinkináza (TK), cytokeratinový marker - tkáňový polyeptidový antigen (TPA) a MonoTotal.

Perioperačním stanovením koncentrací jednotlivých růstových parametrů jsme sledovali jejich změny následující chirurgickou léčbu. Následnou dlouhodobou dispenzarizací nemocných jsme selektovali ty ženy, u nichž byla ve sledovaném období prokázána lokální recidiva či generalizace nádorového onemocnění. U každé nemocné byl veden protokol zahrnující její anamnestické údaje dle znalostí rizikových faktorů a údaje týkající se vlastností nádoru.

Dispenzární péče probíhala formou ambulantních kontrol a byla zahájena ihned po operaci, resp. po skončené onkologické léčbě. Odběr biologického materiálu u kontrolní skupiny byl realizován podle stejného protokolu.

6.1 Metodika laboratorního zpracování

Uvedené faktory byly stanovovány pomocí klasických biochemických metod a multiplexové analýzy- tzv.xMAP technologie. Ve vzorcích séra byly imunoradiometrickou (IRMA) metodou stanoveny hladiny IGF-1, IGFBP-3, TPA,

Monototal. Hladiny CEA a CA15-3 byly stanoveny automatizovanou chemiluminiscenční imunoanalýzou. Hladiny cytokinů HGF, Leptin, EGF, TGF a VEGF byly stanoveny pomocí multiplexové imunoanalýzy využívající xMAP technologii.

Principem multiplexové imunoanalýzy založené na xMAP technologii je vazba antigenu na protilátku navázanou na povrch spektrálně kódovaných mikrokuliček. Množství navázané látky je stanoveno díky druhé protilátce spojené s fluorescenční molekulou. Měření probíhá na speciálním průtokovém cytometru. Koncentrace jednotlivých analytů jsou vypočteny na základě standardních kalibračních křivek.

6.2 Metodika histologického zpracování

Vyšetření primárního nádoru

Zpracovávána je vždy celá rezistence, kdy minimum je 1 bloček na 1 cm v největším rozměru tumoru. Je-li to možné je odebíráán jeden bloček na peroperační vyšetření, 1 bloček pro imunohistochemii, 2 drobné vzorky jsou mrazeny v -80°C pro eventuální vyšetření molekulárně-genetické. Zbytek nádoru a okolí je zablokováno do definitivních řezů. Nádor je fixován ve formalínu a po automatické dehydrataci v tkáňovém procesoru zalit do parafínu. Následně jsou řezy barveny automaticky hematoxalinem-eosinem. Blok pro imunohistochemii barven s protilátkami proti estrogenovým a progesteronovým receptorům a proti Ki67. Status hormonálních receptorů se stanovuje semikvantitativně [54], Ki67 se vyjadřuje v procentech. Barvení pro stanovení HER2-neu probíhá stejným způsobem a hodnotí se podle schématu: skóre 0,1+ negativní, skóre 2+ slabě pozitivní, skóre 3+ pozitivní. Výsledek 3+ se potvrmuje fluorescenční in situ hybridizací (FISH). Nádory byly klasifikovány dle WHO, grading ductálního invazivního karcinomu dle Nottinghamské klasifikace.

Vyšetření sentinelové uzliny

Zpracovány jsou vždy všechny sentinelové uzliny, z každé polovina peroperačně, druhá polovina byla zabločkována a ponechána pro definitivní zpracování. Technika peroperačního zpracování spočívá v makroskopickém posouzení uzliny, její rozdělení, zmrazení na -21°C a prokrájení po sérii s výškou řezu 2-3 mikrometry. Řezy jsou obarveny v rychlé modifikované řadě hematoxylinem a eosinem pro posouzení přítomnosti metastáz.

Vyšetření resektátu z axily

Resekát z axily je fixován ve formalínu a ponechán na definitivní histologické zpracování. V materiálu jsou spočteny jednotlivé lymfatické uzliny a následně zpracovány standardním protokolem (viz zpracování primárního tumoru).

6.3 Metodika statistického zhodnocení, užití analýzy

Statistická signifikance byla stanovena na hranici $\alpha = 0.05$. Pro měřené parametry v celém souboru a v jednotlivých skupinách a podskupinách byly počítány základní statistické údaje (průměr, směrodatná odchylka, rozptyl, medián, mezikvartilové rozpětí, minimum, maximum). Na porovnání distribucí jednotlivých parametrů v různých skupinách a podskupinách byly použity neparametrické testy (Kruskal-Wallisův test a Wilcoxonův test). Pro zjištění závislosti zkoumaných znaků byl použit Spearmanův koeficient korelace. Pomocí specifit a senzitivit dané metody jsme stanovovali referenční meze (cut off) mezi skupinami benigních a maligních pacientek a tyto výsledky byly graficky zpracovány do tzv. ROC křivek. Vliv jednotlivých proměnných na bezpříznakový interval (DFI), resp. délku přežití (OS) byl zkoumán užitím Kaplan-Maierovy metody. Pro zjištění vlivu daných proměnných na délku DFI a OS byly pacientky rozděleny do 2 skupin na základě mediánu, resp. cut off zkoumaného markeru. Následně byly počítány tzv. Log-rank test a Wilcoxon test, pomocí kterých byl testován vliv zkoumaného markeru na DFI, resp. OS. Užitím Coxova regresního modelu bylo stanoveno pro jednotlivé markery tzv. Hazard Ratio.

7. Výsledky

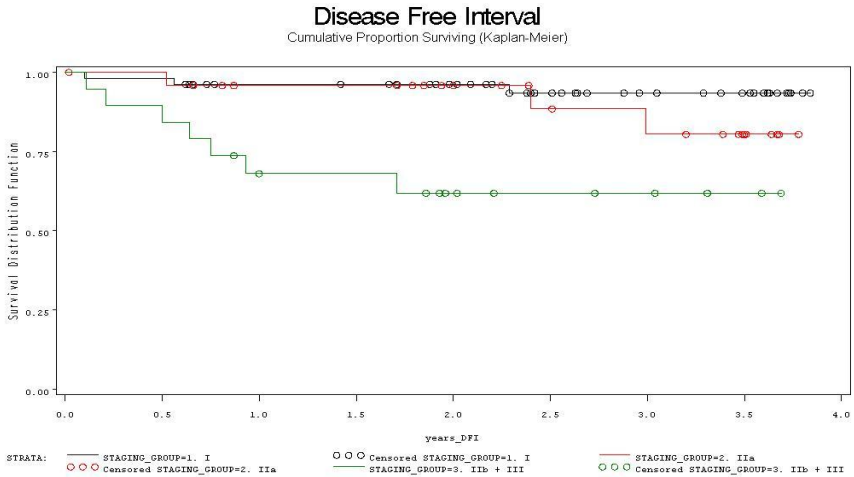
Ve shodě s literárními údaji bylo potvrzeno, že staging, podle kterého byly pacientky rozdělené do jednotlivých podskupin, je základní prognostický faktor z hlediska progresu nádorového onemocnění a celkového přežití obecně.

Porovnáme-li přežití bez progresu onemocnění podle klinických stádií v podskupinách G1-G3, lze říci, že v podskupině G1 přežívá 1 rok bez progresu 96%, resp. 95% a 68% v podskupině G2 a G3, 2 roky v podskupině G1 96%, resp. 95% a 61% v podskupině G2 a G3, 3 roky v podskupině G1 93%, resp. 80% a 61% v podskupině G2 a G3.

Porovnáme-li přežívání pacientek podle zařazení do podskupin G1-G3, 1leté přežití v podskupině G1 je 98%, resp. 100% a 94% v podskupině G2 a G3; 2leté přežití v podskupině G1 95%, resp. 94% a 70% v podskupině G2 a G3; 3leté přežití v podskupině G1 92%, resp. 94% a 59% v podskupině G2 a G3.

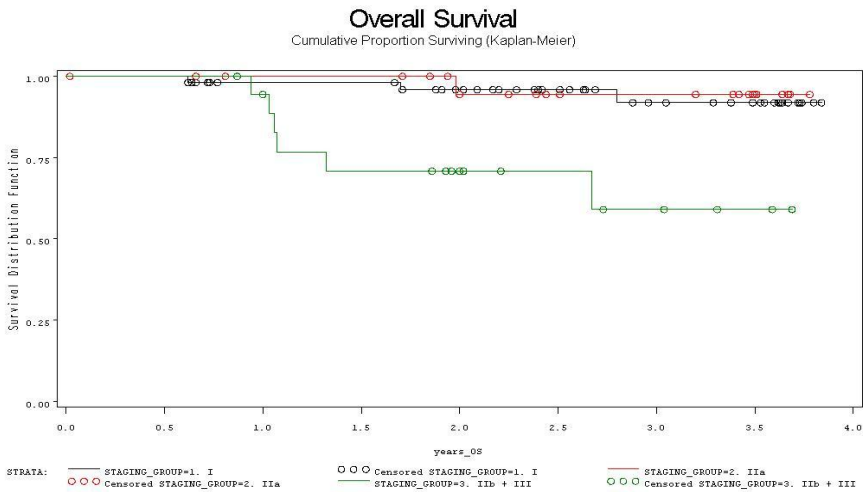
Průměrná doba vzniku recidivy, resp. generalizace od primární operace je v našem souboru 12,77 měsíce.

Obrázek 1 - Bezpříznakový interval podle stádia onemocnění (G1-G3)



Legenda: censored = poslední kontrola, kdy nemocná žije nebo je bez progresu

Obrázek 2 - Celkové přežití podle stádia onemocnění (G1-G3)



I. Prediktivní význam růstových faktorů a nádorových markerů stanovovaných perioperačně pro kratší přežití (OS) a pravděpodobnost progresse onemocnění (DFI)

V rámci celého souboru byla zaznamenána progresse u 13 a úmrtí u 10 nemocných, z nichž 7 nemocných zemřelo v souvislosti s progresí karcinomu mléčné žlázy. Rozložení jednotlivých událostí je shrnuto v Tabulce 1.

Tabulka 1 - Přehled událostí ve skupině nemocných s karcinomem mléčné žlázy

	Počet nemocných ve skupině	Progrese	Úmrtí	Úmrtí na karcinom prsu	Počet žijících pacientek	% žijících pacientek
G1	54	3	3	1	51	94%
G2	25	3	1	0	24	96%
G3	19	7	6	6	13	68%
Celkem	98	13	10	7	88	90%

U časných karcinomů (G1 a G2) je procento přežívajících nemocných výrazně vyšší než u lokálně pokročilých nádorů (G3). Pro statistické zhodnocení perioperačních hodnot RF a NM nebyl zjištěn dostatečný počet událostí, abychom mohli hodnotit jejich prognostický význam ve vztahu k celkovému přežití i přežití bez progresse v podskupinách G1 a G2. Na základě výpočtu pomocí Long-Rank a Wilcoxova testu DFI a OS lze říci, že nemocné s lokálně pokročilými nádory vykazují statisticky významně kratší přežití bez progresse ($p=0,0008$) i kratší celkové přežití ($p=0,0011$).

Vzhledem ke krátké době probíhajícího výzkumného projektu není možné hodnocení mediánu přežití bez příznaků nemoci a celkového přežití, nicméně výsledky lze v rámci jednotlivých podskupin vyjádřit formou 1letého, 2letého, resp. 3letého přežití (Tabulka 2,3).

Tabulka 2 - DFI ve zkoumaném souboru

Roky	G1	G2	G3
1 rok	96%	95%	68%
2 roky	96%	95%	61%
3 roky	93%	80%	61%

Tabulka 3 - OS ve zkoumaném souboru

Roky	G1	G2	G3
1 rok	98%	100%	94%
2 roky	95%	94%	70%
3 roky	92%	94%	59%

Hodnocení prognostického významu sledovaných RF a NM mohlo být v našem souboru statisticky zhodnoceno pouze v rámci podskupiny G3 s dostatečným počtem událostí.

Vztah hodnot růstových faktorů a nádorových markerů k DFI v podskupině G3 (stádium Ib a III):

Pro hodnocení vztahu růstových faktorů byly pacientky vždy rozděleny podle spočtené hodnoty mediánu příslušného RF na 2 skupiny. Pro hodnocení vztahu nádorových markerů byly nemocné rozděleny podle cut off (horní hodnota fyziologického rozmezí příslušného NM) také na 2 skupiny a pro každý RF a NM byla stanovena rizikovější skupina ve vztahu k mediánu, resp. cut off vzhledem k DFI. Pro rizikovější skupinu bylo spočteno tzv. Hazard Ratio (HR), kdy právě hodnoty 1 a vyšší lze považovat za rizikové stran nepříznivé prognózy.

Tabulka 4 - Hazard Ratio ve vztahu k DFI před operací

Růstový faktor	Medián RF	Riziková skupina dle mediánu	Hazard Ratio
IGF1	140	< 140	0,284
IGF-BP3	4000	< 4000	0,976
Leptin	30000	>30000	1,174
HGF	3500	>3500	2,413
EGF	300	<300	0,679
TGF	12	<12	0,811
VEGF	200	<200	0,941
Nádorový marker	Cut off NM	Riziková skupina dle cut off	Hazard Ratio
TK	8	>8	5,462
TPA	80	>80	3,513
MonoTotal	80 (medián)	>80	2,302
CA 15-3	24	>24	3,022
CEA	3	>3	1,033

Tabulka 5 - Hazard Ratio ve vztahu k DFI po operaci

Růstový faktor	Medián RF	Riziková skupina dle mediánu	Hazard Ratio
IGF1	160	<160	0,340
IGF-BP3	3500	<3500	Nehodnotitelné
Leptin	26500	<26500	0,727
HGF	4000	>4000	2,444
EGF	310	<310	0,266
TGF	16	<16	0,497
VEGF	300	>300	2,351
Nádorový marker	Cut off NM	Riziková skupina dle cut off	Hazard Ratio
TK	8	>8	3,938
TPA	80	>80	8,603
MonoTotal	27 (medián)	>27	3,630
CA 15-3	24	>24	Nelze stanovit, všechny pacientky < 24
CEA	3	<3	0,410

Vztah hodnot růstových faktorů a nádorových markerů k OS v podskupině G3 (stádium Ib a III):

Vztah růstových faktorů a nádorových markerů k celkovému přežití byl hodnocen stejným způsobem jako vztah k DFI. Pro výpočet HR ve skupině růstových faktorů a MonoTotalu byly pacientky děleny dle mediánu, pro hodnocení ostatních nádorových markerů dle cut off horní hladiny referenčního rozmezí.

Tabulka 6 - Hazard Ratio ve vztahu k OS před operací

Růstový faktor	Medián RF	Riziková skupina dle mediánu	Hazard Ratio
IGF1	140	<140	0,312
IGF-BP3	4000	<4000	0,935
Leptin	30000	<30000	0,786
HGF	3500	>3500	1,673

EGF	300	<300	1
TGF	12	<12	1,1
VEGF	200	>200	1,9
Nádorový marker	Cut off NM	Riziková skupina dle cut off	Hazard Ratio
TK	8	>8	8,959
TPA	80	>80	1,537
MonoTotal	80(medián)	>80	1,213
CA 15-3	24	>24	3,509
CEA	3	<3	0,473

Tabulka 7 - Hazard Ratio ve vztahu k OS po operaci

Růstový faktor	Medián RF	Riziková skupina dle mediánu	Hazard Ratio
IGF1	160	<60	0,461
IGF-BP3	3500	<3500	Nehodnotitelné
Leptin	26500	<26500	0,417
HGF	4000	>4000	1,704
EGF	310	<300	0,510
TGF	16	<16	0,870
VEGF	300	>300	1,647
Nádorový marker	Cut off NM	Riziková skupina dle cut off	Hazard Ratio
TK	8	>8	7,193
TPA	80	>80	2,262
MonoTotal	27(medián)	>27	2,606
CA 15-3	24	>24	Nelze stanovit, všechny pacientky < 24
CEA	3	<3	0,394

Z vybraných RF a NM jsou ve vztahu k DFI i OS prognosticky využitelné předoperačně i časně pooperačně stanovené hodnoty HGF, TK, TPA a MonoTotalu. Předoperačně má prognostický význam hodnota CA 15-3, předoperačně i pooperačně zejména pro OS hodnota VEGF. Nízké hodnoty EGF a TGF byly zjištěny

v souvislosti s horší prognózou stran celkového přežití. Obecně lze říci, že jako perioperační prognostické faktory karcinomu prsu nelze využít IGF-1, IGFBP-3 a pooperačně EGF, TGF, Leptin a CEA.

II. Souvislost předoperačních hladin růstových faktorů a nádorových markerů se známými rizikovými faktory z anamnézy

Korelační koeficienty byly hodnoceny pouze pro RF a NM, jejichž předoperační hodnoty byly sledovány jako prognosticky využitelné (TK, TPA, CA 15-3, MonoTotal, HGF, VEGF, Leptin, EGF a TGF). V případě dostatečně silné korelace parametru s rizikovým faktorem byla hodnocena statistická významnost korelačního koeficientu. Korelační koeficient byl počítán pro celou skupinu nemocných pacientek a poté pro každou podskupinu samostatně.

Tabulka 8 - Statisticky významné korelace RF a NM s anamnestickými rizikovými faktory ve skupině nemocných s maligním onemocněním

RF/NM	Rizikový faktor	Spearmanův korelační koeficient	p- value
TK	maligní onemocnění v OA	0,25	0,0149
	BMI > 30	0,25	0,0154
	Kouření	0,27	0,0095
TPA	onkologická pozitivita RA	0,28	0,0040
	klimakterium nad 50 let	0,25	0,0463
	BMI > 30	0,25	0,0144
CA 15-3	BMI > 30	0,27	0,0071
MonoTotal	BMI > 30	0,34	0,0007
	onkologická pozitivita RA	0,20	0,0498
	HATK	0,21	0,0441
Leptin	BMI > 30	0,55	< 0,0001
	HATK	0,30	0,0032
HGF	BMI > 30	0,23	0,0262

Tabulka 9 - Statisticky významné korelace RF a NM s anamnestickými rizikovými faktory v podskupině G1

RF/NM	Rizikový faktor	Spearmanův korelační koeficient	p- value
TPA	onkologická pozitivita RA	0,37	0,0058
	BMI > 30	0,36	0,0069
CA 15-3	diagnóza před 40. roce věku	0,27	0,0460
MonoTotal	BMI > 30	0,43	0,0013
	hormonoterapie	0,34	0,0132
HGF	1. porod po 30 roce	0,32	0,0455
Leptin	BMI > 30	0,68	< 0,0001
	HATK	0,27	0,0500

Tabulka 10 - Statisticky významné korelace RF a NM s anamnestickými rizikovými faktory v podskupině G2

RF/NM	Rizikový faktor	Spearmanův korelační koeficient	p- value
TK	HATK	0,51	0,0087
	maligní onemocnění v OA	0,47	0,0166
	onkologická pozitivita RA	0,42	0,0386
	diagnóza před 40. rokem	0,40	0,0500
TPA	diabetes mellitus v OA	0,50	0,0108
MonoTotal	diabetes mellitus v OA	0,58	0,0029
	maligní onemocnění v OA	0,53	0,0083
	HATK	0,43	0,0326
	onkologická pozitivita RA	0,44	0,0308
Leptin	HATK	0,44	0,0334
HGF	klimakterium po 50. roce	0,52	0,0466

Tabulka 11 - Statisticky významné korelace RF a NM s anamnestickými rizikovými faktory v podskupině G3

RF/NM	Rizikový faktor	Spearmanův korelační koeficient	p- value
TK	hormonoterapie	0,53	0,0194
	kouření	0,49	0,0362
TPA	onkologická pozitivita RA	0,48	0,0348
HGF	onkologická pozitivita RA	0,46	0,0500
Leptin	onkologická pozitivita RA	0,46	0,0500

III. Souvislost předoperačních hladin růstových faktorů a nádorových markerů s nepříznivými prognostickými vlastnostmi nádoru

Vztah nepříznivých prognostických vlastností nádoru (negativita estrogenových receptorů, negativita progesteronových receptorů, overexprese HER2-neu, grade 3 a vysoká mitotická aktivita) byl hodnocen stejnou metodikou jako vztah s anamnestickými rizikovými faktory, spočten korelační koeficient a posléze hodnocena jeho statistická významnost.

Tabulka 12 - Statisticky významné korelace RF a NM s nepříznivými prognostickými vlastnostmi nádoru ve skupině pacientek s maligním onemocněním

RF/NM	Rizikový faktor	Spearmanův korelační koeficient	p- value
Leptin	negativita ER	0,30	0,0500

Tabulka 13 - Statisticky významné korelace RF a NM s nepříznivými prognostickými vlastnostmi nádoru v podskupině G1

RF/NM	Rizikový faktor	Spearmanův korelační koeficient	p- value
HGF	negativita ER	0,34	0,0429

Tabulka 14 - Statisticky významné korelace RF a NM s nepříznivými prognostickými vlastnostmi nádoru v podskupině G2

RF/NM	Rizikový faktor	Spearmanův korelační koeficient	p- value
TK	overexprese HER2-neu	0,48	0,0142
TPA	overexprese HER2-neu	0,47	0,0177
MonoTotal	overexprese HER2-neu	0,40	0,0500

Tabulka 15 - Statisticky významné korelace RF a NM s nepříznivými prognostickými vlastnostmi nádoru v podskupině G3

RF/NM	Rizikový faktor	Spearmanův korelační koeficient	p- value
Leptin	overexprese HER2-neu	0,64	0,0037
	negativita ER	0,52	0,0261

IV. Srovnání vyšetřovaného souboru (nemocné s maligním onemocněním) s kontrolní skupinou (pacientky operované pro benigní lézi)

Pro každý parametr při stanovené specificitě 80% byla zjišťována senzitivita a na základě výsledku možnost jejího využití v předoperační diagnostice benigních vs. maligních lézí. Všechny RF i NM byly shledány jako nízce specifické, tedy nepoužitelné v klinické praxi v předoperační diagnostice.

8. Diskuze

Prognostické faktory vlastního nádoru

K predikci prognózy stran bezpříznakového intervalu i celkového přežití slouží na jedné straně *TNM klasifikace*, podle níž je nádorové onemocnění klasifikováno do jednotlivých klinických stádií dle velikosti primárního ložiska, postižení regionálních lymfatických uzlin a průkazu vzdálených metastáz. S pokročilostí nádorového onemocnění se obecně zhoršuje prognóza, nemocné mají vyšší riziko vzniku lokální recidivy, progresu a vzniku vzdálených metastáz a kratší délku celkového přežití.

Z hlediska celkové prognózy je nezbytné zhodnocení i dalších prognosticky silných ukazatelů vlastního nádoru. Jednoznačně nejsilnějším prognostickým markerem je *grading*, pro jehož výsledné skóre jsou jednotlivě posuzovány velikost buněčného jádra, jaderný pleomorfismus, počet mitóz a architektura (vytváření tubulárních formací). Nebudeme-li brát v úvahu další nádorové vlastnosti a porovnáme-li 10leté přežití nemocných s nádory grade 1 vs. grade 3, nemocné se špatně diferencovanými nádory vykazují téměř poloviční počet žijících pacientek v 10letém období (85% grade 1 vs. 45% grade 3) [55].

Druhým nejsilnějším prognostickým faktorem je postižení *lymfatického aparátu*, který zohledňuje TNM klasifikace. Dosud ne zcela vyjasněnou problematikou je nález mikrometastázy (metastáza o velikosti ≤ 2 mm) v sentinelové uzlině. Zpočátku byl nález mikrometastázy považován za nepříznivý prognostický faktor rovnocenný postižení makrometastázou [56] a byl indikací k systémové léčbě s cílem prodloužení celkového přežití [56,57]. V současné době převládá názor, že nález mikrometastázy v sentinelové uzlině není indikací k systémové léčbě a v prvních 5 letech od stanovení diagnózy neovlivňuje délku celkového přežití [58]. *Velikost primárního nádoru* je třetí nejsilnější prognostický faktor, rovněž zohledněn v TNM klasifikaci.

Zhodnotíme-li *histologický typ* nádoru ve vztahu k prognóze jako nezávislý prognostický faktor, jsou považovány tubulární, mucinózní a tubulo-lobulární karcinom za prognosticky nejpříznivější s 10letým přežitím ve více než 80%, zatímco invazivní duktální, dukto-lobulární a solidní lobulární karcinom mají nejhorší prognózu, tj. 10leté přežití v méně než 50%.

Hodnocení *vaskulární- a lymfangioinvaze* je využitelné k predikci celkového přežití, nicméně významnější uplatnění nachází na poli stanovení rizika lokální

recidivy zejména po konzervativních chirurgických výkonech, u lokálně pokročilých nádorů i po mastektomiích [55].

Standardními vyšetřeními při histologickém zpracování tumoru je určení mitotické aktivity nádoru (MIB1), exprese hormonálních receptorů (estrogenových a progesteronových) a exprese HER2-neu, jenž mají význam prognostický – určení agresivity biologického chování nádoru a rizika progresu nádorového onemocnění, a význam prediktivní – volba vhodné léčebné strategie.

Mitotická aktivita vyjadřuje počet mitóz ve vyšetřovaném nádoru a představuje jedno z hodnotících kritérií pro určení gradingu a také slouží jako prostředek stanovení proliferační aktivity nádoru [59]. Vlastní proliferační aktivita, resp. proliferační index je procentuální vyjádření MIB1 pozitivních buněk, jenž se stanoví pomocí monoklonálních protilátek MIB1 proti antigenům Ki-67 exprimovaných buněčným jádrem mimo G0 fázi buněčného cyklu. Vysoká mitotická aktivita je hlavním ukazatelem rychlosti růstu nádorového ložiska a lokální progresu [60]. Při histologickém vyšetření nádoru je spolehlivým ukazatelem vysoké mitotické aktivity nález nekrotických ložisek, která vznikají v důsledku rychlého růstu a nedostatečného cévního zásobení v celém rozsahu nádorového ložiska při rychlé progresi.

Hodnocení stupně *diferenciace* vychází ze skórování zastoupení tubulárních struktur, hodnocení jaderného gradingu a počtu mitóz. Čím jsou větší odchylky od zdravých nenádorových buněk, tím je nádor hodnocen jako méně diferencovaný, s čímž souvisí jeho vyšší míra agresivity.

Receptory *HER2-neu* jsou exprimovány na povrchu epitelových nádorových buněk a jejich prostřednictvím se uplatňuje biologická aktivita nejen EGF, ale i dalších růstových faktorů, které stejným mechanismem aktivují intracelulární signální dráhy vedoucí k jejich proliferaci. Zvýšená exprese je prokazatelná až u 30% karcinomů. Pozitivní výsledek představuje vyšší vnímavost nádorové buňky k růstovým faktorům, zároveň však vymezuje skupinu vhodných kandidátek k biologické léčbě monoklonálními protilátkami.

Mezi standardní vyšetření patří hodnocení exprese *estrogenových a progesteronových receptorů*. Negativita hormonálních receptorů není považována za nepříznivý faktor stran lokální progresu a šíření nádoru, ale jedná se o parametr, který je rozhodující právě při volbě léčebné strategie.

Co se týká *histopatologického typu* nádoru, 80% všech nádorů mléčné žlázy představuje IDCa charakterizovaný větším potenciálem k lymfogennímu i hematogennímu šíření. Na rozdíl ILCa díky chybění adhezivních molekul (E-cadherin) se častěji vyskytuje multifokálně, multicentricky či oboustranně. Z uvedeného vyplývá, že i menší IDCa může ohrozit nositelku časnějším a častějším vznikem vzdálených metastáz, zatímco ILCa při svém víceložiskovém postižení si častěji vyžádá primárně radikálnější chirurgický výkon.

Anamnestické rizikové faktory

Nejsilnějším rizikovým faktorem je bez sporu vznik karcinomu prsu na podkladě mutace protoonkogenů či tumor supresorových genů a představuje 10% všech karcinomů. Bez geneticky podmíněné dispozice, ale při zvýšené incidenci karcinomu prsu v rodinné anamnéze hovoříme o tzv. familiárním karcinomu, kde riziko představují příbuzné ženy 1. a 2. linie, které onemocněly před 40. rokem věku. Výskyt jiných maligních chorob v rodinné anamnéze představuje rovněž rizikový faktor a to na podkladě dědičnosti jistých buněčných metabolických pochodů a aktivity enzymatických systémů, jež predikují vnímavost zdravých buněk k vnitřním i vnějším vlivům uplatňujících se v procesu kancerogeneze.

Přestože prudký nárůst počtu nemocných s karcinomem mléčné žlázy je ve věku 40-65 let, není vzácností výskyt též v mladších věkových skupinách. Jedná se obvykle o vysoce prognosticky nepříznivé nádory s agresivnějším biologickým potenciálem, bez hormonální dependence, s vysokou mitotickou aktivitou a nižším stupněm diference.

Velmi diskutovanou problematikou mezi rizikovými faktory jsou hormonální aspekty. Z teorie, že vznik karcinomu prsu je podmíněn delší expozicí estrogenů, potom počet menstruačních cyklů během reprodukčního období ženy je přímo úměrný riziku a časná menarche, pozdní menopauza, 1. gravidita po 30. roce věku a nekojení, užívání hormonální substituční léčby a nulliparita představují rizikové faktory vzniku karcinomu mléčné žlázy. Protektivní efekt gravidity a kojení spočívá v časně diferenciaci epitelu prsní žlázy ve zralé žlazové buňky s delším buněčným cyklem, což vede k malé náklonnosti ke vzniku mutací. Na užívání hormonální antikoncepce jsou stále nejednotné názory, někteří autoři ji zcela nepovažují za rizikový faktor [61], jiní tvrdí, že dlouhodobé užívání hormonální antikoncepce zejména v mladém věku riziko oproti běžné populaci zvyšuje [62,64] a užívání hormonálních preparátů ve velmi mladém věku koreluje se vznikem karcinomu prsu v průměru o 3-4 roky dříve než u nezatižené populace [63].

Nadváha, resp. obezita a životní styl (strava bohatá na tuky, kouření, alkohol, nedostatek pohybové aktivity) jsou zástupci ovlivnitelných rizikových faktorů a nepředstavují rizikové faktory pouze pro karcinom mléčné žlázy, nýbrž riziko vzniku maligního onemocnění obecně. Nadměrná tuková zásoba je spojena se zvýšenou plasmatickou koncentrací estrogenů, které mimo jiné vznikají i v tukové tkáni konverzí z androgenních prekurzorů. Pravidelná konzumace alkoholu ve zvýšené míře vede nepřímě ke zvýšení hladiny estrogenů [65]. Kouření představuje obecně zevní kancerogenní faktor, v případě karcinomu prsu byla zjištěna možná interakce nikotinu a EGFR [66].

Metabolická onemocnění, reprezentovaná diabetem a hyperlipidemií, vedou k alteraci fyziologických regulačních mechanismů. Diabetes mellitus je charakterizovaný hyperglykemií a hyperinzulinemií. Inzulín jako růstový hormon stimuluje receptory pro růstový hormon a zvyšuje syntézu IGF-1. Oba působí

prostřednictvím strukturálně podobných receptorů, cestou inzulínového receptoru ovlivňují především metabolické procesy, cestou receptoru IGF-1 stimulují buněčný růst a proliferaci, čímž se uplatňují v procesu kancerogeneze v důsledku inzulínové rezistence [67]. Hyperlipidémie, resp. změna lipidového spektra je asociována s vyšší incidencí karcinomu prsu [68].

Růstové faktory a nádorové markery

Z definovaných RF byl prokázán prognostický význam HGF, pro celkové přežití VEGF. HGF je v mléčné žláze produkován stromálními buňkami, cílovými buňkami jsou epitelie ductů exprimující specifické Met-R, prostřednictvím nichž stimulují epitelové buňky k růstu a proliferaci. Zároveň podporují syntézu proteolytických enzymů vedoucí k disociaci buněk, migraci a zakládání vzdálených ložisek a spolu s dalšími působky stimulují proliferaci endotelových buněk, čímž se podílí na angiogenezi. Expres specifického receptoru Met-R je stimulována HIF (hypoxia inducible factor) produkovaného hypoxickými buňkami v důsledku zvětšování objemu nádoru, který zároveň podporuje produkci VEGF s cílem přívodu kyslíku a živin do celého objemu nádoru. VEGF působí na endotelové buňky jako hlavní mitogenní faktor, zvyšuje permeabilitu cév, stimuluje produkci proteolytických enzymů (metaloproteáz) a podporuje migraci endotelových buněk zodpovědných za novotvorbu krevních i lymfatických cév.

Z nádorových markerů se jeví jako prognosticky využitelné TK, TPA a MonoTotal. TK a TPA patří do skupiny proliferačních nádorových markerů a hlavní využití nalézájí na poli follow up, monitoraci průběhu onemocnění a úspěšnosti léčby. Lze se domnívat, že jejich vyšší hladiny předoperačně a časně pooperačně souvisí s proliferační aktivitou a růstovou agresivitou primárního nádoru. MonoTotal stanovený perioperačně je vhodným ukazatelem aktivity nádorových buněk, jako významného prognostického faktoru.

Hladina CA 15-3 přímo úměrně souvisí s objemem nádorového ložiska a stupněm postižením regionálních mízních uzlin, což významně koreluje s pokročilostí nádorového onemocnění a jeho vyšší předoperační hodnoty predikují nemocné k horší prognóze v porovnání s ostatními nemocnými příslušného klinického stádia. Po operačním odstranění nádoru v průběhu jednoho týdne klesá do referenčního rozmezí. V případě lokální recidivy či systémové progresse nádorového onemocnění lze tedy předpokládat jeho opětovné zvýšení [69].

CEA je nádorový marker, který je produkován v dospělosti ve stopovém množství i epitelovými buňkami mléčné žlázy a jeho vysoké sérové hladiny jsou asociovány s nádorovými onemocněními zejména z oblasti GIT, plic, prsu, gynekologických orgánů a prostaty. Jeho vyšší sérové hladiny byly zaznamenány pouze předoperačně v souvislosti s vyšším rizikem progresse nádorového onemocnění. Pro celkově horší prognózu stran přežití nebylo shledáno jeho stanovení prognosticky významné.

V souvislosti s kratším přežitím byly v našem souboru shledány nižší hodnoty TGF a EGF. Působení TGF je antikancerogenní a mutace v genu TGF nebo jeho signální dráhy vede k porušení jeho biologické funkce, ke ztrátě kontroly buněčné proliferace, změně složení extracelulární matrix a změně adhezivních vlastností buněk se zvýšením migrace buněk. Je zřejmé, že u nádorů s progresivním potenciálem je předoperačně hladina TGF coby faktoru s antikancerogenním působením nižší.

EGF realizuje svůj prokancerogenní efekt vazbou na receptor ErbB1, který je členem „rodiny“ receptorů epidermálního růstového faktoru (= ErbB1-4). Prostřednictvím ostatních receptorů (ErbB 2,3,4) se uplatňují další růstové faktory (TGF α , epiregulin, amphiregulin, neuregulin 1-4) [70] a to zejména u HER2 (=ErbB2) pozitivních nádorů. Lze se domnívat, že zpětnovazebných mechanismem nedochází v případě prognosticky nepříznivých nádorů k elevaci EGF a proliferační aktivita je podporována právě jinými růstovými faktory.

Předoperačně vyšší hladiny Leptinu jsou asociovány s vyšším rizikem progresu nádorového onemocnění, což podporuje teorii, že obézní pacientky mají obecně horší prognózu [46]. Leptin se uplatňuje jednak jako mitogenní faktor [44], jinak cestou HIF stimuluje syntézu VEGF, významného angiogenního faktoru [71].

Jako nevyužitelné perioperační prognostické faktory karcinomu prsu se z našeho výzkumu jeví IGF-1 a IGFBP-3, což je v souladu s teorií, že signální dráha IGF-1 se v růstu nádoru uplatňuje především v časných stádiích. Proto čím větší nádor, resp. vyšší klinické stádium, uplatňují se v buňkách jiné signální dráhy vedoucí k růstu nádoru a signální dráha IGF-1 ustupuje do pozadí [72]. V souvislosti s nízkou hladinou IGF-1 koreluje i nižší potřeba vazebných proteinů (IGFBP-3)

Z patogeneze nádorového onemocnění bychom očekávali vyšší sérové koncentrace prokancerogenních růstových faktorů a nižší koncentrace antikancerogenních faktorů. Zvýšení vnímavosti nádorových buněk je zajištěno rovněž overexpresí membránových receptorů, prostřednictvím nichž RF realizují svou biologickou funkci. V případě NM je situace odlišná. V případě specifických nádorových markerů (CA 15-3) sérová koncentrace koreluje s velikostí nádorového ložiska, resp. stádiem nádorového onemocnění, zatímco nespecifické nádorové markery mohou být zvýšeny v důsledku některých chronických či infekčních onemocnění, ale rovněž při benigních nádorových onemocnění.

Studium patogenetických mechanismů kancerogeneze na molekulární úrovni přineslo důležité poznatky s využitím v moderní onkologické léčbě. Nejprve průkaz povrchových specifických antigenů a membránových receptorů pro růstové faktory vedl k zavedení léčby monoklonálními protilátkami, v současné době se dostává do popředí zájmu tzv. cílená léčba pomocí terapeutik, která působí specificky na konkrétní proteiny a signální dráhy zodpovědné za přežití a množení nádorových buněk. Jedná se zejména o tzv. mTOR inhibitory (mammalian target of rapamycin), které lze zařadit do skupiny látek inhibující proliferaci [74] a PARP (poly ADP-ribose polymerase) inhibitory indukující apoptózu [73]. mTOR inhibitory představují naději

pro léčbu hormonálně dependentních nádorů rezistentních na endokrinní léčbu, PARP inhibitory skýtají naději na úspěšnější léčbu zejména geneticky podmíněných a triple negativních karcinomů.

9. Význam vědecké práce pro klinickou praxi

Předoperační hladiny vybraných nádorových markerů a růstových faktorů nelze využít v primární diagnostice ani jako pomocné vyšetření v rámci diferenciální diagnostiky maligních vs. benigních lézí.

Pro časně karcinomy (klinická stádia I a IIa) se nepodařil prokázat jednoznačný přínos perioperačního stanovení růstových faktorů a nádorových markerů z důvodu nedostatku událostí (progrese, úmrtí). Pro lokálně pokročilé nádory (klinická stádia IIb a III) byl prokázán prognostický význam perioperačního stanovení HGF, TK, TPA, MonoTotalu a předoperačního stanovení CA 15-3. Předoperační stanovení Leptinu a CEA jsou užitečné prognostické faktory kratšího DFI, před- i pooperační stanovení VEGF je významným prognostickým ukazatelem celkového přežití. Ve spojitosti s kratším celkovým přežitím jsme zaznamenali významně nižší hodnoty EGF a TGF stanovené předoperačně, význam pro predikci DFI nebyl prokázán. Jako prognosticky nevyužitelné markery DFI a OS se z našeho šetření jeví perioperačně stanovené IGF-1 a IGFBP-3, resp. CEA a Leptin jako prognostické faktory OS.

Shrneme-li naše poznatky, lze obecně říci, že perioperační stanovení uvedených markerů má prognostický význam pro nemocné s lokálně pokročilým karcinomem prsu. Již předoperačně selektuje v daných klinických stádiích „rizikovější“ skupinu žen, které by beze sporu profitovaly z intenzivnější dispenzární péče. Optimální se jeví pravidelné kontroly minimálně v ½ ročních intervalech zaměřené na co nejčasnější záchyt lokální nebo regionální recidivy, které je možné řešit radiálně chirurgicky, či časný záchyt diseminace se zvážením chirurgického řešení nebo včasného zahájení adekvátní onkologické léčby s cílem udržet co nejdéle co nejlepší kvalitu života.

Chápeme-li karcinom prsu jako systémové onemocnění, pak otázkou zůstává, zda bychom „rizikovější“ ženy neměli paušálně indikovat k neadjuvantní onkologické léčbě a teprve v druhé době operovat. Z našich výsledků, kdy v případě progrese byla zastížena pouze 1krát lokální recidiva a to ve spojení s diseminací, sledujeme přínos neoadjuvantní onkologické léčby právě v systémovém působení.

Při selekci „rizikové“ skupiny nemocných se ukázalo užitečné přihlídnutí k jistým rizikovým faktorům anamnestickým i nepříznivým vlastnostem nádoru, které by mohly pomoci v rozhodovacím procesu při plánování léčebné strategie a režimu dispenzární péče. Významná spojitost prognosticky využitelných RF a NM se jeví s výskytem maligního onemocnění v rodinné i osobní anamnéze, hormonální léčbou včetně hormonální antikoncepce, obezitou, kouřením, stanovením diagnózy

karcinomu prsu před 40. rokem věku, věk 1. porodu po 30. roce, klimakteriem po 50. roce věku. Stran nádoru lze jako nejsilnější nepříznivé faktory označit negativitu estrogenových receptorů a průkaz amplifikace HER2 genu.

10. Závěry

- I. Přínos předoperačního a časného pooperačního stanovení RF a NM coby prognostických ukazatelů DFI a OS byl naší prací prokázán pouze pro skupinu lokálně pokročilých karcinomů mléčné žlázy (klinická stádia IIb a III). Pro nemocné s časným karcinomem (I a IIa) jsme vzhledem ke statisticky významně lepší celkové prognóze a nedostatku událostí (progrese, úmrtí) nebyli schopni prognostický význam vybraných RF a NM posoudit. U pokročilých nádorů jsme zaznamenali výrazně vyšší četnosti nepříznivých prognostických parametrů vlastního nádoru i anamnestických rizikových faktorů. Pro klinická stádia IIb a III byl zjištěn statisticky významný kratší DFI i OS, což potvrzuje teorii, že staging nádorového onemocnění v době stanovení diagnózy je nejsilnějším prognostickým parametrem.
- II. Ve skupině lokálně pokročilých nádorů jsme ve vztahu k DFI a OS zjistili prognostický význam těchto RF: HGF, VEGF, EGF, TGF, Leptinu. Je patrné, že před- i pooperační stanovení HGF má prediktivní význam pro DFI i OS, zatímco VEGF lze využít pouze jako prognostický ukazatel OS. Předoperační hladiny EGF a TGF lze využít jako prognostické ukazatele, které nepřímo úměrně korelují s celkovou délkou přežití. Jejich pooperační stanovení ve vztahu k OS, resp. perioperační stanovení ve vztahu k DFI nemá prognostický význam. Vyšší hladiny Leptinu souvisí s vyšší hodnotou BMI a jeho předoperační stanovení bylo prokázáno jako přínosný prognostický faktor stran DFI. Přikláníme se proto k názoru, že obézní pacientky (BMI > 30) mají vyšší riziko progrese onemocnění v porovnání s běžnou populací. Ostatní parametry (IGF-1 a IGFBP-3) nebyly prokázány jako statisticky významné ukazatele prognózy nemocných s lokálně pokročilým karcinomem prsu, nicméně z výsledků je patrné, že s kratším bezpříznakovým intervalem a kratším celkovým přežitím korelují nižší hladiny obou parametrů.
- III. Z perioperačně stanovených nádorových markerů mají významný prognostický přínos MonoTotal, TK, TPA, jak ve vztahu k DFI, tak k OS. Co se týká CA 15-3, lze předoperační hodnotu využít také jako prognostický ukazatel, ale dle obecné charakteristiky markeru můžeme potvrdit, že v případě radikálního chirurgického odstranění nádorového ložiska bez přítomnosti vzdálených metastáz dochází časně pooperačně k poklesu markeru do referenčních rozmezí, proto jeho

pooperační stanovení u lokálně pokročilých nádorů nemá prognostický význam. Předoperační hodnota CEA je přímo úměrná riziku progresu nádorového onemocnění, jako ukazatel celkového přežití nemá prognostický význam.

- IV.** Přihlédneme-li k prognosticky využitelných RF a NM a statisticky významným rizikovým faktorů v anamnéze (výskyt onkologického onemocnění v osobní i rodinné anamnéze, hormonoterapie včetně hormonální antikoncepce, obezita, kouření, stanovení diagnózy karcinomu prsu před 40. rokem věku, věk 1. porodu po 30. roce, klimakterium po 50. roce věku) a nepříznivým prognostickým faktorům vlastního nádoru (negativita estrogenových receptorů, amplifikace HER2-genu), jsme schopni ve skupině lokálně pokročilých nádorů selektovat ty pacientky, u nichž je riziko progresu vyšší v porovnání s ostatními ženami v dané skupině. Domníváme se, že v „rizikové“ skupině může přinést zlepšení celkové prognózy personalizovaná primárně indikovaná onkologická léčba a zintenzivnění dispenzární péče s cílem co nejčasnějšího záchytu lokální recidivy či diseminace nádorového onemocnění.
- V.** Porovnáním a statistickým zpracováním předoperačních hodnot RF i NM mezi skupinou pacientek s maligním onemocněním a skupinou pacientek operovaných pro benigní lézi se nepodařilo pro žádný parametr stanovit takou hodnotu RF, resp. NM, který byl mohl být klinicky využitelný v předoperační primární diagnostice, resp. diferenciální diagnostice maligních vs. benigních lézí.

11. Citovaná literatura

1. SVOD. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. Dostupné na WWW: <www.svod.cz>
2. Fleissig A, Jenkins V, Catt S, Fallowfield L. Multidisciplinary teams in cancer care: are they effective in the UK? *Lancet Oncol.* 2006 Nov;7(11):935-43.
3. Vrtělová P., Coufal O., Fait V., Chrenko V. Přesnost předoperačního stanovení velikosti invazivního mamárního karcinomu ultrasonografií a mamografií. *Rozhl Chir.* 2010; 89(10):599-603.
4. Heywang-Köbrunner SH., Dershaw DD., Schreer I. Diagnostic breast imaging. Mammography, Sonography, Magnetic Resonance, Imaging and Interventional Procedures. 2nd ed., Stuttgart, New York: Thieme, 2001, ISBN 3-13-102892-0
5. Skovajsová M. Mammodiagnostika: integrovaný přístup. Galén, Praha 2003, ISBN 80-7262-220-X
6. Klener P. Klinická onkologie. Galén, Praha 2002, s. 11-70, 495-515, ISBN 80-7262-151-3.

7. Gatek J, Kotoc J, Kotocová K, Katrusák J, Vázan P, Duben J, Hnátek L, Dudšek B. Lokoregionální recidivy po konzervativních výkonech u časného karcinomu prsu. *Rozhl Chir.* 2010 Oct;89(10):604-11.
8. Coufal O., Fait V. a kol. *Chirurgická léčba karcinomu prsu.* Grada Publishing, a.s., Praha 2011, ISBN 978-80-247-3641-9
9. Komoike Y, Akiyama F, Iino Y, Ikeda T, Akashi-Tanaka S, Ohsumi S, Kusama M, Sano M, Shin E, Suemasu K, Sonoo H, Taguchi T, Nishi T, Nishimura R, Haga S, Mise K, Kinoshita T, Murakami S, Yoshimoto M, Tsukuma H, Inaji H. Ipsilateral breast tumor recurrence (IBTR) after breast-conserving treatment for early breast cancer: risk factors and impact on distant metastases. *Cancer.* 2006 Jan 1;106(1):35-41.
10. Touboul E, Buffat L, Belkacémi Y, Lefranc JP, Uzan S, Lhuillier P, Faivre C, Huart J, Lotz JP, Antoine M, Pène F, Blondon J, Izrael V, Laugier A, Schlienger M, Housset M. Local recurrences and distant metastases after breast-conserving surgery and radiation therapy for early breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1999 Jan 1;43(1):25-38.
11. Willner J, Kiricuta IC, Kölbl O. Locoregional recurrence of breast cancer following mastectomy: always a fatal event? Results of univariate and multivariate analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997 Mar 1;37(4):853-63.
12. Gatek J, Dudšek B, Hnátek L, Vázan P, Cecháček M, Hradská K, Kotoc J, Musil T, Duben J. Lokální recidivy po konzervativních výkonech u časného karcinomu prsu. *Klin Onkol.* 2008;21(4):169-73.
13. Naik AM, Fey J, Gemignani M, Heerdt A, Montgomery L, Petrek J, Port E, Sacchini V, Sclafani L, VanZee K, Wagman R, Borgen PI, Cody HS 3rd. The risk of axillary relapse after sentinel lymph node biopsy for breast cancer is comparable with that of axillary lymph node dissection: a follow-up study of 4008 procedures. *Ann Surg.* 2004 Sep;240(3):462-8.
14. Čapov I. et al. *Chirurgie orgánových metastáz.* Galén Karolinum, Praha 2008. s. 1-25, 47-133. ISBN 978-80-7262-493-5
15. Maksan SM, Lehnert T, Bastert G, Herfarth C. Curative liver resection for metastatic breast cancer. *Eur J Surg Oncol.* 2000 Apr;26(3):209-12.
16. Planchard D, Soria JC, Michiels S, Grunenwald D, Validire P, Caliandro R, Girard P, Le Chevalier T. Uncertain benefit from surgery in patients with lung metastases from breast carcinoma. *Cancer.* 2004 Jan 1;100(1):28-35.
17. Selzner M, Morse MA, Vredenburgh JJ, Meyers WC, Clavien PA. Liver metastases from breast cancer: long-term survival after curative resection. *Surgery.* 2000 Apr;127(4):383-9.
18. Fallowfield LJ, Fleissig A. The value of progression-free survival to patients with advanced-stage cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2011 Oct 18;9(1):41-7.

19. Arslan N, Serdar M, Deveci S, Ozturk B, Narin Y, Ilgan S, Ozturk E, Ozguven MA. Use of CA15-3, CEA and prolactin for the primary diagnosis of breast cancer and correlation with the prognostic factors at the time of initial diagnosis. *Ann Nucl Med.* 2000 Oct;14(5):395-9.
20. Topolcan, O., Polivková, V., Pesek, M., Svobodová, S., Holubec, L., Finek, J., Elgrová, L.: Our experience with MonoTotal – pilot study. *Anticancer Res* 2004; 24 : 2293-2298.
21. Prazakova M, Vrzalova J, Auge JM, Safranek J, Topolcan O, Fuchsova R, Spisakova M, Svobodova S, Holubec L Jr, Pesta M. The role of MonoTotal in the primary diagnosis, prognosis and follow-up of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). *Anticancer Res.* 2011 Sep;31(9):3107-12.
22. Wojcik, E., Tarapacz, J., Sobolewska, K., Kulpa, J.: Evaluation of diagnostic utility of MonoTotal in lung cancer patients. *J Lab Diagnostics* 2009; 45: 75-80.
23. Eccles SA. The epidermal growth factor receptor/Erb-B/HER family in normal and malignant breast biology. *Int J Dev Biol.* 2011;55(7-8-9):685-696.
24. C. Garcia Castro, M. Ravina, V. Castro, E.C. Salido. Expression of Epidermal Growth Factor Receptor and Estrogen Receptor in Human Breast Carcinoma, *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2006 Jun:169-177.
25. Hardy KM, Booth BW, Hendrix MJ, Salomon DS, Strizzi L. ErbB/EGF signaling and EMT in mammary development and breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2010 Jun;15(2):191-9.
26. Klener P. Význam angiogeneze u nádorových onemocnění a možnosti jejího ovlivnění. *Forum medicinae*, 1999,2:54-61.
27. Alitalo A, Detmar M. Interaction of tumor cells and lymphatic vessels in cancer progression. *Oncogene.* 2011 Dec 19.
28. Al-Mowallad A, Kirwan C, Byrne G, McDowell G, Li C, Stewart A, Al-Qouzi A, Kumar S. Vascular Endothelial Growth Factor - C in Patients with Breast Cancer. *In Vivo*, 2007 May-Jun;21(3):549-51.
29. He Y, Kozaki K, Karpanen T, Koshikawa K, Yla-Herttuala S, Takahashi T, Alitalo K. Suppression of tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis by blocking vascular endothelial growth factor receptor 3 signaling. *J Natl Cancer Inst.* 2002 Jun 5;94(11):819-25.
30. Kimbro KS, Simons JW. Hypoxia-inducible factor-1 in human breast and prostate cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2006 Sep;13(3):739-49.
31. Galimi F, Brizzi MF, Comoglio PM. The hepatocyte growth factor and its receptor. *Stem Cells.* 1993 Jul;11 Suppl 2:22-30.
32. Locatelli A, Lofgren KA, Daniel AR, Castro NE, Lange CA. Mechanisms of HGF/Met Signaling to Brk and Sam68 in Breast Cancer Progression. *Horm Cancer.* 2011 Nov 29.
33. Sierra JR, Tsao MS. c-MET as a potential therapeutic target and biomarker in cancer. *Ther Adv Med Oncol.* 2011 Nov;3(1 Suppl):21-35.

34. Weidner KM, Hartmann G, Naldini L, Comoglio PM, Sachs M, Fonatsch C, Rieder H, Birchmeier W. Molecular characteristics of HGF-SF and its role in cell motility and invasion. *EXS*. 1993;65:311-28.
35. Weidner KM, Sachs M, Birchmeier W. The Met receptor tyrosine kinase transduces motility, proliferation, and morphogenic signals of scatter factor/hepatocyte growth factor in epithelial cells. *J Cell Biol*. 1993 Apr;121(1):145-54.
36. Giovannucci E. Insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and risk of cancer. *Horm Res*. 1999; 51 Suppl 3:34-41.
37. Gu F, Schumacher FR, Canzian F, Allen NE, Albanes D, Berg CD, Berndt SI, Boeing H, Bueno-de-Mesquita HB, Buring JE, Chabbert-Buffet N, Chanock SJ, Clavel-Chapelon F, Dumeaux V, Gaziano JM, Giovannucci EL, Haiman CA, Hankinson SE, Hayes RB, Henderson BE, Hunter DJ, Hoover RN, Johansson M, Key TJ, Khaw KT, Kolonel LN, Lagiou P, Lee IM, LeMarchand L, Lund E, Ma J, Onland-Moret NC, Overvad K, Rodriguez L, Sacerdote C, Sánchez MJ, Stampfer MJ, Stattin P, Stram DO, Thomas G, Thun MJ, Tjønneland A, Trichopoulos D, Tumino R, Virtamo J, Weinstein SJ, Willett WC, Yeager M, Zhang SM, Kaaks R, Riboli E, Ziegler RG, Kraft P. Eighteen insulin-like growth factor pathway genes, circulating levels of IGF-I and its binding protein, and risk of prostate and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010 Nov;19(11):2877-87.
38. Renehan AG, Harvie M, Howell A. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and breast cancer risk: eight years on. *Endocr Relat Cancer*. 2006 Jun;13(2):273-8.
39. Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group, Key TJ, Appleby PN, Reeves GK, Roddam AW. Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies. *Lancet Oncol*. 2010 Jun;11(6):530-42.
40. Eleni Petridou, Yannis Papadiamantis, Christos Markopoulos, Evangelos Spanos, Nick Dessypris, Dimitros Trichopoulos. Leptin and Insulin Growth Factor I in Relation to Breast Cancer. *Cancer Causes and Control*, 2000,11:383-388.
41. Vadgama JV, Wu Y, Datta G, Khan H, Chillar R. Plasma insulin-like growth factor-I and serum IGF-binding protein 3 can be associated with the progression of breast cancer, and predict the risk of recurrence and the probability of survival in African-American and Hispanic women. *Oncology*. 1999 Nov;57(4):330-40.
42. Cirillo D, Rachiglio AM, la Montagna R, Giordano A, Normanno N. Leptin signaling in breast cancer: an overview. *J Cell Biochem*. 2008 Nov 1;105(4):956-64.
43. Frankenberry KA, Skinner H, Somasundar P, McFadden DW, Vona-Davis LC. Leptin receptor expression and cell signaling in breast cancer. *Int J Oncol*. 2006 Apr;28(4):985-93.

44. Doyle SL, Donohoe CL, Lysaght J, Reynolds JV. Visceral obesity, metabolic syndrome, insulin resistance and cancer. *Proc Nutr Soc.* 2011 Nov 3:1-9.
45. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Trudeau ME, Koo J, Taylor SK, Hood N. Insulin- and Obesity-Related Variables in Early-Stage Breast Cancer: Correlations and Time Course of Prognostic Associations. *J Clin Oncol.* 2011 Dec 12.
46. Ray A, Cleary MP. Obesity and breast cancer: A clinical biochemistry perspective. *Clin Biochem.* 2011 Dec 8.
47. Barcellos-Hoff MH, Ewan KB. Transforming Growth Factor - beta and Breast Cancer: Mammary gland Development. *Breast cancer Res.*, 2000;2(2):92-9.
48. Sun L. Tumor-suppressive and promoting function of transforming growth factor beta. *Front Biosci.* 2004 May 1;9:1925-35.
49. Oft M, Heider KH, Beug H. TGFbeta signaling is necessary for carcinoma cell invasiveness and metastasis. *Curr Biol.* 1998 Nov 19;8(23):1243-52.
50. de Caestecker MP, Piek E, Roberts AB. Role of transforming growth factor-beta signaling in cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Sep 6;92(17):1388-402.
51. de Caestecker MP, Piek E, Roberts AB. Role of transforming growth factor-beta signaling in cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Sep 6;92(17):1388-402.
52. Gold LI. The role for transforming growth factor-beta (TGF-beta) in human cancer. *Crit Rev Oncog.* 1999;10(4):303-60.
53. Jakowlew SB. Transforming growth factor-beta in cancer and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2006 Sep;25(3):435-57.
54. Umemura S, Kurosumi M, Moriya T, Oyama T, Arihiro K, Yamashita H, Umekita Y, Komoike Y, Shimizu C, Fukushima H, Kajiwarra H, Akiyama F. Immunohistochemical evaluation for hormone receptors in breast cancer: a practically useful evaluation system and handling protocol. *Breast Cancer.* 2006;13(3):232-5.
55. Pinder SE, Ellis IO, Elston CW. Prognostic factors in primary breast carcinoma. *J Clin Pathol.* 1995 November; 48(11): 981-983.
56. Kuijt GP, Voogd AC, van de Poll-Franse LV, Scheijmans LJ, van Beek MW, Roumen RM. The prognostic significance of axillary lymph-node micrometastases in breast cancer patients. *Eur J Surg Oncol.* 2005 Jun;31(5):500-5.
57. Maaik de Boer, M.D., Carolien H.M. van Deurzen, M.D., Jos A.A.M. van Dijck, Ph.D., George F. Borm, Ph.D., Paul J. van Diest, M.D., Ph.D., Eddy M.M. Adang, Ph.D., Johan W.R. Nortier, M.D., Ph.D., Emiel J.T. Rutgers, M.D., Ph.D., Caroline Seynaeve, M.D., Ph.D., Marian B.E. Menke-Pluymers, M.D., Ph.D., Peter Bult, M.D., Ph.D., and Vivianne C.G. Tjan-Heijnen, M.D., Ph.D. Micrometastases or Isolated Tumor Cells and the Outcome of Breast Cancer. *N Engl J Med* 2009; 361:653-663.

58. Maaskant-Braat AJ, van de Poll-Franse LV, Voogd AC, Coebergh JW, Roumen RM, Nolthenius-Puylaert MC, Nieuwenhuijzen GA. Sentinel node micrometastases in breast cancer do not affect prognosis: a population-based study. *Breast Cancer Res Treat.* 2011 May;127(1):195-203.
59. Jansen RL, Hupperets PS, Arends JW, Joosten-Achjanie SR, Volovics A, Schouten HC, Hillen HF. MIB-1 labelling index is an independent prognostic marker in primary breast cancer. *Br J Cancer.* 1998 Aug;78(4):460-5.
60. Pietiläinen T, Lipponen P, Aaltomaa S, Eskelinen M, Kosma VM, Syrjänen K. The important prognostic value of Ki-67 expression as determined by image analysis in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1996;122(11):687-92.
61. Marchbanks PA, Curtis KM, Mandel MG, Wilson HG, Jeng G, Folger SG, McDonald JA, Daling JR, Bernstein L, Malone KE, Wingo PA, Simon MS, Norman SA, Strom BL, Ursin G, Weiss LK, Burkman RT, Spirtas R. Oral contraceptive formulation and risk of breast cancer. *Contraception.* 2011 Sep 28.
62. E B, D B, W B, K M, S R, C L. Relationship Between Use of Different Oral Contraceptive Formulations and Breast Cancer Risk Among Young Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012 Feb 15.
63. Imkampé AK, Bates T. Correlation of age at oral contraceptive pill start with age at breast cancer diagnosis. *Breast J.* 2012 Jan-Feb;18(1):35-40.
64. Hunter DJ, Colditz GA, Hankinson SE, Malspeis S, Spiegelman D, Chen W, Stampfer MJ, Willett WC. Oral contraceptive use and breast cancer: a prospective study of young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010 Oct;19(10):2496-502.
65. Poli A, Marangoni F, Visioli F. Alcohol consumption and breast cancer risk. *JAMA.* 2012 Feb 15;307(7):666.
66. Nishioka T, Kim HS, Luo LY, Huang Y, Guo J, Yan Chen C. Sensitization of epithelial growth factor receptors by nicotine exposure to promote breast cancer cell growth. *Breast Cancer Res.* 2011 Nov 15;13(6):R113.
67. Teppala S, Shankar A. Association between serum IGF-1 and diabetes among U.S. adults. *Diabetes Care.* 2010 Oct;33(10):2257-9.
68. Franky Dhaval Shah, Shilin Nandubhai Shukla, Pankaj Manubhai Shah, Patel HR, Prabhudas Shankerbhai Patel. Significance of alterations in plasma lipid profile levels in breast cancer. *Integr Cancer Ther.* 2008 Mar;7(1):33-41.
69. D.M.F. Pons-Anicet, B.P. Krebs, R. Mira & M. Namer. Value of CA 15:3 in the follow-up of breast cancer patients. *Br J Cancer.* 1987 May; 55(5): 567–569.
70. Bade LK, Goldberg JE, Dehut HA, Hall MK, Schwertfeger KL. Mammary tumorigenesis induced by fibroblast growth factor receptor 1 requires activation of the epidermal growth factor receptor. *J Cell Sci.* 2011 Sep 15;124(Pt18):3106-17.

71. Gonzalez-Perez RR, Xu Y, Guo S, Watters A, Zhou W, Leibovich SJ. Leptin upregulates VEGF in breast cancer via canonic and non-canonical signalling pathways and NFkappaB/HIF-1alpha activation. *Cell Signal.* 2010 Sep;22(9):1350-62.
72. Jacobs ET, Martínez ME, Alberts DS, Ashbeck EL, Gapstur SM, Lance P, Thompson PA. Plasma insulin-like growth factor I is inversely associated with colorectal adenoma recurrence: a novel hypothesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008 Feb;17(2):300-5.
73. Anders CK, Winer EP, Ford JM, Dent R, Silver DP, Sledge GW, Carey LA. Poly(ADP-Ribose) polymerase inhibition: "targeted" therapy for triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2010 Oct 1;16(19):4702-10.
74. Klener P. Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii. Grada Publishing, Praha 2010, s. 77-131. ISBN 978-80-247-2808-7
75. Zhoubné nádory v roce 2009. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. Praha, 2012. Dostupné na WWW: <<http://www.uzis.cz>>

12. Publikační a prezentační činnost autora

Publikace: 9

Publikace s impact faktorem: 3

1. Kucera R., Cerna M., Narsanska A., Svobodova S., Strakova M., Vrzalova J., Fuchsova R., Treskova I., Kydlicek T., Treska V., Pecen L., Topolcan O., Pazdiora P. Growth Factors and Breast Tumors, Comparison of Selected Growth Factors with Traditional Tumor Markers. *Anticancer Res.* 2011 Dec;31(12):4653-6
IF 1,656
2. Pesta M, Topolcan O, Holubec L Jr, Rupert K, Cerna M, Holubec LS, Treska V, Finek J, Cerny R. Clinicopathological assessment and quantitative estimation of the matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-7 and the inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in colorectal carcinoma tissue samples. *Anticancer Res.* 2007 Jul-Aug;27(4A):1863-7.
IF 1,656
3. Treska V, Liska V, Skalicky T, Sutnar A, Treskova I, Narsanska A, Vachtova M. Non-colorectal liver metastases: surgical treatment options. *Hepatogastroenterology.* 2012 Jan-Feb;59(113):245-8.
IF 0,677

Publikace v recenzovaných časopisech: 6

4. Černá M., Nářšanská A., Třeška V., Topolčan O. IGF1 a nádorové markery ve stádiích nádoru prsu. Rozhl. Chir., 2011, 90(12):684-690.
5. Šťastný K, Červinka V., Šiller V., Havlíček K., Gatěk J., Vachtová M., Zedníková I., Nářšanská A., Sůvová B., Třeška V., Kubala O., Prokop J., Ostruszka P., Dostalík J., Hornychohá H., Hovorková E., Ryška A., Hácová M., Rothröckel P., Vážan P., Velecký J., Hes O., Michal M., Horáček J., Buzrla P., Čegan M., Tomanová R., Dvořáčková J., Záhora J. Prediktivní faktory postižení nonsentinelových uzlin u karcinomu prsu - závěry české multicentrické studie sentinelových uzlin. Rozhl. Chir., 2011, 90(6):348-351.
6. Červinka V., Šťastný K, Šiller J., Havlíček K, Gatěk J., Vachtová M., Zedníková I, Nářšanská A., Sůvová B., Třeška V., Kubala O., Pelikán A., Prokop J., Ostruzka P., Dostalík J., Hornychohá I., Hovorková E., Ryška A., Hácová M., Rotrockel P., Vážan P., Velecký J., Hes O., Michal M., Horáček J., Burzla P., Čegan M., Tomanová R., Dvořáčková J., Záhora J. Can the axillary lymph node dissection be omitted in breast cancer ? Journal of Chinese Clinical Medicine. 2010; 5 (10): 565-570.
7. Vachtová M., Třeška V., Sůvová B., Hes O., Ebelenderová D. Karcinom prsu u nemocné po transplantaci ledviny – kazuistika. Rozhl.Chir., 2009; 88(11): 687-690.
8. Třeška V., Liška V., Skalický T., Sutnar A., Šmíd D., Nářšanská A., Vachtová M., Třešková I., Brůha J., Vyčítal O. Jaterní metastázy jiného než kolorektálního původu. Rozhl.Chir. 2010;89(3): 202-207.
9. Třeška V., Topolčan O., Vrzalová J., Šlauf F., Liška V., Skalický T., Sutnar A., Fichtl J., Nářšanská A., Vachtová M. Mohou nádorové markery předpovídat výsledek embolizace větve portální žíly u nemocných s primárně inoperabilním nádorem jater? Rozhl. Chir, 2011;90(5): 285-289.

13. Summary

Introduction:

The growth factors (GF) physiologically act already during the ontogenetic period when they control cell growth, proliferation, differentiation and apoptotic processes. In fact, they also play an important role in the pathogenesis of malignant disease biologically, they increase proliferative activity, cancer cells migration, distinct differentiation activity and suppress apoptotic processes. They have an important role in the formation and growth of the tumor but the key role they have in local progression and setting distant metastases. GF work as autoregulation factors in the neoplastic process as well as through their paracrine effects mediated by more or less specific receptors. Knowledge of molecular biology allows affect and suppress cellular processes by the aim oncological therapy.

Objective of the study:

Our goal was to determine such growth factors that would be useful in the pre-treatment diagnostic phase to determine the risk for a female-patient related to progression of the disease and long-term survival.

Material and methods:

Prospective, non-randomized study includes 98 female-patients with primarily surgically treated breast cancer in the study group, and 25 female-patients with benign lesion in the control group.

According to TNM classification the female-patients from the studied cohort were divided into 3 subgroups based on the clinical status: G1 - clinical stage I, G2 - clinical stage IIa, G3 - clinical stage IIb and III. Blood samples were taken immediately before the surgery and on day 9 following the surgery in all patients. All samples were tested for the levels of the selected growth factors (GF) – IGF-1, IGFBP-3, Leptin, HGF, EGF, TGF, VEGF levels and tumor markers (TM) - CA 15-3, CEA, TK, TPA and MonoTotal. The results were statistically analyzed, differences between the single subgroups were evaluated, and the GF and TM with a predictive value in relation to disease free interval (DFI) and overall survival (OS) were determined and performed significant risk factors.

Results:

Overall, 13 patients experienced progression of cancer, 10 patients died, in consequence breast cancer progression 7 of them.

A significantly shorter DFI and OS was found in the group testing for the G3 subgroup, in which the pre-operative and early post-operative levels of GF and TM were further evaluated. As for DFI, an increased risk is indicated by elevation of MonoTotal, Leptin, HGF, CA15-3, TK, TPA and CEA, and by elevation of MonoTotal, HGF, VEGF, TK and TPA, preoperatively and postoperatively, respectively. In relation to OS a risk is indicated by elevated MonoTotal, HGF, VEGF, CA 15-3, TK and TPA, and by elevated MonoTotal, HGF, VEGF, TK and TPA, pre-operatively and post-operatively, respectively. Pre-operatively reduced levels of TGF and EGF were found to be adverse prognostic factors of overall survival. We failed to prove any prognostic importance for IGF-1, IGFBP-3, and postoperatively for Leptin, CEA, TGF and EGF as well. Correlations with the prognostic usable GF and TM found association with oncological positive family and personal history, hormone therapy, including hormonal contraception, obesity, smoking and cancer incidence below the 40 years of age, first delivery after 30 years of age and menopause after 50 years of age. With regard to cancer we found a correlation with HER2 gene amplification and estrogen receptor negativity. For early cancers (subgroup G1 and G2) a relation between pre-operative and early the post-operative GF and TM levels and prognosis of patients was not statistically assessable.

By comparing the preoperative values of GF and TM between the studied and control group we failed to find a value that would determine a biological nature of the lesion.

Conclusion:

Pre-operative and early post-operative values of TK, TPA, Monototal, HGF, and pre-operative CA 15-3 value are important prognostic factors for disease progression and overall survival, while a perioperative determination of VEGF is an important prognostic indicator of overall survival in locally advanced breast cancer. When considering other risk factors they can select a "more risky" group of patients at the time of diagnosis. Therefore, we believe that neoadjuvant personalized oncological therapy and intensification of dispensarization care could provide improvement of prognosis for female-patients.

Keywords:

breast cancer - prognostic factors - growth factors - tumor markers – disease free interval - overall survival - dispensarization