

**UNIVERZITA KARLOVA**

Lékařská fakulta v Plzni

Chirurgická klinika, Fakultní nemocnice v Plzni



**NOVÉ MOŽNOSTI PREVENCE A  
MONITOROVÁNÍ U KARCINOMU PRSU**

Doktorandská disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.

Konzultant: RNDr. Marie Karlíková, Ph.D.

Plzeň 2019

MUDr. Andrea Hosnedlová

(roz. Ňaršanská)

## **Prohlášení o autorství**

Předkládám k posouzení a obhajobě disertační práci vypracovanou na závěr mého doktorandského studia na Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Plzni.

Prohlašuji tímto, že jsem doktorandskou disertační práci vypracovala pod vedením školitele a konzultantky samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité informační zdroje. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Zároveň souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce do databáze Univerzity Karlovy LF Plzeň.

V Plzni, dne 01. 02. 2019

MUDr. Andrea Hosnedlová

-----

podpis

## Poděkování

Moje poděkování patří všem, kteří mě po celé postgraduální studium podpořili a umožnili mi tak zdárně dokončit disertační práci. Jmenovitě pak děkuji:

- Mému školiteli - prof. MUDr. Vladislavu Třeškovi, DrSc., přednostovi Chirurgické kliniky Fakultní nemocnice Plzeň, Lékařské fakulty v Plzni, Univerzity Karlovy v Praze, za umožnění absolvování doktorského studia
- Prof. MUDr. Ondřeji Topolčanovi, CSc. za spolupráci při zpracování získaného materiálu a za odborné rady při přípravě přednášek a publikací
- RNDr. Marii Karlíkové, PhD. – mé konzultantce – za skvělé odborné vedení, cenné rady a výraznou podporu v průběhu studia
- Doc. RNDr. Ladislavu Pecnovi, CSc. a Ing. Stanislavu Kormundovi za statistické zpracování dat
- Prof. MUDr. Ondřeji Hesovi, PhD. za histologické zpracování materiálu
- MUDr. Iloně Zedníkové, PhD. – mé kolegyni z mamologického týmu
- V neposlední řadě chci poděkovat mému manželovi a celé své rodině za všestrannou podporu, pomoc a trpělivost.

*Tato práce vznikla za podpory projektu IGA Ministerstva zdravotnictví ČR č. NT14332-3/2013, dále Programu rozvoje vědních oborů Karlovy Univerzity (projekt P36) a Projektu Ministerstva zdravotnictví (Projekt koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00669806 – FN Plzeň).*

# Obsah

Prohlášení o autorství .....	2
Poděkování .....	3
Obsah .....	4
Abstrakt .....	6
Summary .....	8
Seznam použitých zkratk .....	11
Úvod .....	15
1.1 Karcinom prsu.....	15
1.2 Epidemiologie (incidence, prevalence a mortalita) .....	16
1.3 Etiologie a rizikové faktory .....	18
1.3.1 Predikce rizika karcinomu prsu .....	21
1.4 Klasifikace karcinomu prsu .....	22
1.4.1 Histopatologická klasifikace .....	22
1.4.2 Molekulární klasifikace nádorů prsu na základě profilu genové exprese..	25
1.4.3 TNM klasifikace a klinické stadium karcinomu prsu .....	27
1.4.4 Grading .....	30
1.4.5 Geneticky podmíněný karcinom prsu .....	31
1.5 Klinické příznaky.....	34
1.6 Diagnostika .....	35
1.6.1 Základní zobrazovací metody v mamologii.....	35
1.6.2 Bioptické vyšetření .....	36
1.6.3 Ostatní zobrazovací metody v mamologii .....	36
1.7 Léčba karcinomu prsu.....	38
1.7.1 Chirurgická léčba karcinomu prsu .....	38
1.7.2 Výkony na spádových mízních uzlinách .....	39
1.7.3 Radioterapie .....	41
1.7.4 Hormonální terapie .....	42
1.7.5 Chemoterapie .....	43

1.7.6	Biologická léčba .....	45
1.8	Lokoregionální recidiva a vzdálené metastázy .....	46
1.9	Dispenzarizace (Follow up) .....	47
1.10	Prognóza.....	48
1.11	Prognostické a prediktivní faktory .....	49
2	Karcinogeneze .....	50
3	Nádorové markery.....	53
3.1	Využití nádorových markerů v klinické praxi .....	53
3.2	Rozdělení a charakteristiky jednotlivých nádorových markerů .....	55
4	Cíle projektu.....	60
5	Pracovní hypotéza .....	61
6	Východiska.....	62
7	Soubor a metodika.....	63
7.1	Soubor nemocných .....	63
7.2	Metodika práce .....	64
7.3	Metodika histologického zpracování .....	66
7.4	Metodika laboratorního zpracování krevních vzorků.....	68
7.5	Metodika statistického zhodnocení dat.....	70
8	Výsledky.....	71
8.1	Deskriptivní statistika .....	71
8.2	Statistické zhodnocení sledovaných biomarkerů .....	79
8.3	Zhodnocení výsledků .....	112
9	Diskuze.....	114
	Závěr.....	117
10	Seznam použité literatury .....	119
11	Seznam vlastní publikační a přednáškové činnosti autora .....	134
11.1	Publikace s IF .....	134
11.2	Publikace v recenzovaných časopisech.....	135
11.3	Postery.....	136
11.4	Přednášková činnost.....	137
12	Přílohy .....	139

## Abstrakt

Úvod: Karcinom prsu patří mezi nejčastější nádorové onemocnění žen, jehož incidence celosvětově stoupá. Díky neustále se zdokonalujícím diagnostickým metodám, celoplošnému mamografickému screeningu a komplexní léčbě došlo v posledních letech ke snížení mortality. Je známo, že úspěšnost léčby závisí na časnosti diagnostiky karcinomu. Proto je snahou vědců hledat a optimalizovat laboratorní diagnostiku nádorů pomocí sérových či tkáňových nádorových markerů. Zatím však neexistuje biomarker vhodný pro screening nebo diagnostiku časného stadia karcinomu prsu.

Cíl studie: Naším hlavním cílem bylo studovat klasické nádorové markery a celou řadu dalších molekul spojených s procesem karcinogeneze, a to markery angiogeneze a lymfangiogeneze, růstové faktory, multifunkční proteiny a proteázy, s cílem zhodnotit jejich přínos pro posouzení agresivity nádoru, rozsah chirurgického výkonu, volbu následné terapie a záchyt recidivy. Dílčími cíli bylo porovnat předoperační hladiny těchto vybraných biomarkerů (CEA, CA 15-3, CYFRA 21-1, TPA, TK, MonoTotal, VEGF, EGF, IGF-1, IGF-BP3, Osteopontin, Osteoprotegerin, Matrixové metaloproteinázy MMP-2 a MMP-9) mezi skupinou pacientek s maligním a benigním onemocněním prsu. U nemocných s malignitou jsme hodnotili hladiny biomarkerů v závislosti na klinickém stadiu a v závislosti na stavu lymfatických uzlin a jejich přínos pro určení rozsahu chirurgického výkonu. Dalším cílem bylo navrhnout optimální algoritmus vyšetření biomarkerů pro záchyt recidivy a posledním cílem bylo zhodnotit celkové přežití (OS) a přežití do progresu (PFS) u nemocných s karcinomem prsu.

Soubor a metodika: Jednalo se o prospektivní nerandomizovanou studii, do které bylo zařazeno 206 nemocných s primárně chirurgicky léčeným karcinomem prsu a 43 pacientek s benigním nálezem v prsu (kontrolní skupina) v období od června 2012 do června 2015 s následným sledováním nemocných 4 roky a 5 měsíců.

Pacientky s malignitou (N=206) byly dále rozděleny dvojitým způsobem, a to, podle klinických stadií z hlediska prognózy na skupinu A (stadium I), skupinu B (stadium IIA) a skupinu C (stadium IIB a III) a podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile na skupinu 1 až 4, přičemž 1. skupinu tvořily pacientky s negativní sentinelovou uzlinou, 2. skupinu tvořily pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou bez dokončení disekce axily, 3. skupinu pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou a dokončenou disekcí axily, a 4. skupinu pacientky s primární disekcí axily. U všech nemocných byl proveden jeden krevní náběr ráno před operací. Ze vzorků byly stanoveny hladiny vybraných biomarkerů (viz výše). Výsledky byly statisticky zpracovány a hodnoceny statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Dále byly stanoveny prognosticky využitelné biomarkery ve vztahu k přežití do progresu (PFS) a k celkovému přežití (OS).

Výsledky: U biomarkerů CEA, CA 15-3 a CYFRA 21-1 byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi předoperačními hladinami u maligní a benigní skupiny (CEA **1.3 vs. 0.8 ng/mL, p < 0,0001**, CA 15-3 **12.0 vs. 9.0 kIU/L, p = 0,0037**, CYFRA 21-1 **1.3 vs. 1.0 µg/L, p = 0.0289**). Při hodnocení hladiny biomarkerů v maligní skupině podle klinického stadia byl mezi skupinou A a B zjištěn statisticky významný rozdíl pouze u CEA (**1.1 vs. 1.6 ng/mL, p = 0.0299**) a mezi skupinami B a C u TPA (**28 vs. 46.5 IU/L, p = 0.0081**), CYFRA

**21-1 (1.4 vs. 1.72 µg/L , p = 0.0004) a MonoTotal (51.25 vs. 63.35 IU/L, p = 0.0232).** U nádorového markeru CA 15-3 nebyl mezi skupinami dle klinického stadia zjištěn statisticky významný rozdíl. Při hodnocení hladiny biomarkerů mezi skupinami 1 až 4, tedy v závislosti na stavu lymfatických uzlin byly zjištěny statisticky významně vyšší hladiny **IGF-1 (195 ng/ml, p = 0.0337 vs. 157 ng/ml ) a VEGF (166 ng/ml, p = 0.0438 vs. 69.4 ng/ml)** u pacientek s pozitivní sentinelovou uzlinou oproti pacientkám s negativní sentinelovou uzlinou, avšak rozdíl mezi hladinami IGF-1 a VEGF u pacientek s negativní SN a pozitivní SN u méně agresivního nádoru, u kterých nebyla dokončena axilární disekce, prokázán nebyl. Na menším souboru nemocných s pozitivní sentinelovou uzlinou byl prokázán statisticky významný rozdíl hladin MMP-2 (byly nižší). Dále bylo z výsledků odvozeno, že pro záchyt recidivy či progresse je nejlepší kombinace nádorových markerů CA 15-3 a CYFRA 21-1, naproti tomu stanovení CEA je bezcenné.

Dále bylo prokázáno, že statisticky významně kratší celkové přežití (OS) a přežití do progresse (PFS) má skupina C (stadium IIB a III), která má horší prognózu proti skupině A (stadium I) a B (stadium IIA). Stejný výsledek má i skupina 4 (pacientky s primární disekcí axily), avšak bez statistické významnosti. Dále bylo prokázáno, že nemocné, které podstoupily dokončení disekce axily v případě nálezu metastatické sentinelové uzliny z peroperační biopsie (skupina 3) mají pouze o 1% lepší čas do progresse (PFS) a o 8% lepší přežití (OS) než skupina 2, která disekci axily nepodstoupila. Tento výsledek je bez statistické významnosti.

Z našich výsledků byly dále zjištěny statisticky významné rozdíly v přežívání (OS) v maligní skupině v závislosti na hladinách TPA, TK a CYFRA 21-1. Rozdíly v přežívání v závislosti na hladinách ostatních tumor markerů a růstových faktorů (CA 15-3, CEA, MonoTotal, OPN, OPG, IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF) nebyly shledány jako statisticky významné. Dále bylo prokázáno, že předoperační hodnoty všech nádorových markerů nad cut off (CA15-3, CEA, TPA, TK, MonoTotal), nad medián (CYFRA 21-1, Osteopontin, Osteoprotegerin, MMP2, MMP9) a pod medián (IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF) u nichž je hodnota Hazard ratio  $\geq 1$  znamená kratší PFS a OS.

Závěr: Naše práce prokázala, že vyšetření určitých biomarkerů, resp. jejich kombinace by mohlo být opodstatněné v klinické praxi, zejména v časně diagnostice recidivy (předpověď recidivy onemocnění s předstihem několika měsíců před zobrazovacími metodami) či progresse karcinomu prsu, ale i v případě pokročilejších stadií pro zintenzivnění dispenzární péče, případně změnu onkologické léčby, nicméně tato tvrzení si vyžadují ověření v rozsáhlejší klinické studii. Kombinace více biomarkerů zvyšuje senzitivitu záchytu recidivy. V naší práci se ukázala jako slibná kombinace CA 15-3 a CYFRA 21-1. V procesu rozhodování chirurgického výkonu v axile stojí za zvážení využití stanovení biomarkerů IGF-1 a VEGF u pacientek se suspektními axilárními uzlinami, pro jejich schopnost lymfangiogeneze a tím diseminaci nádoru lymfatickými cestami. Statistickým hodnocením našeho souboru bylo ve shodě s literárními údaji dále prokázáno, že staging je nejdůležitějším prognostickým faktorem z hlediska progresse nádorového onemocnění a celkového přežití obecně, což se nám podařilo potvrdit.

Klíčová slova: karcinom prsu – prognostické faktory – biomarkery – přežití do progresse (PFS) – celkové přežití (OS)

## Summary

Introduction: Breast cancer is one of the most common cancer in women, whose incidence rate is significantly increasing worldwide. Mortality has been reduced over the past few years, thanks to constantly improving diagnostic methods, full-scale mammography screening as well as comprehensive treatment. The success rate of treatment is known to depend on the earliness of diagnosis of breast cancer. Therefore, the scientists endeavour to find and optimize laboratory diagnosis of tumors using serum or tissue tumor markers. However, thus far, there is no biomarker suitable for screening or diagnosis of the early stage of breast cancer.

Aim of the study: Our main goal was to study classic tumor markers and many other molecules associated with the process of carcinogenesis, namely markers of angiogenesis and lymphangiogenesis, growth factors, multifunctional proteins and proteases to assess their benefit of evaluation of tumor aggressiveness, extent of surgery, choice of the subsequent therapy and recurrence detection. A partial objective was to compare preoperative levels of these biomarkers (CEA, CA 15-3, CYFRA 21-1, TPA, TK, MonoTotal, VEGF, EGF, IGF-1, IGF-BP3, Osteopontin, Osteoprotegerin, Matrix Metalloproteinases MMP-2 and MMP-9) between a group of patients with malignant and benign breast disease. In patients with malignant disease we evaluated the levels of biomarkers depending on the clinical stage as well as the condition of the lymph nodes and their benefit of determination of the extent of surgery. The next aim was to propose an optimal algorithm of biomarker screening for recurrence detection and the final objective was to evaluate overall survival (OS) and progression free survival (PFS) in breast cancer patients.

Methods: It was a prospective, non-randomized study involving 206 women with breast cancer treated primarily with surgery and 43 women with benign breast tumors (control group) from June 2012 to June 2015 followed by monitoring these patients in the course of four years and five months.

Besides, breast cancer patients (N=206) were divided in two ways, according to clinical stages into Group A (Stage I), Group B (Stage IIA) and Group C (Stage IIB and III) from the prognostic point of view and in accordance with lymph node status and type of axillary performance into four groups. The first group included sentinel node-negative patients, the second group involved women with a positive sentinel node without axillary dissection. In the third group, there were patients with a positive sentinel node and completed axillary dissection, and the fourth group consisted of patients with primary axillary dissection. One blood sample was taken in all patients in the morning before surgery. Afterwards, levels of chosen biomarkers were determined from these samples (see above). Results were statistically processed and statistically significant differences were evaluated between particular groups. Moreover, prognostically useful biomarkers were determined in relation to progression free survival (PFS) and overall survival (OS).

Results: A statistically significant differences between preoperative levels in the malignant and benign groups were detected in biomarkers CEA, CA 15-3 and CYFRA 21-1 (CEA 1.3 vs. 0.8ng/mL,  $p < 0,0001$ , CA 15-3 12.0 vs. 9.0 kIU/L,  $p = 0,0037$ , CYFRA 21-1 1.3 vs. 1.0  $\mu\text{g/L}$ ,  $p = 0.0289$ ). According to the clinical stage, the assessment of biomarker



levels in the malignant group showed the only statistically significant difference in **CEA (1.1 vs. 1.6 ng/mL, p = 0.0299)** between Group A and Group B and in **TPA (28 vs. 46.5 IU/L, p = 0.0081)**, **CYFRA 21-1(1.4 vs. 1.72 µg/L , p = 0.0004)** and **MonoTotal (51.25 vs. 63.35 IU/L, p = 0.0232)** between Group B and Group C. Based on the clinical stage, there was no statistically significant difference between groups related to the tumor marker CA 15-3. Although the evaluation of biomarker levels in four groups depending on lymph node status detected statistically significant higher levels of **IGF-1(195 ng/ml, p = 0.0337 vs. 157 ng/ml )** and **VEGF (166 ng/ml, p = 0.0438 vs. 69.4 ng/ml)** in sentinel node positive patients versus negative sentinel node patients, there was no difference between levels of IGF-1 and VEGF in patients with negative sentinel lymph node and positive sentinel lymph node related to less aggressive tumors where axillary dissection was not finished. A statistically significant difference of MMP-2 levels was found in a smaller number of patients with positive sentinel lymph node (they were lower). Further, the results showed that the combination of CA 15-3 and CYFRA tumor markers is the best option to detect recurrence or progression, while CEA determination is worthless.

Besides, it was proved that statistically significantly shorter overall survival (OS) and progression free survival (PFS) could be found in Group C (Stage IIB and Stage III) having a poorer prognosis, in comparison with Group A (Stage I) and Group B (Stage IIA). The same results were also seen in Group 4 (patients with primary axillary dissection, but without statistical significance. Furthermore, the study showed that patients who had completed axillary dissection in case of metastatic sentinel lymph node from preoperative biopsy (Group 3) had only 1% better time to progression (PFS) and 8% better overall survival (OS) than Group 2 without axillary dissection. This result is not statistically significant.

Our results also showed statistically significant differences in overall survival (OS) in the malignant group, depending on levels of TPA, TK and CYFRA 21-1. The differences in survival depending on levels of other tumor markers and growth factors (CA 15-3, CEA, MonoTotal, OPN, OPG, IGF-BP3, IGF-1, EGF and VEGF) were not found to be statistically significant.

It was also proved that pre-operative levels of all tumor markers above the cut-off (CA15-3, CEA, TPA, TK and MonoTotal), above the median (CYFRA 21-1, Osteopontin, Osteoprotegerin, MMP - 2 and MMP - 9) and below the median (IGF-BP3, IGF-1, EGF and VEGF) where the Hazard ratio is  $\geq 1$  means shorter PFS and OS.

Conclusion: Our study showed that screening of particular biomarkers or their combination might be justified in clinical practice, especially in early diagnosis of recurrence (disease recurrence is predicted several months earlier than it is by using imaging methods) or breast cancer progression as well as in case of advanced stages to intensify dispensary care or to change oncological therapy. Nevertheless, these statements have to be verified in a larger clinical trial. The combination of multiple biomarkers increases a sensitivity of recurrence detection. The combination of CA 15-3 and CYFRA 21-1 appeared to be auspicious in our study. Deciding to perform axillary surgery, it is worth considering using the determination of IGF-1 and VEGF biomarkers in patients with suspicious axillary lymph nodes for their lymphangiogenesis ability followed by tumor dissemination by lymphatic pathways. In conformity with literary data, the statistical assessment of our group also showed that staging

was the most important prognostic factor in terms of cancer progression and overall survival, which we managed to confirm.

Key words: breast cancer - prognostic factors – biomarkers -- progression free survival (PFS) - overall survival (OS)

## Seznam použitých zkratk

AD	Axillary Dissection (disekce či exenterace axily)
ACOSOG Z0011	American College of Surgeons Oncology Group
ALCAM	Aktivované molekuly adhezních buněk leukocytů
ALL	Akutní lymfoidní leukemie
APBI	Accelerated partial breast irradiation (akcelerovaná parciální radioterapie prsu)
ASCO	American Society of Clinical Oncology
AUC	Area Under Curve
BCS	Breast Conserving Surgery (prs šetřící operace)
BM	Bazální membrána
BRCA 1	Gen BReast CAncer 1
BRCA 2	Gen BReast CAncer 2
BMI	Body Mass Index
CA 15-3	Specifický marker karcinomu prsu (Karcinomový antigen)
CC	Core Cut biopsie
CEA	Karcinoembryonální antigen
CIS	Carcinoma in situ
CMIA	Chemiluminiscenční imunoanalýza na magnetických mikročásticích
CR	Collaborative Reanalysis
CT	Počítačová tomografie
CTC	Cirkulující nádorové buňky
CYFRA 21-1	Cytokeratinový fragment
ČOS ČLS JEP	Česká onkologická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně
ČSKB ČLS JEP	Česká společnost klinické biochemie České lékařské společnosti

ČSNM ČLS JEP	Jana Evangelisty Purkyně Česká společnost nukleární medicíny – sekce imunoanalytických metod České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně
DCIS	Duktální karcinom in situ
ECM	Extracelulární matrix
EGF	Epidermální růstový faktor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EGTM	European Group on Tumor Markers
ER	Estrogenový receptor ( $\gamma$ )
ESMO	European Society for Medical Oncology (Evropská společnost pro lékařskou onkologii)
FISH	Fluorescenční in situ hybridizace
FNAC	Fine-needle aspiration cytology (biopsie tenkou jehlou)
FSH	Folikuly stimulující hormon
HAK	Hormonální antikoncepce
HT	Hormonální léčba
CHT	Chemoterapie
IA	Inhibitory aromatázy
IGF-1	Inzulinu podobný růstový faktor 1
IGF-BP3	Protein vázající inzulinu podobný růstový faktor 3
IRMA	Imunoradiometrická analýza
ITC	Izolované nádorové buňky
IVF	In Vitro Fertilizace
LCIS	Lobulární karcinom in situ
MG	Mamografie
MIB1	Proliferační aktivita

MMP2	Matrixové metaloproteináza 2
MMP9	Matrixové metaloproteináza 9
MRI	Magnetická rezonance
MWS	Million Women Study 2003
NAC	Neoadjuvantní chemoterapie
NACB	National Academy of Clinical Biochemistry
NCCN	The National Comprehensive Cancer Network
OPN	Osteopontin
OPG	Osteoprotegerin
OS	Overall survival (celkové přežití)
PET	Pozitronová emisní tomografie
PET/CT	Vyšetření pozitronovou emisní tomografií v kombinaci s výpočetní tomografií
PET/MRI	Hybridní vyšetření pozitronovou emisní tomografií a magnetickou rezonancí
PFS	Progression free survival (přežití bez progresse onemocnění)
PR	Progesteronový receptor (y)
PSA	Prostatický specifický antigen
RAS	Onkogen
RF	Růstový faktor (y)
ROC	Receiver Operating Characteristic (ROC křivka)
RS	Recurrence score (skóre rekurence)
RT	Radioterapie
RTG	Rentgen
SERD	Selektivní down regulátor estrogenového receptoru
SERM	Selektivní modulátory estrogenových receptorů
SN	Sentinelová uzlina

SLNB	Biopsie sentinelové uzliny
TAD	Targeted axillary dissection (cílená axilární disekce)
T-DM1	Ado-trastuzumab emtansin
TK	Thymidinkináza
TM	Tumor marker/s (nádorový marker/y)
TMX	Tamoxifen
TNF	Tumor Necrosis Factor
TNM	Mezinárodní klasifikace zhoubných novotvarů
TPA	Tkáňový polypeptidový antigen
UICC	Union for International Cancer Control
USG	Ultrasonografie
VEGF	Vascular endothelial growth factor (vaskulární endoteliální růstový faktor)
VZP	Všeobecná zdravotní pojišťovna
WHO	Světová zdravotnická organizace
xMAP	x Multiple analyte profiling

# Úvod

## 1.1 Karcinom prsu

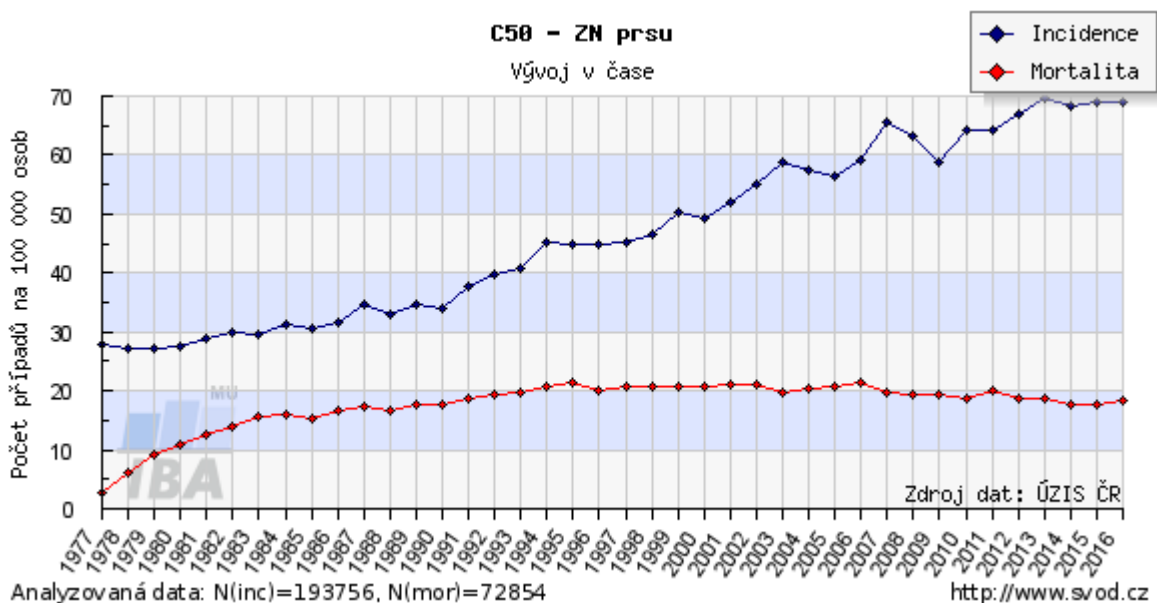
Karcinom prsu je systémové heterogenní zhoubné onemocnění mléčné žlázy. Vzniká v důsledku nahromadění mutací genů regulujících buněčný růst, buněčnou diferenciaci, reparaci poškozené genetické informace, proces stárnutí buňky a apoptózu. Zhruba v 80% případů se jedná o tzv. sporadický karcinom, jehož rozvoj je podmíněn především zevními faktory (např. faktory životního stylu a prostředí). Menší procento (cca 10-15 %) tvoří genetický či familiární karcinom podmíněn dědičností a sníženou funkcí imunitního systému. Invazivní karcinom prsní žlázy splňuje všechny základní vlastnosti maligních nádorů: roste nekontrolovatelně a invazivně, metastazuje jak lymfatickou cestou do lokoregionálních i vzdálených lymfatických uzlin, tak hematogenně nejčastěji do plic, jater, kostí a mozku, či per continuitatem jako implantační metastázy na kůži. Postihuje v naprosté většině případů ženy kolem 60. roku věku. Výjimkou však nejsou ani nádory prsu v mladších věkových skupinách, nejčastěji kolem 35. roku věku, nebo v období těhotenství či laktace [1].

Je známo, že úspěšnost léčby závisí na časnosti diagnostiky karcinomu. Proto je už od 60. let minulého století snahou vědců hledat a optimalizovat laboratorní diagnostiku nádorů pomocí sérových či tkáňových nádorových markerů. Zatím však neexistuje biomarker vhodný pro screening nebo diagnostiku časného stadia karcinomu prsu [2]. V současnosti nám k časně diagnostice prognosticky příznivějších stadií karcinomu prsu nejvíce přispívá populační screeningový program, díky němuž se karcinom prsu stává jednou z nejlépe léčitelných a vyléčitelných malignit.

## 1.2 Epidemiologie (incidence, prevalence a mortalita)

Karcinom prsu je po ne-melanomových kožních nádorech nejčastějším onkologickým onemocněním ženské populace. Dle nejnovějších údajů z Národního onkologického registru publikovaných v září 2018 dosáhl v České republice v roce 2016 počet nově diagnostikovaných nádorů prsu u žen počtu 7220, což představuje více než 134,4 případů na 100 000 žen. Karcinom prsu tedy dosáhl v tomtéž roce hodnotu téměř 18 % ze všech hlášených zhoubných nádorů u žen v rámci České republiky. Celosvětově tvoří přibližně 25 % všech nádorů u žen, s incidencí kolem 1,7 milionu nových případů každoročně. U mužů je karcinom prsu vzácný (výskyt přibližně 1 %), avšak rovněž zde dochází k pozvolnému zvyšování incidence [3].

Vývoj incidence karcinomu prsu v posledních desetiletích je dokumentován na obrázek 1. Trend incidence je v celém sledovaném období od roku 1977 setrvale rostoucí. Prudký nárůst byl zaznamenán po roce 2002 v souvislosti se zavedením plošného mammárního screeningu, což pravděpodobně způsobilo vyšší záchyt nejen novotvarů in situ prsní žlázy (v roce 2016 bylo evidováno 649 případů in situ karcinomů, oproti roku 2011 nárůst až o 41,1 %), ale i raných stadií karcinomu prsu (I. klinické stadium bylo v roce 2016 diagnostikováno u 3417 žen a II. stadium připadalo na 2188 pacientek) [3].



Obrázek 1 - Incidence a mortalita karcinomu prsu – vývoj v čase, počet případů na 100 000 osob

Vysoká incidence karcinomu prsu je pozorována ve všech vyspělých zemích světa, především v zemích severní a západní Evropy a severní Ameriky, což je nejspíše dáno vlivem prostředí, ve kterém žijeme. Incidence karcinomu prsu je v západních zemích oproti Dálnému východu pětinašobná. Studie japonských přistěhovalců na Havaji a v USA ukazuje vyrovnávání incidence mezi přistěhovalci a hostitelskou zemí během jedné až dvou generací [4]. Z toho se usuzuje na větší význam zevních faktorů prostředí oproti faktorům genetickým. Česká republika zaujímá ve srovnání se zeměmi Evropy 18. místo v počtu nově diagnostikovaných nádorů prsu na 100 000 žen a 37. místo v počtu úmrtí na 100 000 žen. Při





### 1.3 Etiologie a rizikové faktory

Etiologie karcinomu prsu stejně jako u zhoubných nádorů jiných orgánů není známá. Jisté je, že rozhodujícími etiologickými faktory jsou mutace (somatické a zárodečné), které mohou v součinnosti s určitými rizikovými faktory působit jako spouštěč nádorového procesu. Známe mnoho určitých rizikových faktorů, které pravděpodobnost onemocnění zvyšují. Celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu u běžné ženy v naší populaci se pohybuje okolo 10-12 % [7].

Mezi hlavní (neovlivnitelné) rizikové faktory patří:

#### a) Věk

Se stoupajícím věkem narůstá riziko vzniku karcinomu prsu v důsledku kumulace mutagenních vnějších faktorů a naopak postupného vyčerpání přirozených obranných mechanismů [8].

#### b) Rasa

Bělošky jsou postiženy karcinomem prsu častěji než Afroameričanky, nejmenší riziko mají Hispánky a Asiatky [8].

#### c) Genetické a vrozené faktory

Důležitým rizikovým faktorem je genetická predispozice. Asi 5-10 % karcinomů prsu je podmíněno pozitivitou mutace supresorových genů BRCA1, BRCA2 (méně často genů p53, PTEN nebo STK11), které jsou zodpovědné za mnohonásobně vyšší riziko vzniku karcinomu prsu (tzv. *hereditární karcinom prsu*). Nebo se může jednat o tzv. *familiární výskyt*, což znamená výskyt karcinomu prsu v rodině u prvostupňových pokrevních příbuzných (u matky, tety, sestry zejména v mladším věku a často oboustranně) bez průkazu mutace genů BRCA1,2 a dalších. U této skupiny žen je riziko vzniku karcinomu prsu 2-3 násobně zvýšené oproti běžné populaci [9]. Specifikem je židovská populace Ashkenazi s 2% výskytem specifické zárodečné mutace v genu *BRCA1* - 185delAG a 5382insC [10].

#### d) Výskyt premaligních lézí.

Jde především o nález duktálního karcinomu in situ (DCIS) jakožto přímého prekursoru invazivního karcinomu, dále lobulárního karcinomu in situ (LCIS) jako indikátoru zvýšeného rizika vzniku karcinomu prsu a benigní proliferativní změny s atypii (např. sklerozující adenóza či atypická duktální či lobulární hyperplazie), kterých nález může rovněž znamenat vyšší riziko vzniku karcinomu prsu [11], [12].

#### e) Karcinom prsu v osobní anamnéze

Výskyt samotného karcinomu prsu je spojen nejen s rizikem lokální recidivy, ale i s přibližně dvojnásobným rizikem vzniku druhostranného karcinomu prsu [13].

Mezi vedlejší (ovlivnitelné) rizikové faktory patří:

a) Hormonální faktory

Vznik karcinomu prsu může být podmíněn délkou menoaktivního období, tedy délkou expozice estrogenů v organismu. Proto je *časná menarché* před 12. rokem života a *pozdní nástup menopauzy* po 55. roce života považováno za rizikový faktor. Čím delší je toto období, tím větší je riziko vzniku karcinomu prsu. Za rizikové se dále považuje podávání *hormonální substituční terapie* (nejčastěji za účelem minimalizace postmenopauzálních symptomů), která jednoznačně zvyšuje riziko vzniku karcinomu prsu 1,5-4 násobně, což potvrzuje několik metaanalýz (např. MWS - Million Women Study 2003, CR - Collaborative Reanalysis) [14], [15]. Naopak, vlivem ústupu od indikace HST došlo ve vyspělých zemích relativně rychle k poklesu incidence karcinomu prsu až o 24%. Problematická je však i *hormonální antikoncepce* (zejména estro-gestagenní kombinace v režimu 21+7) používaná především u žen do 35 let věku, nulipar a nekuřáček. Dle dostupných metaanalýz dochází k 1,5 násobnému zvýšení rizika vzniku karcinomu prsu u žen, které začaly HAK užívat před 20. rokem věku v délce přesahující 4-5 let a 2,5 násobnému zvýšení výskytu prognosticky nepříznivých triple negativních karcinomů ve věku do 40 let, přičemž k poklesu rizika dochází až po deseti letech od ukončení podávání HAK [8], [16]. Vyšším rizikem jsou ohroženy také ženy, které podstupují *hormonální stimulaci před in-vitro fertilizací* (IVF), zejména opakovaně. V současnosti jsou velmi diskutovanou samostatnou kapitolou ženy absolvující IVF s hormonální stimulací po prodělaném karcinomu prsu, s pozitivní rodinnou anamnézou, ev. BRCA pozitivní ženy, u kterých je riziko vzniku či relapsu karcinomu prsu mnohonásobně vyšší a je otázkou, zda by vůbec měly tuto metodu podstupovat [16], [17]. Studie jsou však nejednotné a je vhodné delší sledování situace. Dlouhodobé expozici hormonů jsou taktéž vystaveni *transsexuálové*, u kterých je díky tomu zaznamenáno vyšší riziko vzniku karcinomu prsu zejména v mladším věku, a to jak v časném období (do 10 let), tak po dlouhodobém užívání hormonů 30 let a více [18].

Dalším rizikovým faktorem je *nuliparita, první gravidita po 30. roce života a krátká laktace*. Je prokázáno, že těhotenství a laktace redukuje celkový počet menstruačních cyklů, čímž redukuje riziko vzniku karcinomu prsu [19].

V současné době je velkou otázkou obsah různých škodlivých (kancerogenních či mutagenních) látek - herbicidů, pesticidů, antibiotik, hormonů (estrogenů) či jiných toxických látek (např. akrylamid, polychlorované bifenylly, DDT) *v životním prostředí* (např. ve vodě, v půdě, v potravinách, v PET láhvích atd.) a jeho dopad na zdraví lidstva [20].

b) Ovlivnění imunity

Dalším rizikovým faktorem je expozice ionizujícím zářením, zvláště před 40. rokem života, nebo v době vývoje prsní žlázy (např. radiace krku či hrudníku pro Hodgkinovu chorobu) [21], [22] a imunosuprese (např. po stem cell transplantaci, kde je při užívání imunosupresiv vyšší riziko sekundárních malignit, dále dlouhodobé užívání kortikoidů nebo chemoterapie) [23].

### c) Faktory životního stylu

Za rizikové pro vznik všech malignit a zejména karcinomu prsu se považuje zvýšená konzumace alkoholu, protože alkohol inhibuje opravné mechanismy v DNA a ovlivňuje hladinu ženských pohlavních hormonů [24], kouření kvůli přítomnosti karcinogenních polyaromatických uhlovodíků [25] a stres. Dalším důležitým faktorem jsou stravovací návyky, které se až v 35% podíl na vzniku rakoviny obecně. Zejména zvýšený příjem tuků ve stravě snižuje aktivitu některých důležitých buněk imunitního systému a ovlivňuje produkci estrogenů [26]. Obezita či nadměrná tuková zásoba je u postmenopauzálních žen spojena s vyšší plazmatickou koncentrací estrogenů z androgenních prekurzorů [13]. Naopak strava bohatá na ovoce, zeleninu a vlákninu může snižovat riziko vzniku karcinomu prsu. Za neméně důležitý rizikový faktor přispívající ke vzniku nejen karcinomu prsu patří nedostatek fyzické aktivity [27]. Zvýšená pohybová aktivita snižuje produkci IGFBP-1, proteinu ovlivňující stav IGF a produkci steroidních hormonů v ovariích. Mnohé studie potvrzují, že dalším rizikovým faktorem ovlivňujícím vznik karcinomu prsu u žen jsou noční práce či služby v délce více než 10 let [28].

### 1.3.1 Predikce rizika karcinomu prsu

Znalost výše uvedených rizikových faktorů nám pomůže odhalit rizikovou skupinu pacientek, které si zasluhují pozornost. Pro plánování účinných programů primární a sekundární prevence zaměřených na ženy se zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu je nezbytné, aby lékař disponoval nástrojem, který mu umožní toto zvýšené riziko včas a spolehlivě odhalit.

Ve snaze o predikci míry rizika vzniku karcinomu prsu celosvětově byly v posledním desetiletí vytvořeny statistické modely kombinující významnost různých rizikových faktorů (např. BRCAPRO, BODICEA, IBIS, CLAUS) [29], [30], [31]. Model, který umožňuje odhadnout krátkodobé (pětileté) a celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu vypracoval pracovní tým pod vedením doktora Gaila. Gailův model je založen na vícerozměrné analýze následujících faktorů: věk, věk menarche, věk prvního porodu, počet biopsií prsu, přítomnost atypické duktální hyperplazie v biopsickém vzorku, počet příbuzných prvního řádu s karcinomem prsu a etnikum [32], [33]. Používá se k výběru žen pro chemoprevenci tamoxifenem. Gailův model je však často kritizován pro podcenění významu rodinné anamnézy a také proto, že neobsahoval další faktory jako je počet gravidit, BMI, zánět prsu v anamnéze či počet příbuzných prvního řádu s jakýmkoliv karcinomem, které se ukázaly být pro naši populaci podstatné. Rozsáhlou studií probíhající v ČR v letech 2000-2004 bylo prokázáno, že tento model je nevhodný pro českou populaci (riziko spíše nadhodnocoval) [34]. A to i z důvodu, že relativní váha většiny rizikových faktorů je výrazně odlišná od populace severoamerických žen bílé rasy.

Proto byl v České republice vypracován Pecnův model k predikci individuálního rizika karcinomu prsu u každé ženy, který zahrnuje tyto rizikové faktory: věk, index hmotnosti, věk menarche, věk prvního porodu, počet gravidit, počet příbuzných prvního stupně s karcinomem prsu (matka, sestra, dcera), počet příbuzných prvního a druhého stupně s jakoukoliv malignitou, počet biopsií prsu v minulosti, přítomnost atypické duktální hyperplazie v biopsii, zánět prsu v anamnéze. Tento model je volně k dispozici na [www.koc.cz/pro-lekare/zdravotnicke-vypocty/riziko-vzniku-nadoru-prsu/](http://www.koc.cz/pro-lekare/zdravotnicke-vypocty/riziko-vzniku-nadoru-prsu/) a měl by být implementován do běžné klinické praxe, aby byla identifikována vysoce riziková skupina pacientek (pacientky s prekancerózami či s hereditárním onemocněním) od nížce či průměrně rizikových žen [35]. Dispenzarizace nížce a středně rizikových žen je považováno za ekonomicky náročné a ze zdravotního hlediska nepřínosné, nevede ani k časnému zachycení malignity v prsu, ani ke snížení jejich incidence. U vysoce rizikové skupiny pacientek je pak naopak nutná intenzifikace dispenzárního schématu, především dřívější zahájení screeningu a časnější kontroly. V současné době již existuje na internetu množství kalkulátorů k predikci rizika vzniku karcinomu prsu (např. <https://www.assessyourrisk.org/>) a další modely se neustále vyvíjejí či modifikují [36].

## 1.4 Klasifikace karcinomu prsu

Doba, kdy postačovalo stanovení vlastní diagnózy, grade a TNM stadia jsou již nenávratnou minulostí. Pro kvalifikované rozhodování o volbě optimální systémové léčby je dnes nutné stanovení řady dalších parametrů – morfologických, imunohistochemických i molekulárně-genetických, které slouží onkologovi jako prognostické a zejména prediktivní markery.

### 1.4.1 Histopatologická klasifikace

Různorodost klasifikačních systémů poukazuje na to, jak heterogenním onemocněním karcinomu prsu je. Existuje několik histopatologických klasifikací (dle WHO, AFIP, dle Rosen's Breast Pathology), ale nejčastěji se používá klasifikace Světové zdravotnické organizace (WHO), která zahrnuje všechny neoplastické a preneoplastické léze prsu a právem tedy patří do rukou zkušeného patologa. „Tradiční“ histopatologická diagnóza je stanovena na základě posouzení morfologického vzhledu a charakteru růstu nádorových buněk, které určují, o jaký histologický typ nádoru se jedná, dále je posuzován charakter růstu nádoru (in situ, invazivní), histopatologický stupeň diferenciacce (grade 1-3), vztah nádoru k cévám (lymfangioinvaze, invaze do krevních cév) a k okolním strukturám (kůže, pectorální svaly).

Histopatologická klasifikace karcinomu prsu dělila karcinomy na duktální, lobulární a ostatní (např. papilární, mucinózní, medulární karcinomy aj.) až do roku 2012, kdy došlo k nejvýznamnější změně, a klasifikace dle WHO byla revidována. Výsledkem revize byla změna terminologie *invazivního duktálního karcinomu* na *invazivní karcinom prsu nespeciálního typu* [37], [38]. Tato revidovaná verze klasifikace dle WHO je zaměřena zejména na invazivní karcinomy, prekursorové léze, vzácné typy nádorů a některé benigní léze (nejsou předmětem sdělení této práce) a doporučuje používat názvosloví pro patologické typy uvedené v tabulce 1 [39]. Zde je nutno poznamenat, že na rozdíl od invazivních karcinomů, kde je způsob léčby a prognóza podobná mají preinvazivní formy (in situ) zásadní rozdíly v léčbě i prognóze. Zatímco k duktálnímu karcinomu in situ se přistupuje jako k malignitě, lobulární karcinom in situ je považován pouze za ukazatele zvýšeného rizika vzniku karcinomu prsu a nevyžaduje chirurgickou intervenci, ale je nutná intenzivní sekundární prevence [11]. Co se týká procentuálního zastoupení invazivních karcinomů, až v 70-80% se jedná o histologický nález invazivního karcinomu nespeciálního typu (dříve duktální), méně častý je invazivní lobulární karcinom (10-15 %) a ostatní typy karcinomů jsou zastoupeny v 5-10% [13].

Tabulka 1 - Zestručněná histologická klasifikace podle WHO 4. vydání, 2012

<b>I. Karcinomy in situ</b>	
1. Lobulární	Lobulární karcinom in situ
	Pleiomorfní lobulární karcinom in situ
2. Duktální	Duktální karcinom in situ (všechny morfologické varianty)
3. Papilární	Intraduktální papilární karcinom
	Opouzďřený papilární karcinom
	Solidně papilární karcinom in-situ
<b>II. Invazivní karcinomy</b>	
1. Nespeciálního typu (No Special Type - NST)	<b>Invazivní karcinom nespeciálního typu (dříve Invazivní duktální karcinom)!!!</b>
2. Speciálního typu	Invazivní lobulární karcinom (všechny morfologické varianty)
	Tubulární karcinom
	Kribriformní karcinom
	Mucinózní karcinom
	Medulární karcinom
	Atypický medulární karcinom
	Invazivní mikropapilární karcinom
3. Metaplastické	Vřetenobuněčný karcinom
	Low grade adenoskvamózní karcinom

	Spinocelulární karcinom
	Karcinomy s mezenchymální metaplazií (více typů)
4. Papilární	Invazivní papilární karcinom
	Opouzdřený papilární karcinom s invazí
	Invazivní solidně-papilární karcinom
5. S neuroendokrinními rysy	Neuroendokrinní tumor dobře diferencovaný
	Neuroendokrinní karcinom
	Karcinom s neuroendokrinní diferenciací
6. Epiteliálně-myoepteliální	Myoepteliální karcinom
	Adenoidně cystický karcinom
7. Vzácné typy	Sekreční karcinom, Karcinom bohatý na glykogen
	Karcinom secernující lipidy a další

Nicméně, pouhé morfologické zhodnocení není schopno poskytnout všechny relevantní informace, které jsou nutné pro volbu optimální léčebné strategie. Z morfologie není možné předpovědět předpokládanou odpověď na některé (zejména cílené) typy léčby, jako jsou blokáda hormonálních receptorů či HER-2/neu signální dráhy. Z tohoto důvodu je dnes nedílnou součástí histopatologické diagnózy rovněž stanovení exprese některých prognostických a prediktivních markerů rozhodujících o biologickém chování nádoru a odpovědi na léčbu. U karcinomu prsu se stanovuje exprese estrogenových (ER) a progesteronových (PR) receptorů, proteinu HER-2/neu a markeru proliferace Ki67 (stanovením podílu nádorových buněk exprimujících protein Ki67 je stanoven MIB1 index) [40].



### 1.4.2 Molekulární klasifikace nádorů prsu na základě profilu genové exprese

Algoritmus diagnostiky a léčby karcinomu prsu se v posledních letech dynamicky mění. Každoročně jsou inovovány postupy a doporučení odborných společností na základě nových a nových studií. Tento boom je dán rozvojem molekulárně-genetických diagnostických metod a poznáním molekulární podstaty nádorového růstu. Dochází k revizi základních poznatků o karcinomu prsu a do hry vstupuje jeho molekulární charakteristika. Do klinické praxe se dostávají mnohagenové analýzy (Oncotype DX, MammaPrint, EndoPredict, Prosigna, apod.), které umožňují predikovat výsledky, pomocí kterých již v současnosti rozhodujeme o další léčbě nemocných s karcinomem prsu, zejména o adjuvantní terapii [41], [42].

Vzhledem k tomu, že karcinom prsu představuje značně heterogenní skupinu nádorů s různým maligním potenciálem, etiopatogenezí, prognózou i spektrem léčebných modalit, vychází současná cílená onkologická léčba ze studia exprese hormonálních receptorů a genového a proteinového expresního profilu nádorů. Na základě těchto profilů byly malignity prsu rozděleny v roce 2000 Charlesem Perouem na 5 základních podtypů – karcinomu s luminální diferenciací A, s luminální diferenciací B (HER-2 pozitivní a negativní), nádory HER-2/neu pozitivní (neluminální) a tzv. triple negativní nádory, viz tabulka 2 [43].

Tabulka 2 - Molekulární klasifikace nádorů prsu dle profilu genové exprese

<b>Luminální A</b>	ER+/PR+	HER-2-	Ki67 nízké
<b>Luminální B HER-2 negativní</b>	ER+/PR- (ev. nízké)	HER-2-	Ki67 vysoké
<b>Luminální B HER-2 pozitivní</b>	ER+/PR jakékoliv	HER-2+	Ki67 jakékoliv
<b>HER-2/neu pozitivní (neluminální)</b>	ER-/PR-	HER-2+	
<b>Triple negativní neboli basal-like</b>	ER-/PR-	HER-2-	

Autor ve svém článku popsal rozdíly v genové expresi (přes 8100 genů) jednotlivých typů nádorů prsu. Dokázal, že rozdíly ve fenotypu nádorů prsu pramení z rozdílů v jejich genotypu. Ze všech genů vybral 456 genů, jejichž exprese byla výrazně vyšší mezi různými typy nádorů a popsal základní rozdíly mezi luminálními typy nádorů, HER-2/neu pozitivními (neluminální) a bazálním typem a tím i rozdílný přístup při klinickém rozhodování o léčbě. Jedná se o sadu několika genů, která nejlépe koreluje s biologickými vlastnostmi nádoru [43].

Přítomnost či absence exprese hormonálních receptorů a HER2 proteinu je rozhodujícím faktorem pro indikaci systémové léčby v rámci komplexní multimodální terapie

karcinomu prsu, tedy chemoterapie, hormonální terapie a v neposlední řadě cílené biologické léčby. Absence exprese hormonálních receptorů, a naopak overexprese proteinu HER2 jsou parametry, které výrazným způsobem ovlivňují prognózu onemocnění. Z tohoto pohledu jsou prognosticky závažné především karcinomy ze skupiny s bazální diferenciací, tj. HER-2/neu pozitivní a triple negativní [44], [45].

Luminální A karcinomy (patří mezi ně mj. velká většina lobulárních invazivních karcinomů) vykazují expresi hormonálních receptorů, jsou bez overexprese HER-2/neu, mají nízkou proliferační aktivitu, nízký grade (1 nebo 2) a procento jejich recidivy je nízké. Jsou typické pro postmenopauzální nemocné a mají příznivou prognózu [44].

Luminální B karcinomy proliferují výrazně více, jsou hůře diferencované, vedle exprese hormonálních receptorů exprimují (luminal B HER2+) či neexprimují HER2 (luminal B HER2-) a častěji recidivují. Důsledkem zmnožení receptoru na membráně nádorových buněk je zvýšená proliferační aktivita tumoru, jeho agresivní chování a statisticky významně kratší celkové přežití (do progresu i celkové přežití), bez ohledu na postižení uzlin. Exprese HER2 koreluje s některými dalšími prognostickými faktory – velikostí nádoru, vysokým proliferačním indexem a nízkým stupněm diferenciacie nádoru [46].

Karcinomy HER-2/neu typu jsou charakteristické amplifikací HER2 onkogenu při negativitě estrogenového a progesteronového receptoru, vysokou proliferací a vyšším gradem. Bez biologické léčby je prognóza velmi nepříznivá. Odpověď na chemoterapii je zde ale obvykle dobrá [47].

Karcinomy bazálního typu (triple negativní) se obvykle vyskytují často u mladých žen, nosiček BRCA mutace. Mají vysoký grade, vysokou proliferační aktivitu, absenci hormonálních receptorů i absenci overexprese HER-2/neu a nepříznivý klinický průběh s časným zakládáním vzdálených metastáz, typicky do plic, jater a mozku a nepříznivou prognózou [48], [49].

Nutno podotknout, že v roce 2007 byl dle studií nalezen a popsán další typ karcinomu prsu na základě genového expresního modelu a to claudin-low. Tento typ je triple negativní a navíc vykazuje nízkou expresi claudinu 3, 4, 7 a E-cadherinu. Nádor vykazuje vlastnosti kmenových buněk. Další informace jsou ověřovány. V klinické praxi je claudin-low nádor zahrnován do kategorie triple negativních nádorů [50].

Výše uvedená klasifikace a terminologie molekulárních typů podle profilů genové exprese, která by měla být využívána pro zlepšení stratifikace nemocných podle rizika onemocnění na základě lepšího chápání biologie nádorů prsu, se již v roce 2012 dostala do klinické praxe v České republice a to doporučením České onkologické společnosti pro systémovou léčbu karcinomu prsu, která reflektovala doporučení ze St. Gallen z roku 2011 [51]. V následujících letech byla tato klasifikace zařazena do terapeutických a diagnostických doporučení a poté také do všech dalších mezinárodních doporučení (ASCO, ESMO a NCCN) [52].

### 1.4.3 TNM klasifikace a klinické stadium karcinomu prsu

K určení klinického stadia (staging) choroby je nutná znalost TNM klasifikace (Tumor, Noduli, Metastases), která je založena na znalosti velikosti primárního nádoru (T), stavu regionálních uzlin (N) a přítomnosti nebo nepřítomnosti vzdálených metastáz (M). TNM klasifikaci rozlišujeme na klasifikaci klinickou (značená písmenem „c“), která vychází z klinického vyšetření a výsledků objektivních zobrazovacích metod, a na patologickou klasifikaci (značena písmenem „p“), která zahrnuje informace získané histologickým vyšetřením [53]. Patologická klasifikace poskytuje přesnější informace o nádoru i stavu lymfatických uzlin, a právě proto je využívána k určení stadia nádorového onemocnění, viz tabulka 3. TNM klasifikace zhoubných novotvarů zdokonalena organizací Union for International Cancer Control (UICC) je globálně užívaným standardem klasifikujícím rozsah nádorového šíření a je čas od času revidovaná a upravována. V současnosti je používáno 7. vydání TNM klasifikace z roku 2009 (česká verze 2011), kde nastala změna ve stadiu IB, kam byly zařazeny nádory prsu velikosti T0 až T1mi (s mikroinvazí přes bazální membránu do 1mm) a uzliny s mikrometastázou velikosti 0,2 až 2 mm N1mi, což ve starší verzi nebylo zhodnoceno (stadium I nebylo děleno na IA a IB) a nádor velikosti T0 nebo T1, N1M0 byl hodnocen jako stadium IIA. [54]. Osmé vydání TNM klasifikace zhoubných novotvarů bylo publikováno v prosinci 2016 a v platnost vstoupilo v lednu 2017. Jeho česká verze je dostupná zatím pouze v knižní podobě, nicméně pro invazivní karcinom prsu se v ní nic zásadního nemění, pouze lobulární karcinom in situ byl odstraněn z kategorie in situ karcinomů (pTis) a byl klasifikován jako benigní léze [55], [56].

Tabulka 3 - Patologická TNM klasifikace karcinomu prsu, 8. vydání

T – velikost tumoru	
TX	Primární nádor nelze hodnotit
T0	Bez přítomnosti primárního nádoru
pTis	Karcinom in situ ( <b>nově pouze duktální CIS</b> ), Pagetova choroba bradavky bez prokazatelného invazivního karcinomu
pT1	pT1mi – mikroinvazí do 1 mm nebo menší v největším rozměru pT1a - nádor o rozměru 1-5 mm pT1b - nádor o rozměru 5-10 mm pT1c - nádor o rozměru 10-20 mm
pT2	Nádor o rozměru 20-50 mm

pT3	Nádor o rozměru více než 50 mm
pT4	pT4a – nádor jakékoliv velikosti s přímým šířením do hrudní stěny pT4b – nádor jakékoliv velikosti s přímým šířením do kůže (peax d'orange - edém kůže, ulcerace kůže, satelitní kožní uzly) pT4c – nádor jakékoliv velikosti s přímým šířením do kůže i hrudní stěny (obě 4a a 4b) pT4d – inflamatorní karcinom
<b>N – stav regionálních lymfatických uzlin</b>	
pNX	Regionální mízní uzliny nelze hodnotit
pN0	Regionální mízní uzliny bez metastázy Uzliny obsahující shluky izolovaných nádorových buněk (ITC, submikrometastázy), ne větší než 0,2 mm v největším rozměru, shluky méně než 200 buněk v jednom histologickém řezu
pN1	Přítomnost mikrometastáz/ makrometastáz ve stejnostranných axilárních uzlinách pN1mi – přítomnost mikrometastázy (velikosti od 0,2 do 2 mm, 200 nebo více buněk) pN1 – přítomnost metastáz ve volně pohyblivých uzlinách (pN1a – metastázy v 1 až 3 lymfatických uzlinách, pN1b – metastáza/y ve vnitřních mamárních uzlinách, pN1c – obě pN1a a pN1b)
pN2	pN2a - metastázy v 4-9 stejnostranných axilárních uzlinách (fixované), pN2b – metastázy v klinicky zjevné vnitřní mamární uzlině/uzlinách
pN3	pN3a-metastázy v 10 a více axilárních uzlinách/v infraklavikulárních uzlinách (III. etáž), pN3b-postižení vnitřních mamárních i axilárních uzlin, pN3c-metastázy v stejnostranných supraklavikulárních uzlinách
<b>M – přítomnost vzdálených metastáz</b>	
MX	Vzdálené metastázy nelze hodnotit

M0	Vzdálené metastázy nejsou přítomny
M1	Vzdálené metastázy jsou přítomny, včetně postižení supraklavikulárních uzlin

Znalost klinického stadia nádorového onemocnění v době stanovení diagnózy spolu s histologickým typem a gradingem nádoru jsou nejdůležitější prognostické faktory dlouhodobého přežití, a jsou nezbytné pro plánování léčebné strategie, viz tabulka 4 [57].

**Tabulka 4 - Rozdělení nádorového onemocnění do klinických stadií**

<b>Stadium</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>IA</b>	T1, T1mi	N0	M0
<b>IB</b>	T0, T1, T1mi	N1mi	M0
<b>IIA</b>	T0	N1	M0
	T1, T1mi	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIA</b>	T0	N2	M0
	T1, T1mi	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
<b>IIIB</b>	T4	N0, N1, N2	M0
<b>IIIC</b>	jakékoliv T	N3	M0
<b>IV</b>	jakékoliv T	jakékoliv N	M1

#### 1.4.4 Grading

Grading je určení stupně diferencovanosti (vyzrálosti) nádoru mikroskopicky. Jedná se o důležitý prognostický faktor. Obvykle platí, že čím je nádor méně diferencovaný, tím je agresivnější, ale zároveň citlivější k léčbě. V tabulka 5 je uvedeno stanovení gradingu pomocí tzv. Nottinghamské klasifikace (dle Elstona a Ellise), která vychází z kvantifikace a skórování tří morfologických parametrů, a to tvorby tubulů, jaderné pleomorfie a počtu mitóz [58].

**Tabulka 5 - Grading invazivního karcinomu nespeciálního typu (NST) podle počtu bodů Nottinghamské klasifikace (Nottingham Histologic Score)**

<b>Stupeň diferenciacie</b>	<b>Počet bodů</b>
G1 (dobře diferencovaný nádor)	3-5
G2 (středně diferencovaný nádor)	6-7
G3 (málo diferencovaný nádor)	8-9
Gx (nelze stanovit stupeň diferenciacie)	

### 1.4.5 Geneticky podmíněný karcinom prsu

Genetický (hereditární) karcinom (HK) tvoří samostatnou kapitolu. Odhaduje se, že přibližně 5 – 10 % z celkového počtu tzv. sporadických (náhodných) karcinomů prsu je podmíněno rodinnou genetickou zátěží [13]. Termín hereditární karcinom je upřednostňován, protože familiární výskyt tumoru ještě nemusí mít reálný vrozený genetický podklad.

HK vzniká nejčastěji na podkladě mutace genů BRCA 1 a BRCA 2, které se řadí mezi tumor supresorové geny. Produkty BRCA 1 a BRCA 2 genů jsou proteiny podílející se na opravě zlomů dvoušroubovice DNA prostřednictvím homologní rekombinace. Při nepřítomnosti funkčního proteinu BRCA 1,2 je funkce opravy DNA poškozena a dochází k dysregulaci buněčného cyklu a autonomnímu chování buněk, což má za následek vznik nádorového bujení [59]. Bylo popsáno přes 600 různých dědičných mutací BRCA 1 a 450 u BRCA 2 genu [60]. Genetické změny v genech BRCA 1,2 jsou často unikátní, což znamená, že se u postižených rodin nachází charakteristická mutace. Příkladem je židovská populace Ashkenazi, kde se až ve 2 % vyskytují specifické zárodečné mutace v genu BRCA 1 (185delAG a 5382insC) a na Islandu specifická mutace v genu BRCA 2 [61]. V České republice se odhaduje frekvence mutací genů *BRCA1* a *BRCA2* na 1:500, kde nejčastěji se jedná o tři mutace, a to C61G (300T>G), 3819del5 a 5382insC [62].

Z celkového počtu genetických nádorů prsu zdědí mutaci BRCA 1 genu asi 50-60 % žen a asi 30-40 % žen má BRCA 2 mutaci. BRCA geny se řadí mezi geny s vysokou penetrací. Zbytek (10-15 %) tvoří pacientky s tzv. familiárním polygenním karcinomem prsu, což je dědičný syndrom způsobený mutacemi jiných genů s nízkou penetrací [59]. U většiny genů nízkého a středního rizika nejsou dosud vytvořeny guidelines pro klinické sledování nosičů.

Celoživotní rizika vzniku nádorového onemocnění pro nosičky mutací se různí napříč studii. Nosičky mutace BRCA 1 genu mají celoživotní riziko vzniku časného karcinomu prsu 40-87 % a karcinomu ovarií 22-65 % vs. 12% riziko vzniku karcinomu prsu a 1% riziko karcinomu ovarií v běžné populaci. V případě mutace BRCA 2 je riziko karcinomu prsu i karcinomu ovarií o něco nižší (18-88 %, respektive 10-35 %). Riziko vzniku kontralaterálního karcinomu prsu u žen s BRCA1 mutací je 83 % a u žen s BRCA2 mutací 62 % [63]. Do 40 let věku onemocní karcinomem prsu 19 % nosiček mutace genu BRCA 1 a 12 % nosiček mutace genu BRCA 2. Riziko sekundárního karcinomu prsu se pohybuje mezi 37-52 % [64]. Přehled rizika vzniku dalších malignit u nosičů BRCA mutací poskytuje tabulka 6. U nosiček mutace BRCA 1 je zvýšené riziko vzniku nádorů dělohy a děložního čípku, kolorektálního karcinomu, žaludku a slinivky, u mužů BRCA 1 pozitivních karcinom prostaty. U nosiček BRCA 2 je to podobně, tedy zvýšené riziko kolorektálního karcinomu, slinivky, žlučníku a žlučových vývodů, žaludku a melanomu. U mužů je rizikovější mutace BRCA 2 genu, kdy celoživotní riziko pro vznik karcinomu prsu je až 8 %, u mužů s BRCA 1 mutací 1,2 % [65].

**Tabulka 6 - Riziko vzniku karcinomu prsu a dalších malignit u nosičů mutací genu BRCA (vyjádřeno celoživotním rizikem nebo mírou incidence ve srovnání s běžnou populací)**

Nosiči mutace genu BRCA1		Nosiči mutace BRCA2	
Karcinom prsu	40-87%	Karcinom prsu	18-88%
Karcinom ovarií	22-65%	Karcinom ovarií	10-35%
Karcinom děložního hrdla	3,7krát vyšší riziko	Karcinom žlučníku a žlučových cest	5krát vyšší riziko
Karcinom pankreatu	2,3krát vyšší riziko	Karcinom pankreatu	3,5krát vyšší riziko
Kolorektální karcinom	62-83%	Kolorektální karcinom	62-83%
Karcinom prostaty	3,33krát vyšší riziko	Karcinom prostaty	2-6krát vyšší riziko
Karcinom prsu u mužů	1,2%	Karcinom prsu u mužů Maligní melanom Karcinom žaludku	8% 2,6krát vyšší riziko 2,6krát vyšší riziko

Mutace BRCA genů se přenáší autozomálně dominantně, takže každý potomek (bez rozdílu pohlaví) postiženého jedince (i mužů) má 50% pravděpodobnost, že zdědí tuto mutaci [66].

Na genetický karcinom prsu je nutné pomýšlet vždy, vyskytne-li se v mladším věku (pod 35 let), je bilaterální a multicentrický. Histopatologicky se jedná o nepříznivé, nezralé či špatně diferencované duktální (NST), medulární, či atypické karcinomy s vysokou mitotickou aktivitou a triple negativitou (více BRCA 1 pozitivní karcinomy) [67]. Díky benigně vzhlížejícímu „BRCA parenchymu“ jsou hereditární nádory zobrazovacími metodami hůře diagnostikovatelné [13].

Ke genetickému vyšetření jsou dle nejnovějších NCCN guidelines indikovány ženy, u kterých vznikl sporadicky jednostranný nádor prsu do 45. roku věku (do 50 let pokud není známá rodinná anamnéza), dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50 let, nebo oba do 60 let (bilaterální nebo ipsilaterální, synchronní nebo metachronní), duplicita karcinomu prsu a slinivky v jakémkoliv věku, triple negativní a medulární karcinom prsu do 60 let, karcinom ovaria nebo tuby, nebo primární peritoneální karcinom v jakémkoliv věku a



karcinom prsu nebo metastatický karcinom prostaty u muže v jakémkoliv věku. Dále jsou testovány osoby s familiárním výskytem karcinomu prsu či ovarií (i peritonea) a to v případě pozitivní rodinné anamnézy u 2 přímých příbuzných s karcinomem prsu či ovarií, alespoň jedna diagnostikována ve věku pod 50 let, nebo obě do 60 let, nebo 3 přímé příbuzné s karcinomem prsu v jakémkoliv věku, nebo pacientka s karcinomem prsu do 50 let s přímým příbuzným s nádorem slinivky [68], prostaty [69], žlučníku, žlučových cest, žaludku, kolorekta [70] a melanomu [71]. Tato indikační kritéria jsou rovněž schválena Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP [60]. Klinicky nejdůležitějším důvodem testování BRCA mutací je včasná minimalizace rizika onemocnění pomocí profylaktických výkonů u zdravých nosiček a volba typu operačního výkonu a systémové léčby u BRCA pozitivních nemocných. BRCA pozitivním ženám je dále doporučeno prediktivní testování všech rodinných příslušníků od 18 let věku [72], [73].

Karcinom prsu, zejména pokud je diagnostikován ve velmi časném věku může být součástí jiných genetických syndromů, které jsou velmi vzácné. Jedná se např. o syndrom Liův-Fraumeniho (mutace genu TP53), Peutz-Jeghersův (mutace genu STK 11), Cowdenův syndrom (mutace genu PTEN), ataxia teleangiectatica a Lynchův syndrom [13], [60].

## 1.5 Klinické příznaky

Karcinom prsu může být dlouho asymptomatický. Příznaky, které většinu žen přivádí k odbornému lékaři, jsou změna tvaru (asymetrie) a velikosti prsu nebo bradavky (vpáčení, šupinatění, sangvinolentní sekrece), změna charakteru a barvy kůže prsu (důlkovatění, lymfedém charakteru pomerančové kůže – peau d'orange), bolest prsu, hmatná rezistence v prsu či v podpaží. Celkové i paraneoplastické příznaky vyplývají z pokročilosti onemocnění a zejména z přítomnosti vzdálených metastáz (nechutenství, hubnutí, febrílie, neuromuskulární syndromy, bolesti v kostech až patologické fraktury, epilepsie, bolesti hlavy, poruchy vědomí či paměti atd.) [13]. V časném stadiu nemusí být nález při vyšetření pohmatem či při samovyšetření zjistitelný, proto je nutné vedle fyzikálního vyšetření doplnit i vyšetření zobrazovacími metodami.

## 1.6 Diagnostika

Na stanovení diagnózy zhoubného onemocnění prsu se podílí anamnéza (rodinná, osobní a gynekologická), fyzikální vyšetření všech kvadrantů prsu včetně regionálních lymfatických uzlin v axilách, v nadklíčkové a podklíčkové oblasti, dále vyšetření zobrazovacími metodami a biopsie. Při fyzikálním vyšetření (v několika polohách) klademe důraz na popis vlastního nálezu a to zejména velikost tumoru, umístění podle kvadrantů (nejčastěji je postižen horní zevní kvadrant), vztah a ohraničení rezistence vůči okolí, její charakter a pohyblivost při palpaci, charakter kůže, stav bradavek a ev. sekreci z bradavek, a palpační nález v axilách a nadklíčkových prostorech [74]. Co se týká laboratorní diagnostiky karcinomu prsu, vyšetření tumor markerů z periferní krve (CA 15-3 a CEA) je pro jejich nízkou specificitu velmi kontroverzní (některé společnosti doporučují jeden náběr před započatím léčby, jiné doporučují opodstatněnost vyšetření nádorových markerů zejména při pokročilejším stadiu, či při diagnostice recidivy, sledování léčby nebo progresi onemocnění v rámci follow up) [75], [76], [77]. Cílem je zachytit nádorové onemocnění v časném stadiu ev. v preinvazivní formě. K časně diagnostice karcinomu prsu přispívá i pravidelné samovyšetření, které by měla provádět každá žena starší 20 let jedenkrát měsíčně, vždy po menstruaci. V případě nálezu při klinickém vyšetření či na zobrazovacích metodách je indikována cílená biopsie, která diagnózu jednoznačně potvrdí či vyvrátí. V textu jsou stručně popsány jednotlivé zobrazovací metody a biotické vyšetření.

### 1.6.1 Základní zobrazovací metody v mamologii

Nejdůležitější zobrazovací metodou v diagnostice karcinomu prsu zůstává mamografie (MG). V současnosti jde již o digitální metodu, která je schopna odhalit i několika-milimetrové, pro nás mnohdy ještě nehmátelné nádory v podobě hvězdicovitého či oválného stínu. Je nezastupitelná v detekci mikrokalcifikací (benigních i patologických), které jsou významným prediktorem karcinomu prsu [78]. V tomto případě se jedná o tzv. „diagnostickou mamografii“. Pro svojí vysokou senzitivitu (v průměru 90 %) a specificitu (85-95 %) byla zvolena jako plošné screeningové vyšetření u asymptomatických žen starších 45 let v dvouletých intervalech, proto je nazývána jako tzv. „screeningová mamografie“ [79], [80]. Senzitivita MG však závisí na věku resp. na denzitě mléčné žlázy, která je u mladších žen zpravidla vyšší a přehlednost žlázy je horší (senzitivita kolem 50 %), čímž by mohlo dojít k zastření patologické léze. Proto se mamografické vyšetření u premenopauzálních žen omezuje pouze na případy s důvodným podezřením na patologii v prsu při nejasném nálezu na primárně indikované sonografii a nelze jí vynechat [81]. Samozřejmostí je využívání mamografie v rámci dispenzarizace u nemocných po adjuvantní léčbě karcinomu prsu k časně detekci případné recidivy.

Sonografie (USG) je považována za vyšetřovací metodu první volby u mladých a premenopauzálních žen, u těhotných a kojících žen, u žen s implantáty a u rizikových žen vyžadující kontroly v kratších časových intervalech. V ostatních případech je využívána jako doplňková metoda k mamografii (zvyšuje její senzitivitu o dalších 3-5 %) [82]. Nespornou výhodou sonografického vyšetření je dobrá dostupnost a absence ionizujícího záření. Je spolehlivá především pro diagnostiku solidních a cystických lézí (např. cysta, serom, hematom, fibroadenom), recidivy v jizvě, patologického procesu v axilách, v nadklíčkové a

podklíčkové oblasti, a dále v rámci dispenzarizace. Nevýhodou je nízká specifická a menší spolehlivost v detekci malých nádorů u objemných prsů [13].

### 1.6.2 Bioptické vyšetření

Další neopominutelné využití obou výše zmíněných vyšetřovacích metod je odběr tkáně (biopsie) na histologické vyšetření s výběrem té vyšetřovací metody, kterou je léze lépe detekovatelná. Zlatým standardem je v současnosti Core-Cut biopsie (CC) s odběrem reprezentativního vzorku tkáně, která na rozdíl od cytologického vyšetření - biopsie tenkou jehlou (FNAC – fine needle aspiration cytology) je více senzitivní a poskytuje histologické informace o charakteristice nádoru (histopatologický typ nádoru, grade, stav estrogenových a progesteronových receptorů v nádorové tkáni, stav exprese HER-2-neu, určení proliferace aktivní (MIB1) a stanovení invaze do krevních a lymfatických cév), které jsou nezbytné pro plánování jak případné neoadjuvantní onkologické léčby, tak adjuvantní léčby po primárním chirurgickém zákroku. V případě výskytu shluku patologických mikrokalcifikací na mamografickém vyšetření se provádí odběr tkáně vakuovou biopsií mamotomem za pomoci tzv. „stereotaktické navigace“, která umožňuje vícenásobný odběr tkáně z jednoho místa. Další výhodou obou metod je možnost značení nehmotných lézí a patologických mikrokalcifikací před chirurgickou excizí (křížkem na kůži, kovovým vodičem, klipem, apod.) nebo značení tumoru či patologické axilární uzliny před zahájením neoadjuvantní chemoterapie [82], [83], [84]. Nález nejasných lézí viditelných pouze na magnetické rezonanci (MRI) lze rovněž verifikovat pomocí biopsie pod MRI ve specializovaných centrech.

### 1.6.3 Ostatní zobrazovací metody v mamologii

Ostatní vyšetřovací metody jsou považovány pouze za doplňkové a každá z nich má svá vlastní indikační kritéria. V této skupině patří mezi nejužívanější magnetická rezonance prsu (MRI), která je vysoce senzitivní, ale specifická je nízká, díky čemuž musí být každá podezřelá léze biopticky ověřena, aby se zabránilo nepřiměřenému chirurgickému zásahu a tím poškození pacienta. MRI poskytuje nejen morfologické informace s vysokým rozlišením, ale i některé funkční informace o neoangiogenezi jako nádorově specifické vlastnosti [85], [86]. MRI je indikována v případě nálezů invazivního lobulárního karcinomu pro jeho častou multifokalitu a bilateralitu, dále u DCIS – high grade (k upřesnění rozsahu), dále u žen po rekonstrukčních výkonech či po neoadjuvantní chemoterapii k zhodnocení efektu léčby. Benefit z vyšetření MRI mají také mladé ženy, ženy s denzní žlázou na mamografii a ženy BRCA pozitivní v rámci dispenzarizace. Nativní magnetická rezonance má jedinou indikaci, a to vyloučení ruptury silikonového implantátu [87].

Pomoc v diagnostice karcinomu prsu či upřesnění rozsahu postižení nám poslední dobou poskytují další dvě doplňkové metody. Jedná se o hybridní vyšetření pozitronovou emisní tomografií a magnetickou rezonancí (PET/MRI) či vyšetření pozitronovou emisní tomografií v kombinaci s výpočetní tomografií (PET/CT). Tato vyšetření jsou nejčastěji indikována z důvodu posouzení rozsahu postižení prsu karcinomem, posouzení multifokalit, u triple negativního karcinomu prsu, k posouzení přítomnosti lokoregionálních či vzdálených metastáz (stagingové vyšetření), a v rámci follow up – k diagnostice lokální či vzdálené recidivy, k posouzení účinnosti onkologické léčby, či k restagingu po neoadjuvantní

léčbě [85]. V rámci studie prováděné ve FN Plzeň bylo zjištěno, že využití 18F-FDG PET/CT vyšetření u žen s T1 karcinomem prsu potvrdilo 93,3% senzitivitu a 88,2% specificitu detekce metastatického postižení axilárních lymfatických uzlin. Jako vedlejší nález bylo ve 13,3% pacientek nalezeno i vzdálené metastatické postižení [88]. Ačkoli je 18F-FDG PET/CT vyšetření přesnější ve srovnání s ultrazvukem pro hodnocení stavu axilárních lymfatických uzlin, nelze ním vzhledem k nízké citlivosti nahradit biopsii sentinelové uzliny [89]. Mnohé studie potvrzují, že 18F-FDG PET/CT má vyšší senzitivitu a MRI vyšší specificitu a proto má kombinované použití těchto dvou způsobů zobrazení velký potenciál ke zlepšení diagnostiky kupříkladu při hodnocení kompletní patologické odpovědi (pCR) po neoadjuvantní chemoterapii [90].

Mezi méně časté vyšetření patří duktografie, která je indikovaná v případě sekrece z bradavky. Vyšetření spočívá ve vyhledání příslušného dilatovaného ductu (mlékovodu) pomocí sondy, do kterého je vpravena kontrastní látka s následnou mamografií prsu. Hodnotí se defekty v náplni, které mohou odpovídat nálezu intraduktálního papilomu či papilokarcinomu [91].

K metodám používaným k vyloučení postižení vzdálených orgánů metastatickým procesem patří také rutinně prováděné RTG vyšetření plic, sonografie či CT jater a scintigrafie skeletu (z důvodu zakládání metastáz predilekčně hematogenně do skeletu 50 %, plic 25 %, jater 5 % a mozku). CT vyšetření či MRI mozku se ale před zahájením léčby standardně neprovádí, pokud není přítomna zjevná neurologická symptomatologie. Vyšetření jsou provedeny ještě před zahájením chirurgické či primární onkologické léčby [92].

## 1.7 Léčba karcinomu prsu

Vzhledem k tomu, že karcinom prsu je považován za systémové onemocnění, vyžaduje jeho léčba komplexní přístup. Jednotlivé léčebné modalitty musí na sebe navazovat a vzájemně se doplňovat. Strategie léčby by měla vždy respektovat stadium choroby, biologickou i histologickou povahu nádoru a v neposlední řadě i přání pacientky, což je předmětem diskuze multidisciplinárního týmu odborníků, do něhož patří chirurg, onkolog, rentgenolog, plastický chirurg a ev. patolog či gynekolog a další odborníci. Léčbu karcinomu prsu zpravidla dělíme na lokální (chirurgický výkon na prsu a v axile s ev. pooperační radioterapií) a systémovou (chemoterapie, hormonální a biologická léčba). Pořadí typu léčby ve smyslu správného načasování primární chirurgické či neoadjuvantní léčby je závislé na stadiu onemocnění [13].

### 1.7.1 Chirurgická léčba karcinomu prsu

Chirurgická léčba karcinomu prsu se výrazně změnila od počátku 20. století, kdy byla používána výrazně mutilující Halstedova radikální mastektomie, kdy byl odstraněn celý prs i s pectorálními svaly včetně disekce axily všech třech etází s myšlenkou jediné kurativní metody léčby nádorů prsu. Během posledních 50 let však došlo k posunu tohoto paradigmatu směrem k méně radikálním formám chirurgického řešení s využitím systémové léčby (chemoterapie, endokrinní a biologická terapie) a radioterapie. Díky tomu jsou dnes již stanoveny celosvětové standardy chirurgické a onkologické léčby karcinomu prsu, které kladou důraz jak na kosmetický efekt při zachování patřičné onkochirurgické radikality, tak na zlepšení kvality života nemocných [93], [94]. Cílem chirurgické léčby je kompletní odstranění léze. Dle rozsahu (stadium onemocnění) a umístění patologického procesu v prsu připadají v současnosti v úvahu buď prs zachovné výkony (BCS) nebo totální mastektomie. Dle dlouhodobých metaanalýz není rozdíl v celkovém přežívání (OS) mezi pacientkami po provedené parciální mastektomii s následnou radioterapií a pacientkami po totální mastektomii ale v kvalitě života nemocných [95], [96]. Konzervativní chirurgický výkon (odstranění nádoru s lemlem zdravé tkáně) je indikován v případě časného stadia onemocnění (stadium I a II), zejména jedná-li se o nádor do maximální velikosti 50 mm (T1, T2) s přihlédnutím na prognostický typ nádoru, bez klinických známek postižení regionálních mízních uzlin v axile (T1N0, T2N0, ev. T1N1- za předpokladu postižení maximálně 1-3 lymfatických uzlin v axile), dále po účinné neoadjuvantní léčbě [97], v případě, že jde o dva či více blízko sebe uložených tumorů (v jednom kvadrantu), nebyla-li vyčerpána radioterapeutická dávka v předchorobí (např. pro M. Hodgkin), za určitých podmínek u těhotných s karcinomem prsu, dále pokud poměr velikosti prsu a velikosti nádoru umožňuje provést prs šetřící operaci a v neposlední řadě při souhlasu pacientky [13], [98], [74]. Zachování mikroskopicky čistých resekcčních okrajů při excizi nádoru je hlavní zásadou konzervativních výkonů. Doporučení The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) považuje za negativní okraje ty, které mikroskopicky nedosahují inkoustem značené hranice preparátu od nádoru (u DCIS je ponechání 10mm lemu zdravé tkáně žádoucí). V případě nálezu pozitivních resekcčních okrajů je indikovaná reexcize či mastektomie, záleží na biologických vlastnostech nádoru, typu nádoru a věku nemocné [99], [100]. Po konzervativním chirurgickém výkonu následuje radioterapie zbývající tkáně prsu a ev. spádové lymfatické uzliny dle rozsahu postižení regionálních mízních uzlin. Určitou modifikací zachovných výkonů jsou onkoplastické výkony, které využívají mobilizace a posunů kůže a mléčné žlázy ke zmenšení deformit po resekcčních

výkonech a tím přispívají k lepším kosmetickým výsledkům se zachováním onkologické radikality (např. u centrálně uložených nádorů) [101].

Totální mastektomie (odstranění celého prsu, bez svalu) je indikována v těchto případech: lokálně pokročilý karcinom s ev. exulcerací (T3, T4) pokud by nebyla primárně volena onkologická léčba, multicentrický např. lobulární karcinom, rozsáhlý DCIS - G3, inflamatorní karcinom, po neoadjuvantní chemoterapii, objemný tumor v malém prsu, lokální recidiva po předchozí záchovné operaci s radioterapií, přání pacientky, kontraindikace radioterapie, pozitivita BRCA mutace – profylaktická mastektomie [13], [102]. Typ mastektomie (klasická, kůži šetřící nebo subkutánní) volíme dle rozsahu nádorového postižení a perspektivy okamžité či odložené rekonstrukce. O tom, jaký typ řezu volit a zda bude provedena okamžitá či odložená rekonstrukce po mastektomii je rozhodnuto po konzultaci s plastickým chirurgem a klinickým onkologem v rámci multidisciplinárního týmu [103]. Sanační mastektomie je využívána v případě pokročilých krvácejících exulcerovaných nádorů prsu.

### 1.7.2 Výkony na spádových mizních uzlinách

Operační výkony v axile se rovněž nesou ve znamení snižování radikality. Disekce axily je totiž v dnešní době považována spíše za výkon stagingový než terapeutický, byť je prokázáno, že chirurgické odstranění metastaticky postižených uzlin snižuje četnost regionální recidivy a může zlepšovat přežití. Disekce axily je primárně indikována při jasném předoperačním průkazu metastatického postižení axilárních uzlin. Provádí se jako en bloc resekce lymfatických uzlin I. a II. etáže společně s tukovou tkání. Mnohé studie však prokázaly, že u časně diagnostikovaných nádorů prsu (T1, do 20 mm) je pravděpodobnost metastatického postižení regionálních lymfatických uzlin minimální (5-15 %) v porovnání s rizikem vzniku lymfedému horní končetiny u disekce axily, a proto byla do praxe zavedena šetrnější metoda tzv. biopsie sentinelové uzliny (SLNB) [13], [104], [105].

Biopsie sentinelové uzliny je dnes považována za výkon první volby a miniinvazivní metodu, která výrazně snižuje riziko pooperačních komplikací plynoucích z disekce axily. Jedná se o první spádovou („strážnou“) uzlinu/uzliny, která drénuje primární nádor v prsu a je pravděpodobně postižena metastatickým procesem jako první. SLNB je indikována u histologicky verifikovaných karcinomů (T1N0, T2N0) a bez klinických či sonografických známek postižení lymfatického aparátu v axile [106], [107]. Absolutní kontraindikace SLNB je pouze u inflamatorního karcinomu a diskutabilní je v graviditě [13], [108].

Biopsii sentinelové uzliny lze indikovat dále u pacientek léčených neoadjuvantní chemoterapií (NAC), podaří-li se pomocí ní dosáhnout klinických známek regrese axilární lymfadenopatie a to z důvodu trendu posledních let týkajícího se eliminace axilárních disekcí. Pokud ale i po NAC přetrvávají patologické uzliny, je namístě disekce axily. Falešná negativita SLNB u této skupiny nemocných po NAC obecně přesahuje neúnosně vysokou hodnotu 10%. Toto procento lze snížit exstirpací 3 a více sentinelových uzlin, nebo lépe pomocí tzv. „cílené axilární disekce“ (TAD, targeted axillary dissection) s označením nejvýraznější metastatické uzliny např. titanovým klipem před zahájením NAC, která je diagnosticky přesnější než sentinelová uzlina [83], [109], [110].

Sentinelová uzlina je detekovatelná pomocí buď barevného mapování za použití barviva (např. patentní modř), nebo pomocí radiofarmaka (např. koloid lidského albuminu značený  $^{99m}\text{Tc}$ ), nebo kombinací obou metod. K detekci sentinelových lymfatických uzlin jsou neustále vyvíjeny nové látky a metody (např. Sentimag – magnetická lokalizace), avšak standardem je v současné době značení uzlin radionuklidem [111]. Po vyhledání uzliny/uzlin s nejsilnějším signálem (největší akumulace radiofarmaka) pomocí gama sondy a její/jejich extirpaci je provedeno peroperační vyšetření metodou tzv. „frozen sectio“ (kryobiopsie) a následně podle sdělení patologa je během jedné operace a jedné anestezie rozhodnuto o dalším postupu. V případě nepřítomnosti metastázy je výkon v axile ukončen a kategorizován jako pN0. U zhruba  $\frac{1}{4}$  pacientek s karcinomem prsu je sentinelová uzlina postižena metastázou. Zatím je standardem při pozitivní sentinelové uzlině doplnit disekci axily (AD) [13]. Tyto uzliny jsou dále ponechány k definitivnímu histologickému zpracování.

Několik studií a metaanalýz prokázalo, že pacientky s negativní sentinelovou uzlinou mají velmi nízké riziko lokoregionální rekurence (0,3 %). V porovnání s pacientkami, které podstoupily disekci axily s negativními axilárními uzlinami, dosahují stejné délky bezpříznakového i celkového přežití, ale při výrazně nižší morbiditě [112], [113].

Disekci axily lze bezpečně vynechat v případě využití adjuvantní radioterapie i při metastatickém postižení sentinelové uzliny, pokud jsou splněna vstupní kritéria studie ACOSOG Z0011 (American College of Surgeons Oncology Group) [114]. Mezi základní kritéria patří velikost primárního nádoru do 5 cm (T1, T2), klinicky nehmátné axilární uzliny, postižení 1 až 2 sentinelových uzlin metastatickým procesem (v případě třech pozitivních lymfatických uzlin je na místě disekce axily), nízký grade (G1), pozitivita estrogenových receptorů, negativita HER2, nízká proliferační aktivita (MIB1 do 20%) [115], [116]. Dále je možno disekci axily vynechat u pacientek s prognosticky nepříznivým nádorem, u pacientek v seni u nebo s vážnými komorbiditami. K rozhodnutí o doplnění axilární disekce v případě pozitivní sentinelové uzliny je potřeba přistupovat individuálně, zejména s ohledem na biologii nádoru. Dle již provedených studií (ACOSOG Z0011, IBCSG 23-01, EORTC 10981-22023 AMAROS) je potvrzeno, že při podání systémové léčby a radioterapie axily nemá doplnění disekce axily v případě nálezu metastatické (mikro/makrometastáza) sentinelové uzliny žádný vliv na lokální recidivu ani celkové přežití [117], [118], [119]. Radioterapie axily při nálezu pozitivní sentinelové uzliny u pacientek s karcinomem prsu velikosti T1 a T2 poskytuje srovnatelnou lokální kontrolu jako u pacientek, které podstoupily disekci axily, navíc vede k výrazně nižší morbiditě [120].



### 1.7.3 Radioterapie

Adjuvantní radioterapie (RT) je běžnou součástí léčby karcinomu prsu. Jejím cílem je lokoregionální kontrola onemocnění. Adjuvantní radioterapie snižuje riziko lokální rekurence (dle metaanalýzy EBCTCG snižuje radioterapie po prs zachovných výkonech riziko recidivy o 48 %) a prodlužuje celkové přežití nemocných [121], [122]. Se zdokonalováním ozařovacích technik dochází ke snížení výskytu radioterapeutických komplikací a současně s přibývajícím počtem prs zachovných operací je její indikace mnohem častější než dříve. Radioterapie je aplikována s radikálním či paliativním záměrem. Po totální mastektomii s N0 není zpravidla adjuvantní radioterapie indikována (výjimkou je nádor nad 5cm, u premenopauzálních žen nad 2cm, pozitivní či těsný resekcí okraj, lymfovaskulární invaze, triple negativní nádor a metastatické uzliny) [100]. U nemocných, které podstoupily konzervativní výkon, je pooperační ozáření indikováno vždy. Četnost lokálních recidiv po zachovných výkonech s následnou radioterapií je srovnatelná s četností lokálních recidiv po totální mastektomii [123]. Standardně se provádí zevní radioterapie na oblast celého prsu či hrudní stěny s cíleným ozářením lůžka tumoru (boost, dosycení) po zachovné operaci s ozářením svodné lymfatické oblasti (v případě pozitivních uzlin, axila i nadklíčky) dávkou 50 Gy (frakcionovaně 2 Gy/den, 5 frakcí/týden) s boostem do lůžka tumoru 10-16 Gy (zlepšení lokální kontroly). Hypofrakcionované režimy již lze uplatnit u skupiny nemocných s karcinomem prsu v časném stadiu T1, T2, nad 50 let věku, bez indikace chemoterapie, bez pozitivních okrajů, BRCA pozitivních, ER negativních. Naproti tomu akcelerované režimy s redukováným objemem (APBI, accelerated partial breast irradiation), které lze uplatnit při ozáření lůžka tumoru formou intersticiální brachyradioterapie zatím standardní nejsou [100], [124]. U nemocných s levostranným nádorem prsu lze využít i protonovou radioterapii s dozimetrickou výhodou v oblasti srdečních struktur nebo v případě radioterapie axily při současném šetření struktur ramenního kloubu [100]. Adjuvantní radioterapii prsu lze individuálně vynechat u biologicky starších polymorbidních pacientek, které mají T1 tumor bez postižení uzlin, s pozitivními estrogenovými receptory, u nichž je plánována adjuvantní hormonální terapie, protože zde nemá vliv na celkové přežívání [13], [125]. Pooperační radioterapie by měla být zahájena čtyři týdny po operaci a neměla by být odkládána déle než tři měsíce po ní [126]. Paliativní radioterapie je využívána u lokálně pokročilého inoperabilního karcinomu prsu s nedostatečnou odpovědí na chemoterapii nebo hormonální léčbu, a u vzdálených metastáz ve skeletu, mozku, játrech a hrudní stěně [74].

#### 1.7.4 Hormonální terapie

Adjuvantní hormonální léčba redukuje riziko rekurence a mortality u premenopauzálních i postmenopauzálních pacientek. Tamoxifen navíc redukuje riziko kontralaterálního karcinomu prsu [127] a je využitelný v chemoprevenci u vysoce rizikových žen [128]. Je indikována u pacientek s pozitivními hormonálními receptory. Cílem hormonální terapie je blokáda vedoucí k inhibici účinku estrogenu na jeho receptoru. Tato blokáda je možná pomocí několika mechanismů. První možností je zamezení tvorby estrogenů (ovariální ablaci medikamentózně, radiační kastrací, chirurgickou ovariektomií u premenopauzálních žen), druhou možností je nasazení antiestrogenů (tamoxifen) s cílem blokády estrogenového receptoru a třetí možností je použití inhibitorů aromatázy u postmenopauzálních žen, kdy dochází k blokádě enzymu aromatázy zajišťující přeměnu steroidů na estrogeny v nadledvinách [100].

Dnes jsou v praxi používány inhibitory aromatázy (IA) třetí generace, které mají nižší výskyt nežádoucích účinků. Dělíme je na steroidní s ireverzibilní vazbou na aromatázu (exemestan) a nesteroidní s reverzibilní aromatázovou vazbou (anastrozol, letrozol). Další skupinou zamezující vazbě estrogenu na receptor jsou selektivní modulátory estrogenových receptorů (SERM), jako tamoxifen (TMX) a raloxifen. Poslední možností je redukce či eliminace exprese estrogenového receptoru pomocí fulvestrantu, který je klasifikován jako selektivní down regulátor estrogenového receptoru (SERD).

Hormonální léčba je odlišná u premenopauzálních a postmenopauzálních žen. Pre- nebo perimenopauzální ženy by měly být léčeny dle současných doporučení ESMO/ASCO a St. Gallen 2017 iniciálně tamoxifinem (TMX) v monoterapii po dobu 5 let (u pacientek s nízkým rizikem recidivy) ev. v kombinaci s ovariální ablaci (supresí pomocí LH-RH analog) u pacientek se středním a vysokým rizikem recidivy. Pokud dojde v této době k nastolení menopauzy nebo je menopauzální stav nejasný, pokračuje léčba TMX u pacientek s vyšším rizikem do celkové doby 10 let nebo je po 5 letech užívání TMX změna na IA na dalších 5 let. Postmenopauzální nemocné se středním a vyšším rizikem (tumor nad 2 cm, G2-3, HER2+, ER/PR-, N1, N2) zahájí léčbu podáváním IA po dobu prvních 5 let, přičemž lze pokračovat dalších 2-5 let dle tolerance (studie MA 17R, NSABP B-42, DATA, IDEAL), nebo TMX na 2-3 roky s následným switchem na IA na dobu 5 let (NSABP B-42, DATA, IDEAL), nebo TMX na 10 let (aTTOM, ATLAS) [129]. Rozšířená endokrinní terapie je indikována u vybraných pacientek individuálně dle posouzení biologických vlastností nádoru, typu nádoru, rizikových faktorů, menopauzálního stavu, dle komorbidit, životního stylu, rizika nežádoucích účinků léčby a rizika recidivy. Nicméně studie ATLAS prokazuje, že prodloužené, tedy 10-ti leté užívání hormonální léčby redukuje rekurenci onemocnění a mortalitu výrazněji než 5-ti letá hormonální léčba [130], [131]. U pacientek užívajících IA je nutné pravidelné sledování kostní denzity a podpůrná medikace kalciovými preparáty a vitamínem D3, jako i sledování hladin estradiolu a FSH (zejména u žen mladších 45 let). V rámci paliativní hormonální terapie je možné podání tamoxifenu, steroidního inhibitoru aromatáz, fulvestrantu, kombinace everolimus + exemestan či megestrol acetátu [129].

### 1.7.5 Chemoterapie

Chemoterapie, jako systémová léčba je podávána s neoadjuvantním, adjuvantním i paliativním záměrem. Neoadjuvantní léčba je indikována u nemocných s postižením lymfatických uzlin bez vzdálených metastáz či u hormonálně negativních nádorů nad tři centimetry (s vysokým gradem či vysokým MIB1) a dále u triple negativních nádorů zejména u BRCA pozitivních nosiček či v případě inflamatorního karcinomu [132]. Cílem neoadjuvantní chemoterapie je zmenšit velikost nádoru a umožnit tak konzervativní chirurgický zákrok a zároveň postihnout potenciální mikrometastázy v oběhu. Doporučuje se podat nejméně 6 cyklů v rozmezí 4-6 měsíců [133], [134], [135]. Současná doporučení pro adjuvantní léčbu chemoterapií respektují jednotlivé podtypy karcinomu prsu a jejich předpokládanou odpověď na systémovou léčbu. Adjuvantní chemoterapie by dle závěru konference St. Gallen 2017 měla být zvažována u pacientek s invazivním karcinomem ve stadiu I, II, IIIA a IIIB (viz. TNM klasifikace) s velikostí nádoru nad 1 cm, nádory G3, nádory s vyšší proliferací, s negativními estrogenovými receptory, s pozitivitou HER2, u triple negativních karcinomů, při vysokém RS (skóre rekurence) podle Oncotype DX a při metastatickém postižení lymfatických uzlin [136]. U velikosti do jednoho centimetru je její podání nutné zvážit na základě prognostických faktorů. Přínos adjuvantní chemoterapie u nádorů typu Luminal A je sporný, ale v případě postižení lymfatických uzlin (více než 3) je chemoterapie podána vždy [137]. U triple negativních karcinomů by měla být adjuvantní chemoterapie založena na antracyklinech a taxanech. U pacientek s časným karcinomem prsu, se středním rizikem relapsu, bez postižení axilárních uzlin a negativitou HER2, pozitivitou estrogenových a progesteronových receptorů, u kterých není indikace adjuvantní chemoterapie jednoznačná, může být přínosné vyšetření biologické charakteristiky nádoru pomocí prognostického multigenového testu Oncotype DX (ASCO guidelines, ESMO guidelines, doporučení NICE), které je hrazeno VZP za předpokladu splnění těchto kritérií (tumor G2, pN0, ER+, HER2-, přítomnost dalšího rizikového faktoru např. vysoká hodnota MIB1, PR- nebo mikrometastáza v axilární uzlině) [129]. Výsledkem tohoto 21 genového testu je stanovení tzv. „recurrence score“ (RS), tedy skóre rekurence onemocnění. Pokud je RS nízké (RS méně než 18) není podání chemoterapie indikováno, v případě vysokého RS (nad 31) je podání chemoterapie nutné, protože riziko rekurence je 21-33 %, viz tabulka 7. Další testy (MammaPrint, Prosigna, EndoPredict) nejsou v ČR hrazeny.

**Tabulka 7 - Recurrence score – výsledek Oncotype DX**

RS méně než 18 (nízkoriziková skupina)	Riziko rekurence 3-12 %	Podat pouze adjuvantní hormonální terapii
RS 18-30 (středně riziková skupina)	Riziko rekurence 12-21 %	Podat adjuvantní hormonální terapii +/- chemoterapii
RS více než 31 (vysoce riziková skupina)	Riziko rekurence 21-33 %	Podat adjuvantní hormonální terapii + chemoterapii

Úlohou paliativní chemoterapie je prodloužení a zkvalitnění života nemocných s metastatickým onemocněním. Tato léčba zahrnuje nejen paliativní podání chemoterapeutik podle doporučených schémat, ale i léčbu vzdálených metastáz. K léčbě kostních osteolytických, osteoblastických i smíšených metastáz jsou podávány celkově bisfosfonáty nebo monoklonální protilátky denosumab po vyšetření dutiny ústní (zvýšená incidence osteonekrózy čelisti) [100].

Léčebná doporučení k adjuvantní terapii u hormon pozitivních a HER2 negativních karcinomů zobrazuje tabulka 8.

**Tabulka 8 - Adjuvantní terapie – ER/PR pozitivní a HER2 negativní onemocnění**

Adjuvantní terapie – ER pozitivní/HER2 negativní onemocnění	
Subtypy dle klinicko-patologického a genomického rizika	Léčebná doporučení
<b>Vysoká pozitivita SR, pT1a/pT1b pN0, nízká proliferace, G1 nebo nízké „genomické riziko“</b>	Hormonální léčba dle menopauzálního stavu
– Premenopauzální pacientky	Tamoxifen po dobu 5 let
– Postmenopauzální pacientky	Tamoxifen nebo IA po dobu 5 let
<b>Vysoká/střední exprese ER a PR, pT1c/pT2 pN0 nebo pN1, střední nebo vysoká proliferace nebo grade a/ nebo střední „genomické riziko“</b>	Hormonální terapie dle menopauzálního stavu +/- adjuvantní chemoterapie
– Premenopauzální pacientky – nejasné „klinické riziko“ (pN0), střední „genomické riziko“	Ovariální suprese + tamoxifen nebo ovariální suprese + exemestan – v některých případech adjuvantní chemoterapie – v některých případech prodloužená hormonální terapie Tamoxifenem
– Premenopauzální pacientky – střední/vysoké „klinické riziko“ (pN1), střední/vysoké „genomické riziko“	Ovariální suprese + exemestan, adjuvantní chemoterapie ve většině případů – prodloužená adjuvantní terapie Tamoxifenem
– Postmenopauzální pacientky – nejasné „klinické riziko“ (pN0), střední „genomické riziko“	IA up-front, chemoterapie ve většině případů – bisfosfonáty
– Postmenopauzální pacientky – střední/vysoké „klinické riziko“ (pN1), střední/vysoké „genomické riziko“	Adjuvantní chemoterapie, IA jako první hormonální léčba po dobu min. 3–5 let – prodloužená terapie IA dle rizika/tolerance – bisfosfonáty
<b>Střední nebo nízká exprese ER/PR, pT3 a/ nebo N2-3, vyšší proliferace, střední nebo vysoké „genomické riziko“</b>	Adjuvantní chemoterapie + hormonální léčba dle menopauzálního stavu
– Premenopauzální pacientky – vysoké riziko	Adjuvantní chemoterapie a ovariální suprese + IA (u premenopauzálních pacientek po chemoterapii) – prodloužená terapie IA dle rizika/tolerance u postmenopauzálních pacientek
– Postmenopauzální pacientky – vysoké riziko	Adjuvantní chemoterapie a hormonální terapie IA – prodloužená terapie IA dle rizika/tolerance – bisfosfonáty

Zdroj: <https://www.linkos.cz/files/modra-kniha/17.pdf>, [138].

### 1.7.6 Biologická léčba

Biologická léčba má za cíl specificky ovlivnit signální dráhy receptorů pro růstové faktory ze skupiny HER (HER1, HER2, HER3 a HER4), které významně zasahují do karcinogeneze. Je indikovaná pouze u pacientek s prokázanou overexpresí nebo amplifikací genu HER2 (měřeno metodou FISH, fluorescenční in situ hybridizace), což jsou nádory s obzvláště agresivním chováním a špatnou prognózou, a v případě HER2 pozitivních nádorů s postižením axilárních uzlin (ev. u N0 s nádorem větším než 1 cm) [138]. V naší populaci je přítomnost HER2 potvrzena u přibližně 15% případů. Používány jsou zatím tyto anti-HER2 preparáty s biologickým účinkem: v první linii léčby hlavně trastuzumab (Herceptin), pertuzumab, ve druhé linii ado-trastuzumab emtansin (T-DM1), dále lapatinib (Tyverb) a bevacizumab.

Osm velkých randomizovaných klinických studií prokázalo, že trastuzumab výrazně redukuje riziko relapsu onemocnění a úmrtí [100]. Optimální délka podání trastuzumabu není v současné době známá, ale optimální je jeden rok [139]. Lze jej podat intravenózní či subkutánní formou (nově Neratinib perorální formou). U klinického stadia II a více se upřednostňuje podání antracyklinu s konkominantním podáním trastuzumabu. Kontroverzní je jeho podání u HER-2 pozitivních nádorů menších než 1 cm, kdy tyto nemocné mají významně horší prognózu oproti HER-2 negativním nemocným se stejně velkým nádorem. ČOS (Česká Onkologická Společnost) proto doporučuje vždy individuálně zvážit toto riziko u nemocných s nádory o velikosti 5-10 mm a ev. doporučují podat kombinaci trastuzumabu a paklitaxelu [100], [138]. Po selhání první linie léčby by pacientkám měla být nabídnuta ve druhé linii léčba trastuzumab emtansinem (T-DM1) ev. v další linii kombinacemi např. lapatinib + kapecitabin, lapatinib + trastuzumab, trastuzumab + chemoterapie [140]. Lapatinib je orální inhibitor tyrosinkináz s duálním účinkem proti EGFR, HER-2. Je indikován v kombinaci s kapecitabinem k léčbě pacientů s pokročilým nebo metastazujícím karcinomem prsu, jejichž nádory ve zvýšené míře exprimují HER-2 a u kterých došlo k progresi onemocnění po předchozí léčbě chemoterapií a trastuzumabem [141]. Bevacizumab je humanizovaná monoklonální protilátka proti plazmatickému růstovému faktoru cévního endotelu A (Vascular endothelial growth factor – VEGF A). Blokáda VEGF způsobí normalizaci nádorového krevního řečiště, regresi nádorových cév a zábranu novotvorby cév. Bevacizumab je indikován k léčbě metastatického karcinomu prsu v kombinaci s paklitaxelem. Léčba je podávána naslepo, zatím není k dispozici marker výběru nemocných k léčbě bevacizumabem [142]. V průběhu léčby je nutné sledovat kardiální funkce dle doporučení „Cardiac Guidelines Consensus Committee“ [143].

## 1.8 Lokoregionální recidiva a vzdálené metastázy

K recidivě karcinomu prsu dochází nejčastěji v důsledku nedostatečně účinné léčby (lokální a systémové) při výrazné heterogenitě a multifaktoriální etiologii karcinomu prsu, což vede k nevyzpytatelnému biologickému chování tohoto onemocnění. Recidiva karcinomu prsu se může objevit do 2-3 let od operace, rovněž tak ale i po dlouholetém období (10 a více let) remise [144]. Z tohoto důvodu je velmi problematické stanovení definice „vyléčená pacientka“ na rozdíl od jiných malignit, kde je doba 5 let bez známek nemoci považována za období, kdy je pacientka považována za vyléčenou. Dle literárních údajů je četnost lokálních recidiv během 10 let podobná, po mastektomii dosahuje 4-14 % a po prs šetřícím výkonu s radioterapií 7-19 %, což poukazuje na to, že ani radikální chirurgický výkon nezaručuje zamezení výskytu lokální recidivy [13], [74]. Z toho se usuzuje, že prs záchovný výkon s následnou radioterapií je adekvátním výkonem totální mastektomii. Po prs záchovných operacích dochází k lokální recidivě v operovaném prsu (lokální recidiva), zatímco po mastektomii jsou častější recidivy v oblasti regionálních lymfatických uzlin (regionální recidiva) [145]. Četnost lokálních recidiv je při adekvátní léčbě kolem 1 % ročně. Mezi prediktory rizika lokální recidivy po záchovném výkonu patří pozitivní resekcí okraj, multifokalita, přítomnosti DCIS, biologické vlastnosti nádoru (lymfovaskulární invaze), věk pacientky, dědičnost a po mastektomii zejména stupeň postižení lymfatických uzlin, velikost nádoru, šíře resekcí okraje, postižení kůže nebo hrudní stěny, biologické vlastnosti nádoru a mladý věk [146], [144]. Při postižení 4 a více uzlin je riziko lokálně-regionální recidivy po mastektomii vysoké a je indikována adjuvantní radioterapie. Léčba recidivy po konzervativním výkonu spočívá v provedení mastektomie, v případě recidivy v jizvě po mastektomii v excizi jizvy. Regionální recidiva po biopsii sentinelové uzliny vyžaduje dokončení disekce axily (AD), resp. její revizi po primární disekci. V případě synchronního výskytu lokální recidivy i vzdálených metastáz je prioritou systémová onkologická léčba, avšak individuálně lze provést chirurgickou léčbu jak lokální recidivy, tak resekcibilních vzdálených metastáz [147].

Vzdálené metastázy se u karcinomu prsu nejčastěji zakládají do kostí, plic, jater a mozku. V tomto případě se jedná o klinické stadium IV a tedy inkurabilní onemocnění, které je indikované k paliativní systémové léčbě. Medián přežití je udáván kolem 2 let, ale v případě izolovaného kostního postižení může být onemocnění dlouhodobě stabilní. Kritéria k řešení vzdálených metastáz zůstávají nejednotná a je upřednostňován individuální postup, kdy musí lékař zvážit přínos léčby vzhledem k celkové life expectancy ve srovnání s nežádoucími účinky a možným zlepšením/zhoršením kvality života. Mnohé studie prokázaly signifikantní prodloužení celkového přežití u nemocných po resekcí orgánových metastáz ve správně indikovaných případech [100], [148], [149].

## 1.9 Dispenzarizace (Follow up)

Dispenzarizace patří do sféry terciární prevence, jejímž cílem je sledování neboli „follow up“ pacientek po ukončení komplexní léčby karcinomu prsu tak, abychom co nejdříve zachytili případnou lokální recidivu onemocnění, duplicitu nádoru či vzdálené metastázy. Patří do kompetence onkologa, mamologa či gynekologa, ev. praktického lékaře. Dispenzarizační algoritmus je velmi různý. Podle NCCN guidelines je doporučeno provádět klinické vyšetření první 3 roky každých 3-6 měsíců, další dva roky každých 6-12 měsíců a dále jednou ročně doživotně. Mamografické vyšetření je nutné provádět jednou ročně. Další vyšetření jako je vyšetření nádorových markerů (zejména CA15-3, CEA, CYFRA 21-1), RTG plic, sonografie prsů, jizev, axil a jater, dále scintigrafie skeletu a gynekologické vyšetření nejsou dle NCCN guidelines indikována, pokud chybí klinické příznaky rekurence či relapsu onemocnění, přesto je provádíme vždy po ukončení adjuvantní chemoterapie a na základě specifické indikace. V případě podezřelých nálezů či při klinických projevech možno využít další vyšetřovací metody, jako CT, PET/CT či PET/MRI vyšetření. Sledování nádorových markerů je doporučeno u rizikovější skupiny pacientek [150]. V současnosti je na základě výsledků mnoha retrospektivních i prospektivních studií trendem minimalizovat dispenzarizaci v její časové frekvenci a rozsahu prováděných vyšetření a to v důsledku průkazu minimálního či žádného vlivu na prognózu pacientek a délku celkového přežívání [13], [100].

## 1.10 Prognóza

Prognóza závisí především na stadiu onemocnění v době diagnózy a typu nádoru (méně věku). Zatímco v I. stadiu nemoci je prognóza pětiletého přežití téměř 100 %, ve IV. stadiu je to již jen 20 % (viz tabulka 9), přesto je to v porovnání s přežitím před 70 lety velký pokrok díky obrovskému efektu adjuvantní či paliativní systémové terapie [74].

Tabulka 9 - Pětileté a desetileté přežití pacientek v závislosti na stadiu nemoci

<b>PROGNÓZA</b>	<b>5 leté přežití (%)</b>	<b>10 leté přežití (%)</b>
<b>Stadium 0 a I</b>	100 %	92-98 %
<b>Stadium IIA</b>	92 %	80 %
<b>Stadium IIB</b>	81 %	68 %
<b>Stadium IIIA</b>	67 %	48 %
<b>Stadium IIIB</b>	54 %	30 %
<b>Stadium IIIC</b>	30 %	15 %
<b>Stadium IV</b>	20 %	5 %

Prognóza dále závisí na celém spektru faktorů (prognostické faktory) a na očekávané odpovědi pacientky na léčbu (prediktivní faktory).



## 1.11 Prognostické a prediktivní faktory

Pro volbu správné léčebné strategie je nutné zhodnotit prognostické a prediktivní faktory a je možné i vyslovit prognostický odhad, který umožní předpovědět délku a kvalitu života nemocné. Karcinom prsu představuje heterogenní skupinu nádorů s různým maligním potenciálem, etiopatogenezí, prognózou i způsobem léčby. Prognostickými faktory jsou charakteristiky nádoru, které určují, jak velké riziko onemocnění představuje pro délku života nemocné i dobu do progresu onemocnění. Prediktivní faktory naproti tomu determinují odpověď určitého nádoru na specifickou léčbu. Význam prognostických faktorů spočívá v určení, která pacientka potřebuje adjuvantní léčbu, zatímco prediktivní faktory indikují, jaká adjuvantní léčba je pro danou pacientku nejvhodnější [151]. Přehled negativních prognostických faktorů a základních prediktivních faktorů poskytuje tabulka 10.

Tabulka 10 - Přehled negativních prognostických faktorů a základní prediktivní faktory

Negativní prognostické faktory	Prediktivní faktory
Velikost nádoru nad 2 cm, mnohočetný karcinom	Estrogenový receptor (ER)
Histologický typ nádoru (inflamatorní karcinom)	Progesteronový receptor (PR)
Negativita ER a PR, pozitivita HER2	HER2/neu
Triple negativita (ER, PR i HER2-)	Oncotype DX
Vysoká proliferační aktivita (MIB1 nad 40%)	
Grade 3 (špatně diferencovaný karcinom)	
Přítomnost angioinvaze a lymfangioinvaze	
Těsný či pozitivní resekcční okraj	
Postižení 3 a více lymfatických uzlin metastázou	
Přítomnost vzdálených metastáz	
Nízký věk pacientky – pod 35 let a premenopauzální stav	

Oncotype DX patří nově mezi prediktivní faktory a poskytuje nám nejen odhad odpovědi na chemoterapii, ale i pravděpodobnost systémové recidivy během deseti let od diagnózy. U nízkorizikové skupiny se pravděpodobnost recidivy onemocnění pohybuje od 3-12 %, ve středně rizikové skupině od 12-21 % a u nejrizikovější skupiny (RS 31 a více) od 21-33 % [152], [153].

## 2 Karcinogeneze

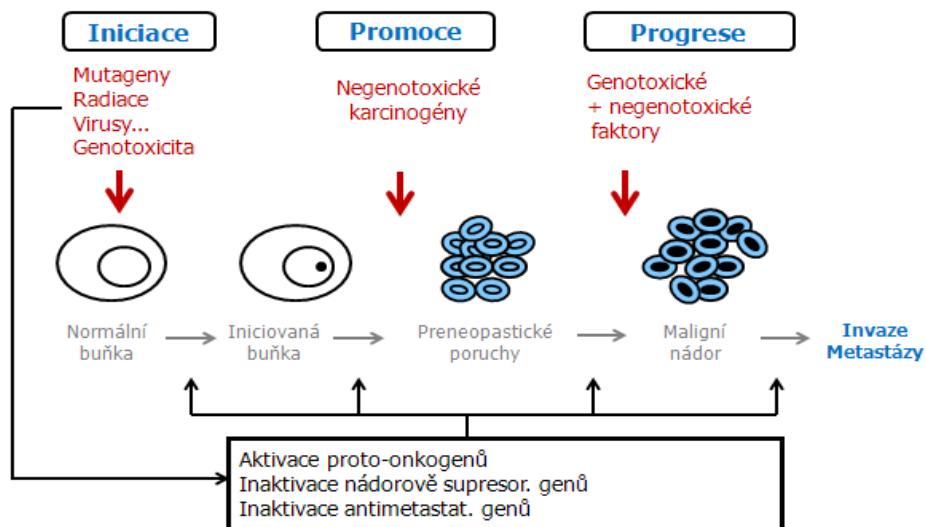
Obecně lze říci, že nádorové onemocnění je charakterizováno nekontrolovatelným buněčným růstem autonomního charakteru s narušenými regulačními mechanismy, změnami buněčné diferenciaci a inhibice apoptózy. Předpokládá se, že vznik a rozvoj zejména některých typů nádorů je až z 80% ovlivněn faktory okolního prostředí (chemické látky, viry, radiace). Zbývajících 20 % je přičítáno genetickým faktorům a spontánním mutacím.

V současné době je nejběžnější teorií onkogeneze teorie genetických mutací, které vedou k nerovnováze mezi buněčnou proliferací, diferenciací a buněčnou smrtí. Existují však i různé další teorie, které vysvětlují proces onkogeneze např. jako metabolické onemocnění (poruchy buněčného metabolismu).

Vznik a rozvoj nádorového onemocnění (karcinogeneze, kancerogeneze, onkogeneze, tumorigeneze) – je vícestupňový proces, který je výsledkem interakce genetických (změna v genové expresi se změnou sekvence DNA) a epigenetických změn (dědičné změny v genové expresi bez změny v sekvenci DNA, zejména metylaci DNA a acetylaci histonů) vyskytujících se hlavně u kmenových a prekursorových buněk různých typů.

Základem celého procesu karcinogeneze je fáze iniciace, kdy dochází k mutaci kritického genu a k jednoduchým změnám v tzv. protoonkogenech, což stačí k přeměně normální buňky v preneoplastickou (iniciovanou) s potenciálem maligní transformace. V této fázi se může proces zastavit, jde však o ireverzibilní proces. Další fází je promoční (rozvojová) fáze, kdy jsou buňky stimulovány k intenzivní proliferaci, což může trvat roky, či desítky let. Tento proces může být taktéž zastaven odstraněním promočních faktorů. Fáze je zpočátku vratná, později již nevratná. V přechodné fázi konverze či transformace dochází ke změnám fenotypu a vzniku maligního klonu. Ve fázi progresu dochází k akumulaci dalších mutací, zejména změnami počtu chromozómů a jejich přestavbami (změny v genomu, jako jsou chromozomální translokace, delece, inzerce a amplifikace genů), což je spojeno se vzrůstající rychlostí proliferace, invazivitou a vznikem metastáz. Dochází tak k nevratnému přechodu preneoplastické populace v neoplastickou, z benigního stadia do maligního. Základními znaky nádorové populace jsou pak zejména ztráta kontroly růstu, ztráta schopnosti terminální diferenciaci, ztráta schopnosti apoptózy a snížení nebo inhibice mezibuněčné komunikace (viz obrázek 3).

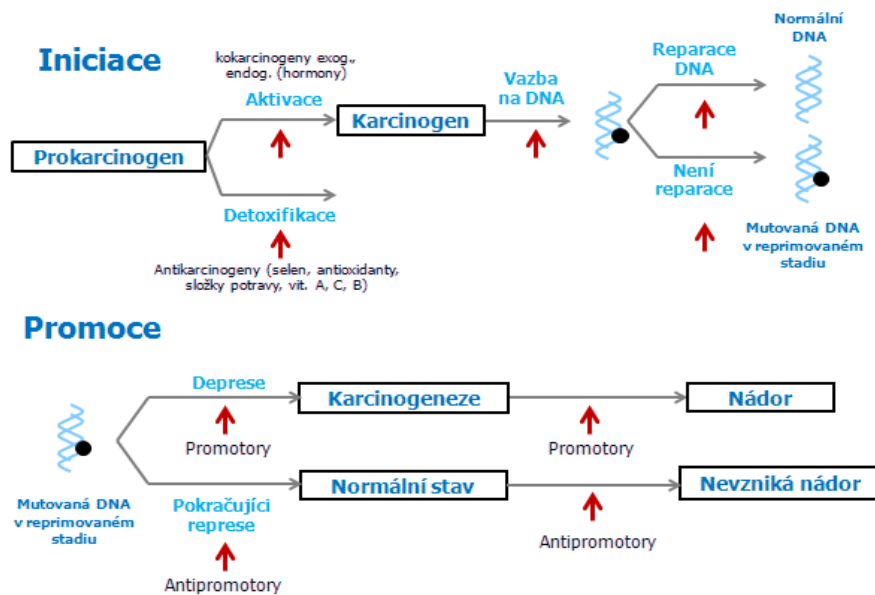
## Mnohostupňový proces karcinogeneze



Obrázek 3 - Vícestupňový proces karcinogeneze

(zdroj:[https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/genotox/web/docs/Genotoxicita\\_karcinogeneze.pdf](https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/genotox/web/docs/Genotoxicita_karcinogeneze.pdf))

Zatímco fáze iniciace a progrese zahrnují strukturální změny v DNA, fáze promoce je charakterizována nestálými změnami v proliferaci iniciovaných buněk a jejich potomstva a reverzibilními změnami v genové expresi (viz obrázek 4).



Obrázek 4 - Iniciační a promoční fáze karcinogeneze

(zdroj:[https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/genotox/web/docs/Genotoxicita\\_karcinogeneze.pdf](https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/genotox/web/docs/Genotoxicita_karcinogeneze.pdf))

Dlouhodobá expozice různým mutagenům, které jsou součástí prostředí (radiální pozadí, kontaminace potravin, látky v ovzduší) má za následek poškození genů, které řídí buněčný růst. Ke karcinogenezi dochází tehdy, není-li toto poškození napraveno.

V souvislosti s poznáním, že v onkogenním procesu jsou stejně důležité ztráta negativních a indukce pozitivních signálů, byly identifikovány nádorově supresorové geny a onkogeny. Protoonkogeny jsou normální buněčné geny, které kódují proteiny, které hrají klíčovou roli v regulaci růstu, diferenciaci a apoptózy normálních buněk. Mutace v protoonkogenech vede ke zvýšení množství a aktivity jejich proteinového produktu, který, je-li aktivován, začne se chovat jako onkogen a podporuje vývoj malignity. Pokud mutace v protoonkogenu způsobí trvalou aktivaci růstové stimulační dráhy, růst buňky je deregulovaný. Indukce transkripce onkogenů spustí maligní transformaci buňky. Jedním z prvních onkogenů, které byly identifikovány, je onkogen RAS, což je nejčastěji mutovaný gen u karcinomu pankreatu.

Existuje řada genů, které působí proti funkci onkogenů. Jsou to tzv. tumor supresorové geny („antionkogeny“), které inhibují proliferaci buňky, a u kterých může také dojít k mutaci. Jestliže dojde k narušení některého z tumor supresorových genů (p53, BRCA), opravných genů, či dojde k aktivaci protoonkogenů (RAS, HER2/neu), chyby v chromozomu buňky nejsou opraveny a buňka malignizuje. Ke spuštění onkogeneze je potřeba inaktivace obou alel tumor supresorového genu, přičemž v případě onkogenu stačí aktivace pouze jedné alely ze dvou. Předpokládá se, že právě mutace v „antionkogenech“ způsobuje vývoj rakoviny.

Proteiny, které jsou kódovány antionkogeny, mají podobně jako růstové faktory antiproliferační účinek na buněčný růst, což je předmětem současných výzkumů zaměřených na protinádorovou léčbu. Cílem budoucí chemoterapie je udržet expresi těchto genů nebo nahradit jejich defektní funkci.

Co se týká metastazování, v současnosti neexistuje žádný nadřazený metastazovací gen, jenž by byl pro všechny buňky společný. Jde o složitý komplexní proces, který je založen na řadě různých interakcí mezi nádorovými buňkami, extracelulární matrix a cílovou tkání [92].

### 3 Nádorové markery

Nádorové markery, nazývané také tumor markery (TM) či onkomarkery jsou laboratorně prokazatelné ukazatele přítomnosti nádorového bujení v organismu a dalšího pravděpodobného chování nádoru (např. pravděpodobnost progresu či odpovědi na léčbu) [154]. Jsou to převážně proteinové molekuly produkované maligními buňkami (nádorem indukované) nebo organismem, jako odpověď na nádorové bujení (s nádorem asociované). Některé nádorové markery jsou pro nádor specifické (produkované pouze nádorovou tkání, nikoliv zdravou tkání), zatímco jiné jsou běžně přítomné ve zdravé tkáni a vyskytují se ve vyšších koncentracích v tělních tekutinách nebo nádorové tkáni pacientů, ale mohou se vyskytovat i v souvislosti s benigním onemocněním. Některé nádorové markery jsou orgánově specifické (např. PSA – prostatický specifický antigen), ale většina je produkovaná řadou různých typů nádorů.

Podle výskytu dělíme TM na celulární nebo tkáňové tumor markery (v nádorové tkáni, v buňkách) a na humorální nebo sérové (solubilní) nádorové markery (v séru a jiných tělesných tekutinách). Vedle klasických nádorových markerů se v posledních letech využívají i některé genetické abnormality, které lze stanovit molekulárně-biologickými metodami, např. detekce velkých mutací v tumor supresorových genech (BRCA1, BRCA2), detekce cirkulujících nádorových buněk (CTC) apod. Jejich klinické využití je však omezené.

#### 3.1 Využití nádorových markerů v klinické praxi

Ideální nádorový marker by měl splňovat následující kritéria:

- Mít vysokou pozitivní a negativní prediktivní hodnotu
- Mít jednoduchou, standardizovanou, automatizovanou a levnou metodu stanovení s jednoznačně definovanými referenčními hodnotami
- Mít klinickou hodnotu validovanou v široké prospektivní studii [155]

Vzhledem k omezené orgánové i nádorové specifitě a senzitivitě zatím neexistuje univerzální marker, proto se doporučuje stanovit optimální kombinaci několika nádorových markerů (základních a doplňkových) [2], [156]. Další potenciální markery jsou stále předmětem výzkumů.

Výhodou vyšetřování sérových nádorových markerů je relativně ekonomicky i laboratorně jednoduché stanovení, nezatežující pacienta. Stanovení nádorových markerů by mělo být nedílnou součástí vyšetřovacích metod pro stanovení diagnózy, prognózy, kontroly průběhu léčby a follow up, což je vzhledem ke zvyšující se incidenci zhoubných onemocnění žádoucí.

Většina používaných solubilních nádorových markerů se stanovuje v séru imunoanalytickými metodami, což umožňuje odhalit přítomnost nádoru již o hmotnosti 1mg, čemuž odpovídá  $10^6$  nádorových buněk, zatímco klinická diagnóza resp. zobrazovací metody dokážou zaznamenat nádor s obsahem minimálně  $10^9$  nádorových buněk [157], [158]. Zvýšení hladiny nádorového markeru může tedy předcházet klinickou diagnózu rekurence onemocnění (lead time). Avšak interpretace výsledků má své limity díky již zmiňované nízké orgánové a tkáňové specifitě a senzitivitě, a proto není jejich stanovení především v časných stádiích onemocnění

doporučováno. Skutečné hladiny a hodnoty markerů jsou závislé na mnoha faktorech, jako například na biologickém poločasu rozpadu jednotlivých markerů, na vaskularizaci vlastního nádoru, velikosti nádorové masy, způsobu odběru a zpracování vzorku, na životosprávě či na funkci ledvin a jater. Hladina markeru se taktéž posuzuje v závislosti na klinické remisi a průběhu terapie.

Hlavní indikací vyšetření tumor markerů v klinické praxi je sledování dynamiky změn hladin při follow up průběhu onemocnění a účinku terapie. Důležité je stanovit hladinu tumor markeru před zahájením léčby (chirurgická, radiační či systémová) a v pravidelných intervalech po léčbě, či při změně léčby se správným načasováním odběru (ve 4. týdnu od zahájení onkologické terapie). Negativní hladiny v opakovaných náběrech po léčbě informují o úspěšnosti léčby. Vzestup hladiny nádorového markeru bezprostředně po léčbě může být známkou rozpadu nádorových buněk vlivem účinné terapie (lysis fenomen) a proto je proveden kontrolní náběr s odstupem třech až čtyřech týdnů. Vzestup hladiny tumor markeru ve třech po sobě jdoucích odběrech o více než 25 % indikuje podezření na recidivu, resp. progresi onemocnění. Pokles hladiny o více než 50 % značí parciální remisi. Další náběry nádorových markerů je vhodné dle doporučení WHO provádět každý měsíc během prvního půlroku, každé dva měsíce během druhého půlroku a každé tři měsíce během dalšího půlroku od vzniku maligního onemocnění, od 1,5 roku a v dalších letech od primární léčby 1x za šest měsíců. Při progresi nádorového onemocnění je vhodné frekvenci vyšetření nádorových markerů zvýšit [156].

Využití nádorových markerů k určení stadia nádorového onemocnění (staging) a ev. prognózy je kontroverzní. Lze říci, že vysoké hodnoty tumor markerů obvykle znamenají pokročilejší onemocnění (T3, T4) a tím i horší prognózu pro pacienta [156].

Pro optimální využití tumor markerů je důležitá správná indikace jejich vyšetření a správná interpretace výsledků. Mezinárodní odborné společnosti (ASCO – American Society of Clinical Oncology, NACB – National Academy of Clinical Biochemistry, EGTM – European Group on Tumor Markers) a národní odborné společnosti (ČSKB ČLS JEP – Česká společnost klinické biochemie České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně, ČOS ČLS JEP – Česká onkologická společnost a ČSNM ČLS JEP - Česká společnost nukleární medicíny – sekce imunoanalytických metod) proto pravidelně publikují doporučení pro jejich využití dle jednotlivých typů nádorů [159], [160], [161]. Tato doporučení zohledňují dlouhodobé zkušenosti autorů s používáním nádorových markerů v péči o onkologického pacienta [162].

### 3.2 Rozdělení a charakteristiky jednotlivých nádorových markerů

Na základě funkčních vlastností lze obecně rozdělit nádorové markery do pěti skupin [2]:

- Markery buněčné adheze (např. CA 15-3, CEA a další)
- Proliferační nádorové markery (např. cytokeratinové fragmenty – TPA, CYFRA 21-1, MonoTotal a další)
- Hormonální nádorové markery
- Enzymové nádorové markery (např. Thymidinkináza a další)
- Ostatní nádorové markery (např. Osteoprotegerin, Osteopontin, Matrix metaloproteinázy)

V následující části jsou uvedeny základní charakteristiky markerů, které byly předmětem této práce.

#### **Karcinomový antigen (CA 15-3)**

Glykoprotein o molekulové hmotnosti 300 – 400 kDA, antigen polymorfního epiteliálního mucinu MUC1. Účastní se procesů buněčné adheze. Hladiny v séru jsou zvýšené především při zvýšené aktivitě maligních buněk karcinomu prsu.

Doporučení ČSKB (Česká společnost klinické biochemie): Základní marker karcinomu prsu. Koncentrace CA 15-3 koreluje se stadiem onemocnění. Hlavní využití CA 15-3 je v monitorování nemocných s karcinomem prsu, zvláště metastazujícího. Relaps onemocnění bývá charakterizován senzitivitou CA 15-3 dosahující 60-90%. Jeho „lead time“ umožňuje předpovědět návrat onemocnění s předstihem několika měsíců před některými zobrazovacími metodami. Dynamika změn po terapii obvykle koreluje s terapeutickým efektem [162], [163], [164].

Hodnoty CA 15-3 mohou být zvýšeny z těchto nemaligních příčin: benigní dysplazie prsu, fibroadenom, pankreatitida, benigní onemocnění hepatobiliárního traktu, cirhóza jater, akutní a chronická hepatitida, chronická onemocnění plic, revmatologická onemocnění, fyziologicky v graviditě.

#### **Karcinoembryonální antigen (CEA)**

Nemucinózní glykoprotein o molekulové hmotnosti 180 – 200 kDA. Za fyziologických podmínek je CEA produkován ve vyvíjejícím se embryu. V dospělosti je omezeně syntetizován epiteliálními buňkami střevní sliznice, žaludku a bronchů. CEA patří do imunoglobulinové genové rodiny. Podílí se pravděpodobně na procesu adheze a metastazování buněk. Je základním markerem kolorektálního karcinomu, avšak jeho zvýšená produkce se vyskytuje i u dalších solidních nádorů včetně karcinomů prsu, především více diferencovaných typů.

Doporučení ČSKB: Základní marker karcinomu prsu. Monitorování průběhu onemocnění a odpovědi na léčbu patří k základním využitím CEA. Hodnoty vyšší než 10 µg/l znamenají obvykle progresi maligního procesu. Koncentrace vyšší než 50 µg/l svědčí s vysokou pravděpodobností o jaterních nebo kostních metastázách [162], [164], [165].

Zvýšení CEA v séru lze také pozorovat u benigních nebo premaligních onemocněních jako jsou jaterní cirhóza, Crohnova choroba, střevní polypy, onemocnění plic, ledvin, žlučníku, pankreatitida, benigní onemocnění prsu, dále u kuřáků a alkoholiků.

### **Tkáňový polypeptidový antigen (TPA)**

Polypeptid ze solubilních fragmentů cytokeratinů typu středních filament (cytokeratin 8, 18, a 19). Aktivně se podílí na proliferaci buněk.

Doporučení ČSKB: Doplnkový marker karcinomu prsu. TPA je vhodný především pro monitorování nemocných s karcinomem prsu a monitorování a hodnocení účinnosti terapie. Dynamika jeho změn při terapii je obvykle rychlejší než u markerů diferenciačního typu [162], [164].

Nespecificky může být zvýšen při cirhóze jater, hepatitidě a infekčních onemocněních.

### **Cytokeratinový fragment 21-1 (CYFRA 21-1)**

Rozpustný fragment cytokeratinu 19 s molekulovou hmotností 40 kDA. Předpokládá se, že jeho výskyt v séru nemocných s maligními nádory může souviset se smrtí buňky apoptózou či nekrotózou. Vzhledem ke specifickému výskytu tohoto cytokeratinu v epitelálních buňkách skvamózního (epidermoidního) typu má CYFRA 21-1 vyšší orgánovou specificitu než ostatní cytokeratinové markery TPA nebo TPS (tkáňový polypeptidový specifický antigen).

Doporučení ČSKB: Hladina CYFRA 21-1 obvykle koreluje se stadiem onemocnění. Hlavní oblastí využití tohoto markeru je monitorování průběhu onemocnění a především monitorování úspěšnosti terapie [162], [166].

Příčiny zvýšení hladiny CYFRA 21-1 z nemaligních příčin zahrnují jaterní cirhózu, chronické onemocnění ledvin, astma bronchiale, infekce respiračního traktu a další.

### **MonoTotal**

Jedná se o polypeptid ze solubilních fragmentů cytokeratinů typu středních filament (cytokeratin 8, 18 a 19). Jde o nespecifický nádorový marker, který odráží intenzitu aktivity nádorových buněk a jeví se tedy jako užitečný ukazatel časného záchytu recidivy a prognózy onemocnění.

Doporučení ČSKB: Nelze jej použít pro screening ani pro stanovení diagnózy či staging. Využíván je především k monitoraci a hodnocení účinnosti terapie malobuněčného karcinomu plic a jako doplnkový marker u nemocných s nádory v oblasti hlavy [162], [167].



MonoTotal může být zvýšen nespecificky u cirhózy jater, hepatitidy či u infekčních onemocnění.

### **Thymidinkináza (TK)**

Enzym thymidin-5-fosfotransferáza o molekulové hmotnosti 24 kDA, biomarker proliferace. Katalyzuje fosforylaci deoxythymidinu na deoxythymidin monofosfát, jehož přeměna na deoxythymidin trifosfát je důležitá při syntéze DNA. Zvýšená enzymatická aktivita TK je charakteristická pro rychle se dělící buňky v G1 a S fázi buněčného cyklu. Zvýšená produkce TK je charakteristická pro rychle rostoucí proliferující tkáň nádorů, zejména u akutních leukémií, nehodgkinských lymfomů a nádorů neuroendokrinního původu.

Doporučení ČSKB: Monitorování průběhu onemocnění a úspěšnosti terapie u hematologických malignit [162].

Zvýšení thymidinkinázy bývá pozorováno i u maligního melanomu a nádorů štítné žlázy, případně dalších solidních nádorů. U karcinomu prsu slouží jako doplňkový marker, odrážející stupeň proliferace a agresivity nádorového procesu [168], [169].

### **Další biomarkery**

Vedle již klinicky využívaných sérových nádorových markerů jsou předmětem výzkumu další substance, které se aktivně účastní nádorového procesu a mohly by být dalšími potenciálními biomarkery. Jedná se zejména o:

- Růstové faktory a jejich vazebné proteiny (IGF-1 - inzulinu podobný růstový faktor 1, IGF BP3 - protein 3 vážící inzulinu podobný růstový faktor, EGF – epidermální růstový faktor)
- Angiogenní faktory (VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor)
- Multifunkční proteiny (osteopontin, osteoprotegerin)

### **Inzulinu podobný růstový faktor 1 (IGF-1, insulin-like growth factor) a protein 3 vážící inzulinu podobný růstový faktor (IGF BP3)**

IGF-1 je multifunkční peptid z rodiny IGF, účastníci se regulace buněčné proliferace, diferenciaci a apoptózy, tedy procesů důležitých pro kancerogenezi. Na rozdíl od ostatních růstových faktorů se v cirkulaci vyskytuje ve vysokých koncentracích. Váže se především na svůj hlavní vazebný protein IGF BP3, který má však i vlastní funkci, a to inhibici růstu a indukci apoptózy [170], [171], [172], [173].

### **Epidermální růstový faktor (EGF)**

Polypeptid, mitogenní faktor, podílí se na aktivaci syntézy DNA, buněčné proliferaci a angiogenezi jako ligand receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR) [174]. Signální dráha EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) zřejmě hraje klíčovou roli při vzniku a růstu nádorových buněk [175]. Stimulace EGFR vede taktéž k podpoře angiogeneze a migrace buněk, která je podkladem pro vznik vzdálených metastáz [172], [173].

Ve zdravé tkáni je tento proces kontrolován a případná ztráta regulace v důsledku overexpresy EGFR na podkladě genové amplifikace vede k rozvoji resp. progresi nádorového onemocnění. Díky tomuto zjištění byla vyvinuta a do praxe zavedena vysoce účinná cílená biologická léčba monoklonálními protilátkami (trastuzumab – Herceptin, lapatinib – Tyverb), které mají za úkol inhibovat EGFR.

### **Vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF)**

Jedná se o silný angiogenní faktor, který byl poprvé popsán jako hlavní růstový faktor pro vaskulární endoteliální buňky. Je up-regulován u mnoha typů nádorů a je exprimován mnoha endoteliálními i neendoteliálními liniemi buněk včetně buněk nádorových. Četné studie prokázaly jeho expresi u solidních nádorů, včetně korelace s progresí onemocnění. Jeho overexpresy je spojena se zvýšenou angiogenezí a lymfangiogenezí, proliferací a metastazováním [176]. VEGF je stanovován jako prognostický faktor, jehož zvýšené hladiny jsou spojovány s pokročilým, resp. metastatickým nádorovým onemocněním se špatnou prognózou [177], [173], [178]. V praxi jsou využívány monoklonální protilátky inhibující tyrosinkinázovou aktivitu VEGFR (bevacizumab – Avastin).

### **Osteopontin (OPN)**

Je glykosylovaný fosfoprotein o molekulové hmotnosti 70 kDA. Je syntetizován nejrůznějšími buňkami (kostní, svalové, imunitní, endoteliální, nervové buňky a maligní epitelové buňky). Účastní se mnoha biologických procesů u autoimunitních a zánětlivých chorob, mezi které patří kupříkladu biomineralizace (kostní remodelizace). Co se týká biologie nádorů, se OPN podílí na buněčné proliferaci, migraci a adhezi buněk, angiogenezi, regulaci apoptózy (anti-apoptotický faktor) a metastazování [179]. Během nádorového bujení OPN podporuje buněčnou proliferaci, přežití, motilitu, invazi a ukotvení, tedy zvyšuje progresi nádoru a tvorbu metastáz [180]. Overexpresy OPN je spojována s agresivním chováním nádorů, pokročilostí onemocnění a špatnou prognózou u rakoviny prsu, ovarií, tlustého střeva, prostaty, plic, jater, melanomu a papilárního karcinomu štítné žlázy. Jeho hladiny v krvi pacientů korelovaly se stadiem a agresivitou nádoru [173], [181]. OPN tedy hraje významnou roli v procesu metastazování a progresi onemocnění [182].

### **Osteoprotegerin (OPG)**

Je glykoprotein, člen rodiny receptorů tumor nekrotizujícího faktoru (TNF), je secernován a chová se jako cytokin. Má celou řadu biologických funkcí. Je klíčovým regulátorem zánětu, vrozené imunity a vaskulárních onemocnění. Dále je významným hráčem v kostním metabolismu a je exprimován v mnoha tkáních (srdce, ledviny, játra, slezina a kostní dřev) [183]. OPG je spojován s několika maligními nádory, jako je karcinom prsu

(zejména invazivní duktální karcinom a inflamatorní karcinom), žaludku, močového měchýře, prostaty a mnohočetný myelom [184], [185]. Byla prokázána exprese OPG nádorovými buňkami a jeho hlavní rolí je podpora přežití nádorových buněk; OPG zde hraje roli receptoru pro TNF-příbuzný ligand indukující apoptózu (TRAIL) a snižuje tímto mechanismem organismem indukovanou apoptózu nádorových buněk [186]. Během karcinogeneze OPG podporuje proliferaci, angiogenezi a metastazování nádorových buněk také pomocí interakce s dalšími buňkami nádorového mikroprostředí [173], [187], [188].

### **Matrixové metaloproteinázy 2 a 9 (MMP-2, MMP-9)**

Matrixové metaloproteinázy (MMP) jsou enzymy, které zajišťují fyziologickou remodelaci extracelulární matrix. MMP jsou rodinou 23 strukturně příbuzných enzymů patřících do početné skupiny zinek dependentních endo-peptidáz. Účastní se řady fyziologických procesů, při kterých dochází k degradaci pojivové tkáně, ale i procesů zánětlivých (ateroskleróza, hojení chronických ran), degenerativních (roztroušená skleróza) a maligních spojených se zvýšenou syntézou, degradací nebo porušenou maturací a organizací extracelulární matrix (ECM) a bazální membrány (BM) [189]. Významnými zástupci MMP rodiny jsou MMP-2 a MMP-9, které patří mezi gelatinázy, a jejich hlavním endogenním regulátorem jsou tkáňové inhibitory matrixových metaloproteináz (TIMP), zejména tedy TIMP-1, který tvoří komplex přednostně s MMP-9, zatímco TIMP-2 s MMP-2. MMP-2 (92kDa, gelatináza A) degraduje molekuly kolagenu IV, který je hlavní komponentou BM. MMP-9 (72kDa, gelatináza B) je enzym degradující nejen denaturovaný kolagen, ale i nedenaturované kolageny typu V, VII, X, XIV, a celou řadu dalších komponent ECM, jako molekuly fibronektinu, elastinu a agrekanu. Aktivita matrixových metaloproteináz závisí na rovnováze mezi hladinou aktivního enzymu a tkáňového inhibitoru matrixových metaloproteináz. Vazbou MMP s TIMP dochází k inhibici jejich enzymatické aktivity. Jak poukazují mnohé studie, MMP a jejich inhibitory hrají důležitou roli v procesu degradace ECM a BM ve vztahu k nádorové invazivitě [190]. Vysoká exprese MMP je spojována se špatnou prognózou u pacientek s karcinomem prsu [191].

## 4 Cíle projektu

Hlavním cílem této práce bylo studovat klasické nádorové markery a nové potenciální biomarkery, související s nádorovým procesem karcinomu prsu a zhodnotit jejich přínos pro posouzení agresivity nádoru, rozsah chirurgického výkonu, volbu následné terapie a záchyt recidivy.

Dílčími cíli bylo:

- Porovnat předoperační hladiny nádorových markerů (CEA, CA 15-3, CYFRA 21-1, TPA, TK, MonoTotal) a potenciálních nových biomarkerů (VEGF, EGF, IGF-1, IGF-BP3, osteopontin, osteoprotegerin, matrixové metaloproteinázy MMP-2 a MMP-9) mezi skupinou pacientek s maligním a benigním onemocněním prsu
- V maligní skupině pacientek zhodnotit hladiny biomarkerů v závislosti na klinickém stadiu
- V maligní skupině pacientek zhodnotit hladiny biomarkerů v závislosti na stavu lymfatických uzlin a jejich přínos pro určení rozsahu chirurgického výkonu
- Navrhnout optimální algoritmus vyšetření biomarkerů pro záchyt recidivy
- V maligní skupině pacientek zhodnotit celkové přežití (OS) a čas do progresu (PFS)

## 5 Pracovní hypotéza

Karcinom prsu je komplexní onemocnění a jeho „management“ vyžaduje komplexní přístup. Sérové nádorové markery jsou užitečným doplňkem zobrazovacích metod, obzvláště při hodnocení účinků léčby a sledování pacientek po léčbě, neboť stanovení hladin sérových nádorových markerů je neinvazivní, rychlé a v neposlední řadě ekonomicky výhodné, jsou tedy vhodné pro dynamické sledování. Potenciál sérových biomarkerů však může zahrnovat i posouzení agresivity nádoru či příspěvek k volbě rozsahu chirurgického výkonu či vhodnosti adjuvantní terapie, což by bylo významným přínosem pro prognózu pacientek zejména u časných karcinomů prsu (tj. bez vzdálených metastáz).

Sérové proteiny studované v této práci se aktivně účastní procesu karcinogeneze (proliferace, růstu nádoru, angiogeneze) a byly zvoleny na základě publikovaných studií jak základního, tak aplikovaného výzkumu. Předpokládáme, že změny jejich hladin v krevním séru či plazmě reflektují patofyziologické děje v organismu, a tedy nám stanovení jejich předoperačních i pooperačních hladin umožní lépe porozumět etiologii nádorového procesu a zhodnotit jejich možné využití v klinické praxi.

## 6 Východiska

V zahraničí proběhla řada úspěšných studií zaměřených na analýzu nádorových biomarkerů u žen s pokročilým karcinomem prsu, ale relativně málo studií zaměřených na tumor markery u žen s časným karcinomem prsu, případně s pozitivní sentinelovou uzlinou, u kterých byla vynechána axilární disekce. Jak je známo, vynechání axilární disekce při metastatickém postižení sentinelové uzliny u přesně definované skupiny pacientek (T1 - tumory menší než 2 cm, s expresí ER a nízkou proliferací, G1) se zajištěním lokoregionální kontroly pooperační radioterapií a systémovou onkologickou léčbou neovlivňuje OS ani PFS.

V rámci předchozí grantové studie (IGA NS 10238-3/2009) provedené na našem pracovišti v letech 2006-2008 byly vyšetřovány sérové, případně plazmové hladiny vybraných tumor markerů (CA 15-3, CEA, TK, MonoTotal a TPA) a růstových faktorů (IGF-1, IGF-BP3, HGF, VEGF, EGF, TGF, leptin), které hrají významnou roli v angiogenezi a růstu nádoru s výsledkem dobrých prognostických ukazatelů pro skupinu pacientek s lokálně pokročilým karcinomem mléčné žlázy (IIB a III). Konkrétně, bylo prokázáno, že vyšší hodnoty TK, TPA, MonoTotalu a HGF v předoperačním i pooperačním náběru představují zvýšené riziko progresu onemocnění a v případě kombinace s vyššími hladinami VEGF i kratší celkové přežití. Nižší hodnoty IGF-1, IGFBP-3, TGF a EGF z předoperačního i pooperačního vyšetření se rovněž ukázaly jako nepříznivý prognostický faktor u zkoumané skupiny pacientek [170]. Dále byla potvrzena teorie, že zvýšené hodnoty CA 15-3 předoperačně korelují s velikostí nádorové hmoty a v případě jejího odstranění bez přítomnosti reziduální nemoci či metastáz došlo k normalizaci hodnot [172].

Další grantová studie (IGA NT 14332-3/2013) proběhla na našem pracovišti v letech 2012-2015 a týkala se možnosti vynechání disekce axily v případě nálezu metastatické sentinelové uzliny, přičemž byly sledovány předoperační hodnoty standardních nádorových markerů (CA15-3 a CEA) a novějších nádorových markerů (CYFRA 21-1) s výsledkem statisticky významného rozdílu mezi sérovými hladinami CA15-3, CEA a CYFRA 21-1 v maligní skupině proti benigní skupině [192].

V naší práci jsme hodnotili pacientky rozdělené do skupin podle klinického stadia a do skupin podle typu výkonu v axile (viz kapitola 4.1 Soubor nemocných). Poté jsme se cíleně zaměřili na skupinu pacientek s karcinomem prsu a metastatickým postižením sentinelové uzliny jakožto nejdůležitějším prognostickým faktorem, u kterých nebyla dokončena axilární disekce a provedli analýzu vybraných tumor markerů a růstových faktorů předoperačně (viz kapitola 1 Cíle projektu). Motivací k předoperačnímu vyšetřování vybrané skupiny tumor markerů a růstových faktorů u takto definované skupiny pacientek byla možnost vynechání axilární disekce při metastatickém postižení SN (dle hladiny TM či RF) a tím snížení morbidity a mortality. Vyšetření sérových biomarkerů (jako jeden z dalších možných prognostických faktorů) by tedy mohlo poskytovat jednoduchou metodu pro predikci stavu lymfatických uzlin. Časná predikce postižení lymfatických uzlin umožní upřesnit typ chirurgického výkonu v oblasti axily jako i využití adjuvantní terapie.

## 7 Soubor a metodika

### 7.1 Soubor nemocných

Jedná se o prospektivní nerandomizovanou studii, do které bylo zařazeno 206 nemocných s primárně chirurgicky léčeným karcinomem prsu v období od června 2012 do června 2015. Všechny nemocné byly podrobně seznámeny s výzkumným projektem a svým podpisem stvrdily souhlas se zařazením do studie (Příloha 1).

Maligní pacientky (n=206) byly dále rozděleny dvojím způsobem, a to, podle klinických stadií z hlediska prognózy a podle typu výkonu v axile (viz tabulka 11).

Kontrolní skupinu tvořily pacientky (n=43), které byly operovány pro benigní nález v prsu.

Tabulka 11 - Rozdělení souboru pacientek

	Skupiny podle biologické povahy léze (n=počet pacientek)	Podskupiny podle klinického stadia z hlediska prognózy (n=počet pacientek)	Podskupiny podle typu výkonu v axile (n=počet pacientek)
<b>Zkoumaná skupina</b>	<b>Maligní (n=206)</b>	Skupina A (n=106)	Skupina 1 (n=133)
		Skupina B (n=78)	Skupina 2 (n=36)
		Skupina C (n=22)	Skupina 3 (n=16)
			Skupina 4 (n=21)
<b>Kontrolní skupina</b>	<b>Benigní (n=43)</b>	0	0

Legenda:

- Podskupiny dle klinického stadia nádorového onemocnění: **Skupina A** – klinické stadium I (n=106), **Skupina B** – klinické stadium IIA (n=78), **Skupina C** – klinické stadium IIB a III (n=22).
- Podskupiny dle typu výkonu v axile: **Skupina 1** - pacientky s negativní sentinelovou uzlinou (n=133), **Skupina 2** - pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou bez dokončení axilární disekce (n=36), **Skupina 3** - pacientky, které měly pozitivní sentinelovou uzlinu a byla dokončena disekce axily (n=16), **Skupina 4** – pacientky s primární disekcí axily (n=21).

## 7.2 Metodika práce

Metodika práce byla následující: Do studie, která probíhala na Chirurgické klinice Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty UK v Plzni, byly zařazeny ženy operované pro maligní a benigní onemocnění prsu. Dispenzární péče byla zajištěna mamologickou poradnou Chirurgické kliniky. Objektivní vyšetřovací metody hodnotili lékaři Kliniky zobrazovacích metod ve Fakultní nemocnici v Plzni. Zpracování a analýza krevních vzorků byly zajišťovány Oddělením imunoanalýzy Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty UK v Plzni. Histologické vyšetření nádoru a axilárních uzlin bylo provedeno Šiklovým patologicko-anatomickým ústavem rovněž ve Fakultní nemocnici v Plzni.

Všem pacientkám byl v rámci studie po podepsání souhlasu proveden jeden odběr krve ráno před operací pro stanovení vybraných nádorových markerů. Ve skupině maligních žen se jednalo o nádory s velikostí do 5 cm (T1, T2). Pacientky, které měly klinicky a sonograficky negativní axilární lymfatické uzliny byly indikovány k biopsii sentinelové uzliny s peroperačním histologickým vyšetřením a část pacientek s klinicky i sonograficky podezřelými axilárními uzlinami byla indikovaná k primární disekci axily. Ani jedna z pacientek neměla v době stanovení diagnózy vzdálené metastázy (M0). Snahou předoperačního stanovení hladin jednotlivých růstových faktorů a nádorových markerů bylo sledování korelace se stavem axilárních uzlin resp. sentinelové uzliny. Výsledek by měl být nápomocen ke zhodnocení, zda v případě pozitivní sentinelové uzliny dokončit u vybrané skupiny pacientek disekci axily či nikoli, ev. zda volit pooperačně agresivnější onkologickou léčbu ev. změnit celou strategii léčby (primární léčba onkologická). V rámci dispenzární péče byly dále prováděny kontrolní náběry.

Indikace k operaci respektovaly celosvětová doporučení pro léčbu karcinomu prsu a byly vždy navrženy dle rozhodnutí multidisciplinárního týmu Fakultní nemocnice v Plzni. Časná stadia včetně nehmatných nádorů byla řešena prs zachovnou operací (u nehmatných nálezů s předoperačním značením pomocí zobrazovacích metod), u nádorů větších rozměrů, nepoměru velikosti prsu a nádoru či na přání nemocné byla provedena mastektomie. Co se týká biopsie sentinelové uzliny, byla indikovaná vždy v případě klinicky i sonograficky negativních uzlin. V případě peroperačního nálezu makrometastázy (velikost nad 2mm) v sentinelové uzlině nebyla u přesně definované skupiny pacientek dokončena disekce axily na základě rozhodnutí multidisciplinárního týmu, kde důležitou roli hrál typ a velikost nádoru (do 2 cm), exprese hormonálních receptorů (pozitivní ER a PR), negativní HER2-neu, nízká proliferativní aktivita (do 20%) a nízký grade (grade 1). V jiných případech (karcinomy ER a PR negativní, pozitivní HER2-neu, triple negativní karcinom, vysoká proliferativní aktivita, vyšší grade, mladý věk pacientky) byla v případě peroperačního nálezu makrometastázy v sentinelové uzlině v jedné době dokončena disekce axily s odesláním resekátu na definitivní histologické vyšetření. Benigní léze byly řešeny prostou exstirpací, bez výkonu na regionálních lymfatických uzlinách.

Ve vzorcích krevního séra, respektive plazmy, byly stanoveny vybrané biomarkery (viz kapitola 4.4 Metodika laboratorního zpracování krevních vzorků).

Původně bylo zamýšleno, že bude ze séra stanovován i další nádorový marker v podobě aktivovaných molekul adhezních buněk leukocytů (Activated leukocyte cell adhesion



molecules – ALCAM), který se účastní procesu metastazování, nicméně z analýzy několika vzorků vycházel negativně a jeho výsledky nebyly validní a interpretovatelné, proto bylo od jeho stanovení upuštěno.

Výběr určitých růstových faktorů a nádorových markerů byl prováděn na základě znalosti jejich uplatnění v kancerogenezi a procesu metastazování.

U každé pacientky byl veden protokol zahrnující její anamnestické údaje dle znalostí rizikových faktorů zejména věk v době stanovení diagnózy, věk prvního porodu/ nuliparita, kojení, užívání hormonální antikoncepce či hormonální substituční terapie, hormonální stimulace v rámci IVF, věk menopauzy, karcinom prsu či jiná malignita v osobní a rodinné anamnéze, benigní onemocnění prsu v osobní anamnéze, genetický karcinom, druhostranný karcinom prsu, kouření a BMI. Dále protokol obsahoval údaje týkající se vlastního primárního nádoru, jako jeho histopatologický typ, přítomnost hormonálních receptorů (estrogenových a progesteronových), mitotickou aktivitu (MIB1), přítomnost overexprese membránového receptoru HER2-neu, grade, rozměry tumoru, metastatické postižení regionálních lymfatických uzlin a stadium nádorového onemocnění dle TNM klasifikace.

Po chirurgické léčbě skupiny nemocných s karcinomem prsu následovalo konzilium klinickým onkologem následované naplánováním adjuvantní systémové léčby a ev. radioterapie (dle výsledků definitivní histologie), kterou zajišťovala ve většině případů Onkologická a radioterapeutická klinika ve Fakultní nemocnici v Plzni. Při metastatickém postižení regionálních axilárních uzlin bylo vždy provedeno ozáření spádového lymfatického systému, bez ohledu na to, zda byla dokončena disekce axily či nikoliv.

Dispenzární péče u všech pacientek spočívala v prvním roce po operaci v půlročních intervalech v klinickém a sonografickém vyšetření prsů a spádových lymfatických uzlin, v dalších letech po operaci již v ročních intervalech s doplněním mamografického vyšetření včetně restagingu (rentgen plic, sonografie jater a scintigrafie skeletu dle symptomatologie nemocné). V rámci dispenzární péče byly také sledovány hladiny nádorových markerů.

### 7.3 Metodika histologického zpracování

Jak peroperační, tak definitivní histologické zpracování primárního nádoru, jako i sentinelové uzliny a resekatu z axily bylo prováděno ve spolupráci s Šiklovým patologicko-anatomickým ústavem Fakultní nemocnice Plzeň.

#### Zpracování primárního nádoru

Histologicky byla zpracována vždy celá rezistence, kdy podmínkou byl 1 bloček na 1cm v největším rozměru tumoru jako absolutní minimum. Bylo-li to možné, byl odebrán jeden bloček na peroperační vyšetření (ten byl pak dále zpracováván v definitivních řezech), 1 bloček na imunohistochemii a 2 drobné vzorky byly zmrazeny v  $-80^{\circ}\text{C}$  pro případné molekulárně-genetické vyšetření. Zbytek nádoru a jeho okolí bylo zablokováno do definitivních řezů. Nádory byly fixovány v pufrovaném formalínu a po automatické dehydrataci v tkáňovém procesoru zality do parafinu. Fixace materiálu trvá dva dny s následným barvením řezů hematoxylinem-eosinem. V imunostaineru Ventana-Roche byl blok pro imunohistochemii barven protilátkami proti estrogenovým a progesteronovým receptorům a proti antigenu Ki67 pomocí MIB1 protilátky. Stav hormonálních receptorů byl stanovován semikvantitativně. Za pozitivní výsledek pro adjuvantní systémovou hormonální léčbu je považována hodnota 1% a vyšší. Použití MIB1 protilátky proti Ki67 je považováno za optimální k určení proliferační aktivity (procento MIB1 pozitivních buněk). Za nízkou proliferační aktivitu je považován výsledek do 20%, střední 20-40% a vysokou více než 40%. Vysoká proliferační aktivita nádoru je významným negativním prognostickým faktorem. Barvení pro stanovení HER2-neu probíhalo stejným způsobem a je hodnoceno takto: skóre 0 a 1+ je negativní, skóre 2+ slabě pozitivní a skóre 3+ pozitivní. Výsledek 2+ a 3+ je dále podroben vyšetření fluorescenční in situ hybridizací (FISH metodika) a v případě potvrzení amplifikace HER2-neu, tedy při pozitivním výsledku selektuje pacientky vhodné k biologické léčbě trastuzumabem (Herceptin). Nádory byly klasifikovány dle WHO klasifikace (4. vydání, 2012), grading invazivních karcinomů dle Nottinghamské klasifikace, duktální karcinom in situ (DCIS) dle van Nuyské klasifikace.

Při prs zachovném výkonu bylo prováděno peroperační vyšetření resekatu nádoru, kdy od patologa bylo požadováno zhodnocení typu léze, velikosti léze ve třech rozměrech a posouzení resečních okrajů (negativní, těsný či pozitivní okraj). Důvodem peroperačního vyšetření tumoru byla možnost rozšíření resektce prsní žlázy (re-resektce) v případě pozitivního resečního okraje v rámci jednoho operačního výkonu a ušetřit tím pacientku zátěže spojené s dalším operačním výkonem. V případě mastektomie byl preparát fixován ve formalínu a vyšetřen standardně v definitivních řezech.

#### Vyšetření sentinelové uzliny

Peroperační vyšetření bylo standardně využíváno i v případě vyšetření exstirpované sentinelové uzliny. Zpracovány byly vždy všechny sentinelové uzliny a to, z každé polovina peroperačně a druhá polovina byla zablokována a zpracována až v definitivních řezech. Technika peroperačního zpracování spočívala v makroskopickém posouzení uzliny, jejím rozdělení, zmrazení na  $-21^{\circ}\text{C}$  a prokrájení po sérii s výškou řezu 2 – 3 mikrometry. Řezy byly

následně obarveny v rychlé modifikované řadě hematoxylinem-eosinem pro posouzení přítomnosti metastáz.

#### Vyšetření resekátu z axily

Resekát z axily získaný disekcí axily byl transportován do bioptické laboratoře již ve fixačním roztoku formalínu a ponechán na definitivní histologické zpracování. Manuálně byly patologem vyhledány všechny hmatné rezistence v poměrně tukové tkáni. Jednotlivé uzliny pak byly spočteny a následně zpracovány standardním protokolem jako při zpracování primárního tumoru. Uzliny byly krájeny vždy celé v dlouhých sériích. Nejnovější patologická klasifikace (TNM-8) vyžaduje resekci a histologické vyšetření alespoň dolních axilárních lymfatických uzlin (I. etáže), což zahrnuje počet 6 a více mízních uzlin [193].

## 7.4 Metodika laboratorního zpracování krevních vzorků

Vzorky krve pro stanovení biomarkerů byly odebrány za standardních podmínek během ranních náběrů (mezi 6. a 8. hodinou) před operací na Chirurgické klinice Fakultní nemocnice Plzeň. Pro odběr vzorků byl použit odběrový systém krve VACUETTE® (Greiner Bio-One, Austria). Zpracování a analýza krevních vzorků byly zajišťovány Oddělením imunoanalýzy Fakultní nemocnice Plzeň. Sérum bylo získáno centrifugací při 1700 g po dobu 10 minut, plazma byla získána centrifugací při 1300 g po dobu 10 minut. Alikvoty séra a plazmy byly skladovány při teplotě -70°C až do laboratorní analýzy.

Biomarkery byly stanoveny imunoanalytickými metodami za pomoci komerčních laboratorních souprav a v souladu s doporučením výrobce. Přehled studovaných biomarkerů spolu s metodami viz tabulka 12.

**Tabulka 12 - Laboratorní metody stanovení studovaných biomarkerů**

<b>Biomarker (jednotka)</b>	<b>Materiál</b>	<b>Metoda</b>	<b>Přístroj (výrobce)</b>	<b>Výrobce kitu</b>
CA 15-3 (kIU/L)	sérum	chemiluminescence	UniCel DxI 800 (Beckman Coulter, USA)	Beckman Coulter, USA
CEA (ng/mL)	sérum	chemiluminescence	UniCel DxI 800 (Beckman Coulter, USA)	Beckman Coulter, USA
CYFRA 21-1 (µg/L)	sérum	CMIA	Architect i1000SR (Abbott Laboratories, USA)	Abbott Laboratories, USA
IGF-1 (ng/mL)	sérum	IRMA	Stratec SR-300, Německo	Immunotech, Francie
IGF-BP3 (ng/mL)	sérum	IRMA	Stratec SR-300, Německo	DiaSource Immunoassays, Belgie
MonoTotal (IU/L)	sérum	IRMA	Stratec SR-300, Německo	IDL Biotech AB, Švédsko
Thymidinkináza (IU/L)	sérum	REA	Stratec SR-300, Německo	Beckman Coulter, USA
TPA (IU/L)	sérum	IRMA	Stratec SR-300, Německo	IDL Biotech AB, Švédsko
EGF (pg/mL)	plazma	xMAP technologie	MagPix® (Luminex Corp., USA)	Merck Millipore Corp., USA

VEGF (pg/mL)	plazma	xMAP technologie	MagPix® (Luminex Corp., USA)	Merck Millipore Corp., USA
Osteoprotegerin (pg/mL)	plazma	xMAP technologie	MagPix® (Luminex Corp., USA)	Merck Millipore Corp., USA
Osteopontin (pg/mL)	plazma	xMAP technologie	MagPix® (Luminex Corp., USA)	Merck Millipore Corp., USA
MMP-2 (ng/mL)	plazma	xMAP technologie	MagPix® (Luminex Corp., USA)	Merck Millipore Corp., USA
MMP-9 (ng/mL)	plazma	xMAP technologie	MagPix® (Luminex Corp., USA)	Merck Millipore Corp., USA

Legenda:

- CA 15-3 = cancer antigen 15-3
- CEA = karcinoembryonický antigen
- CYFRA 21-1 = cytokeratinový fragment 21-1
- CMIA = chemiluminiscenční imunoanalýza na magnetických mikročásticích
- IGF-1 = inzulínu podobný růstový faktor 1
- IRMA = imunoradiometrická analýza
- IGF-BP3 = protein vázající inzulínu podobný růstový faktor 3
- TPA = tkáňový polypeptidický antigen
- EGF = epidermální růstový faktor
- xMAP = x multiple analyte profiling
- VEGF = vaskulární endoteliální růstový faktor
- MMP = matrixová metaloproteináza

Principem xMAP technologie je multiplexová imunoanalýza na mikročásticích, tj. vazba antigenu na protilátku navázanou na povrch spektrálně kódovaných mikrokuliček. Všechny sledované analyty jsou stanoveny v tomtéž alikvotu vzorku a za stejných podmínek. Typ a množství navázané látky je stanoveno pomocí druhé protilátky konjugované s fluorescenční molekulou. Detekce fluorescence je zajištěna CCD kamerou. Koncentrace jednotlivých analytů jsou vypočteny na základě standardních kalibračních křivek. Technologie xMAP je využívána v celosvětovém měřítku ve výzkumných projektech a částečně v rutinní analýze. Všechny ostatní metody jsou imunoanalytické technologie rutinně používané v klinických laboratořích.

## 7.5 Metodika statistického zhodnocení dat

Statistická významnost byla stanovena na hranici  $p < 0.05$ . Výsledky byly statisticky vyhodnoceny s použitím software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Pro měřené parametry v celém souboru a v jednotlivých skupinách byly počítány deskriptivní statistické údaje: průměr, směrodatná odchylka, medián, mezikvartilové rozpětí, minimum a maximum.

Vzhledem k negaussovskému rozdělení proměnných byly použity neparametrické testy. Statistické závislosti sledovaných parametrů a jejich korelace mezi sebou byly hodnoceny pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Pro porovnání distribucí jednotlivých parametrů v jednotlivých skupinách byl použit Wilcoxonův dvouvýběrový, případně Mann-Whitneyův test a pro grafické znázornění krabicové grafy (Box and Whiskers Plot). Pro parametry silně závislé na věku byla použita analýza kovariance s adjustací na věk.

Byly sestrojeny ROC křivky a hodnoceny AUC pro posouzení účinnosti (senzitivity a specificity) jednotlivých biomarkerů. Pomocí specificit a senzitivit byly dále stanoveny optimální hodnoty cut off biomarkerů pro follow up. Dále byly spočítány poměry rizik (RR, risk ratio), charakterizující riziko nepříznivého průběhu onemocnění při daném cut off.

Rozdíl spojitých proměnných mezi zkoumanými skupinami byl testován pomocí Kruskal-Wallis Testu. Analýza celkového přežití a času do progresu onemocnění byla počítána pomocí Kaplan-Meier křivek přežití. Vliv jednotlivých faktorů byl testován pomocí Log-rank testu, Gehan-Wilcoxon testu a Coxova regresního modelu.

## 8 Výsledky

Do studie bylo zařazeno 206 pacientek s primárně chirurgicky léčeným karcinomem prsu („maligní skupina“).

Kontrolní skupinu pacientek („benigní skupina“) tvořilo 43 žen, které byly operovány nejčastěji pro benigní fibroadenom, papilom či fibrózní mastopatii. Ve všech případech byla provedena prostá excize léze. U žádné z pacientek nebyla ve sledovaném období zjištěna recidiva benigního onemocnění či vznik primární nádorové léze.

### 8.1 Deskriptivní statistika

#### Věk

Průměrný věk v době stanovení diagnózy byl v maligní skupině 58 let, z nichž u 52 nemocných (25.2%) byla diagnóza stanovena ve věku 50 let a méně. Ve skupině žen s benigním onemocněním prsu byl průměrný věk 34 let. Věk obou skupin se signifikantně liší ( $p < 0,001$ ), maligní skupina je starší než benigní skupina (tabulka 13 a tabulka 14). Tento rozdíl odráží věkové zastoupení maligních a benigních onemocnění prsu v populaci. Věk patří mezi významné rizikové faktory zvyšující riziko vzniku karcinomu prsu (se stoupajícím věkem narůstá riziko vzniku karcinomu prsu v důsledku kumulace mutagenních vnějších faktorů a naopak postupného vyčerpání přirozených obranných mechanismů) [194].

Tabulka 13 - Charakteristika skupin dle věku

	<b>Maligní</b>	<b>Benigní</b>
<b>n = počet pacientek</b>	<b>206</b>	<b>43</b>
průměr	58	34
medián	59	35
minimum	28	18
maximum	88	62

**Tabulka 14 - Rozdělení maligní skupiny dle věkové hranice 50 let**

<b>Věk maligní skupiny</b>	<b>Věk &lt; 50 let</b>	<b>Věk &gt; 50 let</b>
<b>n = počet pacientek (206)</b>	52 (25.2%)	154 (74.8%)

Follow up

Medián sledování byl 53 měsíců (4 roky a 5 měsíců).

Typ nádoru

Z hlediska zastoupení histologického typu mělo 176 pacientek (85.4%) invazivní duktální karcinom (NST), 23 pacientek (11.2%) invazivní lobulární karcinom a 7 žen (3.4%) karcinom jiného typu (tabulka 15).

**Tabulka 15 - Rozdělení maligní skupiny dle histopatologického typu karcinomu**

<b>Typing</b>	<b>Invazivní duktální karcinom (NST)</b>	<b>Invazivní lobulární karcinom</b>	<b>Karcinom jiného typu</b>
<b>n (206)</b>	176 (85.4%)	23 (11.2%)	7 (3.4%)



### Typ výkonu

Typ operačního výkonu na prsu byl řízen dle indikačních kritérií (stadium nemoci, biologické vlastnosti nádoru, poměr velikosti prsu a nádoru a přání nemocné). Parciální resekce prsu byla provedena v 175 případech (85%) a mastektomie ve 31 případech (15%), (viz tabulka 16). Plánování rozsahu výkonu v axile bylo podřízeno klinickému a sonografickému vyšetření. V případě nepřítomnosti patologických uzlin byla indikována biopsie sentinelové uzliny. V případě předoperačního nálezu suspektních či pozitivních uzlin byla provedena primárně disekce axily. Biopsie sentinelové uzliny byla provedena u 185 nemocných (89.8%), přičemž u 16 nemocných (8.6%) byla dokončena axilární disekce pro peroperační nález makrometastázy z biopsie sentinelové uzliny a ve 36 případech (19.5 %) nálezu pozitivní sentinelové uzliny nebyla disekce axily dokončena (dle pravidel a výsledků studie Z 0011), (viz tabulka 17). Primární disekci axily podstoupilo 21 pacientek (10.2%). Celkem tedy podstoupilo axilární disekci 37 pacientek (18%).

**Tabulka 16 - Rozdělení maligní skupiny dle typu operačního výkonu**

<b>Typ operačního výkonu</b>	<b>n = počet pacientek (206)</b>
Parciální resekce	175 (85%)
Mastektomie	31 (15%)
Biopsie sentinelové uzliny (SLNB) celkem	185 (89.8%)
Primární disekce axily	21 (10.2%)

**Tabulka 17 - Rozdělení skupiny s biopsií sentinelové uzliny dle typu výkonu při pozitivitě či negativitě sentinelové uzliny (SN)**

<b>Biopsie sentinelové uzliny (SLNB) celkem</b>	<b>n = počet pacientek (206)</b>
SLNB (pro negativní SN)	133 (64.6%)
SLNB bez dokončení disekce axily (pro pozitivní SN)	36 (17.5%)
SLNB s dokončením disekce axily (pro pozitivní SN)	16 (7.7%)
Primární disekce axily	21 (10.2%)

### TNM klasifikace

Z hlediska TNM klasifikace lze říci, že 164 nádorů (79.6%) dosahovalo do velikosti 2 cm (pT1) a 42 nádorů (20.4%) bylo v rozsahu 2 až 5 cm (pT2). Důvodem, proč není popsán žádný nádor nad 5 cm (pT3, pT4), je primární neoadjuvantní onkologická léčba vzhledem k velikosti nádoru. Negativní sentinelová uzlina (bez metastatického postižení, pN0) byla nalezena v 133 případech (64.6%) a pozitivní sentinelová uzlina v 52 případech (25.2%), (viz tabulka 17). Celkem tedy 73 nemocných (35.4%) mělo metastatické postižení jedné či více axilárních uzlin (pN+). Všechny operované pacientky byly v době stanovení diagnózy bez průkazu vzdálených metastáz (pM0), (tabulka 18).

**Tabulka 18 - Rozdělení maligní skupiny dle TNM klasifikace**

<b>pT (tumor)</b>	<b>n</b>	<b>pN (noduli)</b>	<b>n</b>	<b>M (metastases)</b>	<b>n</b>
pT1	164 (79.6%)	pN0	133 (64.6%)	M0	206 (100%)
pT2	42 (20.4%)	pN1	61 (29.6%)	M1	0
pT3	0	pN2	8 (3.9%)		
pT4	0	pN3	4 (1.9%)		

### Klinické stadium

Nemocné s karcinomem prsu byly rozděleny dle TNM klasifikace do 3 skupin podle klinického stadia nádorového onemocnění takto: **skupina A** – klinické stadium I - tvořeno souborem 106 nemocných (51.5%), **skupina B** – klinické stadium IIA – tvořeno souborem 78 nemocných (37.8%) a **skupina C** – klinické stadium IIB a III – tvořena počtem 22 nemocných (10.7%), (viz tabulka 19 a tabulka 20).

**Tabulka 19 - Rozdělení maligní skupiny do klinických stadií dle prognózy**

<b>Skupina</b>	<b>Skupina A</b>	<b>Skupina B</b>	<b>Skupina C</b>
<b>Klinické stadium</b>	I.	IIA.	IIB + III
<b>n (206)</b>	106 (51.5%)	78 (37.8%)	22 (10.7%)

Rozdělení do těchto skupin respektuje TNM-7 klasifikaci a zároveň bylo voleno s ohledem na výrazně rozdílnou prognózu časných karcinomů bez metastatického postižení axilárních uzlin, časných karcinomů s postižením axilárních uzlin a lokálně pokročilejších karcinomů stran přežití bez recidivy onemocnění a celkového přežití. K primární chirurgické léčbě bylo přistoupeno i u nemocných v IIB a III. stadiu onemocnění (lokálně pokročilý karcinom) po konzultaci s onkologem a na přání nemocné s vědomím, že zvolený způsob léčby neodpovídá současným a celosvětovým doporučením léčby karcinomu prsu. Jednalo se celkem o 10 žen ve stadiu IIB (T2N1), 8 žen ve stadiu IIIA (T1N2, T2N2) a 4 ženy ve stadiu IIIC (T1N3).

#### Rozdělení podle typu výkonu v axile

Druhé dělení maligní skupiny pacientek je specifické a zohledňuje typ operačního výkonu v axile takto: **Skupina 1** je tvořena 133 pacientkami (71.9%) s negativní sentinelovou uzlinou, **skupina 2** je tvořena 36 pacientkami (19.5%) s pozitivní sentinelovou uzlinou bez dokončení axilární disekce a **skupina 3** je tvořena 16 pacientkami (8.6%), které měly pozitivní sentinelovou uzlinu a byla dokončena disekce axily (viz tabulka 17 a tabulka 20). Důvodem tohoto dělení je snaha zjistit rozdíly mezi stanovenými skupinami a to zejména díky ústupu od mutilující disekce axily u přesně definované skupiny pacientek, díky čemuž dochází ke snížení morbidity a mortality. **Skupina 4** je tvořena počtem 21 pacientek, které podstoupily primární disekci axily.

Pro přehlednost jsou v tabulce 20 uvedeny počty pacientek v jednotlivých skupinách.

**Tabulka 20 - Počet pacientek v jednotlivých skupinách**

<b>Skupina</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Celkem (n)</b>
<b>A (stadium I)</b>	102	1	0	3	<b>106</b>
<b>B (stadium IIA)</b>	29	32	7	10	<b>78</b>
<b>C (stadium IIB+III)</b>	2	3	9	8	<b>22</b>
<b>Celkem (n)</b>	<b>133</b>	<b>36</b>	<b>16</b>	<b>21</b>	<b>206</b>

Legenda: Počet pacientek dle skupin (skupina A – stadium I, B – stadium IIA, C – stadium IIB+III) x (výkon v axile: skupina 1 – biopsie sentinelové uzliny, skupina 2 - pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou bez dokončení disekce axily, skupina 3 - pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou s dokončením disekce axily, skupina 4 - pacientky s primární disekcí axily).

### Grading

88 nemocných (42.7%) mělo nádor velmi dobře diferencovaný (grade 1, G1), 87 nemocných (42.2%) středně diferencovaný karcinom (G 2) a 31 pacientek (15.1%) mělo špatně diferencovaný karcinom (G 3), (viz tabulka 21).

**Tabulka 21 - Rozdělení maligní skupiny dle gradingu**

<b>Grade</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>
<b>n</b>	88 (42.7%)	87 (42.2%)	31 (15.1%)

### Hormonální profil a exprese HER2-neu

176 nemocných (85.4%) mělo nádor estrogen pozitivní, 30 žen (14.6%) bylo estrogen negativních. Pozitivita progesteronových receptorů byla u 166 pacientek (80.6%) a negativita progesteronových receptorů u 40 žen (19.4%). Celkem 184 žen (89.3%) bylo HER2-neu negativních, (viz tabulka 22).

**Tabulka 22 - Hormonální profil a exprese HER2-neu**

	<b>ER+</b>	<b>ER-</b>	<b>PR+</b>	<b>PR-</b>	<b>HER2-neu +</b>	<b>HER2-neu -</b>
<b>n (206)</b>	176 (85.4%)	30 (14.6%)	166 (80.6%)	40 (19.4%)	22 (10.7%)	184 (89.3%)

### Proliferační aktivita

Nízkou proliferační aktivitu (MIB1 do 20%) mělo 156 žen (75.7%), střední aktivitu (MIB1 20-40%) mělo 34 pacientek (16.5%) a vysokou proliferační aktivitu (MIB1 nad 40%) mělo 16 nemocných (7.8%), (viz tabulka 23).

**Tabulka 23 - Rozdělení maligní skupiny dle stupně proliferační aktivity**

<b>Stupeň proliferační aktivity</b>	<b>Nízký (do 20%)</b>	<b>Střední (20-40%)</b>	<b>Vysoký (nad 40%)</b>
<b>n (206)</b>	156 (75.7%)	34 (16.5%)	16 (7.8%)

### Radioterapie a systémová léčba

Pooperační radioterapii podstoupilo 186 žen (90.3%). Hormonální léčbu podstoupilo celkem 176 žen (85.4%), chemoterapie byla indikovaná u 76 pacientek (36.9%) a biologickou léčbu absolvovalo 22 nemocných (10.7%), (viz tabulka 24).

**Tabulka 24 - Počet pacientek absolvujících radioterapii a systémovou léčbu**

<b>Typ léčby</b>	<b>Léčbu absolvovalo (n)</b>
Radioterapie	186 (90.3%)
Hormonální léčba	176 (85.4%)
Chemoterapie	76 (36.9%)
Biologická léčba	22 (10.7%)

### Lokální recidiva a generalizace

V kompletní remisi je tedy celkem 186 žen, u 3 pacientek byla zjištěna lokální recidiva (1 až 3,5 roku od operace), z toho u jedné nemocné došlo po 1,5 roce současně ke generalizaci onemocnění a k úmrtí za tři roky od operace. Celkem tedy 13 pacientek mělo generalizaci karcinomu prsu v období od půl roku do 3,5 roku od operace. V důsledku progresu onemocnění zemřelo 9 nemocných (v období od 3 měsíců do 4 let od zjištění progresu), 3 ženy žijí s generalizací a 5 žen zemřelo z jiných důvodů (infarkt myokardu, pneumonie). Nejčastěji docházelo ke generalizacím do skeletu (žebra, obratle, kyčelní a stehenní kost), plic, jater, mozku a v ojedinělých případech do žaludku, uzlin retroperitonea, ledvin, nadledvin, očního bulbu a kostní dřeně. V osmi případech se jednalo o kontralaterální karcinom vzniklý v rozmezí 1 až 32 let od první operace. Nádorová duplicita byla zaznamenána u 21 žen, nejčastěji šlo o kolorektální karcinom, maligní melanom, karcinomy štítné žlázy, M. Hodgkin, karcinom plic, renální karcinom, karcinom dělohy, bazaliom a krevní malignity (folikulární lymfom a ALL). Pozitivní rodinnou anamnézu na karcinom prsu mělo 46 žen, z toho 7 žen bylo z kontrolní skupiny, (viz tabulka 25).

**Tabulka 25 - Další údaje v maligní skupině**

<b>Ostatní údaje</b>	<b>n (206)</b>
Kompletní remise	186 (90.3%)
Lokální recidiva	3 (1.5%)
Generalizace	13 (6.3%)
Úmrtí	14 (6.8%)
Kontralaterální karcinom	8 (3.9%)
Nádorová duplicita	21 (10.2%)
Pozitivní rodinná anamnéza	39 (18.9%)

## 8.2 Statistické zhodnocení sledovaných biomarkerů

### Závislost biomarkerů na věku

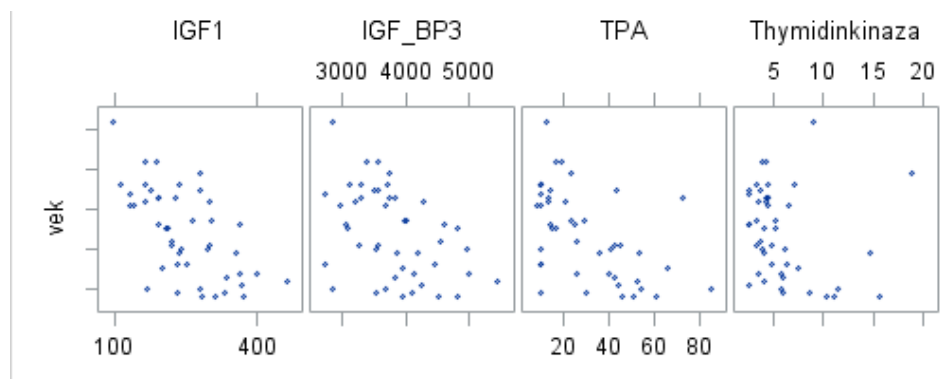
Korelace s věkem pro jednotlivé biomarkery v benigní skupině (tj. u subjektů neovlivněných malignitou) je uvedena v tabulka 26.

Tabulka 26 - Závislost biomarkerů na věku v benigní skupině

Biomarker	Spearmanův korelační koeficient (r)	p value
CA 15-3	0.3709	0.1112
CEA	0.2906	0.0501
CYFRA 21-1	-0.2853	0.0575
<b>TPA</b>	<b>-0.5161</b>	<b>0.0003</b>
MonoTotal	-0.1871	0.2184
<b>Thymidinkináza</b>	<b>-0.3041</b>	<b>0.0399</b>
<b>IGF-1</b>	<b>-0.6209</b>	<b>&lt; 0.0001</b>
<b>IGF-BP3</b>	<b>-0.4246</b>	<b>0.0033</b>
VEGF	-0.0429	0.7771
EGF	-0.1253	0.4065
OPG	0.1640	0.2760
OPN	-0.1618	0.2827

**Tučně** jsou uvedeny biomarkery, u kterých je korelace statisticky významná.

Následující biomarkery vykazují silnou negativní korelaci s věkem, což lze vysvětlit tím, že s věkem jejich koncentrace klesají: IGF-1 ( $r = 0.62$ ), IGF-BP3 ( $r = 0.42$ ), TPA ( $r = 0.52$ ), Thymidinkináza ( $r = 0.30$ ), viz obrázek 5. Tato zjištění je třeba brát v úvahu při interpretaci hladin biomarkerů.



**Obrázek 5 - Scatter Plot Matrix – Biomarkery s negativní korelací s věkem**



Porovnání předoperačních hladin biomarkerů u maligní a benigní skupiny

Hladiny biomarkerů pro jednotlivé skupiny a jejich porovnání jsou uvedeny v tabulce 27. Pro biomarkery, u kterých byla zjištěna statisticky významná závislost na věku, je uveden pouze průměr a hodnota p po adjustaci na věk.

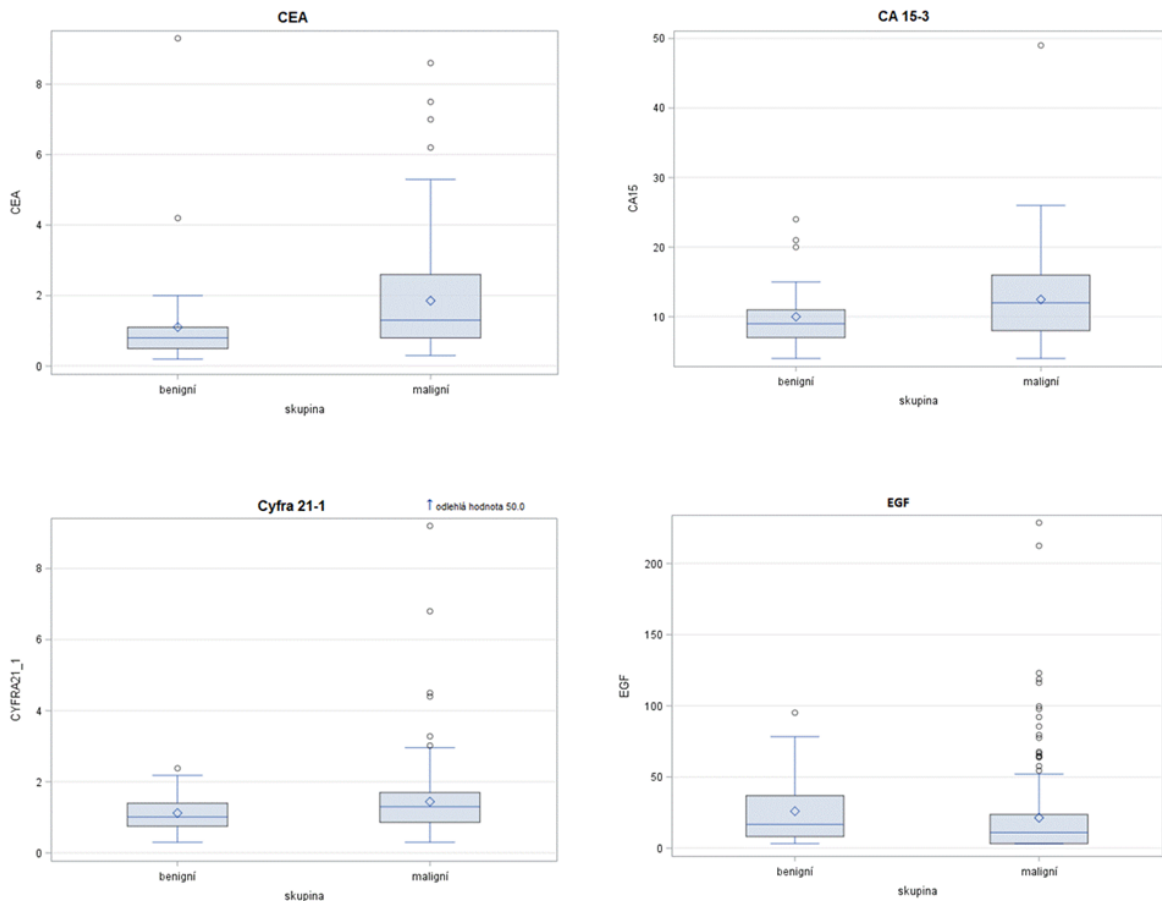
**Tabulka 27 - Porovnání průměrné koncentrace biomarkerů v maligní a benigní skupině**

	skupina	N	medián	5.percentil	95.percentil	Hodnota p (Wilcoxonův test)
CEA (ng/mL)	maligní	206	1.3	0.5	4.7	< 0,0001
	benigní	43	0.8	0.3	2.0	
CA 15-3 (kIU/L)	maligní	206	12.0	5.0	22.0	0,0037
	benigní	43	9.0	5.0	20.0	
TPA (IU/L)	maligní	206	37.7			0.6289*
	benigní	43	41.3			
CYFRA 21-1 (µg/L)	maligní	206	1.3	0.4	2.8	0.0289
	benigní	43	1.0	0.4	2.1	
MonoTotal (IU/L)	maligní	206	49.1	4.7	182.3	0.0577
	benigní	43	32.1	0.1	125.9	
Thymidinkináza (IU/L)	maligní	206	6.4			0.0648*
	benigní	43	6.1			
IGF-1 (ng/mL)	maligní	206	181.60			0.4863*
	benigní	43	190.0			

IGF BP3 (ng/mL)	maligní	206	3740.5			0.3538*
	benigní	43	3490.8			
<b>EGF (pg/mL)</b>	<b>maligní</b>	<b>206</b>	<b>11.37</b>	<b>3.2</b>	<b>77.58</b>	<b>0.0309</b>
	<b>benigní</b>	<b>46</b>	<b>16.52</b>	<b>3.2</b>	<b>66.53</b>	
VEGF (pg/mL)	maligní	206	86.53	3.2	830.4	0.1493
	benigní	43	113.99	3.2	948.55	
Osteoprotegerin (lg/mL)	maligní	206	360.54	225.69	752.01	0.1676
	benigní	43	363.97	188.9	567.21	
Osteopontin (pg/mL)	maligní	206	24.09	5.77	55.87	0.6174
	benigní	43	24.68	4.21	55.27	

\* V tabulce je uveden průměr místo mediánu, hodnota p po adjustaci na věk. **Tučně** jsou uvedeny biomarkery, u kterých je korelace statisticky významná.

U biomarkerů CEA, CA 15-3 a CYFRA 21-1 byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi maligní a benigní skupinou (u maligní skupiny byla hladina vyšší). Biomarker EGF byl u maligní skupiny nižší než u benigní, viz obrázek 6.



**Obrázek 6 - Předoperační hladiny statisticky významných nádorových markerů ve skupině benigní a maligní vyjádřeno graficky v Box Plot**

V následujících tabulkách je uvedeno zhodnocení nádorových markerů podle hodnoty laboratorního cut off (referenční hladiny), a to pro maligní skupinu (viz tabulka 28) a pro benigní skupinu (viz tabulka 29).

**Tabulka 28 - Hodnoty nádorových markerů u maligní skupiny**

	Cut-off	% větší nebo rovno (skutečně pozitivní)	Falešně negativní
CEA (ng/mL)	3	<b>18.81</b>	81.11
CA15-3 (kIU/L)	24	<b>2.48</b>	97.52
TPA (IU/L)	100	<b>3.96</b>	96.04
CYFRA 21-1 (µg/L)	2.5	<b>8.91</b>	91.09
MonoTotal (IU/L)	100	<b>17.17</b>	82.83
Thymidinkináza (IU/L)	8	<b>22.77</b>	77.23

Hodnota nádorového markeru pod cut off je prognosticky příznivým faktorem.

**Tabulka 29 - Hodnoty nádorových markerů u benigní skupiny**

	Cut-off	% menší (skutečně negativní)	Falešně pozitivní
CEA (ng/mL)	3	<b>95.65</b>	4.35
CA15-3 (kIU/L)	24	<b>97.83</b>	2.17
TPA (IU/L)	100	<b>100</b>	0
CYFRA 21-1 (µg/L)	2.5	<b>100</b>	0
MonoTotal (IU/L)	100	<b>86.96</b>	13.04
Thymidinkináza (IU/L)	8	<b>82.61</b>	17.39

Cytokeratiny (TPA, CYFRA 21-1) jsou obecně nespecificky zvýšené u zánětlivých onemocnění. Nulové procento falešně pozitivních u benigní skupiny naznačuje, že do kontrolní skupiny byly pacientky vhodně zvoleny.

Porovnání předoperačních hladin biomarkerů v závislosti na skupině podle klinického stadia

Dalším z cílů bylo zhodnotit hladiny biomarkerů v maligní skupině v závislosti na klinickém stadiu onemocnění, viz tabulka 30.

**Tabulka 30 - Porovnání hladin tumor markerů podle klinického stadia v maligní skupině**

	<b>skupina</b>	<b>n</b>	<b>medián</b>	<b>Spodní kvartil</b>	<b>Horní kvartil</b>	<b>Hodnota p (Wilcoxonův test)</b>
<b>CEA</b>	<b>A</b>	<b>106</b>	<b>1.1</b>	<b>0.7</b>	<b>2.2</b>	
	<b>B</b>	<b>78</b>	<b>1.6</b>	<b>1.2</b>	<b>2.9</b>	<b>0.0299</b>
	<b>C</b>	<b>22</b>	<b>1.55</b>	<b>1.0</b>	<b>2.6</b>	
<b>CA 15-3</b>	<b>A</b>	<b>106</b>	<b>11.0</b>	<b>8.0</b>	<b>15.0</b>	
	<b>B</b>	<b>78</b>	<b>13.0</b>	<b>9.0</b>	<b>16.0</b>	
	<b>C</b>	<b>22</b>	<b>13.0</b>	<b>9.0</b>	<b>19.0</b>	<b>0.3449</b>
<b>TPA</b>	<b>A</b>	<b>106</b>	<b>28.0</b>	<b>15.0</b>	<b>48.0</b>	
	<b>B</b>	<b>78</b>	<b>28.0</b>	<b>19.0</b>	<b>45.0</b>	
	<b>C</b>	<b>22</b>	<b>46.5</b>	<b>32.0</b>	<b>71.0</b>	<b>0.0081</b>
<b>CYFRA 21-1</b>	<b>A</b>	<b>106</b>	<b>1.2</b>	<b>0.79</b>	<b>1.65</b>	
	<b>B</b>	<b>78</b>	<b>1.4</b>	<b>0.9</b>	<b>1.7</b>	
	<b>C</b>	<b>22</b>	<b>1.72</b>	<b>1.4</b>	<b>2.5</b>	<b>0.0004</b>
<b>MonoTotal</b>	<b>A</b>	<b>106</b>	<b>44.45</b>	<b>19.9</b>	<b>78.5</b>	
	<b>B</b>	<b>78</b>	<b>51.25</b>	<b>23.9</b>	<b>82.8</b>	
	<b>C</b>	<b>22</b>	<b>63.35</b>	<b>37.7</b>	<b>141.7</b>	<b>0.0232</b>

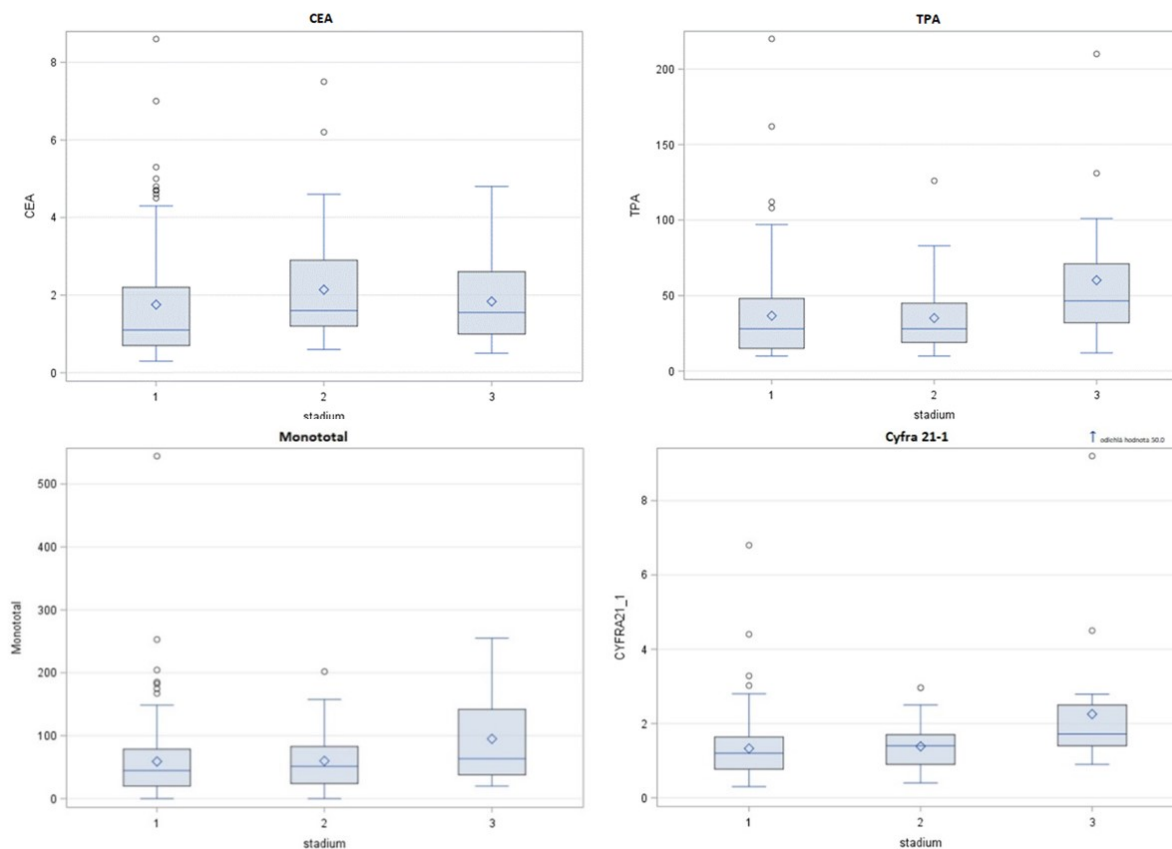
Thymidinkináza	A	106	5.3	4.0	7.2	
	B	78	5.8	4.5	8.3	
	C	22	6.5	4.2	8.4	0.2166
IGF-1	A	106	161.0	122.0	200.0	
	B	78	159.0	130.0	217.0	
	C	22	170.0	145.0	202.0	0.5157
IGF-BP3	A	106	3736.0	3220.0	4241.0	
	B	78	3710.5	3139.0	3947.0	
	C	22	3436.0	2869.0	3830.0	0.1144
EGF	A	106	10.55	3.2	24.66	
	B	78	13.91	3.9	22.38	
	C	22	9.83	3.2	18.3	0.5502
VEGF	A	106	86.53	3.2	201.66	
	B	78	77.02	3.2	162.14	
	C	22	110.925	3.2	256.24	0.5057
Osteoprotegerin	A	106	362.6	292.58	479.86	
	B	78	344.67	289.64	480.16	
	C	22	367.05	270.45	522.74	0.9312
Osteopontin	A	106	22.9	15.64	32.95	
	B	78	25.02	18.52	33.94	

	C	22	31.20	19.91	40.71	0.0841
--	---	----	-------	-------	-------	--------

Legenda:

- skupina A – klinické stadium I,
- skupina B – klinické stadium IIA,
- skupina C – klinické stadium IIB+III.
- **Tučně** jsou zobrazeny statisticky významné rozdíly.

Mezi skupinami A a B byl zjištěn statisticky významný rozdíl pouze u CEA. Statisticky významný rozdíl mezi skupinou B a C jsme zjistili u těchto biomarkerů: TPA, CYFRA 21-1 a MonoTotal, viz obrázek 7.



**Obrázek 7 - Předoperační hladiny statisticky významných nádorových markerů v závislosti na skupině podle klinického stadia vyjádřeno graficky v Box Plot (1 - stadium A, 2 - stadium B, 3 - stadium C)**

Hladiny CA 15-3 a dalších biomarkerů je podobná ve všech skupinách dle stadia, bez statistické významnosti.

Porovnání předoperačních hladin biomarkerů podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile

Dalším cílem bylo zhodnotit hladiny biomarkerů v závislosti na stavu lymfatických uzlin a jejich přínos pro určení rozsahu chirurgického výkonu v maligní skupině pacientek.

**Tabulka 31 - Porovnání hladin tumor markerů podle stavu lymfatických uzlin ve skupině 1 až 3 (skupina 4 – primární disekce axily nebyla do srovnání zahrnuta z důvodu hodnocení pouze stavu lymfatických uzlin odstraněných biopsií sentinelové uzliny/uzlin)**

	skupina	n	medián	5. percentil	95. percentil	Hodnota p (Wilcoxonův test)
<b>CEA</b>	<b>1</b>	<b>133</b>	<b>1.2</b>	<b>0.4</b>	<b>4.7</b>	
	2	36	1.4	0.6	4.2	0.6102
	3	16	1.4	0.5	4.8	0.8580
<b>CA 15-3</b>	<b>1</b>	<b>133</b>	<b>12.0</b>	<b>5.0</b>	<b>22.0</b>	
	2	36	11.0	6.0	22.0	0.9497
	3	16	13.0	5.0	20.0	0.6224
<b>TPA</b>	<b>1</b>	<b>133</b>	<b>28.0</b>	<b>10.0</b>	<b>90.0</b>	
	2	36	32.0	10.0	78.0	0.8268
	3	16	22.0	10.0	210.0	0.7882
<b>CYFRA 21-1</b>	<b>1</b>	<b>133</b>	<b>1.2</b>	<b>0.41</b>	<b>2.7</b>	
	2	36	1.37	0.39	2.63	0.4430
	3	16	1.25	0.4	9.2	0.5924
<b>MonoTotal</b>	<b>1</b>	<b>133</b>	<b>43.95</b>	<b>4.7</b>	<b>157.48</b>	



	2	36	<b>55.75</b>	<b>0</b>	<b>207.1</b>	0.6705
	3	16	45.5	0	254.9	0.9726
Thymidinkináza	1	<b>133</b>	5.5	2.6	11.7	
	2	36	5.4	2.9	11.8	0.9381
	3	16	5.8	2.6	15.9	0.7888
<b>IGF-1</b>	1	<b>133</b>	157			
	2	36	157			0.8127
	3	16	195			<b>0.0337</b>
IGF- BP3	1	<b>133</b>	3701			
	2	36	3700			0.6889
	3	16	3694			0.8846
EGF	1	<b>133</b>	10.9			
	2	36	16.2			0.2461
	3	16	18.5			0.8839
<b>VEGF</b>	1	<b>133</b>	72.1			
	2	36	69.4			0.7975
	3	16	166			<b>0.0438</b>
Osteoprotegerin	1	<b>133</b>	360			
	2	36	359			0.5672
	3	16	422			0.8495

Osteopontin	1	<b>133</b>	22.4			
	2	36	24.7			0.6297
	3	16	25.7			0.6159

Legenda:

- skupina 1 – pacientky s negativní sentinelovou uzlinou (bez metastatického postižení)
- skupina 2 – pacientky s metastatickou sentinelovou uzlinou z peroperační biopsie bez dokončení disekce axily
- skupina 3 – pacientky s metastatickou sentinelovou uzlinou z peroperační biopsie s dokončením axilární disekce

Ve skupině 3 byly oproti skupině 2 signifikantně zvýšeny biomarkery IGF-1 a VEGF (jedná se o biomarkery lymfangiogeneze, které se uplatňují v procesu metastazování a z tohoto důvodu je dokončení disekce axily při jejich elevaci opodstatněné). U ostatních markerů nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly hladin.

Vztah hladin matrixových metaloproteináz ke stavu lymfatických uzlin

Hladiny MMP-2 a MMP-9 byly porovnávány pouze u části pacientek s pozitivní a negativní sentinelovou uzlinou, bez ohledu na typ výkonu. Výsledky jsou uvedeny v tabulka 32.

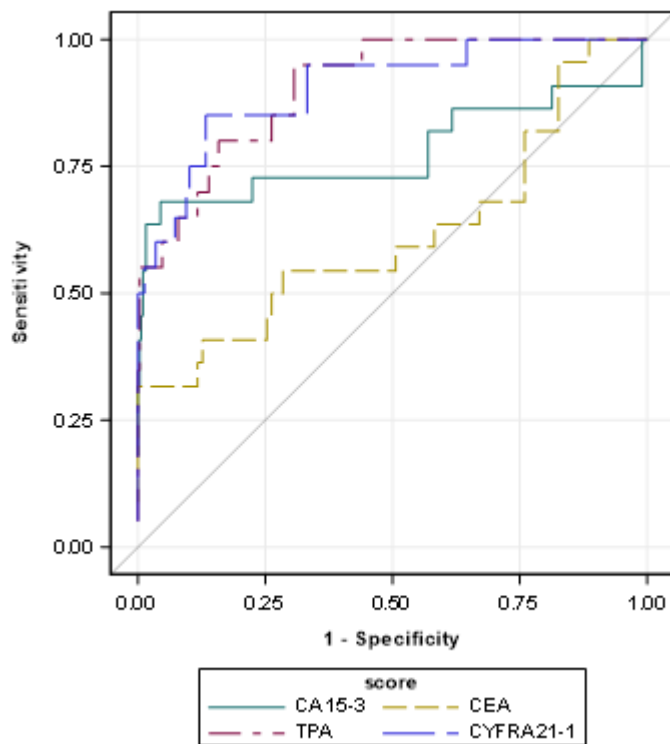
**Tabulka 32 - Vztah hladin MMP 2 a MMP-9 ke stavu lymfatických uzlin**

	průměr		
	Negativní LU (n=36)	Pozitivní LU (n=38)	Hodnota p
<b>MMP-2 (pg/mL)</b>	<b>191.54</b>	<b>149.18</b>	<b>0.0293</b>
MMP-9 (pg/mL)	80.41	89.41	0.5719

Byl zjištěn statisticky významný rozdíl u hladin MMP-2, které byly nižší ve skupině s pozitivní sentinelovou skupinou.

## Follow up

Obrázek 8 zobrazuje ROC křivky pro biomarkery, které měly nejlepší AUC (Area Under the Curve).



Obrázek 8 - ROC křivky pro biomarkery s nejlepším AUC

Dle AUC pod ROC křivkou vychází markery v tomto pořadí od nejlepšího:

1. CYFRA 21-1            AUC=0.9115
2. TPA                    AUC=0.9072
3. CA15-3                AUC=0.7873
4. CEA                    AUC=0.6327

Dle senzitivit při 90% specifitě je pořadí markerů:

1. CYFRA 21-1            senzitivita=70.0%
2. CA15-3                senzitivita=68.2%
3. TPA                    senzitivita=65.0%
4. CEA                    senzitivita=31.8%

Dle senzitivit při 95% specifitě je pořadí markerů:

1. CA15-3                senzitivita=68.2%

- |               |                   |
|---------------|-------------------|
| 2. CYFRA 21-1 | senzitivita=60.0% |
| 3. TPA        | senzitivita=60.0% |
| 4. CEA        | senzitivita=31.8% |

Vzhledem k silným korelacím mezi cytokeratiny (CYFRA 21-1 a TPA,  $r = 0.67$ ,  $p < 0.0001$ ) je pro záchyt recidivy nejlepší kombinace CYFRA 21-1 a CA 15-3. Z těchto dat dále vyplývá, že CEA nemá význam pro záchyt progresu.

Pokusili jsme se najít optimální hodnoty cut off pro follow up. Hodnoty pozitivních prediktivních hodnot (PPV), negativních prediktivních hodnot (NPV) a Hazard ratio (HR) jsou uvedeny v tabulce 33.

**Tabulka 33 - Hodnoty pozitivních prediktivních hodnot (PPV), negativních prediktivních hodnot (NPV) a Hazard ratio (HR) u biomarkerů s nejlepším AUC**

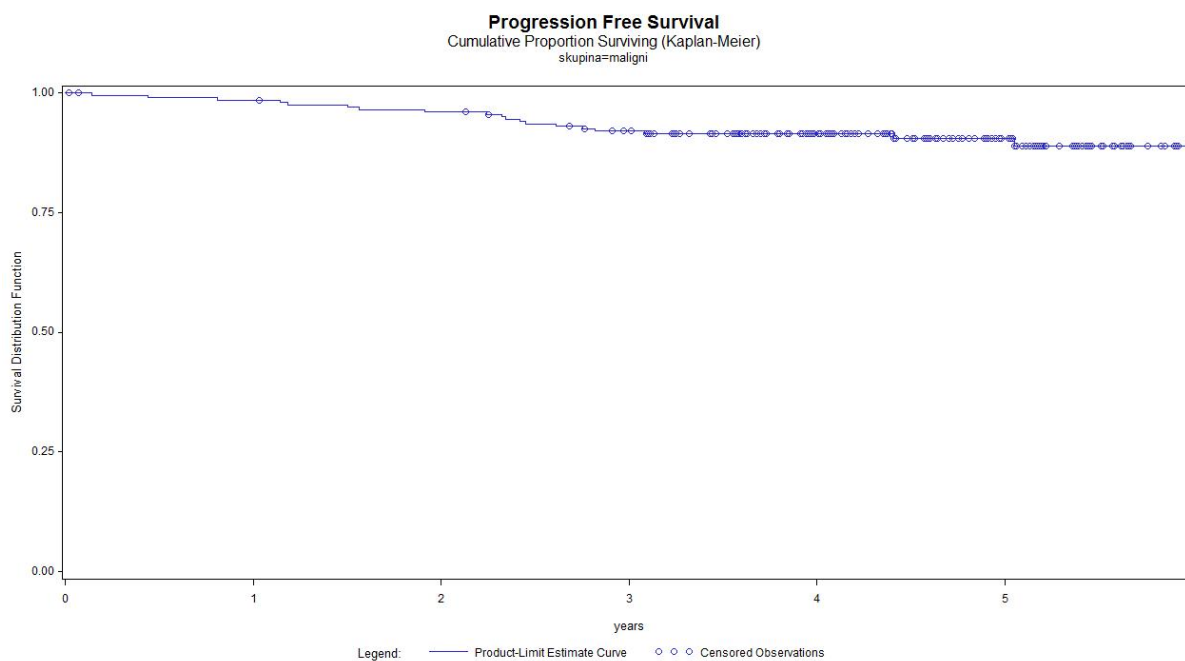
Biomarker	cut-off	Specificita	Senzitivita	PPV+	NPV-	HR
CEA	3.5000	90.0000	31.8182	7.5431	98.0945	3.95862
	4.5000	95.0769	31.8182	13.5599	98.2892	7.92601
CYFRA 21-1	2.2000	90.4376	70.0000	7.2970	99.6446	20.5305
	<b>2.9000</b>	<b>95.4619</b>	<b>60.0000</b>	<b>15.2239</b>	<b>99.4341</b>	<b>26.9021</b>
CA 15-3	21.0000	89.6764	68.1818	7.3590	99.5751	17.3179
	22.0000	93.0663	68.1818	10.2304	99.6053	25.9218
	<b>23.0000</b>	<b>95.5316</b>	<b>68.1818</b>	<b>14.6958</b>	<b>99.6254</b>	<b>39.2272</b>
TPA	82.0000	90.2022	65.0000	7.4132	99.5339	15.9042
	110.0000	95.0233	60.0000	13.6335	99.4519	24.8722

HR = hazard ratio (nebo RR, risk ratio) znamená, že pro daný cut off bude HRkrát vyšší riziko nepříznivého průběhu onemocnění. Pro nádorový marker CYFRA 21-1 je HR lepší než pro TPA, který je na některých pracovištích stanovován. Další nejlepší je CA 15-3. Z těchto dat dále vyplývá, že cut off pro follow up by měl být vyšší než cut off pro diagnostiku.

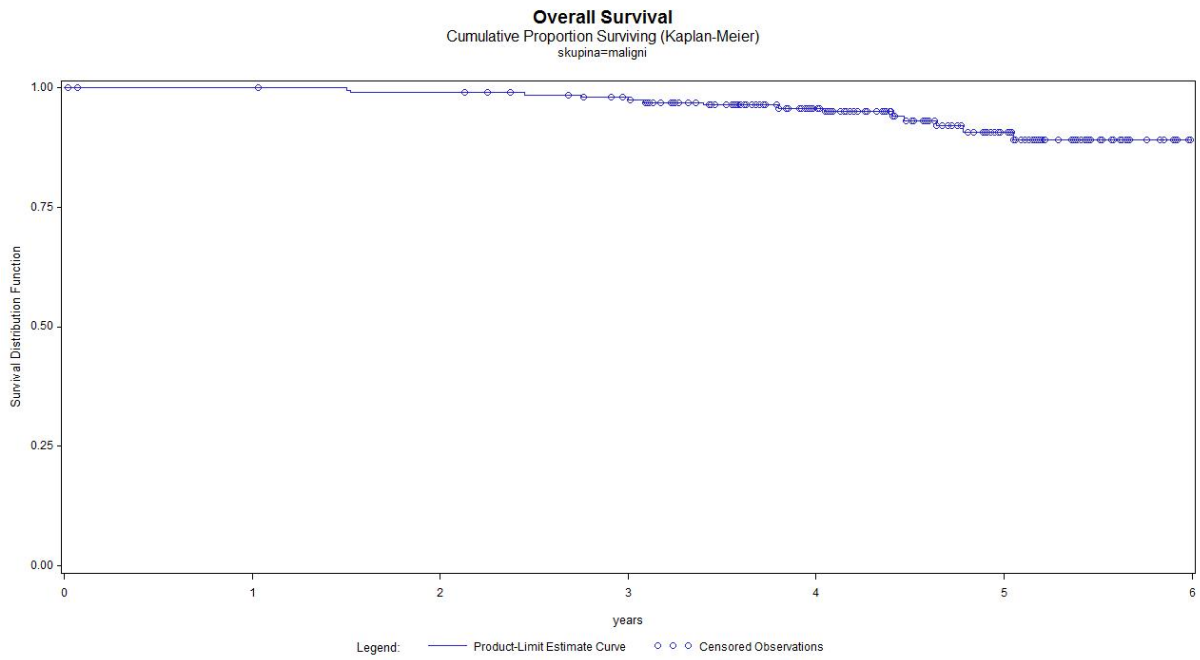
### Zhodnocení přežití do progresu (PFS) a celkového přežití (OS)

Dále jsme hodnotili prediktivní význam vybraných tumor markerů (TM) a růstových faktorů (RF) stanovovaných předoperačně pro kratší přežití (Overall Survival, OS) a pravděpodobnost progresu onemocnění – přežití do progresu (Progression Free Survival, PFS) jak v maligní skupině, tak mezi jednotlivými skupinami.

Vzhledem ke krátkému follow up a malému počtu pacientek s negativní událostí (smrt, lokální recidiva, generalizace - 9.7%) nelze z křivky Progression free survival (PFS) ani Overall survival (OS) určit medián přežití do progresu a celkového přežití, přesto lze jednoznačně říci, že statisticky významně horší prognózu vykazuje skupina C (stadium IIB a III). Na obrázek 9 je PFS pro všechny pacientky v maligní skupině, kde 5 leté přežití do progresu je 91%. Na obrázek 10 je OS pro všechny pacientky v maligní skupině, kde 5 leté přežití je rovněž 91%.



**Obrázek 9 - Přežití do progresu (PFS) pro všechny pacientky maligní skupiny**

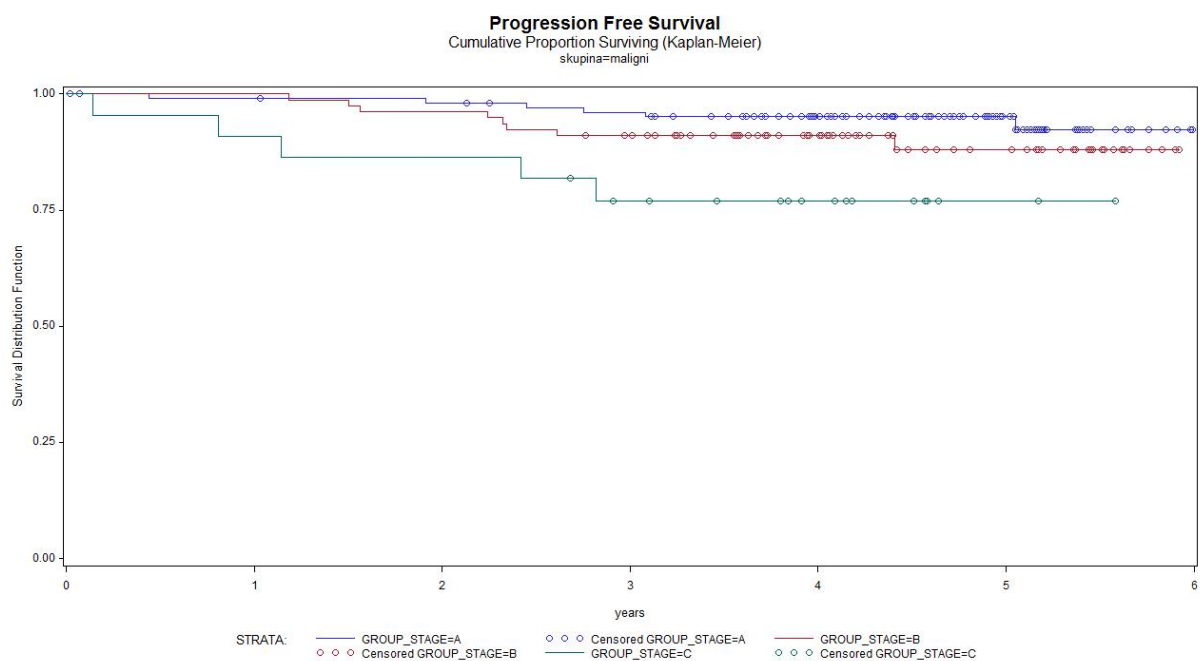


**Obrázek 10 - Celkové přežití (OS) pro všechny pacientky v maligní skupině**

Porovnáme-li přežití do progresu (PFS) onemocnění podle klinických stadií v jednotlivých skupinách A – C, lze říci, že ve skupině A (stadium I) přežívá 5 let do progresu 95%, resp. 88% a 77% ve skupině B (stadium IIA) a C (stadium IIB a III), což je očekávané vzhledem k horší prognóze skupiny C, viz tabulka 34 a obrázek 11. Tento rozdíl je statisticky významný,  $p = 0,0209$  (Log Rank).

Tabulka 34 - PFS ve zkoumaném souboru dle klinických stadií

Skupina Roky	A (stadium I)	B (stadium IIA)	C(stadium IIB+III)
1 rok	99%	100%	91%
3 roky	96%	91%	77%
5 let	95%	88%	77%



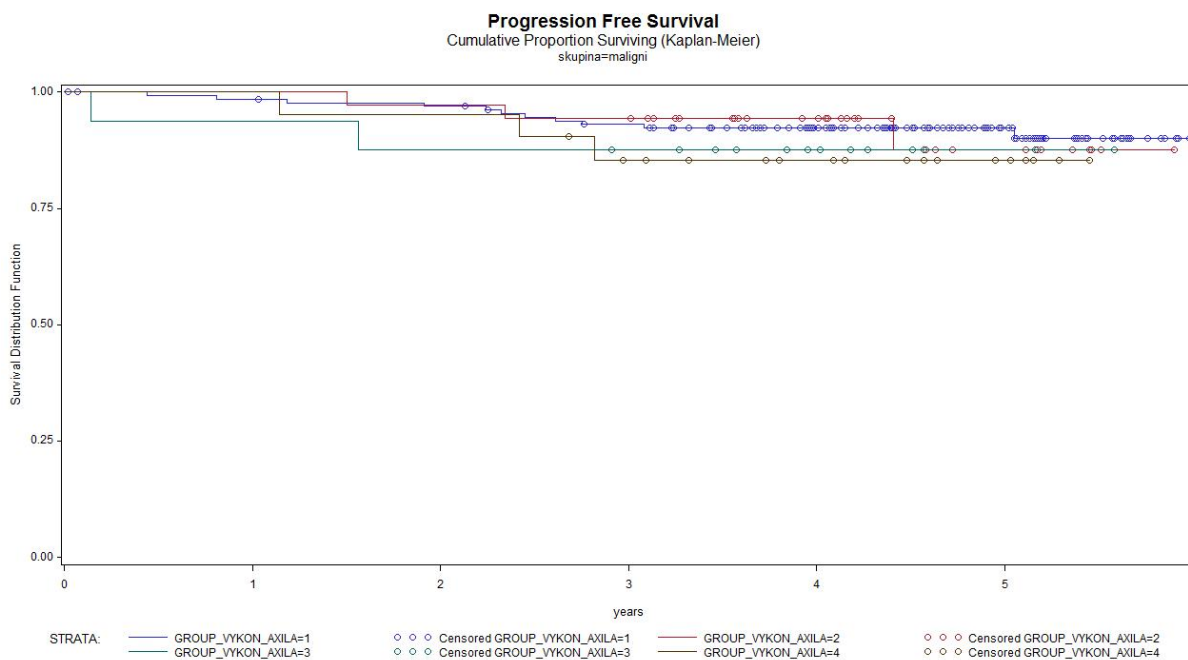
Obrázek 11 - PFS ve zkoumaném souboru dle klinických stadií



Porovnáme-li přežití do progresu (PFS) onemocnění podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile v jednotlivých skupinách 1 – 4, lze říci, že ve skupině 1 (pacientky s biopsií sentinelové uzliny) přežívá 5 let do progresu 92%, resp. 88%, 88% a 85% ve skupině 2 (pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou bez dokončení axilární disekce), ve skupině 3 (pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou s dokončením axilární disekce) a ve skupině 4 (pacientky s primární disekcí axily), což je očekávané vzhledem k horší prognóze skupiny 4, viz tabulka 35 a obrázek 12. Tento rozdíl je bez statistické významnosti.

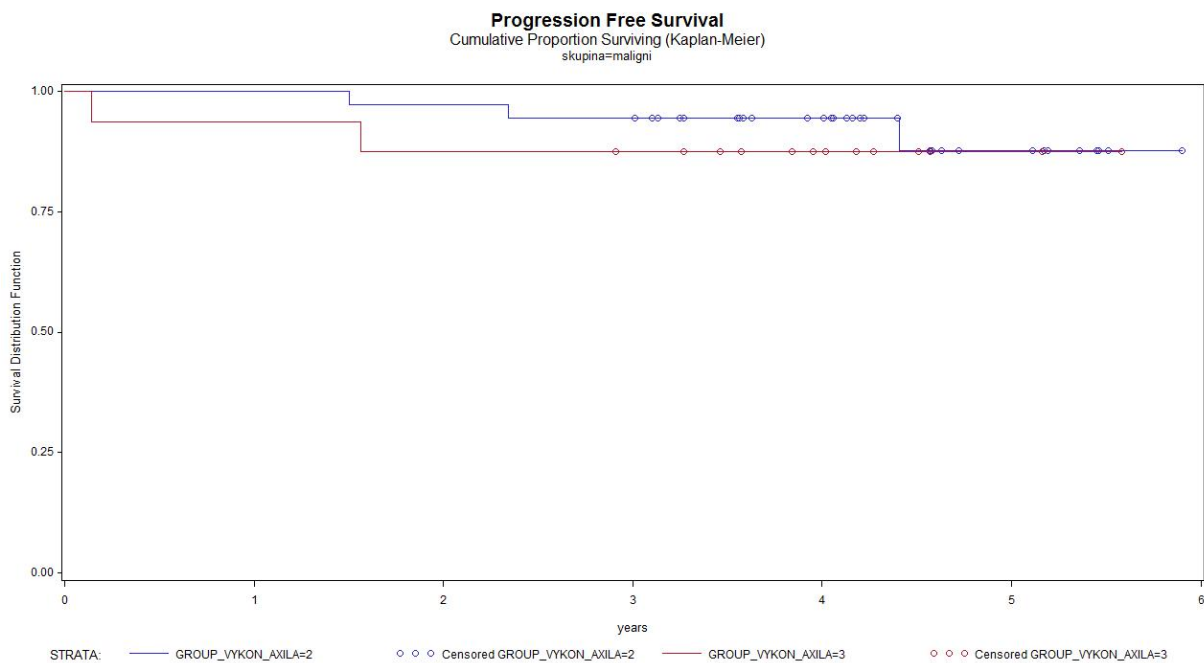
**Tabulka 35 - PFS ve zkoumaném souboru podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile**

Skupina \ Roky	1	2	3	4
1 rok	98%	100%	94%	100%
3 roky	93%	94%	88%	85%
5 let	92%	88%	87%	85%



**Obrázek 12 - PFS ve zkoumaném souboru podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile**

Na obrázek 13 je patrné, že skupina 3, která podstoupila dokončení disekce axily v případě pozitivní SN má pouze o 1% lepší čas do progrese než skupina 2, která disekci axily nepodstoupila, z čehož plyne, že vynechání disekce axily je v indikovaných případech opodstatněné a bezpečné. Nicméně se nejedná o statisticky významný rozdíl.

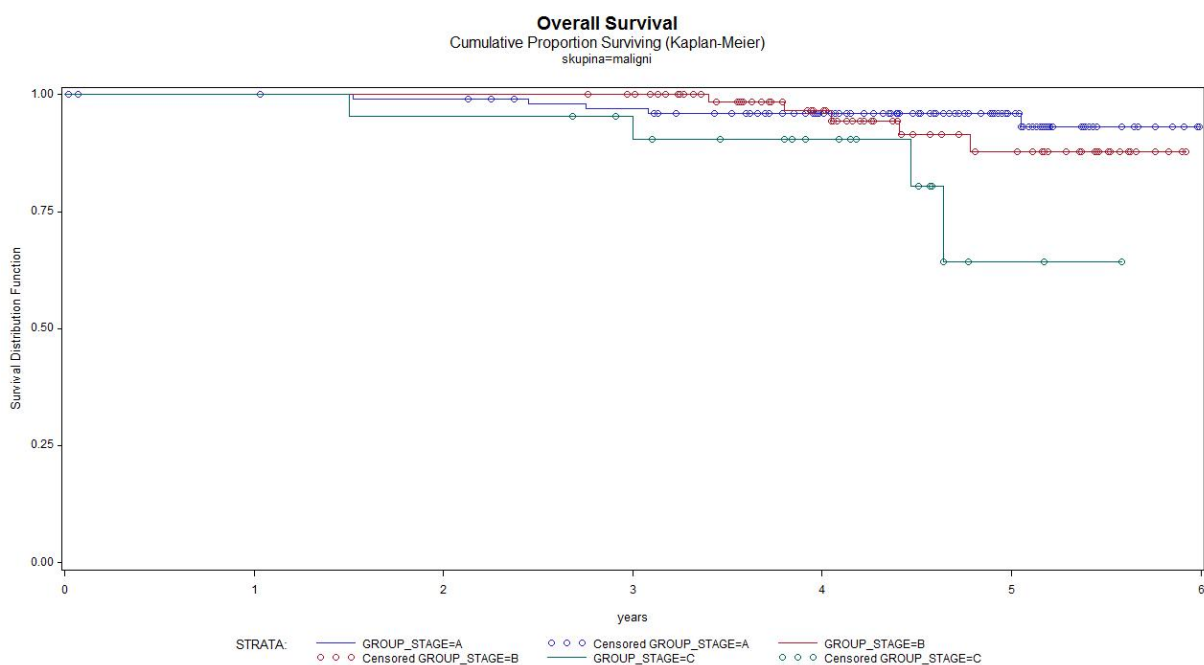


**Obrázek 13 - PFS mezi skupinou 2 a 3 podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile**

Porovnáme-li přežívání (OS) patientek podle jednotlivých klinických stadií dle rozdělení do skupin A - C, lze říci, že ve skupině A (stadium I) přežívá 5 let 96%, resp. 88% a 64% ve skupině B (stadium IIA) a C (stadium IIB a III), což je očekávané vzhledem k horší prognóze skupiny C, viz tabulka 36 a obrázek 14. Tento rozdíl je statisticky významný,  $p=0,0244$  (Log Rank).

Tabulka 36 - OS ve zkoumaném souboru dle klinických stadií

Skupina Roky	A (stadium I)	B (stadium IIA)	C (stadium IIB+III)
1 rok	100%	100%	100%
3 roky	97%	100%	90%
5 let	96%	88%	64%

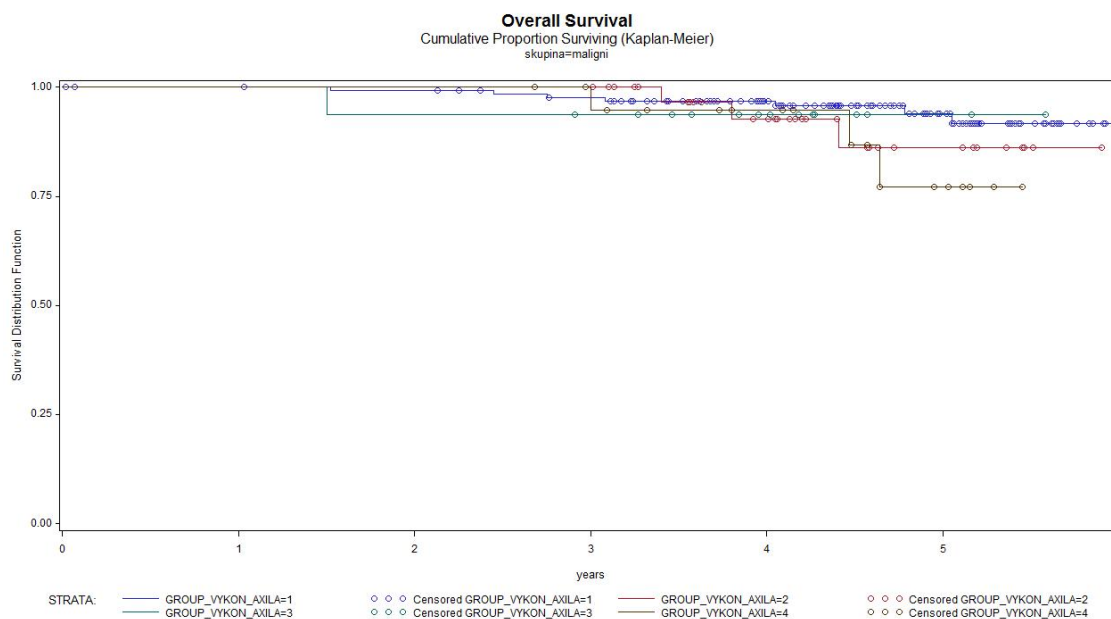


Obrázek 14 - OS ve zkoumaném souboru dle klinických stadií

Porovnáme-li přežívání (OS) pacientek podle výkonu v axile v jednotlivých skupinách 1 – 4, lze říci, že ve skupině 1 (pacientky s biopsií sentinelové uzliny) přežívá 5 let 94%, resp. 86%, 94% a 77% ve skupině 2 (pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou bez dokončení axilární disekce), ve skupině 3 (pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou s dokončením axilární disekce) a ve skupině 4 (pacientky s primární disekcí axily), což je očekávané vzhledem k horší prognóze skupiny 4, viz tabulka 37 a obrázek 15.

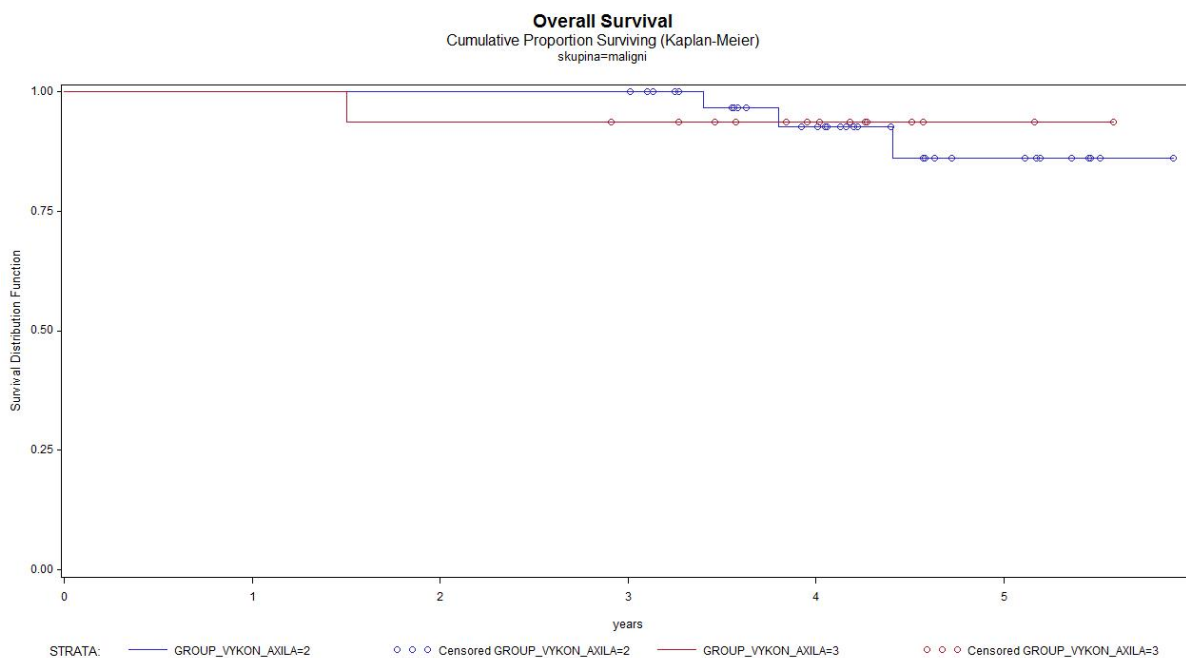
**Tabulka 37 - OS ve zkoumaném souboru podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile**

Skupina \ Roky	1	2	3	4
1 rok	100%	100%	100%	100%
3 roky	98%	100%	94%	94%
5 let	94%	86%	94%	76%



**Obrázek 15 - OS ve zkoumaném souboru podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile**

Na obrázek 16 je patrné, že skupina 2 (pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou bez dokončení axilární disekce) má tedy o 8% horší přežití než skupina 3 (pacientky s pozitivní sentinelovou uzlinou s dokončením axilární disekce), což je potřeba zohlednit při rozhodování typu výkonu v axile. Nicméně tento rozdíl je bez statistické významnosti.



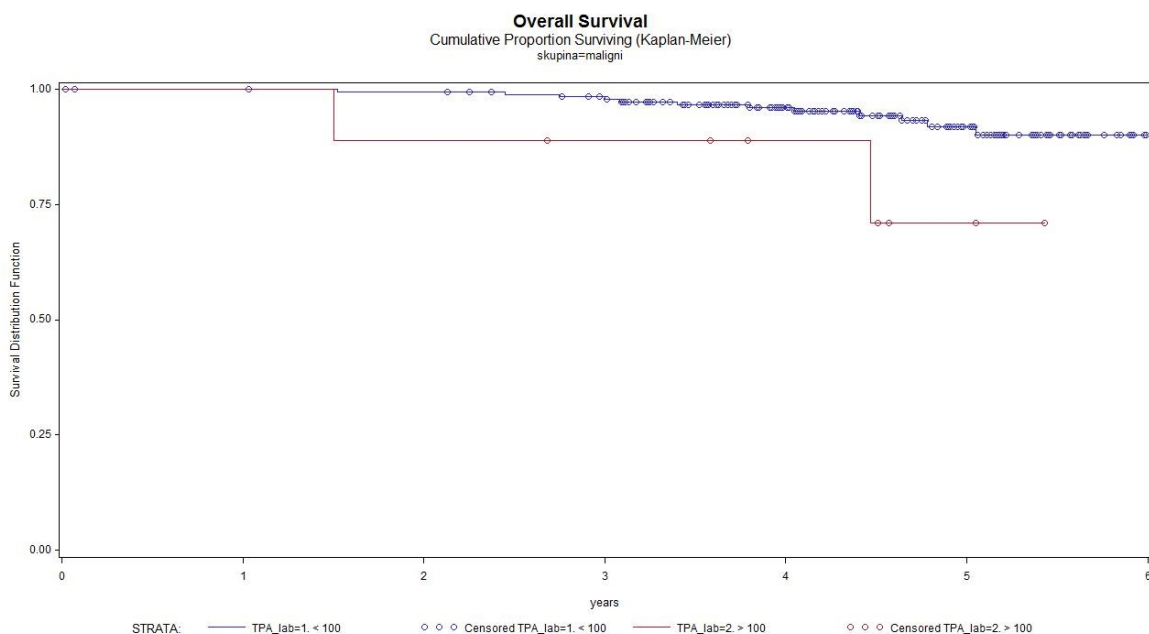
**Obrázek 16 - OS mezi skupinou 2 a 3 podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile**

Při hodnocení mezi jednotlivými podskupinami bylo zjištěno statisticky významně kratší celkové přežití (OS) i přežití do progresu (PFS) pro skupinu C (stadia IIB a III).

### Vztah nádorových markerů a růstových faktorů k PFS a OS v maligní skupině.

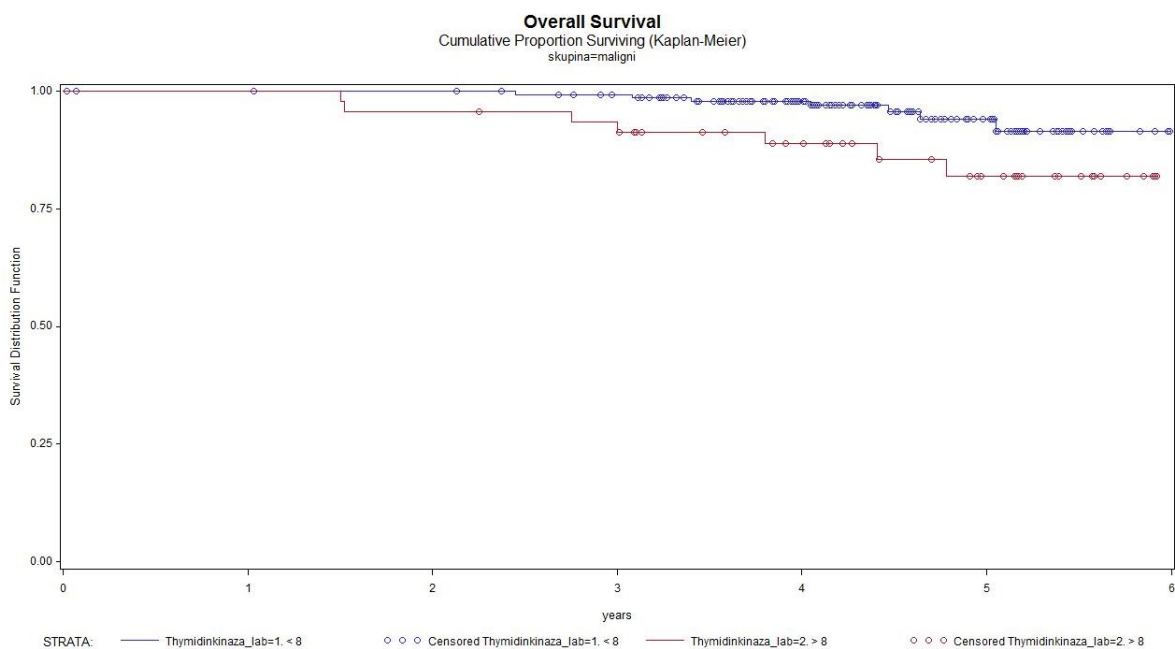
Uvedeny jsou pouze statisticky významné výsledky.

Při zvolené hladině významnosti 5% byly zjištěny statisticky významné rozdíly v přežívání v maligní skupině v závislosti na hladinách TPA, TK a CYFRA 21-1, viz obrázek 17, obrázek 18 a obrázek 19. Rozdíly v přežívání v závislosti na hladinách ostatních tumor markerů a růstových faktorů (CA 15-3, CEA, MonoTotal, OPN, OPG, IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF) nebyly shledány jako statisticky významné.



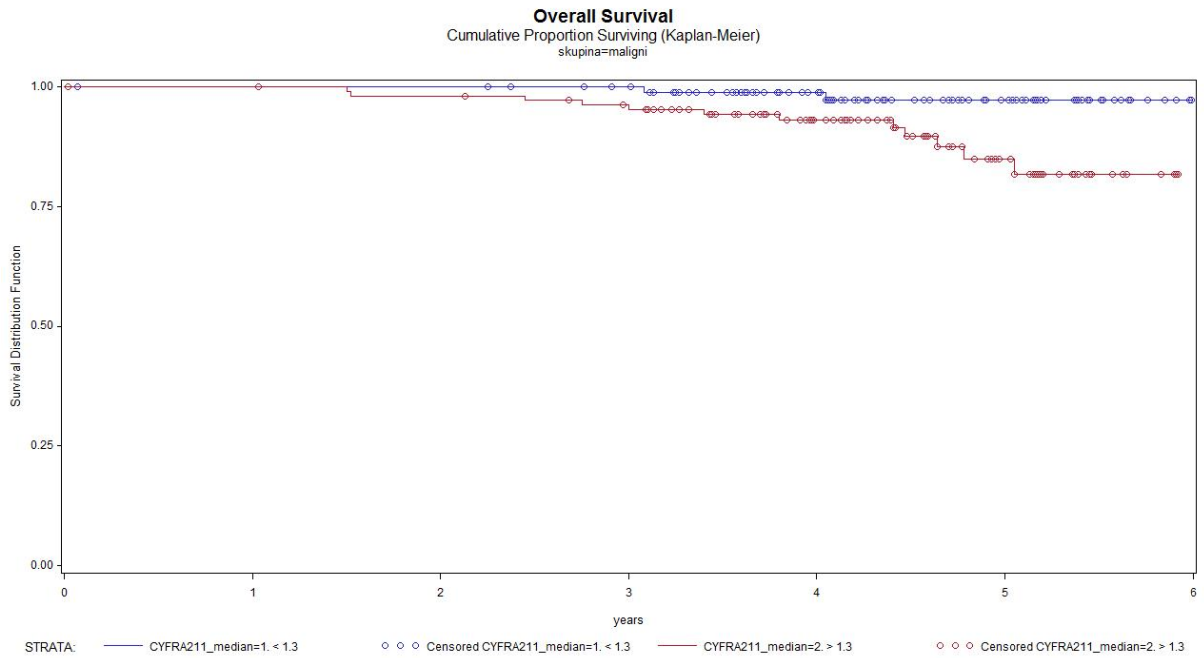
**Obrázek 17 - Celkové přežití v maligní skupině podle předoperační hodnoty TPA (cut off 100)**

Vyšší hodnotu TPA nad laboratorní cut off (>100) mělo celkem 9 pacientek. 5 leté přežití je 71.11% proti skupině s nižší hodnotou než cut off (91.85%). Výsledek je se statistickou významností, **p = 0,0403 (Log-Rank)**.



**Obrázek 18 - Celkové přežití v maligní skupině podle předoperační hodnoty Thymidinkinázy (cut off 8)**

Vyšší hodnotu TK nad laboratorní cut off (>8) mělo celkem 47 pacientek. 5 leté přežití je 82% proti skupině s nižší hodnotou než cut off (94.01%). Výsledek je se statistickou významností, **p = 0,0339 (Log-Rank)**.



**Obrázek 19 - Celkové přežití podle předoperační hodnoty CYFRA 21-1 (medián 1,3)**

Vyšší hodnotu CYFRA 21-1 nad cut off dle mediánu (>1,3) mělo celkem 110 pacientek. 5 leté přežití je 85.02 % proti skupině s nižší hodnotou než cut off (97.32 %). Výsledek je se statistickou významností, **p = 0,0125 (Log-Rank)**.



V souvislosti s OS byla z předoperačního náběru v maligní skupině zjištěna hodnota Hazard ratio  $\geq 1$  u nádorových markerů s hodnotou vyšší než cut off u všech nádorových markerů (tedy u CA15-3, CEA, TPA, TK, MonoTotal), dále s hodnotou vyšší než medián kromě MMP-9 u CYFRA 21-1, Osteopontinu, Osteoprotegerinu, MMP-2 a u všech zkoumaných růstových faktorů IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF, viz tabulka 38, znázorněno tučně.

**Tabulka 38 - Hazard Ratio ve vztahu k OS v maligní skupině**

<b>Tumor marker (TM)</b>	<b>Laboratorní cut off</b>	<b>Riziková skupina dle cut off</b>	<b>Hazard Ratio</b>
<b>CA 15-3</b>	24	>24	<b>3.207</b>
<b>CEA</b>	3	> 3	<b>1.924</b>
<b>TPA</b>	100	>100	<b>4.229</b>
<b>TK</b>	8	>8	<b>2.969</b>
<b>MonoTotal</b>	100	>100	<b>1.835</b>
<b>Ostatní TM/ Růstové faktory</b>	<b>Cut off dle mediánu</b>	<b>Riziková skupina dle mediánu</b>	<b>Hazard Ratio</b>
<b>CYFRA 21-1</b>	1,3	>1,3	<b>5.460</b>
<b>Osteopontin</b>	24	>24	<b>1.464</b>
<b>Osteoprotegerin</b>	360	>360	<b>1.757</b>
<b>IGF-BP3</b>	3705	<3705	<b>2.039</b>
<b>IGF-1</b>	162	<162	<b>2.379</b>
<b>EGF</b>	11	<11	<b>1.535</b>
<b>VEGF</b>	85	< 85	<b>2.070</b>
<b>MMP-2</b>	230	>230	<b>3.222</b>
MMP-9	70	>70	0.331

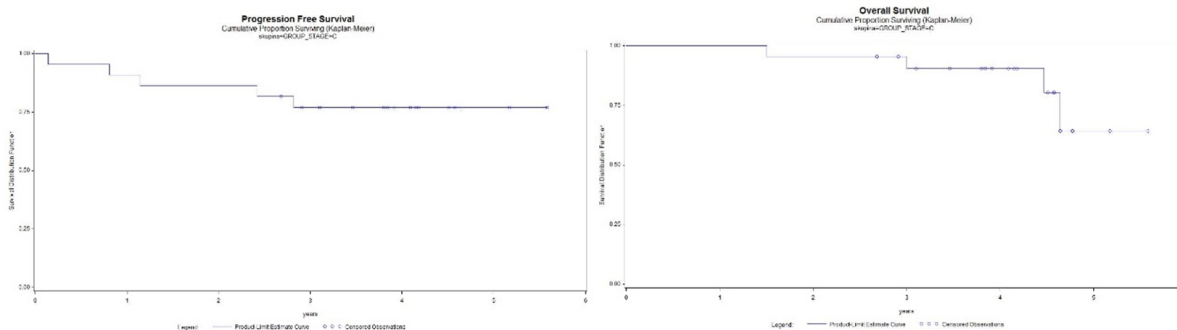
V souvislosti s PFS byla z předoperačního náběru v maligní skupině zjištěna hodnota Hazard ratio  $\geq 1$  u nádorových markerů s hodnotou vyšší než cut off u všech nádorových markerů, tedy CA15-3, CEA, TPA, TK, MonoTotal, dále s hodnotou vyšší než medián kromě Osteoprotegerinu a MMP-9 u CYFRA 21-1, Osteopontinu a u všech zkoumaných růstových faktorů IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF, viz tabulka 39, znázorněno **tučně**.

**Tabulka 39 - Hazard Ratio ve vztahu k PFS v maligní skupině**

<b>Tumor marker (TM)</b>	<b>Laboratorní cut off</b>	<b>Riziková skupina dle cut off</b>	<b>Hazard Ratio</b>
<b>CA 15-3</b>	24	>24	<b>1.965</b>
<b>CEA</b>	3	> 3	<b>1.644</b>
<b>TPA</b>	100	>100	<b>2.834</b>
<b>TK</b>	8	>8	<b>1.911</b>
<b>MonoTotal</b>	100	>100	<b>1.794</b>
<b>Ostatní TM/ Růstové faktory</b>	<b>Cut off dle mediánu</b>	<b>Riziková skupina dle mediánu</b>	<b>Hazard Ratio</b>
<b>CYFRA 21-1</b>	1,3	>1,3	<b>2.568</b>
<b>Osteopontin</b>	24	>24	<b>1.719</b>
Osteoprotegerin	360	>360	0.959
<b>IGF-BP3</b>	3705	<3705	<b>1.161</b>
<b>IGF-1</b>	162	<162	<b>1.377</b>
<b>EGF</b>	11	<11	<b>1.308</b>
<b>VEGF</b>	85	< 85	<b>2.081</b>
<b>MMP-2</b>	230	>230	<b>3.001</b>
MMP-9	70	>70	0.242

### Vztah hladin tumor markerů a růstových faktorů k PFS a OS ve skupině C (stadium IIB a III)

Z důvodu statistické nevýznamnosti u ostatních skupin (skupina A, B a 1-4) jsou výsledky omezeny zejména na vztah vybraných nádorových markerů a růstových faktorů ve vztahu k PFS a OS na prognosticky nejhorší skupinu C (stadium IIB a III), viz obrázek 20.



**Obrázek 20 - Přežití do progresse (PFS) a celkové přežití (OS) ve skupině C (stadium IIB+III)**

5 leté přežití je 64 % a 5 leté přežití do progresse (PFS) je 77 %.

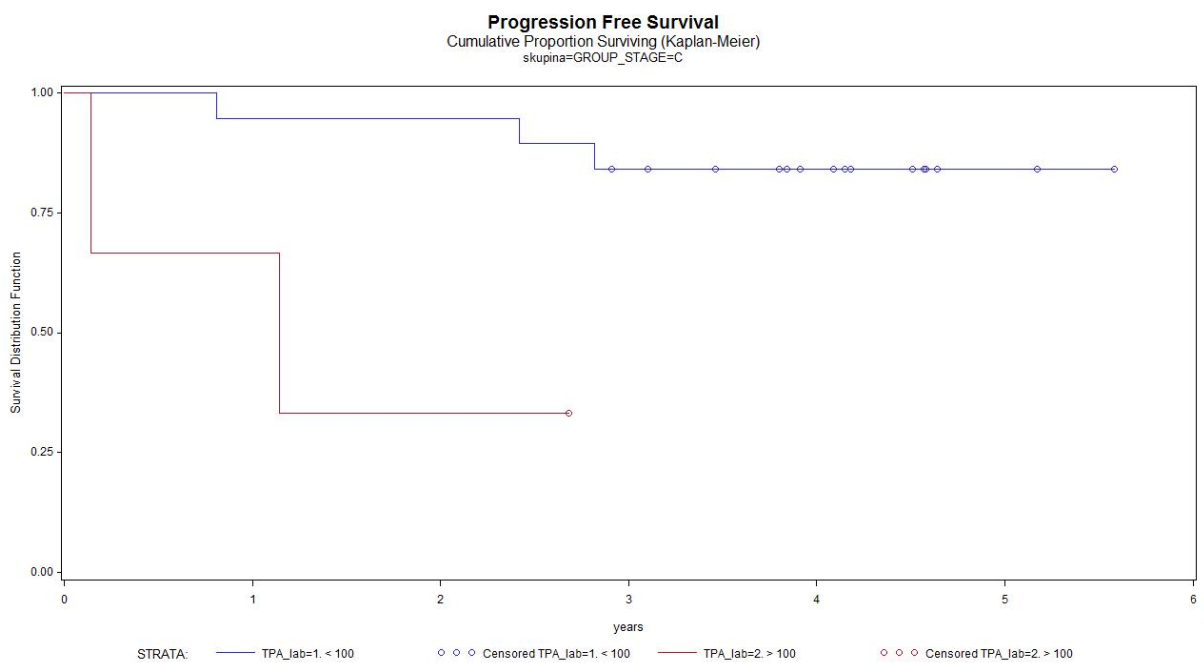
Pro hodnocení vztahu nádorových markerů byly pacientky rozděleny podle laboratorního cut off (horní hodnota fyziologického rozmezí příslušného nádorového markeru) a u růstových faktorů podle spočtené hodnoty mediánu příslušného růstového faktoru na dvě skupiny. Pro každý nádorový marker a růstový faktor byla stanovena riziková skupina ve vztahu k mediánu, resp. cut off vzhledem k PFS a OS. Pro rizikovou skupinu bylo spočteno tzv. Hazard Ratio (HR), kdy hodnoty 1 a vyšší lze považovat za rizikové stran nepříznivé prognózy.

Z předoperačního náběru byla ve skupině C (stadium IIB a III) ve vztahu k PFS hodnota Hazard ratio  $\geq 1$  zjištěna u nádorových markerů s hodnotou vyšší než cut off u **TPA\*** (\*se statistickou významností  $p=0,0059$ ), dále u **TK a MonoTotalu** (bez statistické významnosti) a u růstových faktorů s hodnotou nižší než medián u **IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF** (bez statistické významnosti), viz tabulka 40 (znázorněno tučně) a obrázek 21.

Nádorové markery CA 15-3 a CEA byly pro výpočet HR nehodnotitelné, protože ve skupině C se paradoxně nenacházela ani jedna pacientka s hladinou vyšší než cut off.

Tabulka 40 - Hazard Ratio ve vztahu k PFS ve skupině C (IIB+III stadium)

<b>Tumor marker (TM)</b>	<b>Laboratorní cut off</b>	<b>Riziková skupina dle cut off</b>	<b>Hazard Ratio</b>
CA 15-3	24	>24	nehodnotitelné
CEA	3	> 3	nehodnotitelné
<b>TPA*</b>	100	>100	<b>9.912</b>
<b>TK</b>	8	>8	<b>1.219</b>
<b>MonoTotal</b>	100	>100	<b>1.409</b>
<b>Ostatní TM/RF</b>	<b>Cut off dle mediánu</b>	<b>Riziková skupina dle mediánu</b>	<b>Hazard Ratio</b>
CYFRA 21-1	1,75	>1,75	0.710
Osteopontin	30,1	>30,1	0.649
Osteoprotegerin	315	>315	0.243
<b>IGF-BP3</b>	3436	<3436	<b>1.599</b>
<b>IGF-1</b>	166	<166	<b>5.174</b>
<b>EGF</b>	10,4	<10,4	<b>1.408</b>
<b>VEGF</b>	129	< 129	<b>4.647</b>
MMP-2			nehodnotitelné
MMP-9			nehodnotitelné



**Obrázek 21 - Přežití do progresu (PFS) podle předoperační hodnoty TPA (cut off 100)**

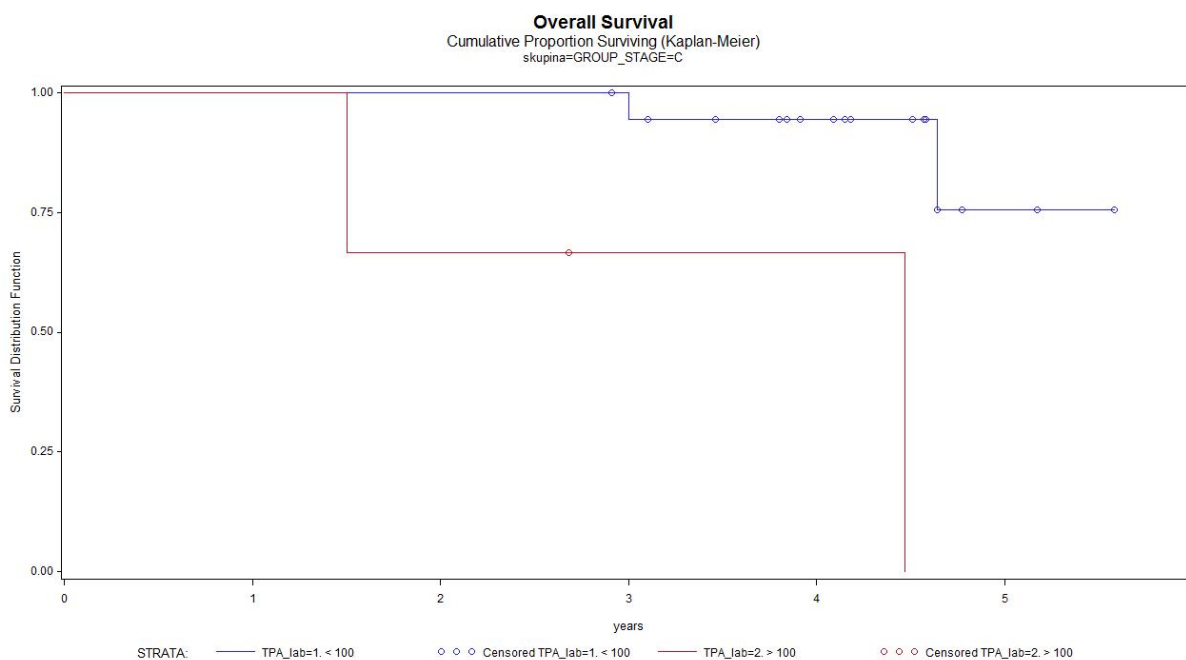
Vyšší hodnota TPA nad cut off ( $>100$ ) byla zaznamenána u 3 pacientek ve skupině C (IIB+III stadium). 2 leté přežití do progresu je 33.33%. Výsledek je statisticky významný, \* $p = 0,0059$  Log Rank.

Dále byla z předoperačního náběru ve skupině C (stadium IIB a III) ve vztahu k OS zjištěna hodnota Hazard ratio  $\geq 1$  u nádorových markerů s hodnotou vyšší než cut off u **TPA\*** (**\*se statistickou významností  $p=0,0010$** ), dále **TK** (bez statistické významnosti), s hodnotou vyšší než medián u **CYFRA 21-1, Osteopontinu** (bez statistické významnosti) a dále u růstových faktorů **IGF-1, EGF a VEGF** (bez statistické významnosti), viz tabulka 41 (znázorněno tučně) a obrázek 22.

**Tabulka 41 - Hazard Ratio ve vztahu k OS ve skupině C (IIB+III stadium)**

<b>Tumor marker (TM)</b>	<b>Laboratorní cut off</b>	<b>Riziková skupina dle cut off</b>	<b>Hazard Ratio</b>
CA 15-3	24	>24	nehodnotitelné
CEA	3	> 3	nehodnotitelné
<b>TPA*</b>	100	>100	<b>19.998</b>
<b>TK</b>	8	>8	<b>1.986</b>
MonoTotal	100	>100	0.539
<b>Ostatní TM/RF</b>	<b>Cut off dle mediánu</b>	<b>Riziková skupina dle mediánu</b>	<b>Hazard Ratio</b>
Osteoprotegerin	315	>315	0.802
<b>Osteopontin</b>	30,1	>30,1	<b>1.986</b>
<b>CYFRA 21-1</b>	1,75	>1,75	<b>1.715</b>
IGF-BP3	3436	<3436	nehodnotitelné
<b>IGF-1</b>	166	<166	<b>3.625</b>
<b>EGF</b>	10,4	<10,4	<b>1.535</b>
<b>VEGF</b>	129	< 129	<b>1.350</b>
MMP-2			nehodnotitelné
MMP-9			nehodnotitelné

CA 15-3 je nehodnotitelné, protože v dané skupině bylo všech 22 pacientek s hladinou CA 15-3 pod laboratorní cut off (24). U CEA a IGF-BP3 bylo HR nehodnotitelné z důvodu nízkého počtu pacientek – chyba malých čísel. MMP byly rovněž nehodnotitelné - žádné úmrtí.



**Obrázek 22 - Celkové přežití (OS) dle předoperační hodnoty TPA (cut off 100)**

Vyšší hodnota TPA nad laboratorní cut off (>100) byla zaznamenána u 3 pacientek ve skupině C (IIB+III stadium). 2 leté přežití je 33,33%. Výsledek je se statistickou významností, **\*p = 0,0010 Log Rank.**

### 8.3 Zhodnocení výsledků

Z testování korelací běžných anamnestických údajů a vlastností nádoru v závislosti na biomarkerech nebyly prokázány mezi jednotlivými skupinami (mimo věk) statisticky významné rozdíly. Věk obou skupin se signifikantně lišil (maligní skupina byla výrazně starší než benigní), což je potřeba zohlednit při interpretaci hladin biomarkerů. Jako statisticky významná byla prokázána negativní korelace IGF-1, IGF-BP3, TPA a TK s věkem v benigní skupině (s věkem jejich koncentrace klesá).

Při porovnání hladin biomarkerů mezi maligní a benigní skupinou byl zjištěn statisticky významný rozdíl u CEA, CA 15-3, CYFRA 21-1 a EGF.

Při porovnání hladin biomarkerů v závislosti na skupině podle klinického stadia byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi skupinami A a B pouze u nádorového markeru CEA a mezi skupinou B a C u biomarkerů TPA, CYFRA 21-1 a MonoTotal.

Při porovnání hladin biomarkerů v závislosti na stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile byly zjištěny statisticky významně vyšší hladiny **IGF-1 (195 ng/ml, p = 0.0337 vs. 157 ng/ml)** a **VEGF (166 ng/ml, p = 0.0438 vs. 69.4 ng/ml)** u pacientek s pozitivní sentinelovou uzlinou oproti pacientkám s negativní sentinelovou uzlinou, avšak rozdíl mezi hladinami IGF-1 a VEGF u pacientek s negativní SN a pozitivní SN u méně agresivního nádoru, u kterých nebyla dokončena axilární disekce, prokázán nebyl.

Dále byl na menším souboru pacientek prokázán statisticky významný rozdíl hladin MMP-2 ve skupině s pozitivní sentinelovou uzlinou (byly nižší).

Také byly prokázány silné korelace mezi cytokeratiny (CYFRA 21-1 a TPA,  $r = 0.67$ ,  $p < .0001$ ). Z těchto výsledků vyplývá, že pro záchyt recidivy je nejlepší kombinace nádorových markerů CYFRA 21-1 a CA 15-3 a že CEA nemá pro záchyt progresu význam.

Statistickým hodnocením našeho souboru bylo ve shodě s literárními údaji dále prokázáno, že stadium (staging), podle kterého byly pacientky rozdělené do skupin A až C, je nejdůležitějším prognostickým faktorem z hlediska progresu nádorového onemocnění a celkového přežití obecně.

Bylo zjištěno, že statisticky významně kratší celkové přežití (OS) a přežití do progresu (PFS) má skupina C (stadium IIB a III), která má horší prognózu proti skupině A (stadium I) a B (stadium IIA). Co se týká celkového přežití (OS) a přežití do progresu (PFS) ve zkoumaném souboru rozděleného podle stavu lymfatických uzlin a typu výkonu v axile i zde je významně kratší celkové přežívání a přežití do progresu ve skupině 4 (primární disekce axily u skupiny žen s metastatickými lymfatickými uzlinami), ale tento rozdíl je bez statistické významnosti. Vzhledem k nedostatku událostí (progresu nádorového onemocnění a úmrtí) a krátkému follow up (4 roky a 5 měsíců) nebylo možné stanovit medián přežití do progresu (PFS) a medián celkového přežití (OS).

Naší snahou bylo najít takovou hodnotu biomarkerů, díky které budou pacientky predisponovat k horší prognóze proti ostatním nemocným ženám. Po stanovení mediánu hodnot růstových faktorů a cut off nádorových markerů z předoperačních náběrů bylo



provedeno testování obou skupin a určena ta skupina, která má ve vztahu k PFS a OS horší prognózu. Testování proběhlo jak v maligní skupině jako takové, tak v jednotlivých podskupinách (dle klinického stadia a dle stavu lymfatických uzlin), zejména cíleně v podskupině C.

Z našich výsledků bylo prokázáno, že při zvolené hladině významnosti 5% byly zjištěny statisticky významné rozdíly v přežívání v maligní skupině v závislosti na hladinách TPA, TK a CYFRA 21-1. Rozdíly v přežívání v závislosti na hladinách ostatních tumor markerů a růstových faktorů (CA 15-3, CEA, MonoTotal, OPN, OPG, IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF) nebyly shledány jako statisticky významné.

Dále bylo prokázáno, že předoperační hodnoty všech nádorových markerů nad cut off (CA15-3, CEA, TPA, TK, MonoTotal), nad medián (CYFRA 21-1, Osteopontin, Osteoprotegerin, MMP2, MMP9) a pod medián (IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF) u nichž je hodnota Hazard ratio  $\geq 1$  znamená kratší PFS a OS.

Ve vztahu ke kratšímu PFS a OS byly stanoveny jako rizikovější hladiny IGF-1, IGF-BP3, EGF a VEGF nižší než hodnota mediánu. U IGF-1 a IGF-BP3 lze tuto negativní korelaci vysvětlit teorií, že signální dráha IGF-1 se uplatňuje v průběhu růstu nádoru zejména v časných stadiích, proto čím je větší nádor, resp. vyšší stadium, tím signální dráha IGF-1 ustupuje do pozadí (tím je menší potřeba vazby IGF-1 na vazební protein IGF-BP3) a v buňkách se uplatňují jiné signální dráhy. EGF se rovněž uplatňuje v procesu buněčné proliferace a angiogeneze a to prostřednictvím signální dráhy EGFR a je zodpovědné za progresi nádorového onemocnění zejména u prognosticky nepříznivějších HER2 pozitivních nádorů, kterých bylo v našem zkoumaném souboru poměrně málo (10.7%). Co se týká VEGF, jeho zvýšené hladiny souvisí s progresí onemocnění.

Ze skupiny nádorových markerů byly zjištěny stran nepříznivé prognózy a kratšího přežití zvýšené hodnoty nad cut off u markeru TPA, TK a CYFRA 21-1. Jedná se o ukazatele proliferační aktivity nádoru, jako nepříznivého prognostického faktoru a jejich hladiny korelují s agresivitou nádoru. Rozdíly v přežívání v závislosti na hladinách ostatních tumor markerů a růstových faktorů (CA 15-3, CEA, MonoTotal, OPN, OPG, IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF) nebyly shledány jako statisticky významné.

Při hodnocení PFS a kratšího přežití v prognosticky nepříznivé skupině C (stadium IIB a III) byla z předoperačního náběru zjištěna hodnota Hazard ratio  $\geq 1$  u nádorových markerů s hodnotou vyšší než cut off u TPA (se statistickou významností  $p=0,0059$ ), TK, MonoTotalu a u růstových faktorů s hodnotou nižší než medián u IGF-BP3, IGF-1, EGF a VEGF. Nádorové markery CA 15-3 a CEA byly pro výpočet HR nehodnotitelné, protože ve skupině C se nenacházela ani jedna pacientka s hladinou vyšší než cut off.

## 9 Diskuze

Pro optimální management pacientek s invazivním karcinomem prsu je nezbytné stanovení hladin specifických biomarkerů. Tkáňové biomarkery (estrogenové a progesteronové receptory, HER2, Ki67) mají velký význam pro určení prognózy a volbu systémové terapie; jejich odběr je však invazivní (biopsie či při operaci) a tudíž se odebírají jednorázově. Naproti tomu cirkulující biomarkery (CEA, CA 15-3,...) umožňují dynamické sledování v pooperační dispenzarizaci a monitoraci adjuvantní léčby, jelikož jejich odběr nezatěžuje pacientku a je možné je nabírat opakovaně v pravidelných intervalech. Na základě nových poznatků o funkcích cirkulujících molekul a rozvoje laboratorních analytických metod se hledají a testují nové biomarkery či nová využití pro běžně užívané biomarkery.

Klasickými nádorovými markery, stanovovanými v séru či v plazmě pacientek s karcinomem prsu, jsou CA 15-3 a CEA, dalšími, často však opomíjenými markery jsou cytokeratiny (TPA a CYFRA 21-1). Zatímco CA 15-3 a CEA jsou markery buněčné adheze, asociované s masou nádoru a poměrně nespecifické, cytokeratiny jsou markery proliferace, tedy procesu přítomného v každé fázi karcinogeneze. V naší práci jsme kromě výše zmíněných biomarkerů studovali celou řadu dalších molekul spojených s procesem karcinogeneze, a to markery angiogeneze a lymfangiogeneze, růstové faktory, multifunkční proteiny a proteázy, s cílem posoudit jejich případné využití v různých fázích klinického rozhodování.

U biomarkerů CEA, CA 15-3 a CYFRA 21-1 byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi předoperačními hladinami u maligní a benigní skupiny (CEA 1.3 vs. 0.8 ng/mL,  $p < 0,0001$ , CA 15-3 12.0 vs. 9.0 kIU/L,  $p = 0,0037$ , CYFRA 21-1 1.3 vs. 1.0  $\mu\text{g/L}$ ,  $p = 0.0289$ ). Při užití laboratorních cut off (CEA 3.0 ng/mL, CA 15-3 24 kIU/L, CYFRA 21-1 2.5  $\mu\text{g/L}$ ) byly v maligní skupině zjištěny následující podíly skutečně pozitivních hodnot: CEA 18.81%, CA 15-3 2.48% a CYFRA 21-1 8.91%. Nízké procento skutečně pozitivních hladin u pacientek z maligní skupiny je v souladu s faktem, že pouze u necelých 8% pacientek byla při dispenzarizaci zjištěna recidiva či generalizace. Hodnota nádorového markeru pod cut off je prognosticky příznivým faktorem. V benigní skupině byly nalezeny následující podíly falešně pozitivních hodnot: CEA 4.35%, CA 15-3 2.17%, CYFRA 21-1 0%. Cytokeratiny jsou obecně nespecificky zvýšené u zánětlivých onemocnění. Nulové procento falešně pozitivních CYFRA 21-1 u benigní skupiny naznačuje, že do kontrolní skupiny byly vhodně zvoleny pacientky bez zánětlivých onemocnění.

Z dalších studovaných biomarkerů byl zjištěn signifikantní rozdíl hladin pouze u EGF, a to nižší hladiny u benigní skupiny. Růstové faktory jako EGF a jejich receptory jsou často overexprimovány u solidních karcinomů včetně karcinomu prsu a in vivo a in vitro studie ukázaly, že jsou tyto proteiny schopné indukovat buněčnou transformaci [175]. Publikované studie týkající se sérových hladin EGF ve vztahu ke karcinomu prsu však vykazují nekonzistentní výsledky [195], [196].

V maligní skupině jsme hodnotili hladiny biomarkerů v závislosti na skupině podle klinického stadia (skupina A = stadium I, skupina B = stadium IIA, skupina C = stadium IIB a III). Mezi skupinami A a B byl zjištěn statisticky významný rozdíl pouze u CEA (1.1 vs. 1.6 ng/mL,  $p = 0.0299$ ). Statisticky významný rozdíl mezi skupinami B a C jsme zjistili u těchto biomarkerů: TPA (28 vs. 46.5 IU/L,  $p = 0.0081$ ), CYFRA 21-1 (1.4 vs. 1.72  $\mu\text{g/L}$ ,  $p = 0.0004$ ) a

MonoTotal (51.25 vs. 63.35 IU/L,  $p = 0.0232$ ). Nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hladinami CA 15-3 u klinických stadií. Tyto výsledky jsou v souladu s faktem, že hladiny nádorových markerů se zvyšují se stadiem onemocnění.

Stav axilárních lymfatických uzlin (přítomnost či nepřítomnost lokálních metastáz) je nejdůležitějším prognostickým faktorem u časného karcinomu prsu. V procesu lymfangiogeneze a následné tvorbě metastáz v lymfatických uzlinách se uplatňují některé růstové faktory, zejména IGF-1 [197] a VEGF-C [198]. Skobe et al. [199] ve své studii zjistil úzké spojení exprese VEGF-C s lymfangiogenezí u karcinomu prsu. Dále ve studii Björndahla et al. [197] bylo zjištěno, že IGF-1 má schopnost indukovat a podporovat lymfangiogenezi prostřednictvím indukce VEGF-C.

V naší studii jsme zjistili statisticky významně vyšší hladiny IGF-1 u skupiny pacientek s pozitivní sentinelovou uzlinou (195 ng/ml,  $p = 0.0337$ ) oproti pacientkám s negativní sentinelovou uzlinou (157 ng/ml), avšak nebyl rozdíl mezi hladinami IGF-1 u pacientek s negativní SN a pozitivní SN u méně agresivního nádoru, u kterých nebyla provedena AD. Podobně tomu bylo u VEGF, kdy jsme zjistili statisticky významně vyšší hladiny VEGF u skupiny pacientek s pozitivní sentinelovou uzlinou (166 ng/ml,  $p = 0.0438$ ) oproti pacientkám s negativní sentinelovou uzlinou (69.4 ng/ml), avšak nebyl rozdíl mezi hladinami VEGF u pacientek s negativní SN a pozitivní SN u méně agresivního nádoru, u kterých nebyla provedena AD. U dalších markerů nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi hladinami u negativních a pozitivních SN.

Vzhledem k tomu, že hladiny IGF-1 v séru lze stanovit rutinně na automatickém imunoanalyzátoru, bylo by vhodné zařadit IGF-1 do předoperačního vyšetření a při zvýšených hladinách věnovat zvýšenou pozornost stavu lymfatických uzlin.

Další využití sérových biomarkerů je v časném záchytu recidivy či progresu. Z našich dat jsme odvodili, že pro záchyt recidivy je nejlepší kombinace CA 15-3 (senzitivita 68.2% při specificitě 95%) a CYFRA 21-1 (senzitivita 60.0% při specificitě 95%), neboť CYFRA 21-1 poměrně silně koreluje s TPA ( $r=0.67$ ,  $p<.0001$ ), zatímco korelace s CA 15-3 je poměrně slabá ( $r=0.22$ ,  $p<.0001$ ). Z cytokeratinů se běžně používá TPA [200], [201], dle našich dat se však CYFRA 21-1 zdá být spolehlivější. Dále z našich výsledků vyplývá, že CEA je pro záchyt recidivy či progresu bezcenné (senzitivita 31.8% při specificitě 95%).

Recentní studie uvádějí, že kombinace více biomarkerů zvyšuje senzitivitu záchytu recidivy. Například Di Gioia et al. [202] publikoval, že při stanovení panelu biomarkerů CA125, CYFRA 21-1, HER2 neu, LDH and CRP spolu s CA 15-3 a CEA zjistil reprodukovatelné zvýšení hladin se senzitivitou 87.2% a specificitou 100%. Ve studii Nicollini et al. zjistil, že kombinované stanovení CA 15-3, CEA a TPA s použitím individualizovaných hodnot cut off dosahuje senzitivitu 93% a specificitu 97.6% pro časný záchyt recidivy [164].

Dle doporučení NACB by neměl být CA 15-3, CEA ani TPA rutinně používány pro časný záchyt recidivy v pooperační péči pacientky s karcinomem prsu, jelikož chybí ověření v rozsáhlé klinické studii, a význam záchytu recidivy před její klinickou manifestací a uspíšení její následné léčby je diskutabilní [159]. Tato doporučení však vycházejí ze starých studií [203]. Dle doporučení EGTM by mělo být sledování sérových hladin CA 15-3 a CEA

v pravidelných intervalech v případě, že by detekce recidivy či vzdálených metastáz měla vliv na případnou další léčbu [204]. Faktorem favorizujícím sledování nádorových markerů je snížení četnosti zobrazovacích vyšetření a tím snížení radiačního zatížení pacientek a úspora nákladů na vyšetření. Dle doporučení ČSKB by měl být v monitorování nemocných s karcinomem prsu především využíván CA 15-3; relaps onemocnění bývá charakterizován senzitivitou CA 15-3 dosahující 60-90%. Jeho „lead time“ umožňuje předpovědět návrat onemocnění s předstihem několika měsíců před některými zobrazovacími metodami [162]. Pro monitorování nemocných s nádory prsu lze využít TPA, jelikož dynamika jeho změn při terapii je obvykle rychlejší než u markerů diferenčního typu.

## Závěr

Naše studie potvrdila statisticky významný rozdíl u biomarkerů CEA, CA 15-3 a CYFRA 21-1 mezi předoperačními hladinami u maligní a benigní skupiny. Hodnota nádorového markeru nad cut off je prognosticky nepříznivým faktorem. Dále byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi skupinami podle klinického stadia A a B pouze u CEA a mezi skupinami B a C u TPA, CYFRA 21-1 a MonoTotal. U klinických stadií nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hladinami CA 15-3. Dále naše studie zjistila statisticky významně vyšší hladiny IGF-1 a VEGF u skupiny pacientek s pozitivní sentinelovou uzlinou oproti pacientkám s negativní sentinelovou uzlinou, avšak nebyl rozdíl mezi hladinami IGF-1 a VEGF u pacientek s negativní SN a pozitivní SN u méně agresivního nádoru, u kterých nebyla provedena AD. Proto lze předoperační stanovení hladiny IGF-1 doporučit a v případě zvýšené hladiny věnovat pozornost stavu lymfatických uzlin a v případě peroperačního nálezu doporučit dokončení disekce axily. U dalších markerů nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi hladinami u negativních a pozitivních SN. Dále jsme zjistili, že pro záchyt recidivy by bylo vhodné volit kombinaci CA 15-3 a CYFRA 21-1, zatímco stanovení hladin CEA je v tomto případě bezcenné. Tato tvrzení však vyžadují ověření v rozsáhlejší klinické studii.

Na základě naší studie bylo prokázáno, že přínos předoperačního stanovení biomarkerů coby prognostických ukazatelů byl prokázán u skupiny s lokálně pokročilým karcinomem prsu (skupina C – stadium IIB a III). Pro klinická stadia IIB a III byl zjištěn statisticky významný kratší PFS i OS, což potvrzuje teorie, že staging nádorového onemocnění v době stanovení diagnózy je nejsilnějším prognostickým parametrem. Pro skupiny 1 až 4 byl prokázán kratší PFS i OS, ale rozdíl nebyl statisticky významný. Při hodnocení PFS a OS mezi skupinou 2 a 3 bylo prokázáno, že skupina 3, která podstoupila dokončení disekce axily v případě pozitivní SN má lepší čas do progresu i přežívání než skupina 2, která disekci axily nepodstoupila, což je potřeba zohlednit při rozhodování o chirurgickém výkonu v axile. Nicméně nejde o statisticky významný rozdíl.

Ve skupině C - lokálně pokročilých nádorů jsme ve vztahu k PFS zjistili prognostický význam těchto biomarkerů: TPA, TK, MonoTotal, IGF-BP3, IGF-1, EGF, VEGF a ve vztahu k OS těchto biomarkerů: TPA, TK, Osteopontin, CYFRA 21-1, IGF-BP3, IGF-1, EGF, VEGF. U pacientek s kratším přežitím a kratším přežitím bez progresu byla zjištěna statisticky významně zvýšená hodnota TPA, ostatní biomarkery byly bez statistické významnosti. Celkově pro pacientky s horší prognózou jsou charakteristické nižší hodnoty IGF-1, IGF-BP3, EGF a VEGF.

Dále v naší studii bylo prokázáno statisticky významně kratší přežití žen v maligní skupině s vyšší hodnotou TPA, TK nad laboratorní cut off a CYFRA 21-1 nad cut off dle mediánu.

Z hlediska stadia nádorového onemocnění se nepodařilo prokázat jednoznačný přínos předoperační laboratorní diagnostiky pro klinické stadium I a IIA, diskutabilní jsou pokročilejší stadia, kde se předoperační a časné pooperační stanovení biomarkerů jeví jako užitečné. Tuto skupinu žen lze označit za rizikovější a zasluhovaly by intenzivnější dispenzarizaci. Cílem intenzivnějšího sledování této skupiny žen je časný záchyt recidivy, kterou lze řešit radikálně chirurgicky či časný záchyt diseminace s včasným zahájením či

změnou onkologické léčby. Důležité je také v rámci dispenzarizace přihlídnutí k určitým rizikovým faktorům (např. výskyt malignity v rodinné či osobní anamnéze, hormonální léčba, kouření atd.) i nepříznivým vlastnostem tumoru (např. HER2 pozitivita, triple negativita, vysoký grade, vysoká proliferační aktivita), které ale nebyly předmětem této práce.

Z našich výsledků vyplývá, že stanovení biomarkerů předoperačně nelze využít v primární diagnostice či screeningu nádorového onemocnění obecně, nicméně opodstatněné je v případě detekce recidivy či vzdálených metastáz, protože umožňuje předpovědět návrat onemocnění s předstihem několika měsíců před některými zobrazovacími metodami.

## 10 Seznam použité literatury

- [1] J. Abrahámová, *Co byste měli vědět o rakovině prsu*. Praha: Grada, 2009.
- [2] Kaušitz, *Nádorové markery*. Bratislava: Solen, 2014.
- [3] “<http://www.uzis.cz/registry-nzis/nor>.” .
- [4] M. McCracken *et al.*, “Cancer incidence, mortality, and associated risk factors among Asian Americans of Chinese, Filipino, Vietnamese, Korean, and Japanese ethnicities,” *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 57, no. 4, pp. 190–205, Aug. 2007.
- [5] L. Dusek *et al.*, “Cancer incidence and mortality in the Czech Republic,” *Klin. Onkol. Cas. Ceske Slov. Onkol. Spolecnosti*, vol. 27, no. 6, pp. 406–423, 2014.
- [6] “<http://www.tribune.cz/clanek/10811-plzensky-kraj-ma-nejvyssi-incidenci-zhoubnych-novotvaru>.” .
- [7] “<http://www.breastcancer.org/risk/factors>.” .
- [8] “[http://www.breastcancer.org/symptoms/understand\\_bc/risk/factors](http://www.breastcancer.org/symptoms/understand_bc/risk/factors).” .
- [9] “[http://www.breastcancer.org/risk/factors/family\\_history](http://www.breastcancer.org/risk/factors/family_history).” .
- [10] E. S. Rinella *et al.*, “Genetic variants associated with breast cancer risk for Ashkenazi Jewish women with strong family histories but no identifiable BRCA1/2 mutation,” *Hum. Genet.*, vol. 132, no. 5, pp. 523–536, May 2013.
- [11] D. Pavlišta, *Neinvazivní karcinomy prsu*. Praha: Maxdorf, 2008.
- [12] L. C. Hartmann *et al.*, “Benign breast disease and the risk of breast cancer,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 353, no. 3, pp. 229–237, Jul. 2005.
- [13] O. Coufal, *Chirurgická léčba karcinomu prsu*. 2011.
- [14] V. Beral and Million Women Study Collaborators, “Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study,” *Lancet Lond. Engl.*, vol. 362, no. 9382, pp. 419–427, Aug. 2003.
- [15] Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group *et al.*, “Sex hormones and risk of breast cancer in premenopausal women: a collaborative reanalysis of individual participant data from seven prospective studies,” *Lancet Oncol.*, vol. 14, no. 10, pp. 1009–1019, Sep. 2013.
- [16] “<https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/ivf-je-z-hlediska-vzniku-karcinomu-prsu-skutecne-neskodna-484425>.” .
- [17] A. Gennari *et al.*, “Breast cancer incidence after hormonal treatments for infertility: systematic review and meta-analysis of population-based studies,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 150, no. 2, pp. 405–413, Apr. 2015.
- [18] L. Gooren, M. Bowers, P. Lips, and I. R. Konings, “Five new cases of breast cancer in transsexual persons,” *Andrologia*, vol. 47, no. 10, pp. 1202–1205, Dec. 2015.

- [19] F. Islami *et al.*, “Breastfeeding and breast cancer risk by receptor status--a systematic review and meta-analysis,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 26, no. 12, pp. 2398–2407, Dec. 2015.
- [20] “<https://www.celostnmedicina.cz/estrogenova-dominance.htm>.”
- [21] M. L. De Bruin *et al.*, “Breast cancer risk in female survivors of Hodgkin’s lymphoma: lower risk after smaller radiation volumes,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 27, no. 26, pp. 4239–4246, Sep. 2009.
- [22] J. L. Conway *et al.*, “Secondary Breast Cancer Risk by Radiation Volume in Women With Hodgkin Lymphoma,” *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 97, no. 1, pp. 35–41, 01 2017.
- [23] I. Danylesko and A. Shimoni, “Second Malignancies after Hematopoietic Stem Cell Transplantation,” *Curr. Treat. Options Oncol.*, vol. 19, no. 2, p. 9, Feb. 2018.
- [24] A. Shin *et al.*, “Alcohol consumption, body mass index and breast cancer risk by hormone receptor status: Women’ Lifestyle and Health Study,” *BMC Cancer*, vol. 15, p. 881, 2015.
- [25] A. Macacu, P. Autier, M. Boniol, and P. Boyle, “Active and passive smoking and risk of breast cancer: a meta-analysis,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 154, no. 2, pp. 213–224, Nov. 2015.
- [26] D. S. M. Chan and T. Norat, “Obesity and breast cancer: not only a risk factor of the disease,” *Curr. Treat. Options Oncol.*, vol. 16, no. 5, p. 22, May 2015.
- [27] C. Pizot *et al.*, “Physical activity, hormone replacement therapy and breast cancer risk: A meta-analysis of prospective studies,” *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990*, vol. 52, pp. 138–154, Jan. 2016.
- [28] J.-C. Benabu, F. Stoll, M. Gonzalez, and C. Mathelin, “[Night work, shift work: Breast cancer risk factor?],” *Gynécologie Obstétrique Fertil.*, vol. 43, no. 12, pp. 791–799, Dec. 2015.
- [29] D. M. Euhus, “Understanding mathematical models for breast cancer risk assessment and counseling,” *Breast J.*, vol. 7, no. 4, pp. 224–232, Aug. 2001.
- [30] C. Fischer *et al.*, “Evaluating the performance of the breast cancer genetic risk models BOADICEA, IBIS, BRCAPRO and Claus for predicting BRCA1/2 mutation carrier probabilities: a study based on 7352 families from the German Hereditary Breast and Ovarian Cancer Consortium,” *J. Med. Genet.*, vol. 50, no. 6, pp. 360–367, Jun. 2013.
- [31] E. Mazzola, A. Blackford, G. Parmigiani, and S. Biswas, “Recent Enhancements to the Genetic Risk Prediction Model BRCAPRO,” *Cancer Inform.*, vol. 14, no. Suppl 2, pp. 147–157, 2015.
- [32] M. H. Gail *et al.*, “Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 81, no. 24, pp. 1879–1886, Dec. 1989.
- [33] M. H. Gail and R. M. Pfeiffer, “Breast Cancer Risk Model Requirements for Counseling, Prevention, and Screening,” *J. Natl. Cancer Inst.*, Feb. 2018.



- [34] J. Novotny *et al.*, “Breast cancer risk assessment in the Czech female population--an adjustment of the original Gail model,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 95, no. 1, pp. 29–35, Jan. 2006.
- [35] “[http://calc.koc.cz/pro\\_lekare/vypocet\\_rizika\\_nadoru\\_prsu.html](http://calc.koc.cz/pro_lekare/vypocet_rizika_nadoru_prsu.html).” .
- [36] “<https://www.assessyourrisk.org/>.” .
- [37] A. Lebeau, M. Kriegsmann, E. Burandt, and H.-P. Sinn, “[Invasive breast cancer: the current WHO classification],” *Pathol.*, vol. 35, no. 1, pp. 7–17, Feb. 2014.
- [38] R. Nenutil, “[A revolution postponed indefinitely.WHO classification of tumors of the breast 2012: the main changes compared to the 3rd edition (2003)],” *Ceskoslovenská Patol.*, vol. 51, no. 1, pp. 23–25, 2015.
- [39] H.-P. Sinn and H. Kreipe, “A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition,” *Breast Care Basel Switz.*, vol. 8, no. 2, pp. 149–154, May 2013.
- [40] “<https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/kongresy/po-kongresu/databaze-tuzemskych-onkologickych-konferencnic>.” .
- [41] E. A. Rakha and A. R. Green, “Molecular classification of breast cancer: what the pathologist needs to know,” *Pathology (Phila.)*, vol. 49, no. 2, pp. 111–119, Feb. 2017.
- [42] L. J. van ’t Veer *et al.*, “Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer,” *Nature*, vol. 415, no. 6871, pp. 530–536, Jan. 2002.
- [43] C. M. Perou *et al.*, “Molecular portraits of human breast tumours,” *Nature*, vol. 406, no. 6797, pp. 747–752, Aug. 2000.
- [44] S. Guiu *et al.*, “Molecular subclasses of breast cancer: how do we define them? The IMPAKT 2012 Working Group Statement,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO*, vol. 23, no. 12, pp. 2997–3006, Dec. 2012.
- [45] F. Correa Geyer and J. S. Reis-Filho, “Microarray-based gene expression profiling as a clinical tool for breast cancer management: are we there yet?,” *Int. J. Surg. Pathol.*, vol. 17, no. 4, pp. 285–302, Aug. 2009.
- [46] M. C. U. Cheang *et al.*, “Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 101, no. 10, pp. 736–750, May 2009.
- [47] S. Ahmed, A. Sami, and J. Xiang, “HER2-directed therapy: current treatment options for HER2-positive breast cancer,” *Breast Cancer Tokyo Jpn.*, vol. 22, no. 2, pp. 101–116, Mar. 2015.
- [48] A. Bosch, P. Eroles, R. Zaragoza, J. R. Viña, and A. Lluch, “Triple-negative breast cancer: molecular features, pathogenesis, treatment and current lines of research,” *Cancer Treat. Rev.*, vol. 36, no. 3, pp. 206–215, May 2010.
- [49] F. Tomao *et al.*, “Triple-negative breast cancer: new perspectives for targeted therapies,” *OncoTargets Ther.*, vol. 8, pp. 177–193, 2015.

- [50] R. Sabatier *et al.*, “Claudin-low breast cancers: clinical, pathological, molecular and prognostic characterization,” *Mol. Cancer*, vol. 13, p. 228, 2014.
- [51] M. Gnant, N. Harbeck, and C. Thomssen, “St. Gallen 2011: Summary of the Consensus Discussion,” *Breast Care Basel Switz.*, vol. 6, no. 2, pp. 136–141, 2011.
- [52] N. Harbeck, C. Thomssen, and M. Gnant, “St. Gallen 2013: brief preliminary summary of the consensus discussion,” *Breast Care Basel Switz.*, vol. 8, no. 2, pp. 102–109, May 2013.
- [53] “<https://www.uzis.cz/system/files/tnm-7.pdf>” .
- [54] N. Uehiro *et al.*, “Validation study of the UICC TNM classification of malignant tumors, seventh edition, in breast cancer,” *Breast Cancer Tokyo Jpn.*, vol. 21, no. 6, pp. 748–753, Nov. 2014.
- [55] G. Cserni, E. Chmielik, B. Cserni, and T. Tot, “The new TNM-based staging of breast cancer,” *Virchows Arch. Int. J. Pathol.*, vol. 472, no. 5, pp. 697–703, May 2018.
- [56] J. Koh and M. J. Kim, “Introduction of a New Staging System of Breast Cancer for Radiologists: An Emphasis on the Prognostic Stage,” *Korean J. Radiol.*, vol. 20, no. 1, pp. 69–82, Jan. 2019.
- [57] F. Cadiz, J. G. Gormaz, and M. Burotto, “Breast Cancer Staging: Is TNM Ready to Evolve?,” *J. Glob. Oncol.*, no. 4, pp. 1–3, Sep. 2018.
- [58] C. W. Elston and I. O. Ellis, “Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology* 1991; 19; 403-410,” *Histopathology*, vol. 41, no. 3A, pp. 151–152, discussion 152-153, Sep. 2002.
- [59] D. Ford *et al.*, “Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 62, no. 3, pp. 676–689, Mar. 1998.
- [60] L. Foretová, E. Macháčková, M. Palácová, M. Navrátilová, M. Svoboda, and K. Petráková, “[Recommended Extension of Indication Criteria for Genetic Testing of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome],” *Klin. Onkol. Cas. České Slov. Onkol. Spolecnosti*, vol. 29 Suppl 1, pp. S9-13, 2016.
- [61] C. I. Szabo and M. C. King, “Population genetics of BRCA1 and BRCA2,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 60, no. 5, pp. 1013–1020, May 1997.
- [62] L. Foretova *et al.*, “BRCA1 and BRCA2 mutations in women with familial or early-onset breast/ovarian cancer in the Czech Republic,” *Hum. Mutat.*, vol. 23, no. 4, pp. 397–398, Apr. 2004.
- [63] C. Engel and C. Fischer, “Breast cancer risks and risk prediction models,” *Breast Care Basel Switz.*, vol. 10, no. 1, pp. 7–12, Feb. 2015.
- [64] J. Kotsopoulos, “BRCA Mutations and Breast Cancer Prevention,” *Cancers*, vol. 10, no. 12, Dec. 2018.

- [65] K. Petráková, M. Palácová, M. Schneiderová, and M. Standara, “[Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome],” *Klin. Onkol. Cas. České Slov. Onkol. Společnosti*, vol. 29 Suppl 1, pp. S14-21, 2016.
- [66] L. Bordeleau, S. Panchal, and P. Goodwin, “Prognosis of BRCA-associated breast cancer: a summary of evidence,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 119, no. 1, pp. 13–24, Jan. 2010.
- [67] N. M. Tun, G. Villani, K. Ong, L. Yoe, and Z. M. Bo, “Risk of having BRCA1 mutation in high-risk women with triple-negative breast cancer: a meta-analysis,” *Clin. Genet.*, vol. 85, no. 1, pp. 43–48, Jan. 2014.
- [68] C. Lu, C.-F. Xu, X.-Y. Wan, H.-T. Zhu, C.-H. Yu, and Y.-M. Li, “Screening for pancreatic cancer in familial high-risk individuals: A systematic review,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 21, no. 28, pp. 8678–8686, Jul. 2015.
- [69] A. Moran *et al.*, “Risk of cancer other than breast or ovarian in individuals with BRCA1 and BRCA2 mutations,” *Fam. Cancer*, vol. 11, no. 2, pp. 235–242, Jun. 2012.
- [70] C. M. Phelan *et al.*, “Incidence of colorectal cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from a follow-up study,” *Br. J. Cancer*, vol. 110, no. 2, pp. 530–534, Jan. 2014.
- [71] “[https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/genetics\\_screening.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_screening.pdf)” .
- [72] S. M. Rosenberg *et al.*, “BRCA1 and BRCA2 Mutation Testing in Young Women With Breast Cancer,” *JAMA Oncol.*, Feb. 2016.
- [73] N. E. Carbine, L. Lostumbo, J. Wallace, and H. Ko, “Risk-reducing mastectomy for the prevention of primary breast cancer,” *Cochrane Database Syst. Rev.*, vol. 4, p. CD002748, 05 2018.
- [74] H. M. Kuerer, Ed., *Kuerer’s breast surgical oncology*. New York: McGraw-Hill Medical, 2010.
- [75] M. J. Duffy, S. Walsh, E. W. McDermott, and J. Crown, “Biomarkers in Breast Cancer: Where Are We and Where Are We Going?,” *Adv. Clin. Chem.*, vol. 71, pp. 1–23, 2015.
- [76] J. S. Lee, S. Park, J. M. Park, J. H. Cho, S. I. Kim, and B.-W. Park, “Elevated levels of serum tumor markers CA 15-3 and CEA are prognostic factors for diagnosis of metastatic breast cancers,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 141, no. 3, pp. 477–484, Oct. 2013.
- [77] J. S. Lee, S. Park, J. M. Park, J. H. Cho, S. I. Kim, and B.-W. Park, “Elevated levels of preoperative CA 15-3 and CEA serum levels have independently poor prognostic significance in breast cancer,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 24, no. 5, pp. 1225–1231, May 2013.
- [78] K. I. Kim *et al.*, “Changing patterns of microcalcification on screening mammography for prediction of breast cancer,” *Breast Cancer Tokyo Jpn.*, vol. 23, no. 3, pp. 471–478, May 2016.
- [79] M. Skovajsová, *Screening nádorů prsu v České republice*. Praha: Maxdorf, 2012.

- [80] L. Lebron-Zapata and M. S. Jochelson, "Overview of Breast Cancer Screening and Diagnosis," *PET Clin.*, vol. 13, no. 3, pp. 301–323, Jul. 2018.
- [81] B. J. Burkett and C. W. Hanemann, "A Review of Supplemental Screening Ultrasound for Breast Cancer: Certain Populations of Women with Dense Breast Tissue May Benefit," *Acad. Radiol.*, vol. 23, no. 12, pp. 1604–1609, 2016.
- [82] R. Guo, G. Lu, B. Qin, and B. Fei, "Ultrasound Imaging Technologies for Breast Cancer Detection and Management: A Review," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 44, no. 1, pp. 37–70, Jan. 2018.
- [83] O. Coufal, O. Zapletal, L. Gabrielová, P. Fabian, and M. Schneiderová, "Targeted axillary dissection and sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients after neoadjuvant chemotherapy - a retrospective study," *Rozhl. V Chir. Mesicnik Ceskoslovenske Chir. Spolecnosti*, vol. 97, no. 12, pp. 551–557, 2018.
- [84] B. K. Y. Chan, J. A. Wiseberg-Firtell, R. H. S. Jois, K. Jensen, and R. A. Audisio, "Localization techniques for guided surgical excision of non-palpable breast lesions," *Cochrane Database Syst. Rev.*, no. 12, p. CD009206, Dec. 2015.
- [85] K. Pinker, T. H. Helbich, and E. A. Morris, "The potential of multiparametric MRI of the breast," *Br. J. Radiol.*, vol. 90, no. 1069, p. 20160715, Jan. 2017.
- [86] H. Mirka, R. Tupy, A. Narsanska, O. Hes, and J. Ferda, "Pre-surgical Multiparametric Assessment of Breast Lesions Using 3-Tesla Magnetic Resonance," *Anticancer Res.*, vol. 37, no. 12, pp. 6965–6970, 2017.
- [87] O. Coufal, M. Schneiderová, K. Petráková, I. Babánková, and I. Selingerová, "[Magnetic resonance imaging in preoperative diagnosis of invasive lobular carcinomas of the breast - analysis of 230 cases]," *Rozhl. V Chir. Mesicnik Ceskoslovenske Chir. Spolecnosti*, vol. 96, no. 8, pp. 340–345, 2017.
- [88] E. Ferdová *et al.*, "Low-dose High-resolution 18F-FDG-PET/CT Using Time-of-flight and Point-spread Function Reconstructions: A Role in the Detection of Breast Carcinoma Axillary Lymph Node Metastases," *Anticancer Res.*, vol. 38, no. 7, pp. 4145–4148, Jul. 2018.
- [89] C. Riegger *et al.*, "Comparison of the diagnostic value of FDG-PET/CT and axillary ultrasound for the detection of lymph node metastases in breast cancer patients," *Acta Radiol. Stockh. Swed. 1987*, vol. 53, no. 10, pp. 1092–1098, Dec. 2012.
- [90] Q. Liu, C. Wang, P. Li, J. Liu, G. Huang, and S. Song, "The Role of (18)F-FDG PET/CT and MRI in Assessing Pathological Complete Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis," *BioMed Res. Int.*, vol. 2016, p. 3746232, 2016.
- [91] J. Hoch and J. Leffler, *Speciální chirurgie*. Praha: Maxdorf, 2011.
- [92] H. D. Becker, *Chirurgická onkologie*. Praha: Grada, 2005.
- [93] T. B. Julian, C. A. Venditti, and S. Duggal, "Landmark clinical trials influencing surgical management of non-invasive and invasive breast cancer," *Breast J.*, vol. 21, no. 1, pp. 60–66, Feb. 2015.

- [94] C. P. Halsted, J. R. Benson, and I. Jatoi, “A historical account of breast cancer surgery: beware of local recurrence but be not radical,” *Future Oncol. Lond. Engl.*, vol. 10, no. 9, pp. 1649–1657, 2014.
- [95] J. Vila, S. Gandini, and O. Gentilini, “Overall survival according to type of surgery in young ( $\leq 40$  years) early breast cancer patients: A systematic meta-analysis comparing breast-conserving surgery versus mastectomy,” *Breast Edinb. Scotl.*, vol. 24, no. 3, pp. 175–181, Jun. 2015.
- [96] S. Litière *et al.*, “Breast conserving therapy versus mastectomy for stage I-II breast cancer: 20 year follow-up of the EORTC 10801 phase 3 randomised trial,” *Lancet Oncol.*, vol. 13, no. 4, pp. 412–419, Apr. 2012.
- [97] Y. Sun, M. Liao, L. He, and C. Zhu, “Comparison of breast-conserving surgery with mastectomy in locally advanced breast cancer after good response to neoadjuvant chemotherapy: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis,” *Medicine (Baltimore)*, vol. 96, no. 43, p. e8367, Oct. 2017.
- [98] E. J. Bantema-Joppe *et al.*, “Early-stage young breast cancer patients: impact of local treatment on survival,” *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 81, no. 4, pp. e553–559, Nov. 2011.
- [99] M. Mimouni *et al.*, “Reexcision for positive margins in breast cancer: A predictive score of residual disease,” *Surg. Oncol.*, vol. 24, no. 3, pp. 129–135, Sep. 2015.
- [100] J. Novotný, P. Vitek, and Z. Kleibl, *Onkologie v klinické praxi: standardní přístupy v diagnostice a léčbě vybraných zhoubných nádorů*. 2016.
- [101] M. Rezai, S. Kraemer, R. Kimmig, and P. Kern, “Breast conservative surgery and local recurrence,” *Breast Edinb. Scotl.*, vol. 24 Suppl 2, pp. S100–107, Nov. 2015.
- [102] J. W. Jakub *et al.*, “Oncologic Safety of Prophylactic Nipple-Sparing Mastectomy in a Population With BRCA Mutations: A Multi-institutional Study,” *JAMA Surg.*, vol. 153, no. 2, pp. 123–129, Feb. 2018.
- [103] L. Dražan and J. Měšťák, *Rekonstrukce prsu po mastektomii*. Praha: Grada, 2006.
- [104] U. Veronesi *et al.*, “Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 91, no. 4, pp. 368–373, Feb. 1999.
- [105] U. Veronesi *et al.*, “Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: ten-year results of a randomized controlled study,” *Ann. Surg.*, vol. 251, no. 4, pp. 595–600, Apr. 2010.
- [106] S. M. M. Basso, G. B. Chiara, and F. Lumachi, “Sentinel Node Biopsy in Early Breast Cancer,” *Med. Chem. Shariqah United Arab Emir.*, vol. 12, no. 3, pp. 273–279, 2016.
- [107] D. N. Krag *et al.*, “Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial,” *Lancet Oncol.*, vol. 11, no. 10, pp. 927–933, Oct. 2010.
- [108] S. N. Han *et al.*, “Axillary staging for breast cancer during pregnancy: feasibility and safety of sentinel lymph node biopsy,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 168, no. 2, pp. 551–557, Apr. 2018.

- [109] J. C. Boughey *et al.*, “Identification and Resection of Clipped Node Decreases the False-negative Rate of Sentinel Lymph Node Surgery in Patients Presenting With Node-positive Breast Cancer (T0-T4, N1-N2) Who Receive Neoadjuvant Chemotherapy: Results From ACOSOG Z1071 (Alliance),” *Ann. Surg.*, vol. 263, no. 4, pp. 802–807, Apr. 2016.
- [110] T. Kuehn *et al.*, “Sentinel-lymph-node biopsy in patients with breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy (SENTINA): a prospective, multicentre cohort study,” *Lancet Oncol.*, vol. 14, no. 7, pp. 609–618, Jun. 2013.
- [111] O. Coufal, V. Fait, E. Lžičarová, V. Chrenko, and J. Žaloudík, “[SentiMag--the magnetic detection system of sentinel lymph nodes in breast cancer],” *Rozhl. V Chir. Mesicnik Ceskoslovenske Chir. Spolecnosti*, vol. 94, no. 7, pp. 283–288, Jul. 2015.
- [112] J. Gatek *et al.*, “[Sentinel lymph node biopsy in the breast carcinoma in clinical practice],” *Rozhl. V Chir. Mesicnik Ceskoslovenske Chir. Spolecnosti*, vol. 87, no. 4, pp. 180–185, Apr. 2008.
- [113] J. A. Kopec *et al.*, “Relationship between arm morbidity and patient-reported outcomes following surgery in women with node-negative breast cancer: NSABP protocol B-32,” *J. Support. Oncol.*, vol. 11, no. 1, pp. 22–30, Mar. 2013.
- [114] J. Aigner *et al.*, “Omission of axillary dissection according to ACOSOG Z0011: impact on adjuvant treatment recommendations,” *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 20, no. 5, pp. 1538–1544, May 2013.
- [115] T.-W. Huang *et al.*, “Recommendation for axillary lymph node dissection in women with early breast cancer and sentinel node metastasis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials using the GRADE system,” *Int. J. Surg. Lond. Engl.*, vol. 34, pp. 73–80, Oct. 2016.
- [116] V. Galimberti *et al.*, “Positive axillary sentinel lymph node: is axillary dissection always necessary?,” *Breast Edinb. Scotl.*, vol. 20 Suppl 3, pp. S96-98, Oct. 2011.
- [117] J. M. Dixon, *Breast surgery*. Edinburgh; New York: Saunders/Elsevier, 2009.
- [118] A. E. Giuliano *et al.*, “Effect of Axillary Dissection vs No Axillary Dissection on 10-Year Overall Survival Among Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis: The ACOSOG Z0011 (Alliance) Randomized Clinical Trial,” *JAMA*, vol. 318, no. 10, pp. 918–926, 12 2017.
- [119] V. Galimberti *et al.*, “Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with breast cancer and sentinel-node micrometastases (IBCSG 23-01): 10-year follow-up of a randomised, controlled phase 3 trial,” *Lancet Oncol.*, vol. 19, no. 10, pp. 1385–1393, Oct. 2018.
- [120] M. Donker *et al.*, “Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial,” *Lancet Oncol.*, vol. 15, no. 12, pp. 1303–1310, Nov. 2014.

- [121] W. Budach, E. Bölke, K. Kammers, P. A. Gerber, C. Nestle-Krämling, and C. Matuschek, “Adjuvant radiation therapy of regional lymph nodes in breast cancer - a meta-analysis of randomized trials- an update,” *Radiat. Oncol. Lond. Engl.*, vol. 10, no. 1, p. 258, 2015.
- [122] Early Breast Cancer Trialists’ Collaborative Group (EBCTCG) *et al.*, “Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials,” *Lancet Lond. Engl.*, vol. 378, no. 9804, pp. 1707–1716, Nov. 2011.
- [123] B. Fisher *et al.*, “Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 347, no. 16, pp. 1233–1241, Oct. 2002.
- [124] M. Pazos *et al.*, “Recent Developments in Radiation Oncology: An Overview of Individualised Treatment Strategies in Breast Cancer,” *Breast Care Basel Switz.*, vol. 13, no. 4, pp. 285–291, Aug. 2018.
- [125] C. Matuschek *et al.*, “The benefit of adjuvant radiotherapy after breast conserving surgery in older patients with low risk breast cancer- a meta-analysis of randomized trials,” *Radiat. Oncol. Lond. Engl.*, vol. 12, no. 1, p. 60, Mar. 2017.
- [126] “<http://www.onkologiecs.cz/pdfs/xon/2013/05/05.pdf>.” .” .
- [127] G. L. Gierach *et al.*, “Association of Adjuvant Tamoxifen and Aromatase Inhibitor Therapy With Contralateral Breast Cancer Risk Among US Women With Breast Cancer in a General Community Setting,” *JAMA Oncol.*, vol. 3, no. 2, pp. 186–193, 09 2017.
- [128] H. D. Nelson *et al.*, *Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer: Systematic Review to Update the U.S. Preventive Services Task Force Recommendation*. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US), 2013.
- [129] “Modrá kniha České onkologické společnosti. Brno: Masarykův onkologický ústav, 2018. ISBN 978-80-86793-44-3.” .
- [130] D. Glassman, S. Hignett, S. Rehman, R. Linforth, and M. Salhab, “Adjuvant Endocrine Therapy for Hormone-positive Breast Cancer, Focusing on Ovarian Suppression and Extended Treatment: An Update,” *Anticancer Res.*, vol. 37, no. 10, pp. 5329–5341, 2017.
- [131] C. Davies *et al.*, “Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial,” *Lancet Lond. Engl.*, vol. 381, no. 9869, pp. 805–816, Mar. 2013.
- [132] Z. Al-Hilli and J. C. Boughey, “The timing of breast and axillary surgery after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer,” *Chin. Clin. Oncol.*, vol. 5, no. 3, p. 37, Jun. 2016.
- [133] M. G. M. Derks and C. J. H. van de Velde, “Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: more than just downsizing,” *Lancet Oncol.*, vol. 19, no. 1, pp. 2–3, 2018.

- [134] H. D. Bear, “Neoadjuvant chemotherapy for operable breast cancer: individualizing locoregional and systemic therapy,” *Surg. Oncol. Clin. N. Am.*, vol. 19, no. 3, pp. 607–626, Jul. 2010.
- [135] L. N. Chaudhary, K. H. Wilkinson, and A. Kong, “Triple-Negative Breast Cancer: Who Should Receive Neoadjuvant Chemotherapy?,” *Surg. Oncol. Clin. N. Am.*, vol. 27, no. 1, pp. 141–153, 2018.
- [136] G. Curigliano *et al.*, “De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 28, no. 8, pp. 1700–1712, Aug. 2017.
- [137] M. Gnant, N. Harbeck, and C. Thomssen, “St. Gallen/Vienna 2017: A Brief Summary of the Consensus Discussion about Escalation and De-Escalation of Primary Breast Cancer Treatment,” *Breast Care Basel Switz.*, vol. 12, no. 2, pp. 102–107, May 2017.
- [138] “<https://www.linkos.cz/files/modra-kniha/17.pdf>” .
- [139] D. Cameron *et al.*, “11 years’ follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial,” *Lancet Lond. Engl.*, vol. 389, no. 10075, pp. 1195–1205, 25 2017.
- [140] V. Diéras *et al.*, “Trastuzumab emtansine versus capecitabine plus lapatinib in patients with previously treated HER2-positive advanced breast cancer (EMILIA): a descriptive analysis of final overall survival results from a randomised, open-label, phase 3 trial,” *Lancet Oncol.*, vol. 18, no. 6, pp. 732–742, 2017.
- [141] R. Madden, S. Kosari, G. M. Peterson, N. Bagheri, and J. Thomas, “Lapatinib plus capecitabine in patients with HER2-positive metastatic breast cancer: A systematic review,” *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 56, no. 2, pp. 72–80, Feb. 2018.
- [142] G. S. Falchook *et al.*, “A phase I trial of combination trastuzumab, lapatinib, and bevacizumab in patients with advanced cancer,” *Invest. New Drugs*, vol. 33, no. 1, pp. 177–186, Feb. 2015.
- [143] A. Sato *et al.*, “Valvular heart disease as a possible predictor of trastuzumab-induced cardiotoxicity in patients with breast cancer,” *Mol. Clin. Oncol.*, vol. 10, no. 1, pp. 37–42, Jan. 2019.
- [144] E. Touboul *et al.*, “Local recurrences and distant metastases after breast-conserving surgery and radiation therapy for early breast cancer,” *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 43, no. 1, pp. 25–38, Jan. 1999.
- [145] J. Willner, I. C. Kiricuta, and O. Kölbl, “Locoregional recurrence of breast cancer following mastectomy: always a fatal event? Results of univariate and multivariate analysis,” *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 37, no. 4, pp. 853–863, Mar. 1997.
- [146] J. Gatek *et al.*, “[Locoregional recurrences after conservative surgery in early breast cancer],” *Rozhl. V Chir. Měsíč. Českoslov. Chir. Spol.*, vol. 89, no. 10, pp. 604–611, Oct. 2010.



- [147] J. Viot, M. Bachour, A. Meurisse, X. Pivot, and F. Fiteni, “Follow-up of patients with localized breast cancer and first indicators of advanced breast cancer recurrence: A retrospective study,” *Breast Edinb. Scotl.*, vol. 34, pp. 53–57, Aug. 2017.
- [148] O. Pagani *et al.*, “International guidelines for management of metastatic breast cancer: can metastatic breast cancer be cured?,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 102, no. 7, pp. 456–463, Apr. 2010.
- [149] T. Kobayashi *et al.*, “Possible clinical cure of metastatic breast cancer: lessons from our 30-year experience with oligometastatic breast cancer patients and literature review,” *Breast Cancer Tokyo Jpn.*, vol. 19, no. 3, pp. 218–237, Jul. 2012.
- [150] “[https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/breast.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf).”
- [151] H. Yamashita *et al.*, “Clinicopathological factors predicting early and late distant recurrence in estrogen receptor-positive, HER2-negative breast cancer,” *Breast Cancer Tokyo Jpn.*, vol. 23, no. 6, pp. 830–843, Nov. 2016.
- [152] K. S. Albain *et al.*, “Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial,” *Lancet Oncol.*, vol. 11, no. 1, pp. 55–65, Jan. 2010.
- [153] Z. R. Siow, R. H. De Boer, G. J. Lindeman, and G. B. Mann, “Spotlight on the utility of the Oncotype DX® breast cancer assay,” *Int. J. Womens Health*, vol. 10, pp. 89–100, 2018.
- [154] M. J. Duffy, “Clinical uses of tumor markers: a critical review,” *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, vol. 38, no. 3, pp. 225–262, Jun. 2001.
- [155] M. J. Duffy, “Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers,” *Med. Princ. Pract. Int. J. Kuwait Univ. Health Sci. Cent.*, vol. 22, no. 1, pp. 4–11, 2013.
- [156] “[http://www.cskb.cz/res/file/doporuceni/TM/TM\\_dopor.pdf](http://www.cskb.cz/res/file/doporuceni/TM/TM_dopor.pdf).”
- [157] V. Filippi *et al.*, “The impact of FDG-PET/CT on the management of breast cancer patients with elevated tumor markers and negative or equivocal conventional imaging modalities,” *Nucl. Med. Commun.*, vol. 32, no. 2, pp. 85–90, Feb. 2011.
- [158] P. Mirabelli and M. Incoronato, “Usefulness of traditional serum biomarkers for management of breast cancer patients,” *BioMed Res. Int.*, vol. 2013, p. 685641, 2013.
- [159] C. M. Sturgeon *et al.*, “National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers,” *Clin. Chem.*, vol. 54, no. 12, pp. e11-79, Dec. 2008.
- [160] L. Harris *et al.*, “American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 25, no. 33, pp. 5287–5312, Nov. 2007.
- [161] M. J. Duffy *et al.*, “Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM),” *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990*, vol. 75, pp. 284–298, 2017.

- [162] "<http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2014/2014-1/KBM-2014-1-Dopor-TM-22.pdf>."
- [163] X. Li, D. Dai, B. Chen, H. Tang, X. Xie, and W. Wei, "Clinicopathological and Prognostic Significance of Cancer Antigen 15-3 and Carcinoembryonic Antigen in Breast Cancer: A Meta-Analysis including 12,993 Patients," *Dis. Markers*, vol. 2018, p. 9863092, 2018.
- [164] A. Nicolini *et al.*, "An individual reference limit of the serum CEA-TPA-CA 15-3 tumor marker panel in the surveillance of asymptomatic women following surgery for primary breast cancer," *Cancer Manag. Res.*, vol. 10, pp. 6879–6886, 2018.
- [165] M. Imamura *et al.*, "Independent prognostic impact of preoperative serum carcinoembryonic antigen and cancer antigen 15-3 levels for early breast cancer subtypes," *World J. Surg. Oncol.*, vol. 16, no. 1, p. 26, Feb. 2018.
- [166] V. Barak, H. Goike, K. W. Panaretakis, and R. Einarsson, "Clinical utility of cytokeratins as tumor markers," *Clin. Biochem.*, vol. 37, no. 7, pp. 529–540, Jul. 2004.
- [167] M. Prazakova *et al.*, "The role of MonoTotal in the primary diagnosis, prognosis and follow-up of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC)," *Anticancer Res.*, vol. 31, no. 9, pp. 3107–3112, Sep. 2011.
- [168] B. Nisman *et al.*, "Serum thymidine kinase 1 activity in breast cancer," *Cancer Biomark. Sect. Dis. Markers*, vol. 7, no. 2, pp. 65–72, 2010.
- [169] J. Zhou, E. He, and S. Skog, "The proliferation marker thymidine kinase 1 in clinical use," *Mol. Clin. Oncol.*, vol. 1, no. 1, pp. 18–28, Jan. 2013.
- [170] M. Cerná, A. Narsanská, V. Treska, R. Kucera, and O. Topolcan, "[IGF1 and tumor markers in different breast cancer stages]," *Rozhl. V Chir. Mesicnik Ceskoslovenske Chir. Spolecnosti*, vol. 90, no. 12, pp. 688–694, Dec. 2011.
- [171] A. A. Samani, S. Yakar, D. LeRoith, and P. Brodt, "The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights," *Endocr. Rev.*, vol. 28, no. 1, pp. 20–47, Feb. 2007.
- [172] R. Kucera *et al.*, "Growth factors and breast tumors, comparison of selected growth factors with traditional tumor markers," *Anticancer Res.*, vol. 31, no. 12, pp. 4653–4656, Dec. 2011.
- [173] M. Karlikova, O. Topolcan, A. Narsanska, R. Kucera, I. Treskova, and V. Treska, "Circulating Growth and Angiogenic Factors and Lymph Node Status in Early-stage Breast Cancer - A Pilot Study," *Anticancer Res.*, vol. 36, no. 8, pp. 4209–4214, Aug. 2016.
- [174] N. Normanno *et al.*, "Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer," *Gene*, vol. 366, no. 1, pp. 2–16, Jan. 2006.
- [175] Y. Yarden, "The EGFR family and its ligands in human cancer. signalling mechanisms and therapeutic opportunities," *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990*, vol. 37 Suppl 4, pp. S3–8, Sep. 2001.

- [176] I. Gisterek *et al.*, “Serum vascular endothelial growth factors a, C and d in human breast tumors,” *Pathol. Oncol. Res. POR*, vol. 16, no. 3, pp. 337–344, Sep. 2010.
- [177] K. Raghunathachar Sahana, P. Akila, V. Prashant, B. Sharath Chandra, and M. Nataraj Suma, “Quantitation of Vascular Endothelial Growth Factor and Interleukin-6 in Different Stages of Breast Cancer,” *Rep. Biochem. Mol. Biol.*, vol. 6, no. 1, pp. 33–39, Oct. 2017.
- [178] M. Skerenova, V. Mikulova, O. Capoun, T. Zima, and P. Tesarova, “Circulating tumor cells and serum levels of MMP-2, MMP-9 and VEGF as markers of the metastatic process in patients with high risk of metastatic progression,” *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czechoslov.*, vol. 161, no. 3, pp. 272–280, Sep. 2017.
- [179] R. Wei, J. P. C. Wong, and H. F. Kwok, “Osteopontin -- a promising biomarker for cancer therapy,” *J. Cancer*, vol. 8, no. 12, pp. 2173–2183, 2017.
- [180] L. M. Castello *et al.*, “Osteopontin at the Crossroads of Inflammation and Tumor Progression,” *Mediators Inflamm.*, vol. 2017, p. 4049098, 2017.
- [181] Y.-Y. Xu, Y.-Y. Zhang, W.-F. Lu, Y.-J. Mi, and Y.-Q. Chen, “Prognostic value of osteopontin expression in breast cancer: A meta-analysis,” *Mol. Clin. Oncol.*, vol. 3, no. 2, pp. 357–362, Mar. 2015.
- [182] C. Hao, Z. Wang, Y. Gu, W. G. Jiang, and S. Cheng, “Prognostic Value of Osteopontin Splice Variant-c Expression in Breast Cancers: A Meta-Analysis,” *BioMed Res. Int.*, vol. 2016, p. 7310694, 2016.
- [183] D. Sarink *et al.*, “Receptor activator of nuclear factor kB ligand, osteoprotegerin, and risk of death following a breast cancer diagnosis: results from the EPIC cohort,” *BMC Cancer*, vol. 18, no. 1, p. 1010, Oct. 2018.
- [184] S. Goswami and N. Sharma-Walia, “Osteoprotegerin secreted by inflammatory and invasive breast cancer cells induces aneuploidy, cell proliferation and angiogenesis,” *BMC Cancer*, vol. 15, p. 935, Nov. 2015.
- [185] D. Sarink *et al.*, “Circulating RANKL and RANKL/OPG and Breast Cancer Risk by ER and PR Subtype: Results from the EPIC Cohort,” *Cancer Prev. Res. Phila. Pa.*, vol. 10, no. 9, pp. 525–534, Sep. 2017.
- [186] I. Holen *et al.*, “Osteoprotegerin (OPG) expression by breast cancer cells in vitro and breast tumours in vivo--a role in tumour cell survival?,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 92, no. 3, pp. 207–215, Aug. 2005.
- [187] M. Weichhaus, S. T. M. Chung, and L. Connelly, “Osteoprotegerin in breast cancer: beyond bone remodeling,” *Mol. Cancer*, vol. 14, p. 117, 2015.
- [188] R. T. Fortner *et al.*, “Osteoprotegerin and breast cancer risk by hormone receptor subtype: a nested case-control study in the EPIC cohort,” *BMC Med.*, vol. 15, no. 1, p. 26, 08 2017.
- [189] E. S. Radisky and D. C. Radisky, “Matrix metalloproteinases as breast cancer drivers and therapeutic targets,” *Front. Biosci. Landmark Ed.*, vol. 20, pp. 1144–1163, Jun. 2015.

- [190] A. O. do N. Holanda *et al.*, “Zinc and metalloproteinases 2 and 9: What is their relation with breast cancer?,” *Rev. Assoc. Medica Bras.* 1992, vol. 63, no. 1, pp. 78–84, Jan. 2017.
- [191] C. S. Benson, S. D. Babu, S. Radhakrishna, N. Selvamurugan, and B. Ravi Sankar, “Expression of matrix metalloproteinases in human breast cancer tissues,” *Dis. Markers*, vol. 34, no. 6, pp. 395–405, 2013.
- [192] M. Černá *et al.*, “[Avoidance of axillary lymph node dissection in breast cancer patients with metastatic sentinel node - a pilot study],” *Rozhl. V Chir. Mesicnik Ceskoslovenske Chir. Spolecnosti*, vol. 94, no. 3, pp. 117–125, Mar. 2015.
- [193] kolektiv autorů ÚZIS, *TNM Klasifikace zhoubných novotvarů 8. vydání*, 2018, 8. vydání., vol. 2018. Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2018.
- [194] “<http://www.breastcancer.org/risk/factors>.” .
- [195] M. A. Navarro, R. Mesía, O. Díez-Gibert, A. Rueda, B. Ojeda, and M. C. Alonso, “Epidermal growth factor in plasma and saliva of patients with active breast cancer and breast cancer patients in follow-up compared with healthy women,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 42, no. 1, pp. 83–86, Jan. 1997.
- [196] Y. Wang *et al.*, “EGF promoter SNPs, plasma EGF levels and risk of breast cancer in Chinese women,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 111, no. 2, pp. 321–327, Sep. 2008.
- [197] M. Björndahl *et al.*, “Insulin-like growth factors 1 and 2 induce lymphangiogenesis in vivo,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 102, no. 43, pp. 15593–15598, Oct. 2005.
- [198] J. Krishnan *et al.*, “Differential in vivo and in vitro expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D in tumors and its relationship to lymphatic metastasis in immunocompetent rats,” *Cancer Res.*, vol. 63, no. 3, pp. 713–722, Feb. 2003.
- [199] M. Skobe *et al.*, “Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis,” *Nat. Med.*, vol. 7, no. 2, pp. 192–198, Feb. 2001.
- [200] A. Nicolini, P. Ferrari, F. Fulceri, A. Carpi, and G. Rossi, “An individual reference limit for ‘early’ diagnosis of metastatic breast cancer during postoperative follow-up,” *Biomark. Med.*, vol. 9, no. 4, pp. 307–317, 2015.
- [201] G. Sölétormos, D. Nielsen, V. Schiøler, H. Mouridsen, and P. Dombernowsky, “Monitoring different stages of breast cancer using tumour markers CA 15-3, CEA and TPA,” *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990, vol. 40, no. 4, pp. 481–486, Mar. 2004.
- [202] D. Di Gioia, I. Blankenburg, D. Nagel, V. Heinemann, and P. Stieber, “Tumor markers in the early detection of tumor recurrence in breast cancer patients: CA 125, CYFRA 21-1, HER2 shed antigen, LDH and CRP in combination with CEA and CA 15-3,” *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.*, vol. 461, pp. 1–7, Oct. 2016.
- [203] M. J. Duffy, E. W. McDermott, and J. Crown, “Blood-based biomarkers in breast cancer: From proteins to circulating tumor cells to circulating tumor DNA,” *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.*, vol. 40, no. 5, p. 1010428318776169, May 2018.

- [204] R. Molina *et al.*, “Tumor markers in breast cancer- European Group on Tumor Markers recommendations,” *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.*, vol. 26, no. 6, pp. 281–293, Dec. 2005.

## 11 Seznam vlastní publikační a přednáškové činnosti autora

### 11.1 Publikace s IF

1. Treska V., Topolčan O., Vrzalova J., Skalicky T., Sutnar A., Liska V., Fichtl J., **Narsanska A.**, Ferda J., Treskova I., Mirka H., Kreuzberg B.: Predictive value of serum biomarkers in patients after portal vein embolization (PVE): a pilot study, *Anticancer Res.* 2011 Jan;31(1):339-44. **IF=1.725**
2. Kucera R., Cerna M., **Narsanska A.**, Svobodova S., Strakova M., Vrzalova J., Fuchsova R., Treskova I., Kydlicek T., Treska V., Pecen L., Topolčan 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=1.725**
3. Pazdiora P., Svobodova S., Fuchsova R., Kucera R., Prazakova M., Vrzalova J., **Narsanska A.**, Strakova M., Treskova I., Pecen L., Treska V., Holubec L. Jr., Pesek M., Finek J., Topolčan O.: Vitamin D in colorectal, breast, prostate and lung cancer: a pilot study, *Anticancer Res.* 2011 Oct;31(10):3619-21. **IF=1.725**
4. 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=0.774**
5. Treska V., Skalicky T., Sutnar A., Liska V., Fichtl J., Kinkorova J., Vachtova M., **Narsanska A.**: Prognostic importance of some clinical and therapeutic factors for the effect of portal vein embolization in patients with primarily inoperable colorectal liver metastases, *Arch Med Sci.* 2013 Feb 21,9(1):47- 54. **IF=1.890**
6. Treska V., Cerna M., Liska V., Treskova I., **Narsanska A.**, Bruha J.: Surgery for breast cancer liver metastases – factors determining results, *Anticancer Res.* 2014 Mar, 34(3):1281-6. **IF=1.826**
7. Karlikova M., Topolčan O., **Narsanska A.**, Kucera R., Treskova I., Treska V.: Circulating Growth and Angiogenic Factors and Lymph Node Status in Early-stage Breast Cancer - A Pilot Study, *Anticancer Res.* 2016 Aug;36(8):4209-14. **IF=1.937**
8. Mirka H., Tupy R., **Narsanska A.**, Hes O., Ferda J.: Pre-surgical Multiparametric Assessment of Breast Lesions Using 3-Tesla Magnetic Resonance, *Anticancer Res.* 2017 Dec;37(12):6965-6970. **IF=1.865**
9. Svobodova S., Kucera R., Fiala O., Karlikova M., **Narsanska A.**, Zedníková I., Treska V., Slouka D., Rousarova M., Topolčan O., Finek J.: CEA, CA 15-3, and TPS as Prognostic Factors in the Follow-up Monitoring of Patients After Radical Surgery for Breast Cancer, *Anticancer Res.* 2018 Jan;38(1):465-469. **IF=1.865**
10. Treska V., Topolčan O., Zoubkova V., Treskova I., **Narsanska A.**, Kucera R.: Perioperative Tumour Marker Levels as Prognostic Factors for Surgical Treatment of Breast Cancer Liver Metastases, *Anticancer Res.* 2018 Jun;38(6):3647-3652. **IF=1.865**
11. Ferdova E., Baxa J., **Narsanska A.**, Hes O., Finek J., Topolčan O., Ferda J.: Low-dose High-resolution-18-F-FDG-PET/CT Using Time-of-flight and Point-spread Function Reconstructions: Role in the Detection of Breast Carcinoma Axillary Lymph Node Metastases, *Anticancer Res.* 2018 Jul;38(7):4145-4148. **IF=1.865**

## 11.2 Publikace v recenzovaných časopisech

1. Třeška V., Hora M., Ferda J., Hes O., **Ňaršanská A.**, Matkovčik Z.: Nádorový trombus dolní duté žíly u karcinomu ledviny, *Rozhl Chir.* 4/2009, s. 196-199.
2. Třeška V., Čertík B., Šlauf F., Kuntscher V., Šulc R., Houdek K., Třešková I., **Ňaršanská A.** Hybridní výkony u nemocných s ischemickou chorobou dolních končetin. *Vask Med* 2010, 2(3), 116-119.
3. Třeška V., Liška V., Skalický T., Sunar A., Šmíd D., **Ňaršanská A.**, Vachtová M., Třešková I., Brůha J., Vyčítal O.: Jaterní metastázy jiného než kolorektálního původu, *Rozhl Chir.* 3/2010, s. 202-207.
4. Třeška V., Čertík B., Kuntscher V., Šulc R., Moláček J., Houdek K., Šlauf F., Novák M., Třešková I., **Ňaršanská A.**: Aneuryzma abdominální aorty-dlouhodobé výsledky léčby, *Rozhl Chir.* 5/2010, s. 300-5.
5. **Ňaršanská A.**, Třeška V., Mírka H., Mukenšnabl P., Chlumská A.: Caroliho nemoc – dilatace intrahepatálních žlučových cest. *Rozhl Chir.* 2011;90(5):281-284.
6. Třeška V., Topolčan O., Vrzalová J., Šlauf F., Liška V., Skalický T., Sutnar A., Fichtl J., **Ňaršanská A.**, Vachtová M.: Mohou nádorové markery předpovídat výsledek embolizace větve portální žíly u nemocných s primárně inoperabilním nádorem jater? *Rozhl Chir.* 2011;(5):285-289.
7. Černá M., **Ňaršanská A.**, Třeška V., Kučera R., Topolčan O.: IGF1 a nádorové markery ve stádiích nádoru prsu. *Rozhl Chir.* 2011;90(12):688-694.
8. Šťastný K., Červinka V., Šiller V., Havlíček K., Gatěk J., Vachtová M., Zedníková I., **Ňaršanská A.**, Sůvová B., Třeška V., Kubala O., Prokop J., Ostruszka P., Dostalík J., Hornychová H., Hovorková E., Ryška A., Hacová M., Rothröckel P., Vážan P., Hes O., Michal M.: Prediktivní faktory postižení nonsentinelových uzlin u karcinomu prsu - závěry české multicentrické studie sentinelových uzlin. *Rozhl. Chir.* 2011;90(6):348-351.
9. Černa M., Zednikova I., **Narsanska A.**, Svoboda T., Hes O., Zahlava J., Hlavackova M.: Avoidance of axillary lymph node dissection in breast cancer patients with metastatic sentinel node – a pilot study, *Rozhl Chir.* 2015 Mar;94(3):117-25.
10. Zedníková I., Černá M., **Ňaršanská A.**, Svoboda T., Hes O.: Nový pohled na opakované chirurgické výkony u karcinomu prsu se zaměřením na pozitivitu resekcí okrajů, *Onkologie* 2015;2(9):67-69. ISSN 1802-4475
11. Pesta M., Kulda V., **Narsanska A.**, Fichtl J., Topolcan O.: May CTC technologies promote better cancer management? *EPMA J.* 2015 Jan 22;6(1):1
12. Třešková I., Zedníková I., **Hosnedlová A.**, Svoboda T., Vicari P., Polanka F.: Profylaktická mastektomie u BRCA nosiček z pohledu plastické chirurgie. *Plzeň. lék. Sborn., Suppl.* 88, 2018: 117–122.

### 11.3 Postery

1. **Narsanska A.**, Treska V., Mirka H., Mukensnabl P., Chlumska A., Kuntscherova J.: Caroli disease - dilatation of the intrahepatic bile ducts, CEUCS – 4th Central European Congress of Surgery, Budapest, 28. - 30. 4. 2011
2. **Narsanska A.**, Treskova I., Treska V., Skalicky T., Sutnar A.: Breast cancer liver metastases- possibilities and limits of surgical treatment, SABCS – 34th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio, Texas, 6. – 10. 12. 2011
3. **Narsanska A.**, Pechova L., Zednikova I., Treska V., Ferda J.: Recurrence risk in small, node-negative, early breast cancer, CoBRA – World Congress on Controversies in Breast Cancer, Melbourne, Austrálie, 22. - 24. 10. 2015
4. Kučera R., **Ňaršanská A.**, Kuntscherová J., Pešta M., Roušarová M., Karlíková M.: Biomarkery u karcinomů prsu, ovaríí a prostaty (2012/2013) <https://oid.fnplzen.cz/sites//users/oid/BIOMARKERY%20U%20KARCINOM%C5%AE%20PRSU%2C%20OVARI%C3%8D%20A%20PROSTATY.pdf> **PROJEKT**



## 11.4 Přednášková činnost

1. **Řarřanská A.**, řulc R., řreřka V., Bednářová A.: Amyandova hernie, Pelhřimovský chirurgický den, Pelhřimov, 20. 11. 2009
2. **Řarřanská A.**, Vachtová M., Topolčan O., Vrzalová J., řreřka V., Svobodová ř.: Využití xMAP technologie pro diagnostiku a prognózu nádoru prsu, XI.Cechtuma, Karlovy Vary, 8. - 10. 4. 2011
3. **Řarřanská A.**, řreřka V., Mírka H., Mukenřnabl P., Chlumská A., Kuntscherová J.: Caroli disease - dilatation of the intrahepatic bile ducts, CEUCS – Central European Congress of Surgery, Budapest, 28. - 30. 4. 2011, POSTER
4. **Narsanska A.**, Treskova I., Treska V., Skalicky T., Sutnar A.: Breast cancer liver metastases- possibilities and limits of surgical treatment, SABCS – San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio, Texas, 6. – 10. 12. 2011, POSTER
5. **Řarřanská A.**, Zedníková I., řreřka V., Vrzalová J., Fuchsová R., Topolčan O.: Předoperační hladiny vitamínu D u pacientek s karcinodem prsu, Postgraduální lékařské dny, Plzeň, 02/2012
6. **Řarřanská A.**, Zedníková I., řerná M., řreřka V., Topolčan O., Vrzalová J., Fuchsová R., Pecen L.: Predoperačné hladiny vitamínu D u pacientiek s karcinómom prsníka, 17. celořtátna pracovná konferencia SEKCAMA, Bratislava, 17. - 18. 5. 2012
7. **Řarřanská A.**, Zedníková I., řreřka V., Průchová M., Hes O., Svoboda T.: Multimodal Treatment of Metastatic Breast Cancer (Case Report), ESSO Advanced Course on Breast Cancer Surgery, Valencia, řanělsko, 16. - 19. 9. 2012
8. **Řarřanská A.**, Zedníková I., řreřka V., řreřková I., Hes O., Holubec L., Svoboda T.: Léčba lokálně pokročilého karcinomu prsu – sanační mastektomie (Kazuistiky), II. plzeňský mammární den, Plzeň, 26. 9. 2012
9. **Řarřanská A.**, Zedníková I., řerná M., řreřka V., řreřková I., Průchová M., Hes O., Svoboda T.: Multimodální léčba metastatického karcinomu prsu (kazuistika), Postgraduální lékařské dny, Plzeň, 12. – 14. 2. 2013
10. **Řarřanská A.**, řreřková I., Zedníková I., řerná M., řreřka V., Bursa V.: Lokální terapie karcinomu prsu a aktuální možnosti rekonstrukčních výkonů ve FN Plzeň, III. plzeňský mammární den, Plzeň, 25. 9. 2013
11. **Řarřanská A.**, Kubačková D., Zedníková I., řerná M., řreřka V.: Vynechanie rádioterapie - možnost pre vybranú skupinu starřích pacientiek s karcinómom prsníka?, 19. Celořtátna pracovná konferencia – SEKCAMA, Bratislava, 22. – 23.5. 2014
12. **Řarřanská A.**, Pechová L., Zedníková I., řreřka V., Ferda J.: Recurrence risk in small, node negative early breast cancer, World Congress on Controversies in Breast Cancer (CoBRA), Melbourne, 22. - 24. 10. 2015 POSTER
13. **Řarřanská A.**, Zedníková I., řerná M., řreřková I., řreřka V., Svoboda T.: Jaká je role mamologa – chirurga v léčbě a dispenzarizaci BRCA pozitivních pacientek? 20. Celořtátna pracovná konferencia – SEKCAMA, Bratislava, 12. – 15.5. 2015
14. **Řarřanská A.**, řreřka V., řreřková I., Hlaváčková M., Svoboda T., Ondič O.: Přístup chirurga k DCIS. Plzeňský mammární den, 21. 9. 2016
15. **Řarřanská A.**: Karcinom prsu – pohled klinika. XXXVIII. Imunoanalytické dny, Plzeň, 24. 4. 2017

16. **Řarřanská A.**, Zedníková I., Třeřka V., Hlaváčková M., Svoboda T.: Karcinom prsu v těhotenství a v době kojení (gestační karcinom), Večer chirurgické kliniky, Plzeň, 10. 5. 2017
17. **Řarřanská A.:** Karcinom prsní žlázy – současné postupy, Páteční seminář CHK, Plzeň, 24. 2. 2017

## 12 Přílohy

### *Příloha 1 - Informovaný souhlas pacienta s klinickou studií*

Informovaný souhlas pacienta.

Jméno pacienta: .....

Identifikace pacienta:.....

Souhlasím se zařazením do klinické studie výzkumu nádorového onemocnění mléčné žlázy.

Součástí každé operace rakoviny prsu je odstranění uzlin v podpažní jamce, tzv. exenterace axily. Exenterace axily se dá v současné době nahradit šetrnější metodou, a to vynětím pouze tzv. hlídkové (sentinelové) uzliny. Současný standardní postup je při metastáze v sentinelové uzlině doplnit exenteraci axily a poté podpaží ozářit. Exenterace axily může snížit kvalitu života vznikem lymfatického otoku horní končetiny na operované straně a možným omezením hybnosti končetiny. Dle již provedených studií v zahraničí nemá doplnění exenterace axily při pozitivní sentinelové uzlině vliv na délku přežití. Proto cílem naší studie je při metastáze v sentinelové uzlině nerozšiřovat výkon o odstranění dalších uzlin, ale pouze podpaží ozářit a snížit tím komplikace, které jsou s výkonem spojené. Tato metoda ještě není zavedena do běžné praxe, byly však již provedeny rozsáhlé studie v zahraničí a metoda se jeví jako bezpečná.

Prohlašuji, že jsem byla svým ošetřujícím lékařem srozumitelně seznámena s protokolem studie a veškeré nejasnosti mi byly srozumitelně vysvětleny.

**Souhlasím s odběry krve a nádorové tkáně za účelem vyšetření biomarkerů, genetického vyšetření a monitorování průběhu onemocnění.** Souhlasím s použitím vyšetřovacích, operačních a léčebných postupů podle protokolu studie. Z této studie mohu v jejím průběhu kdykoli odstoupit bez udání důvodu.

V Plzni dne: \_\_\_\_\_

-----

podpis pacienta

-----

podpis řešitele studie