

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni

Onkologická a radioterapeutická klinika



Doktorská disertační práce

**Karcinom prsu mladých žen: korelace molekulárně-
genetických, klinických a morfoložických znaků**

MUDr. Alena Metelková

Plzeň 2017

Obor: Patologie

Školitel: prof. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D, MHA

Abstrakt

Autorka v první části doktorské disertační práce shrnuje současné poznatky o karcinomu prsu, který je nejčastější malignitou ženské populace. Práce se zabývá etiologií onemocnění, jeho klasifikací, diagnostikou, biologickým chováním, popisuje terapeutické modalitty od léčby chirurgické, radioterapeutické, až po léčbu systémovou. V další části práce jsou definována specifika onemocnění ve skupině premenopauzálních žen. Jsou zde popsány rozdíly v rizikových faktorech, léčbě i prognóze oproti karcinomu prsu postmenopauzálních žen.

V následující části předkládané disertační práce je vyhodnocena retrospektivní studie s vlastním souborem pacientek, kterým byl diagnostikován invazivní karcinom prsu do 35 let věku. V průběhu let 2006-2015, byla v Biopstické laboratoři Plzeň, s.r.o. a Šiklově ústavu patologie FN Plzeň, histologicky potvrzena diagnóza karcinomu prsu u 16 294 pacientů, v 356 případech (2,2%) se jednalo o ženy mladší 35 let.

Vlastní soubor představuje 93 pacientek vybraných z výchozího souboru, které byly nebo jsou léčeny na Onkologické a radioterapeutické klinice Fakultní nemocnice v Plzni. Jako kontrolní soubor slouží skupina 100 postmenopauzálních žen ≥ 65 let v době diagnózy, které jsme vybrali náhodně z celkového počtu pacientů léčených na naší klinice pro invazivní karcinom prsu ve stejném časovém období 2006-2015. U obou skupin jsme sledovali prognostické a prediktivní indikátory a detaily týkající se léčby a průběhu onemocnění.

Retrospektivní analýzou souboru mladých žen, kterým byl diagnostikován zhoubný novotvar prsu před 35. rokem věku, jsme v souladu s recentní literaturou potvrdili četnější zastoupení prognosticky nepříznivých histologických typů karcinomu, signifikantně vyšší negativní prognostické markery (grade, mitotická aktivita), častější postižení lymfatických uzlin v době diagnózy, vyšší podíl karcinomů vzniklých na podkladě hereditární zátěže, častější a časnější výskyt relapsu onemocnění po adjuvantní léčbě.

U podskupiny 18 *BRCA* pozitivních karcinomů a 6 karcinomů vzniklých v průběhu těhotenství (PABC) jsme sledovali charakteristiky těchto nádorů a jejich léčbu.

Klíčová slova: Karcinom prsu – mladé ženy ≤ 35 let – prediktivní a prognostické markery – *BRCA* pozitivní karcinom prsu – karcinom prsu asociovaný s těhotenstvím (PABC)

Summary

In the first part of the dissertation the author summarizes the current knowledge of breast cancer, which is the most frequent malignancy in female population. The author deals with etiology, classification, diagnostics, biological behaviour, therapeutical forms ranging from surgical treatment and radiotherapy, to systemic therapy. In the following part of the manuscript the author describes specifics of breast cancer diagnosed in premenopausal women. She describes how the risk factors, treatment and prognosis differ from the disease in postmenopausal women.

Next section of the dissertation includes a retrospective case series evaluating group of patients with breast cancer ≤ 35 years. There were 16 294 cases of breast cancer proven histologically in Biopsticka lab Pilsen, Ltd. and Siki's Department of Pathology, Faculty Hospital Pilsen, during 2006-2015. The cohort of patients in our retrospective study includes 356 young women (2,2%) with breast cancer, under 35 years of age by the time of setting the diagnosis.

We sorted out a group of 93 patients from the basic cohort, that were or have been treated in the Department of Oncology and Radiotherapy, Faculty Hospital in Pilsen. A control group consists of 100 postmenopausal women ≥ 65 years of age, chosen randomly from all patients treated in the Faculty Hospital in Pilsen for invasive breast cancer during the same period 2006-2015. We analysed prognostic and predictive markers, and followed details about treatment and course of the disease.

Our retrospective analysis confirmed, in compliance with recent literature, that young women with breast cancer have higher incidence of prognostically unfavourable histological types, higher negative prognostic markers (grade, mitotic activity), higher incidence of lymph node metastases and higher incidence of cancers caused by hereditary predisposition. We also confirmed higher and earlier incidence of relapsed disease following adjuvant treatment.

We described characteristics and used treatment of 18 *BRCA* positive breast cancers and 6 cases of PABC from our cohort.

Key words: Breast cancer – young women ≤ 35 years – predictive and prognostic markers – *BRCA*-positive breast cancer – pregnancy-associated breast cancer (PABC)

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli, prof. MUDr. Jindřichu Fínkovi, Ph.D., MHA a své konzultantce a mentorce prof. MUDr. Aleně Skálové, CSc., za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a čas, který mi věnovali během celého studia a při vypracování této dizertační práce. Paní primářce Ústavu lékařské genetiky, MUDr. Radce Jaklové, děkuji za pomoc při shromažďování podkladů. Za pomoc při korektuře textu děkuji MUDr. Andree Krasulové. Za trpělivost a podporu během tvorby této práce děkuji svému manželovi.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracovala samostatně a řádně jsem uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi Univerzity Karlovy LF Plzeň.

MUDr. Alena Metelková

V Plzni, dne 14. 3. 2017

Obsah

1. Úvod	09
2. Cíle práce	16
3. Karcinom prsu	17
3.1 Definice	17
3.2 Epidemiologie	18
3.3 Klinické příznaky	22
3.4 Etiologie	23
3.4.1 Kancerogeneze	23
3.4.2 Hereditární predispozice	25
3.4.3 Další rizikové faktory	29
3.5 Diagnostika	31
3.5.1 Zobrazovací vyšetření	31
3.5.2 Bioptické vyšetření	34
3.5.3 Onkomarkery	36
3.6 Klasifikace	38
3.7 Typy nádorů prsu	41
3.7.1 Neinvazivní formy karcinomu prsu	41
3.7.2 Invazivní formy karcinomu prsu	43
3.8 Histopatologické znaky	50
3.9 Prognostické a prediktivní markery	52
3.10 Biologické chování	56
3.11 Léčba karcinomu prsu	59
3.11.1 Chirurgická léčba	60
3.11.2 Radioterapie	61
3.11.3 Hormonální terapie	63
3.11.4 Chemoterapie	65
3.11.5 Cílená léčba	68
3.12 Prevence, screeningový program	72
4. Karcinom prsu mladých žen	74
4.1 Epidemiologie	75
4.2 Rizikové faktory	76
4.3 Morfologické charakteristiky	78
4.4 Léčba	80
4.5 Specifika léčby mladých žen	84
4.6 Prognóza	89
5. Metodika a výsledky výzkumu	90
6. Hodnocení, závěr	101
7. Seznam pramenů a použité literatury	104
8. Přílohy	125

Seznam použitých zkratek

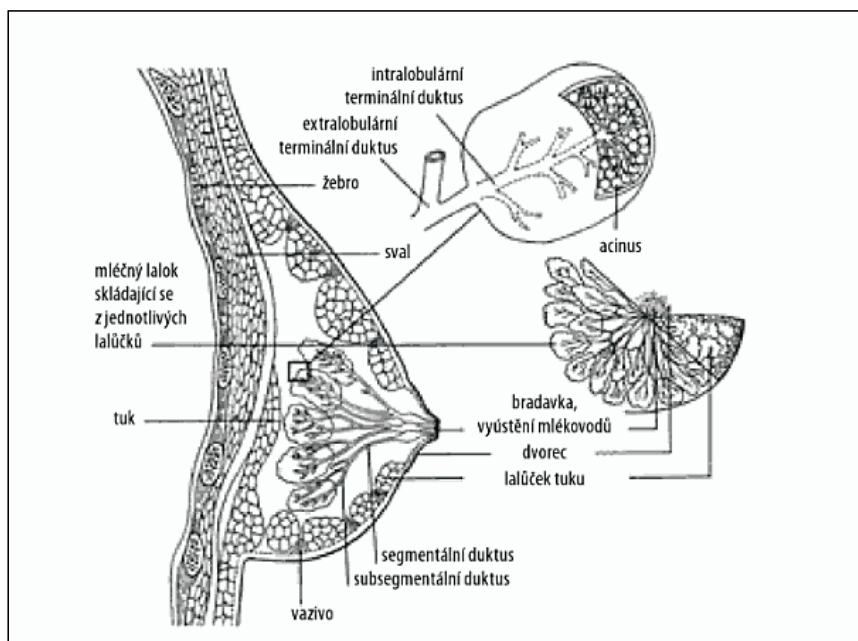
ASCO	<i>American Society of Clinical Oncology</i>
BMI	body mass index
BRT	brachyradioterapie, radioterapie na krátkou vzdálenost
CEA	karcinoembryonální antigen
CIS	karcinom <i>in situ</i>
CMF	cyklofosfamid, metotrexát, 5- fluorouracil
CNB/CCB	<i>core needle/cut biopsy</i> , core-cut biopsie
CPM	kontralaterální profylaktická mastektomie
CR/pCR	<i>complete response</i> , kompletní remise/ patologická kompletní remise
CT	<i>computed tomography</i> , výpočetní tomografie
ČR	Česká republika
DCIS	duktální karcinom <i>in situ</i>
DFS	<i>disease-free survival</i> , přežití bez známek nemoci, u nemocných bez detekovatelného onemocnění po adjuvantní léčbě
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EGFR	receptor pro epidermální růstový faktor
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
ER	estrogenní receptory
ESMO	<i>European Society for Medical Oncology</i>
FAC	fluorouracil, adriamycin (doxorubicin), cyklofosfamid
FFPE	<i>formalin-fixed, paraffin embedded</i> , formalínem fixovaná, parafínem zalitá tkáň
FISH	fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
FN	Fakultní nemocnice
FNAB/FNAC	<i>fine-needle aspiration biopsy/ cytology</i> , tenkojehlová punkční biopsie/ cytologie
GIT	gastrointestinální trakt

GnRH/LHRH	<i>gonadotropin-/luteinizing hormone releasing hormone</i> , gonadoliberin
Gy	gray
HBOC syndrom	<i>hereditary breast and ovarian cancer syndrom</i>
HER 2	<i>human epidermal receptor 2</i> , lidský epidermální růstový faktor 2
HST	hormonální substituční terapie
HT	hormonoterapie
CHT	chemoterapie
IA	inhibitory aromatázy
ICD-O	<i>International Classification of Diseases for Oncology</i>
IDC	invazivní duktální karcinom
ILC	invazivní lobulární karcinom
IMRT	<i>intensity modulated radiotherapy</i> , radioterapie modulující intenzitu
LCIS	lobulární karcinom <i>in situ</i>
LU, LN	lymfatické uzliny
MGA	<i>multigene assay</i> , multigenový test
MIB	index proliferační aktivity
MIBC	<i>microinvasive breast carcinoma</i> , mikroinvazivní karcinom
MR, MRI	<i>magnetic resonance imaging</i> , magnetická rezonance
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NOR	Národní onkologická registr
ORAK	Onkologická a radioterapeutická klinika
OS	<i>overall survival</i> , celkové přežití
PABC	<i>pregnancy associated breast cancer</i> , karcinom prsu související s těhotenstvím
PAI-1	inhibitor plazminogenového aktivátoru 1
PARP	poly (ADP) – ribóza polymeráza
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> , polymerázová řetězová reakce
PD	<i>progressive disease</i> , postupující onemocnění

PDGF	<i>platelet-derived growth factor</i>
PET	pozitronová emisní tomografie
PFS	<i>progression-free survival</i> , přežití bez progresu, týká se onemocnění metastazujícího či primárně inoperabilního při inkurabilní léčbě
PR	progesteronové receptory
RFA	radiofrekvenční ablace
RNA	kyselina ribonukleová
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>
SD	<i>stable disease</i> , stabilizované onemocnění
SEER	<i>Surveillance Epidemiology and End Results</i> databáze
SERM	selektivní modulátor estrogenních receptorů
SLNB	biopsie sentinelové lymfatické uzliny
TACE	transarteriální chemoembolizace
TARE	transarteriální radioembolizace
TNBC	<i>triple-negative breast cancer</i>
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
TNM klasifikace	<i>tumor-node-metastasis</i> klasifikace
TPA	tkáňový polypeptidový antigen
TPS	tkáňový polypeptidový specifický antigen
TSG	tumor-supresorový gen
uPA	urokinázový aktivátor plazminogenu
USG	ultrasonografie
VEGF	vaskulární endotelový růstový faktor
Vs.	versus
WHO	<i>World Health Organization</i> , Světová zdravotnická organizace
ZN	zhoubný novotvar

1 Úvod

Karcinom prsu je zhoubný novotvar vznikající maligní transformací epitelálních buněk mléčné žlázy (**obrázek 1**). Jedná se heterogenní skupinu onemocnění s mnohdy velmi odlišnou morfologií, biologickým chováním, odpovědí na léčbu, průběhem i prognózou. Společnou vlastností je schopnost invaze do okolí a zakládání vzdálených metastáz.



Obr. 1: Anatomie ženské prsní žlázy

(zdroj: <http://docplayer.cz/1635971-Prevence-rakoviny-prsu-u-zen.html>)

Karcinom prsu je nejčastější ženskou malignitou, představuje zhruba 20 % [1] všech zhoubných nádorových onemocnění ženské populace, a to především v průmyslově rozvinutých zemích. Vzhledem k známým rizikovým faktorům, které k rozvoji karcinomu prsu přispívají a které často úzce souvisí se životním stylem a prostředím, řadí se toto onemocnění mezi civilizační choroby. První zmínky o zhoubném onemocnění prsu však sahají až do období 3000 let před Kristem, do období Starého Egypta. Zabýval se jím později i Hippokrates či Galén [2].

WHO klasifikace rozlišuje typy karcinomů prsu podle histologického obrazu. Nejčastěji se vyskytuje duktální invazivní typ karcinomu (85 %), méně častý je lobulární invazivní karcinom (<15%) a necelé 1 % připadá na ostatní typy karcinomu – **tabulka 1** [3].

Invazivní karcinomy		ICDO-M
1. Nespeciální typ	Blíže nespecifický (no special type) karcinom	8500/3
2. Speciální typ	Invazivní lobulární (všechny morfolog. varianty)	8520/3
	Tubulární karcinom	8211/3
	Kribriformní karcinom	8201/3
	Mucinózní karcinom	8480/3
	Medulární karcinom	8510/3
	Atypický medulární karcinom	8513/3
	Invazivní mikropapilární karcinom	8507/3
3. Metaplastické	Vřetenobuněčný karcinom	8032/3
	Low grade adenoskvamózní karcinom	8570/3
	Spinoceulární karcinom	8070/3
	Karcinomy s mezenchymální metaplazií (více typů)	
4. Papilární	Invazivní papilární karcinom	8503/3
	Opouzdřený papilární karcinom s invazí	8504/3
	Invazivní solidně-papilární karcinom	8509/3
5. S neuroendokrinními rysy	Neuroendokrinní tumor dobře diferencovaný	8246/3
	Neuroendokrinní karcinom	8041/3
	Karcinom s neuroendokrinní diferenciací	8574/3
6. Epiteliálně - myoepiteliální	Myoepiteliální karcinom	8982/3
	Adenoidně cystický karcinom	8200/3
7. Vzácné typy	Sekreční karcinom	8502/3
	Karcinom secernující lipidy	8314/3
	Karcinom bohatý na glykogen	8315/3
Karcinomy in-situ		
1. Lobulární	Lobulární karcinom in situ	8520/2
	Pleiomorní lobulární karcinom in situ	8519/2
2. Duktální	Duktální karcinom in situ	8500/2
3. Papilární	Intraduktální papilární karcinom	8503/2
	Opouzdřený papilární karcinom	8504/2
	Solidně papilární karcinom in-situ	8509/2

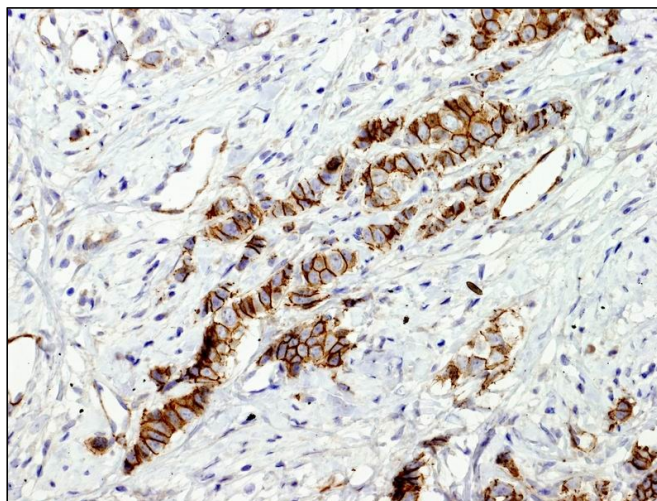
Tabulka 1: WHO histologická klasifikace karcinomů prsu (2012) [3]

Další klasifikace vychází z WHO klasifikace a zařazuje jednotlivé typy do prognostických skupin dle modifikovaného gradingu Bloomova – **tabulka 2** [4]. Toto schéma dle Rejthara a Nenutila z roku 1993 je již zastaralé a neužívá se.

		Výskyt	ICD-O
Nízká úroveň malignity	A. lobulární invazivní	<15 %	
	1. klasický invazivní lobulární		8520/3
	2. tubulárně lobulární varianta		8521/3
	B. duktální invazivní		
	a) běžné varianty	80 %	
	3. papilární intraduktální		8503/3
	4. papilární intracystický		8504/3
	5. kribriformní		8201/3
	6. tubulární		8211/3
	7. mucinózní čistý či koloidní		8480/3
	8. medulární		8512/3
Střední úroveň malignity	9. duktální invazivní, blíže nespecifikovaný		8500/3
	10. kombinovaný duktální a lobulární		8522/3
Vysoká úroveň malignity	11. atypický medulární		8510/3
	12. komedo karcinom		8501/3
	13. smíšený hlenotvorný		8481/3
	14. bazaloidní		
	15. karcinom s myoepiteliální diferenciací		
	b) vzácné varianty	1 %	
Vzácné formy	16. karcinom secernující lipidy		8314/3
	17. Paget s duktální složkou		8541/3
	18. Paget bradavky		8540/3
	19. karcinom bohatý na glykogen (světlobuněčný)		8315/3
	20. juvenilní – sekreční		8502/3
	c) komplexní a metaplastické varianty	4 %	
	21. skvamózní		8570/3
	22. adenoskvamózní		8560/3
	23. s neuroendokrinní metaplazií – smíšený karcinoid – adenokarcinom		8574/3
	24. adenoidně cystický		8200/3
	25. apokrinní		8573/3
	26. bifázický epiteliální a sarkomatoidní		8572/3
	27. monofázický vřetenobuněčný		8572/3
	28. vřetenobuněčný s heterologní složkou		8571/3
	C. nezařaditelné	<1 %	
Neklasifikovatelné	29. neklasifikovatelný		8010/3

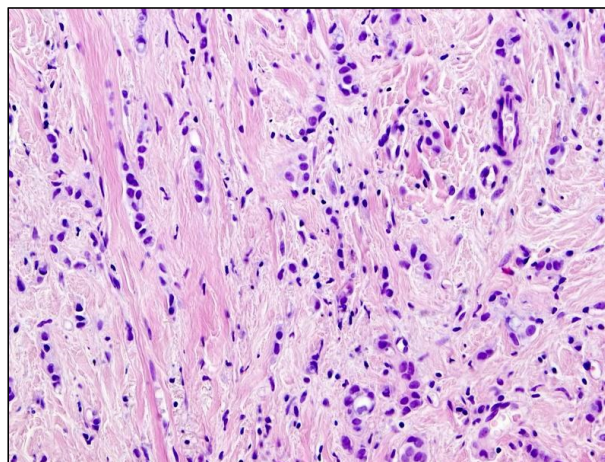
Tabulka 2: Klasifikace primárních karcinomů prsu (Rejthar a Nenutil, 1993) [4]

Nejčastější typem je duktální karcinom, který vzniká maligní transformací buněk mléčných vývodů. V histologickém obraze jsou typicky dobře patrné zřetelné hranice mezi jednotlivými buňkami a zachování soudržnosti buněk, dané přítomností E-cadherinu – **obrázek 2**.



Obr. 2: *Imunohistochemický průkaz E-cadherinu v duktálním karcinomu*

Pro invazivní lobulární karcinom, který vychází z buněk mléčných lalůček, je typická ztráta adhezní molekuly E-cadherinu. Tím dochází ke ztrátě soudržnosti jednotlivých buněk, které v histologickém obraze vytváří buď struktury řádků (tzv. “indian file pattern“) – **obrázek 3**, nebo jsou v kolagenním vazivu přítomny difuzně po jednotlivých buňkách.



Obr. 3: *Obraz “indian file pattern” v lobulárním karcinomu*

Karcinom prsu je onemocnění multifaktoriální. Etiologické faktory, které mohou vést ke vzniku zhoubného novotvaru prsní žlázy, dělíme na vnitřní (genetické, hormonální) a zevní (dietní, vliv zevního prostředí). Více než 50 % karcinomů prsu vzniká sporadicky, bez zjištění jednoznačné příčiny. Současná odborná literatura uvádí, že až 10 % zhoubných nádorů prsu vzniká na podkladě genetické predispozice [5]. V převážné většině v důsledku vrozené mutace tumor-supresorového genu *BRCA 1* a *BRCA 2*, které svému nositeli přináší celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu až 85 %. Další, méně časté mutace se mohou nacházet v oblasti dalších TSG, jako *p53* či *CHEK2*. Vznik karcinomu prsu může být zapříčiněn také dlouhou expozicí estrogenům, časnou menarché, pozdní menopauzou, nuliparitou, první graviditou po 30. roce života, krátkou dobou laktace či dlouhodobou hormonální substituční léčbou. Ze zevních rizikových faktorů je to především zvýšený příjem alkoholu, obezita, nedostatek fyzické zátěže a ionizující záření v oblasti hrudníku. K dalším faktorům zvyšujícím riziko vzniku zhoubného nádoru prsu, se řadí pozitivní rodinná anamnéza, tedy výskyt tohoto onemocnění u nejbližších pokrevních příbuzných a zhoubný či nezhoubný nádor prsu v osobní anamnéze.

Léčba karcinomu prsu je v převážné většině multimodální. Kombinuje postupy léčebných modalit lokoregionálních (chirurgické a radioterapeutické) a systémových (hormonoterapie, chemoterapie a cílená léčba biologickými preparáty). Terapeutický algoritmus je stanoven na základě klinického stadia, ve kterém je onemocnění diagnostikováno a dalších prognostických faktorech. Standardně se u karcinomu prsu využívá prognostických faktorů histopatologických, jako je stupeň diferenciacce nádorových buněk (grade), jejich mitotická aktivita a MIB1 index, přítomnost receptorů estrogeních, progesteronových a receptor 2 pro lidský epidermální růstový faktor (*HER2*, *ERBB2*) a přítomnost maligních buněk v lymfatických uzlinách (N). Definitivní léčebné schéma ovlivňují také další faktory, jako věk pacienta, jeho celkový stav, další komorbidity a jiné.

Podobně jako u jiných onkologických diagnóz, také při léčbě karcinomu prsu převládá v dnešní době potřeba individualizovat onkologickou léčbu na základě charakteristik konkrétního onemocnění. Široké spektrum různých léčebných modalit, stále se rozšiřující paleta preparátů schválených k léčbě karcinomu prsu a identifikace prediktivních biomarkerů pomocí genomického testování umožňuje maximálně individualizovat léčbu

karcinomu prsu. „Tailoring therapy“, respektující trend personalizované medicíny, může maximalizovat efektivitu léčby a zároveň minimalizovat její toxicitu [6]. Genomika a proteomika poskytuje prostředky k určení molekulárních profilů jednotlivých nádorů. Multigenové testy (MGA, multigene assay) jsou již v dnešní době běžně využívány v klinické praxi. Na základě klastrových analýz profilů genové exprese lze charakterizovat nádorové onemocnění na molekulární úrovni a stratifikovat pacienty podle míry rizika relapsu [7]. Genová exprese je dána počtem transkripcí řetězce DNA (kys. deoxyribonukleová), do mRNA (mediátorová ribonukleová kyselina) a proteinů, které jsou jimi kódovány [8]. Jednotlivé multigenové testy se liší technologií vyšetření, mají různá indikační kritéria, různou škálu testovaných genů a také různou prediktivní a prognostickou hodnotu.

Karcinomy prsu ve skupině mladých žen nejsou časté a představují pouze zlomek z celkového počtu onemocnění (2 %) [9]. V České republice se ročně jedná o 140 až 150 nově diagnostikovaných případů karcinomu prsu ve skupině žen do 35 let. Podobně jako je tomu u jiných onkologických diagnóz, tak i u karcinomu prsu lze pozorovat dlouhodobý setrvalý nárůst incidence, naproti tomu mortalita onemocnění v průběhu let klesá, **tabulka 3** [10].

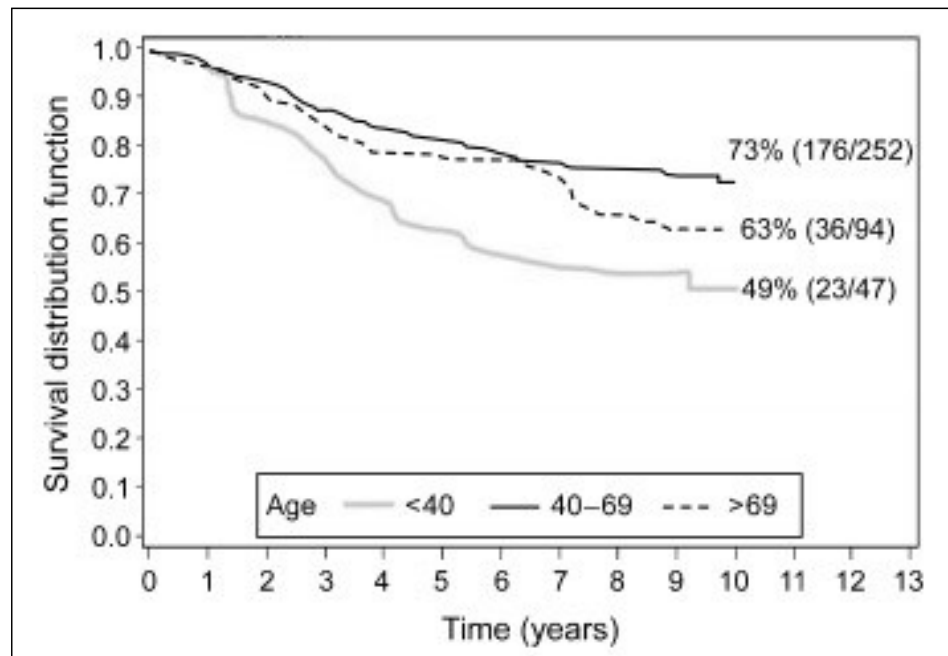
C50 - ZN prsu, ženy																			
Časový vývoj, ASR(W)																			
Rok	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995
Incidence	37.79	37.28	36.58	37.08	38.5	40.02	39.07	41.37	40.26	41.28	45.33	42.83	44.67	43.3	47.41	49.43	50.88	55.86	54.81
Mortalita	2.98	7.64	11.3	13.23	15.09	17.35	19.12	19.36	18.12	19.6	20.64	19.52	20.18	20.28	21.56	21.42	21.99	23.29	23.47
Rok	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Incidence	53.86	54.08	55.04	58.17	56.64	60.2	62.16	67.05	64.52	63.21	65.52	72.41	69.45	64.41	68.28	68.34	69.93	72.03	69.28
Mortalita	21.63	22.07	21.85	21.62	20.67	20.89	20.38	19.83	19.79	19.73	19.53	17.89	17.39	16.39	16.43	16.53	15.58	15.38	14.09

Tabulka 3: Incidence a mortalita u karcinomu prsu v ČR, přepočten na světový standard [10]

Počet diagnostikovaných karcinomů prsu u mladých žen je v čase a ve světě víceméně neměnný. Proto se předpokládá, že na vzniku maligního onemocnění prsu v takto mladém věku se podílejí odlišné rizikové faktory [11], které nemají lokální podobu. Častěji se jedná o nádory vzniklé na podkladě vrozené nádorové predispozice, mutací genů *BRCA 1/2*, *TP53*, *PTEN*, *CHEK2* či mismatch repair genů.

V České republice jsou karcinomy prsu mladých žen co do počtu problémem marginálním, přesto se jedná o prognosticky velmi významnou skupinu nemocných. Mladý věk je považován za nezávislý nepříznivý prognostický faktor. Průběh onemocnění v mladším věku bývá agresivnější, přinášející pacientkám vyšší riziko vzniku kolaterálního nádoru i lokální recidivy [9]. Na možnost vzniku maligního novotvaru v nízkém věku se mnohdy zpočátku nepomýšlí, proto je onemocnění často diagnostikováno v pokročilejším stadiu.

Histologicky se většinou jedná o karcinom invazivní duktální, bez přítomnosti hormonálních receptorů, s vysokou proliferační aktivitou, maligní buňky jsou zpravidla hůře diferencované, přítomna bývá lymfangioinvaze. Častěji jsou zastoupeny prognosticky méně příznivé typy karcinomů, jako triple-negativní, *HER2* pozitivní či bazaloidní. Mladé pacientky s karcinomem prsu mají statisticky nižší přežití, než ženy postmenopauzální – **graf 1** [12].



Graf 1: Celkové desetileté přežití podle věku, ve kterém byl karcinom diagnostikován [12]

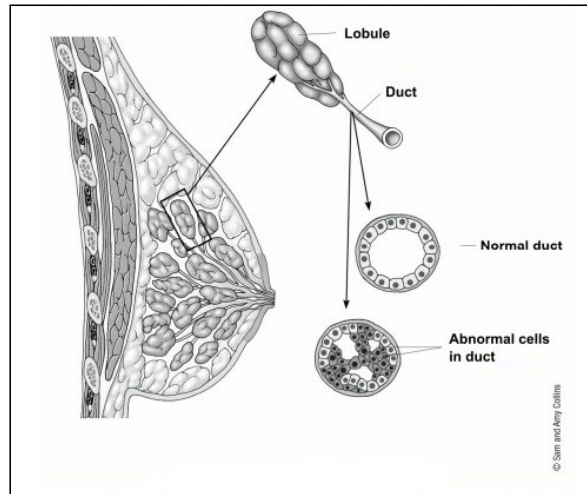
2 Cíle práce

- shrnout současné poznatky o problematice karcinomu prsu u mladých žen, do 35 let věku v době diagnózy
- definovat rozdíly v přístupu a diagnostice, porovnat průběh a prognózu onemocnění mladých žen s karcinomem prsu a postmenopauzálních žen
- vyhodnotit charakteristiky nádorů prsu a průběh onemocnění na vlastním souboru 93 mladých žen s karcinomem prsu, léčených na Onkologické a radioterapeutické klinice FN Plzeň v desetiletém období (2006-2015)
- porovnat výsledky na kontrolním souboru 100 postmenopauzálních žen s karcinomem prsu diagnostikovaným po 65. roce věku, léčených na Onkologické a radioterapeutické klinice FN Plzeň v desetiletém období (2006-2015)
- vyšetřit mutace genů *BRCA 1/2* ve vlastním souboru mladých žen s karcinomem prsu s pozitivní rodinnou anamnézou
- popsat charakteristiky a klinický průběh *BRCA1/2* karcinomů prsu

3 Karcinom prsu

3.1 Definice

Karcinomy prsu jsou maligní epitelové nádory, které vznikají v anatomických strukturách mammy, které jsou tvořeny žláзовým tělesem, fibrózní a tukovou tkání. V drtivě většině vznikají maligní transformací buněk tzv. terminální duktulobulární jednotky (TDLU) vývodného kmene – **obrázek 4**.



Obr.4: Terminální duktulobulární jednotka (zdroj: <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/types-of-breast-cancer/dcis.html>)

Mezi prekancerózy, tedy léze s maligním potenciálem, které mohou časem progredovat do karcinomů invazivních, řadíme atypickou hyperplazii a karcinomy *in situ*. Atypická hyperplazie, dle místa vzniku duktální či lobulární, zvyšuje riziko progresu do karcinomu invazivního 2 - 10krát [13].

V případě, že proliferující epitelová léze nepřekročí bazální membránu a ta je dle histologického vyšetření intaktní, hovoříme o karcinomu *in situ*. Duktální karcinom *in situ* (DCIS) představuje intraduktálně proliferující lézi s buněčnými atypii, která neproniká do periduktálního stromatu. Na mamografickém snímku může vytvářet obraz mikrokalcifikací. Vyskytuje se v různých histologických formách a riziko rozvoje v karcinom invazivní je až 50 % během 10-18 let [14]. Lobulární karcinom *in situ* (LCIS) je typický nepřítomností adhezivní molekuly E-cadherinu, což vede k histologickému obrazu, v němž dominují málo soudržné buňky. Není detekovatelný mamograficky, riziko rozvoje v invazivní formu je 7 % v horizontu 10 let [15].

3.2 Epidemiologie

Karcinom prsu je nejčastějším zhoubným novotvarem (ZN) žen ve světové populaci, představuje více než 25 % všech maligních tumorů, kromě kožních nádorů. Počet nově diagnostikovaných zhoubných novotvarů prsu v roce 2012 na celém světě byl odhadnut na téměř 1,7 milionu a počet úmrtí v jeho důsledku odhadnut na 522 tisíc (Globocan 2012). V rámci Evropy byla incidence pro rok 2012 odhadnuta na 459 tisíc nových onemocnění a 131 tisíc úmrtí v souvislosti s karcinomem prsu. Incidence se výrazně liší v rámci zemí celého světa, od 19,3 na 100 000 žen v oblasti východní Afriky, po 89,7 v zemích západní Evropy [16]. Prevalence, tedy počet pacientek žijících s nádorem do 5 let od diagnózy ZN prsu, byla pro rok 2012 odhadnuta celosvětově na 6,2 miliónů (239,9 na 100 000 žen) a 1,8 miliónu v Evropě (553,8 na 100 000 žen). Přesná epidemiologická data karcinomu prsu ve světě a Evropě ukazuje **tabulka 4 a 5**.

Parametr	Ženy
Incidence	
počet novotvarů	1 671 149
počet novotvarů na 100 000 žen	47,8
ASR(W)	43,1
podíl ze ZN kromě kožních	25,1 %
pořadí mezi ZN kromě kožních	1.
Mortalita	
počet úmrtí	521 907
počet úmrtí na 100 000 žen	14,9
ASR(W)	12,9
podíl z úmrtí na ZN kromě kožních	14,7 %
pořadí mezi ZN jako příčinou úmrtí	1.
Prevalence (pacientky žijící do 5 let od dg.)	
počet pacientek	6 232 108
počet na 100 000 žen	239,9
Kumulativní riziko vzniku nádoru	
do 75 let od narození	4,60 %

Tabulka 4: Epidemiologie ZN prsu ve světě

(zdroj: GLOBOCAN 2012) [16]

Parametr	Ženy
Incidence	
počet novotvarů	458 718
počet novotvarů na 100 000 žen	119,5
ASR(W)	69,9
podíl ze ZN kromě kožních	28,6 %
pořadí mezi ZN kromě kožních	1.
Mortalita	
počet úmrtí	131 347
počet úmrtí na 100 000 žen	34,2
ASR(W)	16,1
podíl z úmrtí na ZN kromě kožních	16,9 %
pořadí mezi ZN jako příčinou úmrtí	1.
Prevalence (pacientky žijící do 5 let od dg.)	
počet pacientek	1 814 572
počet na 100 000 žen	553,8
Kumulativní riziko vzniku nádoru	
do 75 let od narození	7,53 %

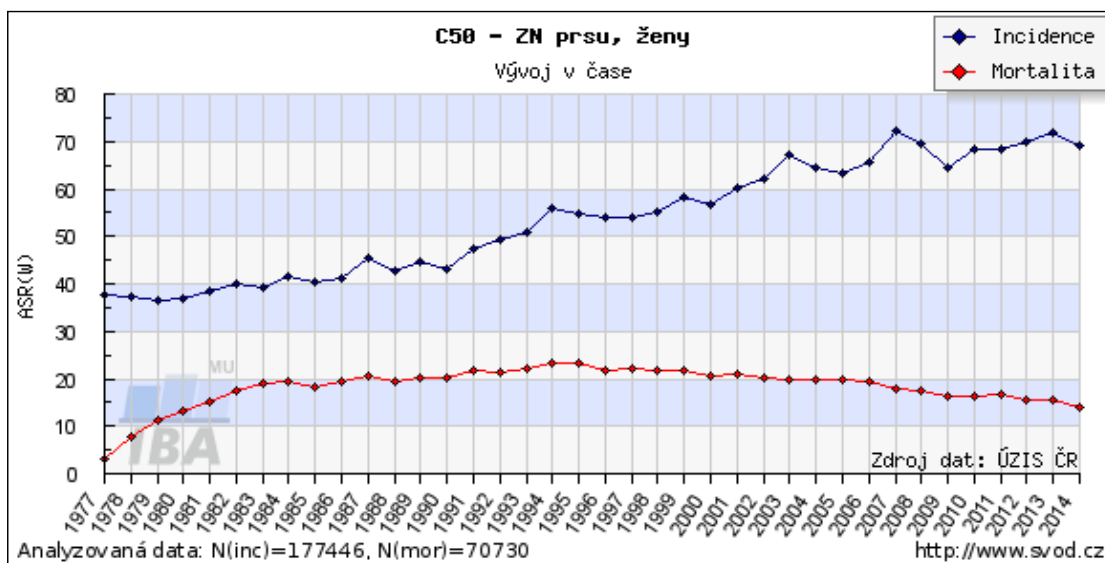
Tabulka 5: Epidemiologie ZN prsu v Evropě

(zdroj: GLOBOCAN 2012) [16]

Česká republika patří mezi země s nejvyšším počtem diagnostikovaných zhoubných novotvarů, jak v rámci Evropy, tak v celosvětovém měřítku. V roce 2011 činila incidence všech ZN, včetně ne-melanomových kožních nádorů, v České republice 802 případů na 100 000 mužů a 681 na 100 000 žen, mortalita byla 258 na 100 000 obyvatel ČR, což představuje kolem 27 000 úmrtí na všechny ZN za rok. Prevalence všech ZN v roce 2011 dosahovala k 475 000 [17]. V mnoha zemích se incidence karcinomu prsu každoročně zvyšuje, a to o 1-2 % [14].

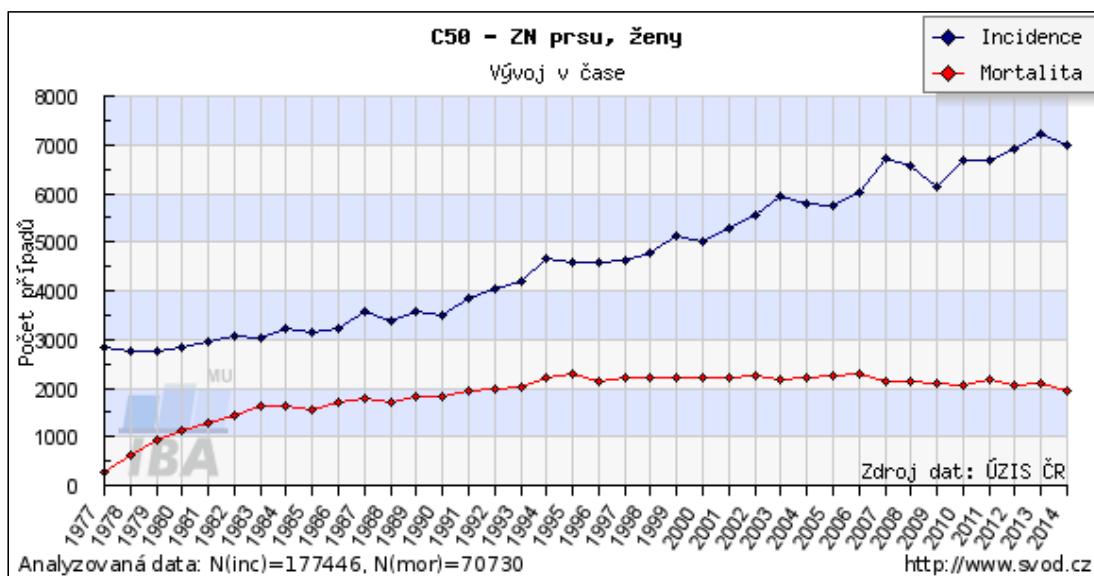
Incidence ZN prsu v České republice je 30. nejvyšší ve světě a 18. v Evropě – **Příloha 1**. Co se týče mortality ZN prsu, obsazuje Česká republika celosvětově až 118. místo a 37. místo v porovnání s ostatními evropskými zeměmi – **Příloha 2** [16].

V České republice se hrubá incidence ZN prsu pohybuje kolem 130 případů na 100 000 žen. Poslední dostupná epidemiologická data z NOR jsou z roku 2014, kdy incidence onemocnění přepočtená na světový standard (ASR-W) dosahovala hodnoty 69,3 a mortalita 14,1 - **graf 2** [10]. Jak je patrné z **grafu 2**, incidence karcinomu prsu také v České republice dlouhodobě nadále narůstá, mortalita za poslední dvě dekády naopak pomalu klesá.



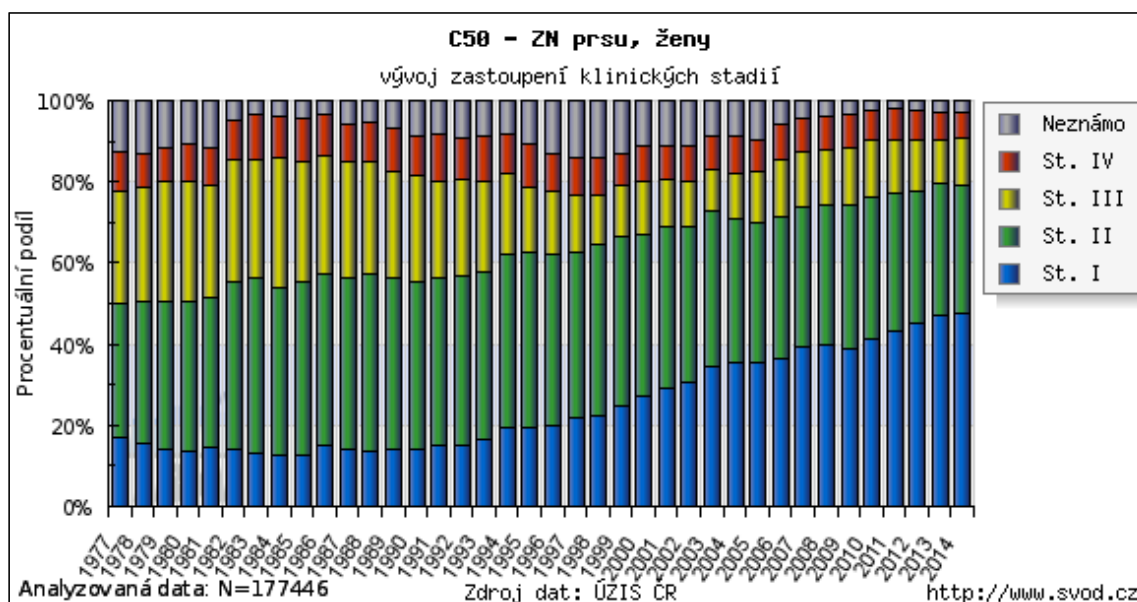
Graf 2: Srovnání incidence a mortality ZN prsu v ČR, přepočtené na světový standard [10]

Absolutní počet nově diagnostikovaných onemocnění v roce 2014 v České republice činil 7008 případů, 1940 nemocných v důsledku karcinomu prsu zemřelo – **graf 3** [10].



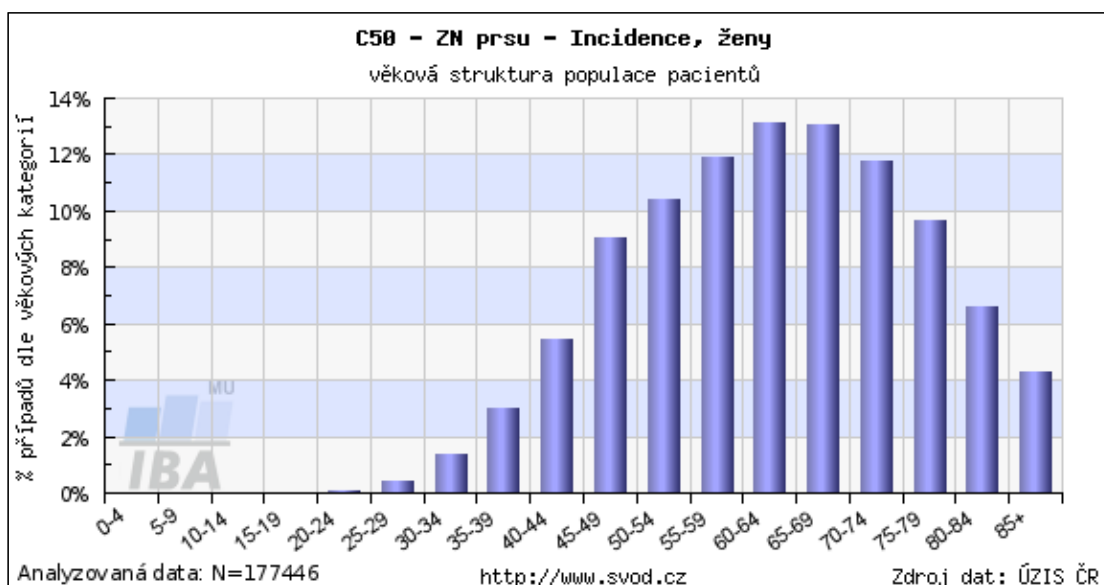
Graf 3: Absolutní počty incidence a mortality ZN prsu v ČR [10]

Vzrůstající incidence je přičítána stále se zlepšujícím možnostem diagnostiky, díky nimž se daří většinu nádorů odhalit v časných stadiích (**graf 4**), lepšímu povědomí a informovanosti společnosti a zvyšující se účasti ve screeningovém programu.



Graf 4: Klinická stadia ZN prsu v době diagnózy v ČR [10]

Karcinom prsu je onemocnění středního a staršího věku. Incidence se zvyšuje s věkem – každých 10 let se zdvojnásobuje až do menopauzy, poté incidence vzrůstá ještě rychleji. Více jak 50 % ZN prsu je diagnostikováno ve věkové skupině 55-75 let – **graf 5** [10]. Karcinom prsu v populaci do 35 let věku je vzácný a představuje kolem 2 % z celkového počtu ZN prsu ve všech věkových kategoriích. V České republice je v této skupině nemocných diagnostikováno 140 až 150 případů onemocnění ročně. Karcinom prsu u mužů je velmi vzácný a představuje asi 1 % všech ZN prsu.



Graf 5: Věková struktura pacientů se ZN prsu v ČR [10]

3.3 Klinické příznaky

V časných stádiích probíhá karcinom prsu zpravidla asymptomaticky. Později se projeví jako hmatná rezistence, která může způsobovat asymetrii prsů její defigurací (zvětšení, retrakce kůže, zmenšení, důlkovatění) – **obr. 5**, zvýrazněním žilní pleteně při zvýšené metabolické aktivitě dané přítomností nádoru. Může dojít ke změnám v oblasti bradavky – vpáčení, šupinatění, oploštění, sangvinolentní výtok. Pokud nádorové buňky infiltrují drobné lymfatické cévy prsu, dojde k rozvoji lymfedému, který má typický klinický obraz tzv. pomerančové kůže (*peau d'orange*). Mastodynie bývá projevem benigních lézí, ovšem může doprovázet také inflamatorní karcinom.



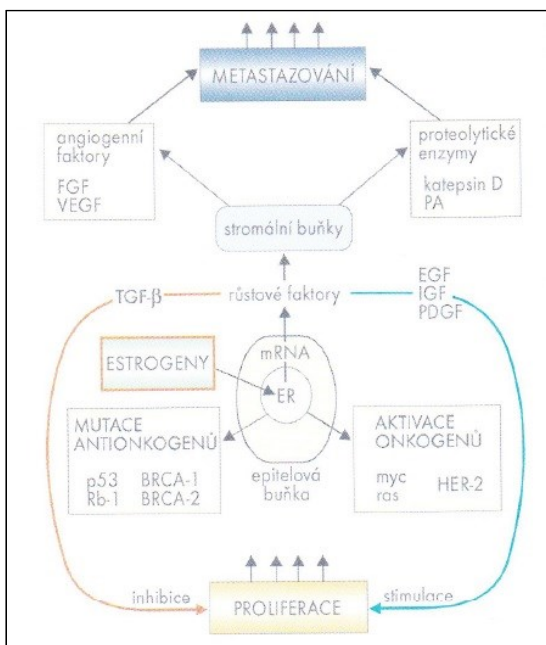
Obr.5: Asymetrie prsů, vpáčení bradavky, šupinatění kůže

Pokročilé onemocnění se může projevit celkovými nespecifickými příznaky, kupříkladu nechutenstvím, úbytkem hmotnosti či febriliemi, dalšími paraneoplastickými projevy, jako jsou dermatomyositida, acanthosis nigricans a neuromuskulární syndromy. Metastatické postižení skeletu se projeví bolestmi kostí, patologickými frakturami či hyperkalcemickým syndromem. Přítomnost metastáz v mozku může mít rozličné neurologické projevy. Prvním příznakem bývá často záchvat epilepsie či projevy syndromu nitrolební hypertenze, jako zvracení (většinou bez předchozí nevolnosti), vertigo, bolesti hlavy, diplopie nebo porucha vědomí od spavosti po bezvědomí až koma. Projevit se mohou také ložiskové příznaky, kdy dojde k výpadku určité funkce mozku, dle lokalizace metastázy. Může se jednat o poruchy hybnosti různého stupně, poruchy paměti, sluchu, zraku, afázie, změny osobnosti a poruchy chování (prefrontální syndrom při postižení čelních laloků mozku) – nemocný může být neklidný až agresivní nebo naopak pasivní až apatický.

3.4 Etiologie

3.4.1 Kancerogeneze

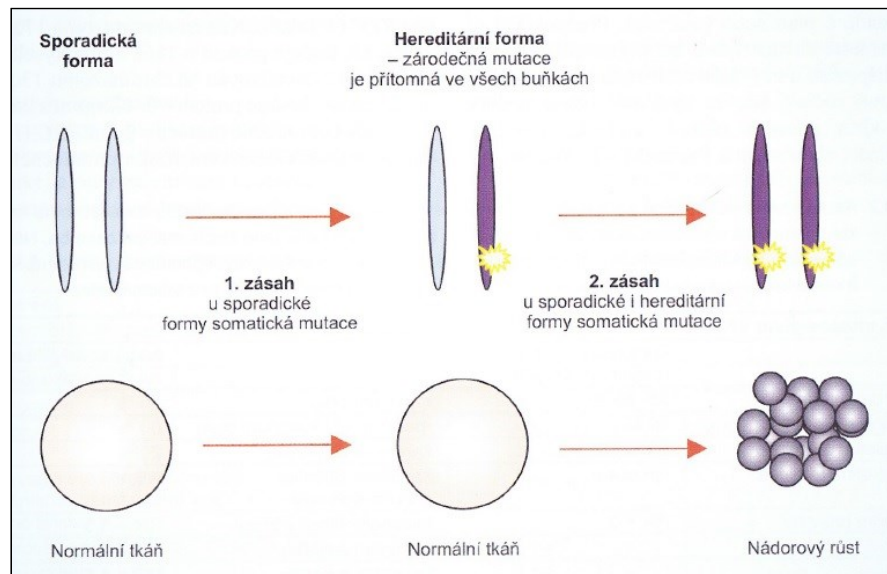
Karcinom prsu patří mezi onemocnění s hormonální závislostí. Kancerogenní účinky se přičítají především estrogenům. Indukují zvýšenou expresi některých růstových faktorů a některých onkogenů, která je za fyziologických podmínek vyvážena působky, které buněčnou proliferaci inhibují – **obr. 6**. V genech mohou vznikat spontánní mutace, které za fyziologických okolností buňka umí opravit za pomoci reparačních mechanismů. Křehkou rovnováhu mezi kancerogenními a antiproliferačními působky může narušit trvalý působení kancerogenních faktorů, které vede až ke vzniku genetických abnormalit.



Obr.6: Patogenetické mechanismy kancerogeneze ZN prsu [14]

U diploidních organismů, mezi něž člověk patří, je jeden gen kódován dvěma alelami, které se nacházejí na stejných raménkách chromozomů téhož páru. K vyřazení genu z funkce je zapotřebí, aby došlo k mutaci na obou alelách tohoto genu. Během života člověka mohou vlivem působení kancerogenních látek vznikat somatické mutace. U zdravého člověka bez genetické zátěže je tedy zapotřebí dvou somatických mutací, právě v místě obou alel, aby byl daný gen vyřazen z funkce. Lidé s hereditární mutací mají již v době narození jednu alelu genu nefunkční. Stačí

tedy jediná somatická mutace v místě druhé alely a pokud se jedná o TSG, MMR gen či protoonkogen, dojde k spuštění procesu kancerogeneze – **obrázek 7**. To vysvětluje, proč se u lidí s genetickou predispozicí nádorová onemocnění objevují v daleko mladším věku, než je tomu u zbytku populace.



Obr.7: Princip vzniku sporadické a hereditární formy nádoru [14]

Protoonkogeny za normálních okolností řídí a regulují proliferaci a diferenciaci buňky a jejich exprese je pod přísnou kontrolou buněčné signální soustavy. V případě že dojde k jejich nadměrné aktivaci, dojde k nadměrné syntéze proteinů, produktů, které jsou těmito geny kódovány. Z protoonkogenu se stává onkogen, dochází k hyperproliferaci buňky. Tumor supresorové geny (TSG), nebo také antionkogeny, za fyziologických podmínek naopak proliferaci buňky inhibují. Pokud dojde k narušení funkce některého z tumor-supresorových genů (*TP53*, *Rb*, *BRCA*), opravných genů či dojde k aktivaci protoonkogenů (*c-myc*, *c-ras*, *HER2/neu*), chyby v chromozomu buňky nejsou opraveny, kumulují se, buňka malignizuje. Ke spuštění kancerogeneze je potřeba inaktivace obou alel tumor supresorového genu, v případě onkogenu stačí aktivace pouze jedné alely ze dvou [2]. Časem dojde ke změně fenotypu buněk, nejprve k rozvoji dysplastických změn, karcinomu *in situ*, který může progredovat do karcinomu invazivního.

3.4.2 Hereditární predispozice

Kromě zmíněných somatických mutací mohou k rozvoji kancerogeneze vést také hereditární mutace, která je přítomna v každé buňce organismu již v době narození. Vrozená genetická predispozice je příčinou vzniku 5-10 % všech karcinomů prsu [5]. Ostatní nádory vznikají sporadicky, tedy jsou výsledkem několika somatických mutací, ke kterým v průběhu života může dojít působením zevních mutagenních vlivů. Vrozená mutace, která může vést k rozvoji nádorového procesu, je typicky situovaná na jednom ze tří typů genů: tumor supresorové geny, mismatch-repair geny a protoonkogeny, jak bylo uvedeno v kapitole zabývající se principem kancerogeneze.

Vrozená mutace genu může být asociována s konkrétním hereditárním syndromem. U karcinomu prsu se nejčastěji jedná o mutaci TSG *BRCA 1* či *BRCA 2*, která způsobuje syndrom hereditárního karcinomu prsu a vaječníků (HBOC). Uvádí se, že mutace genu *BRCA 1/2* je zodpovědná zhruba za 85 % všech hereditárních karcinomů prsu [18]. Výskyt v lidské populaci se odhaduje na 1: 300-800 [19], ačkoliv některé studie uvádějí výskyt daleko častější, až 1: 140-300 [20]. *BRCA 1* a *BRCA 2* jsou autosomálně dominantní geny s vysokou penetrancí, kdy jejich transmise může probíhat jak maternální, tak paternální cestou. Riziko přenosu mutace na další generaci je 50 %. Většina nositelů zárodečné mutace genu *BRCA 1/2* zdělila heterozygotní formu. Mutace v obou genech *BRCA 1* i *BRCA 2* je velmi vzácná a označuje se transheterozygotní. V literatuře je popsána retrospektivní mezinárodní studie, při níž byl sledován soubor 32 295 nositelek zárodečné mutace genů *BRCA 1/2*. Z celkového počtu byla transheterozygotní forma mutace prokázána u 93 žen (0,3 %) [21]. Gen *BRCA 1* je lokalizován na chromozomu 17q21 a obsahuje 22 kódujících exonů. Gen *BRCA 2* se nachází na chromozomu 13q12-13 a obsahuje 26 kódujících exonů.

V místě genu *BRCA* bylo popsáno kolem 2000 různých mutací, které se vyskytují v populaci s různou frekvencí. Některé specifické mutace byly popsány a jsou zcela charakteristické pro určitou subpopulaci. Nejznámějším příkladem je mutace 185delAG a 5382insC genu *BRCA 1*, která se vyskytuje u 2 % židovské populace Aškenazi [22]. Ve střední a východní Evropě (tedy i v České republice) se nejčastěji vyskytuje mutace 5382insC, C61G a 3819del5 genu *BRCA 1* [23].

Geny *BRCA 1/2* produkují jaderné proteiny, které jsou nejvíce exprimovány v G2 a S fázi buněčného cyklu a vazbou na další proteiny buněčného jádra je zajištěna jejich za fyziologická funkce. Proteiny *BRCA 1* a *BRCA 2* se účastní pochodů, jejichž cílem je udržení integrity genomu. Účastní se regulace transkripce při reparaci DNA, remodelaci chromatinu a podílejí se také na regulaci buněčného cyklu, zajišťují reparaci dvojitých zlomů DNA [24]. Gen *BRCA 1* také inhibuje estrogení receptor alfa.

Uvádí se, že nosičky vrozené mutace genů *BRCA* mají až 85 % celoživotní riziko rozvoje karcinomu prsu, tedy 10x vyšší než ve zdravé ženské populaci, kdy je riziko odhadováno na 8-10 %. Syndrom HBOC s sebou přináší také zvýšené riziko ovariálního karcinomu – až na 50 % v případě mutace genu *BRCA 1* a 20 % u mutace *BRCA 2* [25, 26]. V rámci syndromu HBOC je pozorován také vyšší výskyt zhoubných novotvarů kolorekta, prostaty, pankreatu, dělohy a maligního melanomu. Riziko karcinomu prsu je až 100x zvýšeno u mužských nosičů mutace genu *BRCA 2*, zatímco v případě vrozené mutace *BRCA 1* je toto riziko zvýšeno jen minimálně [27]. Karcinomy prsu vznikající na podkladě vrozené mutace genů *BRCA 1/2* jsou typické pro nemocné nižšího věku a často vznikají bilaterálně. *BRCA 1/2* nádory vykazují převážně vysokou proliferační aktivitu, vysoký podíl buněk v S-fázi buněčného cyklu a aneuploidii. Imunohistochemické vyšetření odhalí u 80 % karcinomů nepřítomnost hormonálních receptorů a negativní expresi *HER-2/neu* genu, označovaný jako triple negativní imunoprofil (TNBC). Většina TNBC vykazuje bazaloidní fenotyp. Více o této problematice bude uvedeno v kapitole věnující se karcinomu prsu mladých žen (Kap.4).

Dysfunkce genu *BRCA1* může být přítomna také u žen bez hereditární zátěže, pokud dojde k somatické mutaci, například vlivem metylace *BRCA 1* promotoru, aberací vazebného proteinu či nízkou expresí mRNA [28]. Tyto sporadické nádory, které nevznikají na podkladě vrozené mutace, jsou označovány jako „BRCAness“ a svými klinicko-patologickými vlastnostmi připomínají karcinomy vzniklé na podkladě hereditární mutace *BRCA* genu.

Negativní výsledek genetického vyšetření mutace *BRCA 1/2* zcela nevylučuje hereditární příčinu vzniku onemocnění. Příčinou familiární formy karcinomu prsu může být mutace také v dalších genech vysokého rizika – *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1* [29], a v genech středního rizika - *ATM*, *CHEK2*, *PALB2*, *BRIP1*, *RAD50* [30]. Nejčastější

genetické abnormality spojené se zvýšeným rizikem rozvoje karcinomu prsu shrnuje **tabulka 6**.

Syndrom Li-Fraumeni je charakterizován zárodečnou mutací genu *TP53* a je zodpovědný za vznik 1 % karcinomů prsu u mladých žen [31]. Tumor supresorový gen *TP53* je lokalizován na chromozomu 17p13 a jeho funkcí je hlídat integritu genomu buď za pomoci opravných mechanismů, či indukci apoptózy v případě neopravitelných chyb. Kromě karcinomu prsu hrozí nosičům mutace genu *TP53* také vyšší riziko sarkomů kostí a měkkých tkání, nádorů CNS, leukemií a nádorů kůry nadledvin. Ústav biologie a lékařské genetiky 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy spravuje mezinárodní databázi zárodečných mutací v genu *TP53* a provádí rozsáhlý výzkum u rizikových rodin s prokázaných syndromu Li-Fraumeni.

Obecnými charakteristikami hereditárních nádorových onemocnění prsu je nízký věk v době stanovení diagnózy (o 10-15 let dříve než nádory sporadické), často bilaterální výskyt nádoru a duplicitní nádor v jiném orgánu (především nádor ovaria). Vrozená predispozice jako příčina onemocnění je prokázána u 25-40 % karcinomů prsu u mladých žen do 35 let věku [32].

Strategie léčby nemocných s geneticky prokázaným hereditárním onemocněním má svá specifika. Především je třeba myslet na riziko rozvoje malignity také v druhostranném prsu, vyšší riziko lokoregionální recidivy a zvýšené riziko vzniku duplicitního nádoru. Do léčebného algoritmu lze zařadit všechny známé terapeutické modalit, jako u nádorů sporadických. Přístup bývá zpravidla radikálnější, zvažuje se mastektomie spíše než parciální výkon na postiženém prsu. Na druhostranném ňadru je zvažován profylaktický zákrok s ohledem na zvýšené riziko vzniku zhoubného novotvaru.

Nemocným s *BRCA* pozitivním karcinomem prsu svítla naděje z možného benefitu léčby PARP inhibitory. První výsledky klinických studií fáze II vypadaly vsutku optimisticky. Ve studii byl podáván olaparib v monoterapii [33] a iniparib v kombinaci s karboplatinou a gemcitabinem, která prokázala významnou léčebnou odpověď PARP inhibitorů, prodloužení doby do progrese a prodloužení celkového přežití [34]. Počáteční nadějně výsledky však nepotvrdila studie fáze III s iniparibem v první linii léčby metastatického *BRCA* pozitivního karcinomu prsu [35].

Genetické vyšetření hlavních predispozičních genů je již běžnou součástí klinické praxe. Indikuje jej klinik u nemocných, které splňují následující kritéria:

karcinom prsu před 35. rokem života či karcinom ovaria před 40. rokem věku,
 duplicitní karcinom prsu i ovarii,
 karcinom prsu bilaterálně, první diagnostikován do 40. roku,
 specifický histologický typ nádoru,
 dva příbuzní 1. stupně s nádorem prsu či ovarii, diagnostikovaný před 50. rokem,
 tři a více karcinomů prsu a ovarii u příbuzných 1. a 2. stupně v jedné linii.

Mutovaný gen	Chromozom	Syndrom	Nádory
BRCA1	17q21	BRCA1	prs, ovarium, prostata, kolorektum
BRCA2	13q12	BRCA2	prs, ovarium, pankreas
TP53	17p13	Li-Fraumeni	prs, CNS
STK11		Peutz-Jeghersův	prs, kolorektum, pankreas, žaludek
PTEN	10q	Cowdenův	sarkom, prs, kolorektum, štítná žláza
Rb	13q14		retinoblastom, osteosarkom, prs
MMR geny	2p, 3p, 7p	Lynchův	kolorektum, prs, děloha
MMR geny	2p	Muirův	prs, bazaliomy, tumory GIT
ATM	11q22-23	Ataxia teleangiectatica	lymfomy, prs, leukémie
CDH1		HDGC	žaludek, kolorektum, lobulární ca prsu

Tabulka 6: Genetické abnormality spojené s rizikem karcinomu prsu [14]

3.4.3 Další rizikové faktory

Rizikové faktory pro vznik nádorů prsu byly zkoumány na početných skupinách pacientů. Kromě endogenních vlivů může být vznik zhoubného novotvaru prsu podmíněn mnoha dalšími rizikovými faktory.

Významný kancerogenní potenciál se přičítá estrogenům. S délkou expozice estrogenům vzrůstá riziko rozvoje karcinomu prsu. Časnější menarché, pozdní menopauza, nuliparita či první porod po 35. roce zvyšují riziko ZN prsu, krátká délka laktace, hormonální substituční léčba. Udává se, že ženy, u nichž proběhla menopauza po 55. roce života, mají dvakrát vyšší riziko vzniku karcinomu prsu, než ženy s klimakteriem před 45. rokem [14]. Není bez zajímavosti, že nuliparita přináší ženě menší riziko než porod prvního potomka až po 35. roce věku.

Mezi další rizika se řadí ženské pohlaví, věk a je jiné onemocnění mléčné žlázy, a to především přítomnost prekanceróz či karcinom prsu po adjuvantní léčbě v osobní anamnéze. Benigní adenomy a duktální papilomy přinášejí riziko, že v tomto terénu bude maligní novotvar přehlédnut. Pozitivní rodinná anamnéza, především u nejbližších rodinných příslušníků, je také jednoznačným rizikovým faktorem. Familiární výskyt karcinomu prsu se udává v 15 %.

Riziko přináší také působení ionizujícího záření na oblast mléčné žlázy, například při radioterapii jiných nádorů. V případě, že došlo k ozáření v průběhu vývinu prsní žlázy v adolescenci, je riziko vzniku malignity ještě daleko silnější (například ozáření mediastina při Hodgkinově lymfomu).

Významný vliv mají dietní faktory, hlavně zvýšený příjem tuků, alkoholu a nedostatek fyzické aktivity. Obezita se jako rizikový faktor pro vznik karcinomu prsu uplatňuje především u postmenopauzálních žen, kdy již ovaria neplní funkci hlavního zdroje ženských pohlavních hormonů. Endogenní estrogeny jsou vytvářeny z androgenních prekurzorů za účasti enzymu aromatázy v tukové tkáni, játrech, nadledvinách či mozku. Nadměrná tuková zásoba vede k vyšší plazmatické koncentraci estrogenů. Zajímavé je zjištění, že u mladých žen je mírná nadváha naopak protektivním faktorem [36].

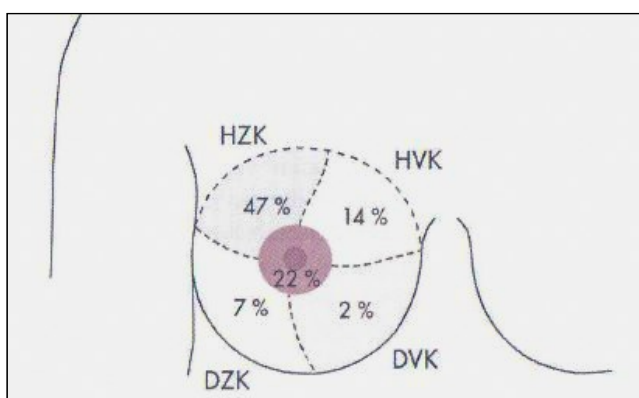
Vliv kouření, chemických kancerogenů a užívání hormonální antikoncepce na zvýšení rizika vzniku karcinomu prsu nebyl doložen.

Sběrem dat z celého světa a studiem významnosti různých rizikových faktorů byly sestaveny statistické modely, jejichž cílem je předpovědět míru rizika rozvoje karcinomu prsu. Statistické modely (př. Gailův či Clausové model), které vyhovovaly světové populaci však pro populaci České republiky nebyly vhodné, riziko spíše nadhodnocovaly. Z toho důvodu byl v roce 2005 vypracován Pecnův model predikce rizika karcinomu prsu. Vznikl na základě studia epidemiologických vlivů u více než 14000 žen a výstupem je hodnota pětiletého a celoživotního rizika rozvoje ZN prsu. Pro českou populaci byly jako validní rizikové faktory vybrán věk, index hmotnosti BMI, věk menarché, věk prvního porodu, počet těhotenství, počet příbuzných prvního stupně s karcinomem prsu, počet příbuzných prvního a druhého stupně s jakoukoliv malignitou, atypická duktální hyperplazie či zánět prsu v osobní anamnéze, počet biopsií v minulosti [37].

Převahu vlivu zevních rizikových faktorů podporují mnohé studie, které byly publikovány mezi roky 1975 a 2003, které srovnávaly incidenci nádorových onemocnění u bělochů dlouhodobě žijících ve Spojených státech amerických a imigrantů z asijského kontinentu. Ve studiích byli sledováni přistěhovalci z Japonska, Vietnamu, Koree, ze zemí Tichomoří a uprchlíci kmene Hmongů z Vietnamu, Laosu a Thajska. V rámci studií byla využita data z programu SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results), regionální registry v USA a registry dalších zemí. Závěry jednotlivých studií byly pozoruhodně shodné. Výsledky ukázaly, že u první generace imigrantů je incidence některých malignit prakticky identická, jako v jejich domovských zemích a další generace se incidencí přibližují čím dál více epidemiologickým datům Spojených států amerických. To platí především pro nádory závislé na dietních faktorech, jako karcinom kolorekta, a hormonálně dependentní nádory, jako je karcinom prsu, prostaty a ovarií [38, 39, 40, 41, 42]. Na druhou stranu, incidence nádorů, které souvisely s charakteristikami původního místažití se s každou další generací přistěhovalců snižovala. Snížila se incidence karcinomu žaludku (vysoký obsah soli a dusitanů ve stravě, *Helicobacter pylori*), karcinomů nasofaryngeálních (kancerogeny ovzduší), karcinomů slinných žláz (nedostatek vitamínu A) nebo karcinomů hepatálních (virová hepatitida B a C).

3.5 Diagnostika

Základem diagnostického procesu je pečlivé fyzikální vyšetření a osobní a rodinná anamnéza. Pohledem lze odhalit klasické klinické příznaky nádoru prsní žlázy, jako asymetrii prsů, změny kůže prsu či v oblasti bradavky. Palpací je třeba vyšetřit všechny kvadranty prsu a oblasti regionálních lymfatických uzlin axilárních, nadklíčkových i podklíčkových. Hodnotí se velikost rezistence, ohraničení, konzistence a pohyblivost vůči kůži a proti hrudní stěně. Téměř polovina zhoubných novotvarů se nachází v horním zevním kvadrantu prsní žlázy – **obr. 8** [14].



Obr.8: Četnost karcinomu v jednotlivých kvadrantech prsu [14]

3.5.1 Zobrazovací metody

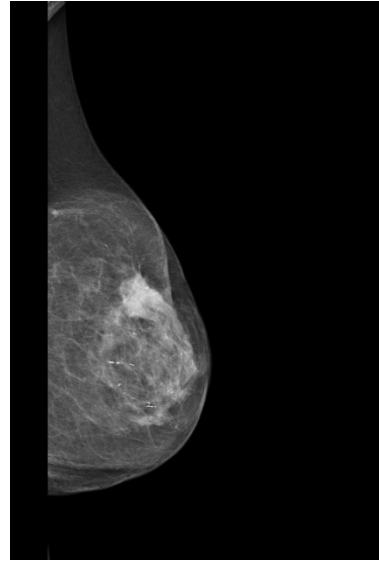
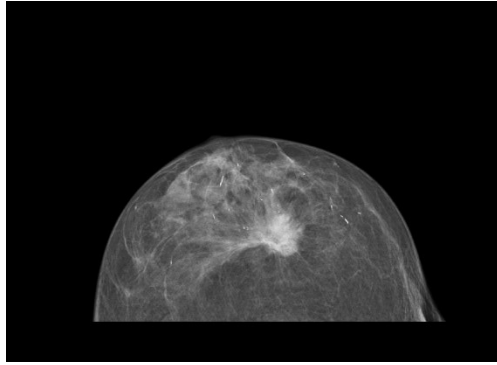
Využití zobrazovacích metod je v současné době nedílnou součástí diagnostiky zhoubných novotvarů prsu. **Mamografické vyšetření** má zcela zásadní postavení. Jedná se o měkké záření, které dokáže zobrazit tkáně s nízkým kontrastem. Karcinom prsu se na mamografickém snímku může ukázat jako hvězdovitý či oválný stín – **obr. 9**, nebo jako mikrokalcifikace. Výtěžnost mamografie v kombinaci s klinickým vyšetřením je 90 % [14]. Dalším využitím mamografie je vyšetření v rámci screeningu u žen bez klinických symptomů onemocnění a dále v rámci dispenzarizace u nemocných po adjuvantní léčbě karcinomu prsu, k časnému odhalení eventuální recidivy. U mladých žen a v případě žen s neredukující prsní žlázou, způsobuje větší množství vaziva a menší podíl tukové tkáně vyšší denzitu prsní tkáně a horší prostupnost pro měkké záření. Výsledný snímek je poté nepřehledný. Mamografie má u premenopauzálních žen celkově nízkou výtěžnost, proto je preferováno **vyšetření ultrasonografické**.

USG vyšetření má vysokou senzitivitu (kolem 95 %), ovšem poměrně nízkou specificitu, spolehlivě rozliší úvar solidní od cystického. Vyšetření představuje pro pacienta minimální zátěž. Za sonografické kontroly lze provést cílený odběr bioptického materiálu. V běžné praxi je USG využíván i u starších žen po involuci prsní žlázy, jako doplňkové vyšetření k mamografii. Provádí se nejen v oblasti prsu, ale také v oblasti axil a nadklíčků k posouzení stavu lymfatických uzlin. USG prsu má dále využití při hodnocení pooperačních změn a také v rámci dispenzarizace k včasné detekci relapsu onemocnění.

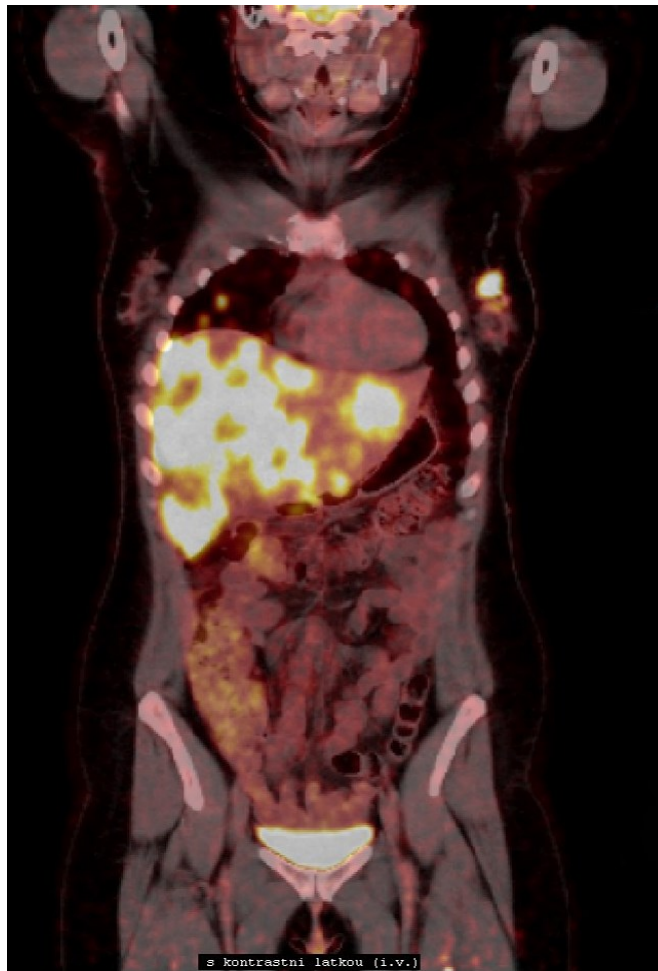
Počítačová tomografie (CT) je využívána především v rámci stážování k vyloučení přítomnosti ložisek metastáz a ke zhodnocení anatomických poměrů v okolí maligního nádoru, vztah k fascii *m. pectoralis*, atd. CT vyšetření se provádí po intravenózním podání jodové kontrastní látky. Vyšetření s podáním kontrastní látky má svá omezení. Především u nemocných s renální insuficiencí a alergií na jód či kontrastní látku by mělo být provedeno alternativní vyšetření. Dle závažnosti obtíží (stupně renální insuficience a projevů alergie) lze vyšetření provést po předchozí řádné premedikaci antihistaminiky a kortikosteroidy v případě alergie, a uroprotektivy v případě renální nedostatečnosti.

Vyšetření **magnetickou rezonancí (MRI)** je vysoce senzitivní, specificita je nízká. Je využívána k vyloučení multifokálních ložisek karcinomu při parciálních operacích, dobře zobrazuje patologickou neovaskularizaci tumoru. MRI prsu má jednoznačná indikační kritéria: předoperační stážování, zhodnocení efektu neoadjuvantní chemoterapie, dispenzarizace žen se známou *BRCA* pozitivitou, primum ignotum v případě nálezu metastatického postižení uzlin axily. MRI mozku se provádí k vyloučení přítomnosti mozkových metastáz při nově vzniklých symptomech neurodeficitu. Retrospektivní studie kolektivu Dr. Narayana na skupině 342 žen ve věku 25-40 let se zvýšeným rizikem vzniku ZN prsu (nosičky *BRCA* mutace, karcinom prsu u příbuzného 1.stupně), prokázala superioritu MRI proti mamografu. 90 % žen souboru mělo strukturu prsní tkáně výrazně heterogenní či hustou vazivovou. Pomocí MRI byly v celém souboru detekovány 4 invazivní karcinomy, přičemž mamografické vyšetření neodhalilo ani jeden [43]. **Pozitronová emisní tomografie (PET/CT)** je využívána k rozlišení nenádorové etiologie útvarů a k vyloučení metastáz ve vnitřních mamárních uzlinách, **obr.10**.

K vyloučení či zhodnocení stavu metastatického onemocnění se provádí RTG vyš. plic, USG břicha, scintigrafické vyšetření skeletu.



Obr.9: *Invazivní lobulární karcinomu na mamografickém snímku, (a) pohled shora, (b) boční*



Obr.10: *PET/CT snímek ženy s karcinomem levého prsu, generalizovaným mnohočetně do jater a plic*

3.5.2 Bioptické vyšetření

Bez provedení bioptického vyšetření vzorku z nádorové tkáně nelze jednoznačně stanovit diagnózu. Následné histologické vyšetření je základem správného stanovení diagnózy, léčebného postupu a alespoň hrubé prognózy onemocnění. Vzorek nádorové tkáně lze získat několika cestami. **Aspirací tenkou jehlou** (FNAB/FNAC) lze odebrat pouze menší množství materiálu k bioptickému či cytologickému vyšetření – **obr.11**. Diagnostický význam má v rozlišení cystického od solidního útvaru a zhodnotí jeho malignitu. Aspirace tenkou jehlou může mít také terapeutické využití, lze odsát absces či cystu.



Obr.11: Aspirace tenkou jehlou (FNA)
(zdroj:<http://www.americanmedicalcoding.com/cpt-code-fine-needle-aspiration/>)

Větší diagnostické využití má **core-cut biopsie** (CNB/CCB, true-cut biopsy), která se provádí cíleně pod sonografickou kontrolou. Při provedení CCB je získáno větší množství nádorové tkáně, ze které je možné stanovit komplexní imunohistologické vyšetření (přítomnost hormonálních receptorů, proliferační aktivitu, grade, *HER2/neu*). Indikací CCB je průkaz ohraničeného ložiska v prsní tkáni pomocí zobrazovacích vyšetření.

V případě nálezu neohraničeného ložiska s nejasnými konturami se pod kontrolou ultrazvukem provádí **vakuová biopsie**. Další možností je **stereotaktická vakuová biopsie**, nejčastěji využívaná při průkazu mikrokalcifikací, za kontroly mamografem.

U nehmavných lézí, detekovatelných pouze zobrazovacím vyšetřením, je možné přistoupit k provedení **otevřené chirurgické biopsie**. Pod USG kontrolou je do oblasti

patologického útvaru zaveden háček z tenkého drátku či aplikováno malé množství methylenové modři.

Biopsie sentinelové uzliny (SLNB) je v současné době již nedílnou součástí diagnostiky karcinomu prsu. Sentinelová, nebo také strážná uzlina, je nejprve označena za pomoci modrého barviva či radiofarmakem značeného koloidu, který byl aplikován do blízkosti ložiska tumoru – **obr.12**. Chirurg poté tuto uzlinu (či více uzlin) lokalizuje pomocí přístroje detekujícího radiofarmakum, či pohledem hledá uzliny s modrým barvivem, odstraní je a zašle k histologickému vyšetření. SNLB je většinou provedena v jedné době zároveň s odstraněním primárního tumoru. Pozitivní nález ve vyšetřené uzlině (uzlinách) je indikací k provedení axilární lymfadenektomie. Dle platných NCCN guidelines nejsou axilární uzliny odstraňovány při nálezu izolovaných nádorových buněk (ITC) ani mikrometastáz (Nmic). Jedinou absolutní kontraindikací SLNB je inflamatorní karcinom.



Obr.12: Zobrazení sentinelové lymfatické uzliny po podání radiofarmaka

3.5.3 Onkomarkery

Jako onkomarkery jsou označovány působky, které jsou produkovány organismem v reakci na přítomnost nádoru (nádorem indukované), nebo je vytvářejí buňky samotného nádoru (s nádorem asociované). Dle místa, kde se nacházejí, rozlišujeme onkomarkery humorální (v tělních tekutinách: krvi, moči, pleurální tekutině) a buněčné (v nádoru samém). Velká část nádorových markerů je produkována také normálními buňkami, plazmatická hladina těchto látek však není zvýšena tolik, jako v případě probíhajícího nádorového bujení, kdy jsou hodnoty nadfyziologické.

Nádorových markerů, jejichž plazmatická hladina je elevována v souvislosti s přítomností karcinomu prsu, bylo popsáno několik: CA 15-3, CA 549, BR 27.29 (CA27.29), karcinoembryonální antigen (CEA), tkáňový polypeptidový antigen (TPA), tkáňový polypeptidový specifický antigen (TPS) a HER-2 (extracelulární doména). Žádný z onkomarkerů nelze využít k detekci časného karcinomu prsu vzhledem k jejich nízké specifitě i senzitivitě [44]. Nicméně, bylo zjištěno, že vyšší hladina CA 15-3 a CEA předoperačně je negativním prognostickým faktorem [45]. Sledování hladiny onkomarkerů má v klinické praxi dva hlavní významy: monitorace v rámci dispenzarizace ke včasnému odhalení recidivy/generalizace onemocnění a ke sledování terapeutické odezvy při léčbě pokročilého onemocnění. Nejvýznamnějšími onkomarkery karcinomu prsu jsou CEA, CA 15-3 a TPA.

Karcinoembryonální antigen (CEA) je glykoprotein, který se normálně vyskytuje v embryonálních tkáních a patří mezi tzv. onkofetální antigeny. Může být přítomen také na membránách buněk některých nádorů (prsu, plic, GIT, prostaty), odkud je uvolňován do krevního oběhu. Vyšší hodnoty sérové hladiny CEA mohou být detekovány u kuřáků, pacientů s pankreatitidou, s jaterní cirhózou a zánětlivým střevním onemocněním. Glykoprotein **CA 15-3** je elevován u 30-40 % pokročilých karcinomů prsu. Mírnější elevaci lze sledovat také u karcinomů prostaty, plic, kolorekta, ovaria a cervixu. Koncentrace CA 15-3 je zvýšena i u benigních onemocnění prsu, z důvodu poškození jater a ledvin, u zánětů plic, u revmatického onemocnění a fyziologicky v těhotenství. Glykoprotein **CA 549** má vysokou senzitivitu, jeho hladina je zvýšena u více než 90 % případů metastatického karcinomu prsu [46]. **Tkáňový polypeptidový antigen (TPA)** je vytvářen v průběhu pozdní fáze S a G₂ buněčného cyklu, uvolňuje se hned po mitóze. TPA je

specifickým markerem proliferace, proto jeho zvýšenou plazmatickou hladinu detekujeme typicky u rychle proliferujících nádorů, jakými jsou leukémie, lymfomy, ale také u karcinomu prsu, plic, ovarií, varlat, pankreatu a ledvin.

Katepsin D je proteáza, jejíž hlavní funkcí je štěpit bílkoviny v lysozomech, spoluúčastní se také apoptotických a nekrotických procesů. Je regulován estrogenem a dalšími růstovými faktory. Zvýšená koncentrace v tkáni primárního nádoru prsu je spojena s vyšším rizikem recidivy onemocnění a metastazování.

3.6 Klasifikace

K základnímu dělení tumorů prsu podle histologického nálezu se používá **klasifikace Světové zdravotnické organizace (WHO) - příloha 3**. Tato klasifikace je pravidelně revidována a vychází z ní také další typy klasifikací.

Na základě histologického vyšetření patolog stanoví histologický typ nádoru, popíše velikost nádoru (T), stupeň diferenciaci buněk tumoru (grade) a další molekulární charakteristiky nádoru. Na základě imunohistochemického vyšetření stanoví míru exprese hormonální receptorů ER a PR, receptoru *HER-2/neu* a na podkladě podílu nádorových buněk exprimujících protein Ki-67 stanoví MIB1 index nádorových buněk. Při histologickém vyšetření také hodnotí stav lymfatických uzlin odebraných při resekci nádoru (N), hodnotí přítomnost invaze do krevních a lymfatických cév (lymfangioinvaze), a také případnou perineurální propagaci nádoru.

Ke stanovení stupně diferenciaci, tedy gradu, se v případě invazivních karcinomů prsu užívá hodnocení určitých patomorfologických znaků nádorových buněk. V roce 1991 přišli Elston a Ellis s návrhem modifikace původního Scarff-Bloom-Richardsonova skórovacího systému z roku 1957 [47]. Bloom-Richardson-Elstonův grading, nebo též **Nottinghamský systém klasifikace**, v bioptickém preparátu hodnotí tři histomorfologické znaky – tvorbu tubulů, pleomorfii jader nádorových buněk a jejich mitotickou aktivitu [48] – **tabulka 7**. Grade 1 odpovídá 3-5 bodům Nottinghamské klasifikace, grade 2 je 6-7 bodů dle skóre Elstona a Ellise a grade 3 je označen nádor s 8-9 body Nottinghamské stupnice.

Patomorfologické znaky	Body	
Tvorba acinů/tubulů	ve více než 75 % plochy nádoru	1
	v 10-75 % plochy nádoru	2
	méně než 10 % plochy nádoru	3
Pleomorfie jader	jádra malá, uniformní	1
	jádra zvětšená, vezikulární, s nukleoly	2
	jádra velká, vezikulární, s promínujícími, výrazně variabilními nukleoly	3
Mitotická aktivita	0-6 mitóz	1
	7-14 mitóz	2
	14 a více mitóz	3

Tabulka 7: histologický grading invazivních karcinomů prsu dle Elstona a Ellise (Nottinghamský systém) [14]

Klasifikačním systémem, který hodnotí rozsah nádorového postižení se nazývá **TNM klasifikace**. Popisuje velikost tumoru (T), míru postižení regionálních lymfatických uzlin (N) a přítomnost vzdálených metastáz (M) – **příloha 4**. Základy TNM klasifikace všech solidních nádorů, sestavil Pierre Denoix již mezi lety 1943 a 1952. Následně byla zdokonalena organizací Union for International Cancer Control (UICC) a stala se globálně uznávaným a užívaným standardem klasifikujícím rozsah nádorového šíření. Vychází z klinického a zobrazovacích vyšetření. Na základě TNM klasifikace je stanoveno stadium onemocnění (stage) – **tabulka 8**, které je jedním z významných prognostických faktorů a které má velký význam při terapeutické rozvaze. V případě diagnózy karcinomu prsu rozlišujeme kromě klinické TNM klasifikace (TNM nebo cTNM) také klasifikaci patologickou (pTNM), užívanou u všech nemocných s resekovaným nádorem.

Stadium	T	N	M
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IB	T0/T1	N1mi	M0
Stadium IIA	T0/T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Stadium IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IIIA	T0/T1/T2	N2	M0
	T3	N1/N2	M0
Stadium IIIB	T4	N0/N1/N2	M0
Stadium IIIC	Jakékoliv T	N3	M0
Stadium IV	Jakékoliv T	Jakékoliv N	M1

Tabulka 8: Rozdělení do jednotlivých stadií na základě TNM klasifikace

Novější typ klasifikace člení nádory prsu na základě **profilů jejich genové exprese**. S myšlenkou charakterizovat nádory ne na buněčné, ale na molekulární úrovni, přišel Charles Perou, který se svými kolegy demonstroval, že nádory prsu mohou být klasifikovány do přinejmenším 5 molekulárních subtypů. V roce 2000 publikoval časopis Nature jeho článek, ve kterém popsal rozdíly v genové expresi (přes 8100 genů) jednotlivých typů nádorů prsu [49]. Dokázal, že rozdíly ve fenotypu nádorů prsu pramení

z rozdílů v jejich genotypu. Ze všech více jak 8000 genů vybral 456 genů, jejichž exprese byla výrazně vyšší mezi různými typy nádorů a definoval celkem čtyři skupiny vzorků – estrogen pozitivní/luminální, bazaloidní, *Erb-B2* pozitivní a normální prsní tkáň. Jako jeden z hlavních výstupů této studie autor označil poznání, že nádor „estrogen negativní“ není jeden typ nádoru, ale ve skutečnosti minimálně dva rozdílné subtypy, a to bazaloidní a *Erb-B2* pozitivní, s rozdílnou prognózou, vyžadující tudíž jiný léčebný přístup.

Toto původní rozdělení dle Peroua bylo později upraveno a upřesněno na stávající čtyři molekulární typy, standardně využívané v klinické praxi. Luminální typ A definuje přítomnost ER a PR, bez overexprese *HER-2/neu*, vykazují nízkou proliferační aktivitu, mají nižší grade, nižší četnost recidiv. Jsou typické pro postmenopauzální nemocné, prognózu mají příznivou. Luminální typ B vykazuje pozitivitu ER, PR, *HER2/neu* může být negativní (luminal B HER2-) i pozitivní (luminal B HER2+). Tento typ vykazuje vyšší proliferační aktivitu a vyšší grade, častější recidivy. *HER-2/neu* pozitivní typ charakterizuje nepřítomnost ER a PR, zatímco *HER-2/neu* je pozitivní. Poslední bazaloidní typ (nebo také triple negativní) je charakterizován absencí hormonální receptorů ER i PR i absencí overexprese *HER-2/neu*. Tento typ nádoru má agresivnější průběh s častým zakládáním vzdálených metastáz, typicky do plic, jater a mozku. Vyskytuje se častěji u nosiček mutace *BRCA* a *TP53* a také u žen premenopauzálních, prognóza je nepříznivá.

V roce 2007 byl na základě následných studií genové exprese popsán ještě jeden typ nádoru prsu, claudin-low. Nádor je triple negativní a vykazuje nízkou expresi claudinu 3, 4, 7 a E-cadherinu a má vlastnosti blízké kmenovým buňkám.

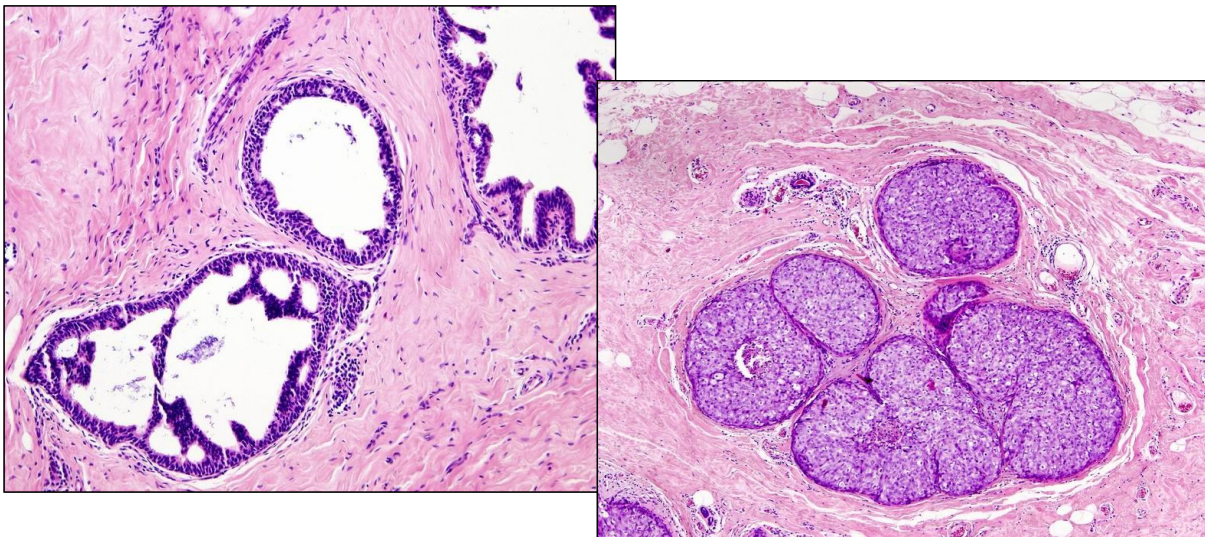
Terminologie molekulárních typů podle profilů genové exprese byla přijata na kongresu v St.Gallen v roce 2011 [50]. V roce 2013 na kongrese v St.Gallen [51] byla klasifikace dle profilů genové exprese zařazena do terapeutických a diagnostických doporučení a následovaly také všechny další mezinárodní guidelines – ASCO, ESMO i NCCN. Tato klasifikace založená na genomice nám pomáhá lépe chápat biologii nádorů prsu. Již se stala součástí běžné klinické praxe. Je využívána ke zlepšení stratifikace nemocných podle rizika onemocnění a odhaluje, proč některé nádory lépe a některé hůře reagují na standardní onkologickou léčbu.

3.7 Typy nádorů prsu

3.7.1 Neinvazivní formy karcinomu prsu

Z neinvazivních forem karcinomu prsu je nejčastější **duktální karcinom *in situ*** (DCIS) (8500/2). Vzniká proliferací transformovaných buněk epitelu duktů mléčné žlázy a neproniká přes bazální membránu – **obr.13** a **obr. 14**. Na mamografii může vytvářet obraz mikrokalcifikací. Vyskytuje se v různých histologických formách. Málo diferencovaný komedonový karcinom s četnými mitózami a vysokým maligním potenciálem, který často infiltruje přes bazální membránu a stane se karcinomem invazivním. Lépe diferencované formy DCIS jsou papilární nebo solidní karcinom. Riziko rekurence závisí na grade, rozsahu onemocnění a vzdálenosti od resekcčního okraje.

Závislost rizika rekurence onemocnění ve formě invazivního karcinomu na *HER2* pozitivitě primárního DCIS je diskutabilní. Ve švédské retrospektivní studii se 458 pacientkami s DCIS bylo prokázáno nižší riziko rekurence ve formě IDC u *HER2* pozitivních primárních DCIS ve srovnání s nádory, které nevykazovaly zvýšenou expresi *HER2* [52]. Na druhou stranu, jiné studie ukazují, že riziko rekurence v IDC je naopak vyšší u *HER2*-pozitivních DCIS [53].



Obr.13,14: Histologický obraz DCIS

Léčba DCIS spočívá převážně v zachovné chirurgické operaci, lumpektomii. Následné provedení pooperační radioterapie snižuje riziko rekurence o 15 %. Stále jsou hledány a zkoušeny nové metody léčby. Jednou z nich je kanylace postiženého ductu a lokální aplikace cytostatika, a to 4-6 týdnů před operačním zákrokem. Studie s instilací pegylovaného liposomálního doxorubicinu do ductu postiženého DCIS ukázala, že u 6 z 13 takto ošetřených žen došlo k poklesu hladin Ki-67 a naopak elevaci annexinu -1 a 8-hydroxydeoxyguanosinu. Biomarkery v tumoru prokázaly lokální odpověď na léčbu, která byla navíc velmi dobře tolerována bez závažných nežádoucích účinků [54].

Zvláštní formou DCIS je **Pagetův karcinom (8540/3)**, jehož nádorové buňky invadují z ductů do epidermis bradavky. Pagetův karcinom má typický klinický obraz, který charakterizují makroskopicky viditelné změny v oblasti areoly – **obr.15**. Tato forma karcinomu je velmi raritní a častěji se vyskytuje u žen po menopauze.



Obr.15: Pagetův karcinom bradavky

Lobulární karcinom *in situ* (LCIS) (8520/2) je méně častou formou neinvazivní proliferující léze. Charakterizuje jej proliferace malých buněk v četných mamárních lobulech, která způsobuje jejich dilataci. Typická je ztráta funkce E-cadherinu, v histologickém obraze jsou nádorové buňky málo soudržné, někdy až difúzně v nádorové tkáni. Často vzniká v prsu multicentricky a až v 20 % se vyskytuje také kontralaterálně. V 70-90 % vzniká u žen před menopauzou. LCIS není detekovatelný mamograficky. Necelých 30 % LCIS se rozvine do invazivní formy karcinomu, a to během 15-25 let.

3.7.2 Invazivní formy karcinomu prsu

Existuje mnoho různých forem invazivního karcinomu prsu, které se liší četností, výskytem a biologickým chováním.

Mikroinvazivní karcinom (MIBC) není histologickým typem karcinomu, specifikuje stadium progrese nádoru. Je tvořený převážně high-grade ductální *in situ* komponentou a jedním či více drobnými ložisky invazivně rostoucími do desmoplastického stromatu. Ložiska mikroinvaze jsou asociována se ztrátou periferní vrstvy myoepiteliálních buněk. To lze prokázat negativní imunoreakcí s calponinem, aktinem, antigenem CD10 a markerem p63. Nádorové bujení proniká bazální membránou nejvýše do vzdálenosti 2 mm. Riziko vzniku axilárních metastáz je u typického mikroinvazivního karcinomu minimální a léčba by měla být shodná s DCIS. Bylo prokázáno, že MIBC má výbornou prognózu bez ohledu na počet ložisek mikroinvaze či rozsah a biomarkery *in situ* komponenty [55].

Zhruba 10 % všech invazivních forem reprezentuje **invazivní lobulární karcinom** (ILC) (8520/3). Tento typ nádoru je, ve srovnání s IDC, častěji diagnostikován u starších žen, v pokročilejším stadiu, bývají postižené axilární uzliny, nádory mívají větší velikost, vykazují pozitivitu ER/PR, a naopak mívají nízkou expresi *HER2*, *TP53* a *EGFR* [56]. Bylo také prokázáno, že ILC se častěji, než IDC vyskytuje také v kontralaterálním prsu (21 % vs. 11 %) a častěji zakládá metastázy v ovariích a gastrointestinálním traktu [57].

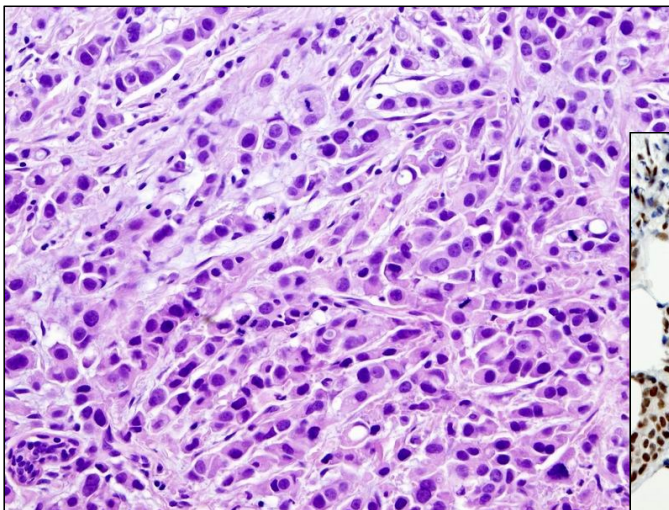
Pro ILC je typická ztráta exprese E-cadherinu. Jedná se o protein, který je kódován genem *CDH1*, lokalizovaném na chromozomu 16q22. E-cadherin je adhezní molekula, která má zásadní roli v epiteliální diferenciaci a jejíž hlavní funkcí je udržet integritu tkáně a regulovat proliferaci buněk [58]. V histologickém obraze dominuje obraz malých uniformních nekohezivních buněk, které vytváří charakteristické trabekulární struktury a jednobuněčné pruhy (tzv. „indian file pattern“) v desmoplastickém stromatu – **obr. 16, 17**.

Významným rizikovým faktorem pro vznik ILC je užívání hormonální substituční terapie (HST) u postmenopauzálních žen. Četné observační studie prokázaly signifikantní vzestup výskytu ILC u žen s hormonální substituční léčbou, přičemž vzestup incidence IDC byl výrazně nižší [59].

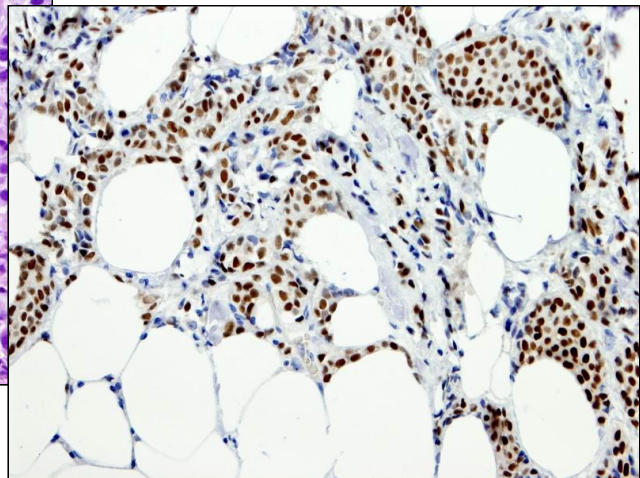
Co se diagnostiky týče, vyšší senzitivitu než mamografie, vykazuje u ILC magnetická rezonance. Může to být dáno méně častou přítomností mikrokalifikací [60]. Tento typ nádoru se zpravidla manifestuje jako špatně ohraničená masa nádoru, což ztěžuje také palpační vyšetření.

ILC je často považováno za onemocnění chemorezistentní. Německá retrospektivní studie kolektivu Dr.Loibla sledovala počet dosažených kompletních patologických remisí (pCR) u žen s invazivním karcinomem prsu, léčených neoadjuvantní chemoterapií kombinací antracyklinu a taxanu. Do studie bylo zahrnuto přes 1000 nemocných s diagnózou ILC. Počet dosažených pCR byl výrazně nižší v případě ILC (6,2 %) proti nemocným s IDC (17,4 %), přičemž častěji bylo dosaženo pCR u ILC s vyšším gradem a negativním ER [61].

Onemocnění ILC je senzitivnější k hormonální léčbě než k chemoterapii. Podle mnoha klinických studií lze delší hormonální léčbou v neoadjuvanci dosáhnout u postmenopauzálních žen s estrogen-pozitivním ILC významného down-sizingu nádoru i postižení axilárních uzlin a docílit lepší operability nádoru. Léčba chemoterapií měla být podána preferenčně pacientkám s postižením minimálně 4 axilárních uzlin, s nádorem grade 3, bez přítomnosti estrogenních receptorů [62].



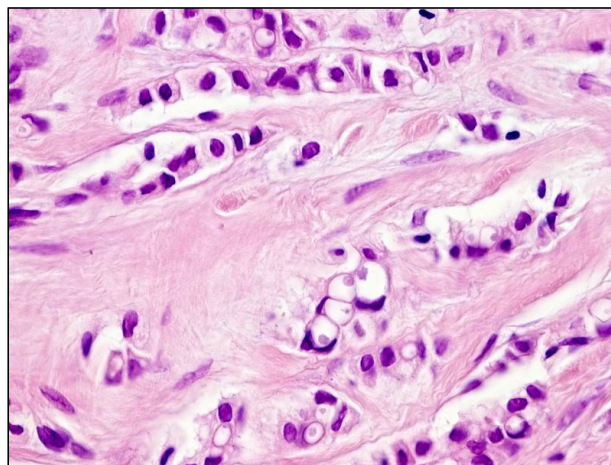
Obr.16: ILC high-grade, pleomorfní typ



Obr.17: Pozitivita estrogení receptorů v ILC

Kromě klasické formy se ILC vyskytuje také ve formě solidní, alveolární, pleomorfní a tubulo-lobulární. Smíšený typ má fokálně vzhled duktálního invazivního a fokálně invazivního lobulárního karcinomu.

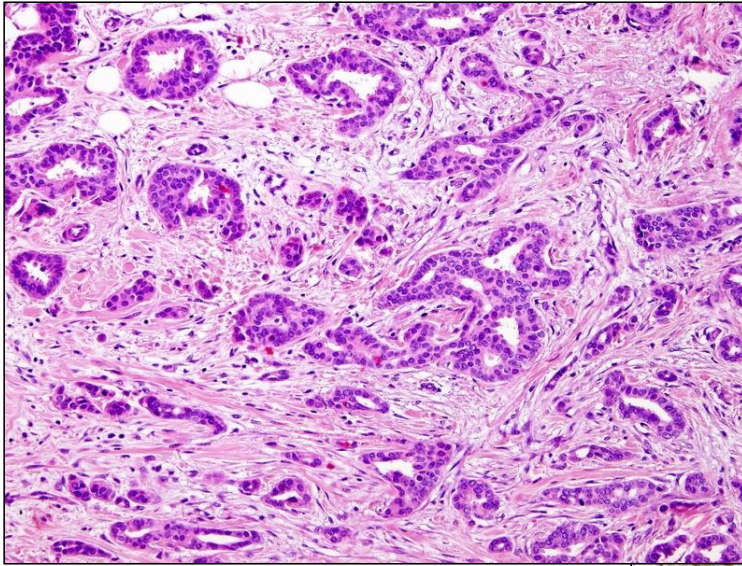
Buňky solidní a alveolární formy ILC jsou polymorfní, mají vyšší proliferační aktivitu a mohou v cytoplazmě obsahovat vakuolu (*signet ring cells*), **obr.18**. Pleomorfní ILC může vykazovat apokrinní nebo histiocytární diferenciaci buněk.



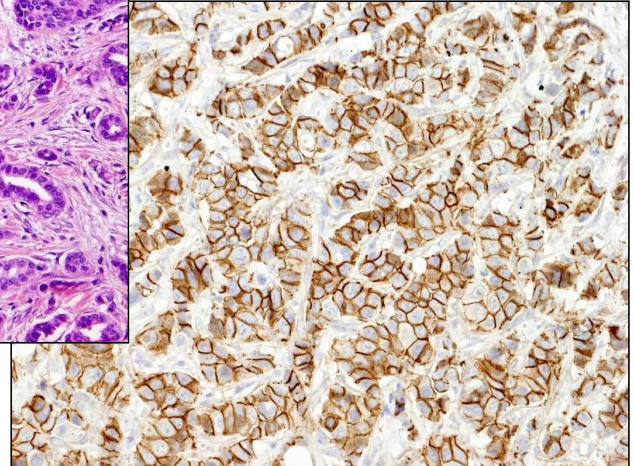
Obr.18: Buňky tvaru pečetiho prstenu (*signet ring cells*) v ILC

Nejčastějším typem invazivního karcinomu prsu je forma **invazivní duktální** (IDC) (8500/3). Představuje 75 % všech karcinomů prsu. Má velmi variabilní histologický obraz. Růst může být tubulární, trabekulární, kribriformní či glandulární. Stroma může být desmoplastické, mohou se v něm nacházet ložiska elastozy či hyalinizace a stroma může vykazovat přítomnost lymfoidní nebo lymfoplasmocytární infiltrace, **obr.19-21**. Perineurální propagace naznačuje agresivnější chování nádoru, **obr. 22**. Na první pohled může růstem někdy připomínat klasický lobulární karcinom, s jednobuněčnými pruhy ve stromatu.

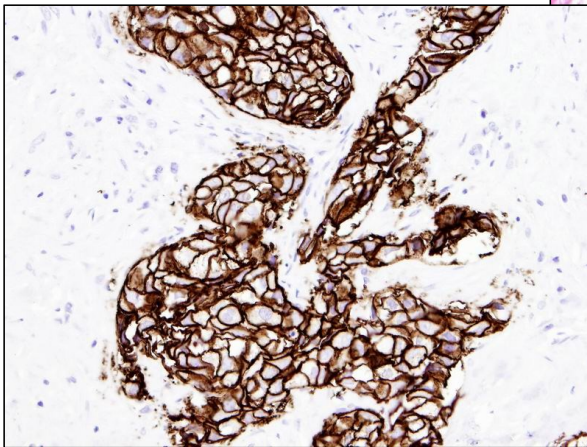
High-grade variantou, tvořenou buňkami s vysokou proliferační aktivitou a přítomnou nekrózou, je pleomorfní IDC. Prognóza u tohoto typu nádoru je nepříznivá. Pro IDC s vícejadernými buňkami typu osteoklastů je typická hypervaskularizace, extravazace erytrocytů, zánětlivý infiltrát a vícejaderné buňky vykazující pozitivitu CD68+ a negativitu aktinu, cytokeratinu a S-100 proteinu. Velmi vzácnou variantou je IDC s rysy choriokarcinomu, v němž přítomné vícejaderné buňky vykazují pozitivitu hCG.



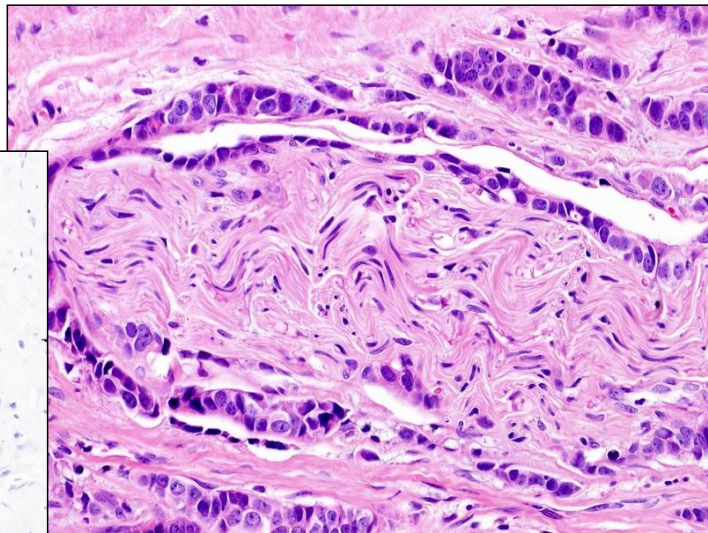
Obr.19: IDC, grade 1



Obr.20: IDC, grade 2, pozitivita E-cadherinu imunohistochemický průkaz



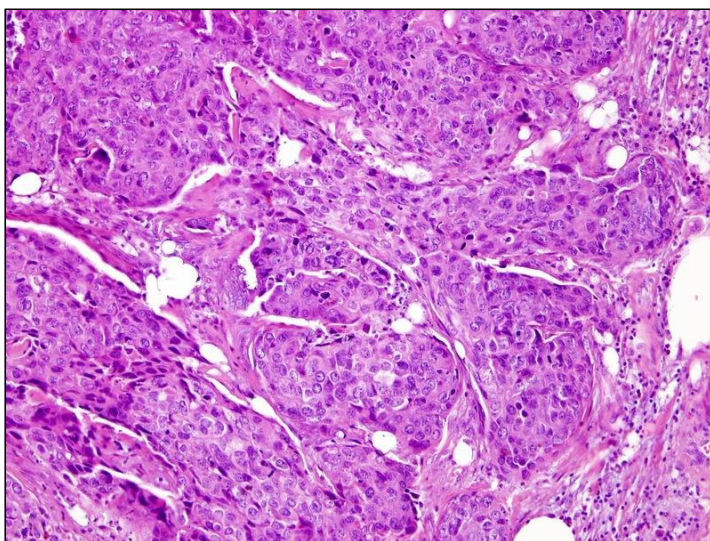
Obr.21: HER2 pozitivní IDC, imunohistochemický průkaz



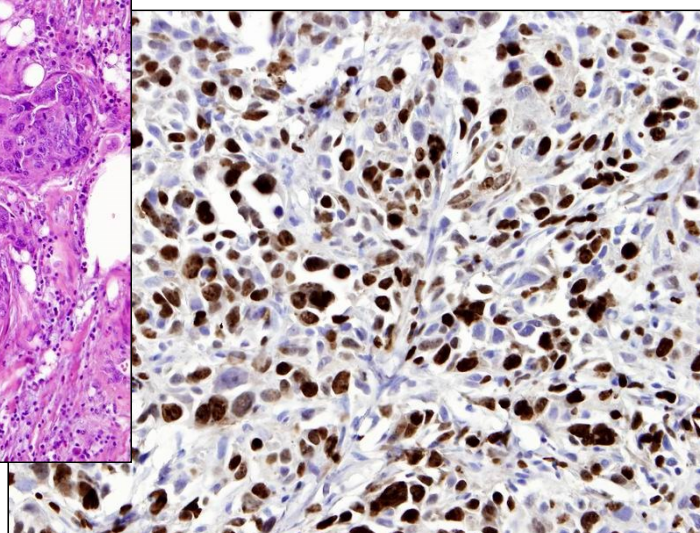
Obr.22: Perineurální propagace v IDC, grade 2

Specifickým a prognosticky významným typem IDC je tzv. **basal-like karcinom**. Karcinomy s fenotypem bazálních buněk, mají typicky high-grade morfolologii a mají agresivní klinický průběh. Velmi často vykazují triple-negativní fenotyp, daný absencí hormonálních receptorů i *HER-2/neu*. Bazaloidní karcinom byl jako jednotka nejdříve definován genovým expresním profilem, převratným objevem Peroua a jeho týmu. Později byly popsány hlavní morfologické a imunohistochemické charakteristiky [63]. Jde o karcinom s četnými mitózami, ložisky geografických nekrot, s hojným lymfoidním infiltrátem ve stromatu a vysokou proliferační aktivitou, **obr.23**. Prognóza basal-like karcinomu není příznivá [64].

V imunoprofilu bazaloidního karcinomu dominuje exprese vysokomolekulárních cytokeratinů bazálních buněk, především cytokeratinů CK 5/6 a CK 14, **obr.24**. Nádorové buňky exprimují i další markery bazaloidních/myoepiteliálních buněk, především p63 protein, vimentin, a EGFR (epidermal growth factor receptor). Bazaloidní karcinom se vyskytuje častěji u mladých, premenopauzálních žen a je často asociován s mutací genu *BRCA 1* [65].



Obr.23: Basal-like karcinom



Obr.24: Basal-like karcinom, grade 3, silná pozitivita Ki-67 imunohistochemicky

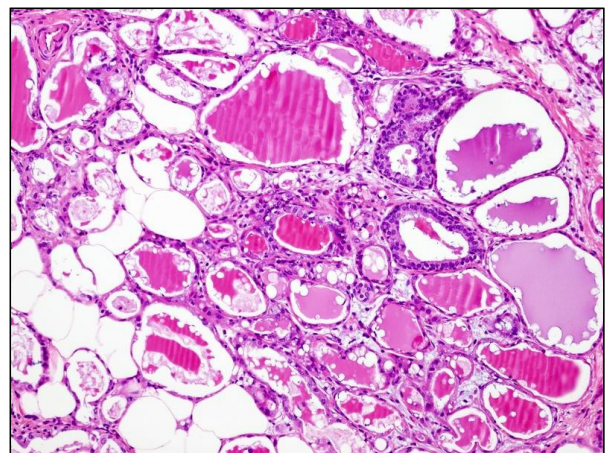
Mezi méně časté typy invazivního karcinomu prsu patří **tubulární karcinom (8211/3)**. Představuje kolem 5 % všech ZN prsu a má zpravidla příznivou prognózu. Histologicky je tvořen tubulárními strukturami, které jsou tvořené jednou řadou buněk bez výrazné polymorfie, s nízkou proliferační aktivitou [66].

Medulární karcinom (8510/3) reprezentuje 0,4-0,5 % karcinomů prsu [67]. Jedná se o dobře ohraničený nádor tvořený špatně diferencovanými buňkami, které proliferují v solidních ložiscích, a masivní lymfocytární infiltrací stromatu. Charakteristická je absence tubulárních a žlázových struktur, zpravidla neexprimuje hormonální receptory ER/PR. Medulární karcinom se často vyskytuje u nosiček mutace *BRCA 1*. Prognóza tohoto nádoru je lepší než konvenčního IDC.

Ještě vzácnější je **mucinózní (gelatinózní) karcinom (8480/3)**, tvoří 3 % všech nádorů prsu. Charakterizuje jej produkce a akumulace extracelulárního mucinu. Buňky jsou uniformní, mají minimální proliferační aktivitu a vždy exprimují hormonální receptory ER a PR. Nádor se vyznačuje pomalým růstem a může dosahovat značné velikosti. Čistý mucinózní karcinom bez duktální komponenty má velmi příznivou prognózu. Desetileté přežití dosahuje 90 % pacientů, dvaceti let od stanovení diagnózy se dožije 80 % nemocných [68].

Sekreční karcinom (8502/3), dříve také nazývaný **juvenilní**, byl nejdříve popsán u dětí a mladých dívek. Vyskytuje se však i u dospělé populace, převážně nižšího věku. Jedná se o vzácný, nízké maligní nádor s velmi dobrou prognózou.

Histologický obraz je tvořen solidní strukturou z eosinofilních buněk s pěnitou plasmou, tubulární komponentou s hojným sekrečním materiálem v luminech a mikrocystickou komponentou tvořenou buňkami s intracytoplasmatickými vakuolami až vzhledu pěnitých buněk, **obr.25**.



Obr.25: Sekreční karcinom: tubulární struktury s hojným sekrečním materiálem

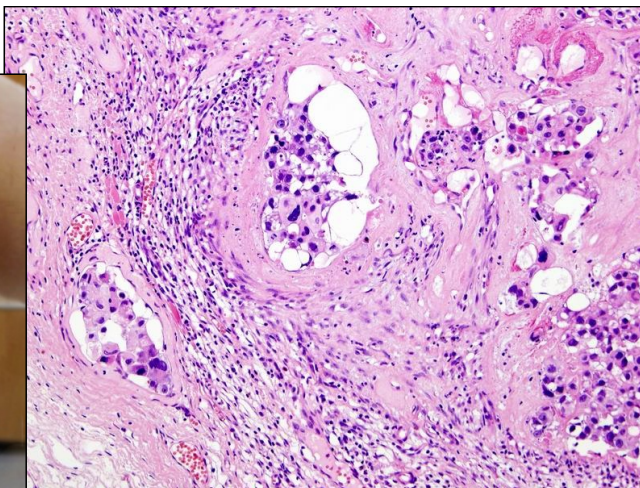
Specifický klinický obraz má **inflamatorní karcinom** (8530/3). Jedná se velmi vzácnou (1-3 %), avšak o to agresivnější formu invazivního karcinomu prsu. Růst je velmi rychlý a charakteristický. Nádor infiltruje celý prs, způsobuje mapovitý edém a erytém až difúzní erysipeloidní změny kůže, **obr.26**. Indurace prsu je bolestivá, má vzhled pomerančové kůže (*peau d'orange*), který je způsoben dilatací lymfatických cév kůže vyplněných nádorovými tromboemboly, **obr.27**. Inflamatorní karcinom zakládá časně metastázy, postižení axilárních či supraklavikulárních lymfatických uzlin je přítomno až u 85 % nemocných, přestože primární tumor nemusí být hmatný [69]. Až u 50 % nemocných vznikne nádor také kontralaterálně. Růst je neohrazený, proto je obtížné nádor radiologicky či makroskopicky lokalizovat. Může přesahovat prs a zasahovat rozsáhlé partie hrudníku.

Histologicky se jedná o high-grade karcinom hormonálně nezávislý. Přítomnost overexprese *HER-2/neu* je variabilní, bývá přítomna mutace genu *TP53*.

Termínem sekundární inflamatorní karcinom se označují zánětlivé změny v místě recidivy karcinomu, který původně inflamatorní rysy neměl. Jako okultní inflamatorní karcinom se označuje nález četných nádorových trombů v dermálních lymfatických při absenci klinického postižení kůže. Prognóza inflamatorního karcinomu je velmi nepříznivá i v případě zdánlivě dobré klinické odpovědi na léčbu.



Obr.26: Typický obraz inflamatorního karcinomu prsu



Obr.27: Inflamatorní karcinom, nádorové emboly v lymfatických cévách

3.8 Histopatologické znaky

Vyšetření histopatologických znaků se provádí u každého novotvaru prsu. V případě histologického průkazu invazivní formy karcinomu má vyšetření biomarkerů zcela zásadní význam při stanovení léčebného postupu a prognózy onemocnění.

Vyšetření exprese **hormonální receptorů** (ER, PR) se provádí imunohistochemicky. Metoda stanovení pomocí ELISA je obsolentní a již se nepoužívá. Fyziologicky se ER i PR vyskytují ve stejných lokalizacích a řadí se mezi intracelulární, jaderné receptory. Navázáním ligandu (estrogeny či gestageny) dojde k dimerizaci receptoru, translokaci do jádra, navázání na DNA a transkripci cílových genů, které regulují buněčné dělení, angiogenezi, aktivitu proteáz či inhibici apoptózy [70]. Udává se, že kolem 75 % karcinomů prsu exprimuje estrogení receptory, 65 % z toho zároveň exprimuje i progesteronové receptory. Nádory, které jsou PR pozitivní, ale ER negativní nejsou časté, představují asi 5 % všech karcinomů.

Expresí onkogenu **HER-2/neu** (také *erbB-2*, *CD340*) se dnes již standardně stanovuje u všech diagnostikovaných karcinomů prsu. Provádí se imunohistochemickým vyšetřením či metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) v referenční laboratoři. Za negativní výsledek se považuje závěr imunohistochemického vyšetření 0 a 1+, nebo stanovení méně než 4 kopií genu na jádro pomocí FISH, nebo FISH poměr (poměr počtu *HER2* genových signálů proti signálům z chromozomu 17) menší než 1,8. Pozitivita *HER2* je definována při imunohistochemickém barvení na 3+, u metody FISH je pozitivní výsledek při více než šesti *HER2* genových kopiích na jádro, nebo FISH poměr větší než 2,2. Ostatní výsledky jsou považovány za hraniční a vyšetření by měla být opakována.

HER2 patří do rodiny transmembránových receptorů pro epidermální růstové faktory (EGFR), stejně jako *HER1*, *HER3* a *HER4*. Receptor se skládá z extra- a intracelulární tyrosinkinázové domény. Navázáním ligandu na extracelulární část, overexpresí či mutací genu dojde k dimerizaci receptorů *HER*, vedoucí k aktivaci intracelulární domény. Tím je spuštěna transdukční receptorová kaskáda, na jejímž konci dojde cestou PI3-K, Akt, STAT nebo cestou Ras/Raf MAPK ke stimulaci proliferačních a antiapoptotických dějů. Gen pro *HER2* receptor je lokalizován na chromozomu 17q21 a v České republice je amplifikován u 10-20 % všech invazivních karcinomů [71].

Antigen Ki-67 je jaderný protein, který je exprimován buňkami, které se nacházejí ve fázích G1, S, G2 či M buněčného cyklu. Není detekovatelný v buňkách ve fázi G0. Slouží především jako marker proliferační aktivity buněk. Procento Ki-67 pozitivních buněk z celkového počtu hodnocených buněk se nazývá MIB1 index. Přítomnost antigenu Ki-67 se stanovuje imunohistochemicky pomocí myší monoklonální protilátky Ki-67 z formalínem fixovaných, parafínem zalitých tkáňových bločků (FFPE).

Z bioptického vzorku nádorové tkáně, barveném hematoxylin-eosinem, se stanovuje také **mitotický index**. Patolog hodnotí počet mitóz v deseti mikroskopických polích při 40násobném zvětšení. Vyšší mitotická aktivita nádoru přináší horší prognózu danou jak kratší dobou do progresu, tak kratším celkovým přežitím.

3.9 Prognostické a prediktivní markery

V průběhu mnoha desítek let studia chování nádorů prsu bylo popsáno stejně tak mnoho desítek, možná stovek faktorů, které ovlivňují prognózu tohoto onemocnění. Není žádným překvapením, že se seznam prognostických faktorů u karcinomu prsu se stále se prohlubujícími poznatky o tomto onemocnění stále rozšiřuje, upravuje a nadále také rozšiřovat bude.

Jako jeden z nejvýznamnějších prognostických faktorů, bylo vždy považováno **klinické stadium**, ve kterém se podaří karcinom diagnostikovat. Byl prokázán vztah mezi stadiem onemocnění a délkou celkového přežití.

Význam klinického stadia a jeho vliv na prognózu byl ověřen v mnoha studiích. Na počátku roku 2013 vyšel v časopise *The Breast Journal* článek, ve kterém Ferguson prezentoval studii s 628 pacienty bílé rasy s invazivním karcinomem prsu, u nichž sledoval prognostický význam molekulárních podtypů karcinomu prsu, indexu proliferace Ki-67, věku a klasických patologických charakteristik tumoru, jako stav ER/PR/HER2, grade a stadium. A právě stadium a **věk** ovlivňoval prognózu onemocnění nejvíce. Zjistili, že stadium IIB až IV zvyšuje riziko úmrtí na karcinom prsu 2-16ti násobně a s každým rokem života se riziko zvyšuje o 5 % [72].

Dalším z prognostických faktorů je **postižení lymfatických uzlin**. Především postižení 3 a víc uzlin svědčí o časně diseminaci, která může být dána větší agresivitou primárního nádoru.

Velikost nádoru nad 5 cm a jeho **fixace k okolí** naznačuje agresivnější chování a větší pravděpodobnost postižení regionálních uzlin.

Nepříznivým prognostickým faktorem je absence **hormonálních receptorů** a zvýšená **amplifikace HER-2/neu** v nádorových buňkách. Hormonálně nezávislé karcinomy prsu mívají zpravidla vyšší proliferační aktivitu.

Jistý odhad prognózy umožňuje také **histologický typ nádoru**. Je známo, že horší průběh mají karcinomy inflamatorní a bazaloidní. Mezi prognosticky příznivější typy se řadí karcinom lobulární, medulární, papilární a karcinomy *in situ*.

Nepříznivou prognózu lze očekávat u karcinomů s nižším **stupněm diferenciaci**, **aneuploidií DNA**, průkazem **angioinvaze**, **perineurální propagace** a **nekrózy** a s mutací **genu TP53**.

Zvýšená koncentrace **katepsinu D** ve tkáni primárního nádoru prsu je spojena s vyšším rizikem recidivy onemocnění a metastazování. Byla prokázána zvýšená koncentrace katepsinu D v adipocytech obézních lidí a myší [73], což může vysvětlovat, proč je obezita jedním z rizikových faktorů pro vznik karcinomu prsu. **TPA** je zase spojena s vyšší proliferační aktivitou.

Urokinázový aktivátor plazminogenu (uPA) je proteáza, která přeměňuje plazminogen na aktivní plazmin, a ten rozpouští komponenty extracelulární matrix jako fibrin, fibronectin a laminin [74]. uPA může být inhibován několika mechanismy, tím hlavním je **inhibitor plazminogenového aktivátoru 1** (PAI-1). Prostřednictvím vazby na fibronectin může PAI-1 regulovat buněčnou adhezi a migraci [75]. Oba proteiny, uPA i PAI-1, se podílejí na invazivitě nádoru a účastní se procesu metastazování. uPA se na těchto procesech podílí stimulací angiogeneze, migrace buněk a jejich adheze a inhibuje apoptózu. PAI-1 je schopen modulovat buněčnou adhezi a stimulovat buněčnou proliferaci a angiogenezi [76]. Stanovení hladiny uPA a PAI-1 se dostalo do doporučení ASCO jako prognostický faktor u nemocných bez postižení lymfatických uzlin. U karcinomů s vysokou hladinou uPA a PAI-1 je doporučena léčba chemoterapií.

Jedním z novějších prostředků, který může pomoci odhadnout prognózu karcinomu prsu, jsou **multigenové testy** (MGA, multigene assay). Na základě klastrových analýz profilů genové exprese charakterizují nádorové onemocnění na molekulární úrovni a stratifikují pacienty podle míry rizika relapsu [7]. Genová exprese je dána počtem transkripcí řetězce DNA do mediátorové RNA a proteinů, které jsou jimi kódovány. Jednotlivé multigenové testy se liší technologií vyšetření, mají různá indikační kritéria, různou škálu testovaných genů a také různou prediktivní a prognostickou hodnotu [77].

Ze široké nabídky genových testů jsou nejvíce používány dva z nich – MammaPrint (Agendia) a Oncotype DX (Genomic Health), oba jsou zahrnuty do mezinárodních doporučení – **tabulka 9**. Dle platných mezinárodních guidelines je test Oncotype DX indikován u nemocných s časným, ER pozitivním invazivním karcinomem prsu bez overexprese *HER-2/neu*, bez postižení lymfatických uzlin, nanejvýš s histologicky potvrzenou přítomností mikrometastázy.

Analýza genové exprese se provádí pomocí metody kvantitativní polymerázové řetězové reakce spojené s reverzní transkripcí (RT-PCR). Ze vzorku nádorové tkáně

z parafinového bloku fixovaného ve formalínu (FFPE) je extrahována RNA a změřeno její množství. Pomocí reverzní transkriptázy je mRNA převedena na cDNA, na které je provedena PCR. V průběhu amplifikace je měřeno množství RT-PCR produktu.

Z celkem 250 kandidátních genů, které by mohly souviset s biologickým chováním karcinomu prsu [78] a které byly v rámci tří nezávislých klinických studií analyzovány u téměř 450 pacientek, bylo následně vybráno celkem 21 genů, které silně korelovaly s dobou do vzdálené rekurence (DRFS – distant recurrence-free survival) [79]. Konkrétně se jedná o 16 genů, které jsou s nádorem asociovány (*Ki67*, *STK15*, *Survivin*, *CCNB1*, *MYBL2*, *MMP11*, *CTSL2*, *HER2*, *GRB7*, *GSTM1*, *CD68*, *BAG1*, *ER*, *PGR*, *BCL2*, *SCUBE2*) a 5 genů referenčních. V konečném souboru užívaném při testování Oncotype DX, jsou zastoupeny jak geny s negativním prognostickým vlivem spojené s invazivitou nádoru, tak geny s pozitivním prognostickým významem, a geny predikující odpověď na léčbu chemoterapií.

Z výsledku exprese 16 předepsaných genů, je podle určitého algoritmu spočtena hodnota Recurrence Score (RS), nabývá hodnoty 0 až 100. Na základě validačních studií byly dle hodnoty RS stanoveny tři skupiny nemocných: nízké riziková (RS < 18) s převahou přítomnosti genů s pozitivním prognostickým významem, skupina středně riziková (RS 18–30) a vysoce riziková (RS > 30). Vyšší hodnota Recurrence Score znamená pro pacienta vyšší riziko recidivy onemocnění v průběhu prvních 10 let od stanovení diagnózy a vyšší šanci, že bude profitovat z podání adjuvantní chemoterapie. Firma Genomic Health je držitelem ochranné známky Recurrence Score a její hodnoty zvalidovala na mnoha klinických studiích s téměř 6000 pacienty [80-86]. Test Oncotype DX má druhý nejvyšší stupeň klinické evidence dle Evidence Based Medicine [87, 88].

Multigenový test MammaPrint měří v nádorovém vzorku expresi 70 genů podílejících se na regulaci proliferace, metastazování a angiogenezi. Byl navržen tak, aby odlišil nemocné s vysokým rizikem vzniku metastáz během prvních pěti let od stanovení diagnózy, od nemocných s nízkým rizikem. Nemocné s výsledkem nepříznivější prognózy mají téměř 30 % šanci, že bez adjuvantní léčby by u nich došlo během prvních deseti let k relapsu onemocnění. U nemocných s výsledkem nízkého rizika mají 10% šanci návratu onemocnění během deseti let.

	Oncotype DX	MammaPrint	Rotterdam Score	PAM50	Mammostrat	IHC4	EP Clin
ASCO 2007	ANO	Ne	Ne	ne	Ne	ne	ne
NICE 2013	ANO	Ne	Ne	ne	Ne	ne	ne
AGO 2013	ANO	Ne	Ne	ne	Ne	ne	ANO
Netherlands 2013	ANO	ANO	ANO	ne	Ne	ne	ne
NCCN 2015	ANO	ne	Ne	ne	Ne	ne	ne
St.Gallen 2015	ANO	ANO/ne	Ne	ANO /ne	Ne	ne	ANO
ESMO 2015	ANO	ANO	Ne	ANO	Ne	ne	ANO

Tabulka 9: Doporučení genomových testů v mezinárodních guidelines [7]

Prediktivní faktory, které odhadují míru léčebné odpovědi, se částečně překrývají s prognostickými faktory. Klasickými a dlouho známými prediktory možného efektu hormonální terapie je přítomnost **hormonálních receptorů** v nádorových buňkách. Zvýšená exprese transmembránového protoonkogenu **HER-2/neu** na jednu stranu přináší možnost ovlivnit průběh onemocnění zařazením do léčebného schématu cílenou léčbu podáváním monoklonální protilátky proti extracelulární části receptoru (trastuzumab, pertuzumab aj.), na druhou stranu znamená horší odpověď na léčbu adjuvantní chemoterapií. Jistou hodnotu predikce odpovědi na hormonální léčbu a toleranci chemoterapie má také **věk pacientky** a její **ovariální funkce**. Nižší citlivost k hormonální léčbě je pozorována u premenopauzálních a perimenopauzálních žen, u kterých přetrvává sekrece estrogenů.

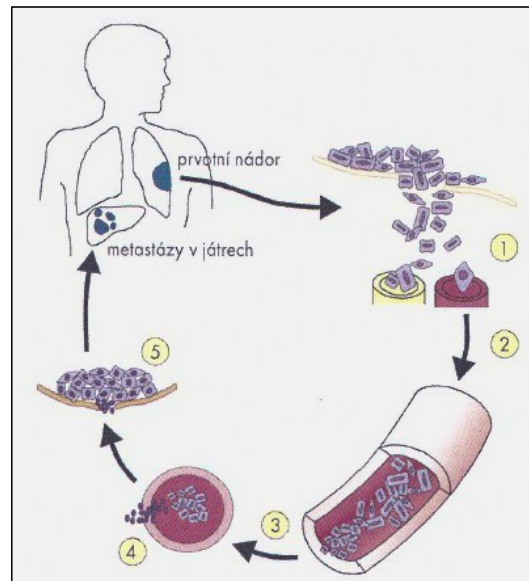
Prediktivní význam multigenového testu Oncotype DX byl již zmíněn. Za základě výsledného Recurrence Score odhaduje míru benefitu z přidání adjuvantní chemoterapie u nemocných s časným, hormonálně dependentním, **HER-2/neu** negativním karcinomem prsu.

3.10 Biologické chování

Diagnostická jednotka karcinom prsu je rozmanitá skupina onemocnění s variabilním klinickým obrazem, histopatologickými rysy, imunoprofilem, biologickým chováním, mírou odpovědi na léčbu, průběhem i prognózou. Biologické chování konkrétního onemocnění závisí na několika faktorech. Především záleží na histologickém typu onemocnění, stupni diferenciaci a proliferační aktivitě nádorových buněk a expresi biomarkerů, jakými jsou hormonální receptory, onkogen *HER-2/neu*, a jiné. Některé typy nádorů prsu rostou infiltrativně a šíří se lokoregionálně jako inflamatorní karcinom. Jiné se šíří lymfogenně a invadují mízní uzliny maligními buňkami nebo jsou schopné se hematogenní cestou dostat i do vzdálenějších částí organismu a založit zde sekundární ložiska. Typickými predilekčními lokalitami metastáz karcinomu prsu jsou plíce, játra, mozek a kosti.

Rychlost růstu je variabilní. Některé nádory rostou velmi pomalu a mohou dosahovat značných rozměrů, jiné rostou rychle a agresivně a prvním příznakem onemocnění mohou být symptomy způsobené přítomností vzdálených metastáz.

Metastazování je složitý vícestupňový proces, na jehož průběhu se podílí celá řada enzymů, růstových faktorů a dalších působků. Zjednodušené schéma procesu metastazování ukazuje **obr. 28**. Problematikou procesu metastazování se zabývalo mnoho vědců a výzkumných kolektivů, přesto ještě zbývá mnoho nezodpovězených otázek a tento proces zatím není zcela pochopen [89]. Označuje se jako metastatická kaskáda, která probíhá ve čtyřech etapách, a je důsledkem narušení křehké rovnováhy mezi aktivačními a inhibičními faktory.



Obr.28: Proces metastazování [14]

Průnik nádorových buněk přes bazální membránu, tedy **invaze nádoru do okolí**, je prvním krokem celého procesu. Prostřednictvím buněčných receptorů pro laminin a integriny dojde k adhezi buněk k membráně. E-cadherin reguluje vzájemnou soudržnost buněk. Dalším krokem je uvolnění proteolytických enzymů buňkami nádoru (metalo-, serin- a cysteinproteázy) a narušení integrity bazální membrány. Katepsin D patří mezi cysteinproteázy a u ZN prsu slouží jako jeden z prognostických faktorů. Uvnitř rostoucího nádoru se zvyšuje hydrostatický tlak, který se po rozrušení bazální membrány stane hnacím motorem pro nádorové buňky. Umožní jak průnik skrz membránu, tak průnik do lymfatických a krevních cév.

Druhou etapou je **transport maligních buněk** mizními a krevními cévami. Přítomnost buněk nádoru v lymfatické uzlině vyvolá imunitní reakci, což způsobí její zvětšení. V krevních cestách dochází k eliminaci nádorových buněk, přežije jich jen malý zlomek. Destrukci nádorových buněk zajišťují makrofágy, granulocyty a oxid dusnatý, imunologické mechanismy jsou zprostředkované zejména T-lymfocyty a NK-buňky. V krevní cirkulaci působí na nádorové buňky také mechanické faktory, jako turbulence krevního proudu. Oxid dusnatý má cytotoxické účinky a indukuje buněčnou smrt.

V sítích kapilár dochází k **nidaci nádorových buněk**. Tento proces začíná adhezí trombocytů k endotelu kapilár za přítomnosti adhezních molekul (ICAM-1, ICAM-2, E-cadherin). Z adherovaných destiček se následně uvolní agregační faktory (tromboxan A₂), které zajistí ireverzibilní agregaci nádorových buněk a trombocytů a fixaci vzniklého mikroembolu k endotelu kapilár. Kolem vytvořeného nádorového mikroembolu se vytvoří fibrinový obal, který ho chrání proti mechanickému poškození a zároveň ho maskuje před složkami imunitního systému. Trombocyty produkují růstový faktor PDGF, který stimuluje proliferaci nádorových buněk. **Průnik buněk do tkání** je umožněn proteolytickými enzymy, uvolňovaný serotonin navíc usnadní průnik buněk zvýšením permeability kapilár.

Zda vůbec a jakou rychlostí dojde k **růstu metastázy v novém mikroprostředí**, závisí na několika faktorech. Dle teorie „seed and soil“ je zapotřebí prostředí vhodné právě pro daný druh a povahu primárního nádoru [90]. Další podmínkou je přítomnost proliferačních faktorů a jejich inhibitorů. Kromě růstových faktorů (PDGF, TGF- α , EGF) a produktů onkogenů s podobnou funkcí, se na proliferaci podílejí humorální faktory produkované nádorovými buňkami. Ke zdárnému růstu ložiska je zapotřebí přísun živin a kyslíku.

Malé metastázy do velikosti 1-2 mm jsou vyživovány z okolí prostou difuzí. Větší ložiska již potřebují vlastní cévní zásobení k zajištění přísunu dostatečného množství živin a kyslíku. Dochází k neovaskularizaci procesem **angiogeneze**. Zvětšujícímu se nádoru již nestačí množství živin a kyslíku přijatých prostou difuzí. Dochází k hypoxii nádoru, stává se geneticky nestabilní a vznikají mutace, vedoucí k produkci angiogenních a potlačení antiangiogenních faktorů (interferon α , β , angiostatin, trombospondin, aj.) [91].

Novotvorba cév se uplatňuje i při fyziologických procesech, při hojení ran a zlomenin, při vývoji embrya či v průběhu menstruačního cyklu. Narušení normálního průběhu angiogeneze může ústít v nejrůznější patologické stavy.

Angiogenní kaskáda zahrnuje etapy rozpuštění bazální membrány, proliferace endotelií a jejich migrace a morfogeneze nové cévy. Celý proces je regulován celou řadou humorálních působků, především cytokinů, adhezních molekul, proteolytických enzymů, integrinů a nízkomolekulárních látek. Neovaskularizace je složitý, vícestupňový proces a jeho detailnější popis přesahuje rámec této disertační práce.

Pochopení a znalost mechanismu angiogeneze a působků, které tento proces regulují, přináší nové způsoby možného ovlivnění šíření nádoru. Pomocí cílených preparátů lze působit proti angiogenním faktorům, které jsou zásadní v procesu novotvorby cév a růstu primárního i sekundárních ložisek nádoru.

Mezi hlavní angiogenní faktory patří VEGF (*vascular endothelial growth factor*), který má mitogenní účinek na endotelie, zvyšuje permeabilitu cév a stimuluje produkci proteolytických enzymů. Receptor pro VEGF vykazuje tyrosinkinázovou aktivitu. Inhibitory receptoru VEGF, jako pazopanib, sorafenib, sunitinib, bevacizumab a další, si v klinické praxi již našly pevné místo při léčbě metastazujících karcinomů. Další inhibitory VEGFR každým rokem přibývají do seznamu preparátů cílené léčby.

K nejvýznamnějším angiogenním působkům, patří FGF, růstový faktor pro fibroblasty. Je produkován aktivovanými T-lymfocyty, makrofágy, případně i samotnými nádorovými buňkami. Oxid dusnatý (NO) má krom mitogenního efektu na buňky endotelu také účinky vazodilatační. TNF- α je produkován makrofágy a monocyty a podílí se jak na procesu angiogeneze, tak na nekrotizaci nádoru. Svými katabolickými účinky přispívá k rozvoji nádorové kachexie. Na procesu angiogeneze a metastazování se podílí také uPA a PAI-1, jejichž účinky jsou blíže popsány v kapitole zabývající se prognostickými faktory.

3.11 Léčba karcinomu prsu

Rozhodnutí o strategii léčby nemocných s diagnostikovaným zhoubným novotvarem prsu by mělo být učiněno na základě výsledků spolupráce lékařů oboru patologie, chirurgie, radiodiagnostiky, radioterapie a klinické onkologie. Léčebný algoritmus zohledňuje prediktivní a prognostické faktory onemocnění, celkový stav nemocného, jeho komorbiditu a v neposlední řadě také rozhodnutí a priority samotného pacienta. Léčba karcinomu prsu v naprosté většině kombinuje léčebné přístupy lokoregionální (chirurgická léčba, radioterapie) a systémové (chemoterapie, hormonální léčba, biologická léčba, podpůrná léčba).

V průběhu posledních let došlo v oblasti léčby karcinomu prsu k významným pokrokům a změnám. Důvodem je pokrok na poli molekulární diagnostiky, prohloubení poznatků ohledně molekulární podstaty principu karcinogeneze a metastazování a vývoj nových léčiv, které tyto procesy ovlivňují. Perou v roce 2000 představil světu nový pohled na tuto heterogenní skupinu onemocnění, když charakterizoval karcinomy prsu na molekulární úrovni a položil základ nové klasifikaci. Rozdělení novotvarů prsu dle profilů genové exprese se již stalo součástí klinické praxe, které pomáhá odhadnout biologické chování a prognózu konkrétního nádoru. Na základě nových studií jsou každým rokem inovovány postupy a doporučení světových odborných společností.

Biologická léčba se stala běžně užívanou a osvědčenou léčebnou modalitou. Algoritmus onkologické terapie karcinomu prsu se dnes již neřídí pouze klasickými prognostickými faktory, jako je velikost tumoru, postižení lymfatických uzlin či přítomnost vzdálených metastáz. V dnešní době doplňují standardní prognostické markery také molekulární charakteristiky nádoru. Multigenové testování se již také pomalu stává nedílnou součástí klinické praxe, přestože zatím jen u zlomku pacientů splňujících indikační omezení. Není však vyloučeno, že se v blízké budoucnosti bude analýza desítek genů provádět u všech nemocných s diagnostikovaným karcinomem prsu. Snaha o individualizaci, „ušití léčby přímo na míru“ ve smyslu *tailored therapy*, je u karcinomu prsu vidět asi nejvíce.

3.11.1 Chirurgická léčba

Chirurgický výkon může mít u karcinomu prsu význam profylaktický, diagnostický, kurativní, rekonstrukční i paliativní. Operační řešení je nejstarší léčebnou modalitou pacientů s novotvarem prsu. Na přelomu 19. a 20. století byla prováděna nemocným ženám **radikální mastektomie s exenterací axily**, která kromě odstranění celé mléčné žlázy, pectorálních svalů a lymfatických uzlin axily zahrnovala také resekci torako-dorzálního nervově-cévního svazku. I přes značnou radikalitu výkonu se nádor dříve či později opět objevil. Radikalita výkonu byla postupem času snižována. V dnešní době je nejradikálnějším výkonem **modifikovaná radikální mastektomie**, při níž se resekuje mléčná žláza a axilární mízní uzliny. **Prostá mastektomie** se provádí jako sanační výkon u stadia IIIB a IV.

Záchovné operace prsu je možno provádět díky zavedení dalších léčebných modalit, především radioterapie. Patří mezi ně **kvadrantektomie**, tedy resekce pouze kvadrantu postiženého nádorem, a **lumpektomie** (tumorektomie) což je výkon, při kterém je odstraněn pouze tumor s minimálně centimetrovým lemem zdravé tkáně. Z druhé operační incize se provádí axilární lymfadenektomie či resekce sentinelové uzliny. Záchovné operace se provádějí u nemocných s jedním či dvěma primárními nádory do velikosti 4 cm, při nepřítomnosti difúzních kalcifikací či infiltrace povrchu kůže, při klinicky nezjistitelných uzlinách a při absenci kontraindikací radioterapie, která by vždy měla po neradikálním výkonu následovat.

Rekonstrukční operace mohou mít významný pozitivní dopad na psychiku žen po léčbě karcinomu prsu. Provádí se v době 2-5 let po provedení mastektomie při absenci známek recidivy onemocnění. Materiálem pro nový prs bývá tkáň břišní stěny či zad, vyplněná vlastní tukovou tkání či syntetickým materiálem.

U premenopauzálních žen s pokročilým, hormonálně dependentním onemocněním je možné provést **ovarektomii** jako alternativu hormonální léčby. V rámci primární prevence se u nosiček mutace genu *BRCA 1/2* s pozitivní rodinnou anamnézou provádí **profylaktická bilaterální mastektomie**, někdy doplněná o **bilaterální ovarektomii** vzhledem ke zvýšenému riziku karcinomu vaječníků. Paliativní chirurgické výkony se týkají pokročilých, inkurabilních nádorů. Provádí se **paliativní resekce** solitární metastázy mozku, jater či plic.

3.11.2 Radioterapie

Další formou lokoregionální léčby karcinomu prsu je radioterapie, která využívá účinků ionizujícího záření na zasažené buňky. Zcela zásadní byl pro pokrok vědy a medicíny Roentgenův objev záření X v roce 1885 a Becquerelův objev přirozené radioaktivity o jedenáct let později. Záření X (rentgenové, brzdné) zpočátku našlo své uplatnění především v oblasti diagnostiky. Po odhalení letálního účinku záření na buňky se postupem času začalo zkoušet k léčbě nádorů. Zdrojem záření je rentgenka či lineární urychlovač. Katodou emitované elektrony jsou na anodě urychlovače zabrzděny a na úkor jejich kinetické energie vznikají fotony, které jsou následně emitovány do cílové tkáně. Přímou interakcí s fotony dochází v buněčné DNA k tvorbě zlomů, nepřímý účinek záření souvisí se vznikem volných radikálů, které následně ireverzibilně poškozují řetězce DNA.

Poškození buněčné DNA radioterapií je variabilní, a ne všechny změny vedou k biologickému poškození a smrti buňky, některé změny DNA mohou být rychle opraveny pomocí reparačních mechanismů. Účinek radiace nepůsobí změny jen na úrovni molekulární, ale i buněčné, například změnou proliferační aktivity buněk. Buňka je nejvíce radiosenzitivní ve fázích buněčného cyklu S a G₂. Dalším účinkem záření je indukce a suprese genů a jejich produktů, inhibice proliferace buňky a indukce apoptózy.

Různé tkáně jsou různě senzitivní vůči působení radiace. Citlivost vůči záření závisí na lokalizaci postiženého orgánu, histologickém typu nádoru, klinickém stadiu či objemu. Mezi solidní nádory vykazující vysokou radiosenzitivitu patří seminomy a malobuněčné karcinomy, omezenou senzitivitu mají melanomy, glioblastomy, sarkomy a karcinomy ledviny a pankreatu. Karcinom prsu patří mezi nádory se střední radiosenzitivitou.

V radioterapii nádorů se nejčastěji využívá energie fotonů, zdrojem jsou lineární urychlovače. Dávka záření je udávána v grayích (Gy), který odpovídá energii 1 Joule na 1 kg látky. Nejčastější metodou je zevní ozáření nádoru (teleradioterapie), kdy se zdroj záření nachází mimo pacienta. Se zdokonalováním ozařovacích technik je možné aplikovat maximální tumoricidní dávku do oblasti nádoru a minimální dávku do okolních zdravých tkání. Dochází ke snižování počtu a závažnosti vedlejších nežádoucích efektů a komplikací radioterapie. V dnešní době nejčastěji užívanou technikou je IMRT (*intensity modulated radiotherapy*). Další metodou je ozáření na krátkou vzdálenost, brachyradioterapie, kdy je radioaktivní zdroj záření umístěn přímo do nádoru.

Provedení **pooperačního ozáření prsu** je indikováno vždy u nemocných po zachovné operaci stadia I-IIb a v jistých případech také u nemocných po radikální mastektomii [92]. Indikací je také neinvazivní karcinom *in situ* po parciálním výkonu a lokálně pokročilé invazivní nádory po neoadjuvantní chemoterapii. Provádí se na oblast celého prsu standardní frakcionací, 5x2 Gy/týden do dávky celkové dávky 46–50 Gy. Navýšení dávky v lůžko tumoru (tzv.boost) o 10-20 Gy, se provádí v případě invazivních karcinomů po konzervativní operaci s disekcí axilárních uzlin či při negativním nálezu ve vyšetřené sentinelové uzlině. Absolutní kontraindikací radioterapie je nesouhlas a nespolupráce nemocného, těhotenství a předchozí RT na oblast daného hemitoraxu. Adjuvantní ozáření snižuje riziko lokoregionální recidivy onemocnění a prodlužuje celkové přežití [93, 94].

Radioterapie regionálních lymfatických uzlin celé axily, nadklíčků a podklíčků je indikována v případě, že byl pozitivní nález v sentinelové LU, ale nebyla následně provedena disekce axily. Také se provádí v případě, že disekce axily byla provedena a 4 a více LU bylo pozitivních, nebo v případě neadekvátní disekce či positivity 1-3 LU a přítomnosti alespoň jednoho rizikového faktoru: nádor grade 3, větší než 5 cm, s nálezem lymfangioinvasí a pozitivních okrajů resekátu, nebo u pacienta mladšího než 50 let.

U nemocných po radikální mastektomii s disekcí axily je pooperační teleradioterapie hrudní stěny indikována v případě nálezu pozitivních okrajů resekátu a u tumorů stadia pT3 a pT4, zároveň se provádí ozáření apexu axily a oblasti nadklíčků a podklíčků.

Radioterapie **s paliativním záměrem** je vyhrazena nemocných s generalizovaným karcinomem prsu, s metastatickým postižením kostí, plic, mozku, jater, kůže, lymfatických uzlin či jiných lokalizací. Při ozáření metastatických ložisek skeletu se využívá jejího analgetického efektu a efektu zpevnění kostí reosifikací, což snižuje riziko patologických fraktur. Radioterapie celého mozku se provádí u vícečetného ložiskového postižení nebo v případě solitární metastázy, kterou nelze ošetřit neurochirurgickým či radiochirurgickým výkonem.

Stereotaktická radiochirurgie, také SBRT (*stereotactic body radiotherapy*), využívá aplikace vysokých dávek záření v malém počtu frakcí s velmi vysokou přesností, které způsobí nekrózu ložiska. Výhodou je krátká doba léčby, nízká dávka ozáření zdravých tkání a zpravidla velmi dobrá tolerance. Technikou SBRT jsou nejčastěji ošetřena metastatická ložiska plic a jater.

3.11.3 Hormonální terapie

Cílem hormonální léčby je zamezit působení endogenních estrogenů na receptory hormonálně dependentních nádorů. Blokáda estrogenních receptorů je možná několika mechanismy. Hormonoterapie je standardem léčby karcinomů prsu luminálního typu.

Principem **ablativní terapie** je odstranění či vyřazení z funkce zdroje endogenních estrogenů. Nejstarším způsobem kastrace je ovariectomie. Radiační kastrace je dosaženo ozářením ovarií dávkou 15 Gy. Nástup účinku je však opožděný, kolem 2-3 měsíců. Poslední možností je farmakologická kastrace. Podáním nadfyziologických dávek analog gonadoliberinu (goserelin, busorelin) dojde ke stimulaci hypofýzy s dočasným zvýšením produkce gonadotropinů a následnému vyčerpání hypofýzy, které vede k dlouhodobému poklesu hladiny gonadotropinů.

Další možností hormonální léčby je **kompetitivní terapie**. Podáváním selektivních modulátorů estrogenních receptorů (SERM) dojde ke kompetici na estrogeních a progesteronových receptorech. Jedním z prvních a dosud nejužívanějším antiestrogenem je tamoxifen. SERM byly vyvinuty v 60. letech minulého století ve snaze přinést nové možnosti kontracepce, poté co vědci sledovali významný kontraceptivní efekt tamoxifenu podávaného laboratorním krysám. Při následných studiích však bylo zjištěno, že u lidí tamoxifen naopak indukuje ovulaci [95]. SERM působí selektivně pouze v některých tkáních jako agonisté estrogenních receptorů, v některých tkáních mají účinek antagonistický. V současné době máme k dispozici několik typů SERM s různým efektem na různé tkáně exprimující estrogenní receptory. Kromě zmíněného tamoxifenu je to například klomifen, raloxifen, ospemifen a další. Bylo zjištěno, že tamoxifen působí jako antagonist v tkáni prsu, ale jako agonista v kostech a v děloze. Důsledkem působení tamoxifenu na endometrium dělohy je dvojnásobně až trojnásobně zvýšené riziko rozvoje sekundárního karcinomu endometria [96]. Méně závažným vedlejším efektem jsou návaly horka, podobné projevům menopauzy. Tamoxifen se podává v adjuvantní (po dobu 5-10 let) i paliativní péči o nemocné s hormonálně závislým karcinomem prsu. Může být podáván s profylaktickým záměrem u nemocných s prokázanou genetickou vrozenou zátěží, nejčastěji u nosiček mutace genů *BRCA*. Další typy SERM se v dnešní době využívají při léčbě poruch ovulace a při léčbě a prevenci osteoporózy u postmenopauzálních žen.

U postmenopauzálních žen je standardem léčby užití **inhibiční terapie**. Po období menopauzy se hlavním zdrojem estrogenů stávají nadledvinkové androgeny, procesem aromatizace dochází k jejich přeměně na estrogen. Enzymem zprostředkujícím přeměnu je aromatáza ze skupiny enzymů cytochromu P450. Dnes již neužívané neselektivní inhibitory aromatázy blokovaly hydroxylaci všech steroidních hormonů. Vedly nejen k poklesu estrogenů, ale také k nežádoucímu poklesu kortisolu, což vyžadovalo současnou substituci kortikosteroidy. Dnes užívané selektivní inhibitory aromatázy takové nežádoucí vedlejší účinky nemají. Mezi nesteroidní inhibitory aromatázy s reverzibilní aromatázovou vazbou patří anastrozol či letrozol. Ireverzibilní vazbou se poutají steroidní inhibitory aromatázy, nejčastěji užívaný z nich je exemestan.

Blokovat účinky estrogenů je dále možné za pomoci **aditivní terapie**. Tato metoda spočívá v podání farmakologických dávek gestagenů. Mechanismem zpětné vazby gestageny blokují adenohypofýzu a výsledkem je pokles produkce gonadotropinů. Nejčastěji užívanými preparáty jsou Megace či Provera.

Selektivní down-regulátory estrogenních receptorů (SERD), například fulvestrant, působí mechanismem redukce či eliminace exprese ER.

Adjuvantní léčba premenopauzálních žen spočívá v podávání tamoxifenu po dobu 5-10 let, buď samostatně, nebo v kombinaci s ablativní léčbou. Pokud během tohoto období dojde k rozvoji menopauzy, je možné místo tamoxifenu dále podávat inhibitory aromatázy (IA). V případě generalizovaného onemocnění je indikována ovariální ablace a dále se postupuje stejně jako u postmenopauzálních žen. Užívá se tamoxifen, v dalších liniích inhibitory aromatázy, dále případně aditivní léčba gestageny.

Ženy po menopauze s nízkým rizikem recurence mohou být pooperačně léčeny 5 let tamoxifenem, nebo IA při kontraindikacích tamoxifenu. Pokud jsou léčeny pro onemocnění středního a vysokého rizika, je v klinické praxi preferováno užití IA. U postmenopauzálních žen s pokročilým karcinomem prsu, který vykazuje pomalý růst a méně agresivní chování (nízká mitotická aktivita a nízká exprese proteinu Ki-67), mohou být podávány neoadjuvantně IA po dobu 6 měsíců. V případě, že se jedná o onemocnění symptomatické a rychle progredující, je vhodnější podat chemoterapii, která má vyšší potenciál rychlejší léčebné odpovědi.

3.11.4 Chemoterapie

Chemoterapie je metoda onkologické léčby, která spočívá v podávání chemických sloučenin s cytostatickým účinkem. Různá cytostatika mají rozdílnou efektivitu u různých typů nádorů. A zároveň, citlivost různých typů zhoubných novotvarů k chemoterapii je variabilní. Do I. skupiny spadají onemocnění, u nichž má chemoterapie potenciálně kurativní účinek. Postihují převážně děti a mladé nemocné. Ve IV. skupině jsou nádory s velmi malou citlivostí na veškerá dostupná cytostatika (karcinom pankreatu, žlučníku, hepatocelulární karcinom atd.). Karcinom prsu spadá do II. skupiny, chemoterapie přináší vysoké procento remisí a prodlužuje celkovou dobu přežití. Karcinom prsu je citlivý k relativně velkému počtu cytostatik, jak ukazuje **tabulka 10**. V drtivé většině případů se při léčbě karcinomu prsu užívá kombinovaná chemoterapie v několika různých chemoterapeutických režimech (CMF, AC, FAC a další). V monoterapii jsou cytostatika podávána zejména u starších žen, polymorbidních, u kterých lze očekávat omezenou rezervu kostní dřeně. Hlavní význam chemoterapie spočívá v jejím systémovém účinku, který doplňuje lokoregionální metody léčby.

Odpověď		
Více než 50 %	20 – 40 %	Méně než 20 %
Docetaxel	Cisplatina	Catarabin
Doxorubicin	Cyklofosfamid	Dakarbazin
Epirubicin	Fluorouracil	Etoposid
Paklitaxel	Ifosfamid	Gemcitabin
Vinorelbin	Irinotekan	
Metotrexát	Karboplatina	
Mitomycin C	Karmustin	
Kapecitabin	Lomustin	
Vinblastin		
Vinkristin		

Tabulka 10: Cytostatika účinná u karcinomu prsu a odpověď na podání v monoterapii [14]

U pacientů s nádorem větším než 3 cm nebo s limitovaným postižením regionálních lymfatických uzlin bez vzdálených metastáz je před operačním výkonem indikováno podání **neoadjuvantní chemoterapie**. Hlavním cílem je zlepšit operabilitu a umožnit konzervativní chirurgický výkon, buďto zmenšením velikosti primárního tumoru (down-sizing) či lymfatických uzlin (down-staging) a dále eliminovat možné přítomné mikrometastázy. Podávají se režimy na bázi antracyklinu (doxorubicin) a taxanu (docetaxel), nebo režim FAC kombinující fluorouracil, doxorubicin a cyklofosamid.

Nemocným s invazivním ductálním karcinomem větším než 1 cm a menším než 3 cm, stadia I, II, IIIA a IIIB, nebo při postižení mízních uzlin, především u premenopauzálních žen, by měla být podána **adjuvantní (pooperační) chemoterapie**. U nádorů menších než 1 cm a negativních mízních uzlinách rozhodují o podání přítomné prognostické faktory. Cílem je eliminovat eventuální ložiska reziduálního nádoru po operaci a minimalizovat riziko rekurence onemocnění. O zařazení adjuvantní chemoterapie do léčebného algoritmu může být v indikovaných případech rozhodnuto na základě výsledku multigenového testování. Léčba by měla trvat 4-6 měsíců. Nejčastěji užívanými chemoterapeutickými režimy, je CMF a antracykliny (např. režim AC).

U pokročilých karcinomů prsu s potvrzenými vzdálenými metastázami je možné podávat chemoterapii s **paliativním záměrem**. Cílem je zlepšit kvalitu života a prodloužit celkového přežití nemocného s nevléčitelným onemocněním. Někdy lze podáním paliativní chemoterapie navodit různě dlouhé období stabilizace onemocnění. Ve snaze o dosažení maximální efektivity paliativní chemoterapie byly zkoušeny různé metody podání, například sekvenční podání dvou režimů obsahujících různá cytostatika nebo podání v intenzifikovaném režimu při zkrácení intervalů mezi jednotlivými léčebnými cykly. Paliativní léčba nemocných s pokročilým karcinomem prsu využívá všechny modalities onkologické péče. Vždy závisí na lokalizaci metastatického onemocnění, na biologickém věku, performance status pacienta a jeho komorbiditách.

Při metastatickém postižení skeletu hraje významnou roli, kromě již zmíněné radioterapie, také podání bisfosfonátů. Ty podporují remodelaci kostní tkáně, snižují riziko patologických fraktur a mohou korigovat eventuální hyperkalcémii. V případě metastatického postižení jater lze dle počtu metastáz a jejich lokalizace indikovat chirurgickou resekci (solitárního ložiska, lobektomii, parciální hepatektomii). Při

kontraindikacích operační léčby, neresekovatelnosti ložisek či difúzním postižení jater, je možné zvolit jednu z dalších metod. Jaterní metastázy lze ošetřit alkoholizací, kryoterapií, laserovou terapií, radiofrekvenční ablací (RFA), transarteriální radioembolizací (TARE) či transarteriální chemoembolizací (TACE).

Principem TACE je lokální podání cytostatika po selektivním nasondování tepen zásobujících ložisko nádoru, přístupem z axily či z třísla přes arteria femoralis communis. Chemoterapeutikum způsobí uzávěr nutritivních tepen, který vede k následné ischemii nádoru. Novější variantou TACE je aplikace částic uvolňujících léčivo (DEB – drug eluting beads). Tyto hydrogelové mikrosféry na bázi polyvinyl alkoholu mají na sobě navázáno cytostatikum v kontrolované dávce [97]. Pomocí mikrokatetru jsou částice aplikovány do oblasti nádoru, kde zajistí pomalé protrahované uvolnění navázaného cytostatika. Tato metoda efektivně maximalizuje cytotoxický účinek na cílovou oblast metastatického ložiska při minimální systémové toxicitě.

Transarteriální radioembolizace (TARE) spočívá v intraarteriální aplikaci skleněných mikročástic s obsahem radionuklidu yttria (^{90}Y), emitujícího záření β [98]. V bezprostředním okolí mikročástic dojde k radiční nekróze nádorové tkáně. Jedná se o metodu brachyradioterapie (BRT), tedy záření na krátkou vzdálenost.

3.11.5 Cílená léčba

Lepší a detailnější znalosti o biologii nádorů a odhalování molekulární podstaty kancerogeneze a procesu metastazování vedly k rozvoji nové léčebné modality. Jedná se o léčbu biologickou (také biomodulační, cílená), která má v dnešní době nezastupitelné místo a stala se standardem komplexní onkologické péče. Má různé formy a různé mechanismy účinku jednotlivých preparátů. Jejich společnou vlastností je zásah a ovlivnění biologických pochodů, které se podílejí na vzniku nádoru. Významným efektem cílené léčby pomocí monoklonálních protilátek je ovlivnění imunitních reakcí organismu posílením či obnovením narušené funkce protinádorové imunity. Určitou část cílené léčby tak lze považovat za formu imunoterapie.

První metody pasivní imunizace, kdy bylo nemocnému s nádorovým onemocněním aplikováno sérum zdravého člověka nebo sérum obsahující specifické protilátky proti nádoru, nenašly v klinické praxi uplatnění.

Zcela zásadním se stal objev monoklonálních protilátek (MP). Jedná se o uměle vytvořené látky, které vytváří jeden buněčný klon. Monoklonální protilátky jednoho typu jsou zaměřené výhradně proti jednomu specifickému antigenu, který imunitní systém rozpoznává jako cizí a reaguje na ni. Antigenem bývá nejčastěji receptor nádorové buňky. Léčba je tedy namířena cíleně, pouze proti buňkám nesoucím specifický antigen.

První protilátky se získávaly z B-lymfocytů ze sleziny a myelomových buněk po imunizaci myši lidskými buňkami. Po podání lidem však docházelo k tvorbě protilátek, tzv. HAMA (human antimouse antibody). Proto byly vyvíjeny nové metody a techniky k eliminaci tvorby HAMA. Podařila se příprava lidských a rekombinantních MP. Tvorbu HAMA je možné omezit vytvořením chimérické MP (myší/lidské) nebo humanizací protilátky. Ta vzniká kombinací menší části zvířecí protilátky, ve které je část rozpoznávající antigen, a větší části lidské protilátky.

Paleta monoklonálních protilátek využívaných v léčbě nádorových onemocnění již čítá mnoho desítek preparátů a každým rokem se rozšiřuje o další. Využití biomodulační léčby není omezeno pouze na onkologické pacienty, běžně se užívá při léčbě některých autoimunitních onemocnění (například revmatoidní artritida, systémový lupus, psoriáza, roztroušená skleróza a idiopatické střevní záněty).

Trastuzumab je rekombinantní humanizovaná IgG1 protilátka proti extracelulární doméně transmembránového receptoru *HER2*, **obr.29**. Vazbou na subdoménu IV [99] brání tvorbě homodimerů s dalším *HER2* receptorem a tím inhibuje intracelulární signalizaci zprostředkovanou *HER2* a zároveň stimuluje na protilátkách závislou buněčnou cytotoxicitu. Podává se intravenózně nebo subkutánně. Nejzávažnějším vedlejším efektem trastuzumabu je kardiotoxicita. Před zahájením a pak každé 3-4 měsíce během léčby až do půl roku po ukončení léčby je nutné kontrolovat srdeční funkce echokardiografickým vyšetřením. Je indikován u nemocných s *HER2* pozitivním karcinomem prsu, v adjuvantní i paliativní péči. Kombinací trastuzumabu a chemoterapie lze u pokročilého karcinomu prsu dosáhnout lepší odpovědi na chemoterapii, prodloužení přežití bez dogrese (PFS) i celkové přežití (OS).

Lapatinib inhibuje tyrosinkinázovou aktivitu onkogenů *EGFR* a *HER-2/neu* [100]. Užívá se perorálně a bývá dobře tolerován, nejčastějšími vedlejšími účinky je průjem, nauzea, únava a vyrážka. Randomizovaná klinická studie prokázala prodloužení přežití bez progrese (PFS) a redukci rizika progrese onemocnění o 51 % při podávání lapatinibu s kapecitabinem proti skupině pacientů léčených pouze kapecitabinem. Jednalo se o nemocné s karcinomem prsu po předchozí léčbě antracyklinem, taxanem a trastuzumabem. Kombinovaná léčba s lapatinibem nepřinesla více toxických vedlejších účinků proti samotnému kapecitabinu [101]. Lapatinib lze využít k léčbě nemocných s pokročilým, *HER2* pozitivním karcinomem prsu v kombinaci s kapecitabinem, u nichž došlo k progresi po léčbě antracykliny, taxany a trastuzumabem, nebo v kombinaci s trastuzumabem s hormonálně nezávislým karcinomem po selhání léčby trastuzumab s chemoterapií. V současné době je v obou těchto indikacích preferován trastuzumab emtansin. Lapatinib je také indikován v kombinaci s inhibítorem aromatázy k léčbě žen po menopauze s metastazujícím, hormonálně dependentním karcinomem prsu, u nichž se neuvažuje o léčbě chemoterapií.

Dalším schváleným preparátem pro léčbu karcinomu prsu je **pertuzumab**. Jedná se o humanizovanou monoklonální protilátku podávanou intravenózně, která vazbou na subdoménu II receptoru *HER2* brání dimerizaci především s receptorem *HER3* [102], **obr. 29**. Tím blokuje signální dráhu, která stimuluje buněčnou proliferaci a buněčný růst. Heterodimer *HER2/HER3* je nejsilnějším dimerem, který může tuto signální dráhu

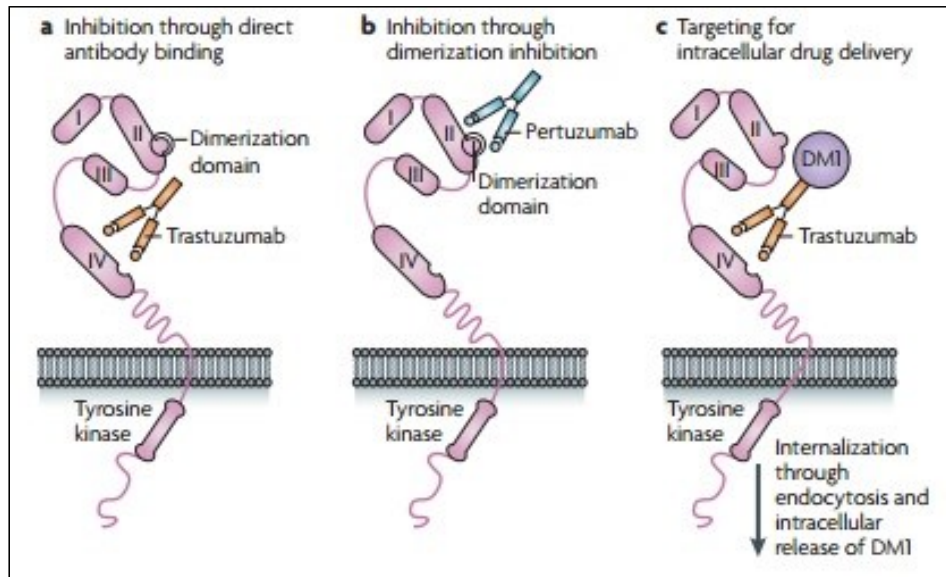
aktivovat. Pertuzumab a trastuzumab se váží na odlišné epitopy *HER2*, mechanismy jejich účinku se doplňují. Při kombinovaném podání je zajištěna lepší inhibice *HER2* (na subdoméně II a IV) a silnější protinádorové působení.

Mezi časté vedlejší účinky pertuzumabu patří ztráta vlasů, průjem a neutropenie. Indikován je u metastazujících *HER2*-pozitivních karcinomů prsu, v kombinaci s trastuzumabem a docetaxelem. Klinický efekt této léčebné triády byl prokázán randomizovanou studií CLEOPATRA, která hodnotila výsledky první linie léčby více než 800 pacientů s metastatickým, *HER2*-pozitivním karcinomem prsu. Sledovaná skupina byla léčena kombinací trastuzumab, docetaxel a pertuzumab, v kontrolní skupině nemocných byl pertuzumab nahrazen placebem. Hodnocena byla doba přežití bez progresu (PFS), celkové přežití (OS) a bezpečnost. Medián PFS byl o 6,1 měsíce delší u skupiny léčené s pertuzumabem (18,5) proti kontrolní skupině (12,4). Co se týče profilu bezpečnosti, ve skupině léčené pertuzumabem byly častěji zaznamenány případy febrilní neutropenie a průjmu stupně 3 a více, nebyla však prokázána vyšší kardiotoxicita [103].

Konjugací antimikrotubulárního cytostatika DM-1 na molekulu trastuzumabu vznikl preparát **trastuzumab emtansine, T-DM1**. Cytostatikum myatansinoid, častěji DM-1, funguje jako inhibitor depolymerizace mikrotubulů. Patří do podobné skupiny cytostatik jako paklitaxel, jen je mnohanásobně účinnější (100 - 300x). Pro svoji výraznou účinnost nelze DM-1 podat systémově. Díky vazbě na protilátku trastuzumab je dopraven pouze do buněk exprimujících receptor *HER2*. Trastuzumab emtansin se naváže na stejné vazebné místo na povrchu *HER2*-pozitivní nádorové buňky jako samotný trastuzumab, **obr.29**. Zablokuje *HER2* receptor a aktivuje buněčné imunitní mechanismy organismu. V další fázi je T-DM1 pohlcen do nitra nádorové buňky, kde je uvolněno a aktivováno samotné cytostatikum.

T-DM1 byl registrován na základě výsledků randomizované studie EMILIA, do níž byly zařazeny pacientky s metastatickým, *HER2*-pozitivním karcinomem prsu, které progredovaly na předchozí léčbě trastuzumabem a chemoterapeutickým režimem s taxany. Ve studii bylo dosaženo významného prodloužení PFS u nemocných léčených samotným trastuzumab emtansinem ve srovnání s pacientkami léčenými standardním režimem lapatinib + kapecitabin [104]. Ve skupině pacientů léčených T-DM1 bylo také zaznamenáno méně závažných nežádoucích příhod, celkově byla léčba lépe tolerována

než v kontrolní skupině [105]. T-DM1 je indikován k monoterapii dospělých nemocných s *HER2*-pozitivním, neresekovatelným lokálně pokročilým či metastazujícím karcinomem prsu, po předchozí léčbě trastuzumabem a taxanem.



Obr.29: Interakce trastuzumabu (a), pertuzumabu (b) a trastuzumab emtansinu (c) na receptoru *HER2* [99]

Odlíšný mechanismus protinádorového účinku má **bevacizumab**. Jedná se o humanizovanou monoklonální protilátku, cílenou proti plazmatickému růstovému faktoru cévního endotelu (VEGF A). Již bylo zmíněno, že nádory do 1-2 mm si zajistí přísun dostatečného množství kyslíku a živin z okolí prostou difúzí. Větším nádorům tento mechanismus nedostačuje, dochází u nich k hypoxii a k tvorbě řady působků. Jedním z nich je také VEGF, který se váže na receptory na povrchu endotelových buněk a vede k jejich proliferaci. Bevacizumab brání vazbě VEGF na příslušné receptory, což vede v konečném důsledku k normalizaci krevního řečiště nádoru, regresi nádorových cév a brání v další angiogenezi.

Nejzávažnějšími vedlejšími účinky léčby bevacizumabem je arteriální hypertenze, krvácení, gastrointestinální perforace a tromboembolie. V současné době je bevacizumab v ČR indikován k léčbě metastazujícího karcinomu kolorekta, ledvin, ovarií, vejcovodů, prsu, primárního karcinomu peritonea a nemalobuněčného karcinomu plic. U metastazujícího karcinomu prsu je indikován v první linii léčby v kombinaci s paklitaxelem případně s kapecitabinem u nemocných, u nichž není léčba jinou chemoterapií vhodná.

3.12 Prevence, screeningový program

Rostoucí incidence a prevalence zhoubných novotvarů představuje závažný celospolečenský problém, a to jak z hlediska medicíny, tak i ekonomiky. Stále vzrůstající počet nemocných léčených a dispenzarizovaných na pracovištích onkologie se odráží ve stále se zvyšujících požadavcích kladených na zdravotnický personál. Pro celou společnost se léčba onkologických pacientů navíc stává výraznou ekonomickou zátěží. Snahy o omezení výskytu nádorových onemocnění vedly k definici a doporučení preventivních opatření.

Primární prevence se zabývá omezením nebo odstraněním možných příčin rozvoje nádorového onemocnění. Vychází z výsledků epidemiologických studií a poznatků procesu kancerogeneze. Primární prevence u karcinomu prsu spočívá především v dostatku fyzické aktivity a udržování normálního BMI. Prevence obezity je důležitá především u postmenopauzálních žen, u kterých představuje významný rizikový faktor. Význam v prevenci má jistě také první gravidita do 35 let věku a podpora kojení pro její protektivní vliv.

Velký význam má u karcinomu prsu **prevence sekundární**, která spočívá ve vyhledávání a sledování rizikových skupin obyvatel. Významnou, ale možná trochu podceňovanou a opomíjenou formou preventivních opatření u karcinomu prsu je samovyšetření. Mělo by být prováděno pravidelně, jednou za měsíc a ideálně po skončení menstruace, kdy struktura prsní žlázy umožňuje vyšetření nejlépe provést. Druhou velmi důležitou formou sekundární prevence představuje systematická depistáž u rizikových skupin obyvatel. Cílem screeningu je včasné odhalení asymptomatického onemocnění, ideálně ještě ve formě prekancerózy. Důsledkem screeningového programu je možnost radikálnější a účinnější léčby u časněji odhalených nádorových onemocnění, což vede k jeho lepší prognóze.

V České republice funguje celoplošný screening karcinomu prsu od září roku 2002. Spočívá v pojišťovnou hrazeném mamografickém vyšetření každé dva roky, u žen ve věku nad 45 let. Screening je provozován na několika desítkách akreditovaných pracovišť po celé ČR, jejichž činnost je kontrolována a monitorována dvěma nezávislými komisemi – Komisí pro screening nádorů prsu MZ ČR a Komisí odborníků pro mamární diagnostiku.

Principem **terciární prevence** je dispenzarizace, tedy sledování a pravidelné kontroly nemocných s vyléčeným nádorovým onemocněním. Cílem je včasné odhalení recidivy či relapsu. Dispenzární péče je v České republice regulována vyhláškou Ministerstva zdravotnictví z roku 1997. Povinností je dispenzarizovat nemocné s diagnostikovaným maligním nebo potenciálně maligním onemocněním či prekancerózou, a také osoby s familiárním výskytem nádorů, pravidelně každé 3-12 měsíců.

Zvláštní problematikou je prevence u lidí s genetickou zátěží s celoživotně zvýšeným rizikem nádorového onemocnění. Nejčastější jsou alterace v genech *BRCA 1* a *BRCA 2*, méně často v genech *CHEK2*, *P53*, *ATM* a *STK11*. Součástí primární prevence je profylaktická bilaterální mastektomie, která sníží riziko karcinomu prsu o 85-90 % [106]. Výkon nezaručuje stoprocentní eliminaci rizika, protože při výkonu není mléčná žláza odstraněna úplně celá, její periferní část nebo část v okolí bradavky bývá ponechána.

Profylaktická salpingo-oophorektomie u nosiček mutace genu *BRCA* výrazně snižuje (až o 80 %) riziko rozvoje karcinomu tubo-ovariálního, ale také karcinomu prsu. V případě mutace *BRCA 1*, se udává snížení rizika vzniku ZN prsu až o 64 %, u nosiček mutace *BRCA 2* je riziko sníženo dokonce až o 84 % [107]. Snížení incidence těchto malignit přináší benefit především ve snížení mortality. Radikálnější zákrok provedením salpingo-oophor-hysterektomie, přináší ještě výraznější redukci rizika vzniku maligního onemocnění, a to hned z několika důvodů. Mutace genů *BRCA* s sebou nese asi 30 % riziko vzniku karcinomu těla a hrdla dělohy. Odstraněním dělohy je sníženo také riziko vzniku nádoru v malé části vejcovodů, které se při provedení salpingo-oophorektomie ponechávají *in situ*. Dalším důvodem je eliminace rozvoje karcinomu endometria v případě chemoprolaxe či léčby tamoxifenem. Načasování a radikalitu preventivního chirurgického výkonu ovlivňuje několik faktorů, především věk a reprodukční plány pacientky.

Možnosti **chemoprevence** u lidí se zvýšeným rizikem karcinomu prsu byly testovány v několika randomizovaných studiích. Byla prokázána účinnost tamoxifenu, raloxifenu a anastrozolu [108, 109]. Studie NSABP P01 hodnotila snížení incidence karcinomu prsu u téměř 300 pacientů, u nichž některé karcinomy vznikly na podkladě mutace *BRCA 1/2*. Snížení incidence se neprokázalo u *BRCA 1*, ovšem u nosiček mutace genu *BRCA 2* vedla chemoprevence tamoxifenem ke snížení rizika o 62 % [110].

4 Karcinom prsu mladých žen

Zhoubné onemocnění prsu u premenopauzálních žen se v mnohém zásadně liší od onemocnění, která jsou diagnostikována ženám starším. U mladých žen jsou častěji zastoupeny jiné histomorfologické typy karcinomu, které mívají nepříznivější prognostické znaky – absence hormonálních receptorů, vysoký grade a vysoká proliferační aktivita nádorových buněk, častěji bývá v histologickém obraze přítomna lymfangioinvasze.

Zhoubný novotvar prsu je ve skupině mladých žen častěji diagnostikován v pokročilém stádiu [111]. Příčinou může být rychlý průběh onemocnění díky agresivnímu biologickému chování, absence screeningových vyšetření v takto nízkém věku, obtíže v diagnostice a jistě také podcenění suspektního klinického nálezu jak ze strany ženy samotné, tak ze strany lékařů první linie, kdy se na možnost maligního onemocnění v nízkém věku zpočátku nepomýšlí. Většina mladých žen si nádor prsu detekuje sama [112, 113]. V době, kdy se tumor stane palpovatelným, má již bohužel velmi často značnou velikost a pokročilé stádium.

Průběh onemocnění bývá agresivnější, dříve se objevují vzdálené metastázy i relaps onemocnění. Vyšší je pravděpodobnost lokoregionální recidivy onemocnění a vzniku kontralaterálního nádoru [9]. Ve skupině mladých žen s diagnostikovaným karcinomem prsu je kratší přežití bez známek nemoci (DFS) i celkové přežití (OS).

U mladých nemocných se ZN prsu se také předpokládá vliv odlišných rizikových faktorů [11]. Onemocnění častěji vzniká na podkladě vrozené genetické predispozice, nejčastěji dané mutací tumor supresorových genů *BRCA 1* a *BRCA 2*.

Karcinom prsu a jeho léčba u mladých žen má svá specifika a má výrazný dopad nejen na vzhled, ale také na psychiku a sexualitu nemocných. Jedním z hlavních problémů komplikujících diagnostiku a léčbu, kterým musejí mladé nemocné čelit, je přání zachovat fertilitu a problém s léčbou navozenou menopauzou. Zvláštní problematiku představuje karcinom prsu diagnostikovaný v adolescenci, těhotenství a v době kojení. Vzhledem k uvedeným odlišnostem vyžaduje tato skupina nemocných s karcinomem prsu odlišný, individuální přístup, dobré odborné znalosti a centralizaci léčby.

4.1 Epidemiologie

Incidence zhoubných nádorů prsu u mladých žen je nízká a liší se podle stanovené hranice věku. Někteří autoři uvádějí hranici věku mladých žen 30, 35, 40, 45 a někdy i 50 let. Ve světové literatuře se často udává hranice věku 40 let, v české literatuře bývá hranicí věk 35 let. Ve Spojených státech amerických bylo v roce 2006 z celkového počtu 274 900 nově diagnostikovaných případů ZN prsu. Počet onemocnění ve věkové kategorii do 35 let věku představovalo méně než 2,7 %, a ve skupině žen mladších 30 let pouze 0,6 % z celkového počtu [114]. Přestože absolutní počet zhoubných novotvarů prsu diagnostikovaných u mladých žen stoupá, incidence onemocnění v této věkové skupině je dlouhodobě stabilní [115-116].

Každoročně je v České republice u žen do 35 let nově diagnostikováno 400-500 případů zhoubných novotvarů prsu, invazivních (diagnóza C50) i neinvazivních karcinomů *in situ* (D50) [117]. Hrubá incidence se pohybuje okolo 25/100 000 žen ve věkové kategorii do 44 let. Invazivních karcinomů prsu ve věkové skupině do 35 let věku, je v ČR ročně odhaleno 130-140. Absolutní počty incidence a mortality ZN prsu diagnostikovaných do 35 let věku za posledních 20 let shrnuje **tabulka 11**. Jak je patrné, incidence karcinomu prsu (dg.C50) se za posledních 20 let zdvojnásobila, mortalita dlouhodobě osciluje mezi 10-20 případy úmrtí za rok.

Rok	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Incidence	74	59	73	61	58	53	79	67	72	88
Mortalita	10	17	15	6	11	5	9	2	12	7
Rok	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Incidence	88	108	111	97	127	126	143	143	142	128
Mortalita	13	17	12	12	9	10	20	11	14	9

Tabulka 11: Absolutní počty nově diagnostikovaných ZN prsu (C50) a úmrtí do 35 let věku mezi lety 1995-2014 [zdroj: svod.cz]

Stejně jako u pacientek starší věkové kategorie, také u mladých žen mortalita u ZN prsu dlouhodobě nepatrně klesá a stagnuje [118]. Důvodem snad může být pokrok v nových možnostech adjuvantní léčby.

4.2 Rizikové faktory

V kapitole „3.4.3 Další rizikové faktory“ byly zmíněny statistické modely vytvořené k odhadu míry rizika vzniku karcinomu prsu. Gailův model zahrnuje do předpovědi věk, osobní a rodinnou historii ZN prsu, věk menarché, věk první gravidity a nově také denzitu prsní tkáně. Tento model ovšem vůbec nezohledňuje paternální rodinnou historii či BRCA status, pro stanovení rizika u mladých žen je nevhodný [119]. Vhodnějším je pro skupinu žen nízkého věku spíše Clausové model.

Jako významný indikátor rizika karcinomu prsu mladých žen, se ukázala být pozitivní **rodinná anamnéza**. Švédská populační studie hodnotila skupinu 262 pacientek s karcinomem prsu, mladších 40 let. Pozitivní rodinnou anamnézu karcinomu prsu či ovarií mělo celých 48 % [120].

Nezávislým rizikovým faktorem ZN prsu u mladých žen je **rasa**. Data dle SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) ukazují, že u Afroameričanek žijících v USA, je karcinom prsu diagnostikován v nižším věku a má vyšší mortalitu než u bělošek, přestože incidence je nižší [121]. Nižší incidenci a mortalitu u karcinomu prsu mají ženy hispánského a asijského původu – **příloha 5** [122].

Radioterapie hrudníku v rámci léčby Hodgkinova lymfomu, především v období adolescence, vede k hypoplazii ozářené prsní žlázy a několikanásobně zvyšuje riziko rozvoje karcinomu prsu i u mladých žen. Nemocná s Hodgkinovou chorobou, která v 25 letech podstoupila radioterapii hrudníku, má 29 % riziko rozvoje karcinomu prsu do 55 let věku. U zdravé ženy je toto riziko jen 3 % [123].

Karcinom prsu se řadí mezi onemocnění hormonálně závislé. **Hormonální vlivy** byly zkoumány v mnoha studiích po celém světě. Riziko vzniku karcinomu prsu je zvýšeno během prvních 5 let od porodu, a to především po porodu prvního potomka. Až na placenty a předčasný porod také ženě přinášejí vyšší riziko ZN prsu [124]. Na druhou stranu se zdá, že potrat toto riziko nezvyšuje [125]. Rozvoj karcinomu prsu premenopauzálních žen mohou ovlivňovat také prenatální faktory. Zvýšené riziko o 20 % mají ženy s porodní váhou ≥ 4000 g [126]. Věk matky je dalším rizikovým faktorem. Čím je žena starší, tím větší riziko vzniku karcinomu prsu má její potomek [127]. Předpokládá se, že expozice estrogenům na vyvíjející se embryo způsobuje zvýšení počtu mamárních kmenových buněk v době narození a zvyšuje riziko vzniku maligních transformací [128].

Zvýšení rizika vlivem přípravné hormonální léčby před *in vitro* fertilizací nebylo potvrzeno při analýze 15 studií s více než 60 tisíci ženami [129]. Několik studií také zkoumalo vliv perorální hormonální antikoncepce na vznik karcinomu prsu. Mezi výsledky jednotlivých studií jsou však značné diskrepance. Dle některých studií užívání hormonálních kontraceptiv riziko zvyšuje, dle jiných ho snižuje a výsledky dalších studií naznačují, že užívání hormonální antikoncepce nemá na rozvoj karcinomu prsu žádný vliv [130].

U mladých žen má významnou roli na vznik karcinomu prsu vliv **genetické zátěže**, nejčastěji na podkladě vrozené mutace genu *BRCA 1* či *BRCA 2*. Hereditární predispozice je příčinou 5-10 % všech karcinomů prsu [5], ve skupině mladých žen je podíl karcinomů vzniklých na podkladě vrozené mutace vyšší. I u mladých nemocných však drtivá většina karcinomů prsu vzniká v důsledku spontánních, somatických mutací. Udává se, že karcinomy asociované s *BRCA* mutací, vznikají o dekádu dříve než ostatní nádory, bez mutace genu *BRCA* [131-133]. Na možnost hereditární zátěže je třeba pomýšlet právě u karcinomů prsu s časným začátkem, u bilaterálních nádorů, u nádorů vaječníků, u mužů s karcinomem prsu, a u pacientek s rodinnou zátěží, myšleno s anamnézou nádoru prsu či ovaria u příbuzných prvního stupně [134].

Průměrné kumulativní riziko karcinomu prsu u nosiček mutace *BRCA 1* je 65 % do 70 let věku, u nosiček mutace *BRCA 2* činí stejné riziko 45 % [135]. Ukázalo to analýza 22 studií s 6965 pacientkami s karcinomem prsu. Ve zdravé populaci mají ženy celoživotní riziko karcinomu prsu 11 % ve věku 85 let [136].

Syndrom Li-Fraumeni je velmi vzácný a je asociován se zárodečnou mutací genu *TP53* [137]. Kromě vysokého rizika vzniku osteosarkomů, sarkomů měkkých tkání, nádorů mozku, plic a leukémie, s sebou Li-Fraumeni syndrom nese také riziko časného rozvoje karcinomu prsu. Nosiči mutace *TP53* mají riziko vzniku karcinomu prsu 50 % do 35 let věku, celoživotní riziko je 90 % [138]. Karcinomy prsu vznikající na podkladě Li-Fraumeni syndromu, bývají zpravidla velmi agresivní a špatně odpovídají na léčbu.

Jednoznačným protektivním faktorem je kojení, a to jak pro premenopauzální, tak pro postmenopauzální ženy. Velká metaanalýza shrnující výsledky 47 epidemiologických studií ze 30 zemí světa ukázala, že každý rok kojení statisticky významně snižuje riziko karcinomu prsu o 4,3 % u žen před i po menopauze [139]. Protektivní vliv u mladých žen se přičítá také mírné nadváze, u postmenopauzálních žen je vyšší BMI naopak rizikem.

4.3 Morfologické charakteristiky

Velmi častým typem karcinomu prsu v dětství a u mladých dívek, je sekreční karcinom, známý také jako juvenilní [140, 141]. Jedná se o nízce maligní typ karcinomu, s velice indolentním klinickým chováním a příznivou prognózou. Vzdálené metastázy jsou u tohoto typu karcinomu extrémně vzácné. Léčba spočívá v provedení široké lokální excize a disekci axilárních lymfatických uzlin. I přes indolentní chování a dobrou prognózu je nutné nemocné po léčbě sekrečního karcinomu dlouhodobě dispenzarizovat, neboť hrozí oddálená rekurence onemocnění.

U adolescentních a dospělých žen se nejčastěji vyskytuje invazivní karcinom, v 70 % duktálního typu. Ve srovnání se ženami vyšších věkových kategorií vykazují karcinomy mladších nemocných častěji prognosticky nepříznivé znaky. Nádorové buňky bývají hůře diferencované (vyšší grade), mají vyšší mitotický index, vysokou expresi Ki67 a p53, častěji bývá přítomna lymfovaskulární invaze [142-144]. Karcinom prsu diagnostikovaný u mladých pacientek častěji nevykazuje expresi hormonálních receptorů. Z pohledu dělení karcinomů prsu dle profilů genové exprese, je v této věkové kategorii častěji zastoupen typ *HER2* pozitivní a triple negativní typ. Disproporčně je snížen podíl karcinomů typu luminal A.

Ve skupině postmenopauzálních žen můžeme poslední roky sledovat pozitivní vliv screeningu v častějším zastoupení nižších stadií onemocnění. U mladých nemocných, které nepodléhají mamografickému screeningovému programu, pozorujeme vyšší podíl karcinomů prsu diagnostikovaných v pokročilém stadiu a přítomnost nádorových buněk v axilárních lymfatických uzlinách [145], **tabulka 12**. Diagnóza karcinomu *in situ* je před 40. rokem života méně častá, pravděpodobně ze stejného důvodu.

Charakteristika	Mladší 36 let (%)	Starší 36 let (%)
Stadium II	47	40
Stadium III	14	4
Pozitivní axilární LU	51	35
Pozitivní okraje	21	16
Intraduktální komponenta	83	77
Špatně diferencovaný nádor	80	44

Tabulka 12: Srovnání pokročilosti karcinomu prsu dle věku v době diagnózy [145]

Karcinomy s fenotypem bazálních buněk, mají typicky high-grade morfolologii a vykazují agresivní klinický průběh [146]. Důležitou vlastností těchto karcinomů je současná negativita receptorů pro estrogeny a progesteron; společně s absencí exprese proteinu HER-2/neu, označovaná jako “triple negativita”. Bazaloidní karcinom byl jako jednotka nejdříve definován genovým expresním profilem, později byly popsány hlavní morfologické a imunohistochemické charakteristiky [63]. Jde o karcinom s četnými mitózami, ložisky geografických nekrotů a vysokou proliferační aktivitou. Bazaloidní karcinom představuje morfologické spektrum, jehož charakteristickým rysem jsou solidní bohatě celulární ložiska bez žlázové diferenciaci, doprovázená hojným lymfoidním infiltrátem ve stromatu (dříve označovaný jako “atypický medulární karcinom”).

V imunoprofilu bazaloidního karcinomu dominuje exprese vysokomolekulárních cytokeratinů bazálních buněk, především cytokeratinů CK14 a CK5/6. Nádorové buňky exprimují i další markery bazaloidních/myoepiteliálních buněk, především p63 protein, vimentin, a EGFR (epidermal growth factor receptor).

Triple negativní imunoprofil se nachází zhruba u 10-17 % všech karcinomů prsu. Jedná se o heterogenní skupinu nádorů, které charakterizuje absence hormonálních receptorů a HER-2/neu overexprese, spektrum histomorfologických typů a variabilita prognózy [147]. U mladých žen mají triple negativní karcinomy téměř vždy podobu tzv. atypického medulárního nebo bazaloidního karcinomu a high-grade morfolologii, spojenou s vysokou proliferační aktivitou a nepříznivým klinickým průběhem.

4.4 Léčba

Management terapie karcinomu prsu mladých, premenopauzálních nemocných se neliší od principů léčby starších pacientek. Je však třeba zohlednit řadu závažných dalších faktorů, specifických pro skupinu mladých žen. Vzhledem k tomu, že karcinomy prsu mladých žen mívají častěji agresivnější klinický průběh a horší celkovou prognózu, na základě konsenzu National Institut of Health (NIH) i konference v St.Gallen, se u všech žen do 35 let věku s diagnostikovaným karcinomem prsu, doporučuje podat adjuvantní léčbu [148, 149]. Při indikaci adjuvantní léčby u mladých žen je třeba vzít v úvahu riziko léčbou indukovaného snížení fertility, časně menopauzy a účinky léčby na denzitu kostní tkáně. Léčba karcinomu prsu může mít závažné vedlejší účinky i v dlouhodobém časovém horizontu. Zatím toho moc nevíme o míře kardiotoxicity radioterapie v kombinaci s léčbou antracykliny, taxany a trastuzumabem z dlouhodobého hlediska [138].

Karcinom prsu mladých žen je spojen se zvýšeným rizikem lokoregionální rekurence po prs šetřícím chirurgickém zákroku [150], přesto není nízký věk kontraindikací k provedení záchovné operace prsu. Randomizované studie prokázaly ekvivalentní celkové přežití (OS) u pacientů po provedení radikální mastektomie a záchovné operace následované radioterapií [151, 152]. Studie vedená EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) prokázala, jaký má význam boost na lůžko tumoru u pacientek po záchovné operaci a radioterapii prsu v dávce 50 Gy. Mladým ženám do 40 let věku přinesl následný boost v dávce 16 Gy větší benefit v podobě snížení rizika rekurence do deseti let z 24 % na 14 %. U starších pacientek nad 60 let znamenal boost na lůžko tumoru snížení rizika rekurence do deseti let ze 7 % na 4 % [153].

Ve Spojených státech amerických se každým rokem stále více žen s jednostranným nádorem prsu rozhodne podstoupit kontralaterální profylaktickou mastektomii (CPM). Přestože není CPM spojena s vyšším celkovým přežitím, je tento trend pozorován u žen všech věkových kategorií bez ohledu na přítomnou hereditární zátěž [154-156]. Riziko rozvoje karcinomu v kontralaterálním prsu je u většiny žen relativně nízké a v posledních letech dále klesá díky lepší adjuvantní léčbě [157]. Pro většinu pacientek představuje větší riziko rozvoj systémové rekurence onemocnění než kontralaterálního nádoru. Ve studii se 123 mladými ženami do 40 let s karcinomem prsu, které se rozhodly podstoupit CPM, tak většina z nich učinila ve snaze o zlepšení svých šancí na úplné dlouhodobé vyléčení a

přežití a ve snaze docílit „klid v duši“ [158]. Tato data naznačují, že je potřeba pacientky s karcinomem prsu lépe informovat o benefitech a rizicích takto rozsáhlého chirurgického výkonu, které obnáší provedení mastektomie a u velké části žen také následné rekonstrukční operace prsu.

Dle většiny klinických studií se efekt adjuvantní chemoterapie u jednotlivých věkových skupin nemocných neliší. Metaanalýza hodnotící výsledky 13 randomizovaných studií prokázala, že kombinace taxanů s chemoterapií na bázi antracyklinů u vysoce rizikových nemocných prodlouží bezpříznakové období i celkové přežití, a to bez ohledu na věk či menopauzální stav [159]. Výsledky klinické studie HERA ukazují, že věk není prognostickým ani prediktivním znakem časně rekurence onemocnění u pacientek s *HER2*-pozitivním karcinomem [160]. V současné době dělení karcinomů prsu podle jejich molekulárních profilů není jednoznačné, zda je věk nezávislým prognostickým faktorem. Zdá se, že pouze nízký věk nemusí být důvodem léčby chemoterapií a některé mladé nemocné z léčby chemoterapií nemají žádný benefit a hormonální léčba je u nich dostačující [51, 161].

Standardní délka podání adjuvantní hormonální léčby všech věkových kategorií vždy bylo 5 let. V nedávné době byly upraveny guidelines a doporučuje se zvážit prodloužení délky na 10 let. Ke změně došlo především na základě výsledků studie Attom (adjuvant Tamoxifen – To Offer More?) a ATLAS (Adjuvant Tamoxifen Longer Against Shorter), podle nichž delší podání tamoxifenu přináší kratší přežití bez známek nemoci (DFS) i celkového přežití (OS) [162]. Studie MA.17 prokázala významný benefit v prodlouženém podání adjuvantní hormonální léčby letrozol na 6-10 let u postmenopauzálních žen po 5 letech podání tamoxifenu [163]. Výraznější benefit (lepší výsledky DFS) z prodlouženého podání měly ženy, které byly v době diagnózy premenopauzální a do doby randomizace po 5 letech adjuvantní léčby tamoxifenem definitivně prošly menopauzou, než žen postmenopauzálních již v době stanovení diagnózy [164].

Rozhodnout jaká je optimální hormonální léčba mladých žen s karcinomem prsu bylo cílem mnoha klinických studií. Za standardní součást adjuvantní systémové léčby premenopauzálních žen s hormonálně dependentním karcinomem prsu, byl vždy považován tamoxifen v denní dávce 20 mg, a to bez ohledu na věk a stav lymfatických uzlin [165].

Ve studii ABCSG-12 (The Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group) byl srovnán efekt anastrozolu a tamoxifenu u premenopauzálních žen s ovariální supresí, která byla zajištěna podáváním goserelinu po dobu 3 let. Průměrná délka přežití bez známek nemoci (DFS) se v obou sledovaných ramenech výrazně nelišila, ovšem celkové přežití (OS) bylo vyšší u nemocných léčených tamoxifenem [166]. Po 4 letech sledování bylo více než 90 % nemocných bez známek relapsu onemocnění. Zdá se, že kombinovaná adjuvantní hormonální terapie bez chemoterapie může být nejvhodnější léčebnou strategií u vybraných pacientek s hormonálně závislým karcinomem prsu. Ovšem je třeba si uvědomit, že pacientky do 40 let věku představovaly pouze 18 % všech žen v této studii. Výsledky studie jsou aplikovatelné u velmi mladých žen do 35 let věku jen omezeně.

Pacientky ve studii ABCSG-12 byly dále randomizovány, některým z nich byla dvakrát ročně podávána intravenózně kyselina zoledronová, ostatní byly bez léčby bisfosfonáty. Bylo zjištěno, že ve skupině žen starších 40 let přidáním kyseliny zoledronové k hormonální léčbě a ovariální supresi lze dosáhnout lepších výsledků OS i DFS a lepší denzity kostní tkáně. Ve skupině žen mladších 40 let však léčba kyselinou zoledronovou tento benefit nepřinesla [166].

Randomizovaná studie TEXT (Tamoxifen and Exemestan Trial) proti tamoxifenu postavila tentokrát jiný inhibitor aromatázy, exemestan, a srovnala jejich efekt u premenopauzálních žen s ovariální supresí, zajištěnou užíváním triptorelinu po dobu 5 let. Podávání chemoterapie bylo v této studii ponecháno na uvážení lékaře a preferencích pacientky. Studie se účastnilo přes 2600 žen. V rameni s exemestanem bylo dosaženo výrazně lepších výsledků DFS než v druhém rameni s tamoxifenem. Celkové přežití obou skupin se významně nelišilo [167].

Cílem studie SOFT (Suppression of Ovarian Function Trial) bylo rozhodnout, zda ovariální suprese v kombinaci s tamoxifenem či exemestanem, přináší nějaký benefit proti léčbě tamoxifenem samotným. Pacientky, které byly předléčené adjuvantní chemoterapií, musely zůstat nebo být opět premenopauzální do 8 měsíců od ukončení podání chemoterapie, aby byly zařazeny do studie. Poslední z plánovaných 3000 premenopauzálních žen byla zařazena do studie SOFT v lednu 2011.

Ve skupině žen s nízkým rizikovým karcinomem, které nebyly léčeny chemoterapií, bylo dosaženo pětiletého přežití bez známek onemocnění přibližně stejně často ve všech třech sledovaných ramenech. Ovšem v kategorii žen s rizikovějším onemocněním, které byly léčeny chemoterapií a nedošlo u nich k menopauze, vedlo přidání ovariální suprese k tamoxifenu ke zvýšení počtu dosažení pětiletého přežití bez známek nemoci o 4,5 %.

V rameni žen léčených samotným tamoxifenem bylo dosaženo pětiletého přežití bez známek onemocnění v 78 %, v rameni s tamoxifenem a ovariální supresí 82,5 % [168]. Ukázalo se, že přidání ovariální suprese přináší největší benefit celkového přežití u nejmladších žen. Pětiletého přežití bez známek onemocnění u žen mladších 35 let bylo dosaženo v 67,7 % v rameni s tamoxifenem, 78,9 % u žen léčených tamoxifenem a ovariální supresí, a 83,4 % u pacientek s ovariální supresí a exemestanem [168].

Na základě výsledků studií TEXT a SOFT lze doporučit ovariální supresi pomocí LHRH inhibitorů či chirurgické kastrace u mladých žen s vysoce rizikovým karcinomem prsu.

Inhibitory aromatázy (IA) jsou užívány v léčbě postmenopauzálních žen s hormonálně dependentním karcinomem prsu. Také se užívá u žen, které byly při zahájení léčby premenopauzální, ale došlo u nich k menopauze po léčbě adjuvantní chemoterapií. Tento postup nemusí být vždy efektivní, protože menopauza indukovaná chemoterapií je u velmi mladých žen zpravidla reverzibilní a hladiny estradiolu se následně mohou opět zvýšit na premenopauzální hodnoty [169]. Mimoto, také podávání tamoxifenu může vést k nepravidelné menstruaci nebo prolongované amenoree a může vzbudit dojem, že u ženy proběhla menopauza, přestože biochemické hladiny estradiolu ukazují opak.

U mladých žen s *HER2*-pozitivním karcinomem je doporučeno roční podání trastuzumabu v adjuvanci. Klinická randomizovaná studie HERA s 5099 pacientkami jednoznačně potvrdila jeho přínos. Část nemocných byla léčena trastuzumabem 1 rok, část po dobu 2 let, ostatní byly pouze sledovány. Po 11 letech bylo vyhodnoceno, že roční podávání trastuzumabu významně snížilo riziko rekurence a smrti proti pouhé observaci nemocných. Dvouleté podávání trastuzumabu nezvýšilo DFS proti ročnímu podání [171]. Deseti let DFS dosáhlo 63 % žen bez trastuzumabu a 69 % žen s roční či dvouletou léčbou [170]. Jiná studie prokázala, že léčba trastuzumabem je efektivnější, pokud je podávána zároveň s chemoterapií obsahující taxan, než když je zahájena až po skončení chemoterapie [171].

4.5 Specifika léčby mladých žen

Mladé ženy s karcinomem prsu představují unikátní skupinu pacientek se specifickými riziky a prioritami, které musí onkolog při výběru vhodné léčebné strategie zohlednit. Ve snaze o snížení rizika rekurence onemocnění musí mít na paměti potenciální následky léčby zahrnující obavy o fertilitu, předčasnou menopauzu a její symptomy, sexuální dysfunkci, osteoporózu, nárůst hmotnosti, tělesné změny a z dlouhodobého hlediska možné kardiovaskulární následky léčby či sekundární malignity [172].

Nemocné z této věkové kategorie mají navíc vyšší pravděpodobnost rozvoje psychosociálních problémů a úzkosti v důsledku maligního onemocnění, mají větší obavy ze ztráty fyzické atraktivity a výkonnosti v pracovní i rodinné sféře [173-175].

Gonadotoxicita léčby závisí na typu cytostatika, na celkové kumulativní dávce, věku pacientky, délce léčby, předchozí operaci vaječníků či radioterapii pánevní oblasti. Ovariální toxicita je běžný vedlejší efekt alkylačních cytostatik, vysoké riziko hrozí při léčbě cyklofosfamidem, ifosfamidem, prokarbazinem, cisplatinou či doxorubicinem. U zdravých žen dochází od 35. roku života k postupnému poklesu počtu funkčních ovariálních folikulů a během následujících 10-15 let zároveň klesá senzitivita zbývajících folikulů vůči gonadotropinu. Riziko ovariálního selhání indukovaného chemoterapií je vyšší u žen s blížící se menopauzou při vyčerpání folikulárních rezerv [176]. Projeví se změnami menstruačního cyklu, symptomy menopauzy, změnami fertility až infertilitou.

Mezi hlavní příznaky menopauzy patří návaly horka, noční pocení, zvýšená únava, výkyvy nálady, suchost vaginální sliznice, potíže se spánkem, dyspareunie, bolesti kloubů a další [177]. Menopauzální symptomy bývají u pacientek s karcinomem prsu závažné a mají výrazný negativní vliv na celkovou kvalitu života. Mohou být způsobeny jak hormonální léčbou antiestrogeny, tak na podkladě ovariální suprese [178].

U velmi mladých pacientek do 35 let věku obvykle vlivem adjuvantní chemoterapie nedochází k rozvoji permanentního menopauzálního stavu. Některé ženy si během léčby dokonce zachovávají menses, u jiných je léčbou navozena reverzibilní amenorea. Nicméně, i přes obnovení menstruačních cyklů, může léčba chemoterapií snížit ovariální rezervy a fertilitu, a permanentní menopauza se dostaví v nižším věku jako oddálený efekt léčby [179, 180].

Průměrný věk prvního porodu v rozvinutých zemích v posledních desetiletích postupně vzrůstá. Podle údajů Českého statistického úřadu průměrný věk žen v době porodu prvního potomka v ČR v roce 2015 činil 28,2 roku, zatímco v roce 1970 to bylo 22,5 [181]. Velká část žen v současné době těhotenství odkládá a v 35 letech stále nemá splněné reprodukční plány a část žen je dokonce stále nuliparní. Zachování fertility má pro ženy do 35 let proto velký význam.

Společnost ASCO vytvořila doporučení zabývající se problematikou onkofertility (Clinical Oncology Recommendations on Fertility Preservation in Cancer Patients) [182]. Jednou z možností reprodukční ochrany u pacientek s onkologickým onemocněním je **kryoprezervace oocytů**. Jedná se o experimentální proceduru, která je technicky značně náročná. Oocyty jsou velmi citlivé vůči nízkým teplotám a v průběhu zmrazení dochází často k jejich poškození, což vede k nízké úspěšnosti následných pokusů o početí [183]. Tato metoda je výhodná pro ženy bez partnera, které si nepřejí využít sperma neznámého dárce k vytvoření a konzervaci embryí.

Kryoprezervace embrya s následnou IVF (*in vitro* fertilizace) slibuje lepší výsledky a je nejrozšířenější metodou. Běžně je součástí také ovariální stimulace gonadotropiny, GnRH agonisty či antagonisty. Následkem toho dochází k 10 až 20násobné elevaci hladin estrogenů proti fyziologickým hodnotám během menstruačního cyklu, což může být pro pacientky s karcinomem prsu velmi rizikové. Oocyty lze odebrat i během nestimulovaného cyklu, výtěžnost embryí je pak ovšem extrémně nízká. Po rozmrazení je 35-90 % embryí životaschopných a úspěšnost následné implantace se pohybuje mezi 8–30 % [184]. Kromě hormonální stimulace je další možnou nevýhodou či limitací této metody potřeba partnera či dárce spermatu a časový odklad zahájení chemoterapie [185].

Výhodou **kryokonzervace a reimplantace ovariální tkáně** je, že není potřeba zmíněná hormonální stimulace, ani partner či donor spermií [186]. Princip metody je založen na objevu, že primordiální folikuly obsažené v kortexu ovarii jsou odolnější vůči poškození nízkými teplotami, než je tomu u zralých oocytů [187].

Další výhodou kryokonzervace ovariální tkáně je, že jako jediná dokáže zvrátit menopauzu. Obnovení endokrinní funkce je možné jak po ortotopické [188], tak po heterotopické transplantaci ovariální tkáně [189]. Při ortotopické transplantaci je tkáňový štěp reimplantován na postmenopauzální ovarium nebo do okolí infundibulopelvickeho

vazu. Výhodou je možnost přirozeného početí. V případě heterotopické transplantace je ovariální tkáň implantována subkutánně do oblasti předloktí či suprapubicky. Výhodou je možnost sledování vývoje folikulů a v případě potřeby snadné odstranění štěpu.

Podávání GnRH agonistů v průběhu gonadotoxické chemoterapie má zajistit ochranu oocytů a ovariálních funkcí. Protektivní vliv analog gonadoliberinu byl zkoumán již v roce 1987 ve studii s pacientkami léčenými pro Hodgkinův lymfom [190] a později v několika studiích, které zahrnovaly pacientky s karcinomem prsu. Výsledky studií jsou však nekonzistentní a nepřinášejí jednoznačný průkaz protektivního efektu této metody [191].

Relativně příznivé výsledky přinesla studie, které se zúčastnilo 24 premenopauzálních žen s karcinomem prsu, kterým byl při léčbě chemoterapií podáván analog GnRH leuprorelin. U 23 sledovaných žen došlo po skončení léčby k obnovení menstruačních cyklů, 11 z nich se následně pokoušelo o graviditu. Z celkového počtu 6 dosažených těhotenství u 5 žen, pouze 2 následně porodily zdravé dítě, 3 těhotenství skončily spontánním potratem, 1 bylo ukončeno pro zjištěný Downův syndrom u plodu [192].

Jiná studie prezentuje data 64 žen s karcinomem prsu, léčených goserelinem dávkou 3,6 mg měsíčně v kombinaci s adjuvantní chemoterapií. Po 55 měsících sledování došlo u 86 % pacientek k obnově normálního menstruačního cyklu [193].

Dalším specifikem léčby premenopauzálních žen s karcinomem prsu je otázka kontracepce. Již bylo zmíněno, že riziko rozvoje karcinomu prsu je zvýšeno během prvních 5 let od porodu. Pacientkám by mělo být doporučeno odložit těhotenství minimálně do doby, než je dokončena lokální a systémová léčba. Ženy s hormonálně negativním karcinomem by měly zvážit odklad těhotenství alespoň o 2-3 roky po stanovení diagnózy, kdy je riziko rekurence onemocnění nejvyšší [194].

Pacientky s hormonálně závislým karcinomem by se měly chránit před možným otěhotněním zvláště během hormonální léčby. Tamoxifen je teratogen, podávaný během těhotenství může u vyvíjejícího se plodu způsobit vrozené malformace. Jeho teratogenita se může také projevit až během dospělosti, nejčastěji abnormality urogenitálního traktu a kraniofaciální oblasti [195-197]. Všechny premenopauzální ženy léčené tamoxifenem by měly být poučeny, že během léčby mohou otěhotnět a to i v případě, že u nich dojde k amenoree. S těhotenstvím by měly vyčkat ještě nejméně 3-6 měsíců po ukončení podání tamoxifenu pro jeho dlouhý poločas rozpadu [198].

Hormonální kontracepce je u všech nemocných s karcinomem prsu v anamnéze kontraindikována, a to i v případě hormonálně nezávislých karcinomů. Alternativou jsou nehormonální metody kontracepce bariérové (kondom, pesar) či sterilizace. Nejednoznačný názor panuje ohledně bezpečnosti intrauterinních tělísek uvolňujících levonorgestrel (LNG IUS, low-dose levonorgestrel-releasing intrauterine system). Vysoké dávky progesteronu jsou uvolňovány lokálně, systémově pouze nízké dávky.

Finská epidemiologická studie z roku 2005, které se účastnilo přes 17 tisíc uživatelů LNG IUS, neprokázala zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu [199]. Retrospektivní studie malého souboru pacientek z roku 2008 neprokázala zvýšené riziko rekurence karcinomu prsu při užívání LNG IUS. Bylo však prokázáno zvýšené riziko rekurence na podskupině sledovaných pacientek, které si intrauterinní tělísko nechaly zavedené i po stanovení diagnózy karcinomu prsu [200]. Nehormonální intrauterinní tělíška obsahující měď nejsou u nemocných s karcinomem prsu kontraindikována.

Těhotenství po léčbě karcinomu prsu nezhoršuje prognózu. Naopak, pěti- a desetileté celkové přežití je vyšší u pacientek, které následně otěhotněly. Gravidita přinesla největší benefit ženám, které otěhotněly nejdříve 2 roky po léčbě ZN prsu [201].

Zvláštní pozornost zasluhuje karcinom prsu diagnostikovaný v graviditě, PABC (*pregnancy associated breast cancer*). Dle definice vzniká během nebo do 1 roku po těhotenství, s odhadnutou incidencí 1:3000-10 000 těhotenství [202-204]. Retrospektivní studie neprokázaly horší celkové přežití a DFS ve srovnání s kontrolní skupinou netěhotných pacientek stejného věku a stádia onemocnění [205-207]. Hlavním problémem je časová prodleva, se kterou je karcinom v těhotenství diagnostikován, snad z důvodu obtížnějšího klinického vyšetření. Pozdější odhalení nádoru s sebou nese pokročilejší stádia onemocnění. Pozitivní lymfatické uzliny má v době diagnózy 56-83 % gravidních nemocných, zatímco u netěhotných je to 38–54 % [208]. Riziko primárně generalizovaného onemocnění je 2,5 x vyšší [209].

Léčba PABC je založena na stejných principech jako léčba karcinomu prsu mimo těhotenství, nesmí však ohrozit fyziologický vývoj plodu. Bylo zjištěno, že předčasné ukončení probíhajícího těhotenství nepřináší lepší prognózu [210].

Chirurgický zákrok je možné provést během celého těhotenství. Standardní metodou je modifikovaná radikální mastektomie. Záchovná operace prsu je možná, pokud lze následně provést adjuvantní ozáření po porodu [205].

Radioterapie během těhotenství by ohrozila dítě zvýšeným rizikem malformací a sekundárních malignit, a snížením intelektu až mentální retardací [211, 212].

Chemoterapii lze pacientce podat od druhého trimestru gravidity. Během prvního trimestru by mohla cytostatika nepříznivě zasáhnout do organogeneze, hrozil by potrat či teratogeneze. Chemoterapeutické režimy obsahující antracykliny (FAC, AC, EC), stejně jako taxany, lze během druhého a třetího trimestru bezpečně užít [213, 214].

Trastuzumab není během těhotenství doporučen pro nedostatek důkazů jeho bezpečnosti [215]. Teratogenní účinky tamoxifenu již byly zmíněny, jeho podání je během gravidity kontraindikováno.

4.6 Prognóza

Karcinomy prsu, které se manifestují před 35. rokem života, jsou častěji hormonálně nezávislé, triple-negativní, s vysokou proliferační aktivitou nádorových buněk, mají vyšší grade, častěji vykazují lymfangioinvasi, agresivnější biologické chování, průběh onemocnění je rychlejší s časným zakládáním metastáz. Mnohé studie se zabývaly srovnáním charakteristik zhoubných novotvarů prsu premenopauzálních a postmenopauzálních žen, a srovnáním průběhu onemocnění a prognózy. Výsledky různých nezávislých studií byly víceméně shodné.

V roce 2002 byl publikován článek, ve kterém Dubsky s kolegy shrnul výsledky retrospektivní analýzy průběhu onemocnění 885 premenopauzálních pacientek, léčených ve Vídeňské všeobecné nemocnici. V souboru bylo 81 žen ≤ 35 let (9,2 %). V obou sledovaných skupinách byly prognostické faktory jako velikost a typ tumoru, grade, stav hormonálních receptorů a lymfatických uzlin ve stejném poměru. V analýze byl zkoumán vztah mezi věkem, klasickými prognostickými faktory, léčbou a průběhem onemocnění. Výsledky prokázaly, že věk ≤ 35 let je silným nezávislým prognostickým faktorem, pro období přežití bez progresu i celkové přežití. V analýze bylo ukázáno, že nízký věk je druhým nejsilnějším rizikovým faktorem, prvním je stav mízních uzlin [216].

V jiné populační studii, která sledovala 10 356 dánských premenopauzálních pacientek s karcinomem prsu, se negativní prognostický efekt nízkého věku projevil téměř výhradně ve skupině žen do 35 let s low-risk karcinomem bez postižení mízních uzlin, které byly zajištěny adjuvantní léčbou [217]. Tyto pacientky měly vyšší riziko úmrtí ve srovnání se ženami ve věku 45-49 let bez adjuvantní terapie.

Z 3700 premenopauzálních žen z IBCSG (*International Breast Cancer Study Group*) bylo celkem 314 mladších 35 let v době diagnózy. V obou skupinách nemocných byly ve stejném poměru zastoupeny faktory jako velikost nádoru a stav lymfatických uzlin. Retrospektivní analýza prokázala signifikantně horší DFS i OS ve skupině mladších pacientek. Desetiletého DFS bylo dosaženo u 35 % pacientek ≤ 35 let a u 47 % žen ≥ 35 let, desetiletého OS bylo dosaženo u 49 % mladých nemocných a 62 % starších žen [218].

Retrospektivní analýza 1703 pacientů léčených mezi lety 1981-1985 v pařížském Institutu Curie, prokázala nepřímou úměru mezi věkem a rizikem rekurence. Každý další rok věku znamenal snížení rizika rekurence o 4 % a snížení rizika úmrtí o 2 % [219].

5 Metodika a výsledky výzkumu

Naše retrospektivní studie vychází ze souboru 16 294 pacientek všech věkových kategorií, kterým byl mezi lety 2006-2015 diagnostikován zhoubný novotvar prsu. Histologická verifikace diagnózy včetně stanovení standardních prediktivních markerů imunohistochemickým vyšetřením byla provedena v Šiklově ústavu patologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Plzni nebo v Bioptické laboratoři v Plzni.

Z tohoto souboru bylo následně vybráno celkem 356 pacientek (2,2 %), u nichž se karcinom prsu manifestoval do 35. roku věku. Celkové počty mladých pacientek pod 35 let za jednotlivé roky sledovaného desetiletého období jsou uvedeny v **Příloze 6**. U těchto 356 nemocných jsme měli k dispozici kompletní výsledky bioptických vyšetření. Vyhodnotili jsme zastoupení jednotlivých histologických typů karcinomu, přítomnost hormonálních receptorů, overexpresi proteinu a/nebo amplifikaci genu *HER-2/neu*, proliferační aktivitu nádorových buněk, grade a přítomnost lymfangioinvaze.

Vlastní soubor tvoří celkem 93 pacientek, kterým byl diagnostikován zhoubný novotvar prsu do 35 let věku a které byly nebo jsou léčeny na Onkologické a radioterapeutické klinice Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Plzni (ORAK). Za využití klinického informačního systému WinMedicalc jsme dohledali další informace stran anamnézy (rodinná zátěž, genetická zátěž, menarché, užívání hormonální formy antikoncepce, aj.), užití onkologické léčby a průběhu onemocnění.

Jako kontrolní soubor slouží skupina 100 postmenopauzálních pacientek, vybraných náhodně ze všech žen léčených na ORAK pro invazivní karcinom prsu ve stejném časovém období let 2006-2015. V kontrolní skupině se nejednalo o nádory konsekutivní. Počet vybraných žen do kontrolní skupiny za jednotlivé roky souhlasil s počtem žen ≤ 35 let ve stejných letech. Minimální věková hranice 65 let v době stanovení diagnózy byla stanovena tak, aby byl zajištěn postmenopauzální stav všech pacientek kontrolní skupiny. Soubor postmenopauzálních nemocných sloužil ke srovnání zastoupení jednotlivých molekulárních typů karcinomu, přítomnosti prognostických a prediktivních faktorů, srovnání léčby a následného průběhu onemocnění.

Metodika imunohistochemických a fluorescenčních vyšetření

Pro imunohistochemickou analýzu receptorů ER/PR, exprese HER-2/neu a antigenu Ki-67 byly použity formalínem fixované, parafínem zalité tkáňové řezy (FFPE), 4- μ m silné, natažené na silanizovaná skla (3-aminopropyltriethoxy-silane, Sigma, St. Louis, MO). Řezy byly odparafinovány v xylole standardním způsobem a rehydratovány sestupnou řadou etanolu (od 100 % do 70 %). Oživení antigenity tkáně (antigen retrieval) bylo provedeno zahříváním řezů v 0,01 mol/l roztoku citrátového pufru (pH 6.0) v mikrovlnné troubě Micromed TTmega po dobu 40 minut. Endogenní peroxidázu blokovalo ponoření řezů v 3 % roztoku peroxidu vodíku v absolutním methanolu po dobu 5 minut. Řezy byly následně inkubovány s primární protilátkou v autostaineru LabVision po dobu 60 minut. Pro zviditelnění proběhlé reakce byl použit supersensitivní vizualizační komplex streptavidin-biotin-peroxidáza (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK) a 3-3'-diaminobenzidine (Sigma) jako chromogen. Nakonec byly řezy lehce dobarveny Mayerovým hematoxylinem. Pro každé vyšetření byly použity příslušné pozitivní a negativní kontroly.

V převážné většině se jednalo o vzorky z core-cut biopsií. Korelace výsledků z core-cut biopsie a z resekátu nebyla provedena.

Provedení a interpretace výsledků imunohistochemického vyšetření hormonálních receptorů vychází z doporučených postupů [220]. Pozitivním výsledkem vyšetření je přítomnost jaderné exprese ≥ 1 % nádorových buněk.

Index proliferační aktivity nádoru odpovídá procentu jader nádorových buněk pozitivních na přítomnost MIB1 protilátky. MIB1 pozitivní jádra byla počítána v mikroskopu Olympus BX50 vybaveném speciálním objektivem (zvětšení 40x) s vestavěnou mřížkou za pomoci hematologického mechanického kvantifikátoru vždy ve 20 náhodně vybraných histologických polích tak aby celkový počet hodnocených jader byl nejméně 1000.

Imunohistochemickým vyšetřením byla provedena také detekce overexprese HER-2/neu, hodnocení výsledků proběhlo dle standardních kritérií [221, 222]. Negativní případy (skóre 0) byly zcela bez prokazatelné reakce v membránách nebo vykazovaly slabou membránovou pozitivitu nanejvýš u 10 % buněk. Částečná slabá pozitivní membránová reakce u více než 10 % buněk je hodnocena jako negativní nález, skóre 1+. Slabá nadměrná exprese (skóre 2+) byla stanovena u nádorů se slabou až středně silnou

pozitivní membránou reakcí ve více než 10 % buněk, přičemž pozitivní reakce byla patrná v celé buněčné membráně. Silná pozitivní úplná membránová reakce ve více než 10 % buněk byla hodnocena jako silná nadměrná exprese (skóre 3+).

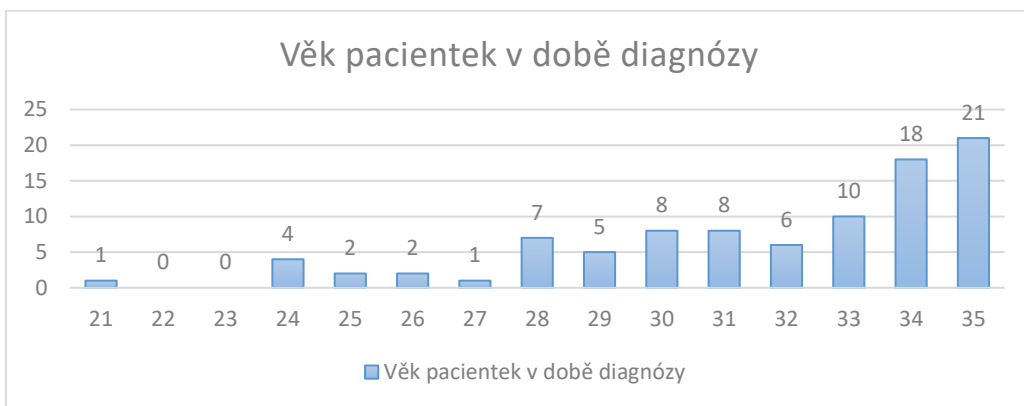
U všech karcinomů, u kterých byla imunohistochemicky potvrzena exprese HER-2/neu skóre 2+ a 3+, byl výsledek následně ověřen vyšetřením amplifikace genu *HER-2/neu* metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH). U nádorů bez přítomnosti hormonálních receptorů byla amplifikace genu *HER-2/neu* studována in situ hybridizační metodou i v případech imunohistochemicky negativních (skóre 0 a 1+) pro možnost diskordantního fenotypu [223]. Kompletní výsledky těchto vyšetření jsou uvedeny v **Tabulce 13**.

Imunohistochemická a FISH vyšetření nebyla pro potřeby naší práce opakována, metodika vyšetření ER/PR, Ki-67 a HER2 byla identická po dobu období 2006-2015.

Výsledky

Analýzou bioptických vyšetření výchozího souboru 356 nemocných mladších 35 let jsme zjistili četnost jednotlivých histologických typů zhoubných novotvarů prsu v takto nízké věkové kategorii. Duktální invazivní karcinom byl stanoven u 328 žen (92 %), lobulární invazivní karcinom pouze u 7 pacientek (2 %), invazivní tubulární karcinom byl diagnostikován 3x (0,8 %), medulární karcinom celkem v 15 případech (4 %), sarkom prsu diagnostikován u 3 žen (0,8 %), mucinózní rysy nádoru byly popsány v 7 případech (2 %).

Všechny výsledky sledovaných parametrů vlastního souboru mladých pacientek a kontrolní skupiny jsou v přehledu v **Tabulce 13**. Ve skupině 93 mladých pacientek do 35 let činí průměrný věk 31,7 let, medián 33 let. Nejmladší pacientce bylo v době diagnózy 21 let, počet ZN prsu dle věku pacientek ukazuje **Graf 6**. V kontrolní skupině 100 postmenopauzálních žen je průměrný věk 70,6 let, medián 69 let.



Graf 6: Rozdělení pacientek vlastního souboru dle věku v době diagnózy

Celkem 49 mladých pacientek z našeho souboru onemocnělo karcinomem, který nevykazoval známky exprese estrogenních, ani progesteronových receptorů (53 %). Imuno-overexpresi HER2/neu proteinu a amplifikaci *HER2/neu* genu jsme prokázali u 32 žen (34 %). Triple negativní imunoprofil, vyznačující se absencí hormonálních receptorů i *HER2/neu*, jsme zaznamenali u 30 mladých pacientek (32 %). Bazaloidní fenotyp byl prokázán v 18 případech, rysy medulárního karcinomu byly přítomny u 10 nádorů mladých žen.

V kontrolním souboru 100 žen starších 65 let v době diagnózy, byl hormonálně independentní karcinom prokázán pouze u 13 z nich, 87 vykazovalo pozitivní hormonální status (ER+/PR+). Nadměrná exprese a/nebo amplifikace genu *HER-2/neu* byla prokázána u 18 starších žen. Triple negativní fenotyp byl v této skupině pacientek velmi vzácný, prokázán byl pouze u 8 %.

Diskordantní fenotyp, tedy negativní výsledek imunohistochemického vyšetření (IHC) exprese HER2 a pozitivní výsledek při vyšetření *in situ* hybridizací (ISH), jsme zaznamenali u 2 mladých (IHC 0 a 1) a 1 postmenopauzální nemocné (IHC 0). Všechny tyto nemocné byly léčeny pro invazivní karcinom bez exprese hormonálních receptorů ER/PR, provedena u všech byla záchovná operace prsu s následnou adjuvantní chemoterapií a radioterapií s následným boostem v lůžku tumoru. U jedné mladé ženy, s IHC výsledkem 1, byla následně zjištěna mutace genu *BRCA 1*. U zbylých dvou žen s diskordantním fenotypem HER2 bylo vyšetření mutace *BRCA* negativní. Všechny tři ženy jsou nyní v kompletní remisi onemocnění.

Signifikantní rozdíl v prognostických faktorech byl zaznamenán při srovnání výsledků proliferační aktivity nádorových buněk a stupni jejich diferenciaci. MIB1 index > 30 % byl stanoven u 60 % mladých žen v porovnání s 18 % žen v kontrolní skupině. Naproti tomu dobře a středně diferencované karcinomy (grade 1 a 2 dle Nottinghamského skóre) byly častější v kontrolní skupině (90 %) než ve skupině ≤ 35 let (55 %). Špatně diferencované nádory (grade 3) představovaly 45 % všech karcinomů mladých pacientek, a jen 10 % nádorů postmenopauzálních žen. Medián grade byl u obou skupin 2.

Imunohistochemická analýza hormonálních receptorů ER/PR, index proliferační aktivity (MIB1 index), a *HER-2/neu* status (imunohistochemicky a *in situ* hybridizačními metodami) byly využity ke stanovení molekulárních profilů karcinomů prsu obou skupin.

Typ luminal A (ER+/PR+, MIB1 index \leq 20 %, grade 1/2, *HER-2/neu* negativní) představoval většinu nádorů starších žen (64 %), ale pouze 23 % karcinomů v souboru mladých nemocných. Podíl karcinomů typu luminal B (ER+/PR \pm , MIB1 index \geq 20 %, grade 2/3, *HER-2/neu* \pm) byl víceméně shodný mezi oběma sledovanými skupinami, u mladých žen představoval 25 % všech nádorů, u starší žen 23 %. Signifikantní rozdíl mezi oběma soubory nemocných jsme ovšem zaznamenali v četnosti manifestace *HER2*-pozitivních (20 % vs. 5 %) a triple negativních karcinomů (32 % vs. 8 %), oba typy byly u žen do 35 let 4x častější než v kontrolní skupině.

Srovnali jsme také velikost tumoru, stav lymfatických uzlin a přítomnost vzdálených metastáz v době stanovení diagnózy. Podíl nádorů T1 + T2 byl u obou skupin shodný (86 % vs. 88 %), u mladých žen převažovaly nádory T2 (48 % vs. 31 %), u starších nemocných byly častější nádory velikost T1 (57 % vs. 38 % u mladších). Negativní nález v lymfatických uzlinách (N0) v době diagnózy, byl sledován častěji v kontrolní skupině (57 %), u mladých pacientek v 45 % případů. Ve skupině žen \leq 35 let byla diagnostikována 4 pokročilá onemocnění (4 %), v kontrolní skupině byly vzdálené metastázy (M1) vstupně přítomny v 5 % případů. Systém stážování a klasifikace TNM se u karcinomu prsu v posledních 20 letech několikrát změnil, proto jej nelze využít k vzájemnému srovnání u onemocnění, která byla diagnostikována v delším časovém období 2006-2015.

Genetické vyšetření bylo provedeno u 57 žen \leq 35 let (61 %). Vyšetřována byla přítomnost mutace v genech *BRCA*, méně často v genech *CHEK2* a *TP53*. Mutace *BRCA 1* byla prokázána u 16 žen (28 % z počtu vyšetřených), mutace *BRCA 2* u 2 žen (4 %), u 39 nemocných byl výsledek negativní. Postmenopauzální ženy kontrolní skupiny nebyly testovány. Pozitivní rodinná anamnéza, tedy diagnostikovaný karcinom prsu či ovaria u přímých příbuzných I. a II.stupně (prarodiče, rodiče a sourozenci), byla zaznamenána u 42 mladých pacientek (45 %). V kontrolní skupině se rodinná zátěž objevila u 23 % žen.

Léčba pacientek obou sledovaných skupin probíhala na Onkologické a radioterapeutické klinice Fakultní nemocnice v Plzni. Proto u nich bylo možno dohledat užité léčebné schéma a srovnat průběh onemocnění. Záchovná operace prsu převažovala nad provedením radikální mastektomie v obou sledovaných skupinách. V souboru postmenopauzálních žen byl rozdíl obou léčebných přístupů výraznější. Parciální resekce byla provedena u 60 %, ablace prsu u 36 %.

Mezi oběma skupinami nebyl významný rozdíl v podílu pacientek, u nichž bylo provedeno ozáření standardní frakcionací dávkou 48-52 Gy, u nichž byl proveden boost dávky v lůžku tumoru a žen léčených radioterapií s paliativním záměrem.

Výrazně se mezi oběma soubory lišila četnost zařazení chemoterapie do léčebného schématu. Cytostatika byla podána celkově 89 % žen \leq 35 let (vs. 31 % v kontrolní skupině). V 55 % případů se jednalo o léčbu adjuvantní (vs. 19 % u postmenopauzálních žen), předoperačně byla cytostatika podávána u 30 % mladých žen (vs. 7 %).

Četnost relapsů onemocnění byla sledována u pacientek s primárně lokalizovaným onemocněním (M0), léčených adjuvantní či neoadjuvantní léčbou dle indikačních kritérií. U žen \leq 35 let bylo dosaženo remise v 59 případech z 89 (66 %), k recidivě onemocnění došlo u 28 žen (31 %), u 2 žen bylo při posledním kontrolním grafickém vyšetření popsáno suspektní ložisko recidivy (2 %). V kontrolní skupině dosáhlo remise onemocnění 82 z 95 žen (86 %) s primárně lokalizovaným nádorem, recidiva nastala u 13 žen (14 %).

V souboru pacientek mladších 35 let jsme zaznamenali nejen vyšší podíl recidivujících onemocnění, ale i kratší průměrnou dobu, za kterou k relapsu nemoci došlo. Tento parametr byl opět vztažen k podskupině neo-/adjuvantně léčených žen. U 28 mladých žen, u kterých došlo v průběhu sledování k relapsu onemocnění, průměrná doba do progresu činila 29,5 měsíce. V kontrolní skupině to bylo 41,1 měsíce.

V současné době 74 % (vs. 79 %) sledovaných mladých žen žije s kompletní remisí (CR) a 9 % z nich žije s progredujícím (PD) onemocněním (vs. 3 % v kontrolní skupině). Generalizovaný karcinom prsu byl příčinou úmrtí 16 mladých žen (17 %) a 12 žen \geq 65 let (12 %) – k dalším 6 úmrtím v této skupině došlo z jiných příčin (2x srdeční selhání, srdeční tamponáda, pokročilý ovariální karcinom, komplikace diabetu, maligní mezoteliom).

Výsledky výzkumu nebyly statisticky zpracovány vzhledem k velké nehomogenitě obou souborů nemocných. Velká část pacientek byla léčena adjuvantně, menší část nemocných prodělala paliativní léčbu v případě primárně pokročilých nádorů. Analýzu přežití (např. dle Kaplan-Meiera) by bylo obtížné vypracovat vzhledem k různé délce follow-up období jednotlivých pacientek, dlouhému přežití bez známek nemoci (DFS) po adjuvantní léčbě i celkovému přežití. Výsledek analýzy by byl zatížen a ovlivněn těmito faktory, jeho výpovědní hodnota by byla nízká.

		≤35 let	≥65 let
Počet		93 = 100 %	100 = 100 %
Věk	Ø	31,7	70,6
	Medián	33	69
Histologický typ	IDC	92 / 99 %	90
	ILC	1 / 1 %	10
Imunohistochemické charakteristiky			
Hormonální status	ER+	44 / 47 %	86
	PR+	40 / 43 %	75
	ER/PR -	49 / 53 %	13
HER2	IHC+/FISH+	32 / 34 %	18
Proliferační aktivita	Ø	43,8	20,5
	Medián	40	13,5
	MIB1 index < 20 %	14 / 15 %	59
	≥ 20 MIB1 ≤ 30 %	23 / 25 %	23
	MIB1 index > 30 %	56 / 60 %	18
Grade	Ø	2,3	1,9
	Medián	2	2
	G1	15 / 16 %	40
	G2	36 / 39 %	50
	G3	42 / 45 %	10
Klasifikace			
Molekulární typ	Luminal A	21 / 23 %	64
	Luminal B HER2-	10 / 11 %	10
	Luminal B HER2+	13 / 14 %	13
	HER2-pozitivní	19 / 20 %	5
	TNBC	30 / 32 %	8
Velikost tumoru (T)	T1	35 / 38 %	57
	T2	45 / 48 %	31
	T3	8 / 9 %	4
	T4	5 / 5 %	8
Lymf.uzliny (N)	N0	42 / 45 %	57
	N1	36 / 39 %	28
	N2	10 / 11 %	10
	N3	5 / 5 %	5
Metastázy (M)	M0	89 / 96 %	95
	M1	4 / 4 %	5
Rizikové faktory			
Genetická zátěž	Počet vyšetření	57 / 61 %	1
	BRCA 1+	16 / 28 %	0
	BRCA2 +	2 / 4 %	0
Rodinná anamnéza	+	42 / 45 %	23

Menarché	Ø	12,6	-
	Medián	12	-
Hormonální antikoncepce	Užívalo	51	-
	Nikdy neužívalo	28	-
		≤35 let	≥65 let
Léčba primárního nádoru			
Chirurgická	Neoperováno	4 / 4 %	4
	Záchovná operace	48 / 52 %	60
	Mastektomie	41 / 44 %	36
Chemoterapie	Celkem léčeno	83 / 89 %	31
	Adjuvantní	51 / 55 %	19
	Neoadjuvantní	28 / 30 %	7
	Paliativní	4 / 4 %	5
Radioterapie	Bez radioterapie	10 / 11 %	15
	48-52 Gy (bez boostu)	32 / 34 %	31
	RT s boostem na lůžko tumoru 16-20 Gy	46 / 50 %	51
	Paliativní	5 / 5 %	3
Follow-up			
Bez recidivy	Počet / % z M0 nádorů	59 / 66 %	82 / 86 %
Recidiva	Počet / % z M0 nádorů	28 / 31 %	13 / 14 %
	Čas do progresu	Ø (měs.)	29,5
		Medián (měs.)	26
	Susp.recidiva	2 / 2 %	0
Primárně generalizované		4 / 4 %	5
Žijí s CR		69 / 74 %	79
Žijí s PD		8 / 9 %	3
Zemřeli	Celkem	16 / 17 %	18
	Příčina smrti: pokročilý C50	16 / 17 %	12
	Příčina smrti: jiná dg. při remisi C50	0	6

Tabulka 13: Kompletní výsledky sledovaných parametrů (Pozn.: % zaokrouhlena na celá čísla)

Ze základního souboru 93 pacientek ≤ 35 let, jsme vybrali podskupinu žen s *BRCA* pozitivním karcinomem a žen s PABC (pregnancy associated breast cancer) a sledovali charakteristiky těchto nádorů a následný průběh. Celkem 3 ženy splňují kritéria zároveň obou podskupin, karcinom prsu vzniklý na podkladě zárodečné mutace genu *BRCA 1/2* u nich byl diagnostikován během gravidity. Výsledky rozboru podskupiny 18 nosiček *BRCA* mutace s karcinomem prsu uvádí **Tabulka 14**. U 2 žen z tohoto souboru byl karcinom prsu diagnostikován v rámci preventivních vyšetření při znalosti mutace genu *BRCA*, u ostatních 16 žen byla hereditární zátěž odhalena až v době znalosti karcinomu prsu.

Průměrný věk pacientek činil 30,7 roku, průměrný grade 2,6, medián 3. Převažovala nízká stadia onemocnění, karcinomy T1N0M0. 94 % nádorů spadalo do kategorie T1/T2, 89 % do kategorie N0/N1. Většina *BRCA* karcinomů vykazovala vysokou proliferační aktivitu nádorových buněk, průměrný MIB1 index je 49,7 %. Nejčtenější byly molekulární typy *HER2* pozitivních (22 %) a TNBC karcinomů (56 %).

Záchovná operace prsu byla provedena u 28 % nemocných, mastektomie u 67 %, 1 pacientka nebyla operována, nádor byl vstupně pokročilý (M1). U 3 žen byla léčba zahájena neoadjuvantní chemoterapií (17 %), převážná většina (78 %) nemocných byla léčena chemoterapií adjuvantní.

V současné době žije 15 žen z tohoto souboru (83 %) v remisi a je bez známek lokálního i systémového onemocnění. U dvou žen došlo k recidivě po skončení adjuvantní léčby, v jednom případě po 9 letech s následným radikálním odstraněním recidivy. V druhém případě došlo k recidivě již po 14 měsících, nemocná následně zemřela.

Výsledky podskupiny 6 žen s karcinomem prsu manifestujícím se během gravidity jsou uvedeny v **Tabulce 15**. Nádory vykazovaly velmi vysokou proliferační aktivitu ($\bar{\emptyset}$ 71 %), výhradně se vyskytovaly *HER2*-pozitivní (33 %) a triple negativní (67 %) karcinomy. Nejčastěji se jednalo o nádory T2 (83 %), negativní nález v lymfatických uzlinách (N0) byl potvrzen u 50 % žen, žádná neměla vstupně ložiska vzdálených metastáz.

U převážné většiny (83 %) žen s PABC byla provedena ablace prsu, všechny byly léčeny chemoterapií. V současné době žijí 4 ženy (66 %) z našeho souboru bez známek onemocnění (CR), 1 žije s progredujícím onemocněním (PD) – relaps po 43 měsících v játrech a plicích, 1 žena zemřela v důsledku generalizovaného onemocnění, po 37 měsících od stanovení diagnózy.

Nádory BRCA pozitivní		
Počet		18 = 100 %
Věk Ø		30,7 let
Proliferační aktivita Ø		49,7 %
Grade Ø		2,6
Grade medián		3
Molekulární typ	Luminal A	2 / 11 %
	Luminal B HER2-	1 / 6 %
	Luminal B HER2+	1 / 6 %
	HER2-pozitivní	4 / 22 %
	TNBC	10 / 56 %
Velikost tumoru (T)	T1	9 / 50 %
	T2	8 / 44 %
	T3	1 / 6 %
	T4	0
Lymf.uzliny (N)	N0	11 / 61 %
	N1	5 / 28 %
	N2	1 / 6 %
	N3	1 / 6 %
Metastázy (M)	M0	17 / 94 %
	M1	1 / 6 %
Chirurgická	Neoperováno	1 / 6 %
	Záchovná operace	5 / 28 %
	Mastektomie	12 / 67 %
Chemoterapie	Celkem léčeno	18 / 100 %
	Adjuvantní	14 / 78 %
	Neoadjuvantní	3 / 17 %
	Paliativní	1 / 2 %
Žijí s CR		15 / 83 %
Žijí s PD		2 / 11 %
Zemřeli		1 / 6 %

Tabulka 14: Charakteristiky karcinomů prsu u pacientek ≤35 let věku s prokázanou mutací genů BRCA1/2 z našeho souboru (Pozn.: % zaokrouhlena na celá čísla)

Nádory PABC		
Počet		6 = 100 %
Věk Ø		30 let
Proliferační aktivita Ø		71 %
Grade Ø		2,8
Grade medián		3
Molekulární typ	Luminal A	0
	Luminal B HER2-	0
	Luminal B HER2+	0
	HER2-pozitivní	2 / 33 %
	TNBC	4 / 67 %
Velikost tumoru (T)	T1	0
	T2	5 / 83 %
	T3	0
	T4	1 / 17 %
Lymf.uzliny (N)	N0	3 / 50 %
	N1	0
	N2	1 / 17 %
	N3	2 / 33 %
Metastázy (M)	M0	6 / 100 %
	M1	0
Chirurgická	Neoperováno	0
	Záchovná operace	1 / 17 %
	Mastektomie	5 / 83 %
Chemoterapie	Celkem léčeno	6 / 100 %
	Adjuvantní	3 / 50 %
	Neoadjuvantní	3 / 50 %
	Paliativní	0
Žijí s CR		4 / 66 %
Žijí s PD		1 / 17 %
Zemřeli		1 / 17 %

Tabulka 15: Charakteristiky karcinomů prsu u pacientek ≤35 let věku PABC (Pozn.: % zaokrouhlena na celá čísla)

6 Hodnocení, závěr

Retrospektivní analýzou souboru mladých žen, kterým byl diagnostikován zhoubný novotvar prsu před 35. rokem věku, jsme v souladu s recentní literaturou [118, 224, 225] potvrdili četnější zastoupení prognosticky nepříznivých histologických typů karcinomu, signifikantně vyšší negativní prognostické markery (grade, proliferační aktivita), častější postižení lymfatických uzlin v době diagnózy, vyšší podíl karcinomů vzniklých na podkladě hereditární zátěže, častější a časnější výskyt relapsu onemocnění po adjuvantní léčbě.

V souboru pacientek nižší věkové kategorie se ve srovnání se skupinou postmenopauzálních nemocných výrazně častěji vyskytovaly karcinomy bez exprese hormonálních receptorů (53 % vs. 13 %) a karcinomy zvýšeně exprimující HER-2/neu (34 % vs. 18 %). Nádory mladých žen vykazovaly signifikantně vyšší proliferační aktivitu (MIB1 index > 30 % u 60 % z nich vs. 18 % kontrolní skupiny) a výrazně častěji grade 3 (45 % vs. 10 %). Výrazně nižší je podíl low grade karcinomů s pomalejší progresí. Karcinom grade 1 byl zachycen pouze u 16 % mladých žen (vs. 40 %).

Přítomnost nádorových buněk ve vyšetřených lymfatických uzlinách byla zaznamenána častěji u mladších pacientek, rozdíl proti výsledkům kontrolní skupiny však nebyl příliš významný (55 % vs. 43 %).

Při hodnocení zastoupení jednotlivých molekulárních typů u mladých nemocných na první pohled zaujme rozdíl v relativním počtu prognosticky nejpříznivějších typů nádorů. Proti kontrolnímu souboru se nádory *HER2*-pozitivní a triple negativní vyskytují u mladých žen v našem souboru 4x častěji. *HER2*-pozitivní typ byl zastoupen u 20 % z nich (vs. 5 %), TNBC se potvrdil u 32 % (vs. 8 % v kontrolním souboru). Naopak, prognosticky nejpříznivější typ luminal A, se objevuje výrazně méně často (23 % vs. 64 %) v neprospěch mladých nemocných.

U velké části mladých žen v našem souboru bylo na základě přítomnosti rizikových faktorů (rodinná anamnéza, karcinom v nízkém věku) provedeno genetické vyšetření. V obecné populaci se udává podíl karcinomů prsu vzniklých na podkladě hereditární zátěže 5-10 % [5]. Mutace genu *BRCA 1* či *BRCA 2* ve sledovaném souboru mladých pacientek byla potvrzena u 32 % vyšetřených žen. *BRCA* pozitivní karcinomy vykazovaly proti zbytku souboru v průměru o něco vyšší proliferační aktivitu (49,7 % vs. 43,8 %) a

výrazně častěji byly triple negativní (56 % vs. 32 %). I přes tyto nepříznivé faktory byly *BRCA* pozitivní karcinomy většinou diagnostikovány v nízkém stadiu onemocnění.

Ve skupině mladých žen jsme častěji zaznamenali radikálnější léčebný přístup. Primární lokalizovaný karcinom prsu byl odstraněn provedením mastektomie u 44 % mladých pacientek (vs. 36 % v kontrolním souboru). Chemoterapie, s adjuvantním, neoadjuvantním či paliativním záměrem, byla řazena do terapeutického algoritmu u 89 % mladých žen, ale pouze u 31 % postmenopauzální nemocných. Komorbidity a celkový stav u pacientek ≥ 65 let často neumožnily využití léčebného potenciálu cytostatik jako v případě mladých žen.

Délka monitorování průběhu onemocnění byla různě dlouhá v obou sledovaných souborech dle data stanovení diagnózy u konkrétní pacientky, pohybovala se v rozmezí 17–146 měsíců. Vznik relapsu onemocnění byl potvrzen grafickým kontrolním vyšetřením u 31 % pacientek do 35 let s primárním nádorem M0, po adjuvantní (či neoadjuvantní) léčbě. V kontrolní skupině došlo k recidivě nádoru u 14 % z nich. Zcela bez rozvoje recidivy karcinomu po dobu sledování bylo 66 % mladých pacientek a 86 % žen v kontrolní skupině. Průměrná doba od biotického stanovení diagnózy do rozvoje relapsu byla u mladých nemocných kratší (29,5 vs. 41,1 měsíce). Doba celkového přežití (OS) nebyla hodnocena, výpovědní hodnota by byla sporná při malé velikosti sledovaného souboru, krátké a různě dlouhé době sledování a nízkém procentu případů úmrtí.

Specifická skupina karcinomů prsu asociovaných s těhotenstvím (PABC) v našem souboru vykazovala velice prognosticky negativní charakteristiky. Průměrná proliferační aktivita 71 % a 66 % podíl TNBC naznačují agresivní chování a nepříznivou prognózu.

Závěr

Karcinom prsu u mladých žen nepředstavuje v České republice ani celosvětově z epidemiologického hlediska významný problém. Přestože je prevalence karcinomu prsu u mladých žen nízká, nízký věk je sám o sobě nepříznivým prognostickým faktorem.

Vysoký podíl prognosticky nepříznivých histologických a molekulárních typů karcinomu, vyšší proliferační aktivita a nižší stupeň diferenciacie nádorových buněk, častější podíl genetické zátěže s vyšším rizikem rozvoje bilaterálního karcinomu prsu a také karcinomu ovaria, a častěji nepříznivý průběh onemocnění s časnějším vznikem relapsu demonstrují závažnost karcinomu prsu u mladých premenopauzálních žen.

Výsledky retrospektivní analýzy molekulárně-genetických, klinických a morfoloických znaků zhoubných novotvarů prsu mladých žen do 35 let potvrzují, že karcinom prsu v takto nízkém věku představuje specifickou a prognosticky závažnou podskupinu nádorových onemocnění, vyžadujících nadstandardní postupy v diagnosticko-léčebné praxi.

7 Seznam pramenů a použité literatury

- 1)** Adam Z, Krejčí M, Vorlíček J et al. Speciální onkologie. První vydání. Praha: Galén, 2010. 183-196. ISBN 9788072626489.
- 2)** Abrahámová J, Povýšil C, Horák J a kolektiv. Atlas nádorů prsu. Praha: Grada Publishing, 2000. str. 9. ISBN 80-7169-771-9.
- 3)** Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver MJ. World Health Organization Classification of Tumours of the Breast, Volume 4. Lyon: IARC, 2012. ISBN 9283224337.
- 4)** Rejthar A, Nenutil R. Prognosticky závažná morfologická klasifikace karcinomu prsu. Klinická onkologie. 1993; 6(5): 132–136.
- 5)** Hoda SA, Brogi E, Koerner FC, Rosen PP. Rosen's Breast Pathology, Fourth Edition. Lippincott Williams and Wilkins 2014. 309-330. ISBN 978-1-4511-7653-7.
- 6)** Jiang Y, Wang M. Personalized medicine in oncology: tailoring the right drug to the right patient. Biomarkers in Medicine, August 2010; 4(4): 523-533
- 7)** Bielčíková Z, Petruželka L. Genomové testy jako prediktory prognózy pacientek s karcinomem prsu. Klinická onkologie 2016; 29(1): 13-19.
- 8)** Wachter DL. New prognostic and predictive markers for breast cancer. Pathologie 2016. Nov;37(Suppl 2): 217-222.
- 9)** Narod SA. Breast cancer in young women. Nat Rev Clin Oncol. 2012;9(8): 460–470.
- 10)** <http://www.svod.cz>
- 11)** O'Brien KM, Sun J, Sandler DP, DeRoo LA, et al. Risk factors for young-onset invasive and in situ breast cancer. Cancer Causes Control. 2015 Dec;26(12):1771-1778.
- 12)** Jayasinghe UW, Taylor R, Boyages J. Is age at diagnosis an independent prognostic factor for survival following breast cancer? ANZ J. Surg 2005 Sep;75(9):762-767.
- 13)** Povýšil C, Šteiner I et al. Speciální patologie, druhé vydání. Praha: Galén, Karolinum 2007. 275–283. ISBN 978-80-246-1442-7.
- 14)** Klener P. Klinická onkologie. Praha: Galén, 2002. 495–518. ISBN 8072621513.

- 15)** Chuba PJ, et al. Bilateral risk for subsequent breast cancer after lobular carcinoma in situ: analysis of surveillance, epidemiology and end results data. *J Clin Oncol.* 2005; 23(24): 5534-5541.
- 16)** Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, et al. GLOBOCAN 2012 v 1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. International Agency for Research on Cancer, Lyon 2013. www. <http://globocan.iarc.fr>.
- 17)** Dušek L, Mužík J, Malušková D, Májek O, et al. Cancer incidence and mortality in the Czech Republic. *Klinická onkologie* 2014; 27(6):406-23.
- 18)** Shulman LP. Hereditary breast and ovarian cancer (HBOC): clinical features and counseling for BRCA1 and BRCA2, Lynch syndrome, Cowden syndrome, and Li-Fraumeni syndrome. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2010 Mar;37(1):109-133.
- 19)** Whittemore AS, Gong G, Imyre J. Prevalence and contribution of BRCA1 mutations in breast cancer and ovarian cancer: results from 3 US population-based case-control studies of ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 1997; 60:496–504.
- 20)** Risch HA, McLaughlin JR, Cole DEC, et al. Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a Kin-Cohort Study in Ontario, Canada. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98:1694–1706.
- 21)** Rebbeck TR, Friebel TM, Mitra N, Wan F, Chen S, et al. Inheritance of deleterious mutations at both BRCA1 and BRCA2 in an international sample of 32,295 women. *Breast Cancer Res.* 2016 Nov 11; 18(1):112.
- 22)** Szabo CI, King MC. Population genetics of BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet.* 1997 May; 60(5):1013-1020.
- 23)** Foretova L, Machackova E, Navratilova M, Pavlu H, et al. BRCA1 and BRCA2 mutations in women with familial or early-onset breast/ovarian cancer in the Czech Republic. *Hum Mutation* 2004 Apr;23(4):397-398.
- 24)** Venkitaraman AR. Functions of BRCA1 and BRCA2 in the biological response to DNA damage. *Journal of Cell Science* 2001; 114: 3591-3598.

- 25)** Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA, et al. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94:1365–1372.
- 26)** The Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(15):1310–1316.
- 27)** Levy-Lahad E, Friedman E. Cancer risks among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Br J Cancer* 2007; 96:11–5.
- 28)** Zimovjanová M. Geneticky podmíněný karcinom prsu. *Onkologie* 2013; 7(5): 225-227.
- 29)** Allain DC. Genetic counseling and testing for common hereditary breast cancer syndromes: a paper from the 2007 William Beaumont hospital symposium on molecular pathology. *J Mol Diagn.* 2008 Sep; 10(5):383-395.
- 30)** Turnbull C, Rahman N. Genetic predisposition to breast cancer: past, present and future. *Annu Rev Genomics Hum Genetics* 2008; 9: 321-345.
- 31)** Weitzel JM, Gonzalez KD, Noltner KA, Buzin CH, et al. Beyond Li-Fraumeni syndrome: clinical characteristics of families with p53 germline mutations. *J Clin Oncol.* 2009 Mar 10;27(8): 1250-1256.
- 32)** Lux MP, Fasching PA, Beckmann MW. Hereditary breast and ovarian cancer: review and future perspectives. *J Mol Med* 2006; 84(1):16-28.
- 33)** Tutt A, Robson M, Garber JE, et al. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet* 2010; 376: 235–244.
- 34)** O’Shaughnessy J, Osborne C, Pipien JE, et al. Iniparib plus chemotherapy in metastatic triple-negative breast cancer. *New Engl J Med* 2011; 364: 205–214.
- 35)** O’Shaughnessy J, Schwartzberg LS, Danso MA. A randomised phase III study of iniparib (BSI-201) in combination with gemcitabine/carboplatin (G/C) in metastatic triplenegative breast cancer (TNBC). *J Clin Oncol* 2011; 29(Suppl): Abstract 1007
- 36)** Simone V, D’Avenia M, Argentiero A, et al. Obesity and breast cancer: Molecular interconnections and potential clinical applications. *Oncologist* 2016 Apr;21(4):404-17.

- 37)** Novotný J, Pecen L, Petruzelka L, Svobodnik A, et al. Breast cancer risk assessment in the Czech female population – an adjustment of the original Gail model. *Breast Cancer Res Treat.* 2006 Jan;95(1):29-35.
- 38)** Lanier AP, Bender TR, Blot WJ, Fraumeni JF Jr, et al. Cancer incidence in Alaska Natives. *Int J Cancer* 1976; 18:409-412.
- 39)** Kolonel LN, Hinds MW, and Hankin JH. Cancer patterns among migrant and native-born Japanese in Hawaii in relation to smoking, drinking, and dietary habits. In: Gelboin H.V. et al., eds. *Genetic and environmental factors in experimental and human cancer.* Tokyo: Japan Sci Soc Press 1980:327-340.
- 40)** Henderson BE, Kolonel LN, Dworsky R, Kerford D, et al. Cancer incidence in islands of the Pacific. *J Natl Cancer Inst* 1985;69: 73-81.
- 41)** Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC, Hildesheim A, et al. Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. *J Natl Cancer Inst* 1993;85: 1819-1827.
- 42)** Le GM, Gomez SL, Clarke CA, Glaser SL, West DW. Cancer incidence patterns among Vietnamese in the United States and Ha Noi, Vietnam. *Int J Cancer* 2002;102: 412-427. Erratum in: *Int J Cancer* 2003;104(6): 798.
- 43)** Narayan AK, Visvanathan K, Harvey SC. Comparative effectiveness of breast MRI and mammography in screening young women with elevated risk of developing breast cancer: a retrospective cohort study. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;158(3): 583-589.
- 44)** Duffy MJ. Serum tumor markers in breast cancer: are they of clinical value? *Clin Chem.* 2006 Mar;52(3): 345-51.
- 45)** Lee JS, Park S, Park JM, Cho JH, et al. Elevated levels of preoperative CA 15-3 and CEA serum levels have independently poor prognostic significance in breast cancer. *Ann Oncol.* 2013 May;24(5):1225-1231.
- 46)** Dnistrian AM, Schwartz MK, Greenberg EJ, Smith CA, et al. CA 549 as a marker in breast cancer. *Int J Biol Markers.* 1991 Jul-Sep;6(3): 139-143.

- 47)** Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer: a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer*. 1957 Sep;11(3): 359-377.
- 48)** Elston CW, Ellis IO. 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. *Histopathology* 1991;19(5): 403-410.
- 49)** Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000 Aug 17;406(6797): 747-752.
- 50)** Gnant M, Harbeck N, Thompssen C. St.Gallen 2011: summary of the consensus discussion. *Breast Care (Basel)* 2011;6(2): 136-141.
- 51)** Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. *Ann Oncol* 2013;24: 2206-2223.
- 52)** Borgquist S, Zhou W, Jirström K, Amini RM, et al. The prognostic role of HER2 expression in ductal breast carcinoma in situ (DCIS); a population-based cohort study. *BMC Cancer*. 2015 Jun 11;15:468.
- 53)** Williams KE, Barnes NL, et al. Molecular phenotypes of DCIS predict overall and invasive recurrence. *Ann Oncol*. 2015 May; 26(5):1019-1025.
- 54)** Mahoney ME, Gordon EJ, Rao JY, Jin Y, et al. Intraductal therapy of ductal carcinoma in situ: a presurgery study. *Clin Breast Cancer*. 2013 Aug;13(4):280-286.
- 55)** Shatat L, Gloyeske N, Madan R, O'Neil M, et al. Microinvasive breast carcinoma carries an excellent prognosis regardless of the tumor characteristics. *Hum Pathol*. 2013 Dec;44(12): 2684-2689.
- 56)** Li CI, Anderson BO, Daling JR, Moe RE. Trends in incidence rates of invasive lobular and ductal breast carcinoma. *JAMA*. 2003 Mar 19;289(11): 1421-1424.
- 57)** Arpino G, Bardou V, Clark G, Elledge R. Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome. *Breast Cancer Res* 2004; 6: R149-156.

- 58)** Berx G, Van RF. The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. *Breast Cancer Res* 2001; 3(5): 289-93.
- 59)** Li CI, Weiss NS, Stanford JL, Daling JR. Hormone replacement therapy in relation to risk of lobular and ductal breast carcinoma in middle-aged women. *Cancer* 2000 Jun 1; 88(11):2570-2577.
- 60)** Yoder BJ, Wilkinson EJ, Massoll NA. Molecular and morphologic distinctions between infiltrating ductal and lobular carcinoma of the breast. *Breast J.* 2007;13(2): 172-179.
- 61)** Loibl S, Volz C, Mau C, Blohmer JU, et al. Response and prognosis after neoadjuvant chemotherapy in 1,051 patients with infiltrating lobular breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat.* 2014 Feb;144(1):153-62.
- 62)** Petráková K. Lobulární karcinom prsu. *Onkologie* 2016; 10(4): 166-169.
- 63)** Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM, et al. Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol* 2006;208(4): 495-506.
- 64)** Rakha EA, El-Rehim DA, Paish C, et al. Basal phenotype identifies a poor prognostic subgroup of breast cancer of clinical importance. *Eur J Cancer.* 2006;42(18):3149-56.
- 65)** Turner NC, Reis-Filho JS. Basal-like breast cancer and the BRCA1 phenotype. *Oncogene.* 2006 Sep 25;25(43):5846-53.
- 66)** Goldstein NS, Kestin LL, Vicini FA. Refined morphologic criteria for tubular carcinoma to retain its favorable outcome status in contemporary breast carcinoma patients. *Am J Clin Pathol* 2004; 122:728-739.
- 67)** Mateo AM, Pezzi TA, et al. Atypical medullary carcinoma of the breast has similar prognostic factors and survival to typical medullary breast carcinoma: 3,976 cases from the National Cancer Data Base. *J Surg Oncol.*2016 Oct; 114(5): 533-536.
- 68)** Di Saverio S, Gutierrez J, Avisar E. A retrospective review with long term follow up of 11,400 cases of pure mucinous breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 111(3):541-547.

69) Singletary SE, Cristofanilli M. Defining the clinical diagnosis of inflammatory breast cancer. *Semin Oncol.* 2008 Feb;35(1):7-10.

70) Tesařová P. Inhibitory aromatázy a jejich místo v adjuvantní léčbě karcinomu prsu. *Remedia.* 2008; 18(3): 212-222.

71) Ryška A. Analýza dat z histologického registru Magister za období 2013. <http://www.mojemedicina.cz/breast-cancer-news/analyza-dat-z-histologickeho-registru-magister--za-obdobi-2013/>

72) Ferguson NL, Bell J, Heidel R, Lee S, et al. Prognostic value of breast cancer subtypes, Ki-67 proliferation index, age, and pathologic tumor characteristics on breast cancer survival in Caucasian women. *The Breast Journal* 2013; 19 (1): 22-30.

73) Masson O, Prébois C, Derocq D, Meulle A, et al. Cathepsin-D, a key protease in breast cancer, is up-regulated in obese mouse and human adipose tissue, and controls adipogenesis. *PLoS One* 2011 Feb 2;6(2): e16452.

74) Andreasen PA, Kjøller L, Christensen L, Duffy MJ. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *Int J Cancer.* 1997 Jul 3;72(1):1-22.

75) Loskutoff DJ, Curriden SA, Hu G, Deng G. Regulation of cell adhesion by PAI-1. *APMIS.* 1999 Jan;107(1):54-61.

76) Duffy MJ. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor, PAI-1, as prognostic markers in breast cancer: from pilot to level 1 evidence studies. *Clin Chem.* 2002 Aug;48(8):1194-1197.

77) Paik S, Shak S, Tang G et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351 (27): 2817–2826.

78) Esteban J, Baker J, Cronin M, et al. Tumor gene expression and prognosis in breast cancer: multi-gene RT-PCR assay of paraffin-embedded tissue. Presented at the Thirty - ninth Meeting of the American Society of Clinical Oncology. May 31-June 3, 2003; Chicago, IL. Abstract #3416.

79) Cobleigh MA, Bitterman P, Baker J, et al. Tumor gene expression predicts distant disease-free survival (DDFS) in breast cancer patients with 10 or more positive nodes:

high throughput RT-PCR assay of paraffin-embedded tumor tissues. Presented at the Thirty-ninth Meeting of the American Society of Clinical Oncology. May 31-June 3, 2003; Chicago, IL. Abstract #3415.

80) Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(23): 3726-3734.

81) Habel LA, Shak S, Jacobs MK, Capra A, et al. A population-based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node-negative patients. *Breast Cancer Res.* 2006;8(3): R25. Epub 2006 May 31.

82) Goldstein LJ, Gray R, Badve S, Childs BH, et al. Prognostic utility of the 21-gene assay in hormone receptor-positive operable breast cancer compared with classical clinicopathologic features. *J Clin Oncol.* 2008 Sep 1; 26 (25): 4063 – 4071.

83) Albain KS, Barlow WE, Shak S, 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 randomized trial. *Lancet Oncol* 2010; 11(1): 55-65.

84) Toi M, Iwata H, Yamanaka T, Masuda N, et al.; Japan Breast Cancer Research Group – Translational Research Group. Clinical significance of the 21- gene signature (Oncotype DX) in hormone receptor-positive early stage primary breast cancer in the Japanese population. *Cancer* 2010; 116 (13): 3112-3118.

85) Dowsett M, Cuzick J, Wale C, et al. Prediction of risk of distant recurrence using the 21- gene Recurrence Score in node-negative and node-positive postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC Study. *J Clin Oncol* 2010; 28(11): 1829-1834.

86) Mamounas EP, Tang G, Paik S, et al. Association between the 21- gene recurrence score (RS) and benefit from adjuvant paclitaxel (Pac) in node-positive (N+), ER-positive breast cancer patients (pts): results from NSABP B-28. *Cancer Res* 2012; 72: S1-S10.

87) NCCN. Clinical practice guidelines in oncology (breast cancer). Version 3.2017.

- 88)** Simon RM, Paik S, Hayes DF. Use of archived specimens in evaluation of prognostic and predictive biomarkers. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1446 – 1452.
- 89)** Jiang WG, Sanders AJ, Kato M, et al. Tissue invasion and metastasis: Molecular, biological and clinical perspectives. *Semin Cancer Biol.* 2015 Dec;35 Suppl: S244-275.
- 90)** Mathot L, Steninger J. Behavior of seeds and soil in the mechanism of metastasis: a deeper understanding. *Cancer Sci.* 2012 Apr;103(4):626-31.
- 91)** Fidler IJ. Angiogenesis and cancer metastasis. *Cancer J* 2000;6 Suppl2:S134-141.
- 92)** Šlampa P a kol. *Radiační onkologie v praxi. Třetí aktualizované vydání.* Brno: Masarykův onkologický ústav, 2011. 120-138. ISBN 978-80-86793-19-1.
- 93)** Van de Steene J, Soete G, Storme G. Adjuvant radiotherapy for breast cancer significantly improves overall survival: the missing link. *Radiother Oncol.* 2000 Jun;55(3):263-272.
- 94)** Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, 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. *New England Journal of Medicine.* 2002 Oct 17;347(16):1233-1241.
- 95)** Yang G, Nowsheen S, Aziz K, Georgakilas AG. Toxicity and adverse effects of Tamoxifen and other anti-estrogen drugs. *Pharmacol Ther.* 2013 Sep;139(3):392-404.
- 96)** Mirkin S, Pickar JH. Selective estrogen receptor modulators (SERMs): a review of clinical data. *Maturitas.* 2015 Jan;80(1):52-57.
- 97)** Duras P, Šlauf F, Novák M, Ferda J, Skalický T et al. Transarteriální chemoembolizace jater pomocí částic uvolňujících léčivo – naše zkušenosti. *Ces Radiol* 2009;63(2):138-144.
- 98)** Ferda J, Duras P, Třeška V, Skalický T, et al. Transarteriální radioembolizace jaterních nádorů mikročásticemi s 90-yttriem – první zkušenosti. *Ces Radiol* 2014;68(2):85-96.
- 99)** Baselga J, Swain SM. Novel anticancer targets: revisiting ERBB2 and discovering ERBB3. *Nat Rev Cancer* 2009 Jul;9(7):463-475.
- 100)** Higa GM, Abraham J. Lapatinib in the treatment of breast cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy* 2007 Sep;7(9):1183-1192.

- 101)** Geyer CE, Forster J, Lindquist D et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2006 Dec 28;355(26): 2733-2743.
- 102)** Harbeck N, Beckmann MW, Rody A et al. HER2 dimerization inhibitor pertuzumab – mode of action and clinical data in breast cancer. *Breast Care* 2013;8(1):49-55.
- 103)** Baselga J, Cortés J, Kim SB, Im SA et al. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2012 Jan 12;366(2):109-119.
- 104)** Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2012 Nov 8;367(19):1783-1791.
- 105)** Welslau M, Diéras V, Sohn JH, Hurvitz SA et al. Patient-reported outcomes from EMILIA, a randomized phase 3 study of trastuzumab emtansine (T-DM1) versus capecitabine and lapatinib in human epidermal growth factor receptor 2-positive locally advanced or metastatic breast cancer. *Cancer* 2014 Mar 1;120(5):642-651.
- 106)** Novotný J, Zimovjanová M. Možnosti preventivních opatření u nosičů mutací genů BRCA1 a BRCA2. *Onkologie* 2011;5(1): 30-33.
- 107)** Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2009 Jan 21;101(2): 80–87.
- 108)** Narod SA. BRCA mutations in the management of breast cancer: the state of the art. *Nat Rev Clin Oncol* 2010 Dec;7(12): 702–707.
- 109)** Roukos DH, Briasolis E. Individualized preventive and therapeutic management of hereditary breast ovarian cancer syndrome. *Nat Clin Pract Oncol*.2007 Oct;4(10):578-590.
- 110)** King MC, Wieand S, et al. Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in BRCA1 and BRCA2: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP-P1) Breast Cancer Prevention Trial. *JAMA* 2001 Nov 14;286(18): 2251–2256.
- 111)** Rosenberg SM, Partridge AH. Management of breast cancer in very young women. *Breast*. 2015 Nov;24 Suppl 2: S154-S158.

- 112)** Ruddy KJ, Gelber S, Tamimi RM, Schapira L, et al. Breast cancer presentation and diagnostic delays in young women. *Cancer*. 2014 Jan 1;120(1): 20-25.
- 113)** Foxcroft LM, Evans EB, Porter AJ. The diagnosis of breast cancer in women younger than 40. *Breast*. 2004 Aug;13(4):297-306.
- 114)** Surveillance, Epidemiology and End Results Program. Surveillance, Epidemiology and End Results program public use CD-ROM. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2000.
- 115)** Bleyer A, Viny A, Barr R. Cancer in 15- to 29-year-olds by primary site. *Oncologist*. 2006 Jun;11(6):590-601.
- 116)** Tarone RE. Breast cancer trends among young women in the United States. *Epidemiology*. 2006 Sep;17(5):588-90.
- 117)** Novák J, Palácová M, Foretová L, Mužík J. Zhoubná onemocnění prsu u mladých žen v České republice 1989 – 2004. *Klinická onkologie* 2008;21: 35-36.
- 118)** Bajčiová V, Tomášek J, Štěrbá J a kol. *Nádory adolescentů a mladých dospělých*, 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2011. 161-174. ISBN 978-80-247-3554-2.
- 119)** MacKarem G, Roche CA, Hughes KS. The effectiveness of the Gail Model in estimating risk for development of breast cancer in women under 40 years of age. *Breast Journal* 2001; 7:34-39.
- 120)** Loman N, Johannsson O, Kristoffersson U, et al. Family history of breast and ovarian cancers and BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of early-onset breast cancer. *J Nat Cancer Inst* 2001; 93:1215-1223.
- 121)** Axelrod D, Smith J, Kornreich D, et al. Breast cancer in young women. *J Am Coll Surg* 2008;206(3): 1193-1203.
- 122)** National Cancer Institute – Surveillance, Epidemiology, and End Results. https://surveillance.cancer.gov/statistics/types/race_ethnic.html
- 123)** Longo D. Radiation in Hodgkin's disease. *J Nat Cancer Inst* 2005; 97:1394-1395.
- 124)** Innes KE, Byers TE. First pregnancy characteristics and subsequent breast cancer risk among young women. *Int J Cancer* 2004;112: 306-311.

- 125)** Beral V, Bull D, Doll R, et al. Collaborative group on hormonal factors in breast cancer. *Lancet Oncol* 2004;363: 1007-1016.
- 126)** Ahlgren M, Sorensen T, Wohlfardt J, et al. Birth weight and risk of breast cancer in a cohort of 106,504 women. *Int J Cancer* 2003;107: 997-1000.
- 127)** Forman MR, Cantwell MM, Ronckers C, Zhang Y. Through the looking glass at early-life exposures and breast cancer risk. *Cancer Invest* 2005;23: 609-624.
- 128)** Palmer JR, Wise LA, Hatch EE, et al. Prenatal diethylstilbestrol exposure and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15: 1509-1514.
- 129)** Salhab M, Al Sarakbi W, Mokbel K. In vitro fertilization and breast cancer risk: a review. *Int J Fertil Womens Med* 2005;50: 259-266.
- 130)** Silvera SAN, Miller AB, Rohan TE. Oral contraceptive use and risk of breast cancer among women with a family history of breast cancer: a prospective, cohort study. *Cancer Causes Control* 2005;16: 1059-1063.
- 131)** Heimdal K, Maehle L, Apold J, et al. The Norwegian founder mutations in BRCA1: high penetrance confirmed in an incident cancer series and differences observed in the risk of ovarian cancer. *Eur J Cancer* 2003 Oct;39(15): 2205-2213.
- 132)** Stacey SN, Sulem P, Johannsson OT, Helgason A, et al. The BARD1 Cys557Ser variant and breast cancer risk in Iceland. *PLoS Med* 2006 Jul;3(7): e217.
- 133)** Reeves MD, Yawitch TM, van der Merwe NC, van den Berg HJ, et al. BRCA1 mutations in South African breast and/or ovarian cancer families: evidence of a novel founder mutation in Afrikaner families. *Int J Cancer* 2004 Jul;110(5): 677-682.
- 134)** Golshan M, Miron A, Nixon AJ, et al. The prevalence of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in young women with breast cancer undergoing breast-conservation therapy. *Am J Surg* 2006 Jul;192(1):58-62.
- 135)** Antoniou A, Pharoah PD, Narod SA, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet.* 2003 May;72(5): 1117-1130.

- 136)** Office of National Statistics. Cancer trends in England and Wales: 1950-1999. *Studies on Medical and Population Subjects* 2001;66.
- 137)** Li FP, Fraumeni JF Jr. Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A familial syndrome? *Ann Intern Med* 1969 Oct;71(4): 747-752.
- 138)** Shannon C, Smith IE. Breast cancer in adolescents and young women. *Eur J Cancer* 2003 Dec;39(18): 2632-2642.
- 139)** Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50,302 women with breast cancer and 96,973 women without the disease. *Lancet*. 2002 Jul 20;360(9328): 187-195.
- 140)** Rosen PP, Cranor ML. Secretory carcinoma of the breast. *Arch Pathol Lab Med*. 1991 Feb;115(2): 141-144.
- 141)** Serour F, Gilad A, Kopolovic J, Krispin M. Secretory breast cancer in childhood and adolescence: report of a case and review of the literature. *Med Pediatr Oncol*. 1992;20(4): 341-344.
- 142)** Walker RA, Lees E, Webb MB, Dearing SJ. Breast carcinomas occurring in young women (< 35 years) are different. *Br J Cancer*. 1996 Dec;74(11): 1796-1800.
- 143)** Kollias J, Elston CW, Ellis IO, Robertson JF, et al. Early-onset breast cancer: histopathological and prognostic considerations. *Br J Cancer*. 1997;75(9): 1318-23.
- 144)** Chung M, Chang HR, Bland KI, Wanebo HJ. Younger women with breast carcinoma have a poorer prognosis than older women. *Cancer* 1996;77(1): 97-103.
- 145)** Wapnir IL, Anderson SJ. Prognosis after ipsilateral breast cancer recurrence and locoregional recurrences in five National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project node-positive adjuvant breast cancer trials. *J Clin Oncol* 2006;24: 2028-2037.
- 146)** Ho-Yen C, Bowen RL, Jones JL. Characterization of basal-like breast cancer: an update. *Diagnostic Histopathol*. 2012 Mar;18(3): 104-111.
- 147)** Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology*. 2008 Jan;52(1): 108-118.

148) Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, et al. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2001;19(18): 3817-3827.

149) National Institutes of Health Consensus Development Panel. National Institutes of Health Consensus Development Conference statement: Adjuvant Therapy for breast cancer, November 1-3, 2000. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2001;(30):5-15.

150) Kurtz JM, Jacquemier J, Amalric R, Brandone H, et al. Why are local recurrences after breast-conserving therapy more frequent in younger patients? *J Clin Oncol.* 1990 Apr;8(4): 591-598.

151) Kroman N, Holtveg H, Wohlfahrt J, Jensen MB, et al. Effect of breast-conserving therapy versus radical mastectomy on prognosis for young women with breast carcinoma. *Cancer* 2004;100: 688-693.

152) Mahmood U, Morris C, Neuner G, Koshy M, et al. Similar survival with breast conservation therapy or mastectomy in the management of young women with early-stage breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;83: 1387-1393.

153) Bartelink H, Horiot JC, Poortmans P, Struikmans H, et al. Impact of a higher radiation dose on local control and survival in breast-conserving therapy of early breast cancer: 10-year results of the randomized boost versus no boost EORTC 2281-10882 trial. *J Clin Oncol.* 2007;25: 3259-3265.

154) Tuttle TM, Habermann EB, Grund EH, Morris TJ, et al. Increasing use of contralateral prophylactic mastectomy for breast cancer patients: a trend toward more aggressive surgical treatment. *J Clin Oncol.* 2007 Nov 20;25(33): 5203-5209.

155) Yao K, Stewart AK, Winchester DJ, et al. Trends in contralateral prophylactic mastectomy for unilateral cancer: a report from the National Cancer Data Base, 1998-2007. *Ann Surg Oncol.* 2010 Oct;17(10): 2554-2562.

156) Jones NB, Wilson J, Kotur L, Stephens J, et al. Contralateral prophylactic mastectomy for unilateral cancer: an increasing trend at a single institution. *Ann Surg Oncol.* 2009 Oct;16(10): 2691-2696.

- 157)** Nichols HB, Berrington de González A, Lacey JV Jr, et al. Declining incidence of contralateral breast cancer in the United States from 1975 to 2006. *J Clin Oncol*. 2011 Apr 20;29(12): 1564-1569.
- 158)** Rosenberg SM, Tracy MS, Meyer ME, Sepucha K, et al. Perceptions, knowledge, and satisfaction with contralateral prophylactic mastectomy among young women with breast cancer: a cross-sectional survey. *Ann Intern Med*. 2013 Sep 17;159(6): 373-381.
- 159)** De Laurentiis M, Canello G, D'Agostino D, et al. Taxane-based combinations as adjuvant chemotherapy of early breast cancer: a meta-analysis of randomized trials. *J Clin Oncol*. 2008 Jan 1;26(1): 44-53.
- 160)** Partridge AH, Gelber S, Piccart-Gebhart MJ, et al. Effect of age on breast cancer outcomes in women with human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: results from a herceptin adjuvant trial. *J Clin Oncol*. 2013;31(21): 2692-2698.
- 161)** Partridge AH, Pagani O, Abulhair O, et al. First international consensus guidelines for breast cancer in young women (BCY1). *Breast*. 2014;23(3): 209-220.
- 162)** Burstein HJ, Temin S, Anderson H, et al. Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Focused Update. *J Clin Oncol*. 2014 Jul 20;32(21): 2255-2269.
- 163)** Goss PE, Ingle JN, Martino S, Robert NJ, et al. A randomized trial of letrozole in postmenopausal women after five years of tamoxifen therapy for early-stage breast cancer. *N Engl J Med*. 2003 Nov 6;349(19):1793-802
- 164)** Goss PE, Ingle JN, Martino S, Robert NJ, et al. Outcomes of women who were premenopausal at diagnosis of early stage breast cancer in the NCIC CTG. *Cancer Res* 2009;69(24 Suppl): Abstract 13.
- 165)** Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. *Lancet* 2005;365: 1687-1717.
- 166)** Gnant M, Mlineritsch B, Stoeger H, et al. Zolendronic acid combined with adjuvant endocrine therapy of tamoxifen versus anastrozol plus ovarian function suppression in

premenopausal early breast cancer: final analysis of the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group Trial 12. *Ann Oncol*. 2015 Feb;26(2): 313-320.

167) Pagani O, Regan MM, Walley BA, et al. Adjuvant exemestane with ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(2): 107-118.

168) Francis PA, Regan MM, Fleming GF, Lang I, et al. Adjuvant ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med*. 2015 Jan 29;372(5):436-446.

169) Smith IE, Dowsett M, Yap YS, Walsh G, et al. Adjuvant aromatase inhibitors for early breast cancer after chemotherapy-induced amenorrhoea: caution and suggested guidelines. *J Clin Oncol*. 2006 Jun 1;24(16): 2444-2447.

170) Cameron D, Piccart-Gebhart MJ, Gelber RD, 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*. 2017 Feb 16 [Epub ahead of print]

171) Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, Gralow J, et al. Results of chemotherapy alone, with sequential or concurrent addition of 52 weeks of trastuzumab in the NCCTG N9831 HER2-positive adjuvant breast cancer trial. *Cancer Res*. 2009;69(Suppl.24). Abstr 80.

172) Freedman RA, Partridge AH. Adjuvant therapies for very young women with early stage breast cancer. *Breast*. 2011 Oct;20 Suppl 3: S146-149.

173) Ganz PA, Greendale GA, Petersen L, Kahn B, et al. Breast cancer in younger women: reproductive and late health effects of treatment. *J Clin Oncol*. 2003 Nov 15;21(22): 4184-4193.

174) Dunn J, Steginga SK. Young women's experience of breast cancer: defining young and identifying concerns. *Psychooncology*. 2000 Mar-Apr;9(2): 137-146.

175) Leining MG, Gelber S, Rosenberg R, Przepyszny M, et al. Menopausal-type symptoms in young breast cancer survivors. *Ann Oncol*. 2006 Dec;17(12): 1777- 1782.

176) Pritchard KI. Adjuvant therapy of the very young women. *Breast*. 2007 Dec;16 Suppl 2: S136-146.

177) Knobf MT. The influence of endocrine effects of adjuvant therapy on quality of life outcomes in the young breast cancer survivor. *Oncologist*. 2006 Feb;11(2): 96-110.

- 178)** Boekhout AH, Beijnen JH, Schellens JH. Symptoms and treatment in cancertherapy-induced early menopause. *Oncologist*. 2006 Jun;11(6): 641-654.
- 179)** Partridge AH, Gelber S, Gelber R. Delayed premature menopause following chemotherapy for early stage breast cancer: long term results from IBCSG Trial V. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2005;16: 50.
- 180)** Meirow D. Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Mol Cell Endocrinol*. 2000 Nov;169(1-2): 123-131.
- 181)** Český statistický úřad. www.czso.cz/csu/czso/demograficka-prirucka-2015
- 182)** Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol*. 2006;24: 2917-2931.
- 183)** Falcone T, Attaran M, Bedaiwy MA, Goldberg JM. Ovarian function preservation in the cancer patient. *Fertil Steril*. 2004 Feb;81(2): 243-257.
- 184)** Oktay K, Buyuk E, Davis O, et al. Fertility preservation in breast cancer patients: IVF and embryo cryopreservation after ovarian stimulation with tamoxifen. *Hum Reprod*. 2003;18: 90-95.
- 185)** Oktay K, Sonmezer M. Ovarian tissue banking for cancer patients: fertility preservation, not just ovarian cryopreservation. *Hum Reprod*. 2004 Mar;19(3): 477-480.
- 186)** Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update*. 2004 May-Jun;10(3): 251-266.
- 187)** Oktay K, Newton H, Aubard Y, et al. Cryopreservation of immature human oocytes and ovarian tissue: An emerging technology? *Fertil Steril*. 1998;69: 1-7.
- 188)** Radford JA, Lieberman BA, Brison DR, et al. Orthotopic reimplantation of cryopreserved ovarian cortical strips after high-dose chemotherapy for Hodgkin's lymphoma. *Lancet*. 2001;357: 1172-1175.
- 189)** Oktay K, Buyuk E, Veeck L, et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*. 2004; 363:837-840.

- 190)** Waxman JH, Ahmed R, Smith D, et al. Failure to preserve fertility in patients with Hodgkin's disease. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1987;19: 159-162.
- 191)** Oktay K, Sonmezer M, Oktem O, et al. Absence of conclusive evidence for the safety and efficacy of gonadotropin releasing hormone analogue treatment in protecting against chemotherapy-induced gonadal injury. *Oncologist.* 2007;12: 1055-1066.
- 192)** Fox KR, Scialla J, Moore H. Preventing chemotherapy-related amenorrhea using leuprolide during adjuvant chemotherapy for early-stage breast cancer [abstract 50]. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2003; 22: 13.
- 193)** Recchia F, Sica G, De Filippis S, Saggio G, et al. Goserelin as ovarian protection in the adjuvant treatment of premenopausal breast cancer: a phase II pilot study. *Anticancer Drugs.* 2002 Apr;13(4):417-424.
- 194)** Francis PA. Optimal adjuvant therapy for very young breast cancer patients. *Breast.* 2011 Aug;20(4): 297-302.
- 195)** Barthelmes L, Gateley CA. Tamoxifen and pregnancy. *The Breast.* 2004 Dec;13(6): 446-51.
- 196)** Cunha GR, Taguchi O, Namikawa R, et al. Teratogenic effects of clomiphene, tamoxifen, and diethylstilbestrol on the developing human female genital tract. *Hum Pathol.* 1987 Nov;18(11):1132-1143.
- 197)** Cullins SL, Pridjian G, Sutherland CM. Goldenhar's syndrome associated with tamoxifen given to the mother during gestation. *JAMA.* 1994;271(24): 1905-1906.
- 198)** Goldhirsch A, Gelber RD. Life with consequences of breast cancer: pregnancy during and after endocrine therapies. *Breast.* 2004 Dec;13(6):443-445.
- 199)** Backman T, Rauramo I, Jaakkola K, et al. Use of the levonorgestrel-releasing intrauterine system and breast cancer. *Obstet Gynecol.* 2005 Oct;106(4): 813-817.
- 200)** Trinh XB, Tjalma WA, Makar AP, et al. Use of the levonorgestrel-releasing intrauterine system in breast cancer patients. *Fertil Steril.* 2008 Jul;90(1): 17-22.
- 201)** Ives A, Saunders C, Bulsara M, Semmens J. Pregnancy after breast cancer: population based study. *Br Med J.* 2007 Jan 27;334(7586):194.

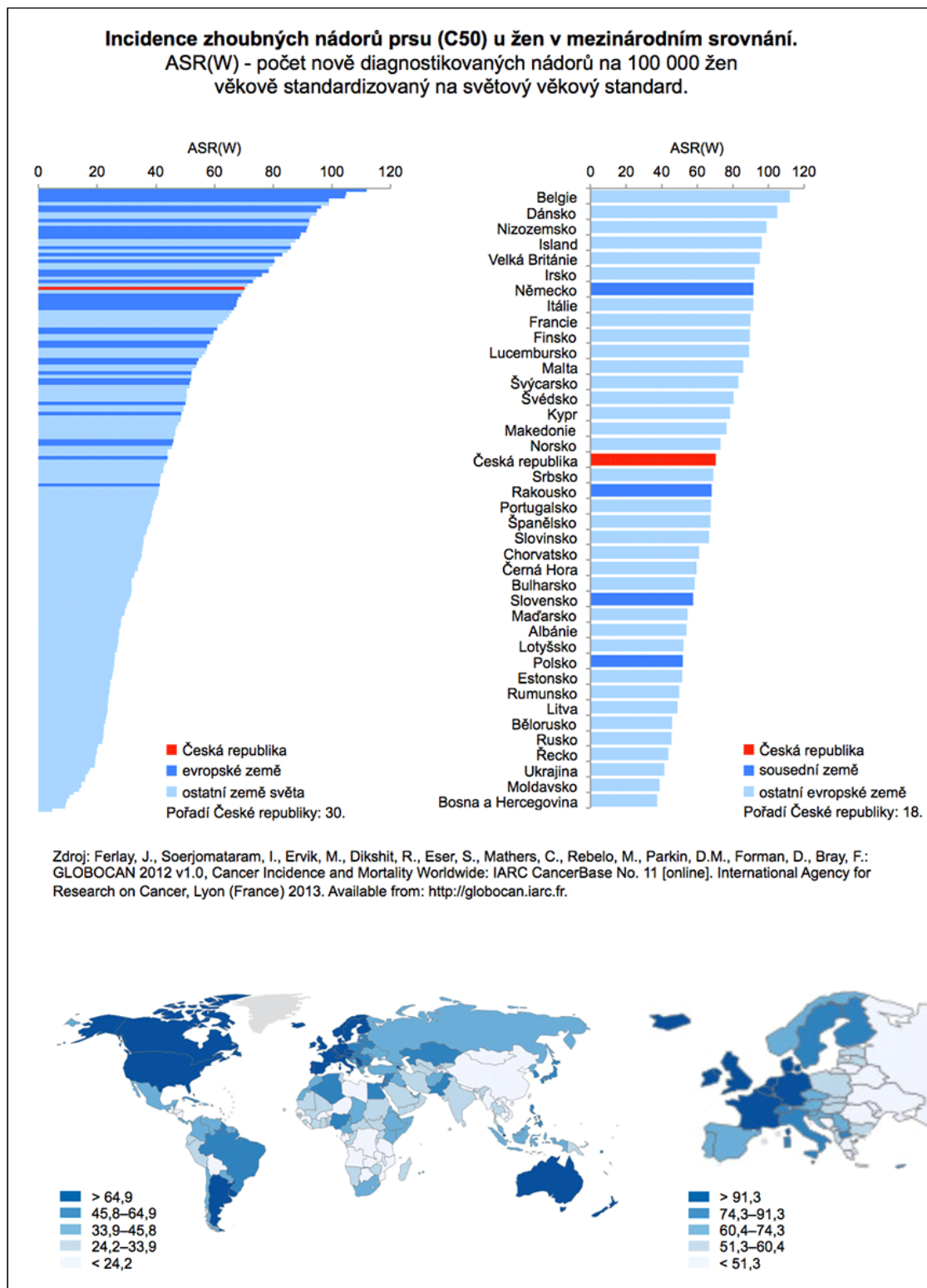
- 202)** White TT. Prognosis of breast cancer for pregnant and nursing women; analysis of 1,413 cases. *Surg Gynecol Obstet.* 1955 Jun;100(6):661-666.
- 203)** Anderson JM. Mammary cancers and pregnancy. *Br Med J.* 1979;1(6171): 1124-1127.
- 204)** Parente JT, Amsel M, Lerner R, et al. Breast cancer associated with pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1988; 71: 861–64.
- 205)** Loibl S, von Minckwitz G, Gwyn K, et al. Breast carcinoma during pregnancy. International recommendations from an expert meeting. *Cancer.* 2006;106(2): 237-246.
- 206)** Tretli S, Kvalheim G, Thoreson S, et al. Survival of breast cancer patients diagnosed during pregnancy and lactation. *Br J Cancer.* 1988 Sep;58(3):382-384.
- 207)** DiFronzo LA, O'Connell TX. Breast cancer in pregnancy and lactation. *Surg Clin North Am.* 1996 Apr;76(2): 267-78.
- 208)** Woo JC, Yu T, Hurd TC. Breast cancer in pregnancy: a literature review. *Arch Surg.* 2003 Jan;138(1): 91-98.
- 209)** Zemlickis D, Lishner M, Degendorfer P, et al. Maternal and fetal outcome after breast cancer in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1992 Mar;166(3): 781-787.
- 210)** Petrek J. Breast cancer during pregnancy. *Cancer.* 1994;74: 518-527.
- 211)** Kal HB, Struikmans H. Breast carcinoma during pregnancy. International recommendations from an expert meeting. *Cancer.* 2006 Aug 15;107(4):882-883.
- 212)** Kal HB, Struikmans H. Radiotherapy during pregnancy: fact and fiction. *Lancet Oncol.* 2005 May;6(5):328-333.
- 213)** Berry DL, Theriault RL, Holmes FA, et al. Management of breast cancer during pregnancy using a standardized protocol. *J Clin Oncol.* 1999 Mar;17(3): 855-861.
- 214)** Mir O, Berveiller P, Ropert S, et al. Emerging therapeutic options for breast cancer chemotherapy during pregnancy. *Ann Oncol.* 2008 Apr;19(4): 607-613.
- 215)** Hartmann S, Reimer T, Gerber B. Management of early invasive breast cancer in very young women (<35 years). *Clin Breast Cancer.* 2011 Aug;11(4): 196-203.

- 216)** Dubsy PC, Gnant MF, Taucher S, Roka S, et al. Young age as an independent adverse prognostic factor in premenopausal patients with breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2002 Apr;3(1): 65-72.
- 217)** Kroman N, Jensen MB, Wohlfahrt J, Mouridsen HT, et al. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study. *BMJ*. 2000 Feb 19;320(7233): 474-478.
- 218)** Aebi S, Gelber S, Castiglione-Gertsch M, et al. Is chemotherapy alone adequate for young women with oestrogen-receptor-positive breast cancer? *Lancet*. 2000 May;355 (9218): 1869-1874.
- 219)** De la Rochefordiere A, Asselain B, Campana F, et al. Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet*. 1993 Apr 24;341(8852): 1039-1043.
- 220)** Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28: 2784–2795.
- 221)** Wolff AC, Hammond EH, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *Arch Pathol Lab Med* 2014; 138:241-256.
- 222)** Shah MV, Wiktor AE, Meyeer RG, et al. Change in Pattern of HER2 Fluorescent in Situ Hybridization (FISH) Results in Breast Cancers Submitted for FISH Testing: Experience of a Reference Laboratory Using US Food and Drug Administration Criteria and American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Guidelines. *J Clin Oncol* 2016, Jul 25. pii: JCO618983. [Epub ahead of print]
- 223)** Kinkor Z, Grossman P, Skálová A. Molekulární testování HER2 u karcinomu prsu jako kritérium výběru nemocných k léčbě Herceptinem – jsme optimální? *Breast Cancer News*. 2014;4(2):10-13.
- 224)** Ribnikar D, Ribeiro JM, Pinto D, Sousa B, et al. Breast cancer under age 40: a different approach. *Curr Treat Options Oncol*. 2015 Apr;16(4): 16.

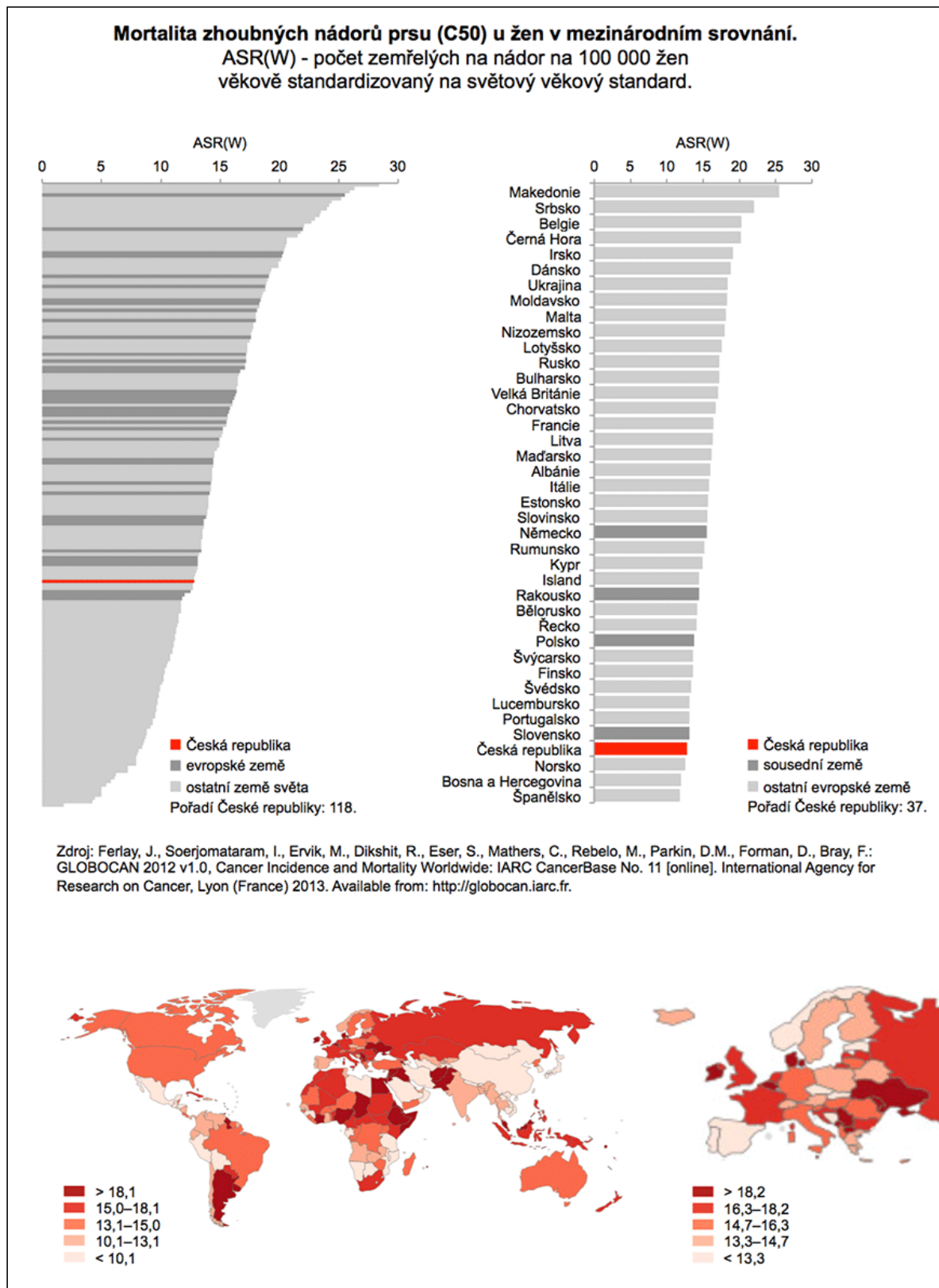
225) Chen HL, Zhou MQ, Tian W, Meng KX, et al. Effect of age on breast cancer patient prognoses: a population-based study using the SEER 18 database. PLoS One. 2016 Oct 31;11(10): e0165409.

8 Přílohy

Příloha 1: Incidence ZN prsu ve světě, zdroj GLOBOCAN 2012 [16]



Příloha 2: Mortalita ZN prsu ve světě, zdroj GLOBOCAN 2012 [16]



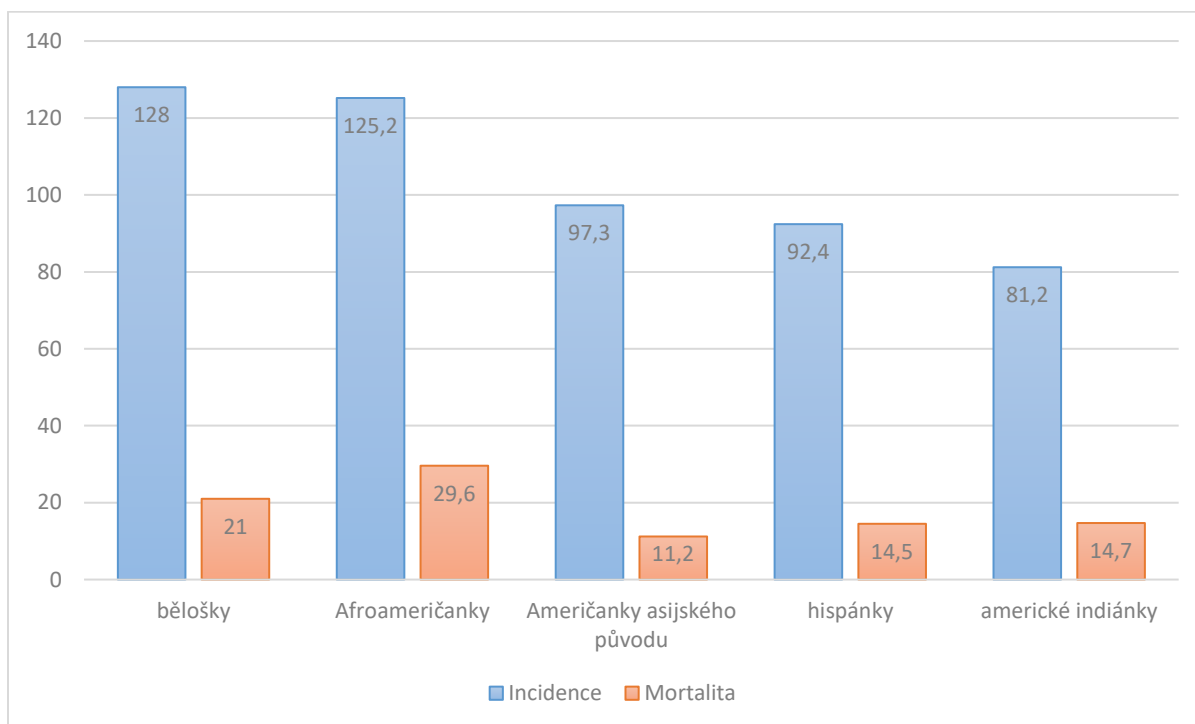
Příloha 3: WHO klasifikace nádorů prsu (2012) [3]

Epithelial tumours		Adenomas	
Invasive ductal carcinoma, not otherwise specified	8500/3	Tubular adenoma	8211/0
Mixed type carcinoma		Lactating adenoma	8204/0
Pleomorphic carcinoma	8022/3	Apocrine adenoma	8401/0
Carcinoma with osteoclastic giant cells	8035/3	Pleomorphic adenoma	8940/0
Carcinoma with choriocarcinomatous features		Ductal adenoma	8503/0
Carcinoma with melanotic features			
Invasive lobular carcinoma	8520/3	Myoepithelial lesions	
Tubular carcinoma	8211/3	Myoepitheliosis	
Invasive cribriform carcinoma	8201/3	Adenomyoepithelial adenosis	
Medullary carcinoma	8510/3	Adenomyoepithelioma	8983/0
Mucinous carcinoma and other tumours with abundant mucin		Malignant myoepithelioma	8982/3
Mucinous carcinoma	8480/3		
Cystadenocarcinoma and columnar cell mucinous carcinoma	8480/3	Mesenchymal tumours	
Signet ring cell carcinoma	8490/3	Haemangioma	9120/0
Neuroendocrine tumours		Angiomatosis	
Solid neuroendocrine carcinoma		Haemangiopericytoma	9150/1
Atypical carcinoid tumour	8249/3	Pseudoangiomatous stromal hyperplasia	
Small cell / oat cell carcinoma	8041/3	Myofibroblastoma	8825/0
Large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Fibromatosis (aggressive)	8821/1
Invasive papillary carcinoma	8503/3	Inflammatory myofibroblastic tumour	8825/1
Invasive micropapillary carcinoma	8507/3	Lipoma	8850/0
Apocrine carcinoma	8401/3	Angiolipoma	8861/0
Metaplastic carcinomas	8575/3	Granular cell tumour	9580/0
Pure epithelial metaplastic carcinomas	8575/3	Neurofibroma	9540/0
Squamous cell carcinoma	8070/3	Schwannoma	9560/0
Adenocarcinoma with spindle cell metaplasia	8572/3	Angiosarcoma	9120/3
Adenosquamous carcinoma	8560/3	Liposarcoma	8850/3
Mucoepidermoid carcinoma	8430/3	Rhabdomyosarcoma	8900/3
Mixed epithelial/mesenchymal metaplastic carcinomas	8575/3	Osteosarcoma	9180/3
Lipid-rich carcinoma	8314/3	Leiomyoma	8890/0
Secretory carcinoma	8502/3	Leiomyosarcoma	8890/3
Oncocytic carcinoma	8290/3		
Adenoid cystic carcinoma	8200/3	Fibroepithelial tumours	
Acinic cell carcinoma	8550/3	Fibroadenoma	9010/0
Glycogen-rich clear cell carcinoma	8315/3	Phyllodes tumour	9020/1
Sebaceous carcinoma	8410/3	Benign	9020/0
Inflammatory carcinoma	8530/3	Borderline	9020/1
Lobular neoplasia		Malignant	9020/3
Lobular carcinoma in situ	8520/2	Periductal stromal sarcoma, low grade	9020/3
Intraductal proliferative lesions		Mammary hamartoma	
Usual ductal hyperplasia			
Flat epithelial atypia		Tumours of the nipple	
Atypical ductal hyperplasia		Nipple adenoma	8506/0
Ductal carcinoma in situ	8500/2	Syringomatous adenoma	8407/0
Microinvasive carcinoma		Paget disease of the nipple	8540/3
Intraductal papillary neoplasms			
Central papilloma	8503/0	Malignant lymphoma	
Peripheral papilloma	8503/0	Diffuse large B-cell lymphoma	9680/3
Atypical papilloma		Burkitt lymphoma	9687/3
Intraductal papillary carcinoma	8503/2	Extranodal marginal-zone B-cell lymphoma of MALT type	9699/3
Intracystic papillary carcinoma	8504/2	Follicular lymphoma	9690/3
Benign epithelial proliferations			
Adenosis including variants		Metastatic tumours	
Sclerosing adenosis			
Apocrine adenosis		Tumours of the male breast	
Blunt duct adenosis		Gynaecomastia	
Microglandular adenosis		Carcinoma	
Adenomyoepithelial adenosis		Invasive	8500/3
Radial scar / complex sclerosing lesion		In situ	8500/2

Příloha 4: TNM klasifikace ZN prsu

T -primární nádor			
TX	primární nádor nelze hodnotit		
T0	bez známek primárního nádoru		
Tis	in situ		
T1	≤ 2 cm		
T1mi	≤ 0,1 cm		
T1a	> 0,1 ≤ 0,5 cm		
T1b	> 0,5 ≤ 1,0 cm		
T1c	> 1,0 ≤ 2,0 cm		
T2	> 2 ≤ 5 cm		
T3	> 5 cm		
T4	stěna hrudní / ulcerace kůže, kožní uzly, inflamatorní		
T4a	stěna hrudní		
T4b	ulcerace kůže, satelitní kožní uzly, edém kůže		
T4c	obě 4a a 4b		
T4d	inflamatorní karcinom		
N – regionální mízní uzliny			
NX	regionální mízní uzliny nelze hodnotit		
N0	regionální mízní uzliny bez metastáz		
N1	pohyblivé axilární	pN1mi	mikrometastázy > 0,2 ≤ 2 mm
		pN1a	1-3 axilární uzliny
		pN1b	vnitřní mamární uzliny s mikro-/makro metastázami v biopsii v sentinelové uzlině, avšak klinicky neprokazatelné
		pN1c	1-3 axilární a vnitřní mamární uzliny a vnitřní mamární uzliny s mikro-/makro metastázami v biopsii v sentinelové uzlině, avšak klinicky neprokazatelné
N2a	fixované axilární	pN2a	4-9 axilárních uzlin
N2b	vnitřní mamární, klinicky zjevné	pN2b	vnitřní mamární, klinicky zjevné, bez axilárních uzlin
N3a	Infraklavikulární	pN3a	≥ 10 axilárních nebo infraklavikulárních uzlin
N3b			
	vnitřní mamární a axilární	pN3b	vnitřní mamární uzliny, klinicky zjevné, s axilární uzlinou (uzlinami), nebo > 3 axilární a vnitřní mamární uzliny s mikroskopickými metastázami v biopsii sentinelové uzliny, avšak klinicky neprokazatelné
N3c			
	Supraklavikulární	pN3c	Supraklavikulární
M – vzdálené metastázy			
MX	vzdálené metastázy nelze hodnotit		
M0	bez vzdálených metastáz		
M1	vzdálené metastázy		

Příloha 5: Srovnání incidence a mortality karcinomu prsu v USA mezi 2009-2013, uváděné hodnoty na 100 000 obyvatel, upraveny dle věku standardní populaci USA 2000, zdroj: NCI- SEER [119]



Příloha 6: Počty všech pacientů s karcinomem prsu (C50), diagnostikovaným v období 1.1.2006 – 31.12.2015 v Biopstické laboratoři a Šiklově ústavu patologie FN a LF UK v Plzni

Rok	Rok narození pacienta	Celkový počet vyšetření žen s C50 v roce	počet nových dg. C50 v roce	Počet žen C50 do 35 let v roce*	% mladých žen s C50 z celkového počtu
2006	1971+	1 492	1 297	23/22	1.7
2007	1972+	1 620	1 422	25	1.8
2008	1973+	1 585	1 381	25/23	1.7
2009	1974+	2 257	1 406	39/28	2.0
2010	1975+	4 214	1 795	117/68	3.7
2011	1976+	4 144	1 691	75/34	2.0
2012	1977+	4 105	1 695	109/46	2.7
2013	1978+	4 664	1 913	97/43	2.2
2014	1979+	4 961	1 897	51/24	1.3
2015	1980+	4 499	1 797	97/43	2.4
	CELKEM	33 541	16 294	658/356	2.2

* Celkový počet vyšetření u mladých žen s C50/nově diagnostikované případy C50 u mladých žen