

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Jana Kudláčková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Karcinom prsu
Jana Kudláčková

Bakalářská práce
2023

THE UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL-TECHNOLOGY

Department of Biological and Biochemical Sciences

Bachelor thesis

Breast Cancer

2023

Jana Kudláčková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Jana Kudláčková**
Osobní číslo: **C19249**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Karcinom prsu**
Téma práce anglicky: **Breast Cancer**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Vypracujte literární rešerši o karcinomu prsu.
- 2) Definujte téma z genetického a lékařského hlediska.
- 3) Pro vytvoření kompilačního textu využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod. Jako zdroje využijte zejména odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Lucie Stříbrná, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla § 60. odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jiného subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne: 30.6.2023

v.r. Jana Kudláčková

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat své vedoucí bakalářské práce paní Mgr. Lucii Stříbrné, Ph.D. za ochotu a cenné rady, které mi poskytovala během psaní této práce. Děkuji také rodině za podporu v průběhu studia.

ANOTACE

Bakalářská práce shrnuje informace o onemocnění karcinomem prsu, a především o genetických dispozicích vzniku tohoto onemocnění způsobené mutacemi genů BRCA-1 a BRCA-2. Mutace těchto genů mají za následek zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu jak u žen, tak u mužů. Dále se práce zaměřuje na příčiny vzniku nádoru, způsoby diagnostiky a možnosti léčby, které dnešní moderní medicína nabízí.

KLÍČOVÁ SLOVA

karcinom prsu, gen BRCA-1, gen BRCA-2, diagnostika, léčba

TITLE

Breast Cancer

ANNOTATION

The bachelor thesis summarizes information about breast cancer and, most importantly, the genetic disposition of the development of this disease caused by mutations in the BRCA-1 and BRCA-2 genes. Mutations in these genes result in an increased risk of developing breast cancer in both women and man. Furthermore, the work focuses on the causes of tumor formation, methods of diagnosis and treatment options offered by modern medicine.

KEYWORDS

breast cancer, gene BRCA-1, gene BRCA-2, diagnostics, treatment

OBSAH

Seznam obrázků	1
Seznam zkratk a značek	2
Terminologie.....	4
ÚVOD.....	7
1 ANATOMIE A FYZIOLOGIE PRSU.....	8
2 TYPY NÁDORŮ	9
2.1 Benigní nádory prsu	9
2.2 Maligní nádory prsu	11
2.2.1 Karcinom <i>in situ</i>	11
2.2.2 Invazivní formy karcinomu	12
3 RIZIKOVÉ FAKTORY	13
3.1 Faktory životního prostředí	13
3.2 Faktory osobní anamnézy	14
3.3 Hormonální a gynekologické faktory.....	14
4 GENETICKÉ DISPOZICE	16
4.1 Syndromy spojené s výskytem karcinomu prsu.....	17
5 LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ.....	21
5.1 Polymerázová řetězová reakce	23
5.1.1 Průběh PCR.....	23
5.2 Doporučené screeningové metody	24
5.2.1 Metoda přímého sekvenování DNA (DS)	25
5.2.2 Test zkrácených proteinů (PTT)	26
5.2.3 Polymorfismus konformace jednoduchých řetězců (SSCP).....	26
5.2.4 Heteroduplexní analýza (HA)	27
5.2.5 Vysokorozlišovací analýza křivek tání (HRM)	27
5.2.6 Denaturační gradientová gelová elektroforéza (DGGE).....	28
5.2.7 Metoda chemického štěpení (CCM)	28
5.2.8 Metoda Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA).....	28

6	DIAGNOSTIKA.....	30
6.1	Samovyšetření	30
6.2	Mamografie	30
6.3	Ultrasonografie.....	31
6.4	Magnetická rezonance	32
6.5	Duktografie.....	32
6.6	Bioptické vyšetření.....	32
7	MOŽNOSTI LÉČBY KARCINOMU PRSU	34
7.1	Chirurgická léčba	34
7.2	Radioterapie	35
7.3	Chemoterapie	35
7.4	Hormonální léčba.....	36
7.5	Biologická léčba.....	37
8	ZÁVĚR	38
	SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY	39
	ZDROJE OBRÁZKŮ	50

Seznam obrázků

Obr. 1 – Řez prsem dospělé ženy	8
Obr. 2 – Prsní kvadranty	10
Obr. 3 – Lokalizace genů BRCA-1 a BRCA-2 na chromozómech	16
Obr. 4 – Průběh PCR	24
Obr. 5 – Heteroduplexní analýza	27
Obr. 6 – Technika samovyšetření prsu	30
Obr. 7 – Mamografický snímek prsu s karcinomem prsu.....	31
Obr. 8 – Invazivní duktální karcinom	33
Obr. 9 – Duktální karcinom <i>in situ</i> (DCIS).....	33
Tab. 1 – Geny zvyšující riziko karcinomu prsu	18

Seznam zkratek a značek

A-T	Ataxia telangiectasia neboli syndrom Louis-Barové
ATM	mutovaná ataxia-telangiectasia, ATM serin/threonin kináza
BRCA-1	BReast CAncer-1 gen
BRCA-2	BReast CAncer-2 gen
BRIP-1	BRCA1 interagující helikáza 1
cDNA	Complementary DNA, komplementární DNA
CCM	Chemical cleavage of mismatch, metoda chemického štěpení
CNS	centrální nervová soustava
CRC	Colorectal cancer, kolorektální karcinom
CS	Cowdenův syndrom
DCIS	Ductal carcinoma <i>in situ</i> , duktální karcinom <i>in situ</i>
DNA	Deoxyribonucleic acid, deoxyribonukleová kyselina
DNáza	deoxyribonukleáza
dNTP	deoxyribonukleosidtrifosfáty
ddNTP	dideoxyribonukleotid
DGGE	Denaturing gradient gel electrophoresis, denaturační gradientová gelová elektroforéza
DMD	Duchennova muskulární dystrofie
DS	Direct sequencing, přímé sekvenování
dsDNA	Double stranded DNA, dvouvláknová DNA
EMQN	European Molecular Genetics Quality Network
ER	estrogenový receptor
GIT	gastrointestinální trakt
HA	Heteroduplex analysis, heteroduplexní analýza
HBC	Hereditary breast cancer syndrome, syndrom dědičného karcinomu prsu
HBOC	Hereditary breast/ovarian cancer syndrome, syndrom dědičného karcinomu prsu a vaječníků
HER-2	humánní epidermální receptor 2
HNPCC	Hereditary nonpolyposis colorectal cancer, hereditární nepolypózní kolorektální karcinom
HRT	Hormon replacement therapy, hormonální substituční léčba
HRM	High resolution melting analysis, vysokorozlišovací analýza křivek tání

CHEK2	Checkpoint kinase 2
IDC	invazivní ductální karcinom
ILC	invazivní lobulární karcinom
LCIS	lobulární karcinom <i>in situ</i>
LFS	Li-Fraumeniho syndrom
LHRH	Luteinizing hormone-releasing hormone, hormon uvolňující luteinizační hormon
MLH1	MutL homolog 1
MLH6	MutL homolog 6
MLPA	Multiplex ligation dependent probe amplification
MMR-geny	Mismatch repair geny
mRNA	mediátorová RNA
MSH2	MutS homolog 2
NGS	Next generation sequencing, sekvenování nové generace
p53	fosfoprotein p53
PALB2	partner and lokalizátor BRCA-2 genu
PARP	poly (ADP-ribóza) polymeráza
PCR	Polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce
PJS	Peutz-Jeghersův syndrom
PME	parciální mastektomie
PMS1	PMS1 homolog 1, mismatch repair system component
PMS2	PMS1 homolog 2, mismatch repair system component
PR	progesteronový receptor
PTEN	Phosphatase and tensin homolog, fosfatázový and tenzinový homolog
PTT	Protein truncation test, test zkrácených proteinů
RNáza	ribonukleáza
SDS	sodiumdodecylsulfát
SMA	spinální muskulární atrofie
SSCP	Single strand conformation polymorphism, polymorfismus konformace jednoduchých řetězců
STK11	serin/threonin kináza 11
TME	totální mastektomie

Terminologie

<i>Alela</i>	konkrétní forma genu
<i>Amplifikace</i>	zmnožení počtu kopií určitého úseku DNA pro její další vyšetření
<i>Aneuploidie</i>	stav, kdy v buňkách chybí nebo naopak přebývají chromozómy
<i>Biopsie</i>	vyšetření vzorku odebraného lidského orgánu nebo tkáně
<i>Cytosin</i>	druh pyrimidinové báze v nukleotidech a nukleových kyselinách
<i>Delece</i>	druh chromozómové mutace, při níž chybí část chromozómu včetně příslušných genů
<i>Denaturace</i>	změna fyzikálních a fyziologických vlastností látek, které vedou ke změně či ztrátě jejich přirozených funkcí
<i>DNA – polymeráza</i>	enzym katalyzující tvorbu DNA za přítomnosti již existující DNA jako šablony
<i>Dispozice</i>	předpoklad k určité nemoci, často vrozený
<i>Duplikace</i>	zdvojení genu
<i>Eluce</i>	vyluhování, vymývání látek
<i>Exon</i>	část genu eukaryotických buněk, která obsahuje vlastní dědičnou informaci
<i>Expese</i>	vytlačení, v genetice označení aktivity genu a vyjádření informace v něm obsažené
<i>Fenokopie</i>	vnějšími vlivy způsobená, nedědičná změna, svými projevy se podobá dědičné
<i>Frameshift mutace</i>	posunová mutace
<i>Gelová elektroforéza</i>	separační a analytická metoda vhodná pro makromolekuly, které se pohybují v závislosti na jejich velikosti, uspořádání nebo náboji v gelu
<i>Gen:</i>	základní jednotka dědičné informace uložená v chromozómu a tvořená úsekem DNA
<i>Heteroduplex</i>	útvár vzniklý spojením dvou jednořetězcových vláken DNA pocházejících od dvou odlišných molekul

<i>Homoduplex</i>	útvár vzniklý spojením dvou jednořetězcových vláken DNA pocházejících z totožné molekuly
<i>Chaotropní látka</i>	molekula ve vodném roztoku, která může rozrušit vodíkové vazby
<i>In vitro</i>	za umělých, laboratorních podmínek
<i>In vivo</i>	v živém organismu
<i>Kardiotoxicita</i>	vlastnost vedoucí k poškození srdečního svalu, a tím ke zhoršení srdečních funkcí
<i>Komplementarita</i>	schopnost doplnit se specifickým párováním bází pomocí vodíkových můstků
<i>Mutace</i>	změna genetické informace na úrovni DNA, zasahuje geny nebo i celé chromozómy
<i>Nukleotid</i>	složenina složená z ribózy, pyrimidinové či purinové báze a fosfátu
<i>Nonsense mutace</i>	nesmyslná mutace
<i>Olaparib</i>	protinádorový lék ze skupiny cytostatik, které inhibují PARP enzymy
<i>Oligonukleotid:</i>	dva a více nukleotidů, kteří jsou spojeni specifickou chemickou vazbou
<i>Ovaria</i>	vaječníky
<i>Pagetovo onemocnění bradavky</i>	specifický typ přednádorového stavu, který pozvolna přechází do speciálního podtypu rakoviny prsu
<i>Piperidin</i>	hexahydropyridin, sekundární cyklický amin, který je součástí molekuly alkaloidu piperinu
<i>Primer</i>	malá molekula potřebná k zahájení syntézy makromolekuly
<i>Reagencie</i>	chemické činidlo
<i>Rekurence</i>	návrat, opětovné objevení
<i>Semi-kvantitativní</i>	popisuje jev částečně kvantitativně, v dohodnuté stupnici, bez přesných čísel, bez fyzikálních nebo chemických jednotek
<i>Senzitivita</i>	citlivost, vnímavost
<i>Separace</i>	oddělování, izolace

<i>Substituce</i>	náhrada, nahrazení
<i>Supernatant</i>	tekutina nad sedimentem
<i>Tamoxifen</i>	látka objevena původně jako antiestrogen a používána zejména k léčbě karcinomu prsu
<i>Telangiektázie</i>	trvalé rozšíření kapilár, které je vidět na kůži nebo sliznici v podobě červených nitek
<i>Templát</i>	matrice, předloha
<i>Termocykler</i>	zařízení na provádění metody PCR
<i>Termostabilita</i>	teplotní stálost
<i>Thymin</i>	derivát pyrimidinu, součást nukleových bází polynukleotidového řetězce DNA
<i>Transkripce</i>	proces, při kterém je genetická informace, která je uložena v pořadí bází v DNA, přepisována do komplementárního řetězce RNA
<i>Translace</i>	„překlad“ genetické informace uložené v mRNA při tvorbě specifické bílkoviny, jejíž podoba z této informace vychází
<i>Trastuzumab</i>	protinádorový lék ze skupiny monoklonálních protilátek

(Chaotropní látka, 2021; Olaparib, 2023; Slovník cizích slov, 2005-2023; Slovníky, 1998-2018; Štefánek, 2011; Trastuzumab, 2023)

ÚVOD

Předložená bakalářská práce se zabývá karcinomem prsu a genetickými dispozicemi způsobenými mutacemi v genech BRCA-1 a BRCA-2. Mutace v těchto genech mají za následek zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu. Vedle genetických dispozic se práce věnuje také dalším faktorům, které mohou zvyšovat, ale i snižovat riziko vzniku tohoto onemocnění. V dnešní době je rakovina prsu vyléčitelnou nemocí, a to především kvůli pravidelným preventivním kontrolám, které by měla podstupovat každá žena starší 45 let jednou za dva roky. Avšak ženy, u kterých se odhalí genová mutace, je nutné sledovat již od časného věku každý rok. Díky prevenci a brzké diagnostice se případné onemocnění odhalí včas a může se začít s léčbou, která díky pokroku moderní medicíny je pro každou pacientku tzv. „šitá na míru“.

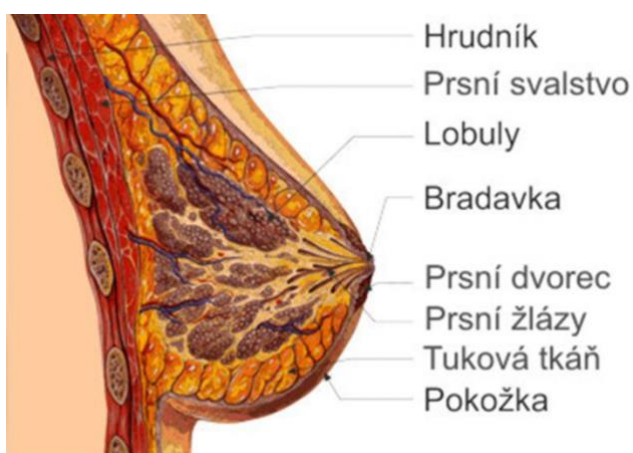
1 ANATOMIE A FYZIOLOGIE PRSU

Prsy (*mammae*) jsou párovým orgánem, které se nacházejí na přední straně hrudníku v úrovni druhého až šestého žebra. Nachází se zde největší kožní žláza, což je žláza mléčná. Ta se v počátku ontogenetického vývoje jedince vytváří z ektodermu a je derivátem potní žlázy. U obou pohlaví se v embryonálním vývoji zakládá epitelové ztlustění nazývané jako mléčná lišta, která probíhá od jamky podpažní až do tříselného ohbí. V ní se tvoří skupiny apokrinních žláz, z nichž se na určitém místě vyvine i žláza mléčná.

Tato žláza se skládá z 15 – 20 laloků, jejichž konečné dukty (vývody) se spojují v jeden společný mlékovod, vedoucí na povrch prsní bradavky. Jednotlivé laloky odděluje tlusté vazivo a velké množství tukové tkáně. (Hladíková, 2009; Pavlišta, 2008)

Před pubertou se žláza skládá ze stromovitého komplexu duktálních struktur a malého množství vaziva, (viz Obr. 1). U mužů přetrvává velikost prsní žlázy celý život, u žen se v období puberty zásadně mění. Díky působení pohlavních hormonů dochází ke zmnožení vazivově – tukové tkáně, prodloužení a větvení duktů a formaci lalůčků – *lobulů*. (Pavlišta, 2008)

Vývoj prsu končí před 20. rokem života ženy, ale jeho celkový vývoj nepřestane nikdy. Při každé menstruaci se mléčná žláza připravuje na možné těhotenství a po ní se prs vrací do původního stavu. Vývoj prsu vrcholí v době těhotenství a s nástupem laktace (kojení). I přesto se mléčná žláza stále mění, ale již nedochází k růstu a zvětšování. (Hladíková, 2009)



Obr. 1 – Řez prsem dospělé ženy. Převzato: (Řez prsem dospělé ženy, 2014)

2 TYPY NÁDORŮ

V dnešní době se histopatologická diagnostika onemocnění prsu neomezuje jen na základní zařazení léze ve smyslu biologického chování, tedy na benigní a maligní. V prsu se můžeme setkat s širokým morfologickým spektrem nádorů, které zahrnují nádory epitelové k nádorům čistě mezenchymovým, přes nádory s myoepiteliální diferenciací až po nádory smíšené s epitelovou i mezenchymální složkou. Patologové zjišťují celou řadu dalších informací týkajících se rozsahu léze a jejich podrobnějších biologických charakteristik. Tímto se poskytuje zpětná vazba radiodiagnostikům i chirurgům a předkládají se základní výchozí parametry klinickým a radiačním onkologům pro stanovení nechirurgického léčebného postupu. Tato mezioborová spolupráce významně posouvá možnosti efektivní a šetrné léčby. (Coufal a Fait, 2011)

2.1 Benigní nádory prsu

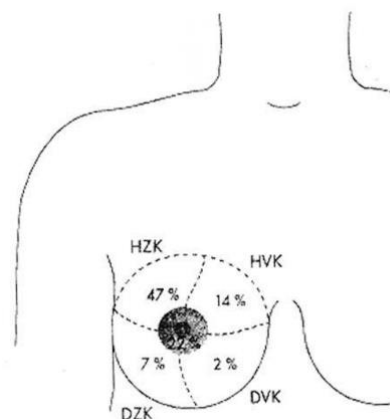
Benigní neboli nezhoubné nádory rostou pomalu, tedy zvětšují svůj objem, což má za následek stlačování okolních buněk či tkání. Jedná se o ohraničené nádory, proto je jejich vyoperování většinou snadné. Neopakují se a neutváří sekundární ložiska, tedy metastázy. (Hladíková, 2009)

Mezi častá onemocnění prsu patří záněty – *mastitis*. Jedná se o infekční onemocnění, které nejčastěji souvisí s obdobím laktace. V tomto případě jde o *mastitis puerperalis*. Jejím nejčastějším původcem je grampozitivní kok *Staphylococcus aureus*. Příznaky tohoto onemocnění jsou nejčastěji teplota, třesavka, únava, bolesti kloubů a svalů, někdy schvácenost, bolest hlavy, nevolnost a velmi bolestivá rezistence přítomná nejčastěji v dolních zevních kvadrantech prsu. Infekce se může objevit i u prsu mimo laktaci, což je méně obvyklé. Je tedy nutné zvážit možnost zánětlivého karcinomu, proto nález abscesu je znakem k incizi a biopsii ztvrdlé tkáně. Z chronických nespecifických zánětů bývá nejčastější duktektázie. U ní nalezneme zmnožení vaziva a zánětlivou infiltraci kolem rozšířených velkých vývodů v subareolární oblasti, což obvykle doprovází perzistující sekrece. Projeví se bolestí v oblasti bradavky, jejím smrštěním či zduřením a hnisavým výtokem. Léčba probíhá celkově pomocí antibiotik nebo lokálně pomocí mastí a obkladů. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Pavlišta *et al.*, 2006)

Fibroadenom je nezhoubný nádor složený z fibrózní a žlázoové složky dvouvrstvého epitelu apokrinního typu. Jedná se o kulaté, oválné nebo lobulární ložisko, které je dobře ohraničené a jemně opouzdřené. Také může obsahovat kalcifikace. Často jsou diagnostikovány u mladých žen mezi 25. – 40. rokem života. Vícečetné nebo komplexní fibroadenomy mohou

zvyšovat riziko vzniku rakoviny prsu. Většina těchto nádorů bývá asymptomatická. Pokud však vyvolává příznaky, nejčastějším projevem je pevné pohyblivé ložisko, které nepřilne k hrudní stěně ani k pokožce prsu. Tyto ložiska bývají především bezbolestná, ale mohou způsobit nepohodlí, zvláště pokud jsou-li větší nebo se nachází v místech, na která se tlačí. Odstranění fibroadenomu se zvažuje u pacientů s prokázaným růstem ložiska, neurčitými histopatologickými nálezy, komplexním fibroadenomem, u pacientů trpících bolestí nebo pokud se jedná o rychle rostoucí variantu tzv. juvenilní fibroadenom. Nejběžněji se odstraňují chirurgicky. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Pavlišta *et al.*, 2006; Roubidoux, 2019)

Intraduktální papilom je nezhoubný nádor, který se nachází v prsních kanálcích. Může být umístěn buď v centrální, nebo periferní části prsu, (viz Obr. 2). Nejčastějším příznakem centrálního papilomu je spontánní výtok z bradavek, který může být serózní, nazelenalý nebo krvavý. Obvykle jsou solitární a větší. Periferní papilomy jsou většinou asymptomatické. Ty jsou naopak menší a mohou být i vícenásobné. V tomto případě se jedná o papilomatózu. Intraduktální papilom je histologicky charakterizován fibrovaskulárním jádrem pokrytým epitelovými a myoepiteliálními buňkami. Může ho doprovázet celá řada změn jako např. skleróza, epitelové nebo myoepiteliální hyperplazie, atypické proliferace a apokrinní metaplazie. Tento nález je také klasifikován jako vysoce riziková prekursorová léze, především kvůli spojitosti s atypii, duktálním karcinomem *in situ* a karcinomem. Avšak žádné významné komplikace nejsou u těchto nádorů pozorovány. Možné komplikace se mohou projevit po biopsii nebo chirurgické excizi. Tyto komplikace zahrnují krvácení, infekci, bolest, nekrózu tuku a možnou kosmetickou deformaci prsu. Doporučenou léčbou je nejčastěji chirurgické odstranění. (Diego, 2016; Li a Kirk, 2022)



Obr. 2 – Prsní kvadranty: HZK – horní zevní kvadrant, HVK – horní vnitřní kvadrant, DZK – dolní zevní kvadrant, DVK – dolní vnitřní kvadrant. Převzato: (Hladíková, 2009)

2.2 Maligní nádory prsu

Nejčastějšími maligními neboli zhoubnými nádory prsu jsou epiteliální nádory – karcinomy. Mezenchymální nádory, jako jsou např. sarkomy, bývají vzácné. Obvykle karcinom vzniká z terminálních lalůček prsní žlázy a z jejich vývodů. Jeho vzniku předchází atypická duktální nebo lobulární hyperplazie, z nichž se nejprve vyvinou neinvazivní formy karcinomu, které se označují jako karcinom *in situ*. Do této skupiny patří DCIS – duktální karcinom *in situ* a LCIS – lobulární karcinom *in situ*. Později se mohou měnit na nádory invazivní s četnými subtypy, např. komedo, papilární, medulární, adenoidně cystický, mucinózní. (Hladíková, 2009)

2.2.1 Karcinom *in situ*

Biologicky představuje plně nádorově transformovanou buněčnou populaci limitovanou neschopností invaze přes bazální membránu epitelu. Tento karcinom se diagnostikuje především mamograficky. (Coufal a Fait, 2011)

Duktální karcinom *in situ* (DCIS) je preinvazivní karcinom prsu, jehož zhoubné buňky zůstávají uzavřeny za neporušenou bazální membránou. Jedná se o neinvazivní proliferaci neoplastických epitelových buněk. Může se šířit lokálně v prsních kanálcích, ale nemá schopnost invaze do okolních struktur nebo se šířit do vzdálených míst. Časem se z některých může vyvinout invazivní karcinom, který se může šířit a metastázovat. Přes 90 % diagnostikovaných DCIS je zcela asymptomatické a často je detekováno až na screeningovém mamografu. Většina těchto mamograficky zjištěných případů se vyskytuje jako mikrokalcifikace. Zbývajících 10 % je symptomatických. Projevují se buď hmatnou bulkou, výtokem z bradavky, nebo tzv. Pagetovým onemocněním bradavky. Jestliže jsou tyto příznaky přítomny, jedná se o rozsáhlé onemocnění a vyžaduje se mastektomie. Léčba častěji probíhá chirurgickým odstraněním léze a následnou radioterapií ke snížení rizika recidivy. (Barnes a Bundred, 2017; Wilson *et al.*, 2022)

Lobulární karcinom *in situ* (LCIS) je vysoce riziková atypická léze prsu spojená se zvýšeným rizikem rakoviny prsu u obou prsů. Riziko vzniku invazivního karcinomu při diagnóze LCIS je přibližně 9 – 10krát vyšší než u běžné populace. Vzniká proliferací uniformních malých buněk v četných lalůčcích působících jejich dilatací. Nedá se detekovat mamograficky. Pokud se jedná o klasický LCIS, není nutná chirurgická excize. Tento problém se řeší aktivním dohledem a chemoprevencí. Jestliže se jedná o nález variant LCIS, např. pleomorfní LCIS nebo LCIS s centrální nekrózou, je chirurgická excize nutná. Varianty LCIS jsou mamograficky detekovány, kvůli pleomorfním calcifikacím, nebo mohou být

přítomné jako hromadné léze s nebo bez přidružených kalcifikací. Tento karcinom se vyskytuje převážně u premenopauzálních žen, s průměrným věkem 50 let. (Hladíková, 2009; Thawani a Erdahl, 2019; Wen a Brogi, 2018)

2.2.2 Invazivní formy karcinomu

Jestliže některý z buněčných klonů léze *in situ* získá schopnost infiltrovat stroma, pak vzniká invazivní karcinom. Často se jedná o hmatatelnou lézi. Z makroskopického hlediska se jedná o solidní tužší žlutobílé ložisko, někdy s proužky a nekrózami, jehož typický tvar je cípatý. Součástí invazivního karcinomu může být i karcinom *in situ*. Pokud představuje více než 25 % objemu nádoru nebo se šíří mimo invazivní složky, jedná se o karcinom s extenzivní intraduktální složkou. Karcinomy prsu se mohou šířit lymfatickou cestou, a to nejčastěji do uzlin podpažních, podklíčkových a nadklíčkových, ale také se mohou šířit cestou hematogenní do kostí, plic, pleury, jater, ovaria, kůže a mozku. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009)

Invazivní duktální karcinom (IDC) je nejčastěji se vyskytujícím typem rakoviny prsu. Tvoří téměř 80 % všech karcinomů prsu. Začíná v mléčných kanálcích a přesouvá se do blízké tkáně. IDC se může rozšířit neboli metastázovat přes lymfatické uzliny nebo krevního oběhu do celého těla, nejčastěji do kostí, jater a plic. Příznaky IDC mohou být např. otok celého prsu, změna tvaru prsu, bolest prsu, výtok z bradavky, bulka v prsní tkáni. Tento nádor je detekován na mamografu a následně se dělají další testy včetně biopsie, které mohou potvrdit diagnózu. Velikost počátečního nádoru a rozsah šíření určují stadium rakoviny. Po stanovení přesné diagnózy se může stanovit léčba přizpůsobená každému individuálně. Jedná se o léčbu chirurgickou, radiační nebo systémovou zahrnující chemoterapii a hormonální terapii. (Depolo a Sheng, 2023; Hladíková, 2009; Invasive ductal carcinoma, 2023)

Invazivní lobulární karcinom (ILC) je nejčastějším „speciálním“ typem karcinomu prsu. Tyto nádory vznikají z neobligátních prekurzorových lézí nazývaných atypická hyperplazie lobulů a lobulární karcinom *in situ*, které se mohou souhrnně označovat jako lobulární neoplazie. Nádory ILC mají často znaky spojené s dobrou prognózou, jsou nízkého stupně a jsou pozitivní na estrogenové receptory. Avšak tento nádor může být vysoce metastatický. Obvykle metastazuje na serózní membrány, meningy a do ovaria. Jeho příznaky jsou stejné jako u IDC a stejně se diagnostikuje pomocí mamografu a následné biopsie. Léčba ILC může zahrnovat operaci, která je stanovena individuálně a po které se doporučuje následná radioterapie či chemoterapie. (Depolo a Sheng, 2023; Hladíková, 2009; McCart Reed *et al.*, 2015; McCart Reed *et al.*, 2021)

3 RIZIKOVÉ FAKTORY

Rakovina prsu se řadí k onemocněním, u nichž pravá příčina vzniku nebyla stále uspokojivě vysvětlena. Rizikové faktory se dají chápat jako určité události v životě ženy, které zvyšují nebo snižují riziko rozvoje onemocnění v průběhu života. Studium takových faktorů je důležité pro dostatečnou prevenci a také úspěšnou léčbu. Umožňují stanovit obecné zásady prevence, jejichž respektování snižuje riziko vzniku onemocnění a také umožňují vymezit skupiny žen se zvýšeným rizikem, u kterých je možné vhodnou úpravou zdravotnické péče a přístupu poskytnout včasnou diagnostiku, díky níž je větší šance na vyléčení. Na studiu rizikových faktorů se podílí řada odborníků s různou specializací, a to kvůli pochopení vztahů a vazeb mezi jednotlivými rizikovými faktory a rozvojem onemocnění, jejichž konečná interpretace a využitelnost poznatků je důležitá pro lékaře specializované na onkologickou problematiku. (Abrahámová a Dušek, 2003)

3.1 Faktory životního prostředí

Mezi tyto faktory patří např. kouření, které je spojováno s několika dalšími typy rakoviny včetně rakoviny prsu. Je pravděpodobné, že rizikovým faktorem může být i pasivní kouření. Avšak posouzení vlivu kouření na vznik onemocnění je mimo jiné zkresleno zvýšenou konzumací alkoholu mezi ženami, které kouří. (Abrahámová a Dušek, 2003; Daneš, 2021; Khadilkar *et al.*, 2020)

Dalším faktorem, který negativně ovlivňuje zvýšené riziko výskytu rakoviny prsu, je konzumace alkoholu. Jeho zvýšená konzumace má nepříznivý vliv na riziko vzniku karcinomu prsu. Mechanismus účinku na zvýšení rizika spočívá v ovlivňování hladiny estrogenů v ženském organismu, narušením integrity buněčných membrán a inhibicí reparačních změn v DNA. Konzumace alkoholu ve zvýšené míře, je také spojována s vyššími hladinami estradiolu a vyšší mamografickou hustotou. (Abrahámová a Dušek, 2003; Loftørød *et al.*, 2020)

Stravovací návyky, tedy množství, složení a kvalita potravy tvoří komplexní faktor s přímým vztahem k riziku vzniku onemocnění. Energetická hodnota potravy ovlivňuje energetický metabolismus organismu včetně produkce steroidních hormonů. Dieta bohatá na vlákninu, ovoce a zeleninu je spojována s nižším rizikem vývoje jakéhokoliv rakovinotvorného onemocnění. (Abrahámová a Dušek, 2003)

Do této skupiny rizikových faktorů se zahrnuje i obezita, tedy množství tělesného tuku, jeho rozložení v organismu a věk v době nadváhy, což ovlivňuje metabolismus estrogenů a může se tak zvýšit riziko vzniku onemocnění. Tuková tkáň obézních lidí produkuje zánětlivé

cytokiny a mediátory, díky nimž vytváří prostředí podporující invazi a metastáze rakoviny. Avšak riziko se liší u premenopauzálních a postmenopauzálních žen podle přítomnosti ER neboli estrogenového receptoru. (Abrahámová a Dušek, 2003; Picon-Ruiz *et al.*, 2017)

Faktorem patřícím do této skupiny je také fyzická aktivita. Fyzicky aktivní styl života celkově snižuje premenopauzální i postmenopauzální riziko rakoviny prsu. Pozitivní vliv se může projevit stimulací imunitního systému, tedy posílením jeho role při rozpoznání a likvidaci neoplastických buněk. (Abrahámová a Dušek, 2003; Lofterød *et al.*, 2020)

3.2 Faktory osobní anamnézy

Do těchto faktorů se zahrnuje např. věk. Riziko vzniku karcinomu se zvyšuje s přibývajícím věkem. Nejčastěji se tato nemoc objevuje u žen nad 50 let. (Abrahámová a Dušek, 2003)

Tělesná výška je prokázaným rizikovým faktorem rozvoje onemocnění. Zvýšené riziko se vyskytuje u vyšších žen. Genetické a environmentální faktory určující tělesnou výšku, mohou následně přispívat k vyššímu riziku rakoviny prsu. (Abrahámová a Dušek, 2003; Zhang *et al.*, 2015)

Hypertenze, tedy zvýšený krevní tlak, se také řadí mezi rizikové faktory vzniku karcinomu prsu. Toto riziko se výrazněji zvyšuje u postmenopauzálních žen než u premenopauzálních. Postmenopauzální ženy s hypertenzí mají dvojnásobně vyšší riziko rakoviny prsu oproti ženám bez hypertenze. Jedním z důvodů mohou být změny v hladině estrogenů. Pacienti s karcinomem prsu a kardiovaskulárním onemocněním, jako je např. hypertenze, vykazují vyšší úmrtnost než pacienti bez kardiovaskulárního onemocnění. (Abrahámová a Dušek, 2003; Wang *et al.*, 2021)

Výskyt patologické změny prsní tkáně také představuje významný rizikový faktor vzniku karcinomu prsu. Mezi ženami, kterým byl diagnostikován invazivní karcinom prsu, má asi 30 % z nich předchozí diagnózu benigního onemocnění prsu. Mezi benigní onemocnění prsu se může zahrnout např. proliferativní benigní léze bez atypie, neproliferativní benigní léze nebo proliferativní benigní léze s atypií, která představuje asi 3 – 4 % diagnóz benigního onemocnění prsu a je spojována s 4 – 5násobným zvýšeným rizikem vzniku karcinomu prsu. (Abrahámová a Dušek, 2003; Figueroa *et al.*, 2021)

3.3 Hormonální a gynekologické faktory

Mezi tyto faktory se zahrnují např. menarché neboli první menstruace a nástup menopauzy. Dřívější nástup menstruace a vyšší věk menopauzy zvyšují riziko vzniku karcinomu prsu. Důvodem může být delší doba vystavení organismu estrogenům. Každý rok

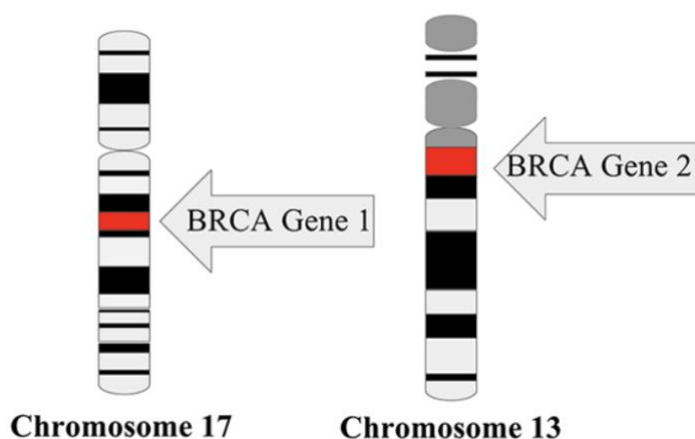
časnější první menstruace zvyšuje riziko asi o 4 % a každý rok pozdější menopauzy zvyšuje riziko asi o 3 %.

Do této skupiny se také zahrnuje počet porodů a kojení. U žen s vyšším počtem dětí se rizikovitost snižuje v důsledku kratšímu vystavení endogenním steroidním hormonům. Akt kojení a také délka doby kojení ovlivňuje hladinu estrogenů a jsou tak faktory snižující riziko vzniku. Každý rok kojení snižuje riziko asi o 4,3 %. (Abrahámová a Dušek, 2003; Daneš, 2021)

Hormonální substituční léčba (HRT) patří mezi rizika vzniku karcinomu prsu, i když se běžně používá jako účinná léčba ke zmírnění klimakterických příznaků a obtíží menopauzy, kterými jsou návaly horka, poruchy spánku, depresivní nálada, bolesti svalů a kloubů. Pravděpodobně vyšší hladiny estrogenů na organismus, zejména estradiolu, může pro ženu představovat zvýšené riziko. (Abrahámová a Dušek, 2003; Azam *et al.*, 2018)

4 GENETICKÉ DISPOZICE

Hereditární rakovina prsu představuje 5-10 % všech případů rakoviny prsu. V roce 1994 a 1995 byly po dlouhých výzkumech objeveny geny BRCA-1 a BRCA-2, které zvyšují pravděpodobnost vzniku karcinomu prsu i vaječníků u žen, které tuto zárodečnou mutaci zdědily po rodičích. BRCA je zkratka pro „BReast CAncer gen“. Jak BRCA-1, tak BRCA-2 gen patří mezi tumor supresorové geny. Gen BRCA-1 leží na chromozómu 17q21 a má 22 exonů. Kóduje jaderný protein obsahující 1863 aminokyselin. Gen BRCA-2 je lokalizován na chromozómu 13q12-13, má 27 exonů a kóduje protein dlouhý 3418 aminokyselin, (viz Obr. 3). Oba se dědí autozomálně dominantním způsobem. Oba tyto proteiny se podílejí na regulaci buněčného cyklu, reparaci DNA a udržování stability genomu. Nejčastějšími patogenními mutacemi v těchto genech jsou krátké inserce a delece, které způsobují tzv. posun čtecího rámce (frameshift), a předčasné ukončení translace s vytvořením zkráceného a nefunkčního proteinu. Jejich nádorově supresivní účinky jsou přisuzovány kontrolnímu bodu buněčného cyklu a řízení oprav DNA.



Obr. 3 – Lokalizace genů BRCA-1 a BRCA-2 na chromozómech 17 a 13 s červeně vyznačeným konkrétním úsekem genu. Převzato: (NCI Staff, 2017)

Dědičné mutace těchto genů způsobují syndrom hereditárního karcinomu prsu (HBC – Hereditary Breast Cancer Syndrome) a syndrom hereditárního karcinomu prsu a vaječníků (HBOC – hereditary breast/ovarian cancer syndrome). Patogenní varianty BRCA-1/BRCA-2 zvyšují riziko rakoviny prsu ve věku 70 let o 45 – 65 % a riziko rakoviny vaječníků o 11 – 39 %. Také zvyšují riziko rakoviny vejcovodů, vzniku melanomu, karcinomu endometria, karcinomu slinivky břišní, u mužů karcinomu prostaty a kolorektálního karcinomu. Karcinom prsu s patogenní variantou BRCA-1 vykazuje agresivnější klinickopatologické znaky než karcinom prsu a patogenní variantou BRCA-2. U žen s mutací genu BRCA-1

dosahuje riziko onemocnění invazivním karcinomem prsu až 87 %, riziko onemocnění karcinomem vaječníků se pohybuje mezi 40 – 60 %. U nositelek dědičné mutace genu BRCA-2 je riziko karcinomu stejné, ale riziko karcinomu vaječníků je nižší na úrovni asi 23 %.

Je známo více než 1600 a 1800 variant genů BRCA-1 a BRCA-2, z nichž většina vyvolává posun čtecího rámce, tedy frameshift, což vede k nefunkčním proteinům. Kromě rakoviny prsu patogenní varianty BRCA-1 zvyšují riziko rakoviny vaječníků u žen a rakoviny prostaty u mužů. Mezitím patogenní varianty BRCA-2 zvyšují riziko cholangiokarcinomu, rakoviny žaludku a vzniku melanomu. (Abrahámová a Dušek, 2003; Foretová, 2008; Foretová *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2020; Pavlišta, 2008)

Stále větší pozornost je věnována preventivním a kontrolním strategiím, které mají snížit recidivu rakoviny prsu a zlepšit výsledky léčby. Jedná se o primární a sekundární prevenci, která je nositelkám mutací vysvětlována při předávání genetické zprávy klinickým genetikem. Primární prevence zahrnuje dodržování zdravého životního stylu, a to včetně nekuřáctví a minimální konzumace alkoholu. Úkolem sekundární prevence je snaha o včasný záchyt nádoru. K tomu se využívá především screening pomocí magnetické rezonance, ale je možná i operace snižující riziko vzniku, tzv. profylaktická subkutánní mastektomie. Jedná se o chirurgický zákrok s maximální snahou o odstranění celé prsní žlázy. Provedení tohoto zákroku u zdravých nositelek by mělo snížit celoživotní riziko nádoru prsu z 85 – 87 % na 1 – 5 %. Dále je možné využít i chemoprevenci *Tamoxifenem*. Jedná se o selektivní modulátor receptoru estrogenu, což je léčivo působící na estrogenní receptor. Lepší účinek vykazuje u nositelek patogenní varianty BRCA-2, protože velká část nádorů prsu u nositelek BRCA-1 mutace nemá pozitivní steroidní receptory. (Foretová, 2008; Lee *et al.*, 2020; Yamashita, 2018)

Léčba karcinomu prsu u nositelek BRCA-1/BRCA-2 mutace je podobná jako u BRCA-negativního karcinomu prsu. Zahrnuje především chirurgický zákrok, radioterapii a chemoterapii. Také existuje možnost léčby pomocí inhibitorů PARP, poly (ADP-ribóza) polymeráza. Členové PARP enzymové skupiny jsou ústředním prvkem opravy jednovláknových zlomů DNA. V důsledku toho perorální inhibitor PARP, *olaparib*, má významný přínos k léčbě nemocných s metastazujícím karcinomem prsu a zárodečnou mutací BRCA. (Lee *et al.*, 2020; Yamashita, 2018)

4.1 Syndromy spojené s výskytem karcinomu prsu

Mezi syndromy, které doprovází vznik karcinomu, existují i velmi vzácné syndromy, u kterých byla identifikována celá řada genů, jejichž zárodečná mutace vede ke zvýšenému

riziku vzniku karcinomu prsu i jeho časnému výskytu. (Abrahámová a Dušek, 2003; Daneš, 2021)

V Tab. 1 jsou uvedeny v přehledu geny zvyšující riziko karcinomu prsu včetně názvu syndromu a jejich označení.

Tab. 1 – Geny zvyšující riziko karcinomu prsu. Upraveno podle: (Abrahámová a Dušek, 2003; Daneš, 2021; Foretová, 2008)

Gen	Lokalizace	Syndrom	Nádorové onemocnění
BRCA-1	17q21	syndrom dědičného (hereditárního) karcinomu prsu/ovaria	karcinom prsu, ovaria, kolorekta, prostaty
BRCA-2	13q12-13	syndrom dědičného (hereditárního) karcinomu prsu/ovaria	karcinom prsu, ovaria, kolorekta, prostaty, žlučníku a žlučových cest, žaludku, slinivky, melanom
p53	17p13.1	Li-Fraumeniho syndrom	sarkomy, hematologické malignity, karcinom prsu, nádory nadledvin, tumory CNS
ATM	11q.26	ataxia telangiectasia	hematologické malignity, karcinom žaludku, prsu, těla děložního, CNS, kůže
STK11	19p13.3	Peutz-Jeghersův syndrom	karcinomy tlustého i tenkého střeva, žaludku, pankreatu, prsu, čípku, kolorektální karcinom
PTEN	10q23.3	Cowdenův syndrom	hamartomy kůže, karcinomy prsu, dělohy, plic, GIT a folikulární karcinomy štítné žlázy
MMR-geny (MLH1, MSH2, PMS1, PMS2)	3p21.3 2p15-p22 2q31-33 7p22	Lynchův syndrom	karcinom prsu, kolorektální karcinom, nádory dělohy, hepatobiliárního a močového traktu, CNS, kůže
		Další možné dispoziční geny	
CHEK2	22q12.1	syndrom mnohočetného nádorového rizika	karcinomy prsu, štítné žlázy, prostaty a tlustého střeva
PALB2	16p12.2	Fanconiho anémie N	karcinomy prsu a pankreatu
BRIP1	17q23.2	Fanconiho anémie J	karcinomy prsu a ovaria

Li-Fraumeniho syndrom (LFS) je vzácný dědičný syndrom zvýšené dispozice k rakovině s celoživotním rizikem počínajícím již v dětském věku. Jedná se o autozomálně dominantně dědičnou dispozici, z velké části způsobenou zárodečnou mutací genu p53. Touto genovou mutací trpí 60 – 80 % rodin s klasickým LFS. U rodin s tímto syndromem se nejčastěji objevují leukémie, nádory CNS, sarkomy kostí i měkkých tkání, adrenokortikální nádory a karcinomy prsu. Pravděpodobnost vzniku rakoviny u nositelů mutace genu p53 se u mužů blíží k 75 % a u žen téměř k 100 %. (Abrahámová a Dušek, 2003; Guha a Malkin, 2017; Khincha *et al.*, 2019)

Ataxia telangiectasia (A-T) je autozomálně recesivní, multisystémové, progresivní a život zkracující onemocnění. Způsobují ho mutace genu ATM na chromozómu 11q.26. Jedním z rysů je telangiektázie, která se nejčastěji objevuje ve spojivce, ale i na místech vystavených slunci. U asi 50 % nemocných může být přítomna endokrinní dysfunkce nebo i imunodeficience. Zvýšené riziko malignit, jako jsou např. lymfomy, leukemie, nádory žaludku, CNS, dělohy nebo kožní nádory, ovlivňují délku života na 20 až 30 let. U nositelů jedné mutace (heterozygotů) bylo nalezeno zvýšené riziko vzniku karcinomu prsu. (Abrahámová a Dušek, 2003; Petley *et al.*, 2022)

Peutz-Jeghersův syndrom (PJS) je autozomálně dominantní neoplastický syndrom vyznačující se tvorbou polypů v žaludku, tlustém i tenkém střevě, výraznou pigmentací okolo rtů a na sliznicích a zvýšeným celoživotním rizikem rakoviny. Většina případů je způsobena mutací genu STK11, který je lokalizován na chromozómu 19p13.3. Pacienti mají 15krát až 18krát vyšší riziko malignity v porovnání s běžnou populací. Mezi nejčastější nádory patří gastrointestinální, urogenitální, plicní, karcinomy čípku, prsu, ovarií i varlat. (Abrahámová a Dušek, 2003; Klimkowski *et al.*, 2021)

Cowdenův syndrom (CS) je vzácné, multisystémové onemocnění způsobené zárodečnou mutací genu PTEN. Tato mutace způsobuje autozomálně dědičné riziko výskytu mnohočetných hamartomů a kožních změn jako trichilemomy, papilomatózní papuly a akrální keratózy. U postižených jedinců se může objevovat makrocefalie a mentální subnormalita. Také sebou nese zvýšené riziko vzniku malignit řady orgánů, zejména prsu, štítné žlázy a endometria, ale i kolorekta, ledvin, ovaria a melanomu. (Abrahámová a Dušek, 2003; Pilarski, 2019; Puchmajerová *et al.*, 2009)

Lynchův syndrom nebo také hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění charakterizované zvýšeným rizikem rakoviny různých orgánů, ale nejčastějším je kolorektální karcinom (CRC). Je způsoben mutacemi

v MMR genech, mezi které patří MLH1, MSH2, PMS1 a PMS2. Riziko vzniku kolorektální karcinomu je u těchto pacientů celoživotně zvýšeno na 75 %. Zvýšené riziko vzniku je i u karcinomu prsu, ovaria, hepatobiliárního a žlučového systému, žaludku a melanomu. Jedná se o nejčastěji se vyskytující CRC poruchu. (Abrahámová a Dušek, 2003; Lynch, 2017)

5 LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ

Jestliže má onkolog či jiný lékař podezření na dědičnou formu nádorů prsu, může doporučit genetickou konzultaci, při které se podrobně zaznamenávají údaje o osobní a rodinné anamnéze, včetně věku onemocnění příbuzných či typů diagnóz v rodinách. Potvrzení údajů získává genetik z lékařské dokumentace, úmrtních listů i z registru nádorů. Základními kritérii k testování genů BRCA-1/BRCA-2 u familiárního výskytu nádorů jsou alespoň tři příbuzní s karcinomem prsu/ovaria bez věkové limitace nebo dva příbuzní s nádorem prsu/ovaria, kdy byl alespoň jeden diagnostikován před 50. rokem života. U některých rodin se genetické testování nedoporučuje, avšak navrhuje se úprava prevence, a to včetně prevence v časnějším věku. Prediktivní testování u zdravých příbuzných je možné provést od 18 let.

Při podezření na familiární výskyt nádoru prsu je vhodné genetické testování u člověka s nejčasnějším výskytem nádoru prsu či s oboustranným nádorem prsu nebo s duplicitou nádoru prsu a vaječníku, tedy u nejrizikovější osoby. Nádory prsu jsou velmi časté, a proto se mohou sporadické nádory prsu vyskytovat společně s dědičnými formami. V tom případě se jedná o tzv. fenokopie, které komplikují interpretaci výsledků testování. (Foretová, 2008; Foretová, 2013)

Materiálem pro genetické vyšetření je nesrážlivá krev, které se odebírá asi 10 ml. Následně je nutná izolace DNA, kterou je možné provést pomocí následujících postupů:

- **Metoda extrakce DNA použitím organických rozpouštědel:**

Prvním krokem při této metodě je buněčná lýza způsobená přidáním detergentu či roztoku obsahujícího chaotropní látky, mezi které patří např. SDS nebo N-laurylsarkosin. Dalším krokem je inaktivace DNáz a RNáz, a to použitím organických rozpouštědel (fenol, chloroform a isoamylalkohol). Po přidání těchto rozpouštědel do vzorku a využití odstředivé síly se získá dvoufázová emulze. Vrchní hydrofilní vrstva obsahuje zředěnou DNA a spodní hydrofobní vrstva je složena z organických rozpouštědel, buněčného odpadu, bílkovin atd. Následně se DNA z vrchní vrstvy vysráží pomocí centrifugace a přidavku vysoké koncentrace octanu sodného či ethanolu nebo isopropanolu.

- **Metoda extrakce DNA použitím vysolování:**

Počátečním krokem této metody je narušení buněk a inkubace s proteinázou K. Následně se přidá vysoká koncentrace solí, nejčastěji 6M chlorid sodný. Směs se odstředí a vzniklý supernatant obsahující DNA se přenesení do nové lahvičky. DNA se poté vysráží pomocí ethanolu či isopropanolu.

- **Metoda extrakce použitím křemenných matic:**

Křemenné matrice mají jedinečné vlastnosti pro vazbu DNA. Jsou kladně nabitě, díky čemuž vykazují vysokou afinitu k záporně nabitému DNA řetězci. Podmínek vysokého obsahu solí a pH se dosahuje pomocí kationtu sodíku, který se pevně váže na záporně nabitý kyslík ve fosfátovém řetězci DNA. Kontaminující látky se odstraňují promýváním a následuje eluce DNA probíhající při nízké iontové síle za použití TE pufru nebo sterilní destilované vody.

- **Metoda extrakce DNA použitím magnetických kuliček:**

Magnetické částice jsou vyrobeny z jednoho nebo více magnetických jader, např. magnetitu nebo maghemitu. Ve zkumavce se smíchá plná krev s 1% SDS roztokem. Po promíchání a inkubaci se do směsi přidají magnetické částice a vazebný pufr. Vzniklý roztok se opět promíchá a inkubuje při pokojové teplotě. K získání supernatantu se využije magnet, který imobilizuje magnetickou peletu. Ta se poté promyje 70% etanolem a vysuší. Peleta se resuspenduje v TE pufru a magnetické částice vázané na DNA se eluují inkubací při 65° C za stálého protřepávání.

Pro molekulárně genetickou analýzu se nejčastěji používá DNA izolovaná z buněk periferní krve nebo mRNA, kterou je nutné přepsat do komplementární DNA (cDNA), protože může dojít k její rychlé degradaci. K detekci mutací se využívají různé metody založené na PCR reakci – polymerázové řetězové reakci. (Foretová, 2008; Griffiths a Chacon-Cortes, 2014)

Pomocí screeningových metod se postupně vyšetřují jednotlivé úseky DNA a zjišťuje se, jestli některý neobsahuje patogenní mutaci. Velké přestavby genů (např. chybění exonů nebo celého genu a duplikace exonů) jsou testovány metodou MLPA – Multiplex ligation-dependent probe amplification. Díky sekvenování je přesně určeno, o jakou mutaci se jedná a při prediktivním testování je příbuzný testován pouze na přítomnost konkrétní mutace. (Abrahámová a Dušek, 2003; Foretová, 2008)

Jelikož se BRCA-1 a BRCA-2 geny řadí mezi geny velké, jejich testování je poměrně komplikované a zdouhavé. Může trvat několik měsíců nebo i rok. Pokud nebyla u žen nalezena žádná mutace v genech BRCA-1 a BRCA-2 běžnými metodami, zakončuje se testování MLPA testem, který může odhalit mutaci v genu CHEK2. Tento gen může zvyšovat riziko nádorů prsu asi dvojnásobně. (Foretová, 2008; Foretová, 2013)

5.1 Polymerázová řetězová reakce

Polymerázová řetězová reakce (PCR) je metoda molekulární biologie vyvinuta Kary Mullisem (*1944 – †2019) v 80. letech 20. století a hojně používána k amplifikaci specifického úseku DNA *in vitro*, a to principem připomínajícím replikaci DNA *in vivo*. Je založena na opakované replikace nukleových kyselin pomocí termostabilní polymerázy.

Kopie daného úseku DNA jsou tvořeny podle templátu, jednořetězcové DNA, pomocí enzymu DNA-polymerázy na principu komplementarity bází. Vysokou teplotou dochází k denaturaci dvouřetězcové DNA a získaná jednořetězcová vlákna následně slouží jako templát. Dále je zapotřebí dvou primerů, tedy chemicky syntetizovaných krátkých oligonukleotidů. Ty se připojují ke komplementárním úsekům řetězců DNA způsobem, že jejich 3'-OH-konce směřují proti sobě. Zároveň primery vymezují úsek DNA, který bude amplifikován.

Reakční směs se skládá z templátové DNA izolované ze vzorku, kterým mohou být např. různé mikroorganismy, biotické vzorky, stěry, vzorky z buněk z tkáňových kultur či tělních tekutin. Dále ze synteticky připravených primerů, kdy každý je komplementární k jednomu řetězci DNA. Také obsahuje směs nukleotidů dNTP (deoxyribonukleosidtrifosfáty) a termostabilní enzym DNA-polymeráza, kterou může být např. Taq polymeráza získaná z termofilní bakterie *Thermus aquaticus* žijící v horkých pramenech.

PCR se využívá k namnožení materiálu pro další biotechnologické metody, jako jsou např. sekvenování DNA, analýza genů, zjišťování genetických nemocí nebo identifikace osob. (Bártová, 2011; Staněk, 2013)

5.1.1 Průběh PCR

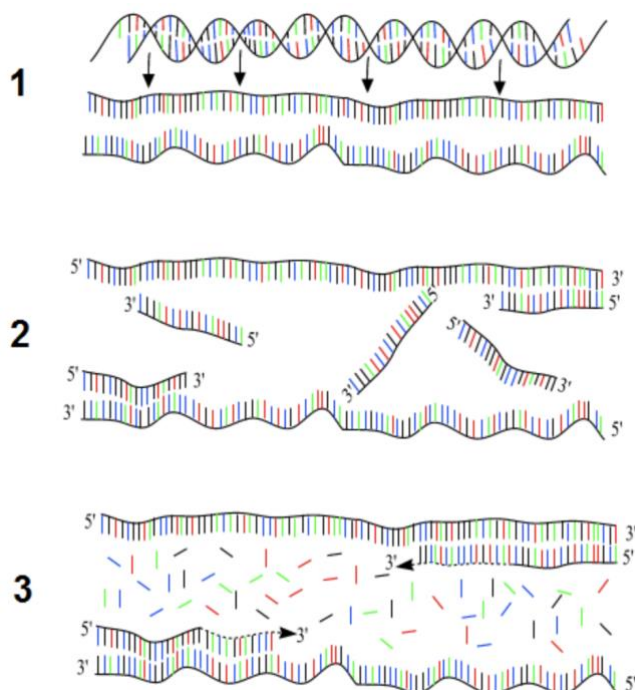
Celý proces začíná napipetováním reakční směsi do malé PCR zkumavky, která se vloží do termocykleru, kde probíhají teplotní cykly. Každý tento cyklus má tři fáze, a to denuraci, annealing a extenzi, (viz Obr. 4), probíhající za různých teplot. Tyto cykly se opakují obvykle 25 – 30krát.

Při první fázi, kterou je denaturace, probíhá separace řetězců DNA vlivem vysoké teploty (94 – 95°C) po dobu 20 – 45 sekund.

Po denuraci se teplota sníží na 50 – 60°C a nastává druhá fáze, kterou je annealing. V této fázi dochází k nasedání primerů na specifická místa vlákna DNA, která jsou dána komplementaritou. Tato fáze trvá 30 – 90 sekund.

Poslední fází je extenze, při které se syntetizuje komplementární řetězec DNA. DNA-polymeráza nasedá na primery a připojuje volné nukleotidy k vláknu DNA na principu komplementarity dusíkatých bází. Tento děj probíhá při 72°C po dobu 45 – 90 sekund.

Výsledným produktem PCR je amplifikovaný úsek DNA, který lze analyzovat např. stanovením velikosti produktu gelovou elektroforézou, hybridizací se značenou sondou komplementární k části sekvence amplifikovaného úseku nebo stanovením sekvence DNA. (Bártová, 2011; Staněk, 2013)



Obr. 4 – Průběh PCR: 1 – denaturace, 2 – annealing, 3 – extenze. Převzato: (Bártová, 2011)

5.2 Doporučené screeningové metody

Genetické testy je možné provádět jak u pacientů, tak u jejich příbuzných. Volba metody pro detekci mutace závisí na preferencích a zařízení laboratoře, proto není možné plošně doporučit jedinou techniku. Stejně je to i se zdroji materiálu, ale většina laboratoří dává přednost zisku genomové DNA ze vzorku periferní krve.

Při každém testování genů BRCA-1/BRCA-2 se vyšetřují také exony, exon-intronová spojení, velké delece a inserce. Avšak ani použití NGS nezaručuje 100% výsledek, protože mohou být přítomny mutace, které ještě nejsme schopni zachytit. I přes to se senzitivita testování pohybuje mezi 95 – 99 %. Každá laboratoř poskytující tato vyšetření musí být pravidelně sledována systémem mezilaboratorní kontroly kvality, jako je např. EMQN.

Podle EMQN se pro mutační analýzu genů BRCA-1/BRCA-2 doporučuje využívat jednu z následujících screeningových metod:

- DS (přímé sekvenování)
- PTT (test zkrácených proteinů)
- SSCP (polymorfismus konformace jednoduchých řetězců)
- HA (heteroduplexní analýza)
- HRM (vysokorozlišovací analýza křivek tání)
- DGGE (denaturační gradientová gelová elektroforéza)
- CCM (metoda chemického štěpení)

Pro detekci konkrétní mutace se doporučují např. metody DS či HRM. Jestliže je nutné vyšetření velkých genových přeskupení v rámci BRCA-1 genu, je vhodná Southern blot analýza nebo MLPA. (Oplíštilová, 2016)

5.2.1 Metoda přímého sekvenování DNA (DS)

Jedná se o metodu pro stanovení pořadí jednotlivých bází analyzovaného úseku. Jejím účelem je charakterizace pozice a typu mutací u genetických onemocnění a také detekce malých změn v genetické sekvenci. Specifický gen nebo úsek DNA je pročitán a zjišťuje se, jestli některý z nukleotidů chybí, přebývá nebo je zaměněn za jiný. Mezi klasické metody sekvenování můžeme zařadit Maxam-Gilbertovu metodu a Sangerovu metodu.

Maxam-Gilbertova metoda využívá chemického štěpení jednotlivých typů bází. Pracuje se s jednovláknovou DNA, která je na jednom konci (3' nebo 5') radioaktivně značena. Reakce probíhá ve čtyřech zkumavkách a v každé zkumavce je prováděno štěpení jen určitých typů bází. Tím vzniká směs různě dlouhých úseků, které končí v místě určité báze. Následně probíhá elektroforéza v hustém polyakrylamidovém gelu, kdy jsou všechny čtyři reakce nanášeny vedle sebe a určí se rozdíly v délce úseků. Odečtením pozice jednotlivých bází ve všech reakcích se stanoví sekvence daného úseku.

Sangerova metoda využívá proces replikace DNA stejně jako PCR. Klasické provedení metody probíhá tak, že k jednořetězcové DNA přisedá primer, který je radioaktivně značený a je komplementární k začátku sekvenovaného místa. Od navázaného primeru probíhá syntéza DNA, a to za přítomnosti dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) a jednoho z dideoxynukleotidů (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP). Tyto dideoxynukleotidy jsou v porovnání s nukleotidy v reakci zastoupeny jen v malém množství. Reakce probíhá ve čtyřech zkumavkách a každá zkumavka obsahuje „svůj“ ddNTP. Dideoxynukleotidy se začlení do syntetizovaného řetězce místo příslušného dNTP. Avšak ddNTP nemají OH skupinu, proto se po jejich začlenění

syntéza zastaví. Začleňování ddNTP probíhá náhodně, a to kvůli jejich nízké koncentraci. Proto v každé zkumavce vzniká směs různě dlouhých úseků a délka úseku pak udává pozici příslušného ddNTP. Délka je analyzována pomocí elektroforézy v polyakrylamidovém gelu. Na gel se nanese produkty ze všech čtyř zkumavek vedle sebe a po separaci úseků se díky radioaktivnímu značení primerů odečte délka jednotlivých úseků. Pozice jednotlivých úseků odpovídají pozicím jednotlivých nukleotidů v sekvenovaném vzorku. V modifikované podobě tato metoda využívá fluorescenčně značených dideoxynukleotidů, což umožňuje provedení reakce v jedné zkumavce. Produkty jsou následně analyzovány kapilární elektroforézou. (Klasické metody sekvenování; Oplíštilová, 2016; Pavlů *et al.*, 2011)

5.2.2 Test zkrácených proteinů (PTT)

Je to metoda, při které se využívá *in vitro* transkripce a translace, kdy mutace způsobují předčasné zastavení translace. Detekce probíhá na úrovni proteinů a je možné detekovat pouze delece, duplikace a nonsense mutace. Jedná se o metodu náročnou na čas i zkušenosti hodnotícího pracovníka.

Na začátku postupu dochází k reverzní transkripci mRNA a výsledná cDNA se převádí na protein. Tím okamžitě odhalí varianty, které způsobují předčasné ukončení proteinové translace, tedy zkrácené varianty. Detekce zkrácených variant se provádí polyakrylamidovou elektroforézou dodecylsulfátu sodného. (den Dunnen, 2010; Hardy, 2002; Pavlů *et al.*, 2011)

5.2.3 Polymorfismus konformace jednoduchých řetězců (SSCP)

Polymorfismus konformace jednoduchých řetězců je jednoduchá a citlivá technika pro detekci a genotypizaci mutací. Princip je založen na definované konformaci jednovláknové DNA. Změna konformace způsobená změnou báze, může způsobit odlišnou migraci jednovláknové DNA při elektroforéze bez podmínky denaturace.

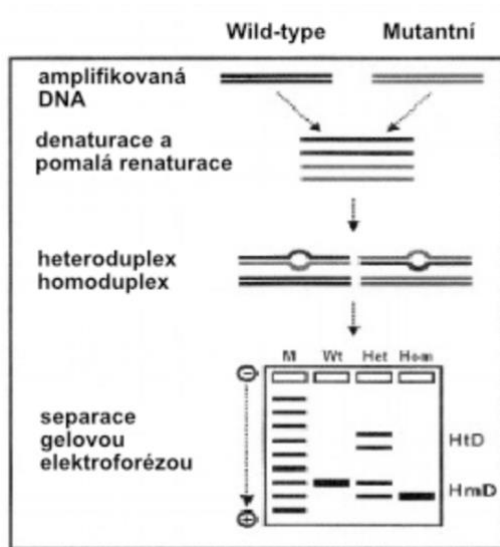
SSCP zahrnuje následující čtyři kroky: PCR amplifikaci sledované sekvence DNA, denaturaci dvouvláknových PCR produktů, ochlazení denaturované DNA s cílem maximalizovat samožihání a detekci rozdílu pohyblivosti jednovláknové DNA při elektroforéze za nedenedaturujících podmínek.

Pro vizualizaci pohybu při elektroforéze se využívá několik metod, např. radioizotopové značení, PCR primery značené fluorescenčním barvivem nebo barvení stříbrem, které je jednoduché, rychlé, nákladově efektivní a může se běžně využívat v klinických laboratořích. (Dong a Zhu, 2004)

5.2.4 Heteroduplexní analýza (HA)

Tato metoda se využívá k detekci hybridní dvoušroubovicové molekuly DNA, jejichž řetězce pocházejí z různých rodičovských alel a vyznačují se neúplnou komplementaritou. Pro drobné delece a duplikace je citlivost metody 100 %, pro substituce 70 – 80 %. Jedná se o metodu časově náročnou a vyžaduje velkou zkušenost hodnotícího pracovníka, jelikož se hodnotí vizuálně.

Nejprve dochází k amplifikaci cílového genu pomocí PCR. Amplifikované produkty jsou následně denaturovány při teplotě 95°C. Výsledkem jsou čtyři různé dvouvláknové molekuly DNA, dva homoduplexy a dva heteroduplexy. Ty se následně rozliší při elektroforéze v polyakrylamidovém gelu, (viz Obr. 5). (Pavlů *et al.*, 2011; Sgourou *et al.*, 2017; Srinivasan a Batra, 2019)



Obr. 5 – Heteroduplexní analýza. Převzato: (Obecné schéma heteroduplexní analýzy, 2018)

5.2.5 Vysokorozlišovací analýza křivek tání (HRM)

Je to vysoce senzitivní, rychlá metoda používaná k záchytu různých mutací v krátkých úsecích DNA. Využívá vlastností fluorescenční barvy, která se během PCR reakce začlení do dvouřetězcové DNA. Během postupného zahřívání dochází k denaturaci dsDNA a uvolňování barvy, což má za následek pokles fluorescence.

Výsledkem je tzv. křivka tání popisující závislost intenzity fluorescence na teplotě a skládající se ze tří částí. První částí je tzv. pre-melt fáze, kdy se v reakci vyskytuje pouze dsDNA a intenzita fluorescence je nejvyšší. Poté nastává melt fáze neboli fáze tání, při které postupným zvyšováním teploty dochází k denaturaci dsDNA, a to se projeví prudkým poklesem

intenzity fluorescence. Poslední fáze se označuje jako post-melt. Je charakteristická přítomností pouze jednořetězcových molekul DNA, kvůli čemuž je fluorescence minimální.

Tato metoda vyžaduje pouze použití standardních PCR reagensií, speciální dsDNA vázající fluorescenční barviva a přístroje umožňující HRM. Amplifikace i samotná analýza probíhá v jedné zkumavce, což výrazně snižuje riziko kontaminace. (Křenková, 2013; Pavlů *et al.*, 2011)

5.2.6 Denaturační gradientová gelová elektroforéza (DGGE)

Jedná se o techniku používanou k separaci krátkých až středně dlouhých úseků DNA. Umožňuje separaci molekul DNA v polyakrylamidovém gelu na základě odlišné sekvence nukleotidů.

Princip je založen na „putování“ dsDNA v polyakrylamidovém gelu rychlostí určenou její molekulovou hmotností, a to do doby, než vstoupí do části gelu, kde dochází k denaturaci dsDNA na jednovláknovou. Gel obsahuje lineární gradient koncentrace denaturačního roztoku, kterým může být močovina nebo formamid. Rychlost denaturace DNA závisí na počtu vodíkových můstků mezi nukleotidy. Vzniklé molekuly jednovláknové DNA putují při elektroforéze pomaleji. Nakonec dochází k nabarvení gelu fluorescenčním barvivem a výsledek je vizualizován a zachycen pomocí transiluminátoru s UV zářením a snímací technikou. (Jančová *et al.*, 2017; Strathdee a Free, 2013)

5.2.7 Metoda chemického štěpení (CCM)

Cílem metody chemického štěpení (CCM) je určit, zda daná oblast DNA obsahuje mutaci a přesně lokalizovat pozici této mutace. Špatné párování nukleotidů uvnitř heteroduplexů je modifikováno pomocí inkubace dvěma různými reagensiemi. Hydroxylamin reaguje s nepárovým cytosinem a manganistan draselný s nepárovým thyminem. Vzorky se následně inkubují piperidinem, který štěpí vlákno DNA v místě modifikované nesourodé báze. Tyto produkty jsou odděleny elektroforézou. Ta také odhalí typ mutace a její umístění.

CCM má ve srovnání s dalšími technikami detekce mutací, jako např. SSCP nebo DGGE, vyšší diagnostickou citlivost vhodnou pro detekci mutací v nádorových genech a dlouhých úsecích DNA. (Tabone *et al.*, 2006; Tabone *et al.*, 2009)

5.2.8 Metoda Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)

Metoda MLPA, neboli mnohonásobná amplifikace závislá na ligaci sond se používá v diagnostice genetických onemocnění. Touto metodou lze detekovat delece a duplikace velkých úseků DNA sekvence zahrnující celé exony genu.

Principem je amplifikace až 60 sond, z nichž každá detekuje specifickou DNA sekvenci. Vzorek DNA musí obsahovat minimálně asi 3000 buněk. Jde tedy o semi-kvantitativní metodu, která se využívá k vyšetření DNA o délce přibližně 60 nukleotidů během jedné reakce založené na multiplex PCR.

Na vyšetřované místo se navážou dvě specifické DNA sondy, které se uprostřed spojí, neboli ligují. Následuje PCR reakce, kde se všechny ligované sondy amplifikují. Amplifikovat se mohou pouze sousední zligované sondy, které hybridizovaly s genomovou DNA. Poté jsou úseky separovány a vizualizovány pomocí kapilární elektroforézy.

MLPA reakce se dá rozdělit do pěti kroků:

1. Denaturace DNA a hybridizace MLPA sond, kdy dochází k denaturaci DNA a inkubaci s mixem MLPA sond trvající přes noc. MLPA sondy obsahují dva různé oligonukleotidy, ale každý obsahuje jeden PCR primer. Obě sondy hybridizují na sousedící sekvence.
2. Ligace probíhající pouze tehdy, jestliže při předchozí hybridizaci specifické sondy nasedly na cílové sekvence a díky tomu mohly být následně spojeny do jedné sekvence.
3. PCR reakce, při které jsou všechny ligované sondy amplifikovány pomocí stejného páru primerů, kdy jeden z primerů je fluorescenčně značen.
4. Separace a vizualizace produktů pomocí kapilární elektroforézy.
5. Analýza a interpretace dat.

Tato metoda pomáhá odhalovat řadu dědičných onemocnění, např. DMD nebo SMA. Také se využívá v prenatální diagnostice, kde je schopna odhalit např. aneuploidie či běžné mikrolece a také je tato metoda používána i pro diagnostiku a výzkum rakoviny. (Křihová, 2015; Lukešová *et al.*, 2006; Vyšetření metodou MLPA, 2011)

6 DIAGNOSTIKA

Rakovina prsu se řadí mezi vyléčitelné choroby, jejichž léčba musí být zahájena včas. Proto je důležité včasné stanovení diagnózy. V počátečních stádiích růstu nevyvolává karcinom prsu žádné klinické příznaky. Pokud má nádor větší rozměry, projeví se jako hmatná bulka, která je většinou nebolestivá. Díky pravidelným kontrolám se u žen většinou diagnostikují ještě nehmatné léze. Jestliže se u ženy zjistí abnormalita, je nutné další vyšetření k potvrzení či vyloučení malignity. (Daneš, 2021; Hladíková, 2009)

6.1 Samovyšetření

Jedná se o vyšetření vlastních prsů pohmatem a pohledem, které je prováděno samotnou ženou. To umožní ženě poznat své prsy a objevit případné odchylky, kterými se karcinom prsu může projevit. Samovyšetření by se mělo provádět pravidelně každý měsíc, a to v první polovině menstruačního cyklu. Tím je myšlena doba přibližně týden až deset dní po ukončení menstruace. Tehdy jsou prsy relativně měkké, dobře vyšetřitelné a méně citlivé. Jestliže žena již menstruaci nemá, je vhodné zvolit některý snadno zapamatovatelný den.

Vyšetřuje se pohledem před zrcadlem a pohmatem. Žena se před zrcadlem prohlíží v různých pozicích. Nejprve s rukama volně podél těla, následně s tělem natočeným na stranu, s rukama zvednutými za hlavou a s rukama v bok a v mírném předklonu. Vyšetření pohmatem se provádí vsedě i vleže. Prsy se prohmatávají systematicky a celé, od periferie k bradavce. Kontroluje se také samotná bradavka, dvorec, podpaží a oblast kolem klíčku. Také se sleduje, zda nedochází k sekreci, (viz Obr. 6). (Daneš, 2021; Hladíková, 2009)



Obr. 6 – Technika samovyšetření prsu. Převzato: (Jak na samovyšetření prsu, 2018)

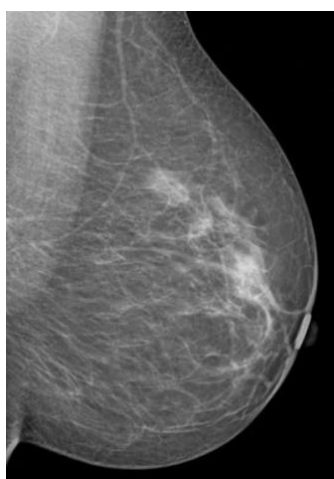
6.2 Mamografie

Jde o rentgenovou zobrazovací metodu využívanou k vyšetření prsu pro včasné odhalení rakoviny a dalších onemocnění prsu. Je vhodná jako diagnostický, ale i screeningový nástroj.

Využívá nízkoenergetické (měkké) ionizující záření, které umožňuje zobrazení měkkých tkání a vyšetření prsu s dostatečným kontrastem i rozlišením.

V této době se využívá především digitální mamografie. Během vyšetření se položí prs na plochou nosnou desku. Malá dávka rentgenových paprsků prochází prsem k detektoru na opačné straně. Jedná se o detektor v pevném stavu, který přenáší elektronické signály do počítače, kde se vytváří digitální obraz. Vytvořené snímky jsou tzv. mamografy. Na snímku se tkáň s nízkou hustotou, jako např. tuk, jeví jako průsvitné. Mezitím oblasti tkáně s vysokou hustotou, např. pojivové a žlázové tkáně nebo nádory, jsou na šedém pozadí bělejší. Každý prs se prohlíží horním i bočním pohledem, (viz Obr. 7).

Tato metoda je vhodná jako preventivní vyšetření pro ženy nad 40 let. U mladších žen se jako prevence doporučuje ultrazvukové vyšetření. (Daneš, 2021; Hladíková, 2009; Mammography)



Obr. 7 – Mamografický snímek prsu s karcinomem prsu. Převzato: (Spaink, 2006)

6.3 Ultrasonografie

Ultrasonografie je neinvazivní diagnostická technika uplatňována k zobrazení vnitřních částí těla. Využívá mechanického vlnění o frekvenci nad hranicí slyšitelnosti lidského ucha. Díky tomu dochází k vytváření obrazů zkoumané tkáně na základě různé odrazivosti jednotlivých tkáňových struktur. (Daneš, 2021; Ultrasound, 2016)

Zařazuje se především jako doplňková metoda u žen nad 40 let po mamografickém vyšetření. U mladších žen se používá jako první zobrazovací metoda, stejně tak u žen těhotných či kojících. Jedná se také o nejčastější navigační metodu pro punkční biopsie a předoperační lokalizaci nehmátných lézí. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009)

6.4 Magnetická rezonance

Jedná se o neinvazivní zobrazovací techniku vytvářející trojrozměrné detailní anatomické obrazy. Nevyužívá rentgenové záření, ale silné magnetické a radiofrekvenční elektromagnetické pole. Často se používá pro detekci, diagnostiku a sledování léčby. Avšak nenahrazuje ani mamografii, ani ultrasonografii. Jde především o doplňující vyšetření. Tato technologie je obzvláště vhodná pro zobrazení nekostnatých částí nebo měkkých tkání těla. (Coufal a Fait, 2011; Daneš, 2021; Magnetic Resonance Imaging)

Nativní magnetická rezonance, tedy MRM bez aplikace paramagnetické kontrastní látky se využívá pouze na vyšetření silikonových implantátů ke stanovení či vyloučení jejich ruptury. Kontrastní magnetická rezonance naopak využívá intravenózní aplikaci paramagnetické kontrastní látky. Její hlavní předností je vysoká senzitivita pro zobrazení invazivního karcinomu a karcinomu *in situ*, ale vyšetření vykazuje nižší specifitu. Největším přínosem je zobrazení mamograficky a sonograficky němých maligních lézí po aplikaci paramagnetické kontrastní látky. (Coufal a Fait, 2011; Daneš, 2021)

6.5 Duktografie

Jde o kontrastní neinvazivní metodu, která se zabývá prsní žlázou, přesněji mlékovodem. Důvodem k tomuto vyšetření je spontánní výtok z bradavky, zejména pokud je krvavý. Při této metodě je kanylou do kanálek vpravena kontrastní látka, jejíž průtok je zobrazen na rentgenu. Slouží k odhalení drobných tumorů prsu, které se nachází přímo v mlékovodech. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Štefánek, 2011)

Výtok z bradavek může být způsoben nezhoubnými nádory, jako např. *papiloma*, ale i zhoubnými, jako např. DCIS. Bližší specifikace nádoru je možná až histologicky. Pomocí kontrastní látky lze prokázat zhoubný nádor uvnitř mlékovodů dříve než na mamografu. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Slawson a Johnson, 2001)

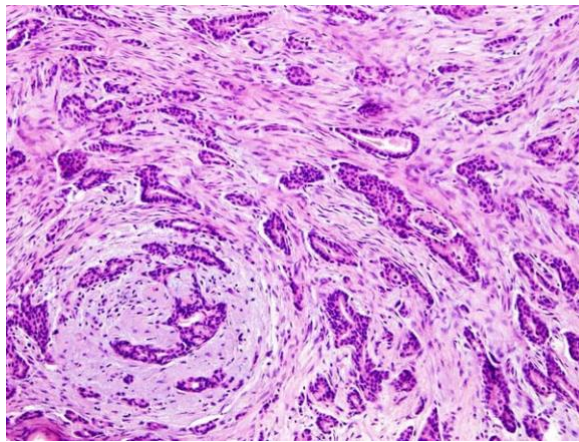
6.6 Bioptické vyšetření

Jestliže výsledky zobrazovacích metod, jako např. mamograf, naznačují možnost rakoviny, je nutné bioptické vyšetření. Jedná se o cytologické vyšetření, kdy se analyzuje buněčný materiál z prsu a které poskytuje informace o buněčném procesu uvnitř odebrané tkáně. (Breast biopsy, 2022; Hladíková, 2009)

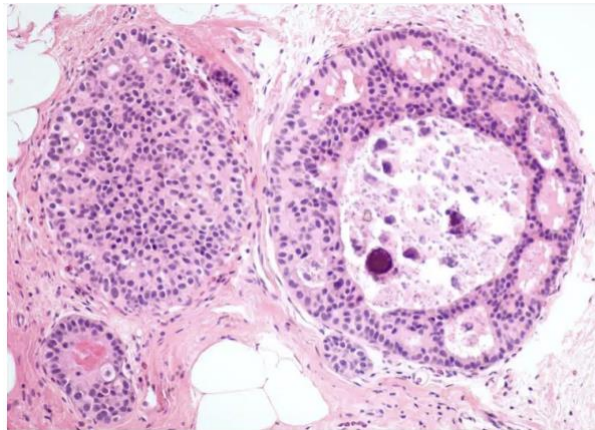
Během tohoto vyšetření lékař odebere malé kousky prsní tkáně z podezřelé oblasti. V laboratoři se pak zjišťuje, zda neobsahují rakovinné buňky. Pokud je v prsou více podezřelých ložisek, které neleží v bezprostřední blízkosti, je nutné vyšetřit každé z nich, nebo alespoň dvě nejvzdálenější. (Breast biopsy, 2022; Coufal a Fait, 2011)

Nejčastější bioptickou metodou je tkáňová punkční biopsie. Jedná se o odběr válečku tkáně pomocí speciální jehly. Z těchto tkáňových vzorků lze stanovit nejen histologickou diagnózu, (viz Obr. 8, 9), ale také další informace o tumoru, jako např. onkogeny, hormonální receptory atd. Takovéto informace jsou důležité pro naplánování léčby. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009)

Další metodou, která již ustupuje do pozadí, je aspirace tenkou jehlou. Používá se velmi tenká a dutá jehla připojená k injekční stříkačce k odběru malého množství prsní tkáně nebo tekutiny z podezřelé oblasti. Nejčastěji se využívá, pokud je podezřelá oblast pravděpodobně tekutinou naplněná cysta. (Coufal a Fait, 2011; Fine needle aspiration, 2022)



Obr. 8 – Invazivní duktální karcinom. Převzato: (Duktální invazivní karcinom, 2002-2021)



Obr. 9 – Duktální karcinom *in situ* (DCIS). Převzato: (Histology showing ductal carcinoma in-situ, 2022)

7 MOŽNOSTI LÉČBY KARCINOMU PRSU

Karcinom prsu se považuje za systémové onemocnění. Již v brzkých fázích nemoci je možné detekovat cirkulující volné nádorové buňky nebo mikrometastázy v kostní dřeni. V dnešní době je léčba karcinomu prsu především komplexní. Tato léčba vyžaduje úzkou spolupráci mezi lékaři, jako např. gynekologem, mamologem, onkologem, chirurgem, radioterapeutem a praktickým lékařem.

Používají se metody lokálně-regionální, mezi které se řadí chirurgie a radioterapie, a také metody celkové (systémové), kam patří chemoterapie, hormonální léčba a biologická léčba. Léčebná strategie závisí na stadiu onemocnění, které se zjišťuje běžnými metodami při diagnóze.

Lokalizované onemocnění vyžaduje kurativní léčbu s cílem vyléčit onemocnění. V této léčbě hraje hlavní roli chirurgie. Metastatické onemocnění naopak paliativní léčbu s cílem pozastavit či omezit růst a šíření nádoru a prodloužit přežití. Hlavními metodami léčby jsou systémové metody. Toto onemocnění je považováno za nevléčitelné, ale některé pacientky žijí i řadu let se vzdálenými metastázemi. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009)

7.1 Chirurgická léčba

Skládá se z operačního výkonu na prsu a operačního výkonu na regionálních mízních uzlinách. Operace vede k odstranění všech klinicky detekovatelných ložisek. Často je doplňována i dalšími způsoby léčby, které se mohou aplikovat až po operaci (adjuvantně) nebo i před operací (neoadjuvantně). Pro úspěšnou léčbu je důležitá úzká spolupráce mezi chirurgem a specialisty z dalších oborů, zejména patologie, radiologie, nukleární medicíny a radioterapie.

Chirurgický zákrok na prsu může být proveden tak, aby prs zůstal zachován. V tomto případě se jedná o parciální mastektomii (PME), při které dochází k odnětí části prsu. Druhým způsobem je totální mastektomie (TME), u které dochází k odnětí celého prsu. To nastává v případě, kdy by pomocí PME nebylo možné úplné odstranění jednoho či více zhoubných nádorů.

U některých pacientek může být před operací nasazena chemoterapie, tzv. neoadjuvantní chemoterapie. Jejím cílem je zmenšení velkého nádoru. Pokud je možné nádor odstranit pomocí PME a následně prs adjuvantně ozářit, jsou parametry přežití stejné jako po TME.

Operační výkon na regionálních mízních uzlinách znamená odstranění jedné nebo více podpažních lymfatických uzlin. Jejich prozkoumáním pod mikroskopem je možné určit,

zda se v nich vyskytují nádorové buňky. Jestliže se jedná o malý nádor a nenápadné lymfatické uzliny před operací, považuje se za dostatečné odstranit nejprve tzv. sentinelovou lymfatickou uzlinu. Jedná se o první lymfatickou uzlinu v systému lymfatické drenáže prsu, ve které by se teoreticky mohly vyskytovat nádorové buňky. Pokud se v ní však nevyskytují, není nutné odstraňovat další lymfatické uzliny. (Coufal a Fait, 2011; Rakovina prsu: léčba, 2023)

7.2 Radioterapie

Patří mezi základní způsoby léčby karcinomu prsu. Jedná se o léčbu zářením, která využívá elektromagnetického záření nebo záření částicové a ničí nádorové buňky. Zdroj záření může být buď mimo tělo pacienta ve vzdálenosti desítek centimetrů, nebo přímo na kožním povrchu či zaveden do tělesných dutin a tkání. Hlavním cílem je aplikace maximální dávky záření do přesně vymezeného cílového objemu a zároveň minimální poškození zdravých tkání. Radioterapie může být použita s radikálním nebo paliativním záměrem.

Radikální radioterapie se nejčastěji využívá jako pooperační (adjuvantní). Představuje léčbu lokální či lokoregionální. Jejím cílem je odstranit případné mikrometastázy v prsu, hrudní stěně nebo ve spádových lymfatických uzlinách. Tím se zabrání vzniku lokálních či lokoregionálních recidiv, a proto je standardní součástí léčby. Také je možné ji použít před operací, tedy neoadjuvantní. Probíhá u pacientek, které nemohou z nějakého důvodu dostat neoadjuvantní chemoterapii, hormonální receptory mají negativní nebo je nádor neoperovatelný. Samostatná radikální radioterapie se dělá u pacientek vysokého věku s absolutní kontraindikací operace, nebo pokud operaci odmítnou.

Paliativní radioterapie dokáže zastavit krvácení z metastáz, zmenšit jejich velikost a významně ovlivnit bolest. Onemocnění karcinomem prsu často vytváří vzdálené metastázy do kostí i měkkých tkání. Kostní metastázy jsou bolestivé a ohrožují pacientku kostní příhodou, jako např. zlomeninou. Paliativní radioterapie pomáhá odstranit bolest a podílí se na zpevnění kostí a zpomalení postupu nádoru. Vedle kostních metastáz se paliativní radioterapie aplikuje i na metastázy v mozku, plicích, játrech, kůži, lymfatických uzlinách aj. (Coufal a Fait, 2011; Kubecová, 2009; Radioterapie, 2023)

7.3 Chemoterapie

Jedná se o léčbu využívající protinádorového účinku chemických sloučenin. Ty se nazývají cytostatika. Jsou to léky, které ničí nádorové buňky, ale poškozují i zdravé buňky. Z toho důvodu chemoterapii doprovází jak žádoucí, tak nežádoucí účinky. Mezi žádoucí účinky se řadí vyléčení nemocného a zničení nádoru, zabránění rozšíření nádoru, zpomalení nádorového růstu, zmírnění obtíží způsobených nádorem. Nežádoucími účinky jsou nevolnost

a zvracení, vypadávání vlasů a únava. Po skončení léčby se však většina normálních buněk obnoví a s tím odezní i většina obtíží způsobených cytostatikou. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Co jsou to cytostatika, co je to chemoterapie, 2023)

Cílem neoadjuvantní (předoperační) chemoterapie je zmenšení nádoru a zlepšení jeho operability. Hlavními kandidátkami jsou pacientky, u kterých není možná PME. Avšak léčba by měla být doporučována pouze pacientkám, u kterých lze očekávat pozitivní odpověď na chemoterapii. Jedná se např. o pacientky s nádory s nízkými nebo negativními estrogenovými a progesteronovými receptory. (Coufal a Fait, 2011; Petráková, 2009)

Adjuvantní (pooperační) chemoterapie má za úkol zničení mikrometastáz a zmenšení rizika vývoje rezistence nádoru. Důsledkem je výrazné snížení počtu recidiv, pravděpodobnosti pozdějšího metastazování a prodloužení mediánu přežití. Indikuje se u pacientek s triple-negativním karcinomem prsu a u pacientek s HER-2-pozitivním karcinomem prsu. Základními cytostatikami jsou antracykliny, taxany a cyklofosfamid. Antracykliny a taxany jsou potenciálně kardiotoxické, proto je nutné před jejich podáním vyšetření srdce. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Petráková, 2009)

7.4 Hormonální léčba

Využívá se u nádorů závislých na hormonálních podnětech. Závislost na hormonech je dána přítomností hormonálních receptorů uvnitř nádorové buňky. Expresí hormonálních receptorů ovlivňuje nádor tím, že se odstraní jeho růstový faktor – estrogeny. Většina nádorů exprimuje estrogenové (ER) hormonální receptory nebo progesteronové (PR). Tyto nádory se označují jako ER-pozitivní.

Jestliže hormon pronikne do buňky, spojí se s receptorem a tento komplex může začít změny vedoucí k růstu a dělení nádorových buněk. Existují čtyři možnosti eliminace účinku estrogenů. První mechanismus je ablativní. Jedná se o odstranění či vyřazení z funkce žlázy produkující příslušný hormon, tomto případě vaječníky. Dalším je kompetitivní. Probíhá kompetice o vazebné místo na estrogenové receptory buňky. Inhibiční mechanismus spočívá v blokádě biosyntézy estrogenů. A poslední je aditivní mechanismus, u kterého dochází k podávání farmakologických dávek gestagenů, androgenů i estrogenů. To má za následek stimulační účinky blokující vazbu na nukleární steroidní receptory. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Hormonální léčba, 2023)

Hormonální léčba je podávána dlouhodobě. V adjuvantní léčbě několik let, při léčbě metastatického onemocnění po celou dobu účinnosti. Využívá se k adjuvantní léčbě u premenopauzálních i postmenopauzálních žen, ale také k neoadjuvantní léčbě. Ta se zvažuje

u pacientek, u kterých lze očekávat odpověď na hormonální léčbu, tedy např. u pacientek trpících nádorem s pozitivním ER a PR. Základní adjuvantní hormonální léčbou u premenopauzálních žen je chirurgické odstranění ovarií. Nejčastěji se využívá chemická kastrace pomocí LHRH analogů, které působí kastrálně pouze po dobu podávání. U postmenopauzálních žen se používá adjuvantní léčba tamoxifenem, která se podává 5 až 10 let. (Coufal a Fait, 2011; Petráková, 2009; Hormonální léčba, 2023)

7.5 Biologická léčba

Biologickou léčbou se rozumí podání látek biologické povahy. Jedná se o nový typ protinádorových léků, které byly vyvinuty ve snaze působit především na nádorovou buňku a zmírnit tak nežádoucí účinky, které se vyskytují u běžných cytostatik. Jejich mechanismus účinku je cíleně zaměřen proti nádorovým buňkám. Díky tomu je dosaženo vyšší efektivity protinádorové léčby. Při léčbě je podávána dávka, která vysoce přesahuje množství účinné látky tvořené v těle. Jde o monoklonální protilátky, které na povrchu nádorových buněk rozpoznají jejich antigeny a naváží se na ně. Tím blokují buněčné mechanismy podporující růst a dělení buněk nebo brání apoptóze či aktivují přirozené obranné mechanismy imunitního systému, které nádorové buňky zničí. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Cílená (biologická) léčba, 2023)

U pacientek s nadměrnou expresí HER-2 proteinu je indikována adjuvantní léčba monoklonální protilátkou *trastuzumabem*. Je prokázáno výrazné snížení rekurence, a to téměř o polovinu, a také snížení úmrtí téměř o třetinu. *Trastuzumab* je monoklonální protilátka namířená proti receptoru HER-2. Jediným vážnějším nežádoucím účinkem léčby touto látkou je reverzibilní kardiotoxicita. (Coufal a Fait, 2011; Hladíková, 2009; Petruželka, 2009)

8 ZÁVĚR

Rakovina nebo také nádorové onemocnění je různorodá skupina chorob, jejichž společným rysem je to, že některá populace vlastních buněk organismu se vymkne kontrole a začne relativně autonomně růst, ačkoli za normálních okolností jsou buňky schopny svou mutaci detekovat a opravit, nebo samy sebe zničit apoptózou.

Jen představa rakoviny vyvolává v lidských myslích paniku, strach a bezmoc. Hlavní příčinou je obava ze smrti a z bolesti, která léčbu rakoviny často doprovází.

Karcinom prsu je nejčastějším zhoubným nádorem u žen. U nositelek mutací genů BRCA-1 nebo BRCA-2 je mnohonásobně vyšší riziko rozvoje rakoviny prsu a také ovarií. Z tohoto důvodu ženy často podstupují genetická vyšetření, jestliže se v jejich rodině rakovina prsu či ovarií objevila u více příbuzných jedinců.

Důležitá je také prevence, která bývá často podceňována a mnohými pacienty zlehčována. Avšak řadí se mezi nezanedbatelné přístupy, které snižují riziko vzniku karcinomu prsu a tím také snižují celkovou úmrtnost. Mezi takoveto postupy patří také samovyšetření, změna životního stylu, chirurgická prevence, chemoprevence a pravidelné prohlídky u lékaře.

Nejčastějším diagnostickým postupem je mamografie, která se zároveň využívá jako preventivní metoda u žen nad 45 let. U mladších žen je základní diagnostickou metodou ultrasonografie, která se právě využívá u mladších žen s vyšším rizikem rozvoje onemocnění.

Léčebné postupy jsou velmi individuální. Odlišují se podle typu nádoru, jeho umístění a velikosti. Také záleží na stavu pacientky, kdy je rozhodující věk, celkový fyzický stav atd. Běžnými léčebnými postupy jsou chirurgická léčba, radioterapie a chemoterapie. Mezi novější postupy se zařazuje hormonální a biologická léčba. Tyto způsoby lze využít pouze u pacientek, které na léčbu budou schopny adekvátně reagovat.

Pro účinnou léčbu je nejvíce důležitá prevence a včasná detekce, jejichž metody, stejně jako metody léčebné, se rychle rozvíjejí a tím umožňují záchranu více lidských životů.

SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY

ABRAHÁMOVÁ, J. a L. DUŠEK. *Možnosti včasného záchytu rakoviny prsu*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0499-4.

AZAM, S., T. LANGE, S. HUYNH, A. R. ARO, M. VON EULER-CHELPIN, I. VEJBORG, A. TJØNNELAND, E. LYNGE a Z. J. ANDERSEN. Hormone Replacement Therapy, Mammographic Density, and Breast Cancer Risk: a Cohort Study [online]. 2018, **29**(6), 495-505 [cit. 2023-05-25]. ISSN 0957-5243. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10552-018-1033-0>.

BARNES, N. L. P. a N. J. BUNDRED. Ductal Carcinoma In Situ. *Encyclopedia of Cancer* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2017, 2014-6-20, 1434-1437 [cit. 2023-05-25]. ISBN 978-3-662-46874-6. Dostupné z: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-662-46875-3_1748.

BÁRTOVÁ, E. PCR (polymerázová řetězová reakce). *Molekulární biologie* [online]. 2011 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: https://cit.vfu.cz/opvk2011/?title=popis_metod-pcr&lang=cz.

Breast Biopsy. *American Cancer Society* [online]. 2022, 14. 1. 2022, 54-56 [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8579.00.pdf>.

Cílená (biologická) léčba. *Linkos* [online]. 2023 [cit. 2023-05-26]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/lecba/jak-se-lecit/farmakoterapie/co-je-to-biologicka-lecba/>.

Co jsou to cytostatika, co je to chemoterapie. *Linkos* [online]. 2023 [cit. 2023-05-26]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/lecba/jak-se-lecit/farmakoterapie/co-jsou-to-cytostatika-co-je-to-chemoterapie/>.

COUFAL, O. a V. FAIT. *Chirurgická léčba karcinomu prsu*. Praha: Grada Publishing, 2011. ISBN 978-80-247-3641-9.

DANEŠ, J. *Screening a diagnostika karcinomu prsu: pro každodenní praxi*. Praha: Grada Publishing, 2021. ISBN 978-80-271-1239-5.

DEN DUNNEN, J. T. RNA-Based Variant Detection: The Protein Truncation Test. *Molecular Diagnostics* [online]. Elsevier, 2010, 2010, 293-298 [cit. 2023-06-15]. ISBN 9780123745378. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123745378000195>.

DEPOLO, J. a J. SHENG. Invasive Ductal Carcinoma (IDC). *Breastcancer.org* [online]. 2023, 18. 1. 2023 [cit. 2023-03-17]. Dostupné z: <https://www.breastcancer.org/types/invasive-ductal-carcinoma#articleEndAdvisors>.

DEPOLO, J. a J. SHENG. Invasive Lobular Carcinoma (ILC). *Breastcancer.org* [online]. 2023, 17. 1. 2023 [cit. 2023-03-17]. Dostupné z: <https://www.breastcancer.org/types/invasive-lobular-carcinoma#section-symptoms-of-invasive-lobular-carcinoma>.

DIEGO, E. J. B. Benign Breast Tumors. *Breast Disease* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2016, 2016, 23-56 [cit. 2023-05-25]. ISBN 978-3-319-22842-6. Dostupné z: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-22843-3_3.

DONG, Y. a H. ZHU. Single-Strand Conformational Polymorphism Analysis: Basic Principles and Routine Practice. *Hypertension* [online]. New Jersey: Humana Press, 2004, 149-158 [cit. 2023-06-15]. ISBN 1-59259-850-1. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1385/1-59259-850-1:149>.

FIGUEROA, J. D., G. L. GIERACH, M. A. DUGGAN, S. FAN, R. M. PFEIFFER, Y. WANG, R. T. FALK, O. LOUDIG, M. ABUBAKAR, M. GINSBERG, T. M. KIMES, K. RICHERT-BOE, A. G. GLASS a T. E. ROHAN. Risk Factors for Breast Cancer Development by Tumor Characteristics among Women with Benign Breast Disease. *Breast Cancer Research* [online]. 2021, **23**(1) [cit. 2023-05-25]. ISSN 1465-542X. Dostupné z: <https://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-021-01410-1>.

Fine Needle Aspiration (FNA) of the Breast. *American Cancer Society* [online]. 2022, 14. 1. 2022, 56-59 [cit. 2023-05-25]. Dostupné z:

<https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8579.00.pdf>.

FORETOVÁ, L. Genetika nádoru prsu. *Onkologie*. 2008, **2**(1), 44–48. Dostupné z:

https://www.onkologiecs.cz/artkey/xon-200801-0009_Genetika_nadoru_prsu.php.

FORETOVÁ, L. Genetické vyšetření. *Masarykův onkologický ústav* [online]. 2013 [cit. 2023-

06-15]. Dostupné z: <https://www.mou.cz/jak-vcas-odhalit-rakovinu/t1292#section2>.

FORETOVÁ, L., E. MACHÁČKOVÁ, M. PALÁCOVÁ, M. NAVRÁTILOVÁ, M. SVOBODA a K. PETRÁKOVÁ. Doporučení rozšíření indikačních kritérií ke genetickému testování mutací v genech BRCA1 a BRCA2 u hereditárního syndromu nádoru prsu a ovarií. *Klinická onkologie*. 2016, **29**(1), 9-13. ISSN 0862495X. Dostupné z:

<http://www.linkos.cz/klinicka-onkologie-journal/search-for-articles/skupina/a/zobrazit/ids/4868/>.

GRIFFITHS, L. a D. CHACON-CORTES. Methods for Extracting Genomic DNA from Whole Blood Samples: Current Perspectives. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine* [online]. 2014, (2), 1-9 [cit. 2023-06-15]. ISSN 2253-1785. Dostupné z:

<http://www.dovepress.com/methods-for-extracting-genomic-dna-from-whole-blood-samples-current-pe-peer-reviewed-article-BSAM>.

GUHA, T. a D. MALKIN. Inherited TP53 Mutations and the Li–Fraumeni Syndrome. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* [online]. 2017, **7**(4) [cit. 2023-05-25]. ISSN 2157-1422. Dostupné z:

<http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a026187>.

HARDY, C. A. The Protein Truncation Test. *PCR Mutation Detection Protocols* [online].

New Jersey: Humana Press, 2002, 087-108 [cit. 2023-06-15]. ISBN 1-59259-273-2. Dostupné z: <https://link.springer.com/protocol/10.1385/1-59259-273-2:087>.

HLADÍKOVÁ, Z. *Diagnostika a léčba onemocnění prsu*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2009. ISBN 978-80-244-2268-8.

Hormonální léčba. *Linkos* [online]. 2023 [cit. 2023-05-26]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/lecba/jak-se-lecit/farmakoterapie/hormonalni-lecba-1/>.

Chaotropní látka. *Encyclopedia* [online]. 2021 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: https://wikijii.com/wiki/chaotropic_agent.

Invasive Ductal Carcinoma (IDC). *Penn Medicine* [online]. Philadelphia, 2023 [cit. 2023-03-17]. Dostupné z: <https://www.pennmedicine.org/cancer/types-of-cancer/breast-cancer/types-of-breast-cancer/invasive-ductal-carcinoma>.

JANČOVÁ, P., K. MARŠÁLKOVÁ, J. ŠERÁ a H. PIŠTĚKOVÁ. Environmentální aplikace molekulární biologie [online]. 2017, 3 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://www.odpadoveforum.cz/TVIP2017/prispevky/109.pdf>.

KHADILKAR, S., M. BOPANNA, P. PARAB, S. GULIA, S. CHHASATIA, S. KOTHARI, S. GOGINENI, T. TANEJA, P. PERUMAL, D. JETHWA, Y. KEMBHAVI a S. GUPTA. A Multicentre Observational Study on Risk Factors for Breast Cancer. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India* [online]. 2020, **70**(5), 371-375 [cit. 2023-05-25]. ISSN 0971-9202. Dostupné z: <https://link.springer.com/10.1007/s13224-020-01330-8>.

KHINCHA, P. P., A. F. BEST, J. F. FRAUMENI, J. T. LOUD, S. A. SAVAGE a M. I. ACHATZ. Reproductive Factors Associated with Breast Cancer Risk in Li–Fraumeni Syndrome. *European Journal of Cancer* [online]. 2019, 116, 199-206 [cit. 2023-05-25]. ISSN 09598049. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959804919303089>.

Klasické metody sekvenování. *LabGuide.cz* [online]. [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://labguide.cz/metody/sekvenovani-dna/klasicke-metody-sekvenovani/>.

KLIMKOWSKI, S., M. IBRAHIM, J. J. IBARRA ROVIRA, M. ELSHIKH, S. JAVADI, A. R. KLEKERS, A. A. ABUSAIF, A. W. MOAWAD, K. ALI a K. M. ELSAYES. Peutz–Jeghers Syndrome and the Role of Imaging: Pathophysiology, Diagnosis, and Associated Cancers. *Cancers* [online]. 2021, **13**(20) [cit. 2023-05-25]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/20/5121>.

KŘENKOVÁ, Petra. *Validace metody High Resolution Melting (HRM) pro účely DNA diagnostiky; mutační analýza genu cystické fibrózy a vybraných kandidátních genů u mužské infertility [Validation of High Resolution Melting (HRM) for the Purpose of DNA Diagnostics; Mutation Analysis of the Cystic Fibrosis Gene and Selected Candidates Genes of Male Infertility]*. Praha, 2013, s. 149. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 2. Lékařská fakulta, Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK 2012.

KŘÍHOVÁ, M. *Použití metody MLPA pro stanovení nebalancovaných změn genomu*. České Budějovice, 2015. 56 s. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, Katedra laboratorních metod a informačních systémů.

KUBECOVÁ, M. Radioterapie karcinomu prsu. *Onkologie* [online]. 2009, **3**(1), 28-31 [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: <https://www.onkologiecs.cz/pdfs/xon/2009/01/05.pdf>.

LEE, A., B. MOON a T. H. KIM. BRCA1/BRCA2 Pathogenic Variant Breast Cancer: Treatment and Prevention Strategies. *Annals of Laboratory Medicine* [online]. 2020, **40**(2), 114-121 [cit. 2023-05-25]. ISSN 2234-3806. Dostupné z: <http://annlabmed.org/journal/view.html?doi=10.3343/alm.2020.40.2.114>.

LI, A. a L. KIRK. Intraductal Papilloma. *StatPearls Publishing LLC* [online]. 2022, 26. 9. 2022 [cit. 2023-03-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519539/>.

LOFTERØD, T., H. FRYDENBERG, V. FLOTE, A. E. EGGEN, A. MCTIERNAN, E. S. MORTENSEN, L. A. AKSLEN, J. B. REITAN, T. WILSGAARD a I. THUNE. Exploring the Effects of Lifestyle on Breast Cancer Risk, Age at Diagnosis, and Survival: the EBBA-Life Study. *Breast Cancer Research and Treatment* [online]. 2020, **182**(1), 215-227 [cit. 2023-05-25]. ISSN 0167-6806. Dostupné z: <https://link.springer.com/10.1007/s10549-020-05679-2>.

LUKEŠOVÁ, M., P. VAŠÍČKOVÁ, E. MACHÁČKOVÁ, M. NAVRÁTILOVÁ, O. HORKÝ, H. PAVLŮ, V. URBÁNKOVÁ, J. KUKLOVÁ a L. FORETOVÁ. Charakterizace intragenových delecí BRCA1 genu detekovaných metodou MLPA u pacientek s dědičnou predispozicí ke vzniku nádoru prsa a ovaria. *Linkos* [online]. 2006 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/kongresy/po-kongresu/databaze-tuzemskych-onkologickych-konferencnich-abstrakt/charakterizace-intragenovych-deleci-brca1-genu-detekovanych-metodou-mlpa-u-pacie/>.

LYNCH, H. Lynch Syndrome. *Encyclopedia of Cancer* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2017, 2017-6-20, 2601-2605 [cit. 2023-05-25]. ISBN 978-3-662-46874-6. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-46875-3_3468.

Magnetic Resonance Imaging (MRI). *National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering* [online]. [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/magnetic-resonance-imaging-mri>.

Mammography. *National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering* [online]. [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/mammography>.

MCCART REED, A. E., J. R. KUTASOVIC, S. R. LAKHANI a P. T. SIMPSON. Invasive Lobular Carcinoma of the Breast: Morphology, Biomarkers and 'Omics. *Breast Cancer Research* [online]. 2015, **17**(1) [cit. 2023-05-25]. ISSN 1465-542X. Dostupné z: <http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-015-0519-x>.

MCCART REED, A. E., L. KALINOWSKI, P. T. SIMPSON a S. R. LAKHANI. Invasive Lobular Carcinoma of the Breast: the Increasing Importance of this Special Subtype. *Breast Cancer Research* [online]. 2021, **23**(1) [cit. 2023-05-25]. ISSN 1465-542X. Dostupné z: <https://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-020-01384-6>.

Olaparib. *Linkos* [online]. 2023 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/slovnicek/olaparib-ucinna-latka/>.

OPLÍŠTILOVÁ, Š. *Vyšetření mutací v BRCA1 a BRCA2 genech*. Pardubice, 2016. 54 s. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická.

PAVLIŠTA, D. *Neinvazivní karcinomy prsu*. Praha: Maxdorf, 2008. Jessenius. ISBN 978-80-7345-173-8.

PAVLIŠTA, D., M. ZIKÁN a A. JEDLIČKOVÁ. Infekce prsu. *Moderní babičtví* [online]. 2006, (9) [cit. 2023-03-17]. Dostupné z: <https://www.levret.cz/publikace/casopisy/mb/2006-9/?pdf=63>.

PAVLŮ, H., Z. JURÁŠKOVÁ, J. KUKLOVÁ, M. MACKŮ a E. MACHÁČKOVÁ. Vývoj laboratorních vyšetřovacích metod v diagnostice genů BRCA1 a BRCA2 v MOÚ. *Linkos* [online]. 2011 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/kongresy/po-kongresu/databaze-tuzemskych-onkologickych-konferencnich-abstrakt/vyvoj-laboratornich-vysetrovacich-metod-v-diagnostice-genu-brca1-a-brca2-v-mou/>.

PETLEY, E., A. YULE, S. ALEXANDER, S. OJHA, W. P. WHITEHOUSE a T. CHEN. The Natural History of Ataxia-Telangiectasia (A-T): A Systematic Review. *PLOS ONE* [online]. 2022, **17**(3) [cit. 2023-05-25]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0264177>.

PETRÁKOVÁ, K. Chemoterapie a hormonální léčba karcinomu prsu. *Medicína pro praxi* [online]. 2009, **6**(6), 320-324 [cit. 2023-05-26]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2009/06/07.pdf>.

PETRUŽELKA, L. Biologická léčba karcinomu prsu. *Onkologie* [online]. 2009, **3**(1), 19-27 [cit. 2023-05-26]. Dostupné z: https://www.onkologiecs.cz/artkey/xon-200901-0004_Biologicka_lecba_karcinomu_prsu.php?back=%2Fsearch.php%3Fquery%3Dbiologick%25E1%2B1%25E9%25E8ba%2Bkarcinomu%2Bprsu%26sfrom%3D0%26spage%3D30.

PICON-RUIZ, M., C. MORATA-TARIFA, J. J. VALLE-GOFFIN, E. R. FRIEDMAN a J. M. SLINGERLAND. Obesity and Adverse Breast Cancer Risk and Outcome: Mechanistic Insights and Strategies for Intervention. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* [online]. 2017, **67**(5), 378-397 [cit. 2023-05-25]. ISSN 00079235. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.3322/caac.21405>.

PILARSKI, R. PTEN Hamartoma Tumor Syndrome: A Clinical Overview. *Cancers* [online]. 2019, **11**(6) [cit. 2023-05-25]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/6/844>.

PUCHMAJEROVÁ, A., P. VASOVČÁK, A. KŘEPELOVÁ a P. PLEVOVÁ. Cowdenův syndrom. *Klinická onkologie* [online]. 2009, **22**(1), 56-57 [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/casopis-klinicka-onkologie/2009-06-10-supplement-1/cowdenuv-syndrom/>.

Radioterapie. *Linkos* [online]. 2023 [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/lecba/jak-se-lecit/radioterapie-ozarovani/>.

Rakovina prsu: léčba. *Národní zdravotnický informační portál* [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2023 [cit. 2023-05-25]. ISSN 2695-0340. Dostupné z: <https://www.nzip.cz>.

ROUBIDOUX, M. A. Breast Fibroadenoma Imaging [online]. 2019, 21. 1. 2019 [cit. 2023-03-17]. Dostupné z: <https://emedicine.medscape.com/article/345779-overview>.

SGOUROU, A., A. PAPACHATZOPOULOU, T. KATSILA a G.P. PATRINOS. Low- and Medium-Throughput Variant Detection Methods: A Historical Perspective. *Molecular Diagnostics* [online]. Elsevier, 2017, 2017, 23-39 [cit. 2023-06-15]. ISBN 9780128029718. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128029718000031>.

SLAWSON, S. H. a B. A. JOHNSON. Ductography: How To and What If?. *RadioGraphics* [online]. 2001, **21**(1), 133-150 [cit. 2023-05-25]. ISSN 0271-5333. Dostupné z: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiographics.21.1.g01ja15133>.

Slovník cizích slov. *SCS.ABZ.cz* [online]. 2005-2023 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://slovník-cizich-slov.abz.cz>.

Slovníky. *Velký lékařský slovník* [online]. 1998-2018 [cit. 2018-05-22]. Dostupné z: <http://lekarske.slovníky.cz/>.

SRINIVASAN, S. a J. BATRA. Single Nucleotide Polymorphism Typing. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology* [online]. Elsevier, 2019, 2019, 432-440 [cit. 2023-06-15]. ISBN 9780128114322. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128096338201271>.

STANĚK, L. Polymerázová řetězová reakce: princip metody a využití v molekulární patologii. *Česko-slovenská patologie*[online]. 2013, (3), 119-121 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/cesko-slovenska-patologie/2013-3-2/polymerazova-retezova-reakce-princip-metody-a-vyuziti-v-molekularni-patologii-41222>.

STRATHDEE, F. a A. FREE. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE). *DNA Electrophoresis* [online]. Totowa, NJ: Humana Press, 2013, 2013-07-17, 145-157 [cit. 2023-06-15]. Methods in Molecular Biology. ISBN 978-1-62703-564-4. Dostupné z: https://link.springer.com/10.1007/978-1-62703-565-1_9.

ŠTEFÁNEK, J. Duktografie. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. 2011 [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/duktografie>.

ŠTEFÁNEK, J. Pagetova choroba. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. 2011 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/pagetova-choroba>.

TABONE, T., G. SALLMANN a R. COTTON. The Chemical Cleavage of Mismatch for the Detection of Mutations in Long DNA Fragments. *Single Nucleotide Polymorphisms* [online]. Totowa, NJ: Humana Press, 2009, 2009-8-5, 223-234 [cit. 2023-06-15]. Methods in Molecular Biology. ISBN 978-1-60327-410-4. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-1-60327-411-1_14.

TABONE, T., G. SALLMANN, M. CHIOTIS, M. LAW a R. COTTON. Chemical Cleavage of Mismatch (CCM) to Locate Base Mismatches in Heteroduplex DNA. *Nature Protocols* [online]. 2006, 1(5), 2297-2304 [cit. 2023-06-15]. ISSN 1754-2189. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/nprot.2006.352>.

THAWANI, A. R. a L. M. ERDAHL. Lobular Carcinoma In Situ. *Clinical Algorithms in General Surgery* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2019, 2019-02-05, 81-84 [cit. 2023-05-25]. ISBN 978-3-319-98496-4. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-98497-1_21.

Trastuzumab. *Linkos* [online]. 2023 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/slovnicek/trastuzumab-ucinna-latka/>.

Ultrasound. *National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering* [online]. 2016 [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/ultrasound>.

Vyšetření metodou MLPA. *Laboratoř lékařské genetiky* [online]. 2011 [cit. 2023-06-15]. Dostupné z: http://www.genetikav.cz/v_mpla.html.

WANG, W., Q. HE, H. ZHANG, Ch. ZHUANG, Q. WANG, C. LI, R. SUN, X. FAN a J. YU. A Narrative Review on the Interaction between Genes and the Treatment of Hypertension and Breast Cancer. *Annals of Translational Medicine* [online]. 2021, **9**(10), 894-894 [cit. 2023-05-25]. ISSN 23055839. Dostupné z: <https://atm.amegroups.com/article/view/70409/html>.

WEN, H. Y. a E. BROGI. Lobular Carcinoma In Situ. *Surgical Pathology Clinics* [online]. 2018, **11**(1), 123-145 [cit. 2023-05-25]. ISSN 18759181. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1875918117301435>.

WILSON, G. M., P. DINH, N. PATHMANATHAN a J. D. GRAHAM. Ductal Carcinoma in Situ: Molecular Changes Accompanying Disease Progression. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* [online]. 2022, **27**(1), 101-131 [cit. 2023-05-25]. ISSN 1083-3021. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9135892/>.

YAMASHITA, H. Hereditary Breast Cancer: Molecular Biology and Management Update. *International Journal of Clinical Oncology* [online]. 2018, **23**(1), 35-35 [cit. 2023-05-25]. ISSN 1341-9625. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10147-017-1183-1>.

ZHANG, B., X. SHU, R. J. DELAHANTY, Ch. ZENG, K. MICHAILEDIOU, M. K. BOLLA, Q. WANG, J. DENNIS. Height and Breast Cancer Risk: Evidence From Prospective Studies and Mendelian Randomization. *Journal of the National Cancer Institute* [online]. 2015, **107**(11) [cit. 2023-05-25]. ISSN 0027-8874. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djv219>.

ZDROJE OBRÁZKŮ

BÁRTOVÁ, E. Průběh PCR. In: *Molekulární biologie* [online]. 2011 [cit. 2023-06-15].

Dostupné z: https://cit.vfu.cz/opvk2011/?title=popis_metod-pcr&lang=cz.

Duktální invazivní karcinom (grade 1). In: *Nádory prsu* [online]. 2002-2021 [cit. 2023-05-27]. Dostupné z: <https://www.mamma.cz/klasifikace/who-01-obr-1.html>.

Histology Showing Ductal Carcinoma In-Situ (DCIS), Demonstrating the Malignant Cells Confined to the Mammary Ducts. In: *Teach Me Surgery* [online]. 2022 [cit. 2023-05-27]. Dostupné z: <https://teachmesurgery.com/breast/malignant-disease/breast-carcinoma-in-situ/>.

HLADÍKOVÁ, Z. Četnost výskytu karcinomu v jednotlivých kvadrantech prsu.

In: *Diagnostika a léčba onemocnění prsu*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2009, s. 12. ISBN 978-80-244-2268-8.

Jak na samovyšetření prsu. In: *Mammacentrum* [online]. 2018 [cit. 2023-05-26]. Dostupné z: <https://mammacentrum.cz/novinky/jak-na-samovysetreni-prsu/>.

NCI STAFF. Large Study Verifies Cancer Risk for Women Carrying BRCA1 or BRCA2 Mutations. In: *National Cancer Institute*[online]. 2017, 12. 7. 2017 [cit. 2023-05-26].

Dostupné z: <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2017/brca-mutation-cancer-risk>.

Obecné schéma heteroduplexní analýzy. In: *WikiSkripta* [online]. 2018 [cit. 2023-06-16].

Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Heteroduplexová_analýza.

Řez prsem dospělé ženy. In: *Imperial Vitamins* [online]. 2014 [cit. 2023-05-26]. Dostupné z: <http://www.superprsa.cz/super-prsa/vyvoj-poprsi/>.

SPAINK. De Prijs van Screening. In: *Karin Spaink* [online]. 2006, 1. 12. 2006 [cit. 2023-05-26]. Dostupné z: <https://www.spaink.net/2006/12/01/de-prijs-van-screening/>.