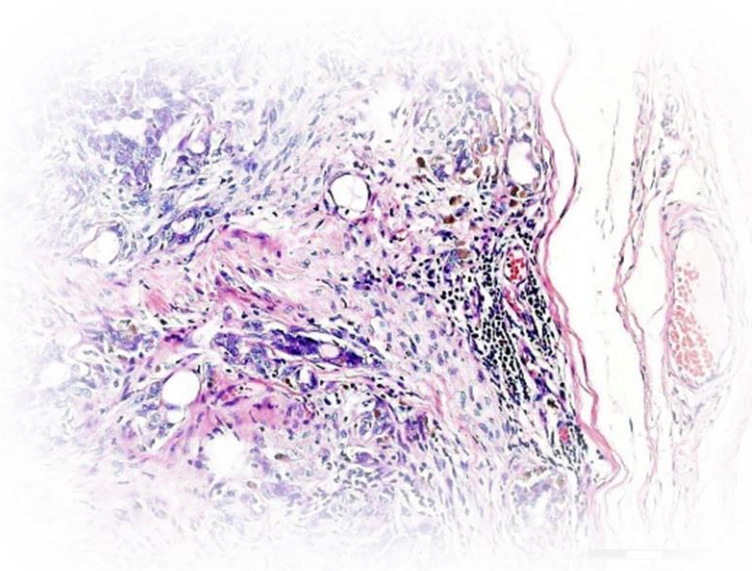


VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

Fakulta veterinárního lékařství

Klinika chorob psů a koček

# TUMORY MLÉČNÉ ŽLÁZY – ČASTO PODCEŇOVANÝ PROBLÉM



MVDr. Marie Štěrbová  
MVDr. Jana Lorenzová, Ph.D.

Brno 2019

Práce byla financována v rámci projektu IVA VFU Brno

2019FVL/1660/21

# OBSAH

<b>I. Úvod</b> .....	4
<b>II. Mléčná žláza</b> .....	4
<b>Anatomie mléčné žlázy</b> .....	4
Mléčná žláza jako celek.....	4
Krevní zásobení mléčné žlázy.....	5
Mízní systém mléčné žlázy.....	6
Inervace mléčné žlázy.....	6
<b>Histologie mléčné žlázy</b> .....	7
<b>Imunohistochemie zdravé mléčné žlázy</b> .....	7
<b>Mammogeneze (vývoj mléčné žlázy)</b> .....	8
<b>Hormonální řízení</b> .....	9
<b>III. TUMORY MLÉČNÉ ŽLÁZY</b> .....	10
<b>Faktory ovlivňující rozvoj tumorů mléčné žlázy</b> .....	10
Věk.....	10
Plemeno.....	10
Krmivo a obezita.....	11
Hormonální působení.....	11
Genetické faktory.....	12
Zeměpisná poloha.....	13
<b>Klinická manifestace</b> .....	13
<b>Diagnostika</b> .....	15
Anamnéza a klinické vyšetření.....	15
Rentgenologické vyšetření a Výpočetní tomografie (CT).....	17
Ultrasonografické vyšetření.....	18
Lymfoscintigrafie.....	19
Infračervená termografie.....	19
<b>TNM systém</b> .....	20
Velikost nádoru.....	20
Postižení mízních uzlin.....	21
Přítomnost vzdálených metastáz.....	21
<b>Tenkojehelná biopsie tumorů mléčné žlázy</b> .....	21
<b>Cytologie tumorů mléčné žlázy</b> .....	21
<b>Klasifikace tumorů a dysplazií mléčné žlázy</b> .....	24

<b>Grading tumorů mléčné žlázy .....</b>	<b>25</b>
<b>Zpracování vzorků pro histopatologickou analýzu .....</b>	<b>27</b>
<b>Imunofenotypizace a biomarkery .....</b>	<b>27</b>
<b>Biomarkery proliferace a apoptózy .....</b>	<b>28</b>
Adhezní molekuly .....	29
Angiogenní faktory .....	29
Hormonální receptory .....	30
Zánětlivé markery .....	30
<b>Terapie .....</b>	<b>31</b>
Chirurgické řešení .....	31
Systémová adjuvantní terapie .....	34
Metronomická chemoterapie .....	37
Hormonální léčba .....	37
Inhibitory tyrozin-kinázových receptorů .....	38
COX-2 inhibitory .....	39
<b>Prognostické faktory tumorů mléčné žlázy .....</b>	<b>40</b>
Vliv kastrace na tumory mléčné žlázy .....	40
<b>IV. Seznam použité literatury .....</b>	<b>42</b>

## I. ÚVOD

Mléčná žláza je orgán specifický pouze pro savce. Jedná se o modifikovanou exokrinní apokrinní tubuloalveolární složenou potní žlázu.[1] Někdy může být označována také jako přídatná pohlavní žláza samičího genitálu. Tato žláza produkuje typický sekret – mléko, které slouží k výživě mláďat. Kromě základních živin obsahuje první postpartálně vyloučené mléko vysoký obsah gamaglobulinů, důležitých pro rozvoj pasivní imunity mláďete.

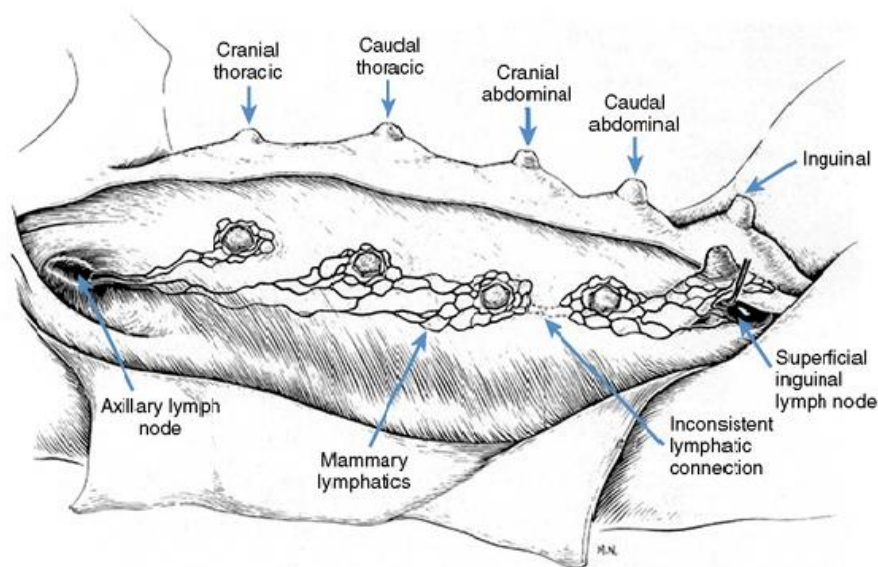
## II. MLÉČNÁ ŽLÁZA

### ANATOMIE MLÉČNÉ ŽLÁZY

#### MLÉČNÁ ŽLÁZA JAKO CELEK

Mléčná žláza fen je tvořena dvěma mléčnými lištami, pravou a levou. Každá z těchto lišt zasahuje od ventrální strany hrudní stěny až po inguinální oblast. Na každé straně je vytvořeno obvykle pět mléčných komplexů, u některých jedinců je možné vidět čtyři nebo šest komplexů. Tyto komplexy jsou označovány jako thorakální kraniální a kaudální (M1 a M2), abdominální kraniální a kaudální (M3 a M4) a inguinální (M5).[1]–[3] Jednotlivé mammární komplexy jsou tvořeny tzv. mléčnými jednotkami, těch je u fen zpravidla pět až dvacet, intersticiálním vazivem s nervy, krevními a lymfatickými cévami. Mléčné jednotky jsou tvořeny žlázovým tělesem (*corpus mammae*), které je složeno z vlastního žlázového parenchymu (*glandula mammaria*) a transportních systémů v intersticiu. Mléčné jednotky následně pokračují v dutinový systém vývodů, který je spojuje s otvorem na hrotu struku (*ostium papilare*). Pravá a mléčná lišta jsou od sebe odděleny dobře viditelným *sulcus intermammarius*. [3]

U juvenilních jedinců mohou být mammární komplexy často ukryté v srsti, u laktujících fen mohou mít tvar polokoule a jejich velikost je specifická jak vnitrodruhově, tak individuálně.



Obrázek 1 Evans HE, Christensen GC: The urogenital system. In Evans HE, editor: Miller's anatomy of the dog, ed 3, Philadelphia, 1993, Saunders

## KREVŇÍ ZÁSOBENÍ MLÉČNÉ ŽLÁZY

Okysličenou krev k thorakálním mammárním komplexům zajišťují *rr. mammarii mediales*, jenž odstupují z *rr. perforantes a. thoracica interna*. Současně s tím se při krvení kraniálních částí mléčné žlázy uplatňují větve z *a. thoracica lateralis*, která odstupuje z *a. thoracica axillaris* a dále dorzální mezižeberní cévy *aa. intercostales*, konkrétně *rr. mammarii* z *rr. cutanei laterales*. Žilní odtok je v případě thorakálních mammárních komplexů zajištěn *rr. mammarii mediales* vycházejících z *rr. perforantesv. thoracica interna*, dále pak *v. thoracica lateralis* odstupující z *v. thoracica axillaris*. *V. epigastrica superficialis*, jenž odstupuje z *v. epigastrica cranialis* vznikající z *v. thoracica interna*. [4]

Mammární komplexy, které jsou uloženy v abdominální a inkuinální oblasti, jsou okysličovány krví, kterou přivádí *a. pudenda externa* a větve *a. epigastrica caudalis superficialis*. Žilný odtok krve je v tomto případě zajištěn pomocí *v. epigastrica caudalis superficialis*, která ústí do *v. epigastrica caudalis* a dále do *v. pudenda externa*. [3], [4]

## MÍZNÍ SYSTÉM MLÉČNÉ ŽLÁZY

---

Mízní systém zajišťující odtok mízy z mléčné žlázy je tvořen mízními cévami a mízními uzlinami. Míza je odváděna do regionálních mízních uzlin. Z thorakálních a kraniálních abdominálních mammárních komplexů je míza vedena do *lymphonodi axillares* a *lymphonodi superficiales inguinales*. U některých jedinců, může míza z této oblasti vést až do *lymphonodi cervicales superficiales*. Odtok mízy z kaudálních abdominálních mammárních komplexů k *lymphonodi iliaci mediales*. Z kraniálních abdominálních mammárních komplexů může míza vést jak k *lymphonodi axillares* tak k *lymphonodi inguinales superficiales*. Mezi povrchovými inkuinálními mízními uzlinami mohou být navíc vytvořeny další anastomózy.

V případě výskytu tumorů mléčné žlázy byly popsány rozdíly v lymfodrenáži mléčné žlázy.[3] Při tumoru mléčné žlázy postihující oblast M1 nebo M2 může být míza odváděna jak do *lymphonodi axillares* tak do sternálních mízních uzlin. Při zjištění neoplazie v oblasti M3 může být míza odváděna do *lymphonodi axillares*, *lymphonodi superficiales inguinales* a *lymphonodi iliaci mediales*. Při tumorech mléčné žlázy zasahující do oblasti M4 lze pozorovat neoplastickou lymfodrenáž do *lymphonodi superficiales inguinales* a *lymphonodi axillares*. V případě neoplazie v nejkaudálnější části mléčné žlázy může být lymfatická drenáž zajištěna díky *lymphonodi superficiales inguinales* a *lymphonodi popliteales*. [2], [5]

Pochopení mízního systému mléčné žlázy má extrémní klinický význam při onkologickém onemocnění této anatomické struktury zejm. při možném šíření metastáz.

## INERVACE MLÉČNÉ ŽLÁZY

---

Inervace mléčné žlázy je zajištěna jak senzitivními nervy kůže, tak sympatickými a parasympatickými nervovými vlákny. Jedná se hlavně o *rr. mammarii laterales et mediales nn. intercostales*, které inervují thorakální mammární komplexy. Kůže abdominálních mammárních komplexů je inervovaná pomocí kožních větví *n. iliohypogastrius cranialis*, *n. iliohypogastrius caudalis*, *n. ilioinguinalis* a *n. genitofemoralis*. U inkuinálních mammárních komplexů je inervace zajištěna díky *r. mammarius* z *r. cutaneus distalis nervi pudendi*. [3]

## HISTOLOGIE MLÉČNÉ ŽLÁZY

Mléčná žláza je tvořena dvěma složkami, a to vazivovou a sekreční, jinak také nazývanou jako žlázový parenchym. Vazivová složka vytváří pouzdro kolem samostatných mléčných jednotek. Z tohoto pouzdra odstupují do nitra žlázy přepážky, jejichž tloušťka se může lišit. Tyto struktury se označují jako stroma mléčné žlázy. Součástí stromatu je i tuková tkáň vytvářející okrsky. [1]

Sekreční část je tvořena alveoly, jinak také nazývaná mléčnými aciny, a tubuly. Společně tvoří tyto struktury tzv. žlázové lalůčky. Uspořádání a velikosti jednotlivých lalůček se mění v závislosti na hormonální aktivitě.

Alveoly dále pokračují systémem žlázových vývodů, tzv. *ductus lactiferi*. Ty, které leží uvnitř lalůček, jsou označovány jako intralobulární. Vně lalůček dochází k jejich spojení v interlobulární vývody. Stěna intralobulárních i interlobulárních vývodů je tvořena jednovrstevným kubickým epitelem a pojivovou tkání, jejíž součástí jsou kolagenní, elastická vlákna a myoepitelové buňky. Větší interlobulární vývody jsou vystlány dvouvrstevným a následně cylindrickým epitelem.

Poměr vazivové složky a složky sekreční se mění v závislosti na hormonální aktivitě. Lze tak pozorovat rozdíly mezi juvenilní mléčnou žlázou, mléčnou žlázou v graviditě, žlázou v regresi a žlázou v involuci.

## IMUNOHISTOCHEMIE ZDRAVÉ MLÉČNÉ ŽLÁZY

U fen jsme schopni rozlišit epitelální luminální buňky, jejichž funkce je zejména ochranná a dále sekreční a buňky bazální/myoepitelální. Rozlišení těchto dvou skupin buněk může být provedeno pomocí imunohistochemie za pomoci protilátek proti cytokeratinu (CK).[6] U psů jsou exprimovány ve zdravé mléčné žláze tyto znaky CK7, CK8, CK18, CK19 pro epitelální luminální buňky a CK5, CK6, CK14, CK17, aktin hladké svaloviny (SMA), calponin, vimentin a p63 pro buňky bazální/myoepitelální.[2] [6], [7]



## MAMMOGENEZE (VÝVOJ MLÉČNÉ ŽLÁZY)

Mléčná žláza se vyvíjí u jedinců jednak prenatalně, a to nezávisle na pohlaví a dále pak postnatálně. Během prenatalního vývoje dochází ke vzniku dvou ventrálně umístěným hřebenům ektodermálního původu. Pod těmito mléčnými lištami, jež probíhají souběžně s *linea alba*, se nachází specializované oblasti mezodermu. Ektodermové buňky vytvářejí takzvaný placode (destičkovité zesílení ektodermálního epitelu). Z těchto struktur nakonec dochází k finální formaci v mléčnou žlázu. Pod ektodermálními buňkami se nachází buňky mezodermu. Epiteliální buňky prorůstají do mezodermu a vytváří tak základní strukturu mléčné žlázy.

Postnatální vývoj je již vázaný na samičí pohlaví a je soustředěn na období během puberty a následně během gravidity. Vliv na rozvinutí plně funkčního orgánu mají pohlavní hormony, zejména progesteron a prolaktin.

Juvenilní mléčná žláza, označovaná jako *mamma non lactus*, je pozorována u samic, u kterých ještě neproběhla gravidita. Tato žláza je tvořena zejm. vazivovou složkou s tukovou tkání. Žlázové vývody ještě nejsou zcela luminizované a jsou také málo rozvětvené. Sekreční složka není vytvořena vůbec nebo pouze částečně.

Pro gravidní mléčnou žlázu je typické postupné zvětšování žlázového parenchymu a vývodné části. Dochází k proliferaci mlékovodů, jejich větvení a diferenciaci sekrečních struktur, které vytváří charakteristické uspořádání ve formě acinů. Dále dochází k redukci vazivové části na septa, vzniku alveolů a tubulů, jež vytváří lalůčky. Ty jsou vystlány epitelem nasedajícím na bazální membránu. Mezi těmito dvěma strukturami jsou umístěny buňky hladké svaloviny. V poslední fázi gravidity se v epitelových buňkách začínají hromadit tukové kapénky.

Během laktace dochází k masivnímu rozvoji sekrečního parenchymu. Septa již nejsou úplná a jednotlivé žlázové lalůčky jsou tvořeny dilatovanými aciny a tubuly, které jsou v těsném kontaktu. Podle stádia sekrece se v alveolech liší výška sekrečního epitelu nasedajícího na bazální membránu, a to od buněk nízkých kubických až po cylindrické. Tyto buňky obsahují velké množství granulí s proteinovým sekretem. Vyprazdňování sekretu napomáhají buňky hladké svaloviny, jež mají hvězdicovitý tvar a jsou nepravidelně rozmístěny v bazální membráně.

Po ukončení laktačního období dochází ke zmenšení acinů a tubulů a zvětšuje se objem vazivového stromatu. Struktura mléčné žlázy v regresi však již není shodná s juvenilní mléčnou žlázou.

Ve stáří dochází ke stejnému procesu jako během regrese po laktaci, avšak tento děj je již ireverzibilní. Vazivové stroma zcela převažuje nad vytrácejícím se sekrečním oddílem.

## HORMONÁLNÍ ŘÍZENÍ

Po narození jsou vyvinuty pouze velké mléčné kanály vystlané dvojitou vrstvou epitelových buněk společně s jednou vrstvou myoepiteliálních buněk, spojující struk s mezenchymální tkání. Ze stěny těchto kanálů vyčnívají tzv. koncové pupeny. Před prvním háráním dochází působením estrogenu, produkovaném vaječníky, k buněčné proliferaci na terminálních koncích mléčných vývodů, konkrétně jsou tyto vývody lemované vícevrstevným epitelem.

K dalšímu rozvoji mléčné žlázy dochází působením progesteronu během diestru a březosti. Postupně jsou rozvinuty kanálky, laloky a alveoly (tzv. lobuloalveolární jednotka). Následně dochází k dalšímu rozvoji vlivem prolaktinu, kdy jsou presekretorní alveolární buňky diferencovány v buňky sekreční alveolární. Díky tomu získává mléčná žláza charakter sekreční tubuloalveolární žlázy. Okolo 10. dne po porodu dochází k regresi alveolárních struktur, která je ukončena kolem 40. dne po porodu.

Za sekreční činnosti mléčné žlázy je zodpovědný prolaktin, peptidický hormon produkovaný adenohypofýzou. Jeho sekrece se zvyšuje během březosti a v období po porodu. K útlumu sekrece dochází díky hormonu dopaminu – hormonu inhibujícímu prolaktin, který je produkován hypotalamem.

### III. TUMORY MLÉČNÉ ŽLÁZY

Tumory mléčné žlázy jsou heterogenní skupinou nádorů a jsou nejčastějším onkologickým onemocněním u fen.[1], [2], [8]–[10] [11] Představují 25-50% všech popsáných tumorů a více než 82% tumorů pohlavního aparátu fen.[12], [13] 50% až 80% novotvarů je maligních.[12], [14] Obvykle tento problém postihuje starší nekastrované samice nebo samice, u kterých byla kastrace provedena ve vyšším věku. Vzhledem k závažnosti tohoto problému ve veterinární medicíně, je značné úsilí soustředěno na řešení problematiky tumorů mléčné žlázy.[11]

#### FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ROZVOJ TUMORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY

Vliv na rozvoj těchto novotvarů může mít jednak věk jedince a působení pohlavních hormonů. Existují však další faktory, jako například plemeno, typ krmiva nebo rozvoj obezity, které mohou zvyšovat riziko vzniku tumorů mléčné žlázy.[6]

#### VĚK

---

Nádory mléčné žlázy lze nejčastěji pozorovat u starších fen, obvykle mezi 7. až 13. rokem života.[6], [15]. V potaz je však nutné brát i velikost plemene. U jedinců velkých plemen lze pozorovat výskyt neoplazií mléčné žlázy v nižším věku, než u psů malých plemen. Vzácně lze pozorovat výskyt novotvarů mléčné žlázy před druhým rokem života.[16], [17] Ve studii Sorenmo et al. (2009) bylo zjištěno, že benigní nádory mléčné žlázy se vyskytovaly u jedinců, kteří byli mladší (průměrně 7-9 let), zatímco maligní nádory se vyskytovaly u fen, jenž dosahovaly průměrně stáří 9-11let.[18] Ve studii Lorenzová et al. (2010) byl průměrný věk pacientů trpících maligní lézí 10,1 let. Věk pacientů, kterým byla diagnostikována benigní léze, byl 8,9 let.[19]

#### PLEMENO

---

Tumory mléčné žlázy jsou častěji popisovány u menších plemen.[6], [9] Mezi plemena u nichž lze pozorovat zvýšený výskyt novotvarů na mléčné žláze lze řadit např. pudly, kokršpaněly, maltézské psíky a shih-tzu.[9], [20] Nicméně i u některých psů větších plemen lze

sledovat zvýšené riziko vzniku tumorů mléčné žlázy (anglický setr, německý ovčák, boxer, pointer).[6], [21]

## **KRMIVO A OBEZITA**

---

Obecně lze říci, že obezita může být jedním z predispozičních faktorů pro vznik novotvarů na mléčné žláze. Studie Alenza et al. (1998) prokázala souvislost mezi vznikem tumoru mléčné žlázy a obézními pacienty, kteří byli krmeni dietou s vysokým obsahem červeného masa.[22] Obezita může ovlivnit sekreci některých hormonů a cytokinů, což může mít za následek nepříznivý efekt na zdraví pacientů i ve formě rozvoje onkologických onemocnění, např. tumorů mléčné žlázy. Např. vyšší exprese aromatázy (enzym významný pro syntézu samčích a samičích pohlavních hormonů) byla pozorována u pacientů trpících obezitou. Tento údaj koreloval se zvýšenou expresí hormonálních receptorů karcinomu mléčné žlázy. Toto zjištění tak podporuje tvrzení, že obezita má přímý vliv na biologickou aktivitu nádorů mléčné žlázy.[23] Obezita přímo souvisí s navýšením hodnot globulinů v krvi, které mají schopnost vázat pohlavní hormony a kromě toho také s vyšší hodnotou sérových estrogenů.[24] Vyšší riziko rozvoje tumorů mléčné žlázy představuje nadváha v mladém věku jedince (9-12 měsíců). Toto riziko je spojeno s vyšší hladinou pohlavních hormonů endogenního původu v organismu.[25] Toto téma je však stále lépe prozkoumáno v humánní medicíně, kde jsou obezita, nadměrný příjem živočišných tuků a bílkovin řazeny mezi rizikové faktory rozvoje nádorů prsu u žen.

## **HORMONÁLNÍ PŮSOBENÍ**

---

Na rozvoj tumorů mléčné žlázy mají vliv zejména estrogen a gestageny, mezi které řadíme i progesteron. Bylo zjištěno, že estrogen má jak karcinogenní, tak i genotoxické účinky. Karcinogenní účinky souvisí zejm. s výskytem estrogenových receptorů v buňkách mléčné žlázy. Publikace Sorenmo (2003) uvádí, že většina nádorů mléčné žlázy exprimuje estrogenové receptory. Benigní léze jsou pozitivní pro estrogenové receptory, stejně jako dobře diferencované karcinomy. Oproti tomu málo diferencované a anaplastické léze jsou pro estrogenové receptory spíše negativní.[26] Estrogenové receptory se nachází v cytoplazmě buňky. Během jejich aktivace dochází k vazbě mezi ligandem a receptorem, což má za následek translokaci do buněčného jádra, kde jsou vázány na estrogen responzivní jednotku. Jedná se o specifickou oblast DNA, která má schopnost ovlivňovat transkripci genů. Tyto receptory mají klíčovou roli v proliferaci buněk a stejně tak v tumorogenezi mléčné žlázy.[27] Tento fakt má

významnou roli v prevenci rozvoje tumorů mléčné žlázy.[11] Genotoxický efekt estrogenů v narušení struktury estrogenových receptorů pomocí zvýšené mutace a aberace chromozomů těchto buněčných molekul.[28]

Také progesteron má vliv na rozvoj tumorů mléčné žlázy a to zejm. nárůstem produkce růstových hormonů a jejich receptorů. Sorenmo et al. (2013) popisuje potencionální vliv růstových hormonů na karcinogenezi, podobně, jako je tomu v humánní medicíně.[29]

Prolaktin je peptidický hormon, jenž má společně s pohlavními hormony vliv na fyziologický vývoj mléčné žlázy. Je produkován mamotroponími buňkami v adenohipofýze. Zjištění výrazné elevace koncentrace prolaktinu v séru a tkáních u pacientů s maligní neoplazií mléčné žlázy zjišťovala studie Queiroga et al. (2005).[30]

Hormonální terapie může mít nepříznivý vliv na rozvoj tumorů mléčné žlázy u fen.[29] Jedinci, kterým byly v nízkém věku aplikovány progestiny, mají vyšší riziko rozvoje nádorů mléčné žlázy.[31]

Řada studií se věnuje problematice ovariektomie, která, je-li provedena v časném věku pacienta, může významně snížit riziko rozvoje neoplazií mléčné žlázy.[32] Při provedení ovariektomie před prvním háráním klesá riziko až o 99,5%, při tomto chirurgickém zákroku provedeném po prvním nebo druhém hárání je toto riziko snižováno na 92% a 74%. [6] Studie však nepřináší informace o tom, že by březost nebo falešná březost měli statisticky významný vliv na rozvoj nádorů mléčné žlázy.[6], [25]

## GENETICKÉ FAKTORY

---

Kromě somatických mutací může být příčinou nádorového bujení i mutace v genech, jenž jsou zodpovědné za buněčnou proliferaci a diferenciaci, nebo za změny v genech imunitního systému.[33] Studie Schafer at al. (1998) se věnovala rozvoji tumoru mléčné žlázy u fen ve dvou liniích beagů. Zjištěna byla souvislost mezi liniemi a různým rizikem vzniku nádorů mléčné žlázy.[34] V humánní medicíně je běžně zjišťována mutace v genech BRCA1 a BRCA2. Byla zjištěna korelace mezi mutací těchto genů a vyšším rizikem rozvoje rakovinu prsu. BRCA1 je tumor-supresorový gen jenž kóduje jaderný fosfoprotein, jeho role spočívá v regulaci buněčného cyklu. Ztráta exprese tohoto genu je odpovědná za zvýšenou apoptózu buněk, abnormální buněčný cyklus a tumorogenezi.[35] Bylo zjištěno, že 5-10% nádorů prsu u žen je způsobeno právě díky mutacím genu BRCA1 a BRCA2.[36] Studie Rivera a von Euler

(2011) zjistila, že přítomnost mutací BRCA1 a BRCA2 u anglických špringršpanělů zvyšuje riziko rozvoje tumorů mléčné žlázy.[37]

Jako další slibnou metodou v diagnostice tumorů mléčné žlázy se může jevit stanovení miRNA. Jedná se malé molekuly, které se podílejí na genové expresi a současné studie naznačují, že v různých stadiích rakoviny, lze sledovat různé profily exprese miRNA. Lze se tedy domnívat, že miRNA působí jako onkogen nebo nádor supresorový gen. Některý tyto markery mohou mít diagnostický potenciál, u jiných spočívá jejich úloha zejména v otázce stanovení prognózy (např. mi-R-148a).[35]

## ZEMĚPISNÁ POLOHA

---

Kromě těchto faktorů, má vliv na incidenci tumorů mléčné žlázy také zeměpisná poloha. Tato skutečnost přímo souvisí s provedením ovariectomie a věkem, ve kterém je tento chirurgický zákrok proveden. V zemích, ve kterých ovariectomie není běžně prováděným chirurgickým zákrokem, může být incidence tumorů mléčné žlázy 50 až 70%.[6]

## KLINICKÁ MANIFESTACE

Tumory mléčné žlázy se mohou objevovat jako jednotlivé uzlíčkovité struktury v oblasti mléčné žlázy, často však dochází k rozvoji multipních lézí a to až v 70%.[1], [2], [6] Nejčastěji postiženou částí mléčné žlázy je oblast kaudálních abdominálních (M4) a inguinálních (M5) struků.[1] Velikost neoplastických lézí na mléčné žlázy se může značně lišit, a to od mikroskopických struktur, až po několik centimetrů velké útvary. Útvary velké do 1cm bývají s větší pravděpodobností benigní, oproti tomu útvary, jejichž velikost přesahuje 3-5cm mohou mít častěji charakter maligních neoplazií.[6] Nicméně i útvary menší velikosti mohou být maligní a proto je nutné vždy provést histopatologické vyšetření. Tumory mléčné žlázy mohou být volně pohyblivé nebo fixované k podkladu. [2]



Obrázek 2 Pacient trpící nádory mléčné žlázy v oblasti M5 bilat. (MVDr. J. Lorenzová, Ph.D., oddělení chirurgie, KCHPK, VFU Brno)



Obrázek 3 Pacient trpící nádorem mléčné žlázy v oblasti M5 sin. (MVDr. J. Lorenzová, Ph.D., oddělení chirurgie, KCHPK, VFU Brno)

Většina útvarů nepůsobí pacientům systémové obtíže. Při rozvoji metastáz, může pacient trpět kachexií, slabostí, regionální lymfadenomegálií, příp. dýchacími obtížemi. [2], [6]

Zvláštní skupinou jsou pacienti trpící inflamatorním karcinomem mléčné žlázy. Klinická manifestace se v tomto případě projevuje masivní zánětlivou reakcí v oblasti léze,

kteřá se může prezentovat otokem, zarudnutím, bolestivostí a systémovými klinickými příznaky. Může tak být pro klinika relativně těžko rozpoznatelná od akutní mastitidy.[2], [38] [39]

## DIAGNOSTIKA

V roce 2011 byl publikován konsensus pro diagnostiku, stanovení prognózy a léčbu tumorů mléčné žlázy.[40] V roce 2013 byl revidován a aktualizován a v současné době platí tento konsensus za zlatý standard v oblasti diagnostiky, léčby a určení prognózy.[11] Poslední verze týkající se především benigních smíšených novotvarů, karcinomů smíšených tumorů a karcinosarkomů byl publikován v roce 2017.[41]

## ANAMNÉZA A KLINICKÉ VYŠETŘENÍ

Během zjišťování anamnézy je nutné zaměřit se na detaily týkající se pohlavního cyklu, především na informaci o hárání (pravidelnost, doba, ve které proběhlo poslední hárání), informace o porodech, falešných březostech, kastraci nebo hormonální léčbě. Dále musí být zjištěny informace o samotných novotvarech na mléčné žláze (doba, ve které se léze objevily, rychlost růstu, četnost).

Klinické vyšetření má nezastupitelný význam v diagnostice tumorů mléčné žlázy. Důležité je zhodnocení celkové zdravotního stavu a dále je důraz kladen na pečlivou adspekci a palpaci mléčné žlázy a regionálních mízních uzlin.[11] V případě, že je mléčná žláza zduřelá, zarudlá a bolestivá, může dojít k záměně s probíhajícím zánětlivým onemocněním kůže nebo mastitidou.[39] Byl navržen anatomo-patologický protokol, který umožňuje shrnutí informací o pacientovi, do jednotného formátu pro standardizaci postupu a shromažďování dat.[42] Tumory mléčné žlázy mají schopnost metastazovat nejčastěji do mízních uzlin a do plic, dále pak do jater, sleziny a kostí. Výskyt těchto metastáz se pohybuje v rozmezí 6% až 38%. [21] Studie Schafer at al. (1998) uvádí, že u 44% až 50% žen s maligním tumorem mléčné žlázy byla zjištěna metastáze v mízních uzlinách. U žen s karcinosarkomem byly zjištěny metastázy v 80% až 100% případů. V případě zjištění přítomnosti solidního a tubulárního karcinomu byla tato hodnota nižší (45% až 57%), při adenokarcinomu byly metastázy v mízních uzlinách zjištěny jen u 11% až 35% pacientů.[34]





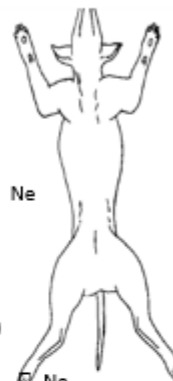
Tumory mléčné žlázy u fen  
Klinika chorob psů a koček  
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Jméno pacienta: Věk: Druh: Plemeno:  
Číslo klinického protokolu: Hmotnost:  
Majitel: Adresa:  
Ošetřující lékař:

Hárání:  Pravidelné  Nepravidelné  Nehodnoceno  
Porod:  Žádný  Jeden  Dva  Tři  jiný počet ( )  
Falešná březost:  Ano  Ne  
Abortus:  Ano  Ne Kastrace:  Ano ( / / )  Ne  
Změna dělohy (výtok):  Ano ( / / )  Ne

Krytí bez následující březosti:  Ano ( / / )  Ne  
Hormonální léčba:  Antikoncepční  Abortivní  Ne  
(Typ: ( / / ) Datum ( / / ) Opakování? ( )

Rozvoj lézí: Kdy? ( / / )  
Předchozí léze:  Ano  Ne Lokalizace ( ) Chirurgické řešení:  Ano  Ne  
Jiná předchozí léčba:  Ano  Ne Jaká? ( )



Protokol pro anatomohistopatologické vyšetření tumorů mléčné žlázy u fen

Klinické vyšetření

Typ vzorku:  Biopsie  Nodulektomie  Parciální mastektomie  Totální mastektomie  
Velikost léze: 1)    x    x    cm 2)    x    x    cm 3)    x    x    cm  
Hmotnost: 1)    g 2)    g 3)    g

Mléčná žláza	Konzistence	Tumor	Bradavka	Sekrece	Ulcerace	Postižení mizních uzlin	Charakteristika léze	Cytologické vyšetření
M1 s./d.	Tuhý	Volný	Beze změn	Ano	Ano	<del>Óvulár</del>	Solidní léze	<del>Neprůvoditelná</del>
M2 s./d.	Měkký	Fixovaný ke kůži	Ulcerace	Ne	Ne	<del>Óvulár</del>	Cystická léze	Maligní
M3 s./d.	Elastický	Fixovaný ke svalům	Bez sekrece			<del>Óvulár</del>	Infiltrace	Benigní
M4 s./d.			Ekzém			Jiné		Neprůvoditelná
M5 s./d.			Chybí					Neprůvoditelná

Komentář:

Datum: / /

Ošetřující lékař

Obrázek 4 Protokol pro anatomohistopatologické vyšetření tumorů mléčné žlázy

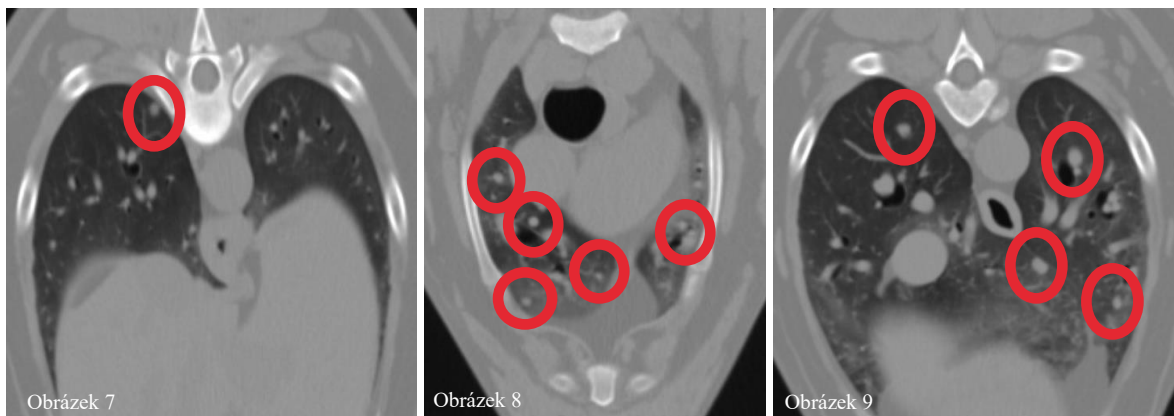
## RENTGENOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ A VÝPOČETNÍ TOMOGRAFIE (CT)

Pro zjištění přítomnosti vzdálených metastáz je doporučeno provedení rentgenologického vyšetření dutiny hrudní a to ve třech projekcích (ventrodorsální, levá laterolaterální a pravá laterolaterální).[43] Díky tomuto vyšetření lze spolehlivě detekovat noduly v plicním parenchymu velikosti 7-9mm.[44] Až u 15% pacientů trpících karcinomem mléčné žlázy, jsou v době počáteční prezentace detekovány metastázy v plicním parenchymu pomocí radiografie.[43]



Obrázek 5 a 6 LL a DV projekce hrudníku zobrazující multipní nodulární léze opacity měkké tkáně. Nález odpovídá metastázám neoplazie mléčné žlázy u psa. (oddělení zobrazovacích metod KCHP, VFU Brno)

Výpočetní tomografie je citlivější pro detekci metastáz v plicním poli.[43] Studie Nemanic et al. (2006) prokázala, že až 90% plicních metastáz zjištěných během CT vyšetření nebylo detekováno z rentgenologického vyšetření hrudníku.[44] Výpočetní tomografie je schopna detekovat noduly o velikosti 1mm.[44] Pouze na základě CT vyšetření však nelze určit, zda se jedná o léze benigní nebo maligní. Zjištění mnohočetných lézí bývá spojeno s maligním procesem.[43] Vždy je proto vhodné doplnit toto vyšetření o biopsii změněné tkáně a její další analýzu.[43]



Obrázek 7, 8 a 9 CT snímky hrudníku v transverzální rovině zobrazující multipní nodulární léze denzity měkké tkáně různé velikosti. Nález odpovídá metastázám v plicním. (oddělení zobrazovacích metod KCHP, VFU Brno)

## ULTRASONOGRAFICKÉ VYŠETŘENÍ

Ultrasonografické vyšetření tumorů mléčné žlázy není ve veterinární medicíně rutinně prováděno. Hodnocení struktury a krvení tumorů mléčné žlázy se věnovala studie Nyman et al. (2006).[45] Také studie Soler et al. (2016a) porovnávala US charakteristiku u benigních a maligních tumorů mléčné žlázy pomocí B-módu a Dopplerovských technik. U benigních nádorů mléčné žlázy studie prokázala homogenní echotexturu, zatímco maligní nádory vykazovaly heterogenní echotexturu.[46], [47] Heterogenní echotextura může být způsobena výskytem otoků, cyst, nekrózy.[46]

Studie Feliciano et al. (2017) hodnotila karcinomy mléčné žlázy u psů pomocí kontrastní ultrasonografie (CEUS) a zjistili významné rozdíly v časech perfúze mezi jednotlivými subtypy karcinomů. [48] Studie Gasser et al. (2018) byla zaměřena na význam použití ultrasonografických metod při hodnocení benigních lézí. Některé hodnoty získané během vyšetření v B-módu se lišily u jednotlivých typů benigních lézí, například tubulární šířka v podélném řezu byla u adenomu nižší, než u fibroadenomu a některých hyperplastických procesů.[49]

ARFI Elastografie se studií Feliciano et al. (2017) ukázala, jako velmi účinnou metodou pro přesné rozlišení benigních a maligních tumorů mléčné žlázy. Tento způsob vyšetření umožňuje vyhodnotit tuhost tkání, díky které lze určit rychlost tzv. smykové vlny. Byla popsána až 95% přesnost pro detekci malignity tumorů mléčné žlázy.[48]

Studie Gasser et al. (2018) neprokázala významnost v sledovaných US parametrech mezi benigními neoplaziiemi a neneoplastickými lézemi mléčné žlázy. Ultrasonografické vyšetření v tomto případě nepomohlo k diferenciaci benigních lézí.[49]

Ultrasonografické vyšetření mizních uzlin je využíváno jak pro detekci abnormálních mizních uzlin v reálném čase, tak pro zobrazení mizních uzlin během jejich biopsie. B-mód a Dopplerovské metody jsou běžně využívány pro detekci těchto struktur. Diagnosticky významná kritéria jsou poměr krátké a dlouhé osy v mizní uzlině, dále krvení mizní uzliny a index rezistence a pulzatility.[50] Mizní uzliny fyziologické velikosti může být v některých případech obtížné detekovat pro jejich echogenní podobnost s okolními tkáněmi (např. axilární a inguinální mizní uzliny). Oproti reaktivně změněným mizním uzlinám, které mívají obvykle oválný tvar. Metastatické a primární maligní mizní uzliny mají tvar kulovitý s poměrem krátké a dlouhé osy větší než 0,7.[50], [51]

## **LYMFOSCINTIGRAFIE**

---

V humánní medicíně je lymfoscintigrafie technika využívaná pro přesné zhodnocení postižení superficiálních i hlubokých sentinelových mizních uzlin, např. u žen s rakovinou prsu.[52] Ve veterinární medicíně není tento diagnostický postup rutinně prováděn. Studie Pereira et al. (2008) věnovaná standartizaci protokolu s použitím <sup>99m</sup>Tc-dextranu během scintigrafického vyšetření poskytuje užitečné informace týkající se lymfatické drenáže mléčné žlázy u pacientů s neoplastickými změnami na mléčné žláze. V této studii bylo zjištěno, že až u 60% pacientů, kterým byla aplikovaná kontrastní látka do hrudní kaudální mléčné žlázy (M2) byla lymfatická drenáž zajištěna jak axilární mizní uzlinou, tak mizní uzlinou sternální.[52] Toto zjištění má extrémní klinický význam, zejm. v souvislosti s šířením metastáz, určením prognózy a s volbou ideálního terapeutického postupu. [5]

## **INFRAČERVENÁ TERMOGRAFIE**

---

Jedná se o pomocnou, neinvazivní a levnou zobrazovací metodu, jejímž principem je měření povrchové teploty tělesa.[53] Podobně jako scintigrafie, je tento způsob diagnostiky tumorů mléčné žlázy prozatím méně využívanou metodou. Studie Pavelski et al. (2015) je věnována stanovení termografii zdravé mléčné žlázy a mléčné žlázy s probíhajícím onkologickým onemocněním. Studie prokázala signifikantně vyšší teplotu mléčné žlázy v oblasti M4 a M5 u fen bez tumorů mléčné žlázy a dále byla zjištěna významně vyšší teplota

u žen s nádorem mléčné žlázy, bez ohledu na velikost neoplastických lézí. Studie nicméně uvádí nutnost dalšího zkoumání, zejm. jedná-li se zapojení této diagnostické metody do běžných diagnostických postupů.[54]

## TNM SYSTÉM

Zjištění a klasifikace stádia tumorů mléčné žlázy je založena na hodnocení velikosti tumoru (T), postižení regionálních mízních uzlin (N) a přítomnosti vzdálených metastáz (M).[11] Tato klasifikace byla navržena Světovou zdravotnickou organizací v roce 1980. Prošla několika modifikacemi a v současné době je používána varianta z roku 2014.[41] Pacienti, kteří trpí vyšším stádiem onemocnění, mají horší prognózu.[6]

## VELIKOST NÁDORU

Velikost nádorů je významným prognostickým faktorem.[41] Je kategorizován na T1 (nádory menší než 3cm), T2 (nádory o velikosti 3-5cm) a kategorie T3 (nádory větší než 5cm).[6], [55] Studie uvádí, že nádory menší než 1cm mají signifikantně lepší prognózu, než nádoru větší než 3cm a 5cm.[2], [6], [11] Studie Ferreira et al. (2009) prokázala přímou souvislost mezi velikostí novotvaru a jeho biologickou aktivitou. U útvarů větších než 5cm byla prokázána nižší exprese progesteronových receptorů, kratší doba přežití a zvýšené riziko tvorby vzdálených metastáz.[56]

Stádium	Velikost tumoru (T)	Postižení mízních uzliny (N)	Přítomnost vzdálených metastáz (M)
I	T1 < 3cm	N0	M0
II	T2 3-5cm	N0	M0
III	T3 > 5cm	N0	M0
IV	Jakékoliv T	N1 (pozitivní)	M0
V	Jakékoliv T	Jakékoliv N	M1 (přítomnost metastáz)

Tabulka 1 TNM systém (Cassali et al. (2014) [10]

## POSTIŽENÍ MÍZNÍCH UZLIN

---

Postižení mizních uzlin lze zjišťovat několika způsoby (palpací, lymfangiografií, cytologickým vyšetřením, histopatologickým vyšetřením). V případě zjištění přítomnosti metastáz v regionálních mizních uzlinách byla prokázána kratší doba přežití oproti pacientům, u kterých tyto metastázy zjištěny nebyly.[21], [41], [57], [58] Mizní uzliny histologicky negativní na přítomnost metastáz bývají označovány jako N0. Mizní uzliny, u kterých naopak byla histopatologicky zjištěna infiltrace neoplastickými buňkami souvisejícími s tumory mléčné žlázy jsou označovány jako N1.[2]

## PŘÍTOMNOST VZDÁLENÝCH METASTÁZ

---

Obdobně jako hodnocení stavu regionálních mizních uzlin je klasifikována i přítomnost vzdálených metastáz. Při nezjištění vzdálených metastáz je nález označen jako M0. V případě detekce metastáz v jiných orgánech než mizních uzlinách je pacient klasifikován jako M1.[6]

## TENKOJEHELNÁ BIOPSIE TUMORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY

Tenkojehelná biopsie je málo invazivní, levný a nebolestivý zákrok, který může díky následné cytologické analýze přinést důležité informace o tumoru mléčné žlázy. Samotná biopsie je prováděna pomocí sterilní jehly (22G) a stříkačky (3-10ml). Z každé léze by měly být pořízeny aspirací alespoň 1-4 vzorky. Sklíčka jsou sušena na vzduchu a následně obarvena May-Grünwald Giemsa barvením.

## CYTOLOGIE TUMORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY

Cytologické vyšetření bioptátů získaných tenkojehelnou biopsií lézí na mléčné žláze může klinikovi pomoci v určení diagnózy a zvolení správného léčebného postupu. Jedná se málo invazivní a levnou metodu, která může přinést informace o tom, zda se jedná o zánětlivý proces, tumor mléčné žlázy nebo jiný neoplastický proces, např. mastocytom, lipom, hemangiosarkom.[1], [59], [60] Dřívější studie uvádějí menší přesnost při provedení cytologického vyšetření ve srovnání s histopatologií.[61] Důvodem může být heterogenní skladba nádorů mléčné žlázy. Nicméně nové studie ukazují zpřesnění cytologického vyšetření a výsledky korelují s histopatologickými diagnózami. [62] Studie Simon et al. (2009) prokázala shodu cytologických výsledků a výsledků histopatologické vyšetření v rámci rozlišení

maligních a benigních tumorů mléčné žlázy, a to až v 93% vyšetřovaných vzorků. 81% vyšetřovaných vzorků se shodovalo s histopatologicky určeným typem nádoru. Byla zjištěna 96% senzitivita a specifita pro určení malignity.[62] Tyto výsledky korelují s dalšími studii, ve kterých byly zjištěny podobné hodnoty jak pro korelaci mezi cytologickým a histopatologickým vyšetřením, tak pro stanovení specifity a senzitivity. Například studie Sontas et al. (2012) uvádí po vyloučení neadekvátních vzorků, senzitivitu 96,2%, specifitu 100% a v rámci určení malignity přesnost až 96,5%.[63] K podobným závěrům dospěli i autoři studie Cassali et al., kde shoda v určení malignity mezi cytologickým a histopatologickým vyšetřením byla 92,9% při vyřazení neprůkazných vzorků.[64] Tato studie také prokázala shodu cytologických nálezů tumorů mléčné žlázy u žen s rakovinou prsu u žen. To umožňuje využití obdobných kritérií pro určení malignity.

Studie Allen et al. (1986) měla za cíl identifikaci relevantních cytologických kritérií pro maligní tumory mléčné žlázy. Mezi hodnocená kritéria byla zařazena anizokaryóza a karyomegalie, nukleární/cytoplazmatická distorze, vysoký poměr N:C (>1:2), abnormální shluky chromatinu, abnormální tvar jadérek, parachromatin clearing, makronukleoly (>2), variabilní počet jadérek (>3), proměnlivá velikost chromatinu. Jako signifikantní se ukázala karyomegalie, makronukleoly, abnormální shluky chromatinu a variabilní velikost chromatinu.[65]

Další metoda užitečná pro popis geometrických struktur buněk je počítačová morfometrie. Tento způsob diagnostiky je založen na analýze kvantitativních jaderných parametrů, jako jsou plocha, průměr a obvod, intratumorální hustoty cév a tzv. argyrophilic nucleolar organizer region. Obvykle je tato metoda využívána při hodnocení histopatologických preparátů, ovšem studie Simeonov et al. (2006) se zabývala využitím počítačové morfometrie při méně invazivním odběru vzorků, který představuje tenkojehelná biopsie. Hodnocenými parametry byl jaderný průměr ( $\mu\text{m}$ ) a jaderná kruhovitost. V každém vzorku bylo vyhodnoceno nejméně 100 jader. Byl zjištěn signifikantní rozdíl v kulatosti jader kontrolní skupiny, pacientů s adenomem a pacientů s karcinomem. U pacientů trpících maligním procesem měly buňky výrazně větší a nepravidelnější jádra, než jak tomu bylo u pacientů v kontrolní skupině, nebo u pacientů s benigním novotvarem mléčné žlázy. Výsledkem této studie bylo zjištění, že metodu lze aplikovat jak při hodnocení histopatologických vzorků, tak při cytologickém vyšetření.[66]

Ve studii Simon et al. (2009) mezi kritéria malignity patří anizokaryóza, karyomegálie, jaderné formování, makronukleoly. V případě, že epitelové buňky a klastry ve vyšetřovaném vzorku jeví známky pleomorfismu a více než 20% epitelových buněk vykazovalo víc než 3 jaderná kritéria malignity, byl tento vzorek vyhodnocen jako maligní. V případě, že méně než 5% buněk splňovalo kritéria malignity a současně byly epitelové buňky a klastry monomorfní, byl vzorek považován za benigní.[62]

V roce 2018 byla publikována studie Dolka et al. (2018) jejímž cílem bylo zhodnocení přesnosti cytologického vyšetření s využitím Robinsonova klasifikačního systému ve srovnání s histopatologickým vyšetřením tumorů mléčné žlázy. Robinsonova kritéria pro cytologický grading nádoru prsu byla publikována v roce 1994 a v humánní medicíně je tento systém využíván zejm. z důvodu vysoké korelace s histopatologickým nálezem.[67] [68] Robinsonova klasifikace hodnotí jednak disociaci buněk, velikost buněk a jejich uniformitu, jaderné okraje, chromatin a jádérka. Studie Dolka et al. (2018) prokázala přínos využití Robinsonova grading systému pro cytologickou analýzu tumorů mléčné žlázy u žen. Prokázala, že cytologická charakteristika v modifikovaném Robinsonově klasifikačním systému korelovala s histopatologickým nálezem a stupeň 2 a 3 znamenal horší prognózu a kratší dobu přežití.



## KLASIFIKACE TUMORŮ A DYSPLAZIÍ MLÉČNÉ ŽLÁZY

<p><b>1. Hyperplazie / Dysplazie</b></p> <p>Duktektázie Lobulární hyperplazie (adenóza)     Pravidelná     Se sekreční aktivitou     S fibrózou     Atypická</p> <p>Epitelióza Papilomatóza Fibroadematózní změny Gynekomastie</p> <p><b>2. Benigní neoplazie</b></p> <p>Adenom - jednoduchý Intraduktální papilární adenom Duktální adenom     Duktální adenom s dlaždicovou diferenciací Fibroadenom Myoepiteliom Komplexní adenom (adenomyoepiteliom) Benigní smíšený nádor</p> <p><b>3. Maligní epiteliální neoplazie</b></p> <p>Karcinom - in situ Karcinom - jednoduchý     a. Tubulární     b. Tubo-papilární     c. Cysticko-papilární     d. Kribriformní</p> <p>Karcinom - invazivní mikropapilární typ Karcinom - solidní Komedokarcinom Karcinom - anaplastický Karcinom vznikající u komplexního adenomu / smíšeného nádoru Karcinom a maligní myoepiteliom Karcinom - smíšený typ Duktální karcinom Intraduktální papilární karcinom</p>	<p><b>4. Maligní epiteliální neoplazie - speciální typy</b></p> <p>Squamocelulární karcinom Adenosquamózní karcinom Mucinózní karcinom „Lipid rich“ (sekreční) karcinom Vřeteno-buněčný karcinom     Maligní myoepiteliom     Squamocelulární karcinom - vřeteno-buněčná varianta     Karcinom - vřeteno-buněčná varianta Inflamatorní karcinom</p> <p><b>5. Maligní mezenchymální neoplazie</b></p> <p>Osteosarkom Chondrosarkom Fibrosarkom Hemangiosarkom Ostatní sarkomy</p> <p><b>6. Karcinosarkom - maligní smíšené tumory mléčné žlázy</b></p> <p><b>7. Neoplazie bradavky</b></p> <p>Adenom Karcinom Karcinom s epidermální infiltrací („Paget-like disease“)</p> <p><b>8. Hyperplazie / dysplazie bradavky</b></p> <p>Melanóza kůže bradavky</p>
--	---

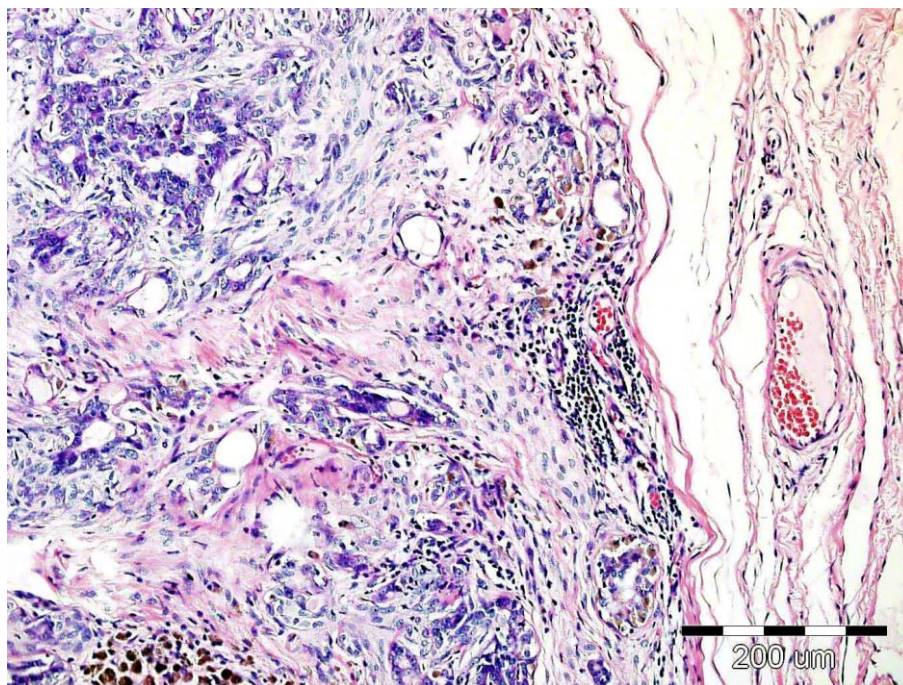
Tabulka 2 WHO klasifikace tumorů a dysplazií mléčné žlázy u psů (Goldschmidt et al. (2011))

Stejně jako u celé řady jiných onkologických onemocnění, je pro určení adekvátní terapie a prognózy nezbytné správné zařazení neoplazie. K tomuto účelu jsou v současné době využívány metody zejména histopatologické a imunohistochemické. Vývoj klasifikace tumorů

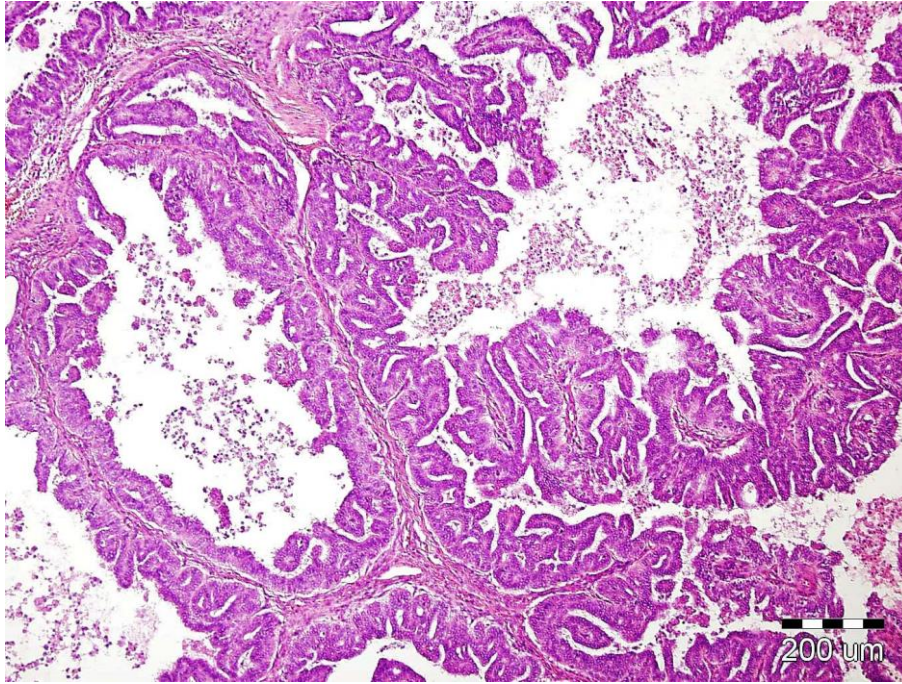
mléčné žlázy prošel dlouholetým vývojem. V roce 1974 Světová zdravotnická organizace (WHO) zveřejnila první publikaci “International Histological Classification of Tumours of Domestic Animals,“. Tato klasifikace byla založena na morfoloické charakteristice maligních neoplazií mléčné žlázy. Upravené znění této klasifikace bylo publikováno v roce 1999. V roce 2011 byla kolektivem autorů Goldschmidt et al. zveřejněna publikace „Classification and Grading of Canine Mammary Tumors“, porovnávající dvě předchozí klasifikace a současně byla doplněna o nové poznatky a několik nových subtypů tumorů mléčné žlázy.[69]

## GRADING TUMORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY

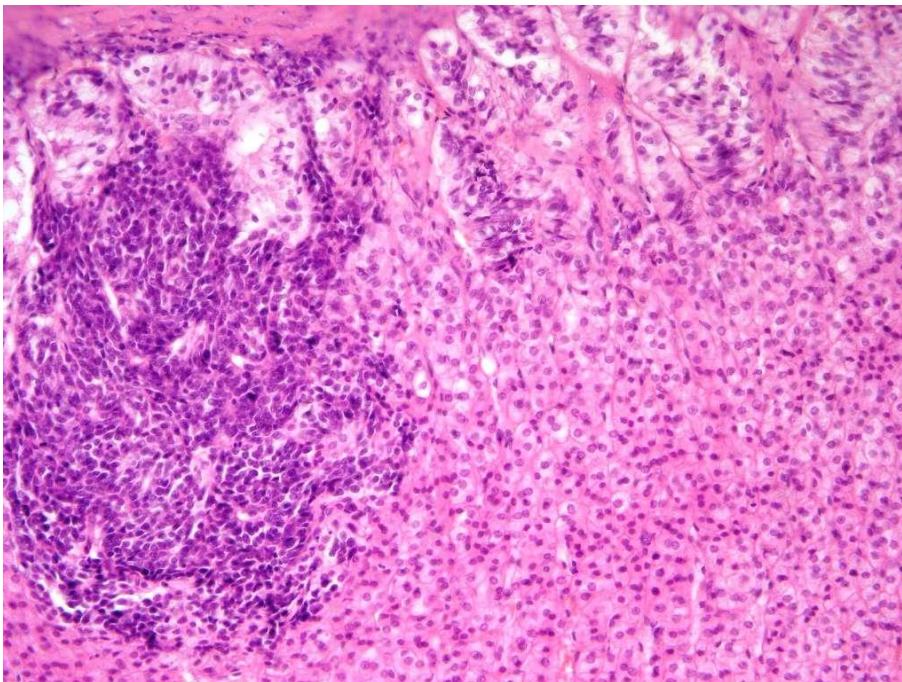
Určení stupně malignity je významným prognostickým faktorem. K tomuto účelu je v humánní medicíně využíván modifikovaný systém Ellston a Ellis, který byl modifikovaný pro veterinární použití.[70] Tento systém posuzuje tři morfoloická kritéria (jaderný pleomorfismus, počty mitóz a formaci tubulů). V nedávné době byl publikován systém pro hodnocení stupně malignity u psů (tzv. metoda Peňa).[71] Určení stupně malignity a současně správné zařazení histopatologického subtypu umožňuje lépe předpovědět biologické chování nádoru mléčné žlázy, což má nezastupitelný klinický význam pro pacienty.[6]



Obrázek 10 Komplexní adenom mléčné žlázy. Ohraničená neoplastická proliferace složená z dobře diferencovaných luminálních epiteliálních buněk a z buněk myoepiteliálních. V okraji přítomen mírný lymfoplasmocytární zánětlivý infiltrát. Zvětšeno 200x, barveno HE (MVDr. B. Putnová, Ústav patologické morfologie, VFU Brno)



Obrázek 11 Tubulopapilární karcinom mléčné žlázy, grade I-II. Neoplastické buňky proliferují ve formě tubulů a papil, fibrovaskulární stroma je zastoupeno minimálně. Jsou přítomny buněčné atypie a četné mitotické figury, zvětšeno 100x, barveno HE (MVDr. B. Putnová, Ústav patologické morfologie, VFU Brno)



Obrázek 12 Metastáza karcinomu mléčné žlázy v kůře nadledviny. V levé části snímku je zachycena proliferace drobných níže diferencovaných epiteliálních buněk, které infiltrují okolní tkáň. Jsou patrné buněčné atypie. Zvětšeno 200x, barveno HE (MVDr. B. Putnová, Ústav patologické morfologie, VFU Brno)

## ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ PRO HISTOPATOLOGICKOU ANALÝZU

Vzorky pro histopatologickou analýzu jsou standardně fixovány ve formaldehydu a během 24 hodin by měly být odeslány do laboratoře společně s anatomopatologickým protokolem pro další zpracování a zpětnou identifikaci vzorků. Doba fixace by neměla trvat déle než 48 hodin. Objem použitého roztoku by měl být nejméně desíťnásobkem velikosti odebraného vzorku. Vyšetřovaná tkáň by měla být následně umístěna v ethanolu o koncentraci 70%. [11], [42] Z léze o velikosti 3-5cm je ideální zajištění třech fragmentů, u lézí větších než 5cm fragmentů pět. Velikost fragmentu je 1,5 x 1,5 x 0,5 cm. Preferovaná oblast léze pro další vyšetření je okraj (laterální, superficiální a hluboký), naopak nekrotická místa by pro další analýzu měla být vyloučena. Během histopatologického vyšetření je patologem posouzeno z ekonomických důvodů přibližně 12% okraje excize, proto lze podezřelá místa excize označit pomocí inkoustu. Standardizace těchto postupů má nezastupitelný význam zejm. v oblasti výzkumu. [11]

Společně s lézí je vhodné zasílat pro další vyšetření i sentinelové mízní uzliny. Jako takové jsou označeny právě ty mízní uzliny, které představují první lymfatickou uzlinu, která přijímá lymfu z primárního nádoru. Jejich normální vzhled a velikost nevyklučují přítomnost metastáz. V případě, že je velikost shluku abnormálních buněk větší než 2mm, jedná se o makrometastázy. Shluky velikosti 0,2mm až 2mm jsou považovány za mikrometastázy. V situaci, kdy jsou shluky postižených buněk menší než 0,2mm jedná se o izolované rakovinné buňky. [11] Zjištění onkologického procesu v mízních uzlinách má pro pacienta význam jak z hlediska prognózy, tak z hlediska další – adjuvantní terapie. Vzhledem k rozdílné lymfatické drenáži u fen trpících tumory mléčné žlázy, je nezbytná jejich identifikace. K tomuto účelu mohou dopomoci některé vitální markery, jako je například Patent Blue V (PB), autogenní hemosiderin nebo methylenová modř. [11], [72], [73]

## IMUNOFENOTYPIZACE A BIOMARKERY

Stanovení fenotypu na základě detekce povrchových znaků, tzv. markerů, umožňuje patologům tumor typizovat a klinikovi určit přesnější informace týkající se prognózy pacienta a možnosti léčby. Neoplastické markery jsou ve většině případů standardní produkty metabolismu v buňkách, u kterých však došlo k maligní transformaci a v důsledku toho

k navýšení produkce těchto povrchových znaků.[11] Obvykle se jedná o specifické proteiny, jež jsou produkovány nádorovými buňky (tzv. antigeny spojené s nádorem). V případě, že u onkologických pacientů lze tyto antigeny detekovat v séru, moči nebo jiných tkáních, jsou označovány jako biomarkery. V humánní medicíně, hrají nezastupitelnou roli v diagnostice a sledování neoplastického procesu.[35]

## BIOMARKERY PROLIFERACE A APOPTÓZY

Mezi biomarkery proliferace a apoptózy neoplastických buněk je řazen Ki-67, protein p53 a PCNA.

Nejčastěji zjišťovaný biomarker u fen s tumory mléčné žlázy jaderný non-histonový protein Ki-67, jehož nejvyšší exprese je v M fázi buněčného cyklu, detekovatelný je však i ve fázi G1, ve větší míře pak ve fázích S a G2. Ve srovnání se stanovením mitotického indexu během histopatologického vyšetření, je imunohistochemické barvení Ki-67 přesnější. Tento marker lze detekovat jak v séru, tak např. ze vzorků, získaných tenkojehelnou biopsií, což může mít pozitivní vliv z hlediska včasné diagnostiky.[35], [74]

p53 je jaderný proteinový produkt genu TP53 (tumor protein p53). Jeho funkce spočívá v kontrole buněčného cyklu a apoptózy. Během neoplastického procesu dochází k jeho kumulaci v postižené tkáni a v důsledku genové mutace dochází k jeho působení jako onkogenu. U pacientů trpících tumor mléčné žlázy s vysokou expresí p53 je korelace s kratší dobou přežití.[35]

PCNA je také jaderný protein, jenž se podílí na procesu reparace DNA, transkripce RNA, sestavování chromatinu a kontrole buněčného cyklu. Jedná se o protein, který je exprimován ve fázi syntézy DNA (fáze S). Detekovat jej lze ale už i ve fázi G1 a následně ve fázích G2 a M. Ve veterinární medicíně byla zjištěna vyšší exprese PCNA u tumorů, které vykazovaly vyšší stupeň malignity. Kromě toho byla však zjištěna exprese tohoto proteinu i v sousedních tkáních, což by mohlo souviset s rozvojem časných mikrometastáz a vyšší agresivitou tumoru. Z výše uvedeného vyplývá, že vysoká exprese PCNA koreluje s horší prognózou pro pacienta.[35], [75]

## ADHEZNÍ MOLEKULY

---

Další skupinou biomarkerů, jsou ty, které indukují metastatický potenciál primární neoplastické léze. O tom, jak je nádor schopen rozvíjet metastázy rozhoduje schopnost buněčné adheze k sobě nebo k okolním tkáním. Mezi adhezní molekuly, jež za tuto vlastnost odpovídají, patří např. kadheriny, CEA nebo CA 15-3 glykoproteiny.

Kadheriny tvoří skupinu transmembránových proteinů, důležitých pro mezibuněčné spoje v normální struktuře tkání.[35] Jedním z nejčastěji vyšetřovaných je E-kadherin (epiteliální kadherin). Funkce této molekuly spočívá v buněčné adhezi v epitelu.[76] Na rozdíl od výše popsaných biomarkerů, ztráta nebo snížená exprese těchto adhezivních molekul souvisí s nižší diferenciací neoplastických buněk, rozvojem metastáz v sentinelových mízních uzlinách a s celkovou invazivitou, což má pro pacienta nepříznivý efekt.[11]. E-kadherin je nejčastěji vázán na  $\beta$ -katenin, bývají tak obvykle stanovovány společně.

Podobně jako kadheriny, i karcinoembryonální antigen (CEA) je řazen mezi glykoproteiny, které se podílí na mezibuněčné adhezi. V humánní medicíně se jedná o standardně využívaný biomarker společně s CA 15-3.[77] CEA je produktem buněk ektodermálního původu, a jeho funkce je významná zejm. v embryonálním vývoji jedince. Nicméně ve veterinární medicíně není stanovení tohoto markeru v současné době rutinně prováděno.[35]

Výše zmíněný glykoprotein CA 15-3, jinak také označovaný jako Mucin 1 nebo MUC 1 je molekula jenž zvyšuje metastatický a invazivní potenciál nádorových buněk svými antiadhezivními vlastnostmi, které umožňují oddělení maligních buněk od tumoru.[35], [78] Studie Manuali et al. (2012) uvádí souvislost s vyšší koncentrací CA 15-3 v séru u pacientů trpících karcinomem mléčné žlázy grade II a III než u pacientů s méně agresivním typem karcinomu.[79]

## ANGIOGENNÍ FAKTORY

---

Současně s rozvojem neoplastické léze, dochází i k rozvoji nových krevních cév, které zajišťují nutriční zásobování tumoru. Na neovaskularizaci mají vliv angiogenní faktory, které lze detekovat a využívat je tak, jako další biomarkery. Významnými jsou v tomto ohledu vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR), von Willebrandův faktor (vWF) nebo CD31.

VEGF jsou signální proteiny zodpovědné za vznik nových cév a současně také zvyšuje jejich permeabilitu, čímž umožňuje migraci buněk, které jsou díky tomu schopné tvořit vzdálené metastázy. Elevace sérové hladiny VEGF koreluje s horší prognózou u pacientů trpících tumorem mléčné žlázy, protože ke zvýšení hladiny dochází v případech maligních lézí s infiltračním růstem.[35]

Obdobně dochází k vyšší expresi EGFR u pacientů s agresivnějším typem tumoru mléčné žlázy. Tento transmembránový tyrozinkinázový receptor je lokalizován v buněčné membráně maligních lézí, kde působí jako promotor migrace a invaze rakovinových buněk.[35], [80] Tato skutečnost je důležitá zejm. v souvislosti s možnostmi léčby použitím specifických inhibitorů tyrozinkinázových receptorů.

Stejně tak HER-2, další ze skupiny transmembránových proteinů, má vliv na regulaci růstu nádoru, jeho diferenciaci a celkovou prognózu. Je exprimován až u 30% pacientů trpících nádorem mléčné žlázy.[35]

## **HORMONÁLNÍ RECEPTORY**

---

Vyšetřovanými znaky mohou být dále například estrogenový receptor alfa (ER- $\alpha$ ) a progesteronový recept (PR).[11] Jedná se o vůbec nejvíce prostudované biomarkery ve veterinární medicíně.[35] Společně s prolaktinem a růstovými hormony, se podílejí na vývoji a růstu mléčné žlázy. Kromě toho však mohou mít vliv na rozvoj neoplastických procesů v této tkáni. V humánní medicíně jsou pro nádory prsu kromě histopatologické analýzy využívány i tyto imunohistochemické metody pro stanovení ideální léčby pro pacientky trpící nádorem prsu. Nádory jsou tak děleny na několik molekulárních subtypů, a to: luminální A (ER+, HER-2-), luminální B (ER+, HER-2+), nadměrně exprimující HER-2 (ER-, HER-2+), bazální (ER-, HER-2-) a normální (vše negativní).[81] Stejně tak ve veterinární medicíně byl prokázán význam těchto markerů.

## **ZÁNĚTLIVÉ MARKERY**

---

Kromě hormonálních receptorů lze sledovat např. zánětlivé markery. Studie Lavallo et al. (2009) se věnovala zvýšené expresi COX-2. COX-2 je inducibilní izoenzym, který katalyzuje tvorbu prostaglandinů z kyseliny arachidonové. V normálních buňkách obvykle chybí, ale může být indukován růstovými faktory, zánětlivou reakcí nádorovými promotory a onkogeny.[82] Tento izoenzym stimuluje nádorovou proliferaci, narušuje apoptózu

neoplastických buněk a podporuje rozvoj metastáz, invazivitu a zánětlivou reakci tumoru.[83] Také bylo zjištěno, že hustota mikrocév souvisí s vyšší expresí COX-2 a současně s horší prognózou.[84]

Studie Gama et al. (2008) se věnovala sledování znaků ER- $\alpha$  a PR, human EGFR 2 (HER2), cytokeratin 5 (CK5), p63 a P-kadherin. HER2 je transmembránový protein patřící do skupiny receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR) s tyrosin-kinázovou aktivitou a je významným mediátorem buněčné proliferace a diferenciaci. Ve studii byly stanoveny molekulární fenotypy, přičemž u některých (luminální A subfenotyp) byl prokázán nízký stupeň proliferace a lepší prognóza, naproti tomu u jiných (bazální subfenotyp) byla zjištěna vysoká míra proliferace a s tím spojená horší prognóza.[85] Ve studii Im et al. (2014) se autoři věnovali kromě HER2, ER a p63 také stanovení cytokeratinu 14,  $\alpha$ -SMA a Vimentinu. Tato studie prokázala, že nejběžnějším subtypem karcinomu mléčné žlázy u žen byl luminální A subtyp (44%) a pouze 3,1% tumorů bylo zařazeno jako normální subtyp. Dále bylo v této studii zjištěno, že nádory patřící do bazálního subtypu, vykazovaly vyšší grade a vysokou míru invazivity do mizních uzlin. Luminální A nádory měly obvykle nízký stupeň malignity a nižší míru invazivity do lymfatické tkáně. Výsledky této studie tak korelují s výsledky studie provedené v humánní medicíně.[86]

## TERAPIE

### CHIRURGICKÉ ŘEŠENÍ

V mnoha případech je chirurgické řešení nádorů mléčné žlázy u žen léčbou první volby, vyjma inflamatorního karcinomu.[11], [87] Kompletní chirurgická excize, bez zjištění vzdálených metastáz a postižení mizních uzlin, je tak pro pacienta léčebnou metodou s největší pravděpodobností kompletní remise.[11] I v případě, že je zjištěna přítomnost metastáz, má excizní biopsie svůj význam, zejm. pro zjištění detailnějších histopatologických informací o neoplazii, což může vést ke zlepšení prognózy pacienta zahájením cílené terapie. Existuje více chirurgických možností v odstranění léze mléčné žlázy.[6] Lze rozlišit několik typů chirurgických zákroků proveditelných u pacientů trpících tímto onemocněním, v závislosti na rozsahu extirpované tkáně.



Lumpektomie (nodulektomie) může být využita u pacientů, u nichž nádor není větší než 0,5cm a současně se jedná o solidní povrchový útvar, neadherující k hlubším strukturám. Současně je nutné dodržet chirurgický okraj zdravé tkáně alespoň 1cm.[11]



Obrázek 13 sutura po provedené nodulektomii u pacienta s tumorem mléčné žlázy ((MVDr. J. Lorenzová, Ph.D., oddělení chirurgie, KCHPK, VFU Brno)

Jednoduchá mastektomie zahrnuje odstranění patologické léze současně s jednou mléčnou jednotkou. Tento chirurgický postup je indikován pro léze o velikosti do 3cm a v případě, že je ovlivněna pouze jedna přilehající mléčná jednotka.

Pokud dojde k postižení lymfatických cest v dané oblasti je doporučeno provedení regionální mastektomie, jinak také nazývané parciální unilaterální mastektomie. V takovém případě dochází k odstranění jak útvaru, tak několika sousedních mléčných jednotek. Může se jednat jak o zákrok unilaterální, tak bilaterální.

Lze provést také totální unilaterální nebo bilaterální mastektomii zahrnující excizi všech mléčných jednotek umístěných na jedné straně. Lze také kombinovat unilaterální parciální mastektomii s unilaterální totální mastektomií. Provedení regionální a totální mastektomie je doporučeno zejm. u pacientů, u nichž byla zjištěna přítomnost většího počtu nodulárních lézí na mléčné žláze i z důvodů provedení jednoho chirurgického zákroku.[11] Řada autorů se věnuje hodnocení míry chirurgického zákroku na dobu přežití a rozvoje recidiv. Starší studie uvádí, že rozsah zákroku je dán lokalizací tumoru a množstvím patomorfologických změn.[88] Některé studie naopak uvádějí, že není rozdíl v rozvoji recidiv v závislosti na provedeném chirurgickém zákroku, např. Studie MacEwen et al. (1985) hodnotila rozvoj recidiv u pacientů, jimž byla provedena totální mastektomie ve srovnání se skupinou pacientů, jimž byla provedena jednoduchá mastektomie. Nebyl prokázán rozdíl v délce doby přežití a výskytu recidiv u pacientů, zařazených v těchto dvou skupinách.[89] Kolektiv autorů Stratmann et al. (2008)

prokázal radikální chirurgický přístup jako nejlepší variantu terapie tumorů mléčné žlázy pro snížení rizika vzniku metastáz a recidiv, bez ohledu na počet a velikosti lézí.[90]



Obrázek 14 a 15 Operační rána a sutura u pacientů s tumorom mléčné žlázy, kterým byla provedena unilaterální mastektomie ((MVDr. J. Lorenzová, Ph.D., oddělení chirurgie, KCHPK, VFU Brno)



Obrázek 16 a 17 Sutura u pacientů s tumorom mléčné žlázy, kterým byla provedena bilaterální mastektomie ((MVDr. J. Lorenzová, Ph.D., oddělení chirurgie, KCHPK, VFU Brno)

Mnoho autorů se nicméně shoduje na tom, že zásadním faktorem pro rozvoj vzdálených metastáz a vznik recidiv má však včasná diagnostika a rychlé provedení terapie. [11], [12], [91] Odstranění postižené tkáně se širokým okrajem je dostačující a pro pacienta nemá v danou chvíli radikální chirurgie větší benefit.[12] Přesto, že agresivní chirurgický přístup může zabránit rozvoji nových lézí na mléčné žláze jejich kompletním odstraněním, může takový postup přinášet také riziko perioperačních komplikací.[11] Studie Lorenzová (2012) nicméně

prokázala ve své studii, že radikální bilaterální mastektomie nemá nepříznivý vliv na délku období hojení a výskyt komplikací v místech operačních ran ve srovnání s pacienty, u nichž nebyl takto radikální chirurgický přístup proveden.[4]

Vždy je nutná kontrola sentinelových mizních uzlin (jejich tvar, konzistence, objem). V případě postižení mléčné žlázy v abdominální a inguinální oblasti by inguinální mizní uzliny měli být odstraněny. Stejně tak axilární mizní uzliny v případě postižení kraniálních mléčných žláz. Studie Szczubial et al. (2011) prokázala signifikantní rozdíl v přežitelnosti a recidivy nádoru mléčné žlázy ve skupině pacientů s metastatickým postižením mizních uzlin oproti skupině bez metastáz.[58]

## **SYSTÉMOVÁ ADJUVANTNÍ TERAPIE**

---

Za systémovou adjuvantní terapii lze považovat konvenční vysoce dávkovanou chemoterapii (HDC), metronomickou nízkou dávkovanou chemoterapii (MC), hormonální léčbu, aplikaci tyrosin kinázových inhibitorů (TKI) nebo aplikaci COX-2 inhibitorů.

Chemoterapie by měla být terapií první volby při zvýšeném riziku vzniku metastáz nebo rozvoji lokální recidivy, některými autory byly navrženy protokoly pro pacienty trpícími tumory mléčné žlázy grade II a III.[41] Cílem adjuvantní chemoterapie u pacientů je prodloužení období remise, snížení rizika vzniku metastáz a prodloužení délky života pacienta s přijatelnou kvalitou života. V případě neoadjuvantní terapie využívané preoperativně je cílem zvýšení lokální kontroly a snížení rizika vzniku metastáz v perioperativním období a současně zhodnocení odpovědi makroskopického tumoru na chemoterapii. Jestliže je tumor mléčné žlázy neoperabilní nebo se pacient nachází v terminálním stádiu onkologického procesu, lze zvolit chemoterapii paliativní, jejímž cílem je udržení stabilního onemocnění a současně zvýšení kvality života.

V humánní medicíně je chemoterapie běžně používaným léčebným postupem pro snížení rizika vzniku metastáz. I ve veterinární medicíně se studiem adjuvantní chemoterapie zabývá řada autorů, Karayannopoulou et al. (2001) ve své práci hodnotí efekt chemoterapeutického protokolu obsahujícím 5-fluorouracil v dávce 150mg/m<sup>2</sup> v kombinaci s cyklofosfamidem v dávce 100mg/m<sup>2</sup> každý týden, u pacientů trpících karcinosarkomem a komplexním karcinomem mléčné žlázy. Tento protokol byl pacienty dobře tolerován

a současně přinesl pozitivní efekt na celkovou dobu přežití a dobu bez známek onemocnění.[92] Ve stejném roce byla publikována práce Simon et al. (2001) zabývající se stanovením 50% inhibiční koncentrace doxorubicinu, cis- a karboplatiny *in vitro* u třech typů tumorů mléčné žlázy (adenokarcinom, solidní karcinom a maligní smíšené nádory). Nejlepších výsledků 50% inhibiční koncentrace dosahoval doxorubicin, ta byla výrazně nižší než při použití karboplatiny nebo cisplatin.[93] Použití antracyklinových činidel, mezi které je řazen doxorubicin a epirubicin, je z dlouhodobého hlediska považováno za jedno z nejužitečnějších cytostatik využívaných v adjuvantní léčbě rakoviny prsu u žen.[94] Publikace Sorenmo (2003) uvádí význam použití doxorubicinu nebo epirubicinu u pacientů, u nichž došlo k rozvoji plicních metastáz tumoru mléčné žlázy. Aplikace doxorubicinu se jeví jako nejefektivnější cytostatikum v léčbě. [26] Stejná studie navrhuje pokyny pro léčbu maligních tumorů mléčné žlázy u žen v závislosti na velikosti léze, stádiu onemocnění, histopatologickém typu a diferenciaci nádoru. [26] Práce autorů Simon et al. (2006) se věnovala využití doxorubicinu nebo docetaxelu u pacientů s tumory mléčné žlázy grade II nebo III, u kterých byla provedena chirurgická excize tumoru nebo mastektomie, ať už radikální nebo parciální. Nebyl zjištěn signifikantně významný rozdíl v době bez recidivy, nicméně pacienti léčení adjuvantní chemoterapií měli tendenci k delší dlouhodobé lokální kontrole a celkové době přežití. Častým nežádoucím účinkem použití docetaxelu byla však přítomnost kožních alergických reakcí.[95]



Obrázek 18 Chemoterapie podávaná pacientovi s tumorem mléčné žlázy (MVDr. M. Štěrbová, oddělení vnitřních chorob, KCHPK, VFU Brno)

Cílem publikace Marconato et al. (2008) bylo zjištění příznivého vlivu gemcitabinu na čas lokální recidivy, dobu do vzniku vzdálených metastáz, a dobu celkového přežití u pacientů, u nichž byl proveden chirurgický zákrok a byly zjištěny tumory mléčné žlázy s vysokým rizikem vzniku metastáz.[87] Studie však neprokázala statisticky významný rozdíl mezi vznikem metastáz u pacientů, u nichž byla adjuvantní chemoterapie použita ve srovnání se skupinou pacientů, kteří byli léčeni pouze chirurgicky. Statisticky průkazný byl však rozdíl v celkové době přežití u pacientů, jimž byl aplikován gemcitabin po chirurgickém zákroku, oproti pacientům, kteří byli léčeni pouze mastektomií. Navíc, bylo toto cytostatikum dobře tolerováno a nebyly zjištěny žádné závažné známky gastrotoxicity nebo myelotoxicity.[87] Konsenzus, týkající se tumorů mléčné žlázy u fen publikovaný v roce 2017 uvádí, že pacientům, u kterých byl zjištěn agresivnější histologický typ (invazivní, solidní nebo tubulární mikropapilární) je doporučeno použití adjuvantní chemoterapie, stejně tak pacientům, u kterých byly prokázány regionální a vzdálené metastázy. Kombinované chemoterapeutické protokoly jsou účinnější než protokoly založené na podávání jednoho cytostatika.[41]



Obrázek 19 Chemoterapie podávána pacientovi s tumorem mléčné žlázy (MVDr. M. Štěrbová, oddělení vnitřních chorob, KCHPK, VFU Brno)

## METRONOMICKÁ CHEMOTERAPIE

---

Metronomická chemoterapie je založena na perorálním podávání cytostatik v nízkých dávkách, v pravidelných intervalech. Předpokládá se, že principem této léčby je antiangiogenní a imunomodulační účinek, který má vliv na neoplastické buňky. Benefity, které pro pacienta a majitele vyplývají z tohoto způsobu léčby, zahrnují i nižší cenu, snadný způsob podávání a kratší dobu strávenou v nemocničním prostředí. Použití metronomické chemoterapie je doporučeno u pacientů, u nichž došlo k rozvoji metastáz. Cassali et al. (2017) doporučují protokol založený na podávání cyklofosfamidu.[41] Ten patří mezi alkylační činidla. Mechanismus účinku je založen na narušení syntézy DNA během procesu buněčného dělení. Tento protokol je navržen podáváním cyklofosfamidu v dávce  $15\text{mg}/\text{m}^2/\text{den}$  v kombinaci s karprofenem ( $4,4\text{mg}/\text{kg}/\text{den}$ ) nebo firocoxibem ( $5\text{mg}/\text{m}^2/\text{den}$ ).[41]

## HORMONÁLNÍ LÉČBA

---

V humánní medicíně je použití hormonální léčby u pacientek trpících rakovinou prsu běžně využívaným terapeutickým postupem. K tomuto účelu je aplikován nesteroidní hormon tamoxifen, který snižuje riziko rozvoje recidiv karcinomu prsu a úmrtnost pacientek

způsobenou tímto onemocněním.[96] Mechanismus účinku tamoxifenu je založen na selektivní inhibici estrogenů, váže se na estrogenové receptory v buňce, čímž blokuje jejich účinek. Může být někdy označovaná jako selektivní modulátor receptoru pro estrogen (SERM). Tím je ovlivněn proliferativní vliv estrogenu na neoplastické buňky.[97] Morris et al. (1993) nicméně ve studii popisuje vznik nežádoucích účinků při použití tamoxifenu u nekastrovaných samic hlodavců a psů ve formě pyometry, nebo vaginitidy, a u kastrovaných samic rozvoj pahýlové pyometry.[98] Studie Tavares et al. (2010) zjišťovali přítomnost vedlejších účinků při podávání tamoxifenu u fen po dobu 120 dní v dávce 0,5mg/kg/den nebo 0,8mg/kg/den. Mezi nežádoucí účinky, které se vyskytly u fen léčených tímto přípravkem, byl zjištěn rozvoj otoku vulvy ve všech skupinách léčených pacientů, stejně tak jako purulentní vaginitida. Pyometra byla zjištěna u nekastrovaných fen přibližně 90 dní od začátku léčby a až u 50% psů se rozvinula retinitida.[99] Výsledkem této studie je, že v rámci adjuvantní terapie lze podávat tamoxifen, nicméně je vhodné před zahájením terapie feny vykastrovat, v rámci prevence rozvoje některých nežádoucích účinků.[99]

## INHIBITORY TYROZIN-KINÁZOVÝCH RECEPTORŮ

---

V posledních letech se mnoho studií zabývá využitím imunoterapie v léčbě mnoha onkologických onemocnění, jak v humánní, tak ve veterinární medicíně.[100] Studie Kennedy et al. (2011) se věnovala analýze receptoru pro epidermální růstový faktor, tyrozin-kinázových receptorů a souvisejících receptorů, které ovlivňují onkogenní funkce v humánních epiteliálních novotvarech. Cílem této práce bylo zjištění působení receptoru pro epidermální růstový faktor a vandetanibu, inhibitoru tyrosin-kinázových receptorů (EGFR), receptorů pro vaskulární endoteliální růstový faktor 2 (VEGFR-2) a 150KDa tyrozin-kinázových receptorů vázaných na membránu (RET) na proliferaci, invazivitu a dobu přežití u pacientů s tumorem mléčné žlázy *in vitro*. Bylo zjištěno, že vandetanib narušuje fosforylaci tyrozin-kinázových receptorů a inhibuje fenotypové účinky, vyvolané receptorem pro epidermální růstový faktor, který podporuje maligní fenotyp v buňkách tumorů mléčné žlázy u fen.[101] Publikace Koltai et al. (2018) zjišťovala hladinu tyrosin-kináz a vaskulární endoteliální růstové faktory v buňkách nádorů mléčné žlázy u fen pomocí RT-PCR. Byly zkoumány VEGFR1, VEGFR2, EGFR, ErbB2, PDGFR1, c-KIT a c-MET. Bylo zjištěno, že u pacientů trpících neoplazií mléčné žlázy bylo zastoupení tyrozin kináz a růstových faktorů vyšší, než u zdravých jedinců. Dále, že

agresivnější typy nádoru (grade III) vykazovaly vyšší expresi VEGF, c-MET a c-KIT, což znamená zhoršení prognózy pro pacienta. Méně agresivní léze (grade I) oproti tomu vykazovaly vyšší expresi PDGFR1 a EGFR než léze se stupněm malignity II a III. Výsledky této studie dokazují nadměrnou expresi vaskulárních endoteliálních růstových faktorů a některých tyrozin kináz. Tato skutečnost představuje nové možnosti v terapii tumorů mléčné žlázy použitím inhibitorů tyrozin-kinázových receptorů.[102]

## **COX-2 INHIBITORY**

---

Studie Ren et al. (2018) zjišťovala účinek paclitaxelu na nádorové buňky vyskytující se v tumoru mléčných žláz u fen *in vitro*. Toto cytostatikum, podobně jako decetaxel indukuje apoptózu buněk. Tato publikace přinesla pozitivní výsledky v inhibici proliferace nádorových buněk a zvýšení jejich apoptózy *in vitro*, nicméně je nutné další zkoumání zejm. v klinické aplikaci tohoto cytostatika v rámci adjuvantní léčby tumorů mléčné žlázy u fen.[103]

Použití COX-2 inhibitorů má přínos u pacientů, u nichž byla prokázána silná exprese COX-2 pomocí imunohistochemických metod, zejm. u pacientů s inflamatorním karcinomem u kterých může dojít ke zlepšení klinického stavu. Tento typ nádoru mléčné žlázy je relativně vzácný, nicméně velmi agresivní se slabou odpovědí na konvenční léčbu. Studie Souza et al. (2009) se věnovala srovnání 2 způsobů léčby pacientů s inflamatorním karcinomem mléčné žlázy. U pacientů léčených COX-2 inhibitory byl zjištěn medián doby přežití 185 dní, u 3 pacientů léčených chemoterapeutickým protokolem na základě doxorubicinu, byla střední doba přežití 7 dní. V této studii byl použit piroxikam v dávce 0,3mg/kg per os každých 24 hodin nebo v dávce 0,5mg/kg per os každých 48 hodin.[104] Kromě prodloužení střední doby přežití, je u pacientů léčených piroxikamem pozorováno zmírnění bolestivost, otoku a zarudnutí postižené oblasti. Studie Arenas et al. (2016) hodnotila účinnost a toxicitu firocoxibu v dávce 5mg/kg podaných perorálně každých 24 hodin jako adjuvatního způsobu terapie k předešlému chirurgickému řešení u pacientů, trpících vysoce maligním tumorem mléčné žlázy, ve srovnání s pacienty, kteří byli řešeni pouze chirurgicky nebo byla chirurgie doplněna o následné aplikace mitoxantronu. Výsledkem této studie bylo zjištění, že firocoxib má příznivý vliv na celkovou dobu přežití i délku období bez známek onemocnění.[83] Studie Bakirel et al. (2016) hodnotila efekt využití deracoxibu v potenciaci neoplastické aktivity doxorubicinu v buňkách karcinomu mléčné žlázy u psů. Výsledkem bylo zjištění, že kombinace doxorubicinu a deracoxibu vyvolalo synergii v buněčné linii CMT-U27, dále že byl deracoxib schopen zvýšit inhibici



buněčného cyklu působením doxorubicinu ve fázi G0/G1 a také posílil antiproliferační účinek tohoto antracyklinového činidla. Je nezbytné další zkoumání této problematiky, nicméně lze předpokládat pozitivní přínos při léčbě karcinomu mléčné žlázy u fen za použití kombinace těchto léčiv.[105]

## **PROGNOSTICKÉ FAKTORY TUMORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY**

Mezi faktory, jež mohou ovlivnit délku doby přežívání pacientů trpících tumory mléčné žlázy patří, velikost tumoru mléčné, infiltrace mízních uzlin a rozvoj vzdálených metastáz, rozsah chirurgického zákroku, histopatologická charakteristika tumoru a stanovení imunofenotypu.

## **VLIV KASTRACE NA TUMORY MLÉČNÉ ŽLÁZY**

Už od druhé poloviny minulého století bylo známo, že pohlavní hormony mají vliv na rozvoj tumorů mléčných žláz u fen, a že časná kastrace snižuje rizika rozvoje takovýchto neoplazií.[16], [88], [106] Mnoho autorů popsalo, že sterilizace před prvním háráním má kladný vliv na prevenci rozvoje tumorů mléčné žlázy. Riziko rozvoje neoplastického procesu se v tomto případě snižuje na 0,5% ve srovnání s fenami, u kterých kastrace provedena nebyla.[21], [88] Studie Schneider (1970) uvádí, že riziko vzniku tumoru mléčné žlázy může být až 26% pokud kastrace nebyla provedena do 4. hárání.[15] Misdorp (1988) ve své práci hodnotí efekt ovariektomie a aplikace progesteronu na tumory mléčné žlázy. Zjistil, že aplikace progesteronů nezvyšují riziko rozvoje neoplastických změn na mléčné žláze u fen, aplikace progestinu vedli k časnějšímu výskytu lézí než u fen, zařazených v kontrolní skupině.[31] Publikace Sorenmo et al. (2000) studovala účinek kastrace a věk ve kterém byla kastrace provedena na rozvoj karcinomu mléčné žlázy u fen. Tato studie přinesla zjištění, že feny, kterým byla provedena kastrace současně s provedenou extirpací tumoru mléčné žlázy nebo u kterých byla kastrace provedena dva roky před mastektomií, z důvodu rozvoje neoplastického procesu, měly delší dobu přežívání, než pacienti, u kterých byla provedena chirurgie mléčné žlázy samostatně.[107]

Konsezus z roku 2017 nicméně uvádí, že je vhodné se sterilizaci fen před prvním háráním vyhnout, z důvodů rozvoje patologických procesů, zahrnujících endokrinní poruchy, muskuloskeletální a kloubní změny.[41] Studie Riva et al. (2013) prezentuje výsledky práce,

ve které byli zahrnuti pacienti plemene zlatý retriever kastrování před prvním háráním. U takto časně vykastrovaných fen bylo pozorováno narušení uzavření epifyzární růstové zóny, dysplazie kyčelních kloubů, ruptury předního zkříženého kolenního vazů způsobené hypoestrogenismem.[108] Z toho důvodu je doporučeno provést ovariektomii nebo ovariehysterktomii mezi prvním a druhým háráním. [41]

#### IV. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] N. SLEECKX, H. DE ROOSTER, E. V. KROEZE, C. V. GINNEKEN, a L. V. BRANTEGEM, „Canine Mammary Tumours, an Overview", *Reprod. Domest. Anim.*, roč. 46, č. 6, s. 1112–1131, 2011.
- [2] K. U. SORENMO, R. RASOTTO, V. ZAPPULLI, a M. H. GOLDSCHMIDT, „Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms", *Vet. Pathol.*, roč. 48, č. 1, s. 85–97, led. 2011.
- [3] H. E. KÖNIG, H.-G. HANS-GEORG, a H. BRAGULLA, *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas*. Schattauer Verlag, 2007.
- [4] J. LORENZOVÁ, „Aspekty chirurgické léčby tumorů mléčné žlázy", Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno, 2012.
- [5] M. N. PATSIKAS *et al.*, „The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: a lymphographic study", *Anat. Histol. Embryol.*, roč. 35, č. 4, s. 228–234, srp. 2006.
- [6] D. J. MEUTEN *et al.*, *Tumors in Domestic Animals*, Fifth edition. Ames, Iowa: John Wiley & Sons Inc., 2017, 2017.
- [7] V. BARAK, H. GOIKE, K. W. PANARETAKIS, a R. EINARSSON, „Clinical utility of cytokeratins as tumor markers", *Clin. Biochem.*, roč. 37, č. 7, s. 529–540, čvc. 2004.
- [8] M. FURUYA, M. FUNASAKI, H. TANI, a K. SASAI, „Identification of novel tumour-associated antigens in canine mammary gland tumour", *Vet. Comp. Oncol.*, roč. 13, č. 3, s. 194–202, 2015.
- [9] Y. SALAS, A. MÁRQUEZ, D. DIAZ, a L. ROMERO, „Epidemiological Study of Mammary Tumors in Female Dogs Diagnosed during the Period 2002-2012: A Growing Animal Health Problem", *PLOS ONE*, roč. 10, č. 5, s. e0127381, kvě. 2015.
- [10] A. REZAIE, A. TAVASOLI, A. BAHONAR, a M. MEHRAZMA, „Grading in Canine Mammary Gland Carcinoma", *J. Biol. Sci.*, roč. 9, č. 4, s. 333–338, 2009.
- [11] G. D. CASSALI *et al.*, „Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors - 2013.", *Braz. J. Vet. Pathol.*, roč. 7, č. 2, s. 38–69, 2014.
- [12] C. ANDREW NOVOSAD, „Principles of treatment for mammary gland tumors", *Clin. Tech. Small Anim. Pract.*, roč. 18, č. 2, s. 107–109, kvě. 2003.
- [13] S. ETTINGER a E. FELDMAN, *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Seventh. Philadelphia: Saunders, 2010.
- [14] L. MOE, „Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds.", *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, roč. 57, s. 439–443, 2001.
- [15] R. SCHNEIDER, „Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer", *Cancer*, roč. 26, č. 2, s. 419–426, 1970.
- [16] J. E. MOULTON, D. O. N. Taylor, C. R. Dorn, a A. C. Andersen, „Canine Mammary Tumors", *Pathol. Vet.*, roč. 7, č. 4, s. 289–320, čvc. 1970.
- [17] J. ZATLOUKAL, J. LORENZOVÁ, F. TICHÝ, A. NEČAS, H. KECOVÁ, a P. KOHOUT, „Breed and Age as Risk Factors for Canine Mammary Tumours", *Acta Vet. Brno*, roč. 74, č. 1, s. 103–109, 2005.

- [18] K. U. SORENMO *et al.*, „Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence\*“, *Vet. Comp. Oncol.*, roč. 7, č. 3, s. 162–172, 2009.
- [19] J. LORENZOVÁ, M. CRHA, H. KECOVÁ, L. URBANOVÁ, R. STAVINHOVÁ, a A. NEČAS, „Patient Survival Periods and Death Causes Following Surgical Treatment of Mammary Gland Tumours Depending on Histological Type of Tumour: Retrospective Study of 221 Cases“, *Acta Vet. Brno*, roč. 79, č. 2, s. 289–297, 2010.
- [20] K.-S. IM, I.-H. KIM, N.-H. KIM, H.-Y. LIM, J.-H. KIM, a J.-H. SUR, „Breed-related differences in altered BRCA1 expression, phenotype and subtype in malignant canine mammary tumors“, *Vet. J. Lond. Engl.* 1997, roč. 195, č. 3, s. 366–372, bř. 2013.
- [21] T. YAMAGAMI, T. KOBAYASHI, K. TAKAHASHI, a M. SUGIYAMA, „Prognosis for canine malignant mammary tumors based on TNM and histologic classification“, *J. Vet. Med. Sci.*, roč. 58, č. 11, s. 1079–1083, lis. 1996.
- [22] D. P. ALENZA, G. R. RUTTEMAN, L. PEÑA, A. C. BEYNEN, a P. CUESTA, „Relation between Habitual Diet and Canine Mammary Tumors in a Case-Control Study“, *J. Vet. Intern. Med.*, roč. 12, č. 3, s. 132–139, kvě. 1998.
- [23] H.-Y. LIM *et al.*, „Effects of Obesity and Obesity-Related Molecules on Canine Mammary Gland Tumors“, *Vet. Pathol.*, roč. 52, č. 6, s. 1045–1051, lis. 2015.
- [24] M. P. CLEARY, M. E. GROSSMANN, a A. RAY, „Effect of obesity on breast cancer development“, *Vet. Pathol.*, roč. 47, č. 2, s. 202–213, bř. 2010.
- [25] E. G. SONNENSCHNEIN, L. T. GLICKMAN, M. H. GOLDSCHMIDT, a L. J. MCKEE, „Body Conformation, Diet, and Risk of Breast Cancer in Pet Dogs: A Case-Control Study“, *Am. J. Epidemiol.*, roč. 133, č. 7, s. 694–703, dub. 1991.
- [26] K. SORENMO, „Canine mammary gland tumors“, *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, roč. 33, č. 3, s. 573–596, kvě. 2003.
- [27] H. HUA, H. ZHANG, Q. KONG, a Y. JIANG, „Mechanisms for estrogen receptor expression in human cancer“, *Exp. Hematol. Oncol.*, roč. 7, zář. 2018.
- [28] J. RUSSO a I. H. RUSSO, „The role of estrogen in the initiation of breast cancer“, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, roč. 102, č. 1, s. 89–96, pro. 2006.
- [29] K. U. SORENMO, D. R. WORLEY, a M. GOLDSCHMIDT, „Tumors of the mammary gland“, in *Withrow and MacEwen's Small animal clinical oncology*, 5th vyd., St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier, 2013, s. 538–553.
- [30] F. L. QUEIROGA, M. D. PÉREZ-ALENZA, G. SILVAN, L. PEÑA, C. LOPES, a J. C. ILLERA, „Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer“, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, roč. 94, č. 1–3, s. 181–187, úno. 2005.
- [31] W. MISDORP, „Canine mammary tumours: Protective effect of late ovariectomy and stimulating effect of progestins“, *Vet. Q.*, roč. 10, č. 1, s. 26–33, led. 1988.
- [32] M. D. P. ALENZA, L. PENA, N. DEL CASTILLO, a A. I. NIETO, „Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours“, *J. Small Anim. Pract.*, roč. 41, č. 7, s. 287–291, čvc. 2000.
- [33] R. STAVINHOVÁ, „Oxidativní stres a markery oxidativní a antioxidační kapacity fen s tumorem mléčné žlázy“, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno, 2014.

- [34] K. A. SCHAFER *et al.*, „A canine model of familial mammary gland neoplasia", *Vet. Pathol.*, roč. 35, č. 3, s. 168–177, kvě. 1998.
- [35] I. KASZAK, A. RUSZCZAK, S. KANAFKA, K. KACPRZAK, M. KRÓL, a P. JURKA, „Current biomarkers of canine mammary tumors", *Acta Vet. Scand.*, roč. 60, říj. 2018.
- [36] P. RIVERA *et al.*, „Mammary tumor development in dogs is associated with BRCA1 and BRCA2", *Cancer Res.*, roč. 69, č. 22, s. 8770–8774, lis. 2009.
- [37] P. RIVERA a H. VON EULER, „Molecular biological aspects on canine and human mammary tumors", *Vet. Pathol.*, roč. 48, č. 1, s. 132–146, led. 2011.
- [38] L. MARCONATO *et al.*, „Prognostic factors for dogs with mammary inflammatory carcinoma: 43 cases (2003–2008)", *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, roč. 235, č. 8, s. 967–972, říj. 2009.
- [39] M. D. P. ALENZA, E. TABANERA, a L. PEÑA, „Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995–1999)", *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, roč. 219, č. 8, s. 1110–1114, říj. 2001.
- [40] G. D. CASSALI *et al.*, „Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors.", *Braz. J. Vet. Pathol.*, roč. 4, č. 2, s. 153–180, 2011.
- [41] G. D. CASSALI *et al.*, „Consensus regarding the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors: benign mixed tumors, carcinomas in mixed tumors and carcinosarcomas", 2017.
- [42] E. FERREIRA, G. C. BREGUNCI, F. C. SCHMITT, a G. D. CASSALI, „Protocol for the anatomopathological examination of canine mammary tumors", *Arq. Bras. Med. Veterinária E Zootec.*, roč. 55, č. 1, s. 105–109, úno. 2003.
- [43] C. R. LAMB, J. WHITLOCK, a A. T. L. FOSTER-YEOW, „Prevalence of pulmonary nodules in dogs with malignant neoplasia as determined by CT", *Vet. Radiol. Ultrasound*, roč. 60, č. 3, s. 300–305, 2019.
- [44] S. Nemanic, C. A. London, a E. R. Wisner, „Comparison of Thoracic Radiographs and Single Breath-Hold Helical CT for Detection of Pulmonary Nodules in Dogs with Metastatic Neoplasia", *J. Vet. Intern. Med.*, roč. 20, č. 3, s. 508–515, kvě. 2006.
- [45] H. T. NYMAN, A. T. KRISTENSEN, M. H. LEE, T. MARTINUSSEN, a F. J. MCEVOY, „Characterization of canine superficial tumors using gray-scale b mode, color flow mapping, and spectral doppler ultrasonography—a multivariate study", *Vet. Radiol. Ultrasound*, roč. 47, č. 2, s. 192–198, bře. 2006.
- [46] M. SOLER *et al.*, „Comparison between ultrasonographic findings of benign and malignant canine mammary gland tumours using B-mode, colour Doppler, power Doppler and spectral Doppler", *Res. Vet. Sci.*, roč. 107, s. 141–146, srp. 2016.
- [47] M. A. R. FELICIANO *et al.*, „Accuracy of four ultrasonography techniques in predicting histopathological classification of canine mammary carcinomas", *Vet. Radiol. Ultrasound*, roč. 59, č. 4, s. 444–452, 2018.
- [48] M. A. R. FELICIANO *et al.*, „Ultrasonography methods for predicting malignancy in canine mammary tumors", *PLOS ONE*, roč. 12, č. 5, s. e0178143, kvě. 2017.
- [49] B. GASSER *et al.*, „Ultrasonographic characteristics of benign mammary lesions in bitches", *Vet. Med. (Praha)*, s. 9, 2018.

- [50] H. T. NYMAN a R. T. O'BRIEN, „The Sonographic Evaluation of Lymph Nodes", *Clin. Tech. Small Anim. Pract.*, roč. 22, č. 3, s. 128–137, srp. 2007.
- [51] H. T. NYMAN, A. T. KRISTENSEN, I. M. SKOVGAARD, a F. J. MCEVOY, „Characterization of Normal and Abnormal Canine Superficial Lymph Nodes Using Gray-Scale B-Mode, Color Flow Mapping, Power, and Spectral Doppler Ultrasonography: A Multivariate Study", *Vet. Radiol. Ultrasound*, roč. 46, č. 5, s. 404–410, 2005.
- [52] C. T. PEREIRA, F. L. N. MARQUES, J. WILLIAMS, B. W. D. MARTIN, a P. P. BOMBONATO, „<sup>99m</sup>Tc-labeled dextran for mammary lymphoscintigraphy in dogs", *Vet. Radiol. Ultrasound*, roč. 49, č. 5, s. 487–491, 2008.
- [53] E. Y.-K. NG, „A review of thermography as promising non-invasive detection modality for breast tumor", *Int. J. Therm. Sci.*, roč. 48, č. 5, s. 849–859, kvě. 2009.
- [54] M. PAVELSKI *et al.*, „Infrared Thermography in Dogs with Mammary Tumors and Healthy Dogs", *J. Vet. Intern. Med.*, roč. 29, č. 6, s. 1578–1583, lis. 2015.
- [55] L. N. OWEN, „TNM Classification of Tumours in Domestic Animals". Veterinary Public Health Unit & WHO Collaborating Center for Comparative Oncology, 1980.
- [56] E. FERREIRA, A. C. BERTAGNOLLI, M. F. CAVALCANTI, F. C. SCHMITT, a G. D. CASSALI, „The relationship between tumour size and expression of prognostic markers in benign and malignant canine mammary tumours", *Vet. Comp. Oncol.*, roč. 7, č. 4, s. 230–235, 2009.
- [57] M. R. DE ARAÚJO, L. C. CAMPOS, E. FERREIRA, a G. D. CASSALI, „Quantitation of the Regional Lymph Node Metastatic Burden and Prognosis in Malignant Mammary Tumors of Dogs", *J. Vet. Intern. Med.*, roč. 29, č. 5, s. 1360–1367, 2015.
- [58] M. SZCZUBIAŁ a W. ŁOPUSZYNSKI, „Prognostic value of regional lymph node status in canine mammary carcinomas", *Vet. Comp. Oncol.*, roč. 9, č. 4, s. 296–303, pro. 2011.
- [59] M. M. WELLE, C. R. BLEY, J. HOWARD, a S. RÜFENACHT, „Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment", *Vet. Dermatol.*, roč. 19, č. 6, s. 321–339, pro. 2008.
- [60] A. I. BABA a C. CĂTOI, *Mammary gland tumors*. The Publishing House of the Romanian Academy, 2007.
- [61] G. L. GRIFFITHS, J. H. LUMSDEN, a V. E. VALLI, „Fine needle aspiration cytology and histologic correlation in canine tumors", *Vet. Clin. Pathol.*, roč. 13, č. 1, s. 13–17, 1984.
- [62] D. SIMON, D. SCHOENROCK, I. NOLTE, W. BAUMGÄRTNER, R. BARRON, a R. MISCHKE, „Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome", *Vet. Clin. Pathol.*, roč. 38, č. 4, s. 521–528, 2009.
- [63] B. H. SONTAS, G. Y. ÖZTÜRK, T. F. S. TOYDEMIR, S. S. ARUN, a H. EKICI, „Fine-Needle Aspiration Biopsy of Canine Mammary Gland Tumours: A Comparison Between Cytology and Histopathology", *Reprod. Domest. Anim.*, roč. 47, č. 1, s. 125–130, 2012.
- [64] G. D. CASSALI, H. GOBBI, C. MALM, a F. C. SCHMITT, „Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours", *Cytopathol. Off. J. Br. Soc. Clin. Cytol.*, roč. 18, č. 3, s. 191–196, čer. 2007.

- [65] S. W. ALLEN, K. W. PRASSE, a E. A. MAHAFFEY, „Cytologie Differentiation of Benign from Malignant Canine Mammary Tumors", *Vet. Pathol.*, roč. 23, č. 6, s. 649–655, lis. 1986.
- [66] R. SIMEONOV a G. SIMEONOVA, „Computerized morphometry of mean nuclear diameter and nuclear roundness in canine mammary gland tumors on cytologic smears", *Vet. Clin. Pathol.*, roč. 35, č. 1, s. 88–90, 2006.
- [67] I. A. ROBINSON *et al.*, „Prognostic value of cytological grading of fine-needle aspirates from breast carcinomas", *The Lancet*, roč. 343, č. 8903, s. 947–949, dub. 1994.
- [68] I. DOLKA, M. CZOPOWICZ, A. GRUK-JURKA, A. WOJTKOWSKA, R. SAPIERZYŃSKI, a P. JURKA, „Diagnostic efficacy of smear cytology and Robinson's cytological grading of canine mammary tumors with respect to histopathology, cytomorphometry, metastases and overall survival", *PLOS ONE*, roč. 13, č. 1, s. e0191595, led. 2018.
- [69] M. GOLDSCHMIDT, L. PEÑA, R. RASOTTO, a V. ZAPPULLI, „Classification and Grading of Canine Mammary Tumors", *Vet. Pathol.*, roč. 48, č. 1, s. 117–131, led. 2011.
- [70] M. KARAYANNOPOULOU, E. KALDRYMIDOU, T. C. CONSTANTINIDIS, a A. DESSIRIS, „Histological Grading and Prognosis in Dogs with Mammary Carcinomas: Application of a Human Grading Method", *J. Comp. Pathol.*, roč. 133, č. 4, s. 246–252, lis. 2005.
- [71] L. PEÑA, P. J. D. ANDRÉS, M. CLEMENTE, P. CUESTA, a M. D. PÉREZ-ALENZA, „Prognostic Value of Histological Grading in Noninflammatory Canine Mammary Carcinomas in a Prospective Study With Two-Year Follow-Up: Relationship With Clinical and Histological Characteristics", *Vet. Pathol.*, roč. 50, č. 1, s. 94–105, led. 2013.
- [72] H. E. [UNESP ORSINI BESERRA, F. [UNESP GRANDI, J. FERNANDO IBAÑEZ, N. S. [UNESP ROCHA, a L. G. PORTO PINHEIRO, „Sentinel lymph node identification: The Importance of new methodologies and preclinical studies in dogs", *Braz. J. Vet. Pathol.*, s. 5, bř. 2013.
- [73] M. C. C. SOUZA, R. S. HORTA, A. GIULIANO, M. CASTRO, a G. E. LAVALLE, „Sentinel lymph node biopsy and its inclusion in Veterinary Oncology", *Rev. Port. Cienc. Veterinárias*, roč. 112, č. 603–604, s. 1–10, 2017.
- [74] U. S. CHOI a D. Y. KIM, „Immunocytochemical detection of Ki-67 in Diff-Quik-stained cytological smears of canine mammary gland tumours", *Cytopathol. Off. J. Br. Soc. Clin. Cytol.*, roč. 22, č. 2, s. 115–120, dub. 2011.
- [75] M. I. CARVALHO, I. PIRES, J. PRADA, L. LOBO, a F. L. QUEIROGA, „Ki-67 and PCNA Expression in Canine Mammary Tumors and Adjacent Nonneoplastic Mammary Glands: Prognostic Impact by a Multivariate Survival Analysis", *Vet. Pathol.*, roč. 53, č. 6, s. 1138–1146, 2016.
- [76] A. J. F. MATOS, C. LOPES, J. CARVALHEIRA, M. SANTOS, G. R. RUTTEMAN, a F. GÄRTNER, „E-cadherin expression in canine malignant mammary tumours: relationship to other clinico-pathological variables", *J. Comp. Pathol.*, roč. 134, č. 2–3, s. 182–189, dub. 2006.
- [77] Y. SHAO, X. SUN, Y. HE, C. LIU, a H. LIU, „Elevated Levels of Serum Tumor Markers CEA and CA15-3 Are Prognostic Parameters for Different Molecular Subtypes of Breast Cancer", *PLoS ONE*, roč. 10, č. 7, čvc. 2015.

- [78] M. J. DUFFY, D. EVOY, a E. W. MCDERMOTT, „CA 15-3: Uses and limitation as a biomarker for breast cancer", *Clin. Chim. Acta*, roč. 411, č. 23, s. 1869–1874, pro. 2010.
- [79] E. MANUALI *et al.*, „CA 15–3 cell lines and tissue expression in canine mammary cancer and the correlation between serum levels and tumour histological grade", *BMC Vet. Res.*, roč. 8, s. 86, čer. 2012.
- [80] H. MASUDA, D. ZHANG, C. BARTHOLOMEUSZ, H. DOIHARA, G. N. HORTOBAGYI, a N. T. UENO, „Role of epidermal growth factor receptor in breast cancer", *Breast Cancer Res. Treat.*, roč. 136, č. 2, s. 331–345, lis. 2012.
- [81] T. SORLIE *et al.*, „Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, roč. 100, č. 14, s. 8418–8423, čvc. 2003.
- [82] F. L. QUEIROGA, A. ALVES, I. PIRES, a C. LOPES, „Expression of Cox-1 and Cox-2 in Canine Mammary Tumours", *J. Comp. Pathol.*, roč. 136, č. 2, s. 177–185, úno. 2007.
- [83] C. L. ARENAS, L. PEÑA, J. L. GRANADOS-SOLER, a M. D. PÉREZ-ALENZA, „Adjuvant therapy for highly malignant canine mammary tumours: Cox-2 inhibitor versus chemotherapy: a case-control prospective study.", *Vet. Rec.*, roč. 179, č. 5, s. 125, 2016.
- [84] G. E. LAVALLE, A. C. BERTAGNOLLI, W. L. F. TAVARES, a G. D. CASSALI, „Cox-2 Expression in Canine Mammary Carcinomas: Correlation with Angiogenesis and Overall Survival", *Vet. Pathol.*, roč. 46, č. 6, s. 1275–1280, lis. 2009.
- [85] A. GAMA, A. ALVES, a F. SCHMITT, „Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification", *Virchows Arch. Int. J. Pathol.*, roč. 453, č. 2, s. 123–132, srp. 2008.
- [86] K. S. IM, N. H. KIM, H. Y. LIM, H. W. KIM, J. I. SHIN, a J. H. SUR, „Analysis of a New Histological and Molecular-Based Classification of Canine Mammary Neoplasia", *Vet. Pathol.*, roč. 51, č. 3, s. 549–559, kvě. 2014.
- [87] L. MARCONATO, R. M. LORENZO, F. ABRAMO, A. RATTO, a E. ZINI, „Adjuvant gemcitabine after surgical removal of aggressive malignant mammary tumours in dogs", *Vet. Comp. Oncol.*, roč. 6, č. 2, s. 90–101, čer. 2008.
- [88] H. R. FERGUSON, „Canine mammary gland tumors", *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, roč. 15, č. 3, s. 501–511, kvě. 1985.
- [89] E. G. MACEWEN *et al.*, „Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer", *J. Biol. Response Mod.*, roč. 4, č. 4, s. 418–426, srp. 1985.
- [90] N. STRATMANN, K. FAILING, A. RICHTER, a A. WEHREND, „Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy", *Vet. Surg. VS*, roč. 37, č. 1, s. 82–86, led. 2008.
- [91] U. BUSCH a R. RUDOLPH, „[Mammary carcinoma of the female dog: clinical relevance of the immunohistochemical demonstration of micrometastases in the regional lymph nodes]", *Tierarztl. Prax.*, roč. 23, č. 3, s. 280–286, čer. 1995.
- [92] M. KARAYANNOPOULOU, E. KALDRYMIDOU, T. C. CONSTANTINIDIS, a A. DESSIRIS, „Adjuvant Post-operative Chemotherapy in Bitches with Mammary Cancer", *J. Vet. Med. Ser. A*, roč. 48, č. 2, s. 85–96, 2001.



- [93] D. SIMON, J. W. KNEBEL, W. BAUMGARTNER, M. AUFDERHEIDE, A. MEYER-LINDENBERG, a I. NOLTE, „In vitro efficacy of chemotherapeutics as determined by 50% inhibitory concentrations in cell cultures of mammary gland tumors obtained from dogs", *Am. J. Vet. Res.*, roč. 62, č. 11, s. 1825–1830, lis. 2001.
- [94] G. N. HORTOBAGYI, „Progress in systemic chemotherapy of primary breast cancer: an overview", *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.*, č. 30, s. 72–79, 2001.
- [95] D. SIMON, D. SCHOENROCK, W. BAUMGÄRTNER, a I. NOLTE, „Postoperative Adjuvant Treatment of Invasive Malignant Mammary Gland Tumors in Dogs with Doxorubicin and Docetaxel", *J. Vet. Intern. Med.*, roč. 20, č. 5, s. 1184–1190, 2006.
- [96] L. BERNSTEIN *et al.*, „Tamoxifen Therapy for Breast Cancer and Endometrial Cancer Risk", *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, roč. 91, č. 19, s. 1654–1662, říj. 1999.
- [97] V. C. JORDAN, „Tamoxifen (ICI46,474) as a targeted therapy to treat and prevent breast cancer", *Br. J. Pharmacol.*, roč. 147 Suppl 1, s. S269-276, led. 2006.
- [98] J. S. MORRIS, J. M. DOBSON, a D. E. BOSTOCK, „Use of tamoxifen in the control of canine mammary neoplasia", *Vet. Rec.*, roč. 133, č. 22, s. 539–542, lis. 1993.
- [99] W. L. TAVARES *et al.*, „Evaluation of adverse effects in tamoxifen exposed healthy female dogs", *Acta Vet. Scand.*, roč. 52, č. 1, s. 67, pro. 2010.
- [100] G. RANIERI *et al.*, „Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) in human and pet tumours with special reference to breast cancer: A comparative review", *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, roč. 88, č. 2, s. 293–308, lis. 2013.
- [101] K. C. KENNEDY, B. A. QUROLLO, B. J. ROSE, a D. H. THAMM, „Epidermal growth factor enhances the malignant phenotype in canine mammary carcinoma cell lines", *Vet. Comp. Oncol.*, roč. 9, č. 3, s. 196–206, zář. 2011.
- [102] Z. KOLTAI, B. SZABÓ, J. JAKUS, a P. VAJDOVICH, „Tyrosine kinase expression analyses in canine mammary gland tumors - a pilot study", *Acta Vet. Hung.*, roč. 66, č. 2, s. 294–308, kvě. 2018.
- [103] X. REN, B. ZHAO, H. CHANG, M. XIAO, Y. WU a Y. LIU, „Paclitaxel suppresses proliferation and induces apoptosis through regulation of ROS and the AKT/MAPK signaling pathway in canine mammary gland tumor cells", *Mol. Med. Rep.*, roč. 17, č. 6, s. 8289–8299, čer. 2018.
- [104] C. H. DE M. SOUZA, E. TOLEDO-PIZA, R. AMORIN, A. BARBOZA, a K. M. TOBIAS, „Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: Clinical features, cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment", *Can. Vet. J.*, roč. 50, č. 5, s. 506–510, kvě. 2009.
- [105] T. BAKIREL *et al.*, „Synergistic growth inhibitory effect of deracoxib with doxorubicin against a canine mammary tumor cell line, CMT-U27", *J. Vet. Med. Sci.*, roč. 78, č. 4, s. 657–668, dub. 2016.
- [106] L. MITCHELL, F. A. DE LA IGLESIA, M. S. WENKOFF, A. A. VAN DREUMEL, a G. LUMB, „Mammary tumors in dogs: survey of clinical and pathological characteristics.", *Can. Vet. J.*, roč. 15, č. 5, s. 131–138, kvě. 1974.
- [107] K. U. SORENMO, F. S. SHOFER, a M. H. GOLDSCHMIDT, „Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma", *J. Vet. Intern. Med.*, roč. 14, č. 3, s. 266–270, čer. 2000.

- [108] G. T. DE LA RIVA *et al.*, „Neutering Dogs: Effects on Joint Disorders and Cancers in Golden Retrievers“, *PLOS ONE*, roč. 8, č. 2, s. e55937, úno. 2013.

Za pomoc při vytvoření této brožury patří dík MVDr. J. Lorenzové, Ph.D., MVDr. L. Stehlíkovi, Ph.D., MVDr. B. Putnové, Doc. MVDr. M. Crhovi, Ph.D., celému týmu kliniky chorob psů a koček a Interní vzdělávací agentuře VFU Brno.