



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE  

---

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ  
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

**Mléčná žláza a její normální histologická  
stavba v porovnání s patologií  
karcinomu**

**The mammary gland and its normal  
histological structure compared to the  
pathology of carcinoma**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Autor bakalářské práce: Veronika Obrová

Vedoucí bakalářské práce: MUDr. Richard Becke

---

Kladno 2020



# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Obrová** Jméno: **Veronika** Osobní číslo: **474161**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**  
Studijní program: **Specializace ve zdravotnictví**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**

## II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

**Mléčná žláza a její normální histologická stavba v porovnání s patologií karcinomu**

Název bakalářské práce anglicky:

**The mammary gland and its normal histological structure compared to the pathology of carcinoma**

Pokyny pro vypracování:

Bakalářská práce bude pojednávat o nádorovém onemocnění mléčné žlázy se zaměřením na porovnání histologické struktury zdravé mléčné žlázy s obrazem patologickým. V obecné části práce bude popsána anatomická stavba mléčné žlázy a její histologická struktura. Dále bude práce zaměřena na základní dělení karcinomů a popis kancerogeneze. Dále bude také věnována pozornost prevenci a diagnostickým metodám průkazu onemocnění. V praktické části budou popsány techniky přípravy histologického preparátu tkáně fyziologického vzhledu a tkáně postižené nádorovým onemocněním. K porovnání mikroskopického obrazu jednotlivých preparátů budou použity vybrané barvicí techniky vhodné pro zvolenou tkáň. V průběhu práce v laboratoři bude pořizována fotodokumentace včetně popisu zkoumaných vzorků.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Čihák Radomír, Anatomie 3, ed. 3, Grada, 2016, 232 s., ISBN 978-80-247-9552-2
- [2] Vajner Luděk, Jiří Uhlík, Václava Konrádová, Lékařská histologie I., ed. 2, Nakladatelství Karolinum, 2018, ISBN 978-80-246-4107-2
- [3] Anthony L. Mescher, Junqueirovy základy histologie, ed. 14, Galén, 2018, ISBN 978-80-7492-324-1

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce:

**MUDr. Richard Becke**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

Datum zadání bakalářské práce: **23.09.2019**

Platnost zadání bakalářské práce: **20.09.2020**

prof. MUDr. Leoš Navrátil, CSc., MBA, dr.h.c.  
podpis vedoucí(ho) katedry

prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.  
podpis děkana(ky)

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Mléčná žláza a její normální histologická stavba v porovnání s patologií karcinomu vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 24.04.2020

.....  
Veronika Obrová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Touto cestou bych ráda poděkovala svému vedoucímu MUDr. Richardu Beckemu, který mi pomohl vymyslet a zrealizovat toto téma bakalářské práce. Děkuji za jeho ochotu a trpělivost, za užitečné rady a za společně strávený čas. Velké poděkování patří MUDr. Regíně Šírové, díky které jsem mohla proniknout a lépe pochopit psychický stav pacientek i dané postupy při prevenci a diagnostice této problematiky. Dále bych moc poděkovala paní laborantce Elišce Boučkové za pomoc při zhotovování preparátů histologickými metodami. A nakonec bych poděkovala i své rodině a přátelům, kteří mě celé studium podporovali a díky nimž jsem se dostala tak daleko.

## **ABSTRAKT**

Cílem bakalářské práce s názvem „Mléčná žláza a její normální histologická stavba v porovnání s patologií karcinomu“ je přiblížení problematiky rakoviny prsu, která je v České republice diagnostikována stále častěji.

V teoretické části se pojednává o anatomické stavbě mléčné žlázy, o histologické struktuře a o sekreci mléka, což je nejdůležitější funkce této žlázy. Dále je popsán proces kancerogeneze, obecné rozdělení a klasifikace karcinomů a popis studovaného typu zhoubného nádoru. Část práce je také věnována diagnostice, zde je zmíněno vše od prevence až po objevení problému pomocí různých metod.

Praktická část podrobně popisuje přípravy preparátů jak zdravé mléčné žlázy, tak i patologického karcinomu. Věnuje se základním histologickým barvicím metodám – Hematoxylin-eosin, AZAN a zelený trichrom, dle kterých lze poté porovnávat zdravé a nemocné buňky a různé typy tkání. V práci je vše fotograficky zdokumentováno a popsáno.

## **Klíčová slova**

Rakovina prsu, anatomie a histologie mléčné žlázy, karcinomy, diagnostika, metody barvení.

## **ABSTRACT**

The Aim of the Bachelor thesis called „The mammary gland and its normal histological structure compared to the pathology of carcinoma“ is the approach of breast cancer, which is diagnostic more and more frequently in Czech Republic.

The theoretical part deals with the anatomical structure of the mammary gland, the histological structure and the secretion of milk, which is the most important function of this gland. There is also described the process of carcinogenesis, general classification of carcinomas and description of the type of malignant tumor studied. Part of the work is also devoted to diagnostics, where is mentioned everything, from prevention to the discovery of the problem by using different methods.

The practical part describes in detail the preparation of slides of both healthy mammary gland and pathological carcinoma. It deals with basic histological staining methods - Hematoxylin-eosin, AZAN and green trichrome, according to which healthy and diseased cells can be compared and different types of tissues. Everything is photographed and described.

## **Keywords**

Breast cancer, anatomy and histology of the mammary gland, carcinomas, diagnostics, staining methods.

## Obsah

1	Úvod.....	9
2	Cíle práce.....	10
3	Přehled současného stavu.....	11
3.1	Prs a jeho anatomie.....	11
3.1.1	Vývoj mléčné žlázy .....	11
3.1.2	Cévní zásobení.....	12
3.1.3	Mízní systém.....	12
3.2	Histologická stavba .....	13
3.3	Patologie mléčné žlázy.....	16
3.3.1	Kancerogeneze.....	16
3.3.2	Obecné rozdělení nádorů.....	18
3.3.3	Histopatologie karcinomu mléčné žlázy .....	19
3.4	Složení mateřského mléka.....	20
3.5	Prevence .....	21
3.5.1	Samovyšetření pohmatem .....	21
3.5.2	Příčiny rakoviny prsu .....	22
3.5.3	Mamografický screening.....	23
3.6	Léčba rakoviny prsu obecně .....	26
4	Metodika.....	28
4.1	Odběr histologického materiálu.....	28
4.2	Zpracování histologického materiálu.....	30
4.2.1	Proces zalévání do bločků.....	30
4.2.2	Krájení řezů na mikrotomu.....	31

4.3	Barvení histologických preparátů .....	32
4.3.1	Metoda Hematoxylin-eosin .....	34
4.3.2	Metoda barvení AZAN.....	35
4.3.3	Metoda barvení Massonovým zeleným trichromem.....	36
4.4	Montování preparátů .....	38
5	Výsledky .....	39
5.1	Mamma v klidu.....	39
5.2	Mléčná žláza v průběhu laktace .....	44
5.3	Duktální karcinom mléčné žlázy.....	49
6	Diskuze .....	54
7	Závěr .....	57
8	Seznam použitých zkratek.....	58
9	Seznam použité literatury .....	60
10	Seznam použitých obrázků .....	63



# 1 ÚVOD

V dnešní době patří mezi třetí nejčastější příčinu úmrtí rakovina, hned za srdečními a mozgovými příhodami. Ve světě, a dnes i v České republice, je nejčastěji diagnostikována rakovina plic, a také rakovina mléčné žlázy.

Nejčastějším zhoubným nádorovým onemocněním u žen je karcinom mléčné žlázy, laicky řečeno rakovina prsu. Ročně v České republice přibude kolem sedmi tisíc nově hlášených případů. Statistické údaje dle ÚZIS z roku 2016 říkají, že bylo evidováno 7220 nově nemocných žen. Léčba karcinomu prsu je hlavně v raných stádiích velice úspěšná, ale i přesto je úmrtnost vysoká. Mortalita v tomto roce byla u 1685 žen a u 12 mužů. Příčinou toho onemocnění jsou dispoziční faktory (např.: genetika, osobní anamnéza...) i životní styl (např.: bydliště, návykové látky...), které též ovlivňují míru onemocnění. [1]

Na přední straně hrudníku máme ve vyvýšení zvaném prs uloženou mléčnou žlázu. Tato žláza se vyvíjí u žen v průběhu dospívání. Tvoří důležitý sekret, jehož složení je důležitou součástí výživy kojence.

Cílem práce je porovnání histologické struktury s patologií karcinomu mléčné žlázy. Na začátku práce provádím její anatomický a histologický rozbor, popisuji dělení karcinomů a kancerogenezi. Dále se zaměřuji na prevenci a diagnostiku nádorových onemocnění. Také se v krátkosti zmiňuji o významu mateřského mléka. Praktická část pojednává o přípravě vzorků, metodách barvení a jejich porovnání.

## 2 CÍLE PRÁCE

V mé bakalářské práci s názvem „Mléčná žláza a její normální histologická stavba v porovnání s patologií karcinomu“ je nejdůležitějším cílem správná příprava histologických preparátů a jejich následné porovnání.

V teoretické části je mojí snahou přiblížit čtenáři současnou problematiku rakoviny prsu, která postihuje ženy i muže. Prvotním cílem je charakteristika základní struktury prsu, objasnění vzniku nádoru a jeho diagnostika. Nedílnou součástí je i prevence a možnosti léčby. V praktické části podrobně popisují jednotlivé dílčí kroky, které vedou ke zhotovení histologických preparátů. Mezi tyto procesy patří odběr tkáně, tvorba parafínových bločků a jejich krájení na mikrotomech. Abychom mohli vzorky zdravé tkáně dobře rozeznat od těch patologických, tak je potřeba použít správné barvicí metody. Hematoxylin-eosin patří mezi základní a nejvíce využívané metody pro zviditelnění základních buněčných složek. Dalšími technikami barvení jsou AZAN a Massonův zelený trichrom. Výsledkem práce by měly být zhotovené obarvené preparáty, u kterých je možno od sebe odlišit jednotlivé struktury pomocí světelného mikroskopu.

## 3 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU

### 3.1 Prs a jeho anatomie

Na přední ploše hrudní stěny ve výši třetího až šestého žebra máme atypické vyvýšení tzv. prs (mamma). Uvnitř prsu se nachází naše největší kožní žláza mléčná žláza (glandula mammae). Je to párový orgán laločnatého typu uložený v tukovém polštáři, který právě podmiňuje toto vyklenutí. Rozlišujeme premammární tukový a retromammární tukový polštář. Prso zakončuje dvorec s bradavkou. [2, 3]

#### 3.1.1 Vývoj mléčné žlázy

V pátém týdnu embryonálního vývoje se u savců, včetně člověka, vytváří základ podobný apokrinním žlázám tzv. mléčná lišta. Jde o zahuštěný pruh epitelu probíhající v axiloinguinální čáře, který z velké části zaniká. Pouze u člověka a primátů se pektorálně začne vyvíjet mléčná žláza. Tento pruh se v dalších týdnech vývoje rozrůstá a větví. Vytvářejí se zprvu nefunkční žlázové vývody. K rozvoji jejich funkce dochází až v těhotenství. Teprve po narození se vytvoří prsní bradavka a dvorec. [2, 3]

U dětí je mléčná žláza nepatrná a nachází se v podkoží hrudní krajiny, u žen prochází několika vývojovými a tvarovými stupni, které se postupně střídají. Tato období přichází v pubertě, u žen poté ještě dále v graviditě, při kojení a v přechodu. Zprvu plochý prs miskovitého tvaru (mamma disciformis) přechází v polokruhovitý tvar (mamma spheroidea), který je vystřídán hruškovitým prsem (mamma piriformis), pod kterým se začíná dělat rýha. Ve starším věku dochází ke ztrátě tuku, žláza involuje a prso ochabuje (mamma pendula). [2]

Na povrchu prsu máme tenký typ kůže. Pod ní prosvítají kožní žíly a poukazují na bohatou inervaci. Kůže se sbíhá do vrcholu zvaný dvorec (areola

mammae), jehož průměr je 3-5 cm a v těhotenství se zvětšuje až na 7 cm. S věkem se růžový dvorec ztmavuje do hněda díky přibývajícím pigmentaci. Na jeho obvodu jsou malé hrbolky, kam zasahují žlázy, a uprostřed areoly je prsní bradavka (papilla mammae). Na papile je 15-20 otvůrků (area cribriformis papillae), kam ústí hlavní mlékovody (ductuli lactiferi). Při kojení chrání bradavku sekret mazových žlázek. Mazové žlázy jsou v této oblasti velmi početné. Jejich krátké vývody ústí přímo na povrch kůže, protože zde nejsou vlasové folikuly. Ve dvorci máme hladkou svalovinu probíhající paprscitě a u bradavky spirálovitě. V těchto místech se svalovina upíná do kůže a na dotekové podráždění reaguje smrštěním dvorce a vyzdvižením bradavky. [2, 3]

### **3.1.2 Cévní zásobení**

Prs je zásoben okolními artériemi. Z a. thoracica interna jdou 2-3 větve rr. mammarii mediales, z a. thoracica lateralis vede rr. mammarii laterales a z aa. intercostales posteriores jde v rozsahu žlázy rr. mammarii laterales. Tyto cévy prostupují prs paprscitě směrem k bradavce. Žíly jako v. thoracica interna, v. thor. lateralis a vv. intercostales sbírají krev z kruhové sítě dvorce. Nervy tu máme senzitivní, jako nn. intercostales a nn. supraclaviculares a autonomní nervy, které jdou perivaskulárně až ke žlázovým buňkám. [2]

### **3.1.3 Mízní systém**

V prsu máme mnoho lymfatických cév, které začínají v okolí bradavky a prsního dvorce, tvoří pletěň tzv. subareolární plexus. Ten dále sbírá a odvádí lymfu (mízu) do regionálních parasternálních uzlin hrudníku, do axilárních uzlin a mohou se dostat i do supraklavikulárních uzlin. Axilární uzliny bývají při patologických nálezech zasaženy metastázemi jako první. Znalost umístění je proto důležitá, zvláště při ablaci prsu, kdy je nutno odebrat i nejbližší spádové lymfatické uzliny. [2]

### 3.2 Histologická stavba

Tvorba mléčné žlázy začíná tzv. mléčnou lištou, což je ztlustělý pruh epidermis. V 7. týdnu embryonálního vývoje prochází tato lišta od axily na vnitřní plochu stehna. Většina této lišty vymizí, ale v oblasti hrudníku zůstává. Zde bují a prostupuje hluboko do mesenchymu, kde vytváří 16–24 epitelových čepů, z nichž vznikají malé solidní pupeny. Před porodem tyto čepy luminisují a tvoří mlékovody (ductuli lactiferi) a pupeny se přeměňují ve žlázové lalůčky. Zprvu se ductuli lactiferi rozevírají do malé epitelové jamky, ta se po porodu, díky proliferaci spodního mesenchymu, vyklenuje v bradavku. [4]

Histologická struktura a vzhled mléčné žlázy závisí na její funkčnosti a věku pacienta. Mléčná žláza je tvořena z 15 až 20 tuboalveolárních žláz (laloků). Lobi jsou odděleny interlobulárními septy z tukové tkáně a hustého neuspořádaného kolagenního vaziva. Ty se upínají jako Cooperovy vazy do přiléhající dermis (škára). Všechny laloky mají svou osu tzv. mlékovod (lobární vývod) – ductus lactiferus, ten má 2-4,5 cm a směřuje k bradavce, kde se zvětšuje v sinus lactiferus. V bradavkové části dochází ke zúžení a k vyústění na její povrch 15–20 otvory o průměru 0,5 mm, které nazýváme porus lactiferus. [5, 6]

Lobární vývod je vyplněn dvouvrstevným kubickým či cylindrickým epitelem. Vícevrstevný dlaždicový epitel pokrývá sinus i porus lactiferus bradavky. Ductus lactiferus se člení na interlobulární vývody s jednovrstevným kubickým epitelem. Všechny zmíněné epitely spočívají na lamině basalis, která je obklopena souvislou vrstvou myoepitelových buněk. [5, 6]

V dětském věku, ještě před procesem dospívání, tvoří naši mléčnou žlázu pouze ductus lactiferus a několik interlobulárních vývodů. V pubertě, kdy dochází k hormonálním a fyzickým změnám v těle, se tyto vývody dále větví. Z interlobulárních vývodů se vyvíjí intralobulární a ty jsou základem lobulů.

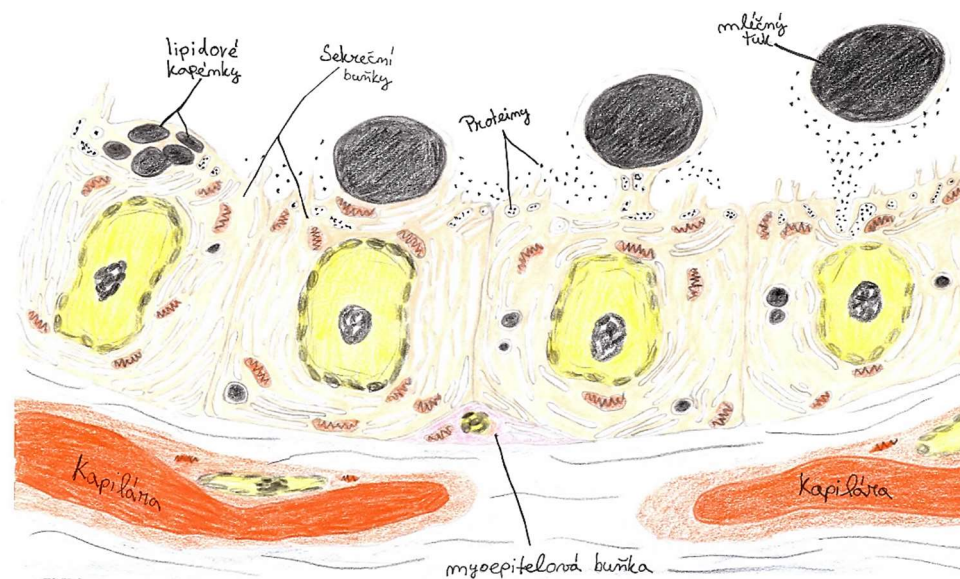
Dále dochází k hromadění kolagenního vaziva a tukové tkáně, čímž se prs zvětšuje. Celý tento proces je ovlivněn zvýšenou hladinou estrogenních hormonů. [5, 6]

V dospělosti je ženské prso charakteristické četnými laloky, ve kterých se nachází řídké kolagenní vazivo s obsahem plasmatických buněk a lymfocytů. Každý z lobulů je oddělen hustším vazivem s hrubšími svazky kolagenních vláken. V premenstruální fázi menstruace se hydratuje vazivo a tím se i zvětšuje prso. [6]

Během gravidity probíhá na koncích terminálních intralobulárních vývodů proliferace buněk a vznikají alveoly. Ty mají kulovitý tvar a jsou vyplněny kubickým epitelem. Sféricky posazené epitelové buňky se poté v období laktace přeměňují na aktivně sekreční buňky a ty ve své cytoplasmě obsahují organely, jako např. Golgiho komplex, mitochondrie, endoplazmatické retikulum či lysosomy. Mezi sekrečními buňkami a bazální laminou bývá čtyři až šest myoepitelových buněk, které obklopují jednotlivé alveoly. V lobulech je redukováno řídké kolagenní vazivo a je nahrazeno sekrečním parenchymem. V těhotenství dochází k produkci hormonů se synergickým účinkem (estrogen, prolaktin, choriový gonadotropní hormon atd.), které podporují růst mléčné žlázy. [5, 6]

Poté nastává období laktace, kdy je epitelovými buňkami alveolů produkováno mléko. To bylo v průběhu těhotenství shromažďováno v lumen ductus lactiferi a lumen alveolů. V cytoplasmě sekrečních buněk přibývá Golgiho komplexu, endoplasmatického retikula, ale také tukových kapének s neutrálními triglyceridy. Dále se tu objevují sekreční vesikuly s agregačními proteiny, jako je např. kasein či  $\alpha$ -laktoalbumin, které jsou pro novorozence zdrojem aminokyselin. Důležité jsou i cukry, jako např. laktóza. Ta je hlavním

zdrojem energie a má velký význam pro osmotický gradient, který je nezbytný pro vylučování vody a  $Ca^{2+}$  do lumina alveolu. Vesikuly se uvolňují ekkrinním způsobem. Na konci gravidity dochází k hromadění plasmatických buněk ve vazivu v okolí sekrečních alveolů. Tyto buňky produkují hlavně imunoglobulin IgA, který se dostává do sekrečních alveolů a přidává se k sekretu. [5, 6]



Obrázek 1 - Sekrece v mléčné žláze [vlastní zdroj].

Po narození dítěte se vylučuje pod vlivem prolaktinu primární sekret zvaný kolostrum neboli také mlezivo. Je to nažloutlá tekutina zásaditého charakteru, bohatá na soli, bílkoviny a vitamin A. Dále má snížené množství cukrů, tuků a draslíku než obsahuje samotné mléko. Imunoglobuliny IgA v sekretu zajišťují novorozenci pasivní získanou imunitu. [5, 6]

V období, kdy žena přestane kojit, končí i období laktace a alveoly mléčné žlázy degenerují. Mnohé sekreční buňky jsou fagocytovány makrofágy. Přetrvává pouze bazální lamina s myoepitelovými buňkami. [6]

Přibližně kolem padesátého roku života dochází u žen k menopauze spojené s involucí mléčné žlázy a se zmenšováním sekrečních oddílů, vaziva i některých vývodů. [6]

Prsní bradavka je konického tvaru a stejně jako okolní kůže je pokryta vícevrstevným dlaždicovým epitelem. Skládá se z vaziva s hladkou svalovinou, která na konci bradavky probíhá paralelně s mlékovody a v hlubších vrstvách probíhá cirkulárně kolem nich. Při kontrakci hladké svaloviny dochází k erekci bradavky. Areola mammae je oblast kolem bradavky s mazovými žlázami a senzitivními nervy. V epidermis areoly se nachází melanocyty, které v období gravidity hromadí melanin a způsobují tím její tmavší zbarvení. [5, 6]

### **3.3 Patologie mléčné žlázy**

Zdravé buňky našeho těla tvořící tkáň mají určitý tvar, funkci a podléhají kontrolním mechanismům. Novotvar, často nazývaný jako nádor neboli také neoplazma, či latinsky tumor, vzniká náhodnými změnami při buněčném dělení. Tyto tzv. mutace způsobují abnormální chování buněk, které ztrácí svůj tvar, rostou a nekontrolovatelně se dělí na úkor zdravé tkáně. Nádory poškozují a svým rozpínáním stlačují tkáň. Může dojít i k průchodu přes bariéry orgánů a tím ke vzniku metastáz. Metastáze jsou kolonie osidlující tkáň vzdálené od primárního ložiska. [7]

#### **3.3.1 Kancerogeneze**

Kancerogeneze je tedy proces, při kterém dojde k mutaci zdravé buňky na buňku neoplastickou. Tento děj je ovlivňován mnoha různými faktory a vícestupňovými procesy. Řadíme sem fyzikální, chemické, biologické a konstituční faktory, které vyvolají mutaci DNA, ta může způsobit aktivaci protoonkogenů či inaktivaci supresorů. V těle se nachází zvláštní druh opravných mechanismů, které jsou svou funkcí schopny mutovanou DNA



opravit. Když však nefungují, může dojít k apoptóze buněk, či ke vzniku karcinomu. [8]

Mezi fyzikální faktory patří všechny druhy ionizujícího záření a UV záření. Chemické mutageny narušující DNA dělíme na přímé karcinogeny a prokarcinogeny. Látky acylační, jako je dymethylsulfát, a látky alkylační, jako jsou různá cytostatika, řadíme mezi přímé. Prokarcinogeny jsou např. aromatické uhlovodíky, produkty plísní či asbest. Tyto látky se pomocí enzymů cytochromu p450 přeměňují na intermediální a poté na terminální karcinogeny. Mezi tyto enzymy patří monooxygenasy či hydroxylasy. Biologickými faktory jsou viry. Častým příkladem onkogenního DNA viru je HPV (lidský papilomavirus) či EBV (virus Epstein–Barrové). Retroviry jsou RNA viry s reverzní transkriptázou, pomocí které je poté vir přepsán do molekuly DNA a ta je zapojena do genomu. Poslední skupinou jsou konstituční karcinogeny, kam řadíme protoonkogeny a supresory. Naše somatické buňky obsahují kolem sta odlišných protoonkogenů, jež podněcují buněčnou proliferaci a tlumí diferenciaci. Onkogeny jsou potom mutované formy, které vznikly aktivací těchto genů různými jedno-alelovými mutacemi, jako jsou transdukce, amplifikace či chromozomální přestavba. Ty poté způsobují tvorbu nadměrného množství proteinu regulujícího růst. Naopak TSG – tumor supresorové geny (antionkogeny či supresory) přispívají k buněčné diferenciaci, k apoptóze a inhibují proliferaci. Zde při rezistentní mutaci obou alel dochází k jejich inaktivaci. Alely tumorových supresorů se mohou na rozdíl od onkogenů přenášet dědičně z generace na generaci. [8, 9, 10]

Za normálních podmínek je buněčný cyklus řízen rovnováhou mezi stimulačními a inhibičními signály. U nádorových buněk dochází k ovlivnění signálních drah a tím i k jejich reorganizaci. Důležitým mechanismem buňky je apoptóza neboli programovaná buněčná smrt. Při mutaci výše uvedených genů může dojít k narušení až ztrátě této schopnosti. Dalším mechanismem jsou

chromosomální telomery, které ovlivňují opakovatelnost dělení buněk. Pouze nádorové buňky v sobě obsahují aktivní mechanismus TERT, což je proteinová kompartenta telomerázy. Ta neustále obnovuje telomery a tím též udržuje nekonečnou proliferaci buněk. [7, 9]

Za mnohostupňový proces karcinogeneze, jak je uveden výše, jsou tedy zodpovědné genetické mutace a epigenetické změny, které ovlivňují řadu mechanismů. První krátkodobou fází je iniciace, kde dochází k primární genetické mutaci daného genu a pomalu vzniká nádor. Následující proces se nazývá promoce. Tato část kancerogeneze je dlouhodobá, může trvat až desítky let a vede k růstu a intenzivnějšímu dělení. Progrese je konečná fáze, kdy benigní nádor přechází v maligní, který proniká skrze další tkáně a tvoří metastáze. Dochází k tomu nakupením dalších genových mutací a epigenetických změn. [9, 10]

### **3.3.2 Obecné rozdělení nádorů**

Dle nebezpečnosti dělíme nádory na nezhoubné (benigní) a zhoubné (maligní). Benigní tumory se tolik neliší od původní tkáně a nemetastazují do okolí. Rostou pomaleji a expanzivně, jsou ohraničené a často i opouzdřené. Naopak buňky zhoubných nádorů jsou neohraničené a jsou schopné rychle růst a migrovat do dalších tkání krevní nebo lymfatickou cestou. Tam poté zakládají dceřiná ložiska (metastáze), která jsou mnohem nebezpečnější než primární nádor a vedou ke komplikacím, případně až ke smrti pacienta.

Dále se nádory dělí do pěti skupin podle místa vzniku. Obecně karcinom vzniká z epitelové tkáně, sarkom z pojivové tkáně, blastom se tvoří v nervové tkáni, lymfom je nádor z lymfocytů a leukémie je onemocnění bílých krvinek kostní dřeně. [7]

### 3.3.3 Histopatologie karcinomu mléčné žlázy

Stručná klasifikace nádorů prsu se rozděluje na dvě hlavní skupiny. První jsou neinvazivní karcinomy in situ, rostoucí převážně v místě svého vzniku, kde mohou způsobit pozdější opakování tvorby nádoru, ale netvoří metastáze. Druhým typem jsou invazivní karcinomy, které mají schopnost prorůst do okolních tkání, dostávat se do lymfatických cest a krevního oběhu a tím se šířit a tvořit metastáze. Dále se dělí dle toho, jestli tumorová tkáň imituje spíše duktální nebo lobulární buňky. Důležité je také rozlišovat sílu, tzv. grade neboli diferenciaci. Nádory, které jsou méně invazivní, rostou pomaleji a jsou dobře rozlišitelné, se označují jako grade 1. Tumory, které rychle proliferují, prorůstají do tkání, metastazují a jsou špatně diferencovatelné, se označují jako grade 3. [11, 14]

Intraduktální karcinom in situ – DCIS roste uvnitř vývodu a může způsobit nekrózu epitelí, či dokonce i celý ductus zaplnit nádorovými buňkami. Ve většině případů ho zachytí mamografický screening jako mikrokalcifikace. Lobulární karcinom in situ – LCIS je nejčastěji premenopausální a nejde ho mamograficky detekovat. Proliferace nádorových buněk se soustřeďuje v lalůčkách. [11]

Invazivní duktální karcinom patří k nejčastějším formám karcinomu prsu. Tvoří tuhé neostře ohraničené ložisko soudržných buněk přirostlé k okolním strukturám. V některých případech může dojít i k deviaci či retrakci bradavky. Metastáze se nejčastěji tvoří v LU axil a v kostech. Invazivní lobulární karcinom se objevuje jen v 10 % případů nádorů. Je nenápadný, drobný, často oboustranný, špatně se odlišuje od metastáz a šíří se do vzdálených částí těla, jako je například děloha nebo mozek. Jsou to malé nesoudržné buňky kulatého tvaru rostoucí v řádcích či odděleně. [11]

Vedle těchto čtyř hlavních a základních typů existuje ještě mnoho jiných podtypů, které jsou spíše ojedinělé. Mezi vzácné invazivní karcinomy patří např. medulární karcinom, světlobuněčný karcinom, mucinózní karcinom, apokrinní karcinom a další. [14]

### 3.4 Složení mateřského mléka

Mateřské mléko je základem výživy novorozenců a kojenců. Jeho složení má velký význam pro správný vývoj a ochranu dítěte, avšak není konstantní, mění se nejen během laktace, ale i během kojení a celého dne. Mateřské mléko se začíná tvořit v posledních týdnech před porodem. Na počátku je to hustá sametově žlutá tekutina zvaná kolostrum (mlezivo), která se tvoří v prvních dnech po porodu. Od zralého mléka se liší větším obsahem bílkovin a solí. Mlezivo obsahuje méně tuků a sacharidů a má nižší energetickou hodnotu. V druhém týdnu po porodu se vytváří tzv. přechodné mléko, kde už je snížený obsah bílkovin a přibývají tuky a sacharidy. Zralé mateřské mléko se tvoří asi tři týdny po porodu a má vyšší energetický obsah. [12]

Bílkoviny mateřského mléka jsou bohaté na obranné látky, jako je sekreční imunoglobulin A, lysozym a laktoferin. Další bílkovinou je  $\alpha$ -laktalbumin, který se získává izolací ze syrovátek a obsahuje mnoho esenciálních aminokyselin. Nedílnou součástí je též kasein, který s  $\alpha$ -laktalbuminem způsobují lehčí stravitelnost oproti kravskému mléku. [12]

Tuky jsou velice proměnlivou složkou mateřského mléka. K jejich zvýšení dochází v období laktace, ale množství se mění i během dne. Na konci jednoho kojení je asi 5x více tuku, než bylo na začátku. Tuky jsou zdrojem energie, esenciálních mastných kyselin (kys. linolové, linolenové, arachidonové...) a vitamínů rozpustných v tucích (A, D...). Výskyt jednotlivých mastných kyselin

závisí na každodenním jídelníčku matky. Základním lipidem mateřského mléka jsou triacylglyceroly. [12]

Nejdůležitějším cukrem v mateřském mléce je laktóza, která poskytuje kojenci až 40 % energie. Má velký význam pro růst střevní flory, kde usnadňuje vstřebávání vápníku a železa. Snižuje pH stolice a omezuje růst *Escherichie Coli*. Laktóza obsahuje monosacharid galaktózu, která je nezbytná pro vývoj mozku. Dále jsou zde oligosacharidy, které se vážou na laktózu a podporují růst bifidobakterií. [12]

Mateřské mléko je též bohaté na vitamíny. Důležitý v kolostru je vitamin K, který slouží k prevenci před HON (hemolytické onemocnění novorozence). Dále obsahují vitamin A a D. Vitamíny rozpustné ve vodě (B, C...) závisí na stravování matky. Poslední složky mléka jsou minerální látky, jako je draslík, vápník, sodík, chlor, fosfor, a také stopové prvky, jako je železo, zinek, jod, měď atd. [12]

### **3.5 Prevence**

Nejčastějším nádorovým onemocněním u žen je karcinom prsu. Incidence tohoto problému neustále roste, a je proto nezbytné, aby ženy, zejména ve středním věku, docházely na pravidelné kontroly.

#### **3.5.1 Samovyšetření pohmatem**

Palpace je nejjednodušší vyšetření, které si žena může provádět v pohodlí domova. Toto samovyšetření vlastních prsů napomáhá k zachycení časného stádia rakoviny prsu. Pohmatem lze totiž rozeznat i bulku o velikosti 20 mm. Ženy, které s touto metodou začínají nově, by ji měly praktikovat každý den, alespoň po dobu jednoho měsíce, aby svá prsa detailně poznaly. Poté již stačí vykonávat palpaci v pravidelných intervalech jednou za měsíc. Nejlepší je

provádět samovyšetření v období po skončení menstruace, kdy jsou prsa uvolněná a nebolí. [13, 14, 15]

Prvním důležitým krokem je pozorování prsou v zrcadle, zdali nedošlo k nějaké viditelné změně a poté přejít k dalším fázím. Techniky pohmatu jsou různé a je dobré je střídat nebo dělat všechny naráz. Ženy se vyšetřují buď v sedě, v leže či ve stoje. Praktikují se krouživé či vertikální pohyby konečky prstů v okolí bradavky a následně po celém prsu. Nesmí se zapomínat i na palpaci pod klíční kostí a v podpaží, kde nádory metastazují do lymfatických uzlin. Důležité ale je, že samovyšetření nikdy nemůže nahradit mamografický screening. [13, 14, 15]

### **3.5.2 Příčiny rakoviny prsu**

Příčiny tvorby nádoru prsu nejsou zatím známy, a proto není dosud možné předcházet jeho vzniku. Rizikové faktory můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin, a to na dispoziční faktory a faktory ovlivnitelné změnou životního stylu. Mezi dispoziční a neovlivnitelná rizika se řadí osobní anamnéza (věk, výška, tlak, ...), hormonální a gynekologické faktory (menarche, antikoncepce, věk prvního porodu a jejich počet, kojení, věk menopauzy, ...) a genetické faktory (dědičnost). Zvýšené riziko mají ženy, které zdědily mutaci v genech BRCA1 a BRCA2. Druhou skupinou jsou parametry, které mohou být aktivním přístupem ovlivnitelné. Mezi hlavní změny v životním stylu ženy by mělo patřit omezení škodlivých návyků (kouření, alkohol, strava, ...), zvýšení fyzické aktivity a snížení stresového vypětí. [13, 14]

Odlišnosti se projevují i u jednotlivých etnických skupin. U černošské a asijské populace je riziko výrazně nižší než u populace bělošské. Jediným dosavadním řešením jsou proto preventivní kontroly, při kterých je možné detekovat časný záchyt, a tím zvýšit efektivitu léčby. Bezpříznakové ženy mají od 45 let nárok na jedno preventivní screeningové mamografické vyšetření za dva roky.

Na toto vyšetření dostanou žádanku od svého lékaře a celý proces je hrazen pojišťovnou. [13]

### 3.5.3 Mamografický screening

Již v 80. letech minulého století bylo toto vyšetření zavedeno a zkoušeno ve Skandinávských zemích, kde mělo veliký úspěch. V České republice byl screening prsu zahájen v září roku 2002. Jde o plošné vyšetření populace s cílem zachytit co nejčasnější stadia onemocnění, kdy pacient ještě nemá žádné příznaky. Účelem je snížení morbidity a mortality na karcinom prsu. [15]

Mamografické vyšetření se provádí pomocí špičkových přístrojů, během kterého je ženě vestoje snímkován každý prs ve dvou směrech. Pro kvalitní snímek je potřeba prso stlačit mezi podložku a kompresní desku tak, aby se jeho tkáň maximálně rozprostřela. Tento proces může být ženě nepříjemný i mírně bolestivý. Snímek je následně vyhodnocen dvěma lékaři. [15, 16]



Obrázek 2 - Mamografický přístroj vlevo a screeningový snímek prsu vpravo [vlastní zdroj].

Bioptické vyšetření nastává v případě, že se na mamografu objeví podezřelý nález. Existuje několik typů biopsií, mezi nimiž se volí dle patologického nálezu. Nejčastější je odběr core-cut biopsie (CCB), která probíhá pod ultrazvukem nebo pod mamografem. [15]

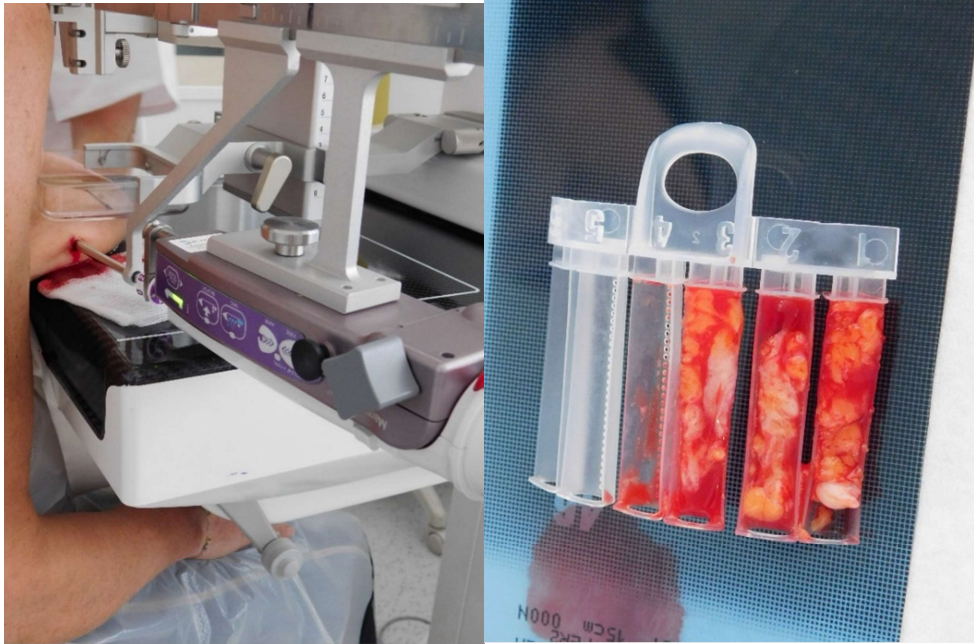
Každý všední den se provádí tenkojehlé biopsie, kam se řadí diagnostická punkce nejasných ložisek, které jsou na špatně detekovatelných místech. Další z metod je punkční biopsie k vyšetření cyst a kolekcí tekutin. [15]

Jen některá pracoviště, jako je např. pražské Mammacentrum na Pankráci, provádí speciální stereotaktickou vakuovou biopsii (SVAB). Vyšetření probíhá pod tlakem (stlačený prs) a za vakua. Slouží hlavně k rozeznávání a zkoumání drobných mikrokalcifikací (usazenin vápníku). Zde se odebírají silnější válečky tkáně, které se pak odesílají na histologická vyšetření do speciálních laboratoří. Tam se poté s velkou přesností může určit, jestli se jedná o zhoubné či nezhoubné onemocnění. [15]

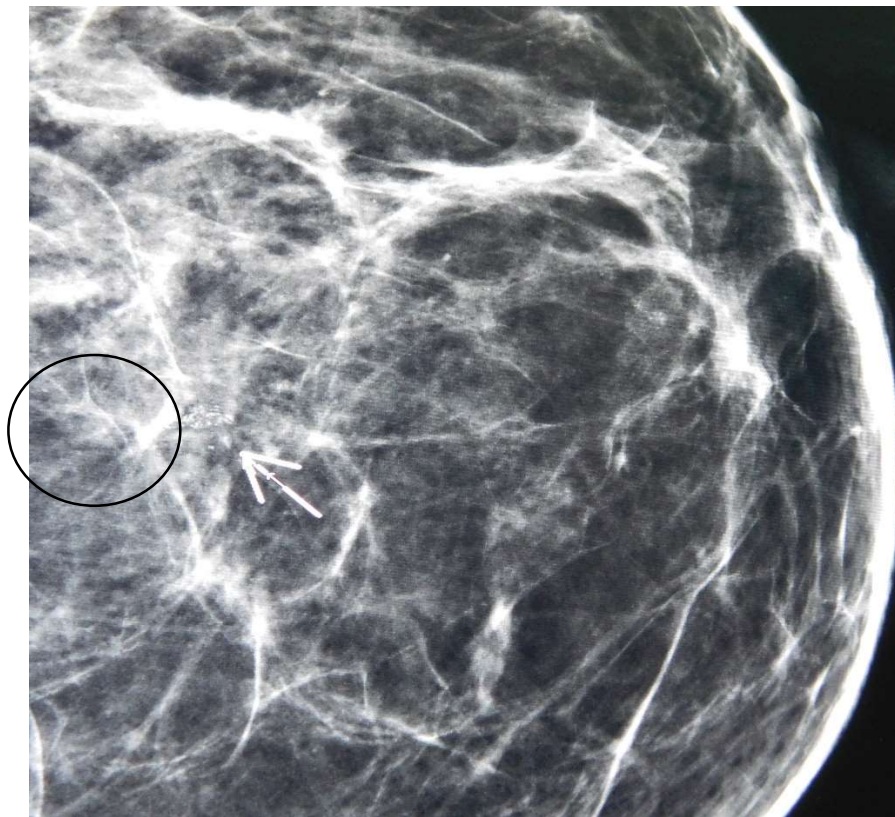


Obrázek 3 - Vlevo přístroj na stereotaktickou vakuovou biopsii, vpravo speciální bioptická jehla [vlastní zdroj].





Obrázek 4 - Vlevo fotografie z vakuové biopsie pod mamografem a vpravo odebrané válečky tkáně [vlastní zdroj].



Obrázek 5 – Mamografický snímek s vyznačenou mikrokalcifikací [vlastní zdroj].

Pacientkám, kterým byl objeven nález na odstranění, je před operací nádor označen tak, aby ho pak chirurg snáze našel. Označení se provádí uhlíkem, drátkem či lokalizačními klipy. [15]

### 3.6 Léčba rakoviny prsu obecně

Rakovina prsu patří k nejčastějšímu nádorovému onemocnění žen. Léčba této nemoci je dlouhodobá a velice náročná. Postihuje jak tělesnou, tak i psychickou stránku pacientky. Z toho důvodu je nejdůležitější zvolit nejvýhodnější postup terapie, který úspěšně ukončí problém za co nejkratší dobu.

Mezi nejčastější léčebné postupy patří chirurgický zákrok. Jeho výběr závisí na velikosti a umístění nádoru v prsu. Může jít o vyjmutí celého ložiska i s okrajem okolní neporušené tkáně nebo o odnětí části prsu s nádorem. Nejcitlivějším a často nepřijatelným zákrokem pro pacientku je mastektomie neboli chirurgické odebrání celého prsu. Následnou možnou léčbou je radioterapie. Tato technika se používá nejvíce po výše uvedených chirurgických zákrocích. Občas je ale nádor už tak velký, že ho není možné odoperovat, a tak se prvně využívá radioterapie. Ta vede ke zmenšení ložiska a tím i k následné možnosti operace. Léčba se provádí pomocí korpuskulárního či elektromagnetického záření. Předešlé dvě metody se zaměřují lokálně na jedno místo, když ale dojde u maligního nádoru k jeho rozšíření a tvorbě metastáz, je potřeba užití systémové léčby. Tato metoda má několik možností. Mezi první patří chemoterapie pomocí cytostatik. Jde o chemické látky, které jsou schopné ovlivnit buněčné dělení. Tato vlastnost je výhodná pro narušení a následné odumírání nádorových buněk, ale zároveň působí stejně i na buňky zdravé, a proto dochází k mnoha vedlejším projevům organismu. Do systémové terapie řadíme i léčbu hormonální, která ovlivňuje nádory stimulací hormonů napomáhajícím jejich růstu. Mezi hlavní hormony podporující nádorové bujení patří estrogeny. Poslední metodou, která patří do této skupiny, je léčba biologickými léky. Ty jsou zaměřeny především na genetickou výbavu a vývoj nádorových buněk v těle. [17]

Nádory prsu a rakovina je onemocnění postihující všechny oblasti našeho každodenního života. V posledních letech se proto vymýšlejí a zkouší nové a nové metody, jak předejít tomuto onemocnění a jak ho léčit. Mezi jednu z metod patří například i mikrovlnná hypertermie.

## 4 METODIKA

Zhotovení histologického preparátu se využívá jak k vědeckým účelům, tak i ke stanovení nemocí. Procesů a postupů, které vedou ke zpracování vzorků, je mnoho a vše se odvíjí od druhu materiálu.

### 4.1 Odběr histologického materiálu

Materiál na histologické vyšetření se získává dvěma způsoby. Prvním je častěji prováděná biopsie, což je odběr živé tkáně, a druhý způsob je nekropsie, kdy se vzorek odebírá při pitvě z mrtvého organismu. [18]

Odběr může probíhat různými metodami. Příkladem je třeba excize (odříznutí tkáně), endoskopie, punkce, výtěry a mnoho dalších. Všechny tyto procesy provádí lékař. Po odebrání tkáně se musí vzorek okamžitě fixovat, aby nedošlo k jeho znehodnocení. [18]

Zdravé a gravidní vzorky mléčné žlázy mi opatřil vedoucí mé bakalářské práce MUDr. Becke v Ústavu histologie a embryologie 2.LF UK v Praze.

Patologické vzorky pro mou bakalářskou práci jsem získala na pracovišti Mammacentrum Budějovická. Toto centrum se zabývá dnes již nejběžnějším procesem prevence i diagnostiky rakoviny mléčné žlázy pomocí mamografického screeningu. Vzorky byly pacientce odebrány bioptickou jehlou (punkcí), vloženy do bioptických kazetek a okamžitě fixovány v lahvičkách s 10% formolem.



*Obrázek 6 - Odebraný patologický vzorek fixovaný v lahvičce s 10% formolem [vlastní zdroj].*

Fixace je jemná rychlá šetrná denaturace bílkovin v cytoplasmě buněk a vede k zabránění okamžitého rozkladu tkáně vlastními enzymy, jinak zvaného autolýza. Jde o rychlé ponoření vzorku do fixačního činidla, které zachová neporušené struktury a poskytne tím možnost dalšího zpracování. Máme mnoho možností fixací, a proto je rozdělujeme na fyzikální, chemické a jejich možné kombinace. Mezi fyzikální řadíme fixace při vysokých či nízkých teplotách, jako je například kryotechnika rychlého zmrazení. Chemické fixace se provádí pomocí fixačních tekutin. Nejběžněji používanou je 10% formol, který je smíchán ze 36-38% formaldehydu a kohoutkové vody. Dalšími tekutinami mohou být Bromformol, Bakerova tekutina, Bouinova tekutina a jiné. Takto fixovaný a správně označený materiál se během 24–48 hodin transportuje do laboratoře k dalšímu zpracování. [18, 19]

## 4.2 Zpracování histologického materiálu

Abychom mohli vytvořit histologický preparát, je potřeba si materiál připravit tak, aby se dal nakrájet pomocí mikrotomu na tenké řezy o průměru asi 5-8  $\mu\text{m}$ . Preparáty byly zhotoveny v laboratoři Ústavu histologie a embryologie 1.LF UK v Praze.

### 4.2.1 Proces zalévání do bločků

Fixované vzorky není možné jen tak nakrájet, musí se převést do zalévacího média. Nejpoužívanějším zalévacím médiem, nemísitelným s vodou, je parafín. Pro elektronovou mikroskopii se materiál zalévá do umělých pryskyřic. Tvrdé tkáně, jako jsou chrupavky, kosti a zuby, se nejčastěji zalévají do celoidinu při pokojové teplotě. Zalévání tkání za účelem jejich zakrojení má, od fixace až po vytvoření parafínového bločku, několik důležitých kroků. První fází bylo promytí vzorku vodou od fixačního činidla, které probíhalo přibližně 30 minut. Poté bylo nutno vzorek zbavit vody takzvaným odvodněním vzestupnou řadou alkoholů. Zde se postupně a pomalu nahrazovala voda v tkáních za 100% alkohol (ethanol). Náš proces probíhal vždy ve dvou lázních, po 60 minutách a to v 70% alkoholu, poté v 80% alkoholu, 90% a 96% alkoholu a nakonec se provedly tři po sobě jdoucí 45 minutové lázně ve 100% alkoholu. V tomto momentě byl vzorek odvodněn a přešlo se k dalšímu kroku. Tím bylo prosycování tkáně látkou rozpouštějící parafín. Zde se normálně používají látky s nižším či vyšším bodem varu, které jsou mísitelné s alkoholem a zároveň se v nich rozpouští parafín. Mezi tato média řadíme nejčastěji benzen, xylen, toluen či třeba cedrový olej. V mé práci jsme prosycovali tkáň benzenem. Použili jsme tři lázně benzenu po 15 minutách. Další fází bylo prosycení parafínem a pak samotné zalití. Na prosycení jsme si připravili lázeň zkvalitněného parafínu, kterou jsme udržovali průměrně osm hodin v termostatu při 58 °C. Teplota 56–58 °C je důležitá proto, aby parafín netuhnul a dobře prostupoval tkáněmi. Tento proces

jsme opakovali třikrát s parafínem I, II, III. Posledním krokem bylo vlastní zalití vzorku do speciálních komůrek rozehřátým padesáti osmi stupňovým parafínem. Vzali jsme si zalévací vaničku, do ní jsme kápli trochu rozehřátého parafínu, vložili jsme vzorek a doplnili jsme ji parafínem po okraj. Poté jsme to nechali ztuhnout při pokojové teplotě a k jedné hraně jsme přitmelili dřevěný nosič. Tím vznikl tzv. parafínový bloček. [18, 19]

#### **4.2.2 Krájení řezů na mikrotomu**

Mikrotom je přístroj na krájení tenkých řezů, ze kterých se poté vyrobí histologické preparáty k barvení a pozorování v mikroskopu. Máme dva základní typy mikrotomů, a to sáňkový a rotační. Tyto přístroje se liší nejen stavbou, ale i metodou krájení. Sáňkový mikrotom pracuje na tom principu, že se pohybuje držákem nože, který krájí řezy z pevně připevněného bločku. Rotační mikrotom funguje tak, že se točí kolem, které neustále pohybuje bločkem a ten se přikrajuje o pevně uchycený nůž. Tloušťka řezů na těchto mikrotomech se pohybuje kolem 5–10  $\mu\text{m}$ . Mikrotomové nože bývají velice ostré a křehké, je proto důležité pracovat s nimi opatrně, aby nedošlo k jejich poškození. Měkké tkáně, které nejsou zalitý v parafínu, ale v želatině, se krájí také tak. Některé tkáně se zmrazí kapalným oxidem uhličitým a poté se krájí na kryostatu pomocí tissue-tek média (zmrazovací mikroskop). Pro elektronovou mikroskopii je potřeba velice tenkých řezů kolem 60-70 nm. Takto tenké řezy se krájí na ultramikrotomu. Při krájení se musí dávat pozor na základní chyby, které mohou řez zcela znehodnotit. Mezi ně patří například srolování řezu do ruličky, drobení či potrhání řezu, ulpění řezu na noži a jiné. [18, 19]

Krájení našich vzorků probíhalo na rotačním mikrotomu. Parafínový bloček jsme si upevnili do držáku a začali jsme točit kolem. Prvně jsme několika řezy odstraňovali přebytečný parafín, dokud jsme v řezu neměli obsažen celý preparát. Poté jsme si nastavili tloušťku řezu na 5  $\mu\text{m}$  a začali jsme krájet.

Ukrojený parafínový řez jsme si pomocí štětečku přenesli na čisté podložní sklíčko s vrstvou bílku. Pro napnutí řezu jsme okamžitě přikápli pár kapek vody a opatrně jsme vyrovnali řez na střed sklíčka tak, aby se nepoškodil. Řezy se poté nechaly na ohřívací ploténce vypnout, usušit a byly připraveny k barvení.



*Obrázek 7 – Rotační mikrotom v praxi [vlastní zdroj].*

### **4.3 Barvení histologických preparátů**

Zhotovené řezy jsou ve většině případů bezbarvé a ve světelném mikroskopu se poté nedají jeho jednotlivé struktury rozeznat. Preparáty je proto dobré obarvit, a to i více barvami, jelikož různé části buněk a tkání k nim mají odlišnou afinitu. Barviva můžeme mít přírodní i syntetická, ale hlavní dělení je na barviva bazická (kationtová) a kyselá (aniontová). Kationtová barviva mají na své barevné části kladný náboj a ten reaguje s aniontovými strukturami buněk



a tkání. Sem patří například hematoxylin, toluidinová a metylenová modř, které barví basofilní struktury, jako je jádro, ribozomy či GER. Kyselá barviva se vyznačují záporným nábojem na barevné části a reakcí s kationtovými skupinami. Mezi aniontová barviva řadíme eozin, anilinovou modř, pikrofuchsin, oranž G a další. Barví se eosinofilní struktury, jako jsou lysozomy a mitochondrie. Nejčastěji se z bazických využívá hematoxylin a z kyselých se nejvíce barví eosinem. Naše zdravé i patologické preparáty jsme do mé bakalářské práce obarvovali metodami Hematoxylin-eosin, Azan a Massonův zelený trichrom. [18, 19]

Před samotným barvením jakéhokoli druhu je nutné zhotovené řezy deparafinovat, neboli je zbavit parafínu. Tento proces je důležitý, protože parafín je s vodou nemísitelný a tím i s našimi barvami, protože ty jsou rozpustné právě ve vodě či alkoholu. My jsme provedli deparafinaci ponořením preparátů na 5 minut do lázně xylenu I a poté na dalších 5 minut do xylenu II. Poté jsme řez zavodnili (rehydratovali) sestupnou řadou alkoholů, kdy jsme dali řezy do první lázně se 100% alkoholem na 5 minut a poté znovu, tentokrát s 96% alkoholem. Nakonec jsme preparáty tzv. proprali v tekoucí vodě a po 5 minutách jsme je opláchli destilovanou vodou. [18, 19]



Obrázek 8 - Lázně procesu deparafinace před samotným barvením [vlastní zdroj].

#### 4.3.1 Metoda Hematoxylin-eosin

Při této metodě jsme postupovali tak, že jsme deparafinované řezy ponořili do nově koupeného a přefiltrovaného roztoku Harrisova hematoxylinu na 4-5 min. Poté jsme je proprali v tekoucí vodě po dobu 5 minut a opláchli je v destilované vodě, aby se nám jednotlivé roztoky neředily. Skla jsme otřeli hadříkem tak, abychom se nedotkli a nepoškodili řez. Dále jsme řez diferenciovali rychlým smočením v kyselém alkoholu (HCl) a opět nechali řezy 5 minut proprat v tekoucí vodě a opláchli v destilované vodě. Jádra buněk se nám tu jemně zabarvila do černa. Poté jsme řezy narychlo namočili do 2% roztoku hydrogenuhličitanu sodného ( $NaHCO_3$ ) a opakovali proces 5minutového promytí ve vodě a oplach v destilované vodě. V této části už nám jádra buněk zmodrala. Dále jsme ponořili řezy do 1% roztoku eosinu na 3-5 minut – dle stáří roztoku. Nakonec jsme už nic neprali pod tekoucí vodou, jen jsme řezy omyli v několika kyvetách s vodou a s destilovanou vodou. Poté se provedlo odvodnění vzestupnou řadou alokoholů, kdy jsme řezy osušili hadříkem, namočili je do 96% alkoholu, opět otřeli a namočili do 100% alkoholu. Projasnění se provedlo vždy po 5 minutách v lázních karboxylenu, xylenu I a xylenu II. [19, 20, 21]

Výsledkem barvení bylo, že se nám jádra buněk a případné chrupavky obarvily modře, kolagenní vaziva se obarvila růžově a svalstvo i erytrocyty červeně. [21]



Obrázek 9 – Po sobě jdoucí lázně při barvení metodou Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].

#### 4.3.2 Metoda barvení AZAN

K této metodě barvení jsme si museli připravit roztok azokarmínu. Ve 100 ml destilované vody jsme rozpustili 0,10 g azokarmínu G. Krátce jsme roztok povařili a po zchladnutí ho zfiltrovali. K okyselení jsme přidali 1 ml kyseliny octové. U tohoto roztoku velice záleží na kvalitě a stáří karmínu, jinak se struktury obarví špatně. Dále jsme si namíchali roztok na barvení anilínovou modří – oranž G. Ve 100 ml destilované vody jsme rozpustili 0,50 g anilínové modře, 2 g oranže G a 1 g kyseliny fosfowolframové. Roztok jsme okyselili 8 ml ledové kyseliny octové, poté jsme směs svařili a po zchladnutí zfiltrovali. Před použitím jsme roztok ještě ředili 1:1 s destilovanou vodou. [21]

Fixované a deparafinované řezy jsme barvili metodou AZAN následujícím způsobem. Nejprve jsme preparáty ponořili na 20 minut při 58 °C do roztoku azokarmínu. Po vychladnutí jsme řezy opláchli destilovanou vodou a diferencovali je v anilínovém alkoholu. To probíhalo v rozmezí 20–60 s, vše záleželo na červeném zbarvení jader, které se v průběhu kontrolovalo v mikroskopu. Po dostatečném zčervenání se diferencování přerušilo

namočením řezů do kyselého alkoholu (1 ml ledové kyseliny octové v 96% alkoholu). Posléze se opět řezy omyly destilovanou vodou a namočily se na 20 s do 5% kyseliny wolframové. Následovalo opláchnutí vodou a destilovanou vodou a kontrola v mikroskopu. Dále jsme všechny řezy ponořili na 5 minut do roztoku anilinové modři – oranž G, poté je opláchli a naposledy zkontrolovali v mikroskopu. Nakonec jsme provedli odvodnění a projasnění preparátů stejně jako u předchozího barvení. [21]

Výsledkem barvení byla jádra obarvena červeným karmínem, svalstvo červeně, erytrocyty oranžově a kolagenní vazivo modře. [21]



Obrázek 10 – Proces barvení metodou AZAN až po projasnění xylenem [vlastní zdroj].

#### 4.3.3 Metoda barvení Massonovým zeleným trichromem

Pro toto barvení jsme si nejprve museli připravit roztoky, aby se nám řezy správně obarvily. Weigertův železitý hematoxilin byl smíchán slitím složek A + B (roztok A – 1 g hematoxilinu s 96 % alkoholem a roztok B - 0,6 g chloridu železitého, 0,75 ml kyseliny chlorovodíkové a 95 ml destilované vody). Před

použitím se vytvořil roztok AB ředěním 1 : 1, který nevydrží déle než dva dny. Dalším roztokem byla červeň, kterou jsme smíchali z červených směsí  $a + b + c$  a destilované vody. Složka  $a$  obsahovala 1 g ponceau de xylydine ve 100 ml destilky, směs  $b$  byla smíchána z 1 g kyselého fuchsinu a 100 ml destilky a na složku  $c$  byl použit 1 g oranži G a 100 ml destilky. Roztoky  $a, b, c$  jsme zahřáli ve vodní lázni, přefiltrovali a po zchlazení jsme do každého přidali 1 ml kys. octové. Nakonec jsme smíchali po 15 ml složky  $a, b, c + 40$  ml destilky a vznikl nám roztok červeně. Roztok světlé zeleně na obarvení kolagenních vláken jsme připravili ze 2 g světlé zeleně ve 100 ml 2% kyselině octové.

Samotný postup barvení byl následující. Deparafinované řezy jsme namočili na 3 minuty do Harrisova hematoxylinu (roztok AB). Řezy jsme promyli 5 minut v tekoucí vodě, opláchli v destilované vodě a zkontrolovali v mikroskopu sytost obarvených jader. Poté jsme preparáty diferenciovali namočením v kyselém alkoholu. Dále se promyly 5 minut vodou a opláchly destilovanou vodou. Následovala zase kontrola v mikroskopu, zdali jádra zesvětlala. V dalším kroku jsme postupně po jednom barvili řezy na 4 minuty v roztoku červeně. Pak jsme preparáty propláchli ve dvou lázních vody a sledovali v mikroskopu, jak se obarvilo svalstvo. Po barvení nastala fáze moření, kdy se řezy namočily na pár sekund do 1% kyseliny fosfowolframové, která vyjasní červeň a odbarví vazivo. Následoval rychlý proplach ve vodě a ponoření preparátů na 5 s do roztoku světlé zeleně. Potom se promyly v několika lázních vody a zkontrolovali jsme je v mikroskopu, jak moc se obarvila kolagenní vlákna. Nakonec se řezy odvodnily a projasnily stejně jako u předešlých metod barvení. [19, 21]

Výsledek barvení byl nakonec takový, že modře až hnědočerně se obarvila jádra. Svalstvo bylo do červena, erytrocyty oranžové a kolagenní vazivo zelené. [21]



Obrázek 11 – Postup lázní při barvení Massonovým zeleným trichromem [vlastní zdroj].

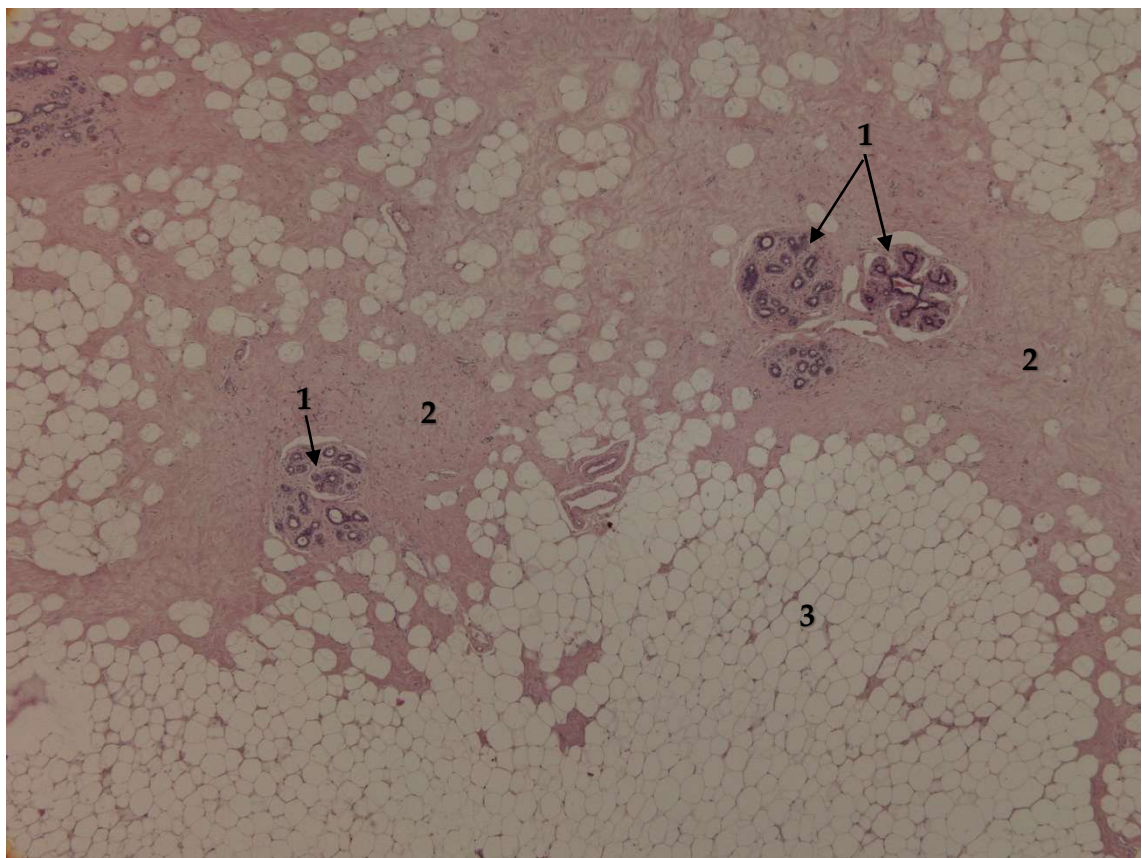
#### 4.4 Montování preparátů

Pro dokončení obarvených preparátů už zbývá je jen zamontovat tak, aby nedošlo k jejich poškození. To se provádí přilepením krycího sklíčka na obarvený řez. Máme různé druhy montovacích lepidel. Hlavní dělení je dle rozpustnosti ve vodě. Mezi média ve vodě nerozpustná řadíme kanadský balzám, cedrový olej či syntetické pryskyřice. Lepidla mísitelná s vodou jsou například glycerin a Apáthyho sirup. Naše řezy jsme montovali pomocí média syntetické pryskyřice s názvem DePeX. Na lehce hadříkem osušené podložní sklo s preparátem jsme kápili kapku DePeXu a na střed jsme přiložili krycí sklíčko. Důležité bylo dávat pozor, aby se nám při montování nedostaly mezi skla vzduchové bubliny. [18]

## 5 VÝSLEDKY

Preparáty byly zdokumentovány pomocí mikroskopu Olympus BX53 a snímány kamerou ProgRes C5 od společnosti Jenoptik (Germany). Úpravy fotografií probíhaly pomocí programu NIS - Elements verze 4.13 .

### 5.1 Mamma v klidu

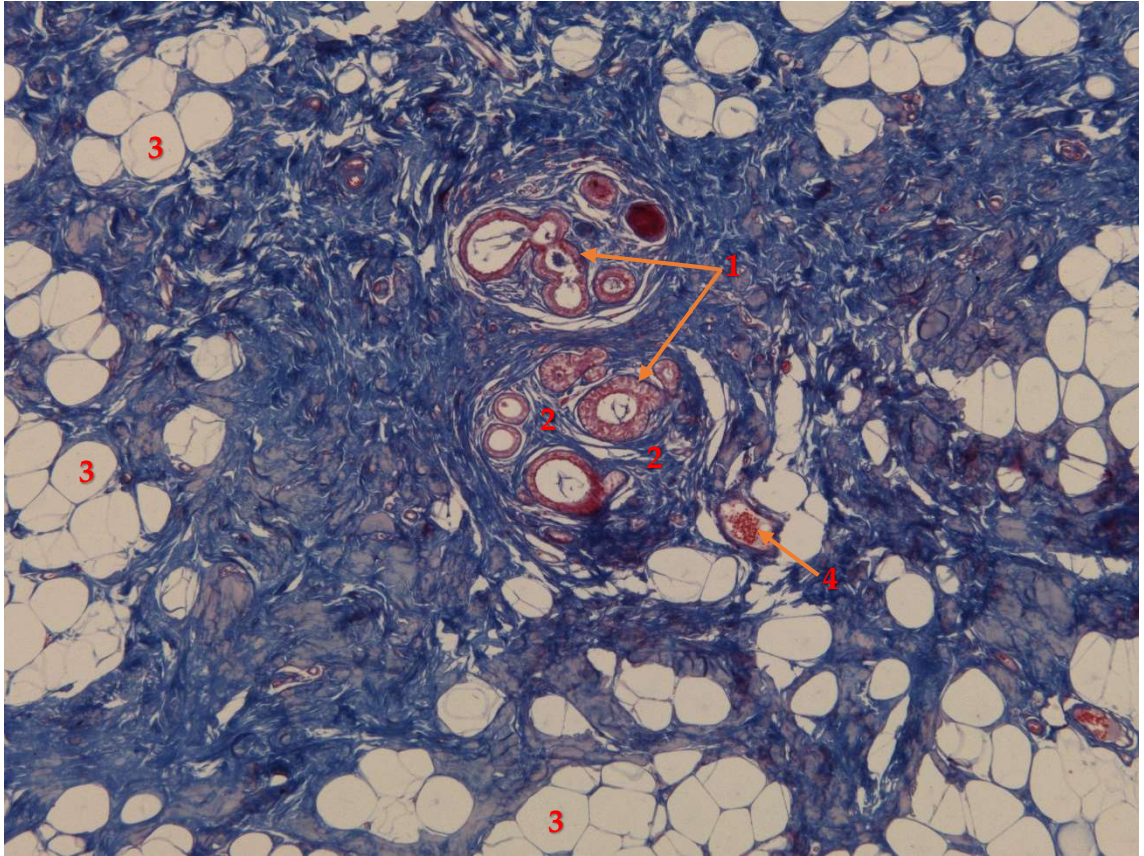


Obrázek 12 – Mamma v klidu, zvětšeno 4x, barveno Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].

1 – Malé lalůčky mléčné žlázy

2 – Interlobulární vazivo – husté kolagenní vazivo neuspořádané

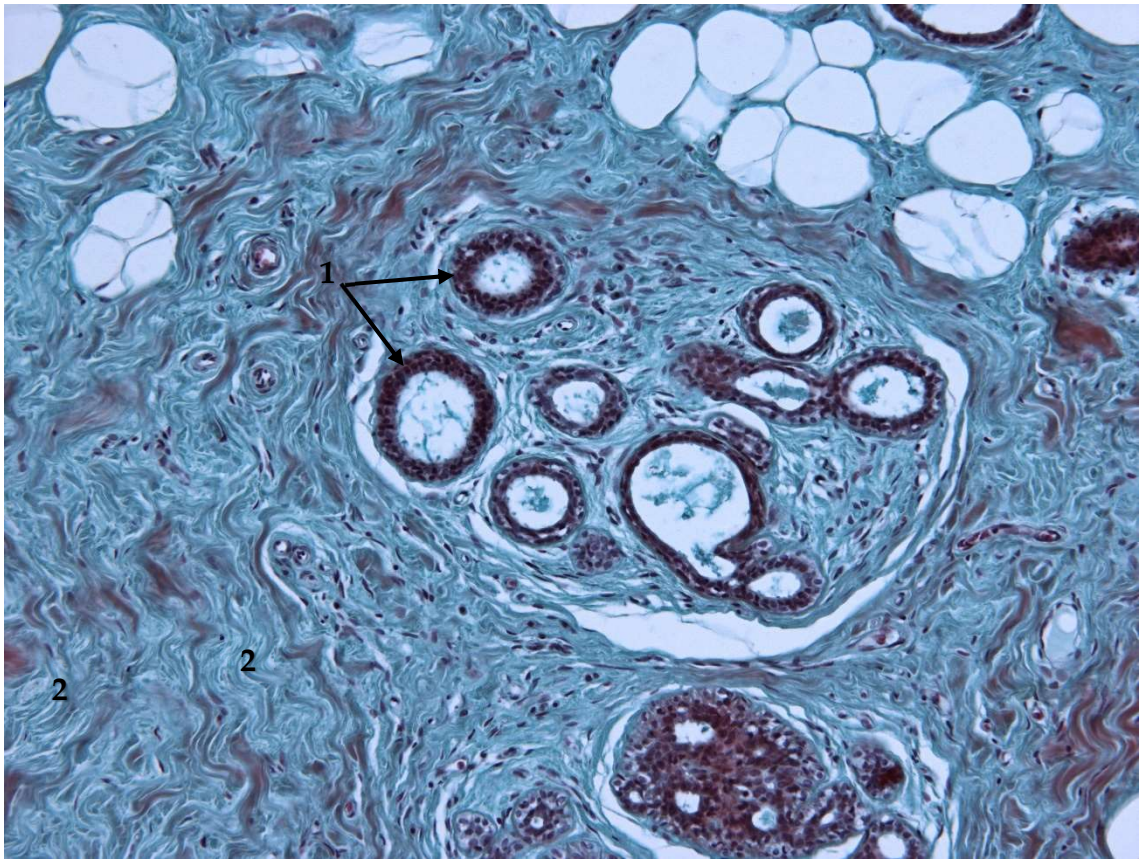
3 – Tukové vazivo



Obrázek 13 – Mamma v klidu, zvětšeno 4x, barvení AZAN [vlastní zdroj].

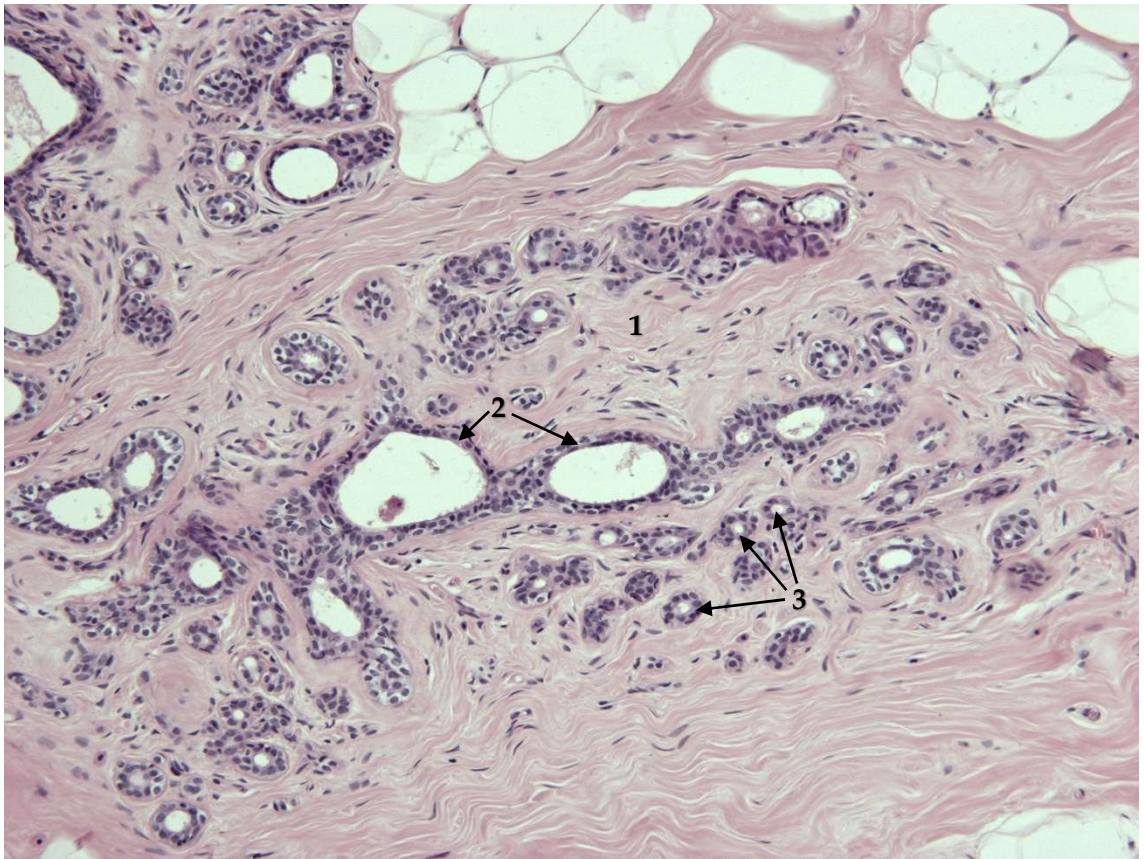
- 1 – Intralobulární vývody vystlány jednovrstevným kubickým epitelem
- 2 – Intralobulární vazivo – řídké kolagenní vazivo
- 3 – Univakuolární tukové buňky
- 4 - Venula





Obrázek 14 – Mamma v klidu, zvětšení 20x, barvení Massonový zelený trichriom [vlastní zdroj].

- 1 – Několik intralobulárních vývodů, které jsou základem lalůček
- 2 – Silná kolagenní vlákna hustého kolagenního vaziva (zelená vlákna)

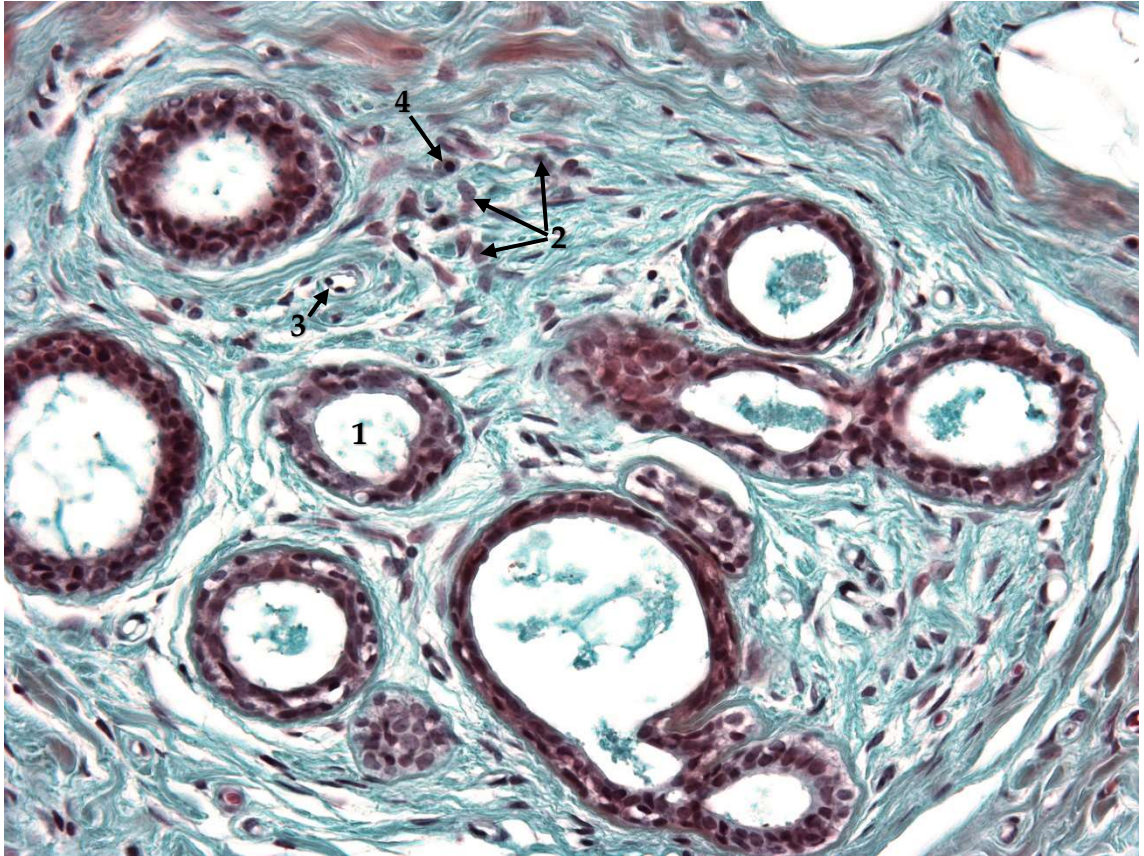


Obrázek 15 – Mamma v klidu, zvětšení 20x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].

1 – Intralobulární vazivo

2 – Intralobulární vývod, které se dále větví do terminálních vývodů

3 – Terminální intralobulární vývody



Obrázek 16 – Detail jednoho lalůčku mléčné žlázy v klidu, zvětšení 40x, barvení Massonův zelený trichrom [vlastní zdroj].

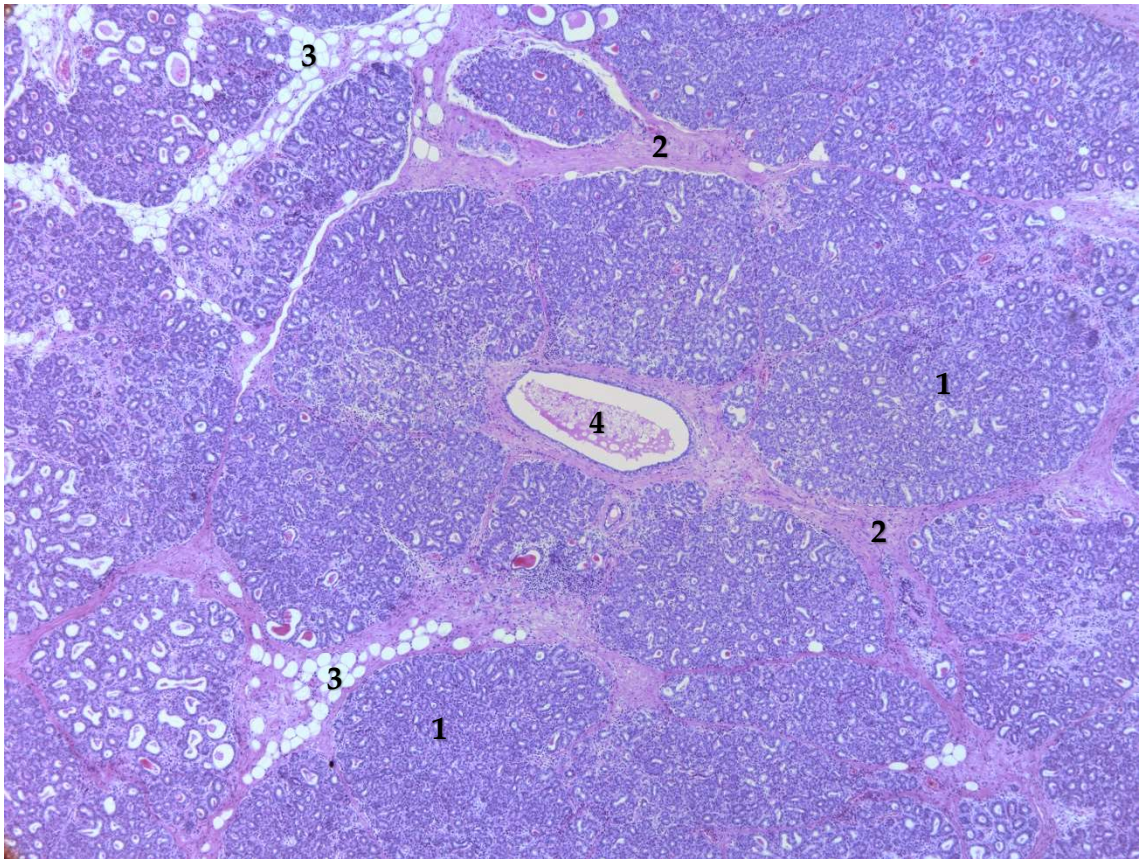
1 – Intralobulární vývod

2 – Jádra různých buněk řídkého kolagenního vaziva (převažují fibroblasty a fibrocyty)

3 – Kapilára

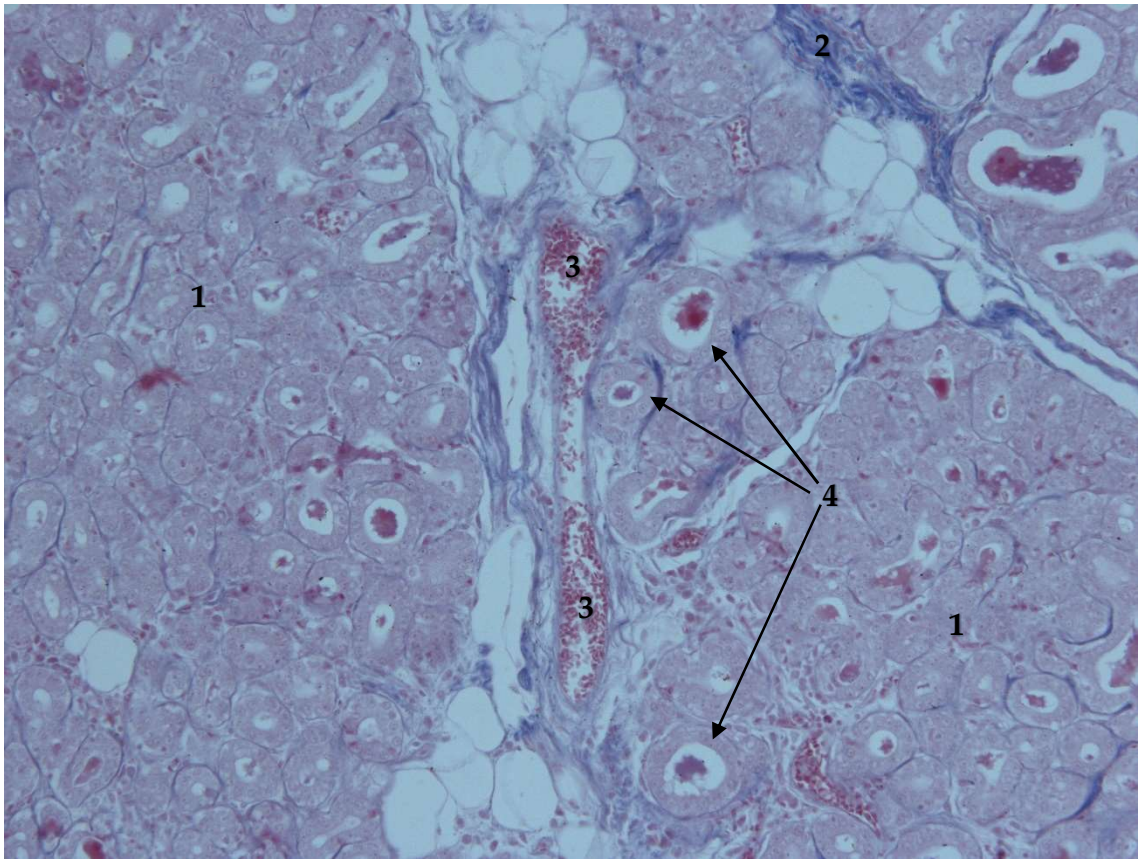
4 – Plasmatická buňka

## 5.2 Mléčná žláza v průběhu laktace



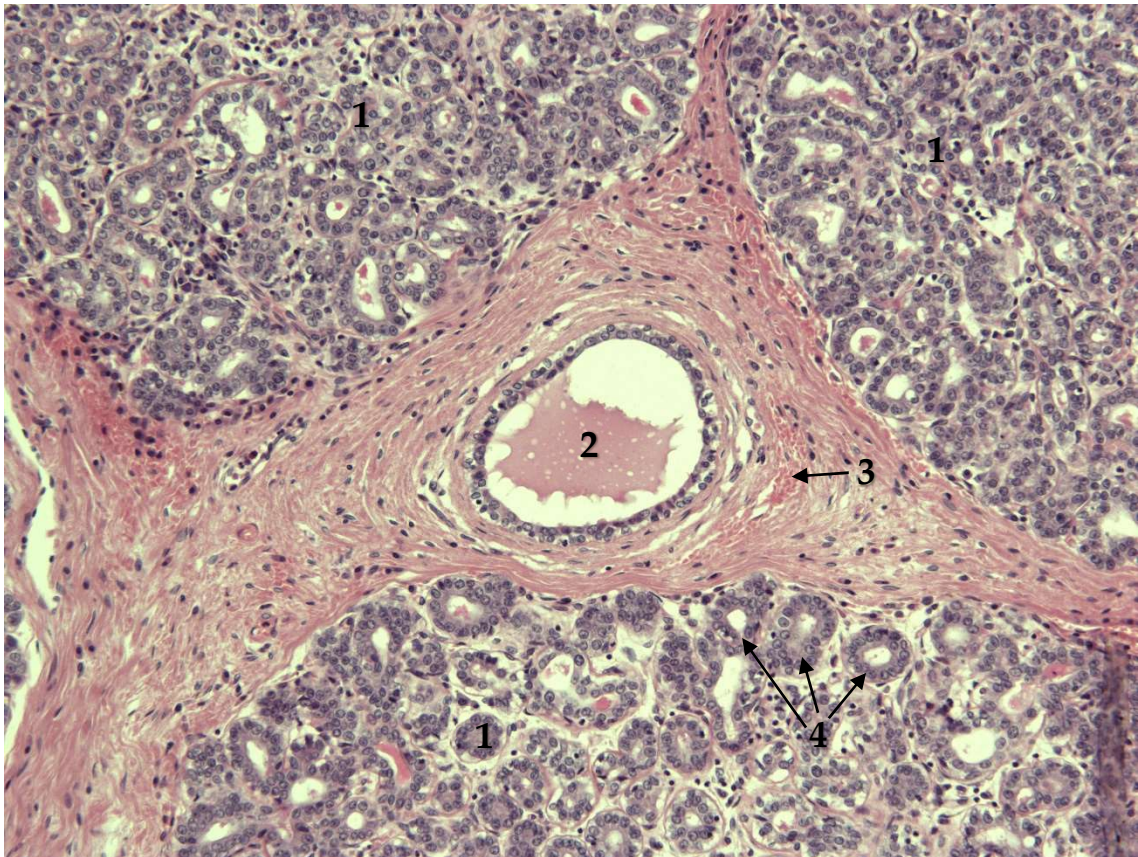
Obrázek 17 – Mléčná žláza v průběhu laktace, zvětšení 4x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].

- 1 – Velké a rozšířené lalůčky
- 2 – Úzká a tenká septa interlobulárního vaziva mezi lalůčky
- 3 – Zredukované tukové vazivo
- 4 – Interlobulární vývod obsahující sekret



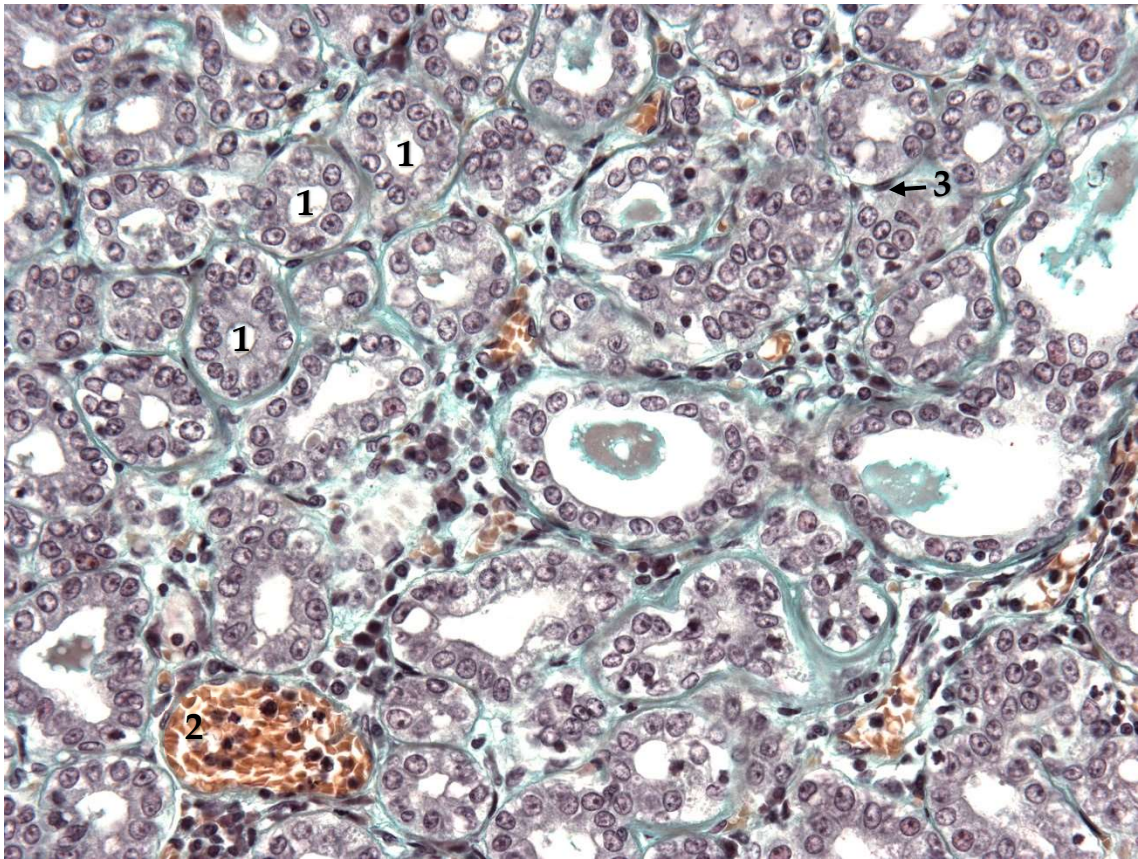
Obrázek 18 – Mamma v období laktace, zvětšení 20x, barvení AZAN [vlastní zdroj].

- 1 – Velké rozšířené lalůčky
- 2 – Úzká septa z hustého kolagenního vaziva oddělující jednotlivé lalůčky
- 3 – Věna s formovanými krevními elementy
- 4 – Intralobulární vývody



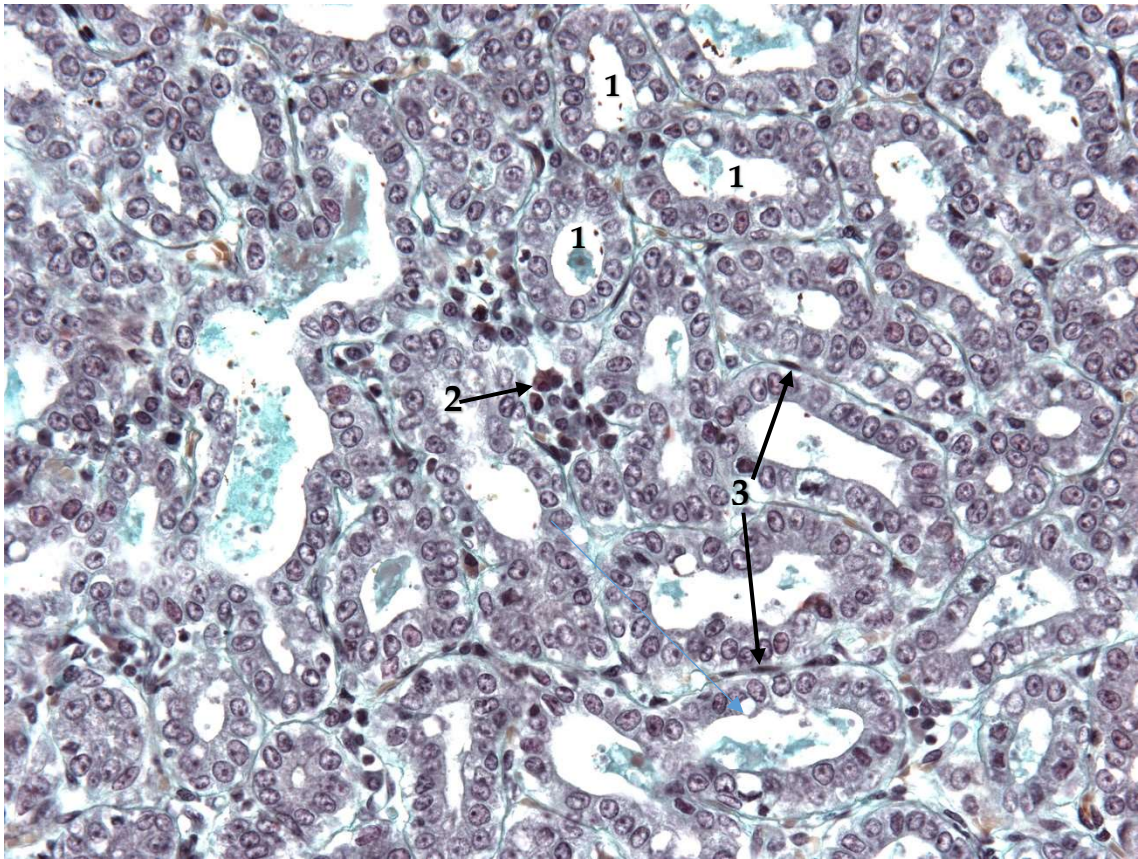
Obrázek 19 – Mamma laktující, zvětšení 20x, barvení Hematoxylin-eosin  
[vlastní zdroj].

- 1 – Lalůčky
- 2 – Interlobulární vývod obsahující sekret
- 3 – Venula
- 4 – Sekreční alveoly



*Obrázek 20 – Mléčná žláza v období laktace – detail z jednoho lalůčku, zvětšení 40x, barvení Massonův zelený trichrom [vlastní zdroj].*

- 1 – Sekreční alveoly vystlány sekrečními buňkami
- 2 – Malá venula – oranžovohnědé erytrocyty
- 3 – Jádro myoepitelové buňky



Obrázek 21 – Detail z jednoho lalůčku mléčné žlázy, zvětšení 40x, barvení Massonův zelený trichrom [vlastní zdroj].

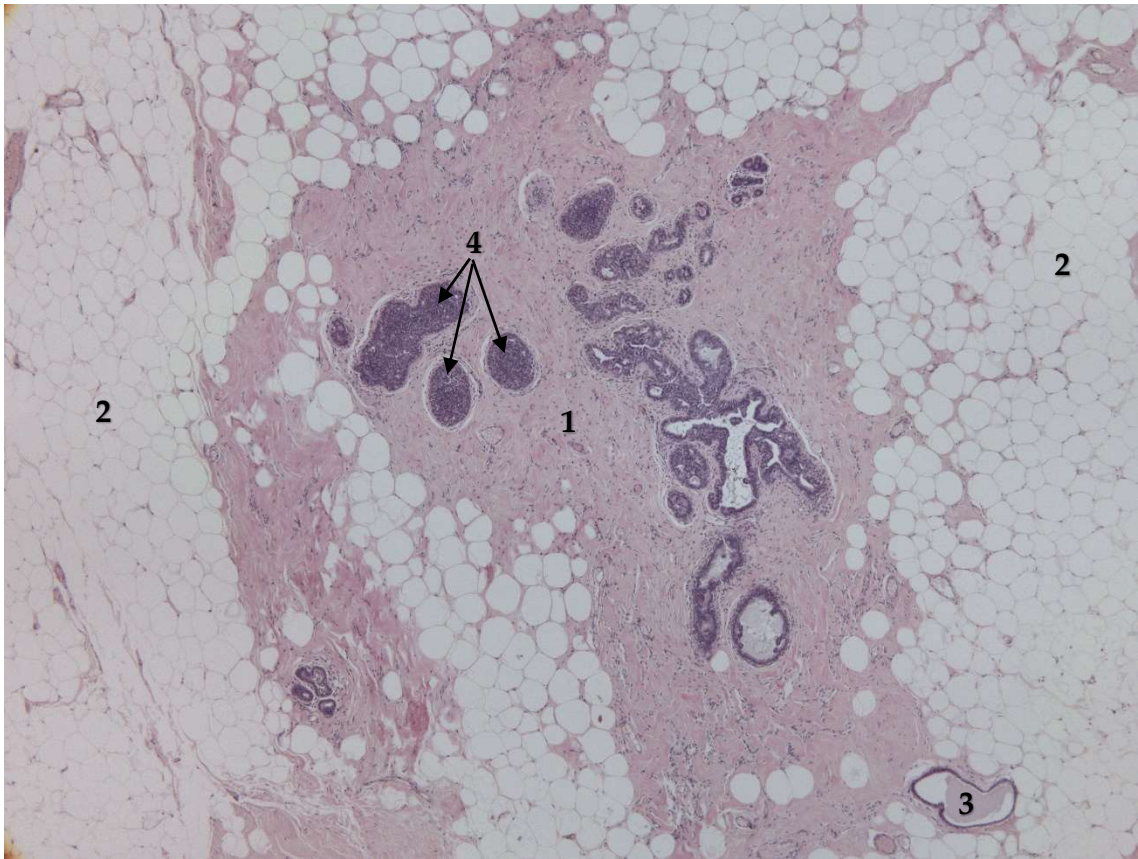
1 – Sekreční alveoly

2 – Tři plazmatické buňky produkující sekreční imunoglobuliny

3 - Myoepitelové buňky (vidíme dobře jejich jádra, kontrakce jejich výběžku napomáhá rychlejšímu uvolnění sekretu).



### 5.3 Duktální karcinom mléčné žlázy



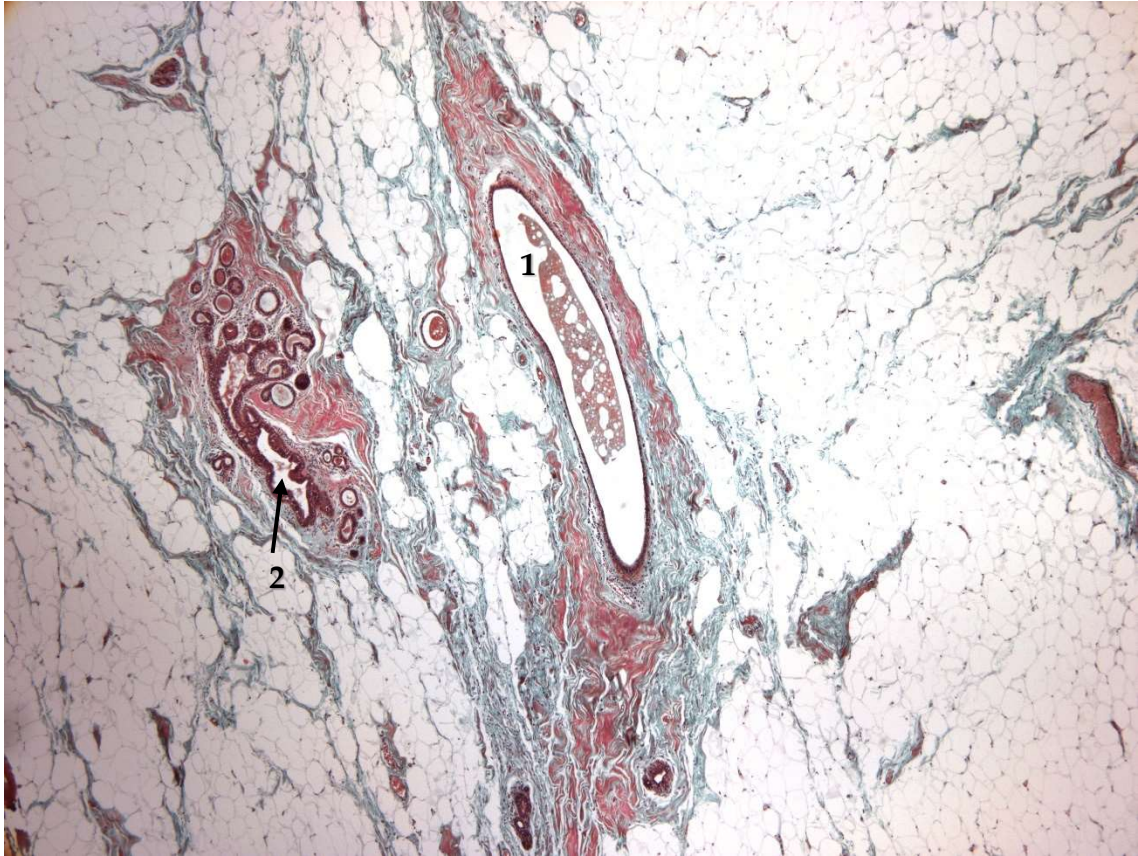
Obrázek 22 – Karcinom mléčné žlázy, zvětšení 4x, barvení hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].

1 – Lalůček

2 – Tukové vazivo

3 – Interlobulární vývod

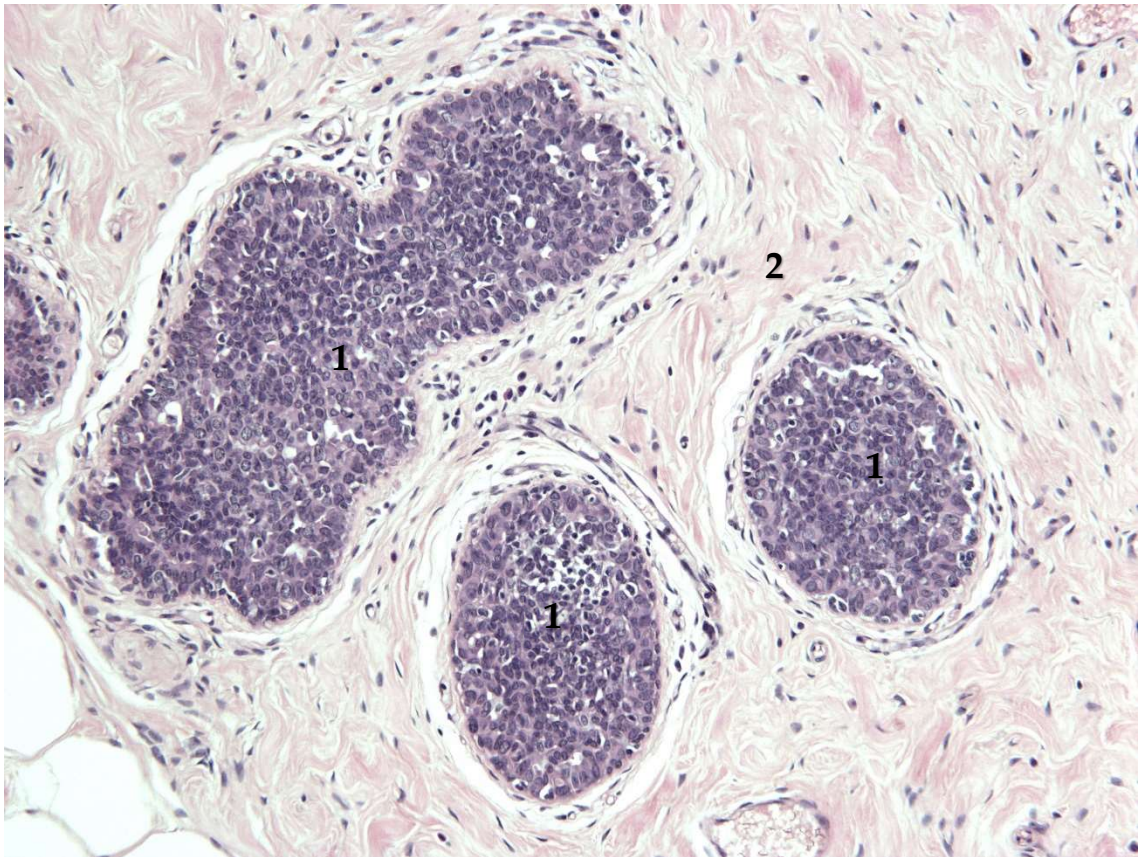
4 – Intralobulární vývody se zcela uzavřeným lumenem



Obrázek 23 – Karcinom mléčné žlázy, zvětšení 4x, barvení Massonův zelený trichrom [vlastní zdroj].

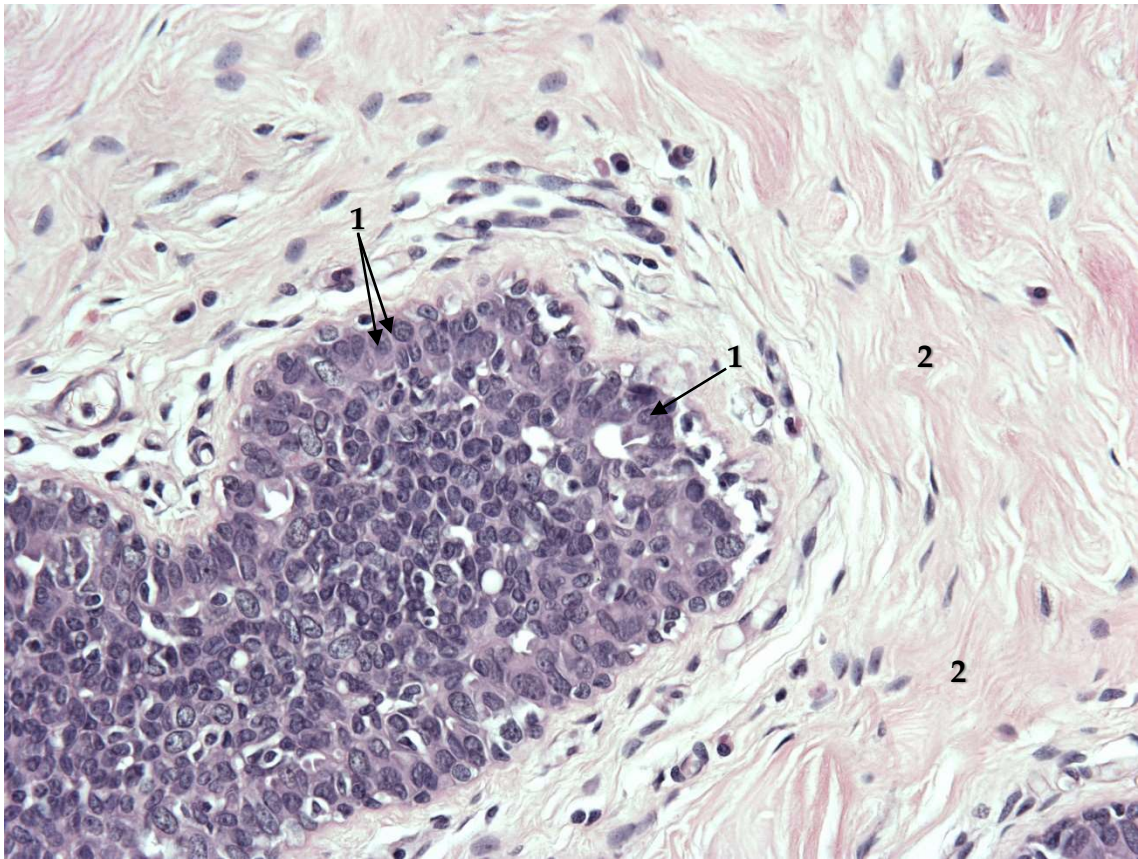
1 – Interlobulární vývod obsahující sekret

2 – Intralobulární vývod s částečně uzavřeným lumenem



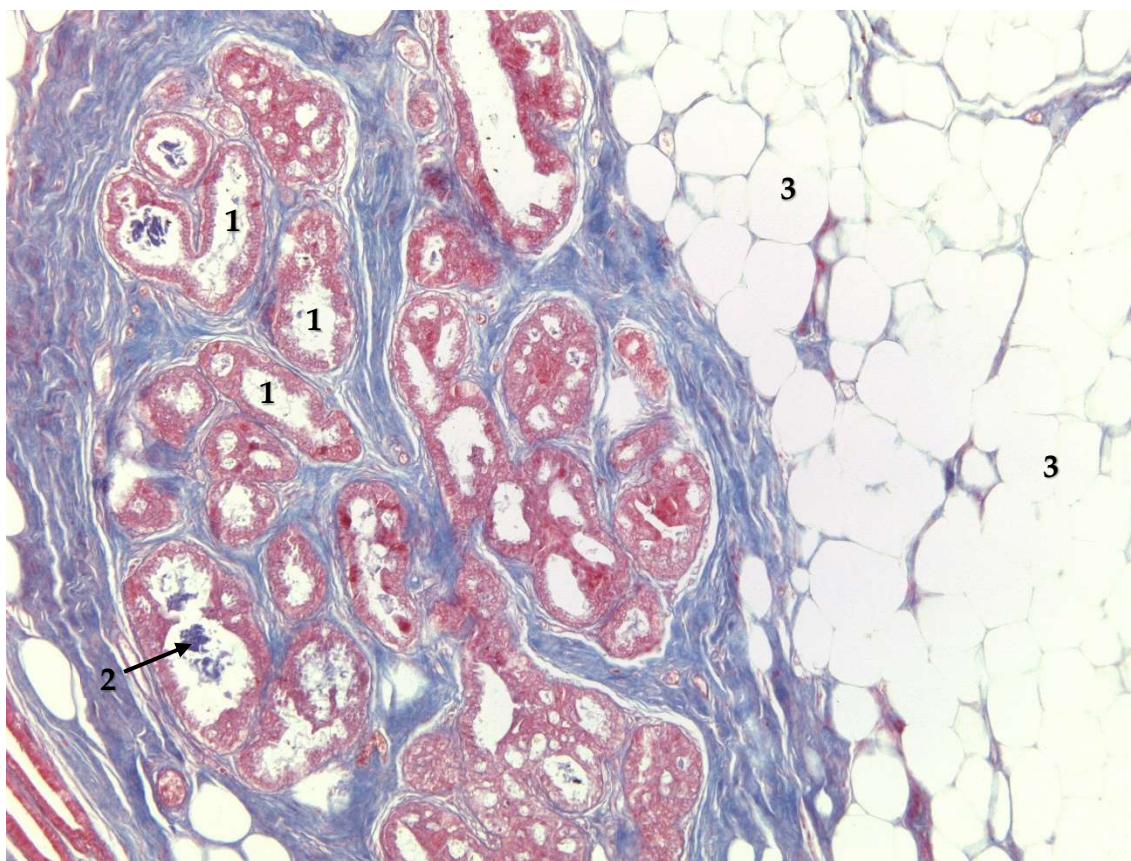
Obrázek 24 – Karcinom mléčné žlázy, zvětšení 20x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].

- 1 – Obrovská nekontrolovatelná proliferace buněk, které vyplňují kompletně lumen vývodu. Výrazně viditelné mitotické figury.
- 2 – Intralobulární řídké kolagenní vazivo.



Obrázek 25 – Detail z intralobulárního vývodu, zvětšení 40x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].

- 1 – Typické karcinomové buňky plachtovitého tvaru mají výrazně zvětšený nukleocytoplasmatický poměr – tzv. vidíme velká jádra v těchto buňkách
- 2 – Řídké kolagenní vazivo



Obrázek 26 – Karcinom mléčné žlázy, zvětšení 10x, barvení AZAN [vlastní zdroj].

- 1 - Částečně uzavřený lumen v intralobulárních vývodech s nádorově změněným epitelem s dysplastickými změnami
- 2 – Částečně zachovaný sekret ve vývodech
- 3 – Tukové buňky

## 6 DISKUZE

Nádorová onemocnění jsou i v dnešní době s našimi znalostmi lidského těla a technologiemi, které máme, velice složitá onemocnění. Denně na ně umírají lidé po celém světě. Námět této bakalářské práce se proto zaměřuje na jeden z mnoha typů těchto onemocnění a tím je problematika karcinomů mléčné žlázy.

Účelem práce bylo přiblížení a popsání histologické struktury mléčné žlázy, porozumění jejímu vývoji a funkci, ale hlavním cílem bylo zhotovit a porovnat mezi sebou zdravé a patologické preparáty. V kapitole Metodika jsou podrobně popsány histologické techniky, které byly ke splnění tohoto cíle využity. Po jemném a šetrném zpracování vzorků zdravé mléčné žlázy, mléčné žlázy v graviditě a patologické žlázy, vznikly tenké řezy na podložním skle. Dále bylo nejdůležitější zvolit si správné metody barvení, které nám jednotlivé struktury barevně oddělily. Všechny obarvené vzorky byly pozorovány pomocí světelného mikroskopu při různých zvětšeních, pak z nich byly vybírány ty preparáty, kde byly nejvíce zřetelné tkáňové struktury.

Na tuto práci byla nejprve zvolena metoda barvení Hematoxylin – eosin. Tato technika se řadí k základním a přehledným barvicím metodám běžně využívaným v histologických i patologických laboratořích. U zdravé mléčné žlázy na obrázcích 12 a 15 byl zřetelně viditelný kontrast tohoto barvení, kdy jádra buněk se zde obarvila modrofialově, svalstvo a případné erytrocyty červeně a kolagenní vazivo růžově. Stejně výsledky se projeví i u barvení gravidních preparátů, tedy na obrázcích 17, 19, i u patologických vzorků na obrázcích 22, 24 a 25.

Existuje mnoho dalších barvicích technik, které napomáhají k širší specifikaci tkáňových struktur. Pro tuto práci byla vybrána speciální metoda AZAN a Massonův zelený trichrom. Metodou AZAN byla ve všech třech typech

preparátů na obrázcích 13, 18, 26 zvýrazněna karmínovou červení jádra, kolagenní vaziva se obarvila modře, svalstvo červeně a případné erythrocyty oranžově. Poslední již zmíněnou barvicí metodou byl Massonův zelený trichrom, který byl použit hlavně pro změnu a oživení barevného zobrazení. Na obrázcích zdravé mléčné žlázy 14 a 16, byl dobře zřetelný kontrast barev, kde zeleně se obarvila kolagenní vlákna, červeně svalová vlákna a jádra buněk byla hnědočerná. Na obrázku 20 u mléčné žlázy v období laktace byly zřetelně vidět oranžové erythrocyty, které svědčí o jejím dobrém prokrvení.

Na patologických vzorcích, které na tuto práci poskytla jedna z histopatologických laboratoří v Praze, byl sledován invazivní duktální karcinom grade 1 (viz obrázky 22-26). Tento tumor je nejběžněji detekovatelným typem z invazivních karcinomů. Na obrázcích 15 a 16 byla viděna normální histologická stavba intralobulárních vývodů tvořených jednovrstevným či dvouvrstevným kubickým epitelem. Na porovnání k tomu byly patologické obrázky 23 a 26, na kterých byl sledován též v intralobulárních vývodech částečně uzavřený lumen s nádorově změněným epitelem s dysplastickými změnami. Na obrázcích 22, 24 a 25 byl poté pozorován zcela uzavřený lumen intralobulárního vývodu, a to z důvodu nekontrolovatelného dělení buněk. Na obrázku 25 při mikroskopickém zvětšení 40x bylo dobře vidět buňky s velkými jádry, kde jádro k cytoplazmě bylo v poměru 1:1. Dále zde byly viditelné buňky zvláštního plachtovitého tvaru, které jsou typické pro prsní karcinomy.

Onemocnění tohoto typu je nebezpečné především z toho důvodu, že nádor na svém počátku nemusí vykazovat žádné příznaky. Pacient zprvu nepozoruje změny a připadá si zdravý. Často se na nemoc přijde až v pozdějších stádiích, kdy se nádor projeví viditelně. Dalším prozatím nevyřešeným problémem jsou příčiny vzniku novotvaru, které nejsou doposud zcela známy. Existuje ale mnoho

rizikových faktorů, kterým lze předcházet, a tím se i vyvarovat vzniku nádoru (viz kapitola Prevence).

Jedinou účinnou prevencí je však včasná diagnostika. Nejvíce ohroženou skupinou jsou ženy od 45. roku a výš. Jejich praktický lékař či gynekolog jim vystaví žádanku na preventivní mamografický screening. Toto vyšetření je jednou za dva roky hrazeno pojišťovnou a patří mezi neúčinnější metody záchytu karcinomu.

Nádor se ovšem vyskytuje i u žen nižšího věku, které mohou mít zděděné geny s mutací. Ve většině těchto případů je odhaleno až pozdnější stádium nemoci. Důvodem je, že mladé ženy nemají možnost odborného preventivního vyšetření. Jedinou metodou, jak mohou onemocnění předcházet, je samovyšetření. Jedná se o několik postupů prohmatání svých prsou v různých polohách. Po nalezení jakékoliv nesrovnalosti může pacientka požádat o odborné vyšetření ultrazvukem. Mamografický screening se u mladých žen nedoporučuje z hlediska radiační zátěže.

Po mamografickém vyšetření, biopsii a určení typu karcinomu prsu je na řadě léčba. Nádorová onemocnění obecně jsou často těžce léčitelná, vše ale závisí na jejich rozsahu. Jedná-li se o lokální (benigní) karcinom v prsu, tak je jeho léčba snazší než u maligních nádorů, které metastazují do celého těla. Vedle klasických postupů léčby (viz kapitola Léčba rakoviny prsu obecně) se vede řada klinických studií, kde se odborníci snaží přijít na nové způsoby léčby. Příkladem mohou být jak různé složky jedů rostlin a zvířat, tak i využití různých nových technologií či vylepšování těch starých.



## 7 ZÁVĚR

Bakalářské práce s názvem „Mléčná žláza a její normální histologická stavba v porovnání s patologií karcinomu“ se zabývala celosvětovým problémem postihujícím především ženskou populaci, a to rakovinou prsu.

V teoretické části byla přiblížena anatomie prsu. Dále byla popsána histologická stavba a proces vývoje mléčné žlázy do podoby jakou mají dospělé ženy. V patologii bylo obecně pojednáváno o rizikových faktorech a vzniku nádorových buněk procesem kancerogeneze. Zmíněna byla též klasifikace karcinomů mammy. Následující kapitoly se zaměřovaly na složení mateřského mléka, na prevenci a včasnou diagnostiku a v závěru této části i na možnou léčbu tohoto onemocnění.

Cílem praktické části bylo popsání metod tvorby histologického preparátu od odběru až po montování. Důležitým krokem bylo zvolit si správné barvení, které poté přehledně vyznačilo pozorované struktury. Díky tomu bylo možno lépe odlišit a porovnat změny mezi zdravou a patologickou strukturou mléčné žlázy. Tyto rozdíly jsou prokazovány na fotografiích ze světelného mikroskopu v kapitole Výsledky.

Tato práce by mohla pomoci lidem k pochopení, co je to rakovina prsu a jak nepodceňovat prevenci. Dále by mohla sloužit k porozumění vývoje a stavby mléčné žlázy v prsu. Zároveň by měla poskytovat návod na zhotovení histologického preparátu.

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BRCA1, BRCA2	Zástupce tumor supresorové geny
CCB	Standartní bioptická metoda k odebrání tkáně
Cytochrom p450	Hematoproteinový enzym
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DCIS	Duktální karcinom in situ (na místě)
DePeX	Bezvodé montovací médium
EBV	Epstein-Barrové virus
GER	Granulární (drsne) endoplazmatické retikulum
HPV	Lidský papilomavirus
HON	Hemolytické onemocnění novorozenců
HCL	Kyselina chlorovodíková
LCIS	Lobulární karcinom in situ
LU	Lymfatické uzliny
NaHCO <sub>3</sub>	Hydrogenuhlíčan sodný neboli jedlá soda
RNA	Ribonukleová kyselina
SVAB	Speciální stereotaktickou vakuovou biopsii

TSG	Tumor supresorové geny
TERT	Enzym - telomerázová reverzní transkriptáza
UV	Ultrafialové záření

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ÚZIS *Novotvary 2016 ČR: Cancer incidence in the Czech Republic* [online]. Praha 2: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2016. [cit. 2019-09-14]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/sites/default/files/knihovna/novotvary2016.pdf>
- [2] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Ilustroval Ivan HELEKAL, ilustroval Jan KACVINSKÝ, ilustroval Stanislav MACHÁČEK. Praha: Grada, 2016. ISBN isbn:978-80-247-5636-3.
- [3] DYLEVSKÝ, Ivan. *Funkční anatomie*. Praha: Grada, 2009. ISBN isbn978-80-247-3240-4.
- [4] SADLER, T. W. *Langmanova lékařská embryologie*. Překlad 10. vydání. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-2640-3.
- [5] MESCHER, Anthony L. *Junqueirovy základy histologie*. 4. vydání – 1. české. Praha: Galén, 2018. ISBN 978-80-7492-324-1.
- [6] VAJNER, Luděk, Jiří UHLÍK, Tomáš NOVOTNÝ a Václava KONRÁDOVÁ. *Lékařská histologie II.: mikroskopická anatomie*. 2., upravené vydání. Praha: Karolinum, 2017. ISBN 978-80-246-3827-0.
- [7] HOFMANOVÁ, Jiřina. *Genotoxicita a Karcinogeneze: Nádorové onemocnění, úvod a základní pojmy* [online], Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno 2013 [cit. 2019-10-18], Dostupné z: [https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/genotox/web/pages/01\\_nador.html](https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/genotox/web/pages/01_nador.html)
- [8] BOUCHAL, Pavel. *Kancerogeneze a nádorová biochemie* [přednáška online]. Masarykův onkologický ústav [cit. 2019-10-18] Dostupné z: [https://is.muni.cz/el/1431/podzim2013/C7187/um/P1\\_Kancerogeneze\\_nadorova\\_biochemie\\_Bouchal.pdf](https://is.muni.cz/el/1431/podzim2013/C7187/um/P1_Kancerogeneze_nadorova_biochemie_Bouchal.pdf)
- [9] MASOPUST J., PRŮŠA R. *Patobiochemie buňky* [online]. Masarykova univerzita Brno [cit. 2019-10-19]. Dostupné z: <http://dotdiag.cz/img/prednasky/bunka.pdf> (wikiskripta)

- [10] GOETZ, Petr, Věra KRUTÍLKOVÁ. Kancerogeneze. In: *ZAM Zdravotnictví a medicína* [online]. Copyright 2020 Mladá fronta a.s. [cit. 2019-10-19] Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/kancerogeneze-146719>
- [11] MAČÁK, Jiří, Jana MAČÁKOVÁ a Jana DVOŘÁČKOVÁ. *Patologie*. 2., dopl. vyd. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3530-6.
- [12] *Kojení* [online], WikiSkripta, projekt 1. lékařské fakulty a Univerzity Karlovy [cit. 2019-10-30] Dostupné z: [https://www.wikiskripta.eu/w/Kojen%C3%AD#Slo.C5.BEen.C3.AD\\_mat\\_e.C5.99sk.C3.A9ho\\_ml.C3.A9ka](https://www.wikiskripta.eu/w/Kojen%C3%AD#Slo.C5.BEen.C3.AD_mat_e.C5.99sk.C3.A9ho_ml.C3.A9ka)
- [13] ABRAHÁMOVÁ, Jitka. *Co byste měli vědět o rakovině prsu*. 2., aktualizované a doplněné vydání. Praha: Grada, 2019. ISBN 978-80-271-2055-0.
- [14] PETRÁKOVÁ, Katarína, Rostislav VYZULA. Nádory prsu (C50) – O nádorech prsu. In: *Linkos* [online], ČOS ČLS JEP 2020, [cit. 2019-11-08], Dostupné z: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/onkologicke-diagnozy/nadory-prsu-c50/o-nadorech-prsu/>
- [15] *Mammacentrum* [online]. MEDICON a.s., Copyright © 2018 [cit. 2019-11-09]. Dostupné z: <https://www.mammacentrum.cz/>
- [16] *Mamo.cz* [online]. Masarykova univerzita, Brno, 2019 [cit. 2019-11-09]. Dostupné z: <https://www.mamo.cz/>
- [17] VIPHARM. karcinom prsu [online]. Vipfarm © 2016 [cit. 2019-11-10]. Dostupné z: <https://vipfarm.cz/karcinom-prsu>
- [18] BECKE, Richard. *Histologická technika 1, 2, 3 [přednáška]*. Praha: ČVUT v Praze - Motol na 2. lékařské fakultě Univerzity Karlovy, 9. října 2018.
- [19] *Histologický Atlas řezů orgány myši domácí* [online]. Klára Maratová [cit. 2019-12-13] <http://biologie.pedf.cuni.cz/maratova/krajeni--ez--1.html>
- [20] SUVARNA, S. Kim., Christopher LAYTON a John D. BANCROFT. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, 8.vydání, Elsevier 2019. ISBN 978-0-7020-6864-5

[21] JIRKOVSKÁ, Marie. *Histologická technika: pro studenty lékařství a zdravotnické techniky*. Praha: Galén, 2006. Základy (Galén). ISBN 80-72-62-263-3.

## 10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Sekrece v mléčné žláze [vlastní zdroj].....	15
Obrázek 2 - Mamografický přístroj vlevo a screeningový snímek prsu vpravo [vlastní zdroj].....	23
Obrázek 3 - Vlevo přístroj na stereotaktickou vakuovou biopsii, vpravo speciální bioptická jehla [vlastní zdroj]. ....	24
Obrázek 4 - Vlevo fotografie z vakuové biopsie pod mamografem a vpravo odebrané válečky tkáně [vlastní zdroj].....	25
Obrázek 5 – Mamografický snímek s vyznačenou mikrokalciﬁkací [vlastní zdroj].....	25
Obrázek 6 - Odebraný patologický vzorek fixovaný v lahvičce s 10% formolem [vlastní zdroj]. ....	29
Obrázek 7 – Rotační mikrotom v praxi [vlastní zdroj].....	32
Obrázek 8 - Lázně procesu deparafinace před samotným barvením [vlastní zdroj].....	33
Obrázek 9 – Po sobě jdoucí lázně při barvení metodou Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].....	35
Obrázek 10 – Proces barvení metodou AZAN až po projasnění xylenem [vlastní zdroj].....	36
Obrázek 11 – Postup lázní při barvení Massonovým zeleným trichromem [vlastní zdroj].....	38
Obrázek 12 – Mamma v klidu, zvětšeno 4x, barveno Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].....	39
Obrázek 13 – Mamma v klidu, zvětšeno 4x, barvení AZAN [vlastní zdroj]...	40
Obrázek 14 – Mamma v klidu, zvětšení 20x, barvení Massonový zelený trichriom [vlastní zdroj]. ....	41
Obrázek 15 – Mamma v klidu, zvětšení 20x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].....	42

Obrázek 16 – Detail jednoho lalůčku mléčné žlázy v klidu, zvětšení 40x, barvení Massonův zelený trichrom [vlastní zdroj].....	43
Obrázek 17 – Mléčná žláza v průběhu laktace, zvětšení 4x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj] .....	44
Obrázek 18 – Mamma v období laktace, zvětšení 20x, barvení AZAN [vlastní zdroj].....	45
Obrázek 19 – Mamma laktující, zvětšení 20x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].....	46
Obrázek 20 – Mléčná žláza v období laktace – detail z jednoho lalůčku, zvětšení 40x, barvení Massonův zelený trichrom [vlastní zdroj]. .....	47
Obrázek 21 – Detail z jednoho lalůčku mléčné žlázy, zvětšení 40x, barvení Massonův zelený trichrom [vlastní zdroj]. .....	48
Obrázek 22 – Karcinom mléčné žlázy, zvětšení 4x, barvení hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].....	49
Obrázek 23 – Karcinom mléčné žlázy, zvětšení 4x, barvení Massonův zelený trichrom [vlastní zdroj]. .....	50
Obrázek 24 – Karcinom mléčné žlázy, zvětšení 20x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj]. .....	51
Obrázek 25 – Detail z intralobulárního vývodu, zvětšení 40x, barvení Hematoxylin-eosin [vlastní zdroj].....	52
Obrázek 26 – Karcinom mléčné žlázy, zvětšení 10x, barvení AZAN [vlastní zdroj].....	53