

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**Nádory mléčné žlázy u psů**

Vedoucí bakalářské práce:           Ing. Kateřina Vernerová

Konzultant bakalářské práce:

Autor bakalářské práce:           Hedvika Bártová

České Budějovice, 2017

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
Fakulta zemědělská  
Akademický rok: 2015/2016

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Hedvika BÁRTOVÁ**  
Osobní číslo: **Z13725**  
Studijní program: **B4131 Zemědělství**  
Studijní obor: **Zemědělské biotechnologie - Živočišné**  
Název tématu: **Nádory mléčné žlázy u psů**  
Zadávací katedra: **Katedra speciální produkce rostlinné**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Nádory mléčné žlázy patří k velmi častým nádorovým onemocněním u fen, především vyššího věku. Maligní nádory mléčné žlázy se vyskytují u 30 % a velmi často metastazují především do plic, mízních uzlin, orgánů dutiny břišní a kostí. Diagnostika nádorů mléčné žlázy je poměrně snadná a opírá se o přítomnost nodulů nebo masy umístěné v podkoží nebo svalovině; provádí se vyšetření krve, pro rozlišení benigního a maligního procesu v mléčné žláze cytologické vyšetření, pro přesné určení typu nádoru histologické vyšetření a k vyloučení či potvrzení metastáz v hrudníku a dutině břišní se používají RTG a USG diagnostické metody. Léčba spočívá v chirurgickém odstranění postižené části mléčné žlázy a pro eliminaci rizika recidivy onemocnění bývá zákrok spojen i s kastrací, do půl roku by měla být odstraněna i druhá mléčná lišta a zvíře je nutné podrobit adjuvantní chemoterapii.

Cílem bakalářské práce je zpracovat literární přehled zabývající se nejnovějšími poznatky o nádorových onemocněních mléčné žlázy u psů. Bakalářská práce bude zpracována formou rešerše a bude reflektovat recentní poznatky z tuzemských i zahraničních recenzovaných publikací. V literární studii uveďte charakteristiku a klinický obraz jednotlivých typů benigních a maligních nádorů, zmiňte se o roli genetiky v jejich patogenezi a pojednejte o současných možnostech jejich diagnostiky a terapie.

Rozsah grafických prací: 5 stran  
Rozsah pracovní zprávy: 25 - 30 stran  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

Nakahira R., Michishita M., Yoshimura H., Hatakeyama H., Takahashi K., 2015. Neuroendocrine carcinoma of the mammary gland in a dog. *J Comp Pathol*, Feb-Apr;152(2-3):188-91.

Matos A.J., Santos A.A., 2015. Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours: Part 1. Proliferation, apoptosis and DNA repair. *Vet J*, Feb 11. pii: S1090-0233(15)00065-9.

Santos A.A., Matos A.J., 2015. Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours: Part 2. Invasion, angiogenesis, metastasis and therapy. *Vet J*, Mar 27. pii: S1090-0233(15)00126-4.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Kateřina Vernerová  
Katedra speciální produkce rostlinné

Datum zadání bakalářské práce: 20. června 2016

Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2017

  
prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení  
IČO: 1888, 370 05 Česká Budějovice

  
prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 20. června 2016

## **Prohlášení o původnosti včetně souhlasu s uveřejněním práce**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, dne 15. 4. 2017 .....

podpis studenta

## **Poděkování**

Především bych chtěla poděkovat svým sourozencům a rodičům, dále pak příteli, kamarádům a oběma vedoucím mé bakalářské práce. Boženě Hosnedlové, chci poděkovat za rady, ochotu a čas, který mi věnovala. Díky nimž jsem dokázala skloubit svoje nadšení a získané informace při sepsání této práce. Kateřině Vernerové pak děkuji dvojnásob, jelikož se zasloužila o to, abych vše dotáhla do konce, a to s klidem a pohodou na tváři. Své rodině děkuji za nesmírnou trpělivost a pochopení, při hodinách strávených mimo domov, v zázemí knihovny. Svým přátelům děkuji za posílání pozitivních myšlenek, které mne motivovaly k vyšším výkonům a lepší koncentraci. A nakonec děkuji svému drahému příteli za velikou podporu a pomoc v nesnázích ve formě nekonečného moře slov a gest, které mi pomáhaly neztrácet poslední naději a držet mne v pohodové náladě po celou dobu psaní této bakalářské práce.

## **Abstrakt**

Tato práce pojednává o nádorech mléčné žlázy u psů, příčinách jejich vzniku, genetickém podkladu, hormonálních faktorech, diagnostice a možnostech terapie. Poté práce uvádí konkrétní případy z veterinární ordinace. A následně shrnuje, že nádory mléčné žlázy patří k velmi častým onemocněním u fen.

**Klíčová slova:** pes; nádory mléčné žlázy; vznik nádoru; hormony;  
kontaminanty prostředí; terapie

## **Abstract**

The bachelor thesis deals with mammary tumors in dogs, causes, genetic foundation, hormonal factors, diagnosis of disease and choice of therapy. Then the bachelor thesis cites specific cases from the veterinary clinic. And at the end of this thesis there are confirmation and summary that mammary tumors are very common disease in females.

**Keywords:** dog; mammary gland tumour; tumour development; hormones;  
environmental contaminants; therapy

## Obsah

1. ÚVOD .....	10
2. CÍLE PRÁCE .....	10
3. CHARAKTERISTIKA MLÉČNÉ ŽLÁZY U PSŮ .....	11
3.1 Anatomie a fyziologie mléčné žlázy .....	11
3.2 Mléčná žláza u psa .....	12
4. PROBLEMATIKA NÁDORŮ .....	13
4.1 Obecná charakteristika a vznik nádoru .....	13
4.2 Rozdělení nádorů dle nádorového bujení .....	15
4.2.1 Obecná charakteristika maligních a benigních nádorů .....	15
4.2.2 Rizika v chování nádorů .....	19
4.3 Výskyt nádorů ve tkáních .....	19
4.3.1 Pravděpodobnost výskytu CMT .....	19
4.3.2 Umístění nádorů v mléčné žláze .....	20
4.4 METASTÁZY .....	21
4.4.1 Charakteristika metastáz .....	21
4.4.2 Migrace nádorových buněk do okolních tkání .....	21
4.5 Výskyt metastáz ve tkáních .....	22
5. SPONTÁNNÍ INTRAEPITELIÁLNÍ LÉZE .....	23
5.1 Shrnutí naměřených hodnot .....	27
6. DĚLENÍ NÁDORŮ NEUROENDOKRINNÍ FUNKCÍ .....	27
7. POKROKY V POCHOPENÍ METABOLICKÝCH DRAH .....	28
7.1 Crosstalk nádorových buněk a fibroblastů asociovaných s rakovinou .....	28
7.1.1 Crosstalk stromatu a fibroblastů asociovaných s rakovinou .....	28
7.1.2 Spolupůsobení nádorových buněk a fibroblastů nádorového stromatu ...	29
7.2 Vztah imunitního systému a rakovinných buněk .....	30

7.2.1	Role zánětu a imunitního systému .....	30
7.2.2	Role lymfocytů prostupujících nádorem.....	30
7.2.3	Role makrofágů spojených s nádorem.....	31
7.2.4	Prozánětlivé cyklooxygenázy .....	32
7.3	Angiogeneze a látky s rakovinou spojené .....	32
7.3.1	Angiogeneze a crosstalk endoteliálních buněk při rakovině.....	32
7.3.2	Role buněčných adhezních molekul .....	33
7.3.3	Význam matrix proteináz.....	34
8.	ZÁSADNÍ FAKTORY V ROLI VZNIKU A RŮSTU CMT .....	36
8.1	Faktory ovlivňující vznik CMT .....	36
8.1.1	Vliv vnitřních faktorů.....	36
8.1.2	Vliv genetiky.....	38
8.1.3	Vliv vnějších faktorů – insekticidů .....	41
8.2	Faktory ovlivňující růst CMT .....	43
8.2.1	Hormony, jejich exprese a účinky .....	43
8.2.2	Růstový faktor EGFR a jeho receptory.....	44
9.	PROGNÓZA .....	45
9.1	Určení nádorů .....	45
9.1.1	Dle histologického vyšetření.....	45
9.1.2	Dle klinického vyšetření .....	46
9.2	Prognostické faktory .....	47
9.2.1	Markery proliferace .....	47
10.	DIAGNOSTIKA NÁDORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY U PSŮ .....	51
10.1	Zákroky vedoucí k určení diagnózy.....	51
10.2	Novinky v diagnostice .....	52
11.	TERAPIE NÁDORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY U PSŮ .....	53



11.1	Chirurgická terapie.....	53
11.1.1	Používané chirurgické operace .....	53
11.2	Chemoterapie .....	56
11.2.1	Uplatnění chemoterapie .....	56
11.2.2	Léčivé látky chemoterapie .....	56
11.2.3	Způsoby aplikace chemoterapie.....	57
11.2.4	Vedlejší účinky cytostatik a důvody selhání chemoterapie .....	57
11.2.5	Konkrétní příklady léčby .....	58
11.3	Radioterapie .....	59
11.4	Hormonální terapie .....	59
12.	PŘÍPADY CMT Z PRAXE .....	60
12.1	Úvod .....	60
12.2	Konkrétní případy .....	60
14.	ZÁVĚR .....	63
14.	ABECEDNÍ SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	64
15.	POUŽITÉ ZDROJE LITERATURY .....	67
16.	POUŽITÉ ZDROJE OBRÁZKŮ A FOTOGRAFIÍ .....	103
16.1	Zdroje obrázků a fotografií .....	103

## 1. ÚVOD

Nádory mléčné žlázy patří mezi nejčastější nádorová onemocnění u fen (postihují více než 40 % fen z celkového počtu případů s nádorovým onemocněním). Hlavní příčinou často až fatálních následků tohoto onemocnění je zanedbání preventivní péče o mléčnou žlázu feny. Naopak provedená kastrace za určitých podmínek snižuje riziko vzniku nádoru mléčné žlázy. Nádor je objeven většinou až v pozdějším stadiu, kdy je již hmatatelný. V tomto stadiu bohužel dochází již k tvorbě metastáz - nádorové bujení se šíří do okolních tkání životně důležitých orgánů, jako jsou plíce nebo játra. Přestože je feně odebrána část mléčné žlázy či celá mléčná lišta, není zaručeno úplné uzdravení. To je důvodem pro aplikaci následné doplňkové terapie (např. chemoterapie, radioterapie nebo hormonální léčba).

Dalšími faktory ovlivňujícími vznik nádoru jsou věk, plemeno, genetické predispozice, tělesná hmotnost, březost a laktace. Mezi spouštěcí faktory jsou ale zařazeny i hormony, zejména růstový hormon a hormony produkované ve vaječnicích, které mohou urychlit vznik a šíření nádoru. Svou roli sehrávají i toxické látky z prostředí, např. insekticidy, především pyrethroidy.

V současné době jsou nádory mléčné žlázy u fen jednou z mnoha úspěšně léčitelných chorob. Důležitá je jejich včasná diagnostika a brzké zahájení léčby.

## 2. CÍLE PRÁCE

Cílem této práce je zpracovat nejnovější informace o tématu nádorů mléčné žlázy u fen (charakteristika onemocnění, vliv vnějšího a vnitřního prostředí, genetické pozadí, procesy v organismu vedoucí k rakovinnému bujení, diagnostika a možnosti léčby). Podrobněji je popsán vznik nádorové buňky, samotného nádoru a jeho metastáz. U nádorů je uvedeno rozdělení dle různých kritérií a možnosti jejich následného operativního odstranění včetně pooperační terapie a prevence jejich vzniku.

### 3. CHARAKTERISTIKA MLÉČNÉ ŽLÁZY U PSŮ

#### 3.1 Anatomie a fyziologie mléčné žlázy

Mléčná žláza je kožní žláza, která se zakládá již v embryonálním stadiu života psa. Tzv. mléčné lišty jsou vytvářeny od dolní části hrudníku až po linii třísel. Na těchto lištách jsou pak později vytvářeny mléčné hrbolky, jejichž počet odpovídá počtu struků v dospělosti (Reece, 2011; Sorenmo et al., 2011). Žláznatý epitel mléčné žlázy je tvořen parenchymem. Vmezeřené vazivo vytvářející tvar mléčné žlázy je označeno jako stroma. Základní funkční jednotkou pro vylučování mléka je sekreční alveolus. Jeho stěna je tvořena sekrečními buňkami, jež pomáhají produkci mléka. Tyto alveoly ústí do vnitrolalúčkového vývodu, kterým je mléko transportováno do žláznaté části mlékojemu. Odtud je mléko převedeno do mlékojemu jednotlivých struků a poté je strukovým kanálkem přes svalový svěrač vyloučeno ven ze struku (Reece, 2011).

Plný růst, dozrávání a vývoj mléčné žlázy u samic je nejvíce zaznamenán až v období od puberty po období březosti, kdy je její vývoj i dokončen (Marvan et al., 1998; Reece, 2011). Tento růst i vývoj je řízen a doprovázen samičími pohlavními hormony. Jedná se zejména hlavně o estrogény (Sorenmo et al., 2011), dále o prolaktin, progesteron, oxytocin a růstový hormon (Reece, 2011). Pod vlivem zvýšené hladiny progesteronu je započat růst, prodloužení a větvení terciálního systému laloků a pod vlivem prolaktinu jsou změněny prosekreční alveolární buňky v buňky sekreční (Sorenmo et al., 2011). Těchto pět hormonů sehrává roli ve třech hlavních obdobích vývoje mléčné žlázy. Prvním obdobím je mamogeneze, při které probíhá samotný vývoj mléčné žlázy. Poté následuje stadium laktogeneze, příprava mléčné žlázy na laktaci. Posledním obdobím je samotná laktace, při které dochází k produkci mleziva a mléka (Jelínek et al., 2003).

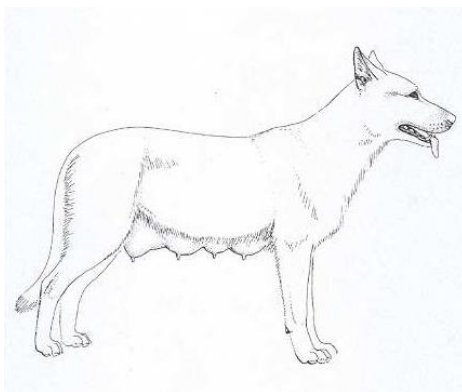
V období březosti je tuková tkáň mléčné žlázy přetvořena vlivem výše jmenovaných hormonů na strukové kanálky, lalúčkové alveoly, cévy a pojivovou tkáň. V období laktace jsou prostřednictvím oxytocinu smrštěny myoepitelové buňky, těmi jsou následně obklopeny alveoly a dojde k ejakci mléka (Reece, 2011), která je trvale udržována přítomností prolaktinu (Jelínek et al., 2003; Reece, 2011).

### 3.2 Mléčná žláza u psa

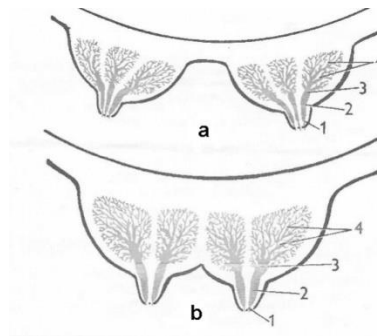
Mléčná žláza je tvořena vemínky, které přechází ve struky (Procházka, 2005). Sorenmo et al. (2011) stejně jako Reece (2011) uvádí, že mléčná žláza psa může být složena z pěti párů mléčných žláz, ale navíc poukazuje na případy, kde u psů byly identifikovány buď jen 4 páry mléčných žláz, nebo dokonce až 6 párů mléčných žláz. Výskyt mléčné žlázy s takto vyšším počtem párů mléčných žláz, potvrzují i studie Najbrta et al. (1982) a Procházky (2005). Struky jsou uloženy ve dvou řadách rovnoběžně s mediální rovinou krajiny břišní od kaudální části hrudníku až po krajinu stydkou (Reece, 2011). Jejich rozložení je 2 páry struků v hrudní části, 2 páry struků v krajině břišní a 1 pár v tříselné krajině (Sorenmo et al., 2011). Každé vemínko je přibližně stejně velké, až na vemínka v tříselné oblasti, kde jsou největší a je v nich produkováno největší množství mléka (Najbrt et al., 1982) - obr. 1.

U psů je mléčná žláza dle Černého (2002) složena z 6–20 mléčných žláz, které připadají na 10 vemínek. Podle Najbrta et al. (1982) je mléčná žláza složena z 10–15 mléčných žláz a každá z nich má svou vývodnou cestu prostřednictvím vemínek. Pro srovnání např. u prasnic jsou v jednom vemínku 3 mléčné žlázy, u klisny tvoří vemínko pouze 2 mléčné žlázy (Marvan et al., 1998) - obr. 2 a obr. 3.

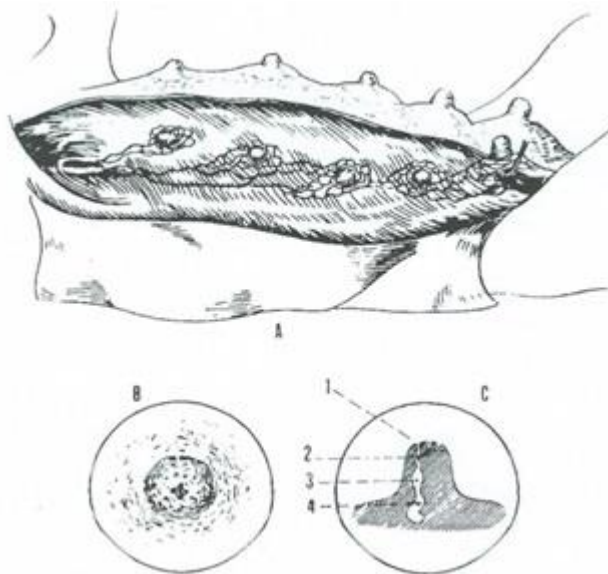
Zdravá mléčná žláza je charakterizována jako měkká tkáň povolná (k pánevní oblasti) k zadním končetinám (Brooks, 2015). Pokud jsou v mléčné žláze objeveny pevné hrudky (Brooks, 2015), zduřená tkáň či snad větší nepřírozená (tělu cizí) bulka, může to být známkou nádoru v mléčné žláze (Withrow et al., 2013).



Obr. 1 Uložení mléčné žlázy u psa (Vikki, 2010)



Obr. 2 Mléčná žláza u prasnice (a) a klisny (b) (Marvan et al., 1998)



Obr. 3 Mléčná žláza feny (Procházka, 2005)

A - pohled na řadu struků a jejich stav podkoží, B několik otvorů, vývodů na hrotu struku, C – schéma jednoho vývodu ve struku, 1 – ústí kanálku, 2 – strukový kanálek, 3 – struková část mlékojemu, 4 – žláznatá část mlékojemu

## 4. PROBLEMATIKA NÁDORŮ

### 4.1 Obecná charakteristika a vznik nádoru

Nádorem nebo jinými slovy novotvarem či neoplazmou je nazývána oblast, ve které probíhá nadměrné bujení tkáně, jež nemá žádný účel a je tvořeno z buněk tělu vlastních. Tato tkáň je charakterizována následujícími vlastnostmi: roste stále, rychle a nekontrolovatelně, ale přitom není brán ohled na rozměry okolní tkáně.

Okolní tkáň totiž není překážkou, nádorová tkáň jí prorůstá. Mezi další specifika této nádorové tkáně patří odlišná funkce a tvar. Nádorové buňky se oproti zdravým buňkám mnohem rychleji množí a dělí. Nádorová hmota je často tvořena i v netypických fázích života, například při odumírání buněk, stárnutí či selhání organismu, kdy normální buňky svoji činnost spíše zastavují. Proto jsou tyto nádory často diagnostikovány u starších psů. Ti byli déle vystaveni působení karcinogenních látek a jejich organismus prošel mnohem více buněčnými cykly než mladý organismus. Je u nich také zpomalena imunitní reakce a stávají se náchylnější k nádorovému onemocnění (Finsterle, 2007a).

Všeobecně je známo, že vznik nádoru je podmíněn genovou mutací (nádor vyvolává genová mutace), která následně není opravena. Tím je poté ovlivněna funkčnost daného postiženého genu. Tato mutace, může být způsobena jak vnějšími, tak vnitřními faktory. V souvislosti s vnějšími faktory jsou zmiňovány především fyzikální, chemické a biologické mutageny, u vnitřních faktorů lze hovořit především o genetické predispozici. Proces je kontrolován proteinem p53, který je zahrnut do buněčné odpovědi při poškození DNA. Jeho činnost je ukázána na následujícím příkladu. Je-li rozsah poškození DNA velký, je v buňce zahájena apoptóza, v opačné situaci je v buňce zahájena oprava DNA a je u ní zablokováno buněčné dělení. Poté je blokáce vypnuta a buňka je dál dělena. Toto vypnutí blokáce má na starosti protein Wip1 (Wild-type p53-Induced Phosphatase 1), díky kterému je inaktivován protein p53 (Kleiblova et al., 2013; Leslie, 2013 In Macůrek, 2013).

U sledovaných nádorů mléčné žlázy byly identifikovány mutace na genech pro protein p53, jejichž důsledkem byla ztráta funkce tohoto proteinu v buněčné odpovědi při poškození DNA. Jako další byly identifikovány mutace na genu kódujícím protein Wip1, a to bez porušení genu pro tvorbu proteinu p53. Mutací na těchto genech (pro proteiny Wip1) byly vytvořeny kratší formy proteinu Wip1 a zároveň byla zvýšena jejich tvorba/hladina. Následkem této změny protein Wip1 zůstává déle v buňce, nepodléhá degradaci a je stabilní. Toto setrvání proteinu Wip1 inaktivuje protein p53 a zároveň spustí buněčný cyklus, kde jsou poškozené části DNA (kontrolními body) přehlíženy. Tato porucha způsobí nahromadění mutací a poté přeměnu zdravých buněk v nádorové (Kleiblova et al., 2013, Leslie, 2013 In Macůrek, 2013).

## 4.2 Rozdělení nádorů dle nádorového bujení

### 4.2.1 Obecná charakteristika maligních a benigních nádorů

Ve Finsterleho veterinární onkologii (2007a) je uvedeno, že vznik nádoru je zapříčiněn poruchami v mechanismu stárnutí a umírání. Pokud je tato porucha malá, jedná se o benigní (nezhoubný) typ nádoru. Tkáň takového nádoru je složena z buněk, které jsou shlukovány v uzlíky, bouličky či masu nádorových buněk. Tyto benigní nádory postrádají destruktivní a invazivní růst a jsou často zapouzdřeny (Restucci et al., 2000; Misdorp, 2002 In Sleenckx et al., 2011). Oproti maligním nádorovým buňkám benigní buňky nenarušují zdravou tkáň, i když je zvětšena jejich plocha. Rovněž u nich není popisována migrace do mízních či krevních cév, která je pro maligní buňky typická (Finsterle, 2007a). Jejich velikost je malá a jejich růstová aktivita je pomalá. Tvar mají pravidelný s hladkým povrchem. K pokožce či břišní stěně nejsou fixovány vazy a jsou volně pohyblivé (Halouzka et al., 2004; Větvička, 2003). I přesto mají být tyto nádory léčeny, avšak nejsou tak rizikové jako nádory maligní (Doležalová, 2010).

U maligních nádorů jsou zdravé buňky prorůstány maligními nádorovými buňkami a je jim tak umožněna migrace do cév a mízních uzlin (Finsterle, 2007a). Pro maligní nádory je typická nekróza, ztráta diferenciacce, buněčný a jaderný polymorfismus, vysoký mitotický index, vysoká intenzita prostoupení mikrocévami, nesouvislá bazální membrána (Misdorp et al., 1971; Restucci et al., 2000; Misdorp, 2002 In Sleenckx et al., 2011) Jejich růst je velmi rychlý a nekontrolovatelný, jsou nepravidelného tvaru a jsou pevně fixovány vazivovým pouzdrzem ke kůži či břišní stěně psa (Halouzka et al., 2004). Tyto nádory je nutné ihned léčit, bez léčby může dojít k úmrtí (Šmrhová a Lukeš, 2015).

U maligních nádorů je popisován ještě jeden vzácný druh, a to zánětlivý karcinom (sarkom) viz obr. 4 a 5, který je charakteristický svým hnisavým povrchem, rychlým růstem často spojeným se zánětem mléčné žlázy (Souza et al., 2009; Marconato et al., 2009; Pérez Alenza et al., 2001). Dle Větvičky (2003), Marconato et al. (2009) a Pérez Alenza et al., (2001) jsou tyto nádory velice agresivní. Jsou typické otokem a zarudnutím v místě nádoru, poté vysokou bolestivostí a otokem přilehlých končetin (Morrison, 1998; Withrow et al., 2007). Jejich prognóza je většinou nepříznivá (Větvička, 2003) kvůli výskytu metastáz

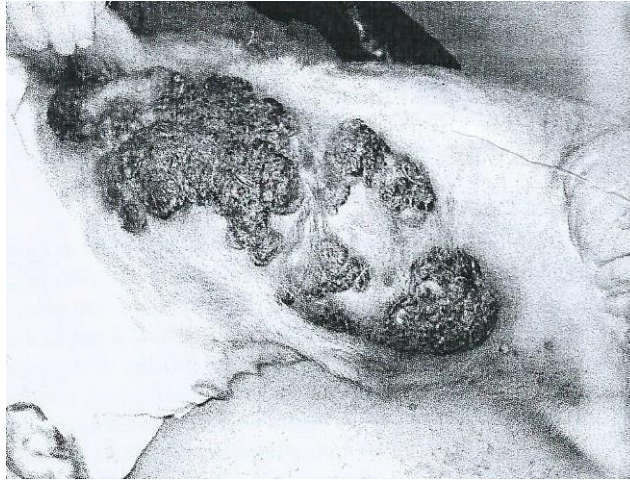
v lymfatickém systému a související slabostí a úbytku hmotnosti zvířete (Marconato et al., 2009; Pérez Alenza et al., 2001) a zároveň jsou i obtížně léčitelné (Post, 2015). Tyto typy mezenchymálním maligních nádorů neboli sarkomů jsou mnohem méně časté než karcinomy. Četnost sarkomů je menší jak 5 % (méně jak 1 %) ze všech případů s CMT a zároveň menší jak 13 % ze všech případů maligních CMT (canine mammary tumors; nádory mléčné žlázy u psů) Moulton et al., 1970; Misdorp et al., 1971; Sleeckx et al., 2011).

Dalším typem nádoru je tzv. smíšený benigní či maligní nádor. Ty jsou složeny z buněk obou dvou druhů tkání. První část buněk je podobná buňkám mezenchymálního původu a druhá část buněk je podobná buňkám původu epiteliálního (Hampe a Misdorp, 1974; Misdorp, 2002 In Sleeckx et al., 2011; Withrow et al., 2013). Dle toho, jsou pak nádorové buňky šířeny krevní či lymfatickou cestou do dalších částí organismu. Lymfatickou cestou jsou šířeny buňky podobné epiteliálním a krevní cestou jsou šířeny buňky podobné mezenchymálním (Withrow et al., 2013).



Obr. 4 Zánětlivý karcinom napadající 4. a 5. levou mléčnou žlázu s viditelným otokem levého stehna (Souza et al., 2009)





Obr. 5 Mléčná žláza feny postižená zánětlivým karcinomem mléčné žlázy (Withrow et al., 2013)

#### 4.2.1.1 *Benigní nádory mléčné žlázy*

Mezi tyto nádory je zařazen adenom, intraduktální papilární neoplazie, fibroadenom, komplexní adenom, duktální adenom, myoepiteliom a dále benigní smíšené neoplazie (Withrow et al., 2013). Další autoři pak dodávají, že mezi nejčastěji se vyskytující patří fibroadenom, jednoduchý adenom, intraduktální papilární adenom a komplexní adenom (Hampe a Misdorp, 1974; Misdorp, 2002 In Sleenckx et al., 2011; Štěpánková, 2012; Brooks, 2015).

#### 4.2.1.2 *Maligní nádory mléčné žlázy*

Do maligních nádorů se zahrnují:

1) epiteliální nádory, kam náleží karcinomy a jejich variace, dále karcinomy s vřetenovitými buňkami, karcinomy bohaté na lipidy, mucinozní karcinomy a karcinomy z dlaždicových buněk (Hampe a Misdorp, 1974; Misdorp, 2002 In Sleenckx et al., 2011; Withrow et al., 2013).

2) maligní mezenchymální nádory tzv. sarkomy. Do této skupiny jsou zařazeny osteosarkomy, chondrosarkomy, fibrosarkomy a maligní smíšené nádory (Hampe a Misdorp, 1974; Misdorp, 2002 In Sleenckx et al., 2011; Withrow et al., 2013).

Post (2015) uvádí jako nejčastěji se vyskytující osteosarkomy, papilární cystické adenokarcinomy a fibrosarkomy a komplexní karcinomy. V souladu s tím Misdorp et al. (1999) In Sleenckx et al. (2011), zmiňuje jako nejčastější osteosarkomy a fibrosarkomy.

V Shafieeho studii (2013) bylo zjištěno, že četnost maligních nádorů převyšuje případy s benigními nádory. Frekvence maligních smíšených nádorů (obr. 6 a 7) převyšuje frekvenci benigních smíšených nádorů a výskyt adenokarcinomů je vyšší než jednoduchých karcinomů.

Jako nejběžnější maligní nádor je v této sekci zařazen i několika autory jmenovaný karcinom z benigního smíšeného nádoru (CBMT; carcinomas in benign mixed tumours), sloužící jako psí model pro studium progresu nádorů (Damasceno et al., 2013; Cassali, 2013).



Obr. 6 Nádor na čtvrtém struku mléčné žlázy 8 leté fenky pudla (Philibert, 2015)



Obr. 7 Maligní smíšený nádor na druhém struku mléčné žlázy fenky dobrmana (Miller, 2016)

## 4.2.2 Rizika v chování nádorů

Riziko tkví v metaplazii, kdy je nádor plně diferenciovaného buněčného benigního typu (též benigní léze) přeměněn na nádor maligní, též plně diferenciovaného typu (Halouzka et al., 2004; Sorenmo et al., 2009; Cassali, 2013). Withrow et al. (2013) i Cassali (2013) uvádí, že u takovýchto typů je velice zvýšené riziko přeměny na maligní nádory, zejména karcinomy. Doležalová (2010) uvádí konkrétní případ, kdy bylo k benignímu nádoru přistupováno jako k neškodnému, nebyl operativně odstraněn, a následně byl přeměněn na nádor maligní s přidruženými metastázami. Poté je závažnost prognózy závislá na agresivitě daného nádoru, jelikož podobných typů nádorů je mnohem více, a proto je zde prevence zásadním opatřením. Navíc Větvička (2003) potvrdil, že tento zvrát hrozí až u 75 % případů benigních nádorů mléčné žlázy u psů.

## 4.3 Výskyt nádorů ve tkáních

### 4.3.1 Pravděpodobnost výskytu CMT

Brooks (2015) tvrdí, že se nádor mléčné žlázy objevuje v poměru 1 fena s CTM ke 4 zdravým nekastrovaným fenám. Oproti tomu Philibert (2015) uvádí jiný počet, a to 2 postižené feny z tisíce zdravých fen, bez souvislosti s kastrací. Doležalová (2010) zjistila, že na 100 případů CMT připadá 50 maligních (Hampe a Misdorp, 1974) a 50 benigních nádorů, identifikovaných zejména u fen. Nemoc jako taková je u fen reprezentována 50–70 % z celkového počtu všech nádorových onemocnění vyskytujících se u psů (Withrow et al., 2013), patří tedy mezi nejčastější (Šoltys, 2015) a je u ní rovněž zaznamenána nejvyšší úmrtnost (Větvička, 2003). Další autoři hovoří o více než 40 % četnosti CMT ze všech nádorů u fen (Dorn et al., 1968b In Sleecx et al., 2011) a taktéž uvádí roční prevalenci případů CMT u fen, a to větší jak 200 případů CMT/ 100 000 psů/ 1 rok (Dobson et al., 2002; Merlo et al., 2008; Vascellari et al., 2009).

Ve studii zaměřené na monitoring CMT je uváděno, že onemocněním trpělo z celkového počtu 10 000 testovaných fen: 6 % fen ve stáří 8 let a 13 % fen ve stáří 10 let (Withrow et al., 2013). V následné studii je doplněno, že CMT bylo postiženo

celkem 205 fen ze zkoumané skupiny 100 000 nemocných fen. Doležalová (2010) uvádí, že u psů byly tyto nádory identifikovány pouze vzácně, a to u 0,5–1 % případů. Navíc další autoři dodávají, že výskyt CMT je četnější v zemích, kde se kastrace fen neprovádí rutinně (např. v zemích Skandinávie a ve Španělsku – Moe, 2001; Alenza et al., 2001; Egenvall et al., 2005) oproti zemím, kde je tato operace prováděna běžně (např. ve Spojených Státech Amerických a zemích Západní Evropy), a to za účelem prevence tohoto onemocnění (Moe, 2001; Egenvall et al., 2005).

#### 4.3.2 Umístění nádorů v mléčné žláze

Dle typu postižené tkáně mléčné žlázy jsou nádory rozlišovány na epiteliální, mezenchymální a smíšené (Šoltys, 2015). CMT jsou lokalizovány v místech od spodní strany hrudníku přes střední linii břicha až po tříselnou oblast. Nejčastěji jsou CMT detekovány v kaudální břišní a tříselné oblasti mléčné žlázy (Benjamin et al., 1999; Sorenmo et al., 2009). Větvička (2003) uvádí, že mimo to, mohou být nádorem atakovány i ostatní buňky mléčné žlázy. Nejpravděpodobnější výskyt je pak v buňkách kanálek mléčné žlázy. Jiní autoři tvrdí, že nejčastěji jsou těmito nádory zasažena místa blíže k pánevní či tříselné oblasti, okolo 4. až 5. mléčné žlázy (Halouzka et al., 2004; Doležalová, 2010; Šoltys, 2015). Shaffie et al. (2013) dokládá až 60 % nádorů v tříselných částech, 27 % v břišních částech a pouhých 13 % v hrudních částech mléčné žlázy z celkového počtu 12 čistokrevných fen a 3 kříženců

U speciálních hyperplazií, neoplazií či dysplazií, které jsou prezentovány adenomy a karcinomy, pak mohou být dle Withrowa et al. (2013) útvary identifikovány i na bradavkách, což je pro ně typické.

Šmrhová a Lukeš (2015) konstatují, že hloubka umístění nádoru v mléčné žláze fen je značně odlišná od hloubky nádoru prsu u žen, kde se nachází pod vrstvou svaloviny. U psů jsou tyto nádory naopak objeveny nad svalovou tkání, ihned pod kůží a tak je jejich vyjmutí snazší.

## 4.4 METASTÁZY

### 4.4.1 Charakteristika metastáz

Metastáza je sekundární ložisko nádoru, které je umístěno v různých vzdálenostech od primárního (mateřského) ložiska nádoru (Finsterle, 2007a). Metastázy se lehce rozšiřují do celého organismu (Štěpánková, 2012).

Riziko tvorby metastáz je dle Doležalové (2010) a Šmrhové (2015) zvýšeno delším intervalem mezi diagnostikou a terapií a dlouhodobým neléčením maligních nádorů. Dalším důvodem vzniku je pak pozdější diagnostika nebo ponechání být malé části nádoru v mléčné žláze. Tím je zvýšena recidiva metastáz, a to zejména v plicích, játrech a mízních uzlinách.

### 4.4.2 Migrace nádorových buněk do okolních tkání

Migrace nádorových buněk je charakterizována separací a transportem buněk od primárního nádoru k daným orgánům pacienta pomocí krevního či lymfatického systému (Miller et al., 1964 In Sleecx et al., 2011; Silver, 1966; Štěpánková, 2012; Šmrhová a Lukeš, 2015).

Z nádorů, které jsou uloženy v oblasti od prvního až třetího páru struků, tedy v oblasti kraniální a kaudální hrudní krajiny a taktéž kraniální břišní krajiny, jsou rakovinné buňky dopraveny až do podpažních uzlin (Silver, 1966; Patsikas et al., 2006). Zatímco z nádorů, uložených v místě čtvrtého až pátého páru struků, tedy v oblasti kaudální břišní krajiny a tříselné oblasti, jsou rakovinné buňky dopraveny do tříselných uzlin (Silver, 1966; Patsikas et al., 2006). V těchto uzlinách, jsou opět vytvořeny nové nádory tzv. dceřiné a z nich jsou nádorové buňky dále šířeny do ostatních orgánů. Orgány napadené těmito buňkami přestávají fungovat a následkem zvětšující se masy nádoru je způsoben kolaps a smrt pacienta (Šmrhová a Lukeš, 2015).

Kromě těchto cest jsou nádorové buňky šířeny i plošně, což jim umožňuje snadnější migraci organismem a následně i růst. Dále pak mohou být nádorové buňky šířeny i mezibuněčnými prostory (Finsterle, 2007a).

Drábek (2012) uvádí, že tvorba metastáz je založena na specifické aktivitě nádorových buněk, kde každá nádorová buňka hraje specifickou úlohu. Mezi hlavní

patří přilnavé molekuly, které pomáhají nádorovým buňkám k přichycení se na zdravé buňky. Dále zde účinkují tzv. průnikové enzymy, které dozorují nad přesným proniknutím nádorových buněk do zdravých. Pak zde sehrávají roli i průzkumné a signalizační molekuly, které připravují podmínky pro vniknutí nádorových buněk do zdravých tkání. A celý tento proces zařizuje obranný mechanismus nádorových buněk, který zamezuje identifikaci nádorových buněk obranným systémem pacienta přetvořením jejich struktury do elastické, která je pro organismus vlastní (Janostiák et al., 2011, Paňková et al., 2012 In Drábek, 2012).

#### 4.5 Výskyt metastáz ve tkáních

Dle Štěpánkové (2012) a jiných autorů se metastázy nejvíce vyskytují v mízních uzlinách, plicích (Misdorp a Hart, 1979; Misdorp, 2002 In Sleecx et al., 2011; Labelle a De Cock, 2005; Clemente et al., 2010b; Fidler et al., 1967a In Sorenmo et al., 2011; Fidler a Brodey, 1967b In Sorenmo et al., 2011; Fidler - obr. 8) a játrech (Gbelec, 2015), dále v ledvinách, nadledvinkách a srdci a nejméně v kostech (Misdorp a Hart, 1979; Misdorp, 2002 In Sleecx et al., 2011; Labelle a De Cock, 2005; Clemente et al., 2010b; Šoltys, 2015). První tři nejčastější místa výskytu (kromě mízních uzlin) jsou vnímavá pouze pro nádorové buňky, šířené krevní cestou. Pokud jsou nádorové buňky šířeny mízními cestami, jsou zaneseny pouze do mízních uzlin. (Finsterle, 2007a). Větvička (2003) pak dodává, že se nádorové buňky mohou dostat jak lymfatickou, tak krevní cestou až do kůže a mozku (Misdorp, 2002 In Sleecx et al., 2011; Clemente et al., 2010b), což bývá pro pacienta fatální.



Obr. 8 Rentgenový snímek metastáz nádoru CMT v plicích feny 11 letého křížence (Šoltys, 2015)

## 5. SPONTÁNNÍ INTRAEPITELIÁLNÍ LÉZE

Spontánní intraepiteliální léze (IELs; intraepithelial lesions) jsou v mléčné žláze popisovány jako neinvazivní epiteliální proliferace, které jsou prekurzorem invazivních karcinomů a karcinomů *in situ* v mléčné žláze i mimo ní a dle jejich typu je rozhodováno o způsobu léčby. Tyto IELs zahrnují duktální hyperplazii (DH; ductal hyperplasia), duktální karcinom *in situ* (DCIS; ductal carcinoma *in situ*), lobulární karcinom *in situ* (LCIS; lobular carcinoma *in situ*), atypickou duktální hyperplazii (ADH; atypical ductal hyperplasia) a atypickou lobulární hyperplazii (ALH; atypical lobular hyperplasia) (Mouser et al., 2010; Burrai et al., 2010; Ferreira et al., 2010). V poslední době jsou mezi tyto prekurzory karcinomů zahrnuty i cylindrocelulární léze (CCL; columnar cell lesions), které byly identifikovány v 67 ze 126 mléčných žláz fen postižených intraepiteliálními změnami. Jejich spojitost s rakovinnými lézemi byla potvrzena detekcí v přítomných 20 karcinomech *in situ*, 19 invazivních karcinomech a 21 benigních nádorech mléčné žlázy fen. Poté byla identifikována i jejich spojitost s DH, a to u 45 z 67 napadených mléčných žláz fen (Ferreira et al., 2010).

U fen je nález DH spojen s nízkým rizikem vzniku karcinomu, zatímco nález ADH či DCIS je spojen s vysokým rizikem vzniku (Mouser et al., 2010). Burrai et al. (2010) navíc dodává, že nález ADH a DCIS byl spojen v 91 % s rakovinou mléčné

žlázy a přítomnost DH byla naopak spojena v 53 % s benigními nádory mléčné žlázy (z celkového počtu 57 samic u kterých byly identifikovány intraepiteliální léze). Tuto spojitost potvrzuje i studie Antuofermové et al. (2007), která uvádí přítomnost IELs bez atypií, jako příčinu vzniku benigních nádorů a naopak přítomnost ADH a DCIS různých stupňů, jako příčinu vzniku maligních nádorů. Proto je obecně přítomnost těchto lézí využívána jako upozorňující indikátor na riziko vzniku karcinomu mléčné žlázy a je součástí včasné diagnostiky tohoto onemocnění (Mouser et al., 2010).

Tato souvislost byla taktéž zjišťována ve studii, při které bylo testováno celkem 108 dospělých fen s různou plemennou příslušností a různou hladinou hormonů v organismu, jež nebyly klinicky diagnostikovány na CMT. Těchto 108 fen zahrnovalo: 90 fen ze skupiny honičů (převážně coonhound a foxhound a 2 feny plemene bígl), 2 feny křížence, 1 fenu plemene labradorský retrívr, a 15 fen bylo neznámého původu. K chovu bylo využíváno 78 fen, u ostatních byla provedena kastrace. Věkové rozmezí fen bylo od 1,5 roku po 13 let, přitom více jak 70 % bylo starších 6 let. Všechny tyto feny byly vyšetřeny *post mortem* (Mouser et al., 2010). Antuofermová et al. (2007) ve své studii vyšetřila 200 fen a u 60 z nich bylo identifikováno několik typů IELs (z toho u 38 byla zjištěna DH, ADH, DCIS různých stupňů).

V jiné studii byly testovány tkáně mléčné žlázy fen, a to jak imunochemicky tak histologicky a dále pak na přítomnost  $\alpha$ -estrogenových receptorů, progesteronových receptorů, receptorů na epidermální růstový faktor 2 (protoonkogen) HER-2/neu a na marker proliferace Ki-67. U zdravé mléčné žlázy byly hodnoty těchto látek následující: imunoreaktivita markeru buněčné proliferace Ki-67 byla nízká až střední. Imunoreaktivita receptoru progesteronu (PR) byla střední až silná a exprese PR byla vyjádřena v 75–90 % imunolabilních buněk. Dále byla zjištěna hladina exprese receptoru pro alfa estrogen (ER- $\alpha$ ), a to v úrovni 0–75 % imunolabilních buněk (Mouser et al., 2010). Hodnoty u jednotlivých typů IELs jsou uvedeny v Tab. 1.

Jako poslední byla popsána přítomnost alfa-ER v návaznosti na typy IELs, a to u obou studií. U fen ze studie Mouser et al. (2010) pozitivních na IELs bylo celkem nalezeno 73 typů různých lézí a zároveň ve studii Antuofermové et al. (2007) bylo detekováno 38 různých typů lézí IELs a v nich byly identifikovány:



- a) Jako alfa – estrogen pozitivní: 2 případy s nízkým stupněm DCIS, 3 případy se středním stupněm DCIS a 7 případů s ADH (Mouser et al., 2010)
- b) Jako alfa – estrogen negativní: 36 případů s nízkým stupněm DCIS, 13 případů se středním stupněm DCIS a 12 případů s ADH (Mouser et al., 2010)
- c) Alfa-estrogen pozitivní imunoreaktivita: 0/6 případů s nízkým stupněm DCIS, 5/6 případů se středním stupněm DCIS, 1/11 případů s vysokým stupněm DCIS, 1/5 případů s ADH a u 10/10 případů s DH (Antuofermo et al., 2007)

Z těchto výsledků je patrné, že u vzniku IELs chorob není exprese alfa-estrogenů či jejich imunoreaktivita v dané mléčné žláze zásadní (Antuofermo et al., 2007; Mouser et al., 2010).

Tab. 1 shrnuje expresi uvedených markerů, růstových hormonů a receptorů fen, u kterých byly nalezeny modifikace IELs a rovněž výše imunoreaktivita daných látek:

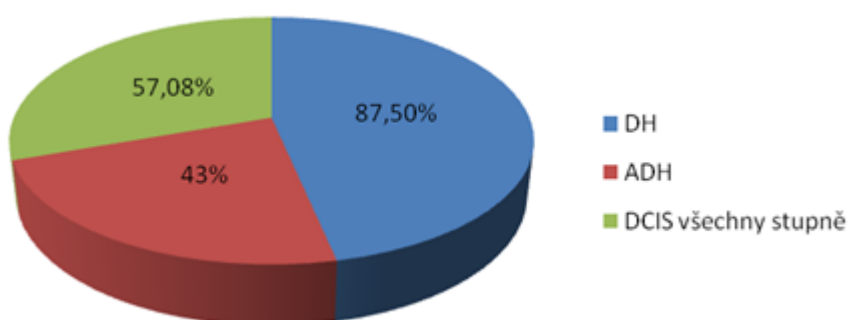
Tab. 1 Exprese a imunoreaktivita u HER-2/neu, Ki-67, ER, PR u psů s IELs

Zjišťovaný látka	HER-2/neu	Marker proliferace Ki-67	Receptor estrogenu	Receptor progesteronu
Výše exprese	Nenalezena v žádné lézi	Nejvyšší u středního stupně DCIS	Vyšší u ADH	V 50–100 % imunolabilních buněk středního stupně DCIS a DH
		Vysoká u ADH	Nízká u DCIS	V 50–80 % u nízkého stupně DCIS
		Nízká u nízkého stupně DCIS		
Imunoreaktivita	Nalezena vysoká u všech typů IELs	Vysoká u vysokého stupně DCIS a DH	–	Střední až vysoká u středního stupně DCIS a DH
		Slabá až střední u 5 % buněk nízkého stupně DCIS	–	Slabá až střední u nízkého stupně DCIS

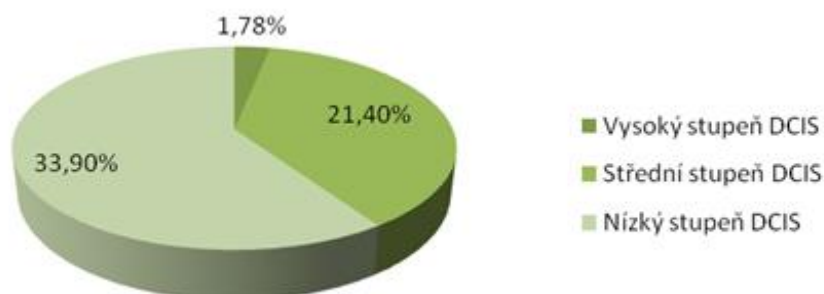
Dále zjištěno, že 52 % fen bylo pozitivních na spontánní IELs. Z každé dvojice psů byl u jednoho psa nalezen jeden typ IELs a zároveň z každé pěti psů byl jeden pes pozitivní na výskyt více typů IELs viz Graf 1 a Graf 2 (Mouser et al., 2010).

Oba tyto grafy ukazují, že ze 108 testovaných fen, bylo pouze 56 fen pozitivních na IELs. Všemi nálezy ER, PR, Ki-67 a HER2/neu faktorů, byla zvyšována rizika vzniku maligních nádorů. Lze předpokládat, že díky výše zmíněným, riziko vzniku maligních nádorů zvyšujícím faktorům, by i u fen, u kterých nebyl diagnostikován nádor mléčné žlázy, později došlo k rozvoji tohoto onemocnění, pokud by se jej dožily.

Graf 1 Zastoupení jednotlivých IELs u 56 fen



Graf 2 Zastoupení jednotlivých DCIS dle stupně agresivity



Ve studii Mouser et al. (2010) nebyla exprese HER-2 detekována vůbec, zatímco v jiné studii byla exprese HER-2 detekována hned v několika případech (Antuofermo et al., 2007). Expres HER-2 byla identifikována u 9/10 případů DH,

u 2/6 případů s ADH, u 8/11 případů s vysokým stupněm DCIS. Jako HER-2 negativní se ukázala pouze u nízkého stupně DCIS a u třech případů s vysokým stupněm DCIS. Hodnoty imunoreaktivity u Ki-67 byly vždy vyšší u více agresivnějších typů IELs, stejně jako u Mouserové et al. (2010) studie a hodnoty (exprese) PR v daných IELs nijak nekorelovaly se zvýšením rizika vzniku maligních nádorů (Antuofermo et al., 2007).

## 5.1 Shrnutí naměřených hodnot

Shrnutím hodnot u psů, bylo zjištěno, že: konečná exprese HER-2/neu je běžná pouze u 17–19 % případů maligních psích nádorů. Nízká Imunoreaktivita PR byla detekována u psů s nízkým stupněm DCIS a naopak vysoká u vysokého stupně DCIS. Zastoupení negativní exprese ER-alfa u psů: S IELs bylo identifikováno 16 % psů pozitivních pro expresi ER, za to 84 % ER negativních psů (Antuofermo et al., 2007; Mouser et al., 2010).

## 6. DĚLENÍ NÁDORŮ NEUROENDOKRINNÍ FUNKCÍ

Tyto nádory mléčné žlázy byly dle WHO (World Healthy Organization; světová zdravotnická organizace) klasifikovány jako speciální invazní typy karcinomu mléčné žlázy s neuroendokrinními rysy, vyskytující se pouze u 1 % případů s tímto onemocněním (Busolatti a Badve, 2012 In Nakahira et al., 2015). Pro potvrzení byla testována 10 letá fena plemene borderkolie, v jejíž mléčné žláze byl identifikován nádor o průměru 2 cm. Nádorové buňky byly menších rozměrů s kulatými jádry a velkým množstvím cytoplazmy. Jejich metastázy pak byly objeveny v tříselných uzlinách feny (Nakahira et al., 2015).

Neuroendokrinní karcinomy byly rozděleny do tří skupin, a to dle exprese markerů při endokrinní a proliferační aktivitě nádorových buněk. Do první skupiny byly zařazeny dobře diferenciované neuroendokrinní nádory. Do druhé skupiny byly zařazeny nádory s neuroendokrinním karcinomem a špatně diferenciované karcinomy. A do třetí skupiny byl zahrnut invazivní karcinom s neuroendokrinní diferenciací/malé shluky rakovinných buněk (Busolatti a Badve, 2012 In Nakahira et al., 2015).

## 7. POKROKY V POCHOPENÍ METABOLICKÝCH DRAH

Mezi důležité faktory patří mikroprostředí, které je nádorovými buňkami přetvářeno. A to přímo jak degradací komponentů extracelární matrix (Pomocí VEGF a angiopoetinu, které aktivují enzymy degradující matrix včetně aktivátoru plasminogenu a matrixových metaloproteináz, čímž je uvolněna matrix/matice a podpořena migrace nádorových buněk.), tak nepřímo aktivací fibroblastů a buněk imunitního systému. Tyto změny umožňují vytvoření podporujícího a propustného mikroprostředí nádoru, které umožňuje buněčnou proliferaci, životaschopnost, invazi a schopnost tvorby metastáz u nádorových buněk (Fan et al., 2012; Unsworth et al., 2014). Proto je mikroprostředí zahrnuto do charakteristických znaků rakoviny (Hanahan a Weinberg, 2011).

### 7.1 Crosstalk nádorových buněk a fibroblastů asociovaných s rakovinou

#### 7.1.1 Crosstalk stromatu a fibroblastů asociovaných s rakovinou

Zdravá mléčná žláza je tvořena z luminálních, epiteliálních a myoepiteliálních buněk (MEC). Z mioepiteliálních buněk je složena selektivně-propustná ochranná fólie tvořící přirozenou hranici oddělující epiteliální proliferující buňky od bazální membrány (BM) a podpůrného stromatu (Haasen, 2005 In Pandey et al., 2010; Priory et al., 2002). Tím je potlačována stromální invaze nádorových buněk do tkání - vylučováním anti-angiogenních a anti-invazivních faktorů. Při porušení této ochranné buněčné vrstvy z MEC buněk a taktéž BM se uvolní růstové faktory, angiogenní faktory a reaktivní formy kyslíku a dochází ke změnám v mikroprostředí (Pandey et al., 2010). Tyto změny napomáhají proliferaci okolních buněk a taktéž zvyšují míru invaze rakovinných buněk do tkání, jelikož se tyto nádorové buňky dostanou ke stromatu a přes něj mohou metastazovat do ostatních orgánů (Lorek et al., 1994).

Důkazem potlačující funkce MEC buněk je nález potlačených genů kódujících matrixové proteiny, proteiny pro rozvoj angiogeneze a inhibitory proteáz ve zkoumaných myoepiteliálních buněčných liniích oproti normálním buňkám (Stiel et al., 1992). Mezi další funkci MEC buněk, patří modulace exprese

extracelulární matrix, jakožto okolních buněk a tím přispění k prevenci invaze rakovinných buněk, pomocí těchto proteolytických enzymů (Debard, 1981). Jejich výskyt u nádorů napomáhá k identifikaci a včasnému rozlišení benigních nádorů (kde jsou ještě identifikovány) od maligních nádorů mléčné žlázy (kde už chybí) a taktéž napomáhá ke zjištění úrovně stromální invaze (Volpe, 2001 In Pandey et al., 2010; Buonocore a Perrone, 2004 In Pandey et al., 2010). Dále se MEC buňky podílí i na metaplazii, při které jsou často identifikovány u některých typů CMT (zvláště myoepiteliomů), které jsou vzorem pro diagnostiku lidské rakoviny prsu (Rassoto et al., 2014).

Nádorovými buňkami jsou pak produkovány růstové faktory (RF) jako je up regulovaný transformující RF beta (TGF- $\beta$ ) či fibroblastový RF (FGF). Na tuto produkci navazuje selekce a aktivace fibroblastů a kmenových buněk kostní dřene. Ty jsou poté přeměněny na fibroblasty s rakovinou spojené (asociované - CAFs; cancer associated fibroblasts), které podporují vznik vhodného prostředí pro růst nádoru a crosstalk (Unsworth et al., 2014; Aboussekhra, 2011). CAFs také vytvářejí základní výživné látky, a to ketony, laktáty, glutaminy, MK a aminokyseliny (Unsworth et al., 2014). Tím je vytvořeno hypotonické prostředí, příznivé pro vznik a udržení nádorové buňky. Mikroprostředím nádoru je pak také podpořen i rozvoj chronických zánětů, a to přítomností prozánětlivých cytokinů a jejich sekrece. Tímto zánětem je pak vyvolán epitelio-mezenchymální přechod nádorových buněk, následně stimulována angiogeneze a zároveň utlumena činnost cytotoxických buněk imunitního systému (Egeblad et al., 2010; Hanhan a Weinberg, 2011; Unsworth et al., 2014). Finální proces, je pak doprovázen produkcí proteináz se strany CAFs, přizpůsobených MEC a rakovinných buněk, narušující integritu bazální membrány. Takto narušená celistvost bazální membrány buněk umožňuje komunikaci nádorů s okolními zdravými buňkami, která vyústí v mikroenvironmentální změny podporující nádorové bujení (Pandey et al., 2010; Hanahan a Weinberg, 2011).

### 7.1.2 Spolupůsobení nádorových buněk a fibroblastů nádorového stromatu

Existence CAFs v mikroprostředí CMT (hlavně up regulované geny nádorových buněk) podporuje adhezi, angiogenezi a epitelio-mezenchymální přechod nádorových buněk do zdravých tkání (Król et al., 2012a). Jejich hladiny jsou

však rozdílné. Například u 39/42 jednoduchých karcinomů mléčné žlázy psů byly zjištěny vysoké hladiny stromálních alfa – SMA - pozitivních myofibroblastů. Tyto myofibroblasty jsou aktivované fibroblasty exprimující se na  $\alpha$  aktin hladkého svalstva. Naproti tomu ve zdravých mléčných žlázách tyto myofibroblasty zcela chyběly a u jednoduchých adenomů byly detekovány pouze u 6/11 případů CMT u psů (Yoshimura et al., 2011).

## 7.2 Vztah imunitního systému a rakovinných buněk

### 7.2.1 Role zánětu a imunitního systému

Santos (2015) zjistil, že každému nádoru předchází chronický zánět. Typ následného CMT a jeho prognóza jsou pak dány, charakterem vzniklého zánětu (Hanahan a Weinberg, 2011). Špatná prognóza nádorů byla téměř ve všech případech spojována s přítomností makrofágů doprovázejících nádor (TAM), kterými je podporován růst nádoru, jeho adaptivní imunita a zároveň růst metastáz (Unsworth et al., 2014). Dále byla tato prognóza spojena s přítomností B buněk, kterými je přispěno k vyšší karcinogenezi (Mantovani et al., 2008) a s přítomností regulačních T buněk/lymfocytů podílejících se na chronické zánětlivé odpovědi (Unsworth et al., 2014). Naopak příznivá prognóza, byla spojována s výskytem cytotoxických T lymfocytů a buněk typu přirození zabijedci, kteří svými cytotoxickými mechanismy dokáží přeměnit proces aktivního růstu nádoru na samotnou destrukci nádoru, což je využíváno v imunoterapiích (Mantovani et al., 2008).

### 7.2.2 Role lymfocytů prostupujících nádorem

Role lymfocytů prostupujících nádorem byla popsána u nediferenciovaných invazivních karcinomů, u nichž byla detekována difuzní infiltrace lymfoidních buněk, složených z převážné většiny plazmatickými buňkami (Gilbertson et al., 1983), kde byly zjištěny delší doby přežití psů s tímto onemocněním (MacEwen, 1986). Tyto zvýšené infiltrace lymfoidních buněk byly detekovány u karcinomů (málo diferenciovaných nádorů) mléčné žlázy s metastázami v lymfatickém systému (vyšší histologický stupeň = lymfocyty přispívají k vyšší agresivitě a malignitě

nádoru). Taktéž, u nichž bylo popsáno vysoké procento T a B lymfocytů (Kim et al., 2013).

Dále byly u nádorů CMT tvořících metastázy zkoumány i podtypy lymfocytů CD8 a CD4 a zároveň hladiny T a B buněk. U karcinomů mléčné žlázy tvořících metastázy byly identifikovány vyšší podíly CD4<sup>+</sup> (T buněk). Naproti tomu v karcinomech u benigních smíšených nádorů byly detekovány vyšší podíly CD8<sup>+</sup> (T buněk). V případě, kdy nádor obsahoval vysoký podíl lymfocytů CD4<sup>+</sup> a nízký podíl lymfocytů CD8<sup>+</sup> a T buněk, byly u pacienta sníženy šance na přežití (Estrela-Lima et al., 2010; Estrela-Lima et al., 2012). Dále bylo zjištěno, že u nádorů bez metastáz byla infiltrace CD8 buněk mírného rázu a naproti tomu u nádorů tvořících metastázy byla detekována zvýšená infiltrace těchto buněk (Nowak et al., 2007).

Závěrem je shnuto, že vyšší výskyt T lymfocytů (= cytotoxické T lymfocyty) a T regulujících buněk (=Treg) je u psů spojen s nižším histologickým stupněm a zároveň i nezhoubnými nádory (Estrela-Lima et al., 2010; Estrela-Lima et al., 2012).

### 7.2.3 Role makrofágů spojených s nádorem

V mikroprostředí nádoru existují makrofágy M2 specializované na fenotyp (TAMs), aktivované pomocí MMP 9 (Davies, 2014). Tyto makrofágy podporují větší nádorové bujení, častější metaplazii a stimulují angiogenezi a lymfangiogenezi a zároveň jimi může být tlumena i adaptivní imunita a podpořen růst nádoru (Siveen a Kuttan, 2009; Zhang et al., 2012). Makrofágy M2 jsou v prognóze a léčbě CMT nepostradatelné (Santos, 2015), jelikož jsou svou individuální specializací, snadno rozpoznány od normálních M1 makrofágů (pro imunitu nejsou obtížní, jsou ihned detekovány a ničeny). Naštěstí jsou tyto makrofágy M2 a jimi způsobené záněty identifikovány a rychle ničeny pomocí imunitních makrofágů M1, které vyvolají zánět zneškodňující nádorové buňky. TAMs jsou běžně identifikovány ve spontánních lézích mléčné žlázy (Lewis a Murdoch 2005; Mantovani et al., 2008). U psů jsou TAM dále identifikovány i u maligních CMT a v metastázách, kde je jejich koncentrace větší než u benigních nádorů. Jejich výskyt je taktéž spojen s vyšší invazí nádorových buněk, tvorbou metastáz a nižším stupněm přežití (Obeid, 2013; Davides, 2014; Unsworth et al., 2014; Mantovani et al., 2008).

V mikroprostředí nádoru rakovinné a aktivované buňky stromatu produkují chemotaktické faktory, které naverbují a polarizují makrofágy M1 do makrofágů M2 (jinak zvaných také TAMs). Tyto makrofágy vylučují faktory podporující angiogenezi, přetvoření extracelulární matrix a potlačení adaptivní imunity (Obeid, 2013; Davies, 2014; Santos, 2015).

#### 7.2.4 Prozánětlivé cyklooxygenázy

Zvýšené exprese prostaglandinů (PG), zejména PGE<sub>2</sub> (tumour-promoting activity; podporující nádorovou aktivitu) spolu se zvýšenými expresemi jejich regulátorů byly označeny za významné mediátory rakoviny, a to u karcinomů mléčné žlázy u psů. Mezi jejich regulátory byly zařazeny: COX-2 (cyclooxygenase-2; cyklooxygenáza – 2) a PGE syntetáza - 1. (Millanta et al., 2016).

Vysoké hladiny exprese regulátoru COX-2 byly identifikovány v maligních nádorech, nízké v benigních nádorech a nulové ve zdravých mléčných žlázách (Millanta et al., 2006; Queiroga et al., 2007). Vysoká exprese regulátoru COX-2 byla rovněž nalezena i u zánětlivých karcinomů mléčné žlázy u lidí, kde byla spojena se zahájením a progresí nádorů (Queiroga et al., 2007; Lavallo et al., 2009; Queiroga et al., 2011). Regulátorem byl u nádorů ovlivněn druh nádorového bujení a jejich růst (Millanta et al., 2006). Čím vyšší byla imunoreaktivita COX-2 v nádoru, tím více byla internalizace molekul do cytoplazmy epiteliálních buněk přilehlé tkáně, spojena s horší prognózou CMT, tedy tvorbou metastáz. Tento fakt potvrzuje i nález zvýšených COX-2 u metastatických lézí (Dias Pereira et al., 2009). Pro-angiogenní účinky COX-2 jsou ukázány vazbou COX-2 na expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF; vascular endothelial growth factor) a mikrovaskulární denzitu nádoru (možnost tvorby vzdálených metastáz) (Lavallo et al., 2009).

### 7.3 Angiogeneze a látky s rakovinou spojené

#### 7.3.1 Angiogeneze a crosstalk endoteliálních buněk při rakovině

Angiogenní růstové faktory jsou produktem rakovinných buněk a váží se na endoteliální specifické receptory. Touto vazbou je pak podpořena jejich aktivace,



proliferace a migrace k vytvoření nových cév pro zásobení nádoru živinami, které jsou pro růst nádoru nezbytné. Nejvíce jsou tyto endoteliální specifické receptory identifikovány u maligních CMT, zánětlivých karcinomů mléčné žlázy a u vysoce agresivních nádorů (Santos, 2015).

Hlavním zdrojem krve pro nádor je krom angiogenních drah i intususcepce a tvorba vaskulogenních mimikrů. Intususcepce je založena na vkládání nových stavebních složek do mikrosítě fibril buněčné stěny okolních buněk (Vinter, 2006). A princip vaskulogenních mimikrů je založen na avaskulárních kanálcích, které jsou tvořeny nádorovými buňkami, jimiž je vedena krev k nádoru (Klener, 2010). Tyto mikrovaskulární kanály maligních buněk, bez účasti vaskulogenních mimikrů, byly popsány u zánětlivých karcinomů prsu u žen, kde se vstahovaly k vysoké hladině prostoupení nádoru lymfangiogenezí a taktéž ke tvorbě metastáz. (Clemente et al., 2010a). Lymfangiogeneze závisí na změně uskupení původních lymfatických cév, a to ve prospěch nádoru. Průběh lymfangiogeneze je velmi podobný angiogenezi (Foldi, 2014).

### 7.3.2 Role buněčných adhezních molekul

Invaze metastáz a rakovinných buněk do okolních tkání je odstartována ztrátou přilnavosti buněk. Důvodem je dolní regulace kadherinu, zejména E-kadherin (trans-membránový glykoprotein) a následné poškození složek bazální membrány a extracelulární matrix působením matrixových proteináz (např. MMP a sérové proteinázy), kterými jsou epiteliální buňky přeměněny na motilní a napadají okolní tkáň. Nejčastěji je tato ztráta pozorována u maligních CMT tvořících metastázy (Langley a Findler, 2007; Klopfeisch, 2010d; Klopfeisch, 2011b), což potvrzuje teorii, že šíření metastáz vyžaduje ztrátu buněčné adheze u primárního nádoru (Klopfeisch, 2011a).

Nejvíce zkoumanou buněčnou adhezní molekulou u CMT je E-kadherin, kde jsou mezi represory E-kadherinu zařazeny regulátory epitelio-mezenchymálního přechodu. Jeho výskyt je zjištěn ve více jak 85 % invazivních karcinomů (Cowin et al., 2005). Posun těchto represorů k invazivnímu typu = k cytoplazmatické lokaci a společná nižší exprese E-kadherinu a beta-kateninu způsobí ztrátu diferenciací nádoru, větší velikost a zároveň invazivní růst (Bruneti et al., 2005; Matos et al.,

2006; Gama et al., 2008; Klopfeisch, 2011a;). Up regulovaný beta-kenin je pak detekován ve více jak 50 % benigních nádorů (Cowin et al., 2005).

Na rozdíl od E-kadherinu je dolní exprese P-kadherinu, označovaného jako onkogen nebo také jako komplex asociovaný s onkogenní progresí, identifikována u invazivních karcinomů prsu u žen a u maligních nádorů fen (Gama et al., 2008; Albergaria et al., 2011; Li a Feng, 2011). Tento onkogen zvyšuje motilitu buněk, jejich migraci a invazi do extracelulární matrix působením několika mechanismů, včetně narušení interakce E-kadherinu s beta-keninem (které bez narušení stabilizuje přilnutí dvou buněk), epitelio-mezenchymálního přechodu a sekrece matrixových metaloproteináz (Li a Feng, 2011; Albergaria et al., 2011).

U psů byl P-kadherin nalezen v myoepiteliálních a bazálních buňkách v místě kontaktu zdravé mléčné žlázy s tkání postiženou dysplazií. Exprimuje se v cytoplazmatu karcinosarkomů, karcinomů vřetenovitých buněk a osteosarkomů mléčné žlázy. (Gama et al., 2004; Gama et al., 2008; Li a Feng, 2011).

### 7.3.3 Význam matrix proteináz

Při startu nádorového bujení jsou všechny kontrolní systémy proteolýzy inaktivovány a zároveň je zničen extracelulární matrix. Příčinou tohoto děje jsou hydrolázy, které jsou vylučovány ze stromálních a nádorových buněk. Nejčastěji je tato inaktivace proteolýzy, zapojena do invazivních a metastatických procesů, zprostředkována matrixovými metaloproteinázami (MMP), a to zejména kolagenázami typu IV. (MMP-2 a MMP-9) regulujících aktivitu proteináz. Dále je inaktivace zprostředkována serinovými proteázami, z nichž je nejdůležitější aktivátor plasminogenu urokinázového typu (Upa - Allen a Jones, 2011 In Santos, 2015; Hadler-Olsen et al., 2013).

Tyto MMP jsou označovány jako multifunkční enzymy, schopné znehodnotit široké spektrum substrátů. Dále jsou popisovány jako zinek-dependentní endopeptidázy (narušující) znehodnocující extracelulární matrix (Hadler-Olsen et al., 2013). Tyto metaloproteinázy jsou vylučovány buňkami jako neaktivní zymogeny a poté jsou aktivovány buď v pericelulárním prostředí tkáně nebo plazmovými proteinázami. Ve zdravé mléčné žláze jsou tyto MMP, identifikovány minimálně,

jelikož znehodnocením extracelulární matrix je podpořen růst maligních nádorů, invaze a zároveň i tvorba metastáz (Vihinen a Kahari, 2002; Vihinen et al., 2005).

Želatinázy A (MMP-2) a B (MMP-9) patří mezi nejsledovanější matrixové metaloproteinázy u maligních nádorů. Důvodem je jejich schopnost rozkládat kolagen IV. typu, který tvoří složky bazální membrány a zároveň je první bariérou proti rakovinné invazi (Vihinen a Kahari, 2002; Vihinen et al., 2005; Hadler-Olsen et al., 2013).

Základem dalšího důležitého systému s názvem uPA je urokináza, její receptory (uPAR) a dva hlavní inhibitory PAI-1 a PAI-2 (Han et al., 2005). Celým tímto systémem je ovlivněna angiogeneze, proliferace nádorových buněk, ztráta buněčné adheze, migrace, intravazace a další růst nádoru na místě metastáz (Ulisse et al., 2009). Zvýšená exprese systému uPA byla zjištěna u CAFS a u rakovinných buněk maligních CMT. Při jeho zvýšené expresi byla zjištěna zvýšená proliferace, ztráta diferenciacce a tvorba metastáz, čímž byla předpovězena horší prognóza onemocnění. Proto byl systém uPA uveden mezi cenné pomocné prognostické faktory a potenciální terapeutické cíle u léčby maligních CMT (Santos et al., 2011).

Mezi další důležité látky patří i tkáňové inhibitory metaloproteináz (TIMP), které hrají důležitou roli v homeostáze extracelulární matrix, a to regulací aktivity MMP. Těmito TIMP je regulována proliferace nádorových buněk, anti a pro-apoptóza daných druhů buněk. Dále je TIMP stimulována invaze, růst a tvorba metastáz (Vihinen a Kahari, 2002; Brew a Nagase, 2010) a zároveň je jimi zvyšována odolnost nádorových buněk k apoptóze (Jiang et al., 2002). Vyšší down exprese TIMP je spojena s vyšší invazí rakovinných buněk, naopak over exprese TIMP vede ke snížení růstu nádoru a zároveň tvorby metastáz. Proto můžou být TIMP využívány za účelem získání lepších léčebných metod. (Jiang et al., 2002; Lambert et al., 2004; Brew a Nagase, 2010).

## 8. ZÁSADNÍ FAKTORY V ROLI VZNIKU A RŮSTU CMT

Mezi tyto faktory je řazena celá řada vlivů, které hrají větší či menší roli ve vzniku nádorů. Předpokládá se, že některé „zárodky“ nádorů mohou být založeny již v juvenilním stadiu mléčné žlázy. Na míře a množství působících vnějších vlivů je následně založeno rozrůstání a dělení „zárodků“ nádorů. Úplný projev nádoru je dán citlivostí atakovaného organismu (Gbelec, 2015).

### 8.1 Faktory ovlivňující vznik CMT

#### 8.1.1 Vliv vnitřních faktorů

##### 8.1.1.1 Věk

Věk je jeden z nejdůležitějších rizikových faktorů u CMT (Sorenmo et al., 2011). Nejčastěji se CMT objevuje u fen ve středním až pozdějším věku (Withrow et al., 2013). Například u studované linie plemene bígl byly nádory detekovány v okolí 8 let věku a jejich četnost (výše progresse) rostla s výškou věku (Taylor et al., 1976). Podobné výsledky byly zaznamenány i z jiné studie, kde byl progresivní nárůst výskytu nádorů zaznamenán u různých plemen psů, a to v rozmezí 9 až 11 let věku (Dorn et al., 1968a In Sorenmo et al., 2011). Sorenmo et al. (2011), Withrow et al. (2013) a Brooks (2015) dále tvrdí, že maligní nádory se nevyskytují u fen mladších 5 let. Naopak výskyt benigních nádorů je u takto starých jedinců velmi častý (Taylor et al., 1976). Poslední autorky dodávají, že nález jakéhokoliv CMT u mladších jedinců není výjimkou, a to ani u dvouletých fen (Štěpánková, 2012; Šmrhová a Lukeš, 2015).

##### 8.1.1.2 Plemeno

Dle Doležalové (2010) a Sorenmo et al. (2011) existují plemena, jejichž genetický základ je predispozicí pro vznik CMT. Mezi taková plemena byl zařazen německý ovčák, pudl, jezevčík, kokršpaněl a teriér (Mitchell et al., 1974; Moe, 2001; Richards et al., 2001; Withrow et al., 2013; Borge et al., 2013; Post, 2015). Z teriérů

a kokršpanělů sem patří anglický setr, anglický špringršpaněl, bretaňský ohař, maltézský psík a jorkšírský teriér (Mitchell et al., 1974; Richards et al., 2001; Withrow et al., 2013; Borge et al., 2013; Post, 2015). Šmrhová a Lukeš (2015) do této skupiny zahrnují i plemeno bostonský teriér. A další autor zahrnuje i plemeno afghánský chrt, bichon frisé (bišon), čivava a west highland white teriér (vestík – Moe, 2001; Sorenmo et al., 2011). Jako riziková byla označena i plemena dobrman a boxer. U boxera byly výsledky náchylnosti velmi sporné - v Evropě bylo zjištěno vysoké riziko vzniku CMT, naproti tomu ve Spojeném Království bylo toto riziko nulové (Richards et al., 2001; Borge et al., 2013; Withrow et al., 2013). Za to v dalších pracích bylo plemeno Boxera označeno jako za velmi rizikové a dokonce u něho byla naznačena plemená predispozice k tomuto onemocnění (Moe, 2001; Richards et al., 2001; Bronden et al., 2010).

Borge et al. (2013) udává plemena s menší rizikovostí pro toto onemocnění. Mezi ně zařazuje bernského salašnického psa (Moe, 2001), kolii, shetlandského ovčáka a bíglu. U plemene bígl byla rovněž v náchylnosti nalezena malá odlišnost, nikoliv však geografická jako u boxerů, ale liniová či na úrovni rodiny (Withrow et al., 2013), tzv. dvě matky z jedné linie chovu, od dvou rodin měli odlišné fenotypy a dle nich byly rozděleny na dvě skupiny. A to na jednu co byla náchylná k CMT a na druhou která byla rezistentní vůči CMT (Schafer et al., 1998).

### 8.1.1.3 *Kastrace*

Kastrace patří mezi druhý nejdůležitější faktor ovlivňující výskyt CMT: V případě, že je fena kastrována před 1. háráním, je riziko výskytu CMT sníženo na nulové (Doležalová, 2010). Problémem ale je, že v Evropě je včasná kastrace zakázána (Gbelec, 2015), proto je kastrace fen, jako preventivní opatření tohoto onemocnění prováděna až déle. A to v období po proběhnutí 1. estrálního cyklu (hárání) feny, tím je riziko výskytu CMT oproti kastraci před 1. háráním (0,5 %) vyšší, a to 8 % (Schneider et al., 1969; Gbelec, 2015). Pokud je tato operace provedena až po proběhnutí 2. estrálního cyklu a déle (po 3. hárání), je riziko výskytu CMT zvýšeno až na 26 % (Schneider et al., 1969; Doležalová, 2010). V případě, že je operace provedena až po 4. hárání, tedy u fen 4 letých a starších,

riziko výskytu CMT již není ovlivněno (Taylor et al., 1976; Doležalová, 2010; Withrow et al., 2013; Gbelec, 2015; Šmrhová a Lukeš, 2015).

Post (2015) uvádí, že i kastrace v pokročilejším věku i stadiu nádoru mléčné žlázy může být užitečná, protože je prodloužena délka života. Brooks (2015) dodává, že jejich život může být prodloužen až o 45 % oproti fenám, které kastrovány nejsou.

#### 8.1.1.4 Vliv tělesné hmotnosti, výživy, březosti a laktace

Výší tělesné hmotnosti je utlumena či urychlena aktivita nádorových buněk. Proto je v období puberty a v případě podváhy zaznamenán nižší či pozdější výskyt CMT. Naproti tomu při nadváze je toto riziko zvýšené. Příčinou jsou v tukové tkáni přítomné androgeny, kterými je stimulována tvorba estrogenů, které přispívají k tvorbě nádorů (Sorenmo et al., 2011; Withrow et al., 2013).

Doležalová (2010) poukazuje i na vliv stravy. Dieta bohatá na lipidy podávána v období 1. roku života, podporuje vznik nádorů. Tuto skutečnost potvrzuje Sonnenschein et al. (1991), v jehož studii byly psy trpící obezitou, rok před diagnostikou krměni stravou bohatou na tuky, později diagnostikováni na CMT. Tuto náchylnost potvrzuje i Kutzler (2014). Naproti tomu dietou s nízkým obsahem tuků v období od 9. do 12. měsíce života je oddálen výskyt CMT (Větvíčka, 2003). Kokrétně bylo touto dietou u štíhlých psů ve věku 9. až 12. měsíců dosaženo významného snížení rizika výskytu CMT u skupiny testovaných psů ve studii Sonnenschein et al. (1991).

Vliv březosti a laktace na výskyt CMT může být různý. U některých případů je tento vznik CMT podpořen laktací či falešnou březostí. Avšak u většiny pacientů nejsou tyto nádory těmito procesy ovlivněny (Štěpánková, 2012).

### 8.1.2 Vliv genetiky

#### 8.1.2.1 Vliv genu *ESR1* (gen pro estrogenový receptor 1)

Gen *ESR1* (estrogen receptor 1) hraje zásadní roli ve vývoji zdravé mléčné žlázy (Borge et al., 2013), kde je jeho exprese pro ER-alfa hlášena ve vysokých hladinách (Nieto et al., 2000). Naopak, jeho nižší hladiny jsou detekovány v benigních nádorech a nejnižší hladiny v maligních nádorech CMT, kde taktéž

přispívají k horší prognóze (Nieto et al., 2000; Spoerri et al., 2015). V některých případech v maligních nádorech tyto exprese nejsou detekovány, za to v benigních už ano (Chang et al., 2009). Tyto hodnoty potvrzuje i studie Spoerri et al. (2015), kde byla genová exprese ER-alfa (*ESR1*) identifikována jak ve zdravé mléčné žláze, tak i v benigních a maligních nádorech, krom jednoho karcinomu, kde zaznamenána nebyla. Maligní nádory vykazovaly významně nižší genovou expresi *ESR1* pro ER-alfa ( $p = 0,017$ ), než benigní nádory a tkáně zdravých mléčných žláz ( $p = 0,03$  – Spoerri et al., 2015).

Výskyt genu *ESR1* byl taktéž zkoumán u dvou souborů fen. První soubor tvořily vzorky krve od jedinců plemene anglický špringršpaněl (ESS; English Springer Spaniel), u kterých je známo o zvýšené náchylnosti k CMT, dané genetickým podkladem a druhý soubor byl složen ze dvou skupin vzorků krve psů odlišné náchylnosti k CMT. První skupina vzorků krve od psů s vysokým rizikem výskytu CMT byla porovnávána se vzorky krve od psů s nízkým rizikem výskytu CMT. Ze vzorků krve byla izolována genomová DNA a byly identifikovány jednonukleotidové polymorfismy *ESR1* genu (SNP; Single Nucleotide Polymorphism). Alely SNP s afinitou k výskytu CMT genu *ESR1* byly ve vyšších hladinách detekovány ve skupině fen anglického špringršpaněla, jejichž plemeno má k tomuto onemocnění predispozici. Tím bylo možné rozpoznat výši rizika rozvoje CMT u dalších testovaných fen (Borge et al., 2013).

#### 8.1.2.2 Vliv genů *BRCA1* a *BRCA2*

*BRCA1* (breast cancer 1) i *BRCA2* (breast cancer 2) jsou označovány jako geny zabraňující vzniku nádoru = tumor supresorové geny. Při jejich mutaci nedochází k opravám poškozené DNA (Klopfleisch et al., 2011b). Různá míra exprese těchto genů byla detekována v postižených tkáních mléčné žlázy, metastázách lymfatického systému a zdravé tkáni mléčné žlázy (Matos, 2015). U psů jsou mutace genu *BRCA1* spojovány se vznikem maligních nádorů a mutace *BRCA2* se vznikem metastáz. Podrobnější analýza těchto genů byla provedena i u plemene anglický špringršpaněl, u kterého je plemenná predispozice ke vzniku malignity mléčné žlázy (Withrow et al., 2013). Rizikovostí mutací těchto genů se zabýval Rivera et al. (2009), který uvádí, že rizikové alely pro gen *BRCA1* byly detekovány

u 91 % případů, a to ve frekvenci 97 %, stejnou frekvenci měly i rizikové alely pro gen *BRCA2* a byly detekovány u 88 % případů.

Gen *BRCA1* je jedním z klíčových genů se silnou afinitou k nádoru prsu u lidí, přičemž hraje významnou roli v buněčných funkcích, jako je např. oprava DNA, regulace buněčného cyklu či regulace transkripce. Bylo determinováno několik SNP's (single nucleotide polymorphisms) v genu *BRCA1* u psa, přičemž u SNP -1173 C >T byl prokázán významný vliv na výskyt CMT u mutované alely (Sun et al., 2015).

Hladiny exprese tumor supresorových genů, jako je např. *BRCA2* jsou důležité pro prevenci vzniku tumorů mléčné žlázy, přičemž dosavadní výzkumy dokládají výrazně nižší hladinu exprese genu *BRCA2* v nádorech než u zdravé tkáně mléčné žlázy (Yoshikawa et al., 2015). Pokud byly v nádoru objeveny mutace na genu *BRCA2* byla signalizována i přítomnost, či možnost rozvoje metastáz (Withrow et al., 2013; Spoerri et al., 2015).

I přes dokázanou spojitost výše zmíněných genů se vznikem maligních nádorů mléčné žlázy, se výsledky mnoha studií liší. Zatímco (Withrow et al., 2013) prokázali výrazný vztah mutací v těchto genech k výsktu CMT, jiní autoři takto silnou afinitu zpochybňují (Klopfleisch et al., 2011b).

### 8.1.2.3 Faktory způsobující chybné opravy DNA

Mezi ně jsou zařazeny již zmíněné *BRCA1* a *BRCA2* geny, které se podílejí na detekci poškozené DNA a její opravě (Hsu et al., 2010). Jejich vysoké úrovně exprese byly detekovány u metastáz lymfatického systému, kde byly zapojeny do progresu nádoru. Dále byly detekovány na vysoké úrovni u karcinomů. Naproti tomu jejich nízké úrovně exprese byly hlášeny u adenomů (Klopfleisch et al., 2010a). Zároveň jsou u nich často detekovány bodové mutace a ztráty heterozygotnosti – inaktivace *BRCA2* genu (Yoshikawa et al., 2008).

Mezi další faktor patří i enzym rekombináza Rad 51. Tímto enzymem spolu s *BRCA2* genem je spuštěna samotná homologní rekombinace a oprava DNA ve zdravé mléčné žláze (Klopfleisch et al., 2010b; Yoshikawa et al., 2008). Rad 51 je v této zdravé mléčné žláze obsažen ve velkém množství. Snížené množství tohoto enzymu, či úplná ztráta je důvodem chyb v opravě DNA, nekontrolovatelné



proliferace buněk a tvorby nádorů (Hsu et al., 2010). Proto jsou jeho snížené koncentrace, často detekovány v buňkách metastáz lymfatického systému (v 80 %), méně pak v buňkách karcinomů mléčné žlázy (v 50 %) a nejméně u adenomů (Klopfleisch et al., 2010b).

#### 8.1.2.4 *Schopnost vyhnout se apoptóze*

Při stavu, kdy se rakovinná buňka vyhne apoptóze, je zvýšena stabilita mutace na daném genu a tím připraveny podmínky pro přeměnu nádoru v maligní, jehož buňky mají v této situaci vyšší životaschopnost (Argyle and Khanna, 2013).

Rychlý růst maligních nádorů je vyvolán cytotoxickým stresem, nedostatkem kyslíku v těle a i zbavením živin. V důsledku těchto změn rakovinné buňky hromadí špatně složené proteiny v endoplasmatickém retikulu, čímž je u buněk snížena životaschopnost vedoucí až k samotné apoptóze. Tímto stresem je poté podpořena produkce proteinů teplotního šoku (HSP; heat shock proteins) a taktéž Derlin-1 proteinu (Klopfleisch et al., 2011b). Příkladem vlivu zvýšené exprese těchto proteinů teplotního šoku, je skutečnost, že takovýto výskyt u CMT může usnadnit nádorovým buňkám vyhnout se apoptóze a dále i pomoci rozvoji maligního fenotypu u nádoru (Kumaraguruparan et al., 2006). Podobný vliv má i transportní protein Derlin-1, který potlačuje tuto stresem vyvolanou apoptózu a zároveň jsou jím exportovány špatně složené proteiny z endoplazmatického retikula (Klopfleisch et al., 2010c). Jeho genové a proteinové hladiny byly identifikovány ve velmi slabé expresi u adenomů, v mírné expresi u adenokarcinomů a ve zvýšené expresi u metastáz v lymfatickém systému mléčné žlázy psů (Klopfleisch et al., 2010a; Klopfleisch et al., 2010c). Bohužel exprese proteinu Derlin-1 je všudypřítomná (kosmopolitní výskyt) a tak brání jeho použití jako markeru pro metastatické chování, naproti tomu cílená inhibice tohoto stresového proteinu může být zajímavou terapeutickou strategií, a to zejména u maligních nádorů mléčné žlázy (Klopfleisch et al., 2011b).

#### 8.1.3 *Vliv vnějších faktorů – insekticidů*

Tyto látky byly již Kelsey et al. (1998) určeny jako rizikové faktory v CMT, a to zejména u psů s nadváhou či obezitou, kde je jejich výskyt vázán na tukovou

tkáň (jsou lipofilní). Četnější výskyt těchto látek byl poté specifikován na feny, které stejně jako ženy, měli vyšší poměr tukové tkáně v těle než psy (Kelsey et al., 1998).

Jejich vliv je ukázán v následujících studiích: První studie: Pro výzkum bylo vybráno 9 fen s jednoduchými či komplexními karcinomy. Jejich nález byl přímo či nepřímo spojen s účinky syntetických chemických látek, kterým byly feny vystaveny. Z insekticidů byly v tukové tkáni poblíž nádorů mléčné žlázy fen nejvíce zastoupeny/detekovány pyretroidy, které jsou běžně využívány v zemědělství, farmářství, v chovu domestikovaných zvířat a při hubení škůdců. Mezi pyretroidy patří cypermethrin, cyhalothrin, tetramethrin a deltamethrin. Důležitými vlastnostmi těchto látek je krátký poločas rozpadu a velmi vysoký účinek působení. (Bradbury a Coats, 1989; Heppner et al., 2008; Andrade et al., 2010). Do organismu se tyto látky vstřebávají kůží, dýcháním nebo trávicím systémem. Vzorky tukové tkáně fen byly testovány metodou HPLC (High Precision Liquid Chromatography; vysokoúčinná kapalinová chromatografie) a jako pozitivní byly identifikovány pouze 3 feny. U první feny bylo nalezeno  $0,55 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  deltamethrinu a  $0,32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  cyhalothrinu. U druhé feny bylo nalezeno  $0,02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  deltamethrinu a  $0,05 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  allethrinu. A u třetí feny bylo nalezeno pouze  $0,03 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  cypermethrinu (Andrade et al., 2010).

Výsledkem této studie bylo zjištění, že zvýšeným ukládáním pyretroidů v přilehlé tukové tkáni CMT byla zvýšena hladina receptorů pro estrogeny, čímž byla zvýšena tvorba estrogenů, která vyvolala větší proliferaci nádorových buněk. Vznik maligních nádorů byl poté ovlivněn mírou znečištění prostředí a citlivosti daného organismu pro škodlivé látky (Andrade et al., 2010). Tyto výsledky byly mimo jiné i potvrzeny druhou studií, kde byla studována exprese proto-onkogenu *WNT10B*. Jehož zvýšenou expresí je v tkáni mléčné žlázy zvyšována proliferace nádorových buněk a rozvoj zhoubných nádorů, (za spoluúčinku estrogenů - Kasat et al., 2002). Studií Kasat et al. (2002) bylo taktéž zjištěno, že skupina 4 pyretroidů (sumithrin, fenvalerát, permethrin a d-trans allethrin) napodobuje aktivitu estrogenů, a že jejich přítomnost v tkáni zvyšuje expresi proto-onkogenu *WNT10B* a tím i rozvoj nádorů.

## 8.2 Faktory ovlivňující růst CMT

### 8.2.1 Hormony, jejich exprese a účinky

Doležalová (2010) uvádí, že hlavními faktory pro vznik a růst CMT, jsou hormony vaječnicků: progesteron a estrogen. Tuto skutečnost potvrzují nálezy receptorů obou hormonů v benigních a maligních nádorech mléčné žlázy (Klopfleisch et al., 2010a).

Charakter nádorového bujení CMT je nejvíce ovlivněn přítomností těchto dvou hormonů. Ve zdravé mléčné žláze jsou hladiny exprese genů pro receptor progesteronu (PR) velmi vysoké, naproti tomu u karcinomů a metastáz lymfatického systému jsou tyto exprese PR 10x nižší (Klopfleisch et al., 2010a). Současná zvýšená exprese obou receptorů tedy signalizuje vyšší míru přežití. Takovýto výskyt byl hlášen u benigních nádorů, kde byly tyto exprese genů pro oba receptory obsaženy z 95-100 % - Chang et al., 2009). Pokud je v nádoru zjištěna jen zvýšená exprese genu pro receptor estrogenu (ER), je šance na přežití nízká a onemocnění je spojeno s maligním bujením (Klopfleisch et al., 2011b). Ale když jsou v nádoru zjištěny pouze vyšší exprese PR, jsou případy naopak spojeny s lepší prognózou, např. pouze s adenomy (exprese genu pro PR: 1,6+-1,4 - benigním bujením - Klopfleisch et al., 2010a).

Tvorba růstového hormonu, zde sehrává také důležitou roli. Withrow et al. (2013) uvádí, že zvýšená tvorba růstového hormonu je zapříčiněna vyšší hladinou estrogenů. Oproti tomu Matos a Santos (2015) tvrdí, že zvýšená tvorba růstového hormonu je způsobena (v odezvě na) vyšší hladinou progesteronů. Jeho zvýšený účinek je způsoben snížením počtu alternativně sestřižených GHR transkriptů v rakovinné tkáni mléčné žlázy v porovnání s normální tkání ve zdravé mléčné žláze (Van Garderen and Schalken, 2002). Withrow et al (2013) dodává, že vyšší hladina progesteronů může být způsobena účinkem karcinogenních látek.

Růstový hormon pak působí přímo či nepřímo na nádorové buňky. Zatímco jeho přímým působením je zrychlena proliferace nádorových buněk a zároveň je podpořen růst buněk se zvýšenou životaschopností (Król et al., 2012). Jeho nepřímým působením, které je zprostředkováno pomocí inzulinu podobného růstového faktoru 1 (IGF-1; insulin-like growth factor 1 – Matos a Santos, 2015)

zapojeným do diferenciacie a dělení buněk u šíření CMT, je podpořeno šíření a dělení nádorových buněk (Withrow et al., 2013).

Withrow et al (2013) a Van Garderen a Schalken (2002) a Klopffleisch et al. (2010) zkoumali hladiny růstových hormonů v nádorech. V maligních a více agresivních CMT byly zaznamenány vyšší hladiny růstového hormonu lidské rakoviny karcinogeneze, IGF-1, progesteronu a 17beta estradiolu. Oproti tomu u všech jmenovaných benigních nádorů byly zaznamenány hodnoty mnohem nižší (Withrow et al., 2013). V závěru Withrow et al. (2013) uvádí, že estrogen a progesteron hrají zásadní roli u nádorů, jejichž buňky se podobají epiteliálním. Hormonální receptory epiteliálních buněk jsou identifikovány ve vyšších hladinách v tkáních hárajících fen. Prostřednictvím těchto hormonů je nádorovým buňkám umožněno navázání nádorových buněk na tyto epiteliální buňky. Nádory vzniklé z takto navázaných nádorových buněk jsou hodně diferenciované a agresivní a jejich růst je podmíněn úrovní jmenovaných hormonů. Naproti nim existují velké, nediferenciované nádory, které jsou na hormonech zcela nezávislé. (Withrow et al., 2013).

### 8.2.2 Růstový faktor EGFR a jeho receptory

Mezi tyto receptory jsou zařazeny HER-1, HER-2 a HER-3. HER-1 je označován jako epidermální růstový receptor epiteliálního růstového faktoru EGFR. Je lokalizován ve zdravých mléčných žlázách fen a u fen s CMT (Matos a Santos, 2015). Přítomnost samotného EGFR faktoru přispívá k vyšší agresivitě nádoru, vyšší angiogenezi u maligních CMT a dále souvisí s velikostí, histologickým stupněm malignity, klinickým stádiem daného nádoru a popř. s mitotickým stupněm (Carvalho et al., 2013).

Pomocí receptoru HER-1 jsou aktivovány signální dráhy vedoucí k tvorbě nádorů (Matos a Santos, 2015). Výskyt HER-2, přesněji jeho synonymní sekvence varianty jeho genové exprese (exony 14-18) byly nalezeny v CMT ve zvýšené expresi (Hsu et al., 2007). Receptory HER-2 byly nalezeny, jak v adenomech, tak karcinomech či metastázách lymfatického systému (Klopffleisch et al., 2010a). Nadměrná exprese HER-2 proteinu byla u psů spojena buď s vyšší mírou přežití psů, kde byl protein v nadměrné expresi detekován u 30 % maligních nádorů z 91 případů (Hsu et al., 2007), nebo jeho nadměrné exprese nepoukazovaly na vývoj nádorů

s horší prognózou, nýbrž na nádory s lepší a pozitivnější prognózou, a to ve zdravých mléčných žlázách (Ressel et al., 2013). Jeho exprese byla nalezena v 17 % benigních nádorů a v 35 % maligních nádorů (Kim et al., 2011). Role exprese HER-3 je poté spojena s vyšším histologickým stupněm, progresí a invazí nádorových buněk do cév lymfatického systému, tedy tvorbou metastáz. Mimojaderná lokalizace exprese HER-3 byla detekována u 92 % benigních CMT a u 35 % maligních CMT. Oproti tomu, jaderná exprese HER-3 v rakovinných buňkách byla u benigních CMT nulová (z 12) a u maligních CMT byla přítomna ve 42 % (z 52) testovaných nádorů (Kim et al., 2011).

## 9. PROGNÓZA

Prognóza je dána velikostí: Čím vyšší je velikost nádoru, tím horší je histologická progrese nádoru. Dále věkem: u starších jedinců je identifikován větší počet maligních nádorů (Sorenmo et al., 2009), typem nádorového bujení (Post, 2015) a obdobím, kdy je žena kastrována (před či po vyjmutí nádoru). O prognóze pak rozhoduje i poloha, hloubka uložení a stupeň přichycení nádoru ke tkáni (dle agresivity nádoru - Post, 2015). Čím je nádor v tkáni mléčné žlázy uložen níže, tím více je zakomponován do tkáně a o to víc je zhoršena daná prognóza. Prognóza je zhoršena přítomností zánětlivého karcinomu, dále přítomností metastáz a taktéž maligních nádorů (Kutzler, 2014; Gbelec, 2015). Oproti tomu výskyt benigních nádorů je spojován s pozitivnější prognózou (Post, 2015).

### 9.1 Určení nádorů

#### 9.1.1 Dle histologického vyšetření

Dle histologie jsou nádory řazeny do třech stupňů v závislosti na třech kritériích. Každé kritérium je obodováno na stupnici od 1 do 3 bodů (Elston a Ellis, 1991; Misdorp, 2002 In Sleekx et al., 2011; Shafiee et al., 2013; Withrow et al., 2013). Mezi tato kritéria jsou zařazeny 1) informace/procento tvorby tubulů/o tvorbě/utváření tubulů/kanálků, 2) informace/stupeň (o) jaderného pleomorfismu, 3) přesný počet mitotických impulzů na 10 haploidních fenotypů. Tuto klasifikaci navrhli Elston and Ellis a je považována za nejspolehlivější

metodu u CMT. Může být použita u všech druhů nádorů, s výjimkou sarkomů. Tímto systémem je ještě bodována i úroveň diferenciaci nádorů:

- Do 1. stupně je zahrnut dobře diferenciovaný nádor s bodovým ohodnocením 3–5 bodů.
- Do 2. stupně je zahrnut středně diferenciovaný nádor s bodovým ohodnocením 6–7 bodů.
- A do 3. stupně je zahrnut slabě diferenciovaný nádor s bodovým ohodnocením 8–9 bodů.

Dle agresivity chování daného nádoru lze poté i předpovědět invazi nádorových buněk do lymfatického či krevního systému (Elston a Ellis, 1991; Misdorp, 2002 In Sleekx et al., 2011; Shafiee et al., 2013; Withrow et al., 2013).

Naproti tomu Gilbertson et al. (1983) mluví o trochu jiných parametrech třídění, prvním je stupeň proliferace kanálků epitelu, druhým je stupeň jaderné proliferace a třetím je stupeň jaderné diferenciaci lezí a intenzita lymfatické buněčné činnosti.

## 9.1.2 Dle klinického vyšetření

### 9.1.2.1 Velikost

Dle MacEwena et al. (1986) byla velikost nádoru klasifikována třemi stadii. I. stadiem, kdy je velikost nádoru 3 cm a méně, II. stadiem, kdy je velikost nádoru od 3 do 5 cm a III. stadiem, kam jsou zařazeny nádory větší 5 cm. Navíc je zde ještě uváděno IV. stadium představující metastázy v lymfatickém systému (MacEwen et al., 1985 In Withrow et al., 2013) a poté stádium V. prezentující přítomnost vzdálených metastáz (Sorenmo et al., 2011). V případě, kdy je zasažen lymfatický systém, se velikost nádoru neklasifikuje (Kurzman, 1986 In Withrow et al., 2013). Systém MacEwena et al. (1986) je všestranně použitelný s výjimkou zánětlivých karcinomů a sarkomů (Withrow et al., 2013).

### 9.1.2.2 *Staging systém*

Staging systém vychází z metod organizace WHO (World Healthy Organization; Světová zdravotní organizace) a byl vyhodnocen jako nejvhodnější pro prognózu i léčbu případů s CMT se zasažením lymfatického systému (Owen, 1980; Finsterle, 2007b; Withrow et al., 2013). Systémem jsou hodnoceny faktory způsobující vznik nádoru a je jím zodpovězen úplný obraz o nádoru. Poskytuje informace o velikosti, rychlosti růstu a schopnosti tvorby metastáz daného nádoru (Finsterle, 2007b). A také je pomocí něho možné specifikovat i rozšíření nádoru do organismu zvířete, zejména maligních nádorů.

Pro specifikaci nádorů je používán systém písmen (TNM) a číslic (0,1 – Owen, 1980; Langenbach et al., 2001 In Sorenmo et al., 2011;). Písmenem T je specifikován rozsah a velikost primárního nádoru, písmenem N rozšíření nádoru do lymfatických uzlin (stav regionálních mízních uzlin) a písmenem M označuje přítomnost vzdálených metastáz (přítomnost či absenci vzdálených metastáz). Přítomnost nádorů (rozsah maligního onemocnění) je pak vyjádřena čísly 0 (negativní) a 1 (pozitivní – Owen, 1980; Fisherová, 2009; Langenbach et al., 2001 In Sorenmo et al., 2011; Štefánek, 2011; Shafiee et al., 2013; Withrow et al., 2013; Kutzler, 2014).

## 9.2 Prognostické faktory

### 9.2.1 Markery proliferace

Marker je faktor, kterým je způsobena nekontrolovatelná buněčná proliferace. Tato vlastnost je typickým znakem nádorového bujení, a proto jsou tyto markery spojeny s prognostickými faktory v CMT (Löhr et al., 1997; Peňa et al., 1998).

#### 9.2.1.1 *Nejběžnější markery proliferace*

Jaderný antigen PCNA. Tento antigen je spojen s mitotickými indexy, histologickým stupněm, recidivou nádoru a postižením lymfatického systému. Svým vlivem na nízkou recidivu onemocnění (0,0001 % šance návratu onemocnění), byl zařazen mezi významné prognostické faktory (Löhr et al., 1997). Proliferační index

PCNA byl nižší u benigních nádorů než v maligních, kde měl tento antigen spojitost s histologickým stupněm, ale tato skutečnost ještě nebyla dostatečně potvrzena (Peña et al., 1998). PCNA index byl detekován u 27 % adenomů, 16 % maligních smíšených nádorů; dále u 4,4 % adenomů a u 5,3 % benigních smíšených nádorů. Naproti tomu v normální mléčné žláze nebyl PCNA index vůbec identifikován (Funakoshi et al., 2000).

Mezifázové AgNORs ((NORs -strukturní funkční jednotky jadérka) nukleární organizátor jadérka a jeho satelitních oblastí). Tyto markery jsou spojeny s růstem, dělením buněk a zdvojením nádorů a je sledován jejich počet. Ve větším počtu byly mezifázové AgNORs detekovány u maligních buněk, v menším počtu u benigních a nejméně u normálních zdravých buněk (Derenzini, 2000). Stejných výsledků dosáhla i jiná studie, kde byl nejvyšší počet AgNORs detekován u komplexních karcinomů a výrazně nižší počet byl nalezen u adenomů mléčné žlázy u psů (Löhr et al., 1997). U CMT je jejich přítomnost, respektive jejich počet; využit k odlišení maligních lézí od benigních (Derenzini, 2000; Bundgaard-Andersen et al., 2008).

Dále byl popsán i vliv jaderného nehistonového proteinu tzv. antigenu Ki-67, který byl objeven ve všech aktivních částech buněčného cyklu (G1, S, G2 a mitóze), kromě klidové fáze G0, kde nebyl identifikován. U lidí i u psů je výskyt tohoto proteinu spojen s horší prognózou. U psů je jeho výskyt navíc spojen i s vyšší agresivitou nádoru, přesněji maligním bujením (Scholzen and Gerdes, 2000). Ve vysokých koncentracích je tento antigen nalezen u maligních nádorů, kde předpovídá vznik metastáz, kdežto u benigních nádorů se vyskytuje v nízkých koncentracích (Peña et al., 1998). Proto byl zařazen mezi důležité prognostické faktory u CMT (Löhr et al, 1997; Sarli et al, 2002).

#### *9.2.1.2 Telomerázy*

Mensší roli v CMT zastávají i telomerázy, neboť je jejich působením podpořen nekonečný proliferační potenciál nádorů. Pomocí nádorové aktivity je udržována délka telomeráz a tím jsou překonány (= je zabráněno) procesy stárnutí u zdravých tkání (replikací), až po konečný počet buněčných dělení. Této skutečnosti je ve velké míře využíváno v multimodálních terapiích a při kontrole zbytkových nádorů a metastáz v tkáních (Funakoshi et al., 2000; Zavlaris et al., 2009). Tato nádorová (takováto relativní) aktivita telomeráz byla zaznamenána jako nejvyšší



u adenokarcinomů, méně pak u adenomů a nejméně u smíšených benigních nádorů. Naopak ve zdravé mléčné žláze, hyperplazii a u smíšených maligních nádorů nebyla tato aktivita zaznamenána. Proto byly telomerázy vybrány jako vhodné markery pro posuzování malignity u CMT (Funakoshi et al., 2000). Naproti tomu, Panarese et al. (2006) tvrdí, že dle jeho studií přítomnost telomeráz ve zdravé žláze a u karcinomů, nějak nekoreluje s myšlenkou použití této látky jako specifického markeru detekce této nemoci. Toho samého názoru je taktéž i Zavlaris et al. (2009), i když u vzorků tkání, které byly testovány na tuto vlastnost, byly provedeny odlišné testy (taktéž zaměřené na telomerázy).

### 9.2.1.3 Mutace na genech zabraňující vzniku nádoru

Gen *TP53* (tumor protein) zabraňuje vzniku nádorů a kóduje klíčový jaderný protein p53. Protein p53 udržuje DNA jednotnou a zároveň zabraňuje jejímu narušení, proto je nepostradatelný v opravě DNA. Při defektech je gen pro tento protein schopen zastavit proces replikace a tím je zastavena i oprava DNA a může tak vzniknout velké množství mutací (Kitchell and Dervisis, 2009).

Díky chybám na genu *TP53* jsou obcházeny kontrolní body replikace (je p53 schopen zastavit replikaci). V oblasti mutace dochází k hromadění chyb v řetězci DNA (Argyle and Khanna, 2013) a tím je urychleno buněčné dělení a započata nekontrolovatelná proliferace buněk (Modiano, 2013). Tyto mutace genu *TP53* byly u žen nalezeny v maligních nádorech prsu – u karcinomů (Bertheau et al., 2013) a u žen ve složkách karcinogeneze mléčné žlázy, kde tyto mutace zvyšovaly brzké riziko recidivy a zároveň i riziko úmrtí na karcinom mléčné žlázy (Wakui et al, 2001). Lee a Kweon (2002) dodává, že tyto mutace na genu *p53* jsou zapojeny do rozvoje maligních nádorů mléčné žlázy a přispívají k horší prognóze u karcinomů mléčné žlázy u psů. Stejně tak byl protein p53 identifikován i v maligních nádorech CMT (u pevných karcinomů a dále pak u nádorů s nejvyššími histologickými stupni), a to ve vyšší jaderné expresi, v nízké expresi byl detekován pouze u adenomů (Rodo a Malicka, 2008). Proto byly mutace genu *TP53* a vyšší exprese genu *p53* označeny jako časté příčiny rozvoje a progresu CMT (Veldhoen et al., 1999).

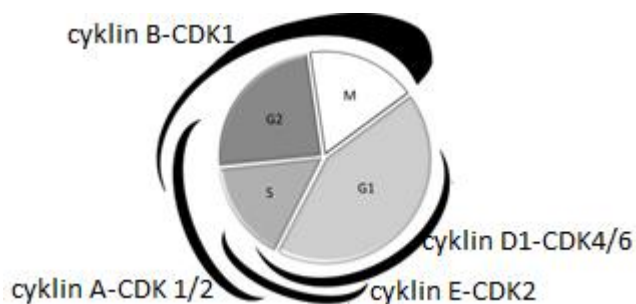
K dalšímu faktoru způsobující chyby byl zařazen i protein fosfatidylinositol-3-fosfatáza (PTEN). Jeho přítomnost byla prokázána u maligních CMT a u lidské

rakoviny prsu (Borge et al., 2011; Hofstatter et al., 2011), proto byla jeho nízká exprese označena jako významná v progresi CMT (Matos a Santos, 2015).

#### 9.2.1.4 Vliv cyklínů

Cyklíny jsou soubory proteinů tzv. proteinové rodiny, jimiž jsou regulovány buněčné cykly  $\Rightarrow$  vazba cyklínů na cyclin-dependentní (závislé) kinázy (CDK). Přítomnost těchto cyklínů byla potvrzena ve více jak 90 % případů rozrůstajících se nádorových buněk u lidí (Bonelli et al., 2014). Popisovány jsou celkem tři druhy cyklínů: cyclin A, cyclin D1 a cyclin E. Start mitózy je aktivován spojením cyclinu A s CDK1. Oproti tomu vznik nové DNA a aktivace kontroly nad počtem proběhnutých replikací (přípustná je jen jedna na jeden buněčný cyklus) je podpořen spojením cyclinu E s CDK2. Cyclin D1 a E naopak vyvolávají zastavení buněčného cyklu, a to spojením s CDK4 a CDK6 ve fázi G1/S (Matos a Santos, 2015).

Nicméně působení cyklínů D1 není označováno jako hlavní příčina progresu CMT, jelikož tyto cyklíny byly nalezeny i ve zdravé tkáni. Naproti tomu v časně karcinogenezi CMT může cyclin D1 hrát významnou roli (Mkaouar et al., 2012). Zvýšená exprese cyklínů A byla detekována v maligních i benigních CMT psů i koček. U psů tato zvýšená exprese neměla v roli karcinogeneze žádný význam (identifikována u 9/33 testovaných psů), za to u koček měla stěžejní roli v karcinogenezi (detekována v 7/8 testovaných koček - Murakami et al., 2000) - Obr. 9.



Obr. 9 Systém propojení CDK, cyklínů a buněčného cyklu (Matos a Santos, 2015)

## 10. DIAGNOSTIKA NÁDORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY U PSŮ

### 10.1 Zákroky vedoucí k určení diagnózy

Základem určení diagnózy je biopsie. Dle Finsterleho (2007b) a Komatsu et al. (2012) existují dva typy biopsie. Prvním typem je tenkojehelná aspirační biopsie. Při této metodě je vzorek nádorových buněk odebrán přímo z narostlé nádorové hmoty, a to tenkou jehlou s vnitřní injekční stříkačkou. Odebírány jsou jen buňky růstu, neboť z tohoto typu buněk lze nejlépe identifikovat povahu nádorového bujení a jeho agresivitu. Odebraný vzorek je nanesen na sklíčko, obarven a cytologicky posouzen. Dle agresivity buněk je určen rozsah nutně vyjmutelné tkáně. Agresivita buněk, je dle studie Komatsu et al. (2012) dána výší expresí hormonálních receptorů, HER-2 a transkripčních regulátorů. Druhým typem je biopsie, kdy jsou odebírány vzorky tkáně. Jedná se o nejčastěji používanou metodu (Komatsu et al., 2012; Post, 2015), která je prováděna jak před operací, tak po operaci. Tím je zjištěno, zda byl nádor správně typizován a jestli byl operací vyjmut celý či jen jeho část a taktéž dokáže předvídat malignitu a šíření nádoru (Finsterle, 2007b; Komatsu et al., 2012; Post, 2015). Oběma metodami je taktéž lehce zjištěn i obsah daných důležitých výše jmenovaných faktorů/látek, ale i dalších látek a hormonů, přispívajících k rozvoji CMT (Komatsu et al., 2012).

Dále je pacient podroben vyšetření krve a moči, kterým je vyhodnocen komplexní chemický obraz a následně posouzeny funkční schopnosti všech orgánů (Post, 2015). Následně je pacientovi odebrána hmota z mízních uzlin (Gbelec, 2015) a provedeno rentgenové vyšetření hrudníku a sonografie břicha, a to za účelem zjištění přítomnosti metastáz (Doležalová, 2010; Hnízdo, 2014; Gbelec, 2015).

Magnetickou rezonancí jsou pak označeny oblasti výskytu a rozšíření nádorového bujení (Finsterle, 2007b; Bentley et al., 2013) a pomocí ultrazvuku je určena struktura, velikost a tvar přítomných orgánů v dutině břišní. Konečným vyšetřením je diagnostická operace dutiny břišní (Finsterle, 2007b).

Na základě zákroků a postupů popsaných v této kapitole je určen typ přítomného nádorového bujení.

## 10.2 Novinky v diagnostice

U nádorových onemocnění je známo, že čím dříve je nádor diagnostikován, tím úspěšnější může být léčba a zvyšuje se šance na přežití. Nedávnou studií Margolin et al. (2016) bylo zjištěno, že metylace genomu DNA nádorových buněk, může pomoci při diagnostice pěti druhů nádorů, jako je nádor/rakovina plic, žaludku, tlustého střeva, (nádor) vnitřní výstelky dělohy - endometria a taktéž i rakovina prsu (Sánchez-Vega et al., 2013; Margolin et al., 2016). Další autoři potvrzují nápomocnou roli při diagnostice i u nádorů vaječníků a močového měchýře. Jejich pomoc je zprostředkována zvýšenou metylací genu *ZNF154* (Reinert et al., 2012; Sánchez-Vega et al., 2013).

Metylace je proces, kterým je změněna exprese genů, bez změny sekvence nukleotidů. Mění se zastoupení NK, a to adeninových a cytosinových nukleotidů, na které jsou navázány metylované skupiny nádorových buněk. Tato reakce je přirozeným procesem organismu, jak při jeho stárnutí, tak při vzniku nádoru či u degenerativního onemocnění (Margolin et al., 2016 In Mihulka, 2016).

Bylo zjištěno, že v určitých úsecích/lokusech DNA nádorových buněk se vyskytuje zvýšená metylace genu *ZNF154*. Tyto metylované úseky DNA nádorových buněk byly speciálním přístrojem detekovány, a to v krvi organismu napadeného nádorem (Reinert et al., 2012; Sánchez-Vega et al., 2013; Margolin et al., 2016 In Mihulka, 2016).

Bohužel, dosud nebyla nalezena spojitost vzniku nádoru v organismu a vysoké hladiny exprese genu *ZNF154*. Taktéž nebylo objasněno, jakou má tento gen v organismu funkci. Proto je dále tato problematika předmětem výzkumu. Pokud by tato metoda byla aplikována v praxi, nemusela by být prováděna ani mamografie, ani ostatní preventivní vyšetření. Prováděl by se pouze krevní test na přítomnost zvýšené metylace genu *ZNF154* (Margolin et al., 2016 In Mihulka, 2016).

## 11. TERAPIE NÁDORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY U PSŮ

Kromě chirurgické terapie, jsou zde popsány i doplňkové terapie, které jsou prováděny u sarkomů a zbytkových částí nádorů v mléčné žláze (Post, 2015).

### 11.1 Chirurgická terapie

Tento způsob léčby je aplikován na všechny benigní a přibližně na polovinu maligních nádorů. Rozsah chirurgického zásahu je založen na velikosti nádoru, jeho ohraničení, umístění, typu a rychlosti rozrůstání do okolních tkání a taktéž závisí na zdravotním stavu pacienta (Fossum a Hedlund, 1997 In Sleenckx et al., 2011; Brooks, 2015).

Například malý ohraničený nádor je odstraněn celý spolu s nejbližší okolní tkání. Oproti tomu u větších nádorů je doporučeno celkové odstranění nádoru včetně oddílu mléčné žlázy, ve které byl nádor lokalizován spolu s jeho sousedními oddíly a mízními uzlinami (Kamiš, 2015; Brooks, 2015). U sarkomů je samotné vyjmutí nádoru nedostačující, zde je nutná doplňková terapie (Finsterle, 2007b).

Chirurgická terapie je nejvíce využívána u kožních a podkožních nádorů mléčné žlázy (Finsterle, 2007b).

#### 11.1.1 Používané chirurgické operace

**Nodulektomie.** Nodulektomií je operativně vyjmut samotný nádor (Gbelec, 2015), a používá se nádorů, které jsou volně uložené, čistě ohraničené a do velikosti 3 mm (Doležalová, 2010).

**Lumpektomie.** Tato metoda je používána k odstranění samotného nádoru spolu s částí zdravé tkáně (Kutzler, 2014).

**Mamektomie.** Touto metodou je operativně vyjmuta celá jedna mléčná žláza (= konkrétní postižený struk a vemínko - Gbelec, 2015). Metoda je aplikována u nádorů do velikosti 1 cm (Doležalová, 2010). Jiným autorem je též nazývána jako jednoduchá mastektomie (Kutzler, 2014).

**Částečná mastektomie.** Tímto způsobem je vyoperována celá jedna lišta mléčné žlázy. Postup tohoto chirurgického zákroku je nastíněn u malé feny pudla,

jejíž 1. a 2. mléčná žláza byla atakována nádorem (Foto 10). Metoda patří mezi nejčastěji prováděné a je doporučena u zhoubných typů nádorů (Fossum a Hedlund 1997 In Sleenckx et al., 2011; Kutzler, 2014, Gbelec, 2015).



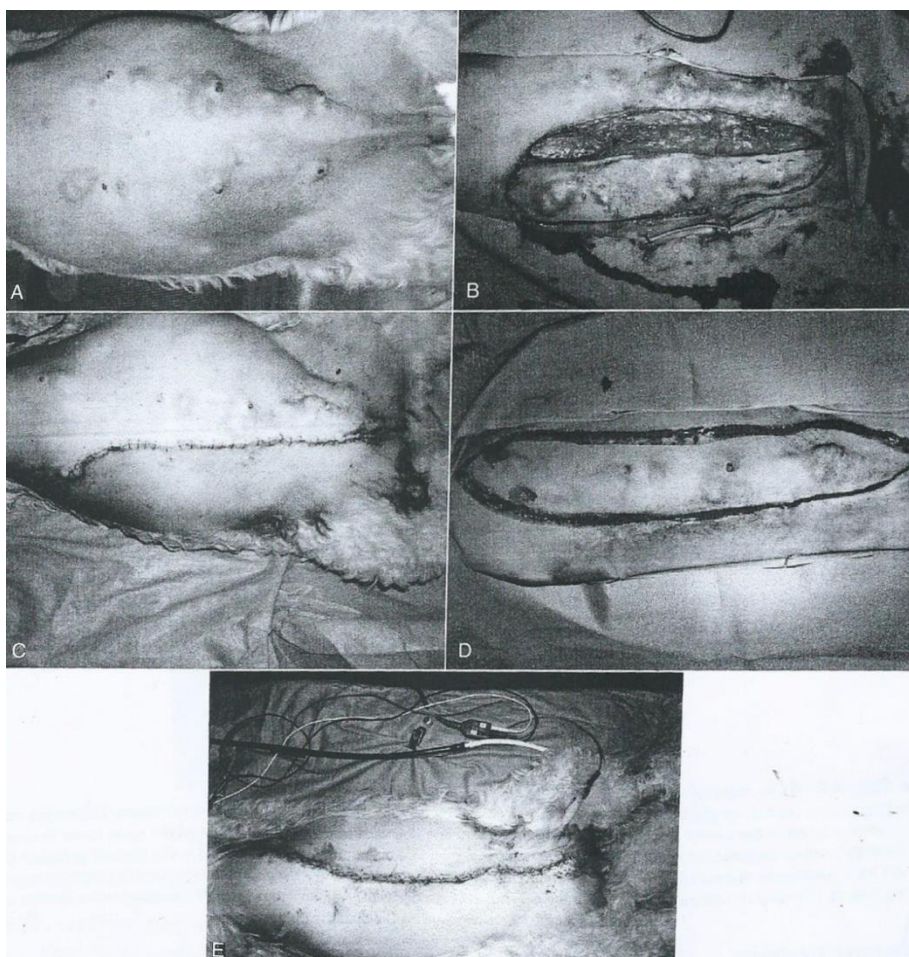
Obr. 10 Provedení částečné mastektomie u fenky pudla (Štěpánková, 2012)

Na fotografiích od A až do F je zobrazeno provedení částečné mastektomie:

A Příprava operačního pole; B Zarouškování operované tkáně; C Odoperovaná mléčná lišta s nádorem; D Zašitá operovaná rána; E Operační rána kryta náplastí; F Operační rána kryta košílkou

**Modifikovaná radikální mastektomie.** Touto operací je vyjmuta nejen postižená mléčná žláza, ale také přilehlé mízní a tříselné uzliny (Kutzler, 2014).

**Totální (radikální) mastektomie** (Foto 11). Touto operací jsou odstraněny obě lišty mléčné žlázy, spolu s mízními uzlinami (Misdorp, 2002 In Sleenckx et al., 2011; Kirpensteijn a Rutteman, 2006 In Sleenckx et al., 2011; Kutzler, 2014; Gbelec, 2015). Celkem je odstraněno 10 mléčných žláz a 4 mízní uzliny (Šmrhová a Lukeš, 2015). Operace je provedena v rozmezí dvou týdnů, kdy je každá polovina lišty vyoperována zvlášť (Štěpánková, 2012). Ve veterinární praxi je nejméně aplikována, a když je prováděna, tak s půlročním odstupem jednotlivých operací (Fossum a Hedlund, 1997 In Sleenckx et al., 2011; Kamiš, 2015).



Obr. 11 Totální mastektomie (Liptak, 2013):

Na fotografiích s písmeny od A do C je zobrazeno odstranění levé lišty. Na fotografiích o 6 týdnů později, které jsou označeny písmeny D a E, je zobrazeno odstranění pravé mléčné lišty a zašití operační rány.

Dle Šmrhové (2015) je tkáň odstraněna dle místa výskytu nádoru. Když je postižena 2. mléčná žláza, je odstraněna oblast od 1. do 3. mléčné žlázy spolu s podpažními uzlinami. Při postižení 4. mléčné žlázy je odstraněna oblast od 3. do 5. mléčné žlázy spolu s tříselnými uzlinami.

Doba přežití při mastektomii, od vyjmutí nádoru do smrti pacienta, závisí na druhu nádoru. Zatímco při odstranění tkáně, která byla napadena tubulárním adenokarcinomem a následně vyjmuta mastektomií, byla délka přežití okolo 24,6 měsíců. Při odstranění tkáně atakované solidním karcinomem, byla délka přežití už jen okolo 6,5 měsíců (Brooks, 2015).

## 11.2 Chemoterapie

### 11.2.1 Uplatnění chemoterapie

Tato metoda je považována za základní kámen při léčbě maligních nádorů a metastáz a je zpravidla doprovázena radioterapií a chirurgií (Finsterle, 2007b). Může být využívána u invazivních a hnisajících nádorů hluboko do tkáně, které jsou celé obtížně chirurgicky vyjmutelné (Brooks, 2015). Oproti tomu by metoda neměla být používána u pacientů na prahu smrti nebo s poškozenými částmi orgánů a u nádorů, které jsou lehce léčitelné jinými metodami (Finsterle, 2007b).

Touto metodou je iniciováno poškození DNA a apoptóza nádorových buněk (Ahire et al., 2014). Tím lze dosáhnout prodloužení doby bez obtíží a delšího života psů s tímto onemocněním (Finsterle, 2007b).

### 11.2.2 Léčivé látky chemoterapie

Chemoterapie je prováděna prostřednictvím cytostatik. Těmito látkami je utlumen růst nádorových buněk a poté jsou tyto buňky cíleně ničeny. Jejich účinek byl příkladně prezentován na metastázách v plicích, kde bylo cytostatiky snižováno šíření nádorových buněk k plicním buňkám (Withrow et al., 2013).



### 11.2.3 Způsoby aplikace chemoterapie

Chemoterapie může být prováděna dvěma způsoby: doplňkovou nebo paliativní chemoterapií.

Doplňková chemoterapie je používána ve spojení s chirurgií, kde je její aplikací prodloužena délka života (Finsterle, 2007b; Santos, 2015; Karayannopoulou et al., 2001). Tento účinek byl dokázán na studii dvou skupin fen s maligními nádory mléčné žlázy. Skupina A byla s feny, které byly léčeny pouze operativním vyjmutím nádoru, naproti tomu byla skupina B s feny, které byly léčeny jak operativně, tak následnou doplňkovou chemoterapií. U fen ze skupiny B byla doba přežití více jak 24 měsíců ode dne dokončení chemoterapie, naproti tomu u fen ze skupiny B byla doba přežití od provedení operace pouze maximálně 10 měsíců. To povrzuje prodlužující účinky chemoterapie na dobu života psa a stav bez potíží, jelikož feny ve skupině A zemřeli na metastázy v plicích (Karayannopoulou et al., 2001).

Paliativní (adjuvativní) chemoterapie je používána u bolestivých nádorů, které nemohou být odstraněny chirurgickou cestou a kde je chemoterapií tlumena bolest. Dále je používána u mnohačetných metastáz a u zbytkových částí nádorů po operaci, před chirurgickým zákrokem nebo radiační léčbou. Taktéž je léčba aplikována u osteosarkomů k doplňkovému ničení nádorových buněk po jejich vyoperování a k zabránění tvorbě dalších mikrometastáz (Simmonds, 2000; Finsterle, 2007b). Touto terapií je prodloužena doba do samotné progresse onemocnění a zároveň prodloužena délka života pacientů (Simmonds, 2000).

### 11.2.4 Vedlejší účinky cytostatik a důvody selhání chemoterapie

Nejzávažnějším vedlejším účinkem cytostatik je jejich toxicita ke zdravým buňkám v životně důležitých orgánech. Dále jsou cytostatika toxická k zažívacímu traktu, místu nitrožilní aplikace a k močovému měchýři. Někdy je jimi způsobena i alergická reakce (Finsterle, 2007b).

Důvod selhání chemoterapie může mít dvě hlavní příčiny: První příčinou je chyba ve výběru druhu cytostatik k danému nádoru. Druhou příčinou je vytvoření resistance nádorových buněk k dlouhodobě aplikovanému stejnému cytostatiku (Finsterle, 2007b; Matos a Santos, 2015). Příčinou této rezistence můžou být

i neoplastické buňky maligních nádorů s defekty v mechanismu apoptózy, které jsou odolné vůči standartním metodám chemoterapie (Gimenez-Bonafe et al., 2009). Aplikací chemoterapie cílené na jeden protein je lehce změněna rovnováha apoptotických a antiapoptotických proteinů maligních buněk, a tím jsou pro cytostatika, tyto maligní buňky, nedosažitelné (Klopfleisch et al., 2011b). Jelikož je tato standartní metoda selhávající, účinnost je v tomto případě zaručena pouze cíleností na větší apoptotickou síť proteinů (Matos a Santos, 2015).

Další selhání chemoterapie může být způsobeno navázáním ABC transportérů – buněčné pumpy (ATP; binding cassette), které jsou příčinou zabránění vnitrobuněčného hromadění chemoterapeutických léčiv v buňkách (Honscha et al., 2009; Anreddy et al., 2014). Jejich přítomností je vytvořena imunita nádorových buněk vůči cytostatikům. Zdravé buňky jsou přinuceny k vysávání cytotoxických látek z nádorových buněk proti koncentračnímu gradientu a ty zůstanou nepoškozeny (Goffeau et al., 2013; Anreddy et al., 2014). Tento fakt, potvrzuje nález sedmi různých ABC transportérů (=transportních proteinů) v buňkách 103 nádorů mléčné žlázy psů, kde byla zjištěna vyšší odolnost nádorových buněk k cytostatikům. Konkrétněji, že testované rakovinné buňky psů obsahující cBCRP (canine breast cancer resistance protein; protein rezistence u rakoviny mléčné žlázy u psů) protein vykazovaly 4 až 5 násobnou rezistenci vůči doxorubicinu, proto byl označen jako nevhodný pro léčbu nádorů mléčné žlázy (Honscha et al., 2009).

### 11.2.5 Konkrétní příklady léčby

Zde budou uvedeny různé způsoby léčby dle typu nádorů a následně i jejich účinnost. U 7 psů se zánětlivými nádory mléčné žlázy byla aplikována léčba pomocí piroxikamu po dobu 185 dní a u 3 psů byla podána léčba doxorubicinem a cyklofosfamidem po dobu 1 týdnu. Účinnějším byl označen první způsob léčby, kterým byla prodloužena délka života (Souza et al. 2009 in Santos, 2015). Dále byla chemoterapie rozdělena do dvou fází na primární (mitoxantron) a sekundární (kombinací doxorubicinu s karboplatinou). Sekundární léčba byla použita u recidivních nádorů (Šmrhová a Lukeš, 2015).

Léčba nádorů na úrovni 3. a 4. histologického stupně byla popsána dvěma způsoby. V jednom případě byly tyto nádory léčeny chemoterapií s přidruženým

chirurgickým zákrokem a v druhém případě byly tyto nádory řešeny pouze chirurgicky. Úspěšnější byl první způsob léčby, kdy byla prodloužena délka života. Při léčbě osteosarkomů mléčné žlázy použitím prvního způsobu byl zjištěn stejný výsledný efekt. Tyto nádory byly léčeny podáním cytostatik, a to v kombinaci 5-fluoruracil s cyklofosfamidem (Withrow et al., 2013). Jejichž kombinace pomohla i v úspěšné léčbě 8 psů s maligními nádory mléčné žlázy/16 psů, kde byla kombinace podávána každý týden po dobu 1 měsíce. Zde byla opět dokázána jako úspěšnější první varianta. (Karayannopoulou et al., 2001).

Dalším způsobem léčby u maligních CMT byla aplikace karboplatiny pouze samotné, nebo s následnou aplikací piroxikamu či firocoxibu (Previcox), tzv. byly tři skupiny psů. Celková doba přežití a doba bez potíží byla prodloužena zejména u skupin, kde bylo využito kombinace obou cytostatik (Lavelle et al., 2012).

### 11.3 Radioterapie

Jedná se o ojediněle používanou léčbu, přičemž nejčastěji ošetřovanými byly sarkomy měkkých tkání psů. Dle monitoringu bylo v roce 2014 na světě 76 pracovišť nabízejících tuto léčbu, kde všechna pracoviště disponovala již lineárním urychlovačem elektronů (Farrelly a McEntee, 2014).

U léčby CMT se nejčastěji používá tzv. teleterapie, která využívá ozáření. U teleterapie není nutná izolace, ale opakovaná hospitalizace s rizikem výskytu alergické kožní reakce (Finsterle, 2007b). Dle Gbelce (2015) není tato metoda u psů s CMT běžně samostatně využívána, ale je velmi ceněna jako adjuvativní/doplňující léčba u zbytkových chirurgicky neodstranitelných částí nádoru, u vysoce histologicky agresivních nádorů či u metastáz nebo u zánětlivých karcinomů.

### 11.4 Hormonální terapie

Tato forma terapie je velice využívána u vysoce rizikových nádorů (např. u nádorů velkých objemů s vysokou histologickou agresivitou, kde jsou předpokládány metastázy i v lymfatickém systému a vzdálených orgánech). U těchto nádorů není konečným řešením operace, ale hormonální léčba (Withrow et al., 2013).

Dále je hormonální léčba aplikována na nádory, které jsou podmíněny receptory progesteronů (PR) a receptory estrogenů (ER). Léčbou je prodloužena délka života a snížena recidiva nádoru do místa jeho nálezu (Santos, 2015). U této

metody jsou využívány ER regulátory (SERMs) obsahující aromatázy či luteinizační hormony (Withrow et al., 2013), které zabraňují opětovnému vzniku estrogenů. Podobně fungují i regulátory progesteronu. V praxi jsou tyto regulátory ER využívány u maligních CMT (Matos a Santos, 2015).

Konkrtním případem je studie, kde je popisována léčba 9 psů pomocí goserelinu (21 dnů po dobu 12 měsíců), k ní je přikládána neléčená kontrolní skupina 9 psů s maligními nádory mléčné žlázy bez metastáz. Aplikací goserelinu byla u všech nádorů snížena velikost a u pacientů snížena cirkulace estradiolů a progesteronů. Doba bez obtíží byla prodloužena na 2 roky u 88 % psů. Jeho aplikace byla proto doporučena u nádorů závislých na samičích hormonech (Lombardi et al., 1999). Další příkladná léčba je prováděna pomocí aglepristonu (antagonisty progesteronu). Aplikací této látky byla snížena proliferace karcinomů mléčné žlázy pozitivních na PR, přesněji již 15. den léčby byly tyto nádory na PR negativní (Guil-Luna et al., 2011).

Účinnost hormonů byla ukázána i na těchto případech: u primárních nádorů s metastázami v lymfatickém systému byla léčba hormony neúčinná, naproti tomu u karcinomů a komplexních karcinomů, kde byla touto léčbou prodloužena délka života. V případě, kdy byla tato terapie aplikována po dobu 2 let, bylo zaznamenáno i výrazné uzdravení stavu pacienta (Withrow et al., 2013).

## 12. PŘÍPADY CMT Z PRAXE

### 12.1 Úvod

Těchto následujících osm případů, bylo vyšetřeno na českobudějovické veterinární klinice Aurum Vet MVDr. Jiřího Kamiše. S jeho souhlasem jsou uvedeny jednotlivé případy fen s nádory mléčné žlázy spolu s jejich plemennou příslušností a věkem.

### 12.2 Konkrétní případy

1) 10letá fena rotvajlera, které byl diagnostikován smíšený nádor mléčné žlázy. Z jedné části byl složen tubulárně solidním karcinomem 1. až 2. stupně

a z druhé části byl tvořen smíšeným benigním nádorem. (datum operačního vyjmutí 20. 05. 2011)

2) Nádor v oblasti pravé mléčné lišty u 6leté kastrované feny výmařského oháře. Biopsií byla zjištěna benigní mezenchymální neoplazie, zastoupena multinodulárním lipomem. (datum operačního vyjmutí 30. 11. 2012)

3) 11letá fena německého ovčáka, v jejíž mléčné žláze byl nalezen sarkom, tvořený vřetenovitými buňkami a dále komplexní karcinom s nízkou malignitou. (datum operačního vyjmutí 07. 05. 2013)

4) Kříženka 6leté feny s nádorem identifikovaným jako smíšený benigní nádor mléčné žlázy – obr. 12. (datum operačního vyjmutí 07. 12. 2013)



Obr. 12 Benigní smíšený nádor (Kamiš, 2013)

5) Fena anglického buldok ve stáří 8,5let. Této feně byl identifikován benigní komplexní adenom mléčné žlázy a poté u ní byla detekována i lobulární hyperplazie mléčné žlázy (datum operačního vyjmutí: 23. 06. 2015)

6) Fena malého knírače ve věku 13let. U ní byl identifikován solidně-tubulární adenokarcinom mléčné žlázy, který byl typizován jako maligní neoplazie nižšího až středního stupně. (datum operačního vyjmutí: 10. 06. 2015)

7) 11,5letá fena kříženec jezevčíka, u které byl nalezen benigní komplexní adenom, benigní tubulo-papilární adenom a ložiska benigního duktálního papilomu mléčné žlázy. (datum operačního vyjmutí: 26. 05. 2015)

8) 8letá fena jezevčíka s benigním tubulo-papilárním adenomem a maligní lobulární hyperplasií mléčné žlázy. (datum operačního vyjmutí 23. 06. 2014)

V případě, kdy byla nádorem zasažena jen jedna mléčná žláza, byla spolu s postiženou žlázou vyoperována i jedna zdravá mléčná žláza před a za postiženou žlázou. Pokud již nádorem byla zasažena 1. a 5. mléčná žláza, byla už aplikována částečná mastektomie a při výskytu metastáz v lymfatickém systému byly odstraněny i nejbližší mízní uzliny (tříselné či podpažní) (Kamiš, 2015).

Bylo zde uvedeno celkem 8 případů CMT. Každá fena z těchto osmi případů byla léčena s odlišnými typy nádorů. Těmito případy bylo potvrzeno, že vznik tohoto onemocnění je zapříčiněn nevhodnou kastrací, stářím a plemennou příslušností.

## 14. ZÁVĚR

Nádorová onemocnění jsou v současné době u psů častým zdravotním problémem, a to zvláště u pudlů, anglických špringršpanělů, jezevčků, německých ovčáků, plemen loveckého původu a některých bojových plemen. Pravděpodobnost výskytu se zvyšuje s věkem feny, náchylné jsou především feny, u kterých nebyla provedena kastrace během prvních 3 let života.

Z hlediska genetiky jsou v souvislosti s onemocněním zkoumány zejména geny *BRCA1* a *2* a gen *TP53*. Mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2* podmiňuje vznik maligních nádorů a metastáz. Pokud dojde k mutaci v genu *TP53*, jsou obcházeny kontrolní body replikace, v důsledku čehož se nádorové buňky mohou nekontrolovatelně dělit. Důležitou roli zde hrají i hormony, zejména růstový hormon a hormony vaječnicků. Neopomenutelnými faktory jsou také vlivy vnějšího prostředí, především chemické látky (např. insekticidy).

Diagnostika se provádí pomocí biopsie, poté následuje operativní zákrok. Důležitou součástí léčby je pak pooperační terapie. Volba způsobu této terapie závisí na druhu nádorového bujení, citlivosti pacienta, finančních možnostech majitele a přístrojovém vybavení. Nejčastěji využívanými pooperačními terapiemi jsou chemoterapie, radioterapie a hormonální terapie. Vzácněji jsou používány inhibitory proteáz, které bývají používány jako doplňkové. Obdobné metody se využívají i u léčby rakoviny prsu u žen.

Výzkum onemocnění mléčné žlázy fen umožní včasné určení diagnózy, snížení finančních nákladů na léčbu a příznivější prognózu léčených zvířat. Tyto poznatky mohou být také využity k léčbě rakoviny prsu u žen, neboť je toto onemocnění u psů modelovým i pro lidskou populaci.

## 14. ABECEDNÍ SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

**ABC transportéry** - ATP binding cassette transmembránové proteiny schopné přenášet látky skrze membránu ven i dovnitř za spotřeby ATP

**ACTH** - adrenocorticotropic hormone; adrenokortikotropní hormon

**ADH** - atypical ductal hyperplasia; atypická duktuální hyperplazie

**AgNOR** - argentum nucleolus organizer region; nukleární organizátor jadérka a jeho satelitních oblastí a barvení stříbrem

**ATP** - adenosine tri phosphate; adenosin-tri-fosfát

**cBCRP** - breast cancer resistance protein; protein resistantní vůči rakovině mléčné žlázy u psa

**BRCA1, BRCA2** - breast cancer 1, breast cancer 2; proteinové geny, které zabraňují vzniku nádorů

**CAFS** - cancer associated fibroblasts; fibroblasty s rakovinou spojené

**CAM** - cell adhezive molecules; buněčné adhezní molekuly, pomáhají držet buňky pospolu

**CDK, CDK1, CDK2, CDK4, CDK6** - cyclin dependent kinase; cyklin-dependentní kinázy = kinázy na cyklinech závislé

**CMT** - canine mammary tumor; nádor mléčné žlázy u psů

**COX-2** - cyclooxygenase (prostaglandin-endoperoxidase synthase) enzym cyklooxygenáza, kterým je štěpena arachidonová kyselina na prostaglandin a thromboxany. Prostaglandiny jsou zvýšeně tvořeny při zánětu v organismu, napomáhá jemu šíření a rozvoji bolestivosti.

**DCIS** - ductal carcinoma *in situ*; duktuální karcinom *in situ*

**DH** - ductal hyperplasia; duktuální hyperplazie

**DNA** - deoxyribonucleic acid; deoxyribonukleotidová kyselina

**ER** - estrogen receptor; receptor estrogeneru

**ESR1** - estrogen receptor 1; gen receptoru estrogeneru 1



**ESS** - English Springer Spaniel; anglický špringršpaněl

**FGF** - fibroblast growth factor; fibroblastový růstový faktor

**HBC** - human breast cancer; lidská rakovina prsu

**HER-1, HER-3** - human epidermal growth factor receptor 1, 3; receptory epidermálního růstového faktoru mléčné žlázy

**HER-2/neu** - human epidermal growth factor receptor; antigen kožního růstového faktoru mléčné žlázy

**HPLC** - high performance liquid chromatography; vysokoúčinná kapalinová chromatografie

**HSP** – heat shock proteins; proteiny teplotního šoku

**IELs** - intraepithelial lesion; intraepiteliální léze

**IGF 1** - insulin-like growth factor 1; růstový faktor 1 inzulínu podobný

**IMCS** - inflammatory mammary cancers; zánětlivý karcinom mléčné žlázy

**Ki-67** - antigen kožního růstového faktoru mléčné žlázy (jaderný protein spojený s proliferací)

**LHRH** - luteinizing hormone-releasing hormone antagonist; luteinizační hormon uvolňující růstový faktor

**MDV** - Marek's disease virus; virus Markovy nemoci – virové neoplastické onemocnění

**MECS** - mouse embryonic carcinoma cells; myší embryonální nádorové buňky

**MK** - mastné kyseliny

**MMP** - matrix metalloproteinase; matrixové metaloproteinázy

**MMP-2, MMP-9** - A, B želatinázy, spojované s karcinomy mléčné žlázy

**NG2** - glial antigen 2; gliový/neuronový antigen 2 u krysy

**p 53** - klíčový jaderný protein v opravě DNA

**PAI – 1, PAI – 2** - plasminogen activator inhibitor; inhibitory uPA systému

**PGE2** - prostaglandin E2; prostaglandin E2

**PCNA** - proliferating cell nuclear antigen; jaderný antigen buněčné proliferace

**PR** - progesterone receptor; receptor progesteronu

**PTEN** - phosphatase and tensin homolog; speciální protein fosfatidylinositol-3-fosfatáza

**Rad 51** - Rad 51 homolog gene; gen pro protein zapojený do rekombinace a reparace DNA

**RF** - growth factor; růstový faktor

**SNP** - single-nucleotide polymorphism; jednonukleotidový polymorfismus

**STH** - somatotropic hormone; somatotropní (růstový) hormon

**TAM** - tumor-associated macrophages; specializované makrofágy u fenotypu nádoru

**TGF-β** - transformin growth factor; beta růstový faktor beta

**TIMP** - tissue inhibitor of metalloproteinase; tkáňové inhibitory metaloproteináz

**TP 53** - tumor protein gen; gen kódující protein p53

**uPA** - urokinase-type plasminogenu aktivátor; aktivátor plasminogenu - urokináza

**uPAR** - receptor for urokinase-type plasminogenu aktivátor; receptor pro urokinázy

**VEGF** - vascular endothelial growth factor; vaskulární endoteliální růstové faktory

**VEGFR** - receptors for vascular endothelial growth factor; receptory vaskulární endoteliálních růstových faktorů

**WHO** - World Health Organization; světová zdravotnická organizace

**WNT10B** – proto-onkogen přítomný ve zvýšené expresi v rozvojových nádorových buňkách

**Wip 1** - wild-type p53-induced phosphatase 1; protein aktivující tvorbu proteinu p53

**ZNF154** - gen přítomný ve vyšších koncentracích v genomu nádorových buněk

## 15. POUŽITÉ ZDROJE LITERATURY

ABOUSSEKHRA, A. Role of cancer-associated fibroblasts in breast cancer development and prognosis. *The International Journal of Developmental Biology* [online]. 2011, 55(7-8-9), 841-849 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1387/ijdb.113362aa. ISSN 0214-6282. Dostupné z: <http://www.intjdevbiol.com/paper.php?doi=113362aa>

AHIRE, V., MISHRA, K. P. a KULKARNI, G. R. On the Mechanism of Cellular Toxicity in Breast Cancer by Ionizing Radiation and Chemotherapeutic Drugs. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* [online]. 2014, 33(1), 69-82 [cit. 2016-05-19]. DOI: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2014010743. ISSN 0731-8898. Dostupné z: <http://www.dl.begellhouse.com/journals/0ff459a57a4c08d0,22dd7eec46494b12,4eb6a120205c7595.html>

ALBERGARIA, A., RIBEIRO, A. S., VIEIRA, A. F., SOUSA, B., NOBRE, A. R. SERUCA, R., SCHMITT, F. a PAREDES, J. P-cadherin role in normal breast development and cancer. *The International Journal of Developmental Biology* [online]. 2011, 55(7-8-9), 811-822 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1387/ijdb.113382aa. ISSN 0214-6282. Dostupné z: <http://www.intjdevbiol.com/paper.php?doi=113382aa>

ALENZA, M. D. P., TABANERA, E. a PENA, L. Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association* [online]. 2001, 219(8), 1110-1114 [cit. 2017-04-21]. DOI: 10.2460/javma.2001.219.1110. ISSN 0003-1488. Dostupné z: <http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2001.219.1110>

ALLEN, M. a JONES, J. L. Jekyll and Hyde: the role of the microenvironment on the progression of cancer. *The Journal of Pathology* [online]. 2011, 223(2), 163-177 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1002/path.2803. ISSN 00223417. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/path.2803> In SANTOS, A. A. a MATOS, A. J. F. Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours. Part 2: Invasion, angiogenesis, metastasis and therapy. *The Veterinary Journal* [online]. 2015, srpen 2015, 205(2):

144-153 [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1016/j.tyjl.2015.03.029. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023315001264>

ANDRADE, F. H. E., FIGUEIROA, F. C., BERSANO, P. R. O., BISSACOT, D. Z., a ROCHA, N. S. Malignant mammary tumor in female dogs: environmental contaminants. *Diagnostic Pathology* [online]. 2010,5(1), 45 [cit. 2016-02-20]. DOI: 10.1186/1746-1596-5-45. ISSN 1746-1596. Dostupné z: <http://www.diagnosticpathology.org/content/5/1/45>

ANREDDY, N., GUPTA, P., KATHAWALA, R., PATEL, A., WURPEL, J. a CHEN, Z. Tyrosine Kinase Inhibitors as Reversal Agents for ABC Transporter Mediated Drug Resistance. *Molecules* [online]. 2014, 19(9), 13848-13877 [cit. 2016-05-19]. DOI: 10.3390/molecules190913848. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/9/13848/>

ANTUOFERMO, E., MILLER, M. A., PIRINO, S., XIE, J., BADVE, S. a MOHAMMED, S. I. Spontaneous Mammary Intraepithelial Lesions in Dogs A Model of Breast Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers* [online]. 2007, 16(11), 2247-2256 [cit. 2016-06-12]. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0932. ISSN 1055-9965. Dostupné z: <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1055-9965.EPI-06-0932>

ARGYLE, D. J. a KHANNA, C. *Tumor biology and metastasis*. WITHROW, S. J., VAIL, D. M. a PAGE R. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2013, s. 30-50. ISBN 978-1-4377-2362-5.

BENJAMIN, S. A., LEE, A. C. a SAUNDERS, W. J. Classification and Behavior of Canine Mammary Epithelial Neoplasms Based on Life-span Observations in Beagles. *Veterinary Pathology* [online]. 1999, 36(5), 423-436 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1354/vp.36-5-423. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1354/vp.36-5-423>

BENTLEY, R. T., OBER, C. P. ANDERSON, K. L., FEENEY, D. A., NAUGHTON, J. F., OHLFEST, J. R., O'SULIVAN, M. G., MILLER, M. A., CONSTABLE, P. D. a PLUHAR, G. E. Canine intracranial gliomas: Relationship between magnetic resonance imaging criteria and tumor type and grade. *The Veterinary Journal* [online]. 2013, 198(2), 463-471 [cit. 2016-06-16]. DOI:

10.1016/j.tyjl.2013.08.015. ISSN 10900233. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023313003900>

BERTHEAU, P., LEHMANN-CHE, J., VARNA, M., DUMAY, A., POIROT, B., PORCHER, R., TURPIN, E., PLASSA, L., DE ROQUANCOURT, A., BOURSTYN, E., DE CREMOUX, P., JANIN, A., GIACCHETTI, S., ESPIÉ, M. a DE THÉ, H. P53 in breast cancer subtypes and new insights into response to chemotherapy. *The Breast* [online]. 2013, 22, S27-S29 [cit. 2016-05-25]. DOI: 10.1016/j.breast.2013.07.005. ISSN 09609776. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960977613001409>

BONELLI, P., TUCCILLO, F. M., BORRELLI, A., SCHIATTARELLA, A. a BUONAGURO, F. M. CDK/CCN and CDKI Alterations for Cancer Prognosis and Therapeutic Predictivity. *BioMed Research International* [online]. 2014, 2014, 1-15 [cit. 2016-05-23]. DOI: 10.1155/2014/361020. ISSN 2314-6133. Dostupné z:  
<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/361020/>

BORGE, K. S., MELIN, M., RIVERA, P., THORESEN, S. I., WEBSTER, M. T., VON EULER, H., LINDBLAD-TOH K. a LINGAAS, F. The ESR1 gene is associated with risk for canine mammary tumours. *BMC Veterinary Research* [online]. 2013, 9(1), 69 [cit. 2016-02-20]. DOI: 10.1186/1746-6148-9-69. ISSN 1746-6148. Dostupné z: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/9/69>

BRADBURY, S. P. a COATS, J. R. Comparative Toxicology of the Pyrethroid Insecticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* [online]. 2008, 108, 133-177 [cit. 2016-06-15]. DOI: 10.1007/978-1-4613-8850-0\_4. Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4613-8850-0\\_4](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4613-8850-0_4)

BREW, K. a NAGASE, H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* [online]. 2010, 1803(1), 55-71 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2010.01.003. ISSN 01674889. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167488910000042>

BRONDEN, L. B., NIELSEN, S. S., TOFT N. a KRISTENSEN, A. T. Data from the Danish Veterinary Cancer Registry on the occurrence and distribution of neoplasms in dogs in Denmark. *Veterinary Record* [online]. 2010, 166(19), 586-590 [cit. 2016-

06-05]. DOI: 10.1136/vr.b4808. ISSN 0042-4900. Dostupné z: <http://veterinaryrecord.bmj.com/cgi/doi/10.1136/vr.b4808>

BROOKS, C. W., Mammary Tumors in Dogs. *Veterinarypartner.com* [online]. Los Angeles: copyright © 2015 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.veterinarypartner.com/content.plx?p=A&A=1350&S=0&EVetID=3001644>

BRUNETTI, B., SARLI, G., PREZIOSI, R., MONARI, I. a BENAZZI, C. E-Cadherin and  $\beta$ -catenin Reduction Influence Invasion but not Proliferation nad Survival in Canine Malignant Mammary Tumors. *Veterinary Pathology* [online]. 2005, 42(6), 781-787 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1354/vp.42-6-781. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1354/vp.42-6-781>

BUNDGAARD-ANDERSEN, K., FLAGSTAD, A., JENSEN, A. L., HELLMÉN, E. a TRERÈ, D. Correlation between the Histopathological Diagnosis by AgNOR Count and AgNOR Area in Canine Mammary Tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine* [online]. 2008, 22(5), 1174-1180 [cit. 2016-05-25]. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2008.0144.x. ISSN 08916640. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.2008.0144.x>

BUONOCORE, G. a PERRONE, S. Biomarkers of hypoxic brain injury in the neonate. *Clinics in Perinatology* [online]. 2004, 31(1), 107-116 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1016/j.clp.2004.03.008. ISSN 00955108. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0095510804000090> In PANDEY, P. R., SAIDOU, J. a WATABE, K. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. *Frontiers in Bioscience* [online]. 2010, 15(1), 226-236 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.2741/3617. ISSN 10939946. Dostupné z: <http://www.bioscience.org/2010/v15/af/3617/list.htm>

BURRAI, G. P., MOHAMMED, S. I., MILLER, M. A., MARRAS, V., PIRINO, S., ADDIS, M. F., UZZAU, S. a ANTUOFERMO, E. Spontaneous feline mammary intraepithelial lesions as a model for human estrogen receptor- and progesterone receptor-negative breast lesions. *BMC Cancer* [online]. 2010, 10(1), 156- [cit. 2016-06-12]. DOI: 10.1186/1471-2407-10-156. ISSN 1471-2407. Dostupné z: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-10-156>

BUSOLATTI, G. a BADVE, S. Carcinomas with neuroendocrine features. *WHO classification of tumours of the breast. Lyon, IARC, 2012*, s. 62-63. In: NAKAHIRA, R. MICHISHITA, M., YOSHIMURA, H., HATAKEYAMA, H. a TAKAHASHI, K. Neuroendocrine Carcinoma of the Mammary Gland in a Dog. *Journal of Comparative Pathology* [online]. 2015, 152(2-3): 188-191 [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1016/j.jcpa.2014.12.009. ISSN 00219975.

CARVALHO, M. I., GUIMARÃES, M. J., PIRES, I., PRADA, J., SILVA-CARVALHO, R., LOPES, C. a QUEIROGA, F. L. EGFR and microvessel density in canine malignant mammary tumours. *Research in Veterinary Science* [online]. 2013, 95(3), 1094-1099 [cit. 2016-05-24]. DOI: 10.1016/j.rvsc.2013.09.003. ISSN 00345288. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528813003032>

CASSALI, G. D. Comparative mammary oncology: canine model. *Biomed Central Proceedings: São Paulo Advanced School of Comparative Oncology: Abstracts* [online]. 2013,7(2) [cit. 2016-06-10]. DOI: 10.1186/1753-6561-7-S2-K6. ISSN 1753-6561. Dostupné z: <http://bmcproc.biomedcentral.com/articles/10.1186/1753-6561-7-S2-K6>

CLEMENTE, M., PEREZ-ALENZA, M. D., ILLERA, J. C., a PENA, L. Histological, Immunohistological, and Ultrastructural Description of Vasculogenic Mimicry in Canine Mammary Cancer. *Veterinary Pathology* [online]. 2010a, 47(2), 265-274 [cit. 2016-05-31]. DOI: 10.1177/0300985809353167. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985809353167>

CLEMENTE, M., PÉREZ-ALENZA, M. D. a PEÑA, L. Metastasis of Canine Inflammatory versus Non-Inflammatory Mammary Tumours. *Journal of Comparative Pathology* [online]. 2010b, 143(2-3), 157-163 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1016/j.jcpa.2010.02.002. ISSN 00219975. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997510000411>

COWIN, P., M ROWLANDS, T. a HATSELL, S. J. Cadherins and catenins in breast cancer. *Current Opinion in Cell Biology* [online]. 2005, 17(5), 499-508 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1016/j.ceb.2005.08.014. ISSN 09550674. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955067405001171>

ČERNÝ, H. *Veterinární anatomie pro studium a praxi*. 1. vyd. Brno: Noviko, 2002, s. 216-217. ISBN 80-86542-01-7.

DAMASCENO, K. A., BERTAGNOLLI, A. C., ESTRELA-LIMA, A., RIBEIRO, L. G. R., RABELO, B. S., CAMPOS, C. B., BARROS, A. L. B. a CASSALI, G. D. Canine carcinomas in benign mixed tumours: versican expression and association with invasion. *Biomed Central Proceedings* [online]. 2013, 7(2) [cit. 2016-06-10]. DOI: 10.1186/1753-6561-7-S2-P39. PMID: PMC3624110. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624110/>

DAVIES, K. J. The Complex Interaction of Matrix Metalloproteinases in the Migration of Cancer Cells through Breast Tissue Stroma. *International Journal of Breast Cancer* [online]. 2014, 2014, 1-5 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1155/2014/839094. ISSN 2090-3170. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/ijbc/2014/839094/>

DEBARD, M. L. Cardiopulmonary resuscitation: Analysis of six years' experience and review of the literature. *Annals of Emergency Medicine* [online]. 1981, 10(8), 408-416 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1016/S0196-0644(81)80307-1. ISSN 01960644. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196064481803071>

DE OLIVEIRA, L. R., HAMM, A. a MAZZONE, M. Growing tumor vessels: More than one way to skin a cat – Implications for angiogenesis targeted cancer therapies. *Molecular Aspects of Medicine* [online]. 2011, 32(2), 71-87 [cit. 2016-06-01]. DOI: 10.1016/j.mam.2011.04.001. ISSN 00982997. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098299711000161>

DERENZINI, M. The AgNORs. *Micron* [online]. 2000, 31(2), 117-120 [cit. 2016-05-25]. DOI: 10.1016/S0968-4328(99)00067-0. ISSN 09684328. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968432899000670>

DIAS PEREIRA, P., LOPES, C. C., MATOS, A. J. F., SANTOS, M., GÄRTNER, F., MEDEIROS, R. a LOPES, C. COX-2 Expression in Canine Normal and Neoplastic Mammary Gland. *Journal of Comparative Pathology*[online]. 2009, 140(4), 247-253 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1016/j.jcpa.2008.12.005. ISSN 00219975. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997508001680>



DICKLER, N., EBOS, J. M. L., KERBEL, R. S. a SARGENT, D. Cílená antiangiogenní léčba u karcinomu prsu: Mohou recentní klinická hodnocení ovlivnit vědu a budoucí uspořádání klinických hodnocení? *Educational book* [online]. ASCO, 2011 [cit. 2016-04-26]. Dostupné z: <http://www.linkos.cz/asco/chapter/cilena-antiangiogenni-lecba-u-karcinomu-prsu-mohou-recentni-klinicka-hodnoceni-ovlivnit-vedu-a-budouci-usporadani-klinickyh-hodnoceni/>

DOBSON, J. M., SAMUEL, S., MILSTEIN, H., ROGERS, K. a WOOD, J. L. N. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *Journal of Small Animal Practice* [online]. 2002, 43(6), 240-246 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1748-5827.2002.tb00066.x. ISSN 00224510. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00066.x>

DOLEŽALOVÁ, E. Neoplazie mléčné žlázy u psů. *Ifauna.cz* [online]. Brno: ifauna.cz s.r.o., 2010, [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.ifauna.cz/psi/clanky/r/detail/2160/neoplazie-mlecne-zlazy-u-psu/>

DORN, C. R., TAYLOR, D. O. N., SCHNEIDER, R., HIBBARD, H. H., a KLAUBER, M. R. Survey of Animal Neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer Morbidity in Dogs and Cats From Alameda County. *Journal of the National Cancer Institute* [online]. 1968a,40(2), 307-318 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1093/jnci/40.2.307. Dostupné z: <http://jnci.oxfordjournals.org/content/40/2/307.abstract> In SORENMO, K. U., RASOTTO, R., ZAPPULLI, V. a GOLDSCHMIDT, M. H. Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms. *Veterinary Pathology* [online]. 2011, 48(1), 85-97 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1177/0300985810389480. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985810389480>

DORN, C. R., TAYLOR, D. O. N., SCHNEIDER, R., HIBBARD, H. H. a KLAUBER, M. R. Survey of Animal Neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties, California. II. Cancer Morbidity in Dogs and Cats From Alameda County. *Journal of the National Cancer Institute* [online]. 1968b,40(2), 307-318 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1093/jnci/40.2.307. Dostupné z: <http://jnci.oxfordjournals.org/content/40/2/307.abstract> In SLEECKX, N., DE

ROOSTER, H., VELDHUIS KROEZE, E. J. B., VAN GINNEKEN, C. a VAN BRANTEGEM, L. Canine Mammary Tumours, an Overview. *Reproduction in Domestic Animals* [online]. 2011, 46(6), 1112-1131 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x. ISSN 09366768. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x>

EGEBLAD, M., NAKASONE, E. S. a WERB, Z. Tumors as Organs: Complex Tissues that Interface with the Entire Organism. *Developmental Cell* [online]. 2010, 18(6), 884-901 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1016/j.devcel.2010.05.012. ISSN 15345807. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1534580710002480>

EGENVALL, A., BONNETT, B. N., ÖHAGEN, P., OLSON, P., HEDHAMMAR, Å. a VON EULER, H. Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. *Preventive Veterinary Medicine* [online]. 2005, 69(1-2), 109-127 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2005.01.014. ISSN 01675877. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587705000383>

ELSTON, C. W. a ELLIS, I. O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* [online]. 1991, 19(5), 403-410 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x. ISSN 0309-0167. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x>

ESTRELA-LIMA, A., ARAÚJO, M. S. S., COSTA-NETO, J. M., TEIXEIRA-CARVALHO, A., BARROUIN-MELO, S. M., CARDOSO, S. V., MARTINS-FILHO, O. A., SERAKIDES, R. a CASSALI, G. D. Immunophenotypic features of tumor infiltrating lymphocytes from mammary carcinomas in female dogs associated with prognostic factors and survival rates. *BMC Cancer* [online]. 2010, 10(1), 256-314 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1186/1471-2407-10-256. ISSN 1471-2407. Dostupné z: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-10-256>

ESTRELA-LIMA, A., ARAÚJO, M. S. S., DA COSTA-NETO, J. M., RIBEIRO, L. G. R., DAMASCENO, K. A., J. M., RIBEIRO, L. G. R., DAMASCENO, K. A., D'ASSIS, M. J. M. H., MARTINS-FILHO, O. A., TEIXEIRA-CARVALHO, A., SERAKIDES, R. a CASSALI, G. D. Understanding of the immunological

heterogeneity of canine mammary carcinomas to provide immunophenotypic features of circulating leukocytes as clinically relevant prognostic biomarkers. *Breast Cancer Research and Treatment* [online]. 2012, 131(3), 751-763 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1007/s10549-011-1452-z. ISSN 0167-6806. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10549-011-1452-z>

FAN, F., SCHIMMING, A., JAEGER, D. a PODAR, K. Targeting the Tumor Microenvironment: Focus on Angiogenesis. *Journal of Oncology* [online]. 2012, 2012, 1-16 [cit. 2016-05-31]. DOI: 10.1155/2012/281261. ISSN 1687-8450. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/jo/2012/281261/>

FARRELLY, John a Margaret C. MCENTEE. A SURVEY OF VETERINARY RADIATION FACILITIES IN 2010. *Veterinary Radiology* [online]. 2014, 55(6), 638-643 [cit. 2017-04-24]. DOI: 10.1111/vru.12161. ISSN 10588183. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/vru.12161>

FERREIRA, E., GOBBI, H., SARAIVA, B. S. a CASSALI, G. D. Columnar cell lesions of the canine mammary gland: pathological features and immunophenotypic analysis. *BMC Cancer* [online]. 2010, 10(1), 61- [cit. 2016-06-12]. DOI: 10.1186/1471-2407-10-61. ISSN 1471-2407. Dostupné z: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-10-61>

FIDLER, I. J. a BRODY, R. S. The biological behavior of canine mammary neoplasms. *Journal of the American Veterinary Medical Association* [online]. 1967a, 151(10), 1311–1318 [cit. 2016-06-05]. PMID: 5624189. In SORENMO, K. U., RASOTTO, R., ZAPPULLI, V. a GOLDSCHMIDT, M. H. Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms. *Veterinary Pathology* [online]. 2011, 48(1), 85-97 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1177/0300985810389480. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985810389480>

FIDLER, I. J. a BRODEY, R. S. A necropsy study of canine mammary neoplasms. *Journal of the American Veterinary Medical Association* [online]. 1967b, 151(6), 710–715 [cit. 2016-06-05]. PMID: 5233810. In SORENMO, K. U., RASOTTO, R., ZAPPULLI, V. a GOLDSCHMIDT, M. H. Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers

of Canine Mammary Gland Neoplasms. *Veterinary Pathology* [online]. 2011, 48(1), 85-97 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1177/0300985810389480. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985810389480>

FINSTERLE, R. Veterinární onkologie - 1. část. *Pes přítel člověka*. 2007a, 17(6): 34-36. ISSN 0231-5424 In FINSTERLE, R. Veterinární onkologie. *Veterina-info.cz* [online]. Hradec Králové: Veterinární klinika HK Vet, 2007, 10. 11. 2015 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.veterina-info.cz/odborne-clanky/veterinarni-onkologie-269.html>

FINSTERLE, R. Veterinární onkologie - metody terapie. *Pes přítel člověka*. 2007b, 17(7): s. 3 ISSN 0231-5424 In FINSTERLE, R. Veterinární onkologie. *Veterina-info.cz* [online]. Hradec Králové: Veterinární klinika HK Vet, 2007, 10. 11. 2015 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.veterina-info.cz/odborne-clanky/veterinarni-onkologie-269.html>

FISHEROVÁ, D. a BURGETOVÁ, A. Využití moderních zobrazovacích metod v diagnostice a stagingu zhoubných nádorů reprodukčních orgánů. *Actual Gyn* [online]. Aprofema s.r.o, 2009, (1), 1-2 [cit. 2016-04-08]. ISSN 1803-9588. Dostupné z: [http://www.actualgyn.com/pdf/cz\\_2009\\_3.pdf](http://www.actualgyn.com/pdf/cz_2009_3.pdf)

FOLKMAN, J., MERLER, E., ABERNATHY, C. a GRETCHEN, W. Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *Journal of Experimental Medicine* [online]. 1971, 133(2), 275-288 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1084/jem.133.2.275. ISSN 0022-1007. Dostupné z: <http://www.jem.org/cgi/doi/10.1084/jem.133.2.275> In SANTOS, A. A. a MATOS, A. J. F. Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours. Part 2: Invasion, angiogenesis, metastasis and therapy. *The Veterinary Journal* [online]. 2015, 205(2): 144-153 [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.03.029. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023315001264>

FOSSUM, T. W. a HEDLUND, C. S. Mammary neoplasia. DUNCAN, L. *Small Animal Surgery*. St-Louis: Don Ladig, 1997, s. 539-544. In **Sleeckx et al., 2011**

FUNAKOSHI, Y., NAKAYAMA, H., UETSUKA, K., NISHIMURA, R., SASAKI, N. a DOI, K. Cellular Proliferative and Telomerase Activity in Canine Mammary Gland Tumors. *Veterinary Pathology* [online]. 2000, 37(2), 177-183 [cit. 2016-05-

23]. DOI: 10.1354/vp.37-2-177. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1354/vp.37-2-177>

GAMA, A., PAREDES, J., ALBERGARIA, A., GARTNER, F. a SCHMITT, F. P-cadherin Expression in Canine Mammary Tissues. *Journal of Comparative Pathology* [online]. 2004, 130(1), 13-20 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1016/S0021-9975(03)00064-1. ISSN 00219975. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997503000641>

GAMA, A., PAREDES, J., GÄRTNER, F., ALVES, A. a SCHMITT, F. Expression of E-cadherin, P-cadherin and  $\beta$ -catenin in canine malignant mammary tumours in relation to clinicopathological parameters, proliferation and survival. *The Veterinary Journal* [online]. 2008, 177(1), 45-53 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.05.024. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023307002006>

GBELEEC, Nádory mléčné žlázy. *Gingertaffy.com: Úvod do problematiky* [online]. Zahradní město: Veterinární nemocnice, copyright©2009-2015 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.gingertaffy.com/cz/lekarnicka/clanek/63-8.-nadory-mlacne-zlazy-%E2%80%93-uvod-do-problematiky/>

GILBERTSON, S. R., KURZMAN, I. D., ZACHRAU, R. E., HURVITZ, A. L. a BLACK, M. M. Canine mammary epithelial neoplasms: biologic implications of morphologic characteristics assessed in 232 dogs. *Veterinary pathology* [online]. 1983, 20(2), 127-142 [cit. 2016-05-27]. PMID: 6836870. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6836870>

GIMENEZ-BONAFE, P., TORTOSA, A. a PEREZ-TOMAS, R. Overcoming Drug Resistance by Enhancing Apoptosis of Tumor Cells. *Current Cancer Drug Targets* [online]. 2009, 9(3), 320-340 [cit. 2016-05-20]. DOI: 10.2174/156800909788166600. ISSN 15680096. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article>

GOFFEAU, A., HERTOUGH, B. a BARET, V. P. *Encyclopedia of biological chemistry: ABC transporters*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 2013, s. 1-4. ISBN 978-0-12-378630-2.

- GUIL-LUNA, S., SÁNCHEZ-CÉSPEDES, R., MILLÁN, Y., DE ANDRÉS, F. J., ROLLÓN, E., DOMINGO, V., GUSCETTI, F. a DE LAS MULAS, J. M. Aglepristone Decreases Proliferation in Progesterone Receptor-Positive Canine Mammary Carcinomas. *Journal of Veterinary Internal Medicine*[online]. 2011, 25(3), 518-523 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2011.0723.x. ISSN 08916640. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.2011.0723.x>
- HAASEN, N. *Heart Disease and Stroke Statistics* [online]. ©. Dalas, Texas: American Heart Association, 2005 Update [cit. 2016-05-29]. ISBN 1105390918119. Dostupné z: <https://my.clevelandclinic.org/ccf/media/files/heart/1105390918119HDSStats2005Update.pdf> In PANDEY, P. R., SAIDOU, J. a WATABE, K. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. *Frontiers in Bioscience* [online]. 2010, 15(1), 226-236 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.2741/3617. ISSN 10939946. Dostupné z: <http://www.bioscience.org/2010/v15/af/3617/list.htm>
- HADLER-OLSEN, E., WINBERG J. O. a UHLIN-HANSEN, L. Matrix metalloproteinases in cancer: their value as diagnostic and prognostic markers and therapeutic targets. *Tumor Biology* [online]. 2013, 34(4), 2041-2051 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1007/s13277-013-0842-8. ISSN 1010-4283. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13277-013-0842-8>
- HALOUZKA, R., KRINKE, J. a JELÍNEK, F. *Obecná veterinární patologie: učební text pro studenty fakulty veterinárního lékařství a fakulty veterinární hygieny a ekologie*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2004, s. 188. ISBN 80-7305-496-5.
- HAMPE, J. F. a MISDORP, W. Tumours and dysplasias of the mammary gland. *Bulletin of the World Health Organization* [online]. 1974, 50(1-2), 111-133 [cit. 2016-06-07]. PMC: 2481221. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2481221/>
- HAN, Bo., NAKAMURA, Misa., MORI, I., NAKAMURA, Y. a KAKUDO, K. Urokinase-type plasminogen activator system and breast cancer (Review). *Oncology reports* [online]. 2005, 14(1), 105-112 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.3892/or.14.1.105. ISSN 1791-2431. Dostupné z:

[https://www.researchgate.net/publication/7797191\\_Urokinase-type\\_plasminogen\\_activator\\_system\\_and\\_breast\\_cancer\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/7797191_Urokinase-type_plasminogen_activator_system_and_breast_cancer_Review)

HANAHAN, D. a WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*[online]. 2011, 144(5), 646-674 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013. ISSN 00928674. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867411001279>

HEPPNER, J. B., BOUCIAS, D. G., PENDLAND, J. C., SOURAKOV, A., EBERT, T., DOWNER, R., ZHU, K. Y., VALLES, S. M., FRANK, J. H., PRISCHMANN, D. A., ALL, J., NATION, J. L., CAPINERA, J. L. a JOLIVET, P. Insecticides. *Encyclopedia of Entomology* [online]. 2 end. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008, s. 1981 [cit. 2017-04-21]. DOI: 10.1007/978-1-4020-6359-6\_1545. ISBN 978-1-4020-6359-6. ISSN 0014-2751. Dostupné z: [http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-4020-6359-6\\_1545](http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-4020-6359-6_1545)

HERMO, G. A., TORRES, P., RIPOLL, G. V., SCURSONI, A. M., GOMEZ, D. E., ALONSO, D. F. a GOBELLO, C. Perioperative desmopressin prolongs survival in surgically treated bitches with mammary gland tumours: A pilot study. *The Veterinary Journal* [online]. 2008, 178(1), 103-108 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.06.015. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023307002201>

HERMO, G. A., TURIC, E., ANGELICO, D., SCURSONI, A. M., GOMEZ, D. E., GOBELLO, C. a ALONSO, D. F. Effect of Adjuvant Perioperative Desmopressin in Locally Advanced Canine Mammary Carcinoma and its Relation to Histologic Grade. *Journal of the American Animal Hospital Association* [online]. 2011, 47(1), 21-27 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.5326/JAAHA-MS-5509. ISSN 0587-2871. Dostupné z: <http://jaaha.org/doi/abs/10.5326/JAAHA-MS-5509>

HNÍZDO, J. *Onkologie* [online]. 2014 [cit. 2016-04-08]. Dostupné z: <http://www.veterinarni-ordinace-praha.cz/specializace/onkologie>

HOFSTATTER, E. W., CHUNG, G. G. a HARRIS, L. N. Molecular biology of breast cancer. DEVITA, V. T. a T. S. LAWRENCE. *DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer Principles and Practice of Oncology*. 9th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams, c2011, s. 1392-1397. ISBN 1451105452.

HONSCHA, K. U., SCHIRMER, A., REISCHAUER, A., SCHOON, H-A., EINSPANIER, A. a GÄBEL, G. Expression of ABC-Transport Proteins in Canine Mammary Cancer: Consequences for Chemotherapy. *Reproduction in Domestic Animals* [online]. 2009, 44(2), 218-223 [cit. 2016-05-19]. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2009.01382.x. ISSN 09366768. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0531.2009.01382.x>

HSU, W., HUANG, H., LIAO, J., WONG, M. a CHANG, S. Increased survival in dogs with malignant mammary tumours overexpressing HER-2 protein and detection of a silent single nucleotide polymorphism in the canine HER-2 gene. *The Veterinary Journal* [online]. 2007, 180(1), 116-123 [cit. 2016-05-24]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.10.013. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023307003589>

HSU, W., HUANG, Y., CHANG, T., WONG, M. a CHANG, S. Single nucleotide variation in exon 11 of canine BRCA2 in healthy and cancerous mammary tissue. *The Veterinary Journal* [online]. 2010, 184(3), 351-356 [cit. 2016-05-25]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2009.03.022. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023309001300>

CHANG, C., TSAI, M., LIAO, J., CHAN, J. P., WONG, M. a CHANG, S. Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association* [online]. 2009, 235(4), 391-396 [cit. 2016-06-14]. DOI: 10.2460/javma.235.4.391. ISSN 0003-1488. Dostupné z: <http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.235.4.391>

JANOSTIAK, R., TOLDE, O., BRUHOVA, Z., NOVOTNY, M., HANKS, S. K., ROSEL, D. a DRABEK, J. Tyrosine phosphorylation within the SH3 domain regulates CAS subcellular localization, cell migration, and invasiveness. *Molecular Biology of the Cell* [online]. 2011, 22(22), 4256-4267 [cit. 2016-02-20]. DOI: 10.1091/mbc.E11-03-0207. ISSN 1059-1524. Dostupné z: <http://www.molbiolcell.org/cgi/doi/10.1091/mbc.E11-03-0207> In DRÁBEK, J. O krok blíže k zastavení metastáz. *Gate2biotech.cz* [online]. Česká Republika: Přírodovědecká fakulta Karlovy Univerzity, 2012, [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/o-krok-blize-k-zastaveni-metastaz/>



JELÍNEK, P., KOUDELA, K et al. *Fyziologie hospodářských zvířat*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003, s. 343-350. ISBN 80-7157-644-1.

JIANG, Y., GOLDBERG, I. D. a SHI, Y. E. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. *Oncogene* [online]. 2002, 21(14), 2245-2252 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1038/sj/onc/1205291. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11948407>

KAMIŠ, J. *Veterinární klinika AurumVet*. České Budějovice, 2015

KARAYANNOPOULOU, M., KALDRYMIDOU, E., CONSTANTINIDIS, T. C. a DESSIRIS, A. Adjuvant Post-operative Chemotherapy in Bitches with Mammary Cancer. *Journal of Veterinary Medicine Series A* [online]. 2001, 48(2), 85-96 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1046/j.1439-0442.2001.00336.x. ISSN 0931-184x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1439-0442.2001.00336.x>

KASAT, K., GO, V. a POGO, B. G. T. Effects of pyrethroid insecticides and estrogen on WNT10B proto-oncogene expression. *Environment International* [online]. 2002, 28(5), 429-432 [cit. 2016-06-15]. DOI: 10.1016/S0160-4120(02)00072-7. ISSN 01604120. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412002000727>

KELSEY, J. L., MOORE, A. S. a GLICKMAN, L. T. Epidemiologic studies of risk factors for cancer in pet dogs. *Epidemiologic reviews* [online]. USA, 1998, 20(2), 204-217 [cit. 2016-05-17]. Dostupné z: <http://epirev.oxfordjournals.org/content/20/2/204.long>

KIM, J. H., IM, K. S., KIM, N. H., YHEE, J. Y., NHO, W. G. a SUR, J. H. Expression of HER-2 and nuclear localization of HER-3 protein in canine mammary tumors: Histopathological and immunohistochemical study. *The Veterinary Journal* [online]. 2011, 189(3), 318-322 [cit. 2016-05-24]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.08.012. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023310002868>

KIM, J. H., CHON, S. K., IM, K. S., KIM, N. H. a SUR, J. H. Correlation of tumor-infiltrating lymphocytes to histopathological features and molecular phenotypes in canine mammary carcinoma: A morphologic and immunohistochemical

morphometric study. *Canadian Journal of Veterinary Research* [online]. 2013, 77(2), 142-149 [cit. 2016-05-27]. ISSN 08309000. PMID: 24082407. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3605931/>

KIRPENSTEIJN, J. a RUTTEMAN, G. R. Practical treatment of mammary neoplasia. THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE (NAVC). *Proceedings of the The North American Veterinary Conference* [online]. Florida: Orlando, 2006, s. 799-802 [cit. 2016-06-07]. small animal and exotics edition. Dostupné z: <http://www.cabi.org/isc/FullTextPDF/2006/20063121210.pdf>

KITCHEL, B. E. a DERVISIS, N. G. Pathophysiology and tumor cell growth. HENRY, C. J. a HIGGINBOTHAM, M. L. *Cancer Management in Small Animal Practice*. London: Elsevier Health Sciences, 2009, s. 1-9. ISBN 1437701981.

KLEIBLOVA, P., SHALTIEL, A. I., BENADA, J., ŠEVČÍK, J., PECHÁČKOVÁ, S., POHLREICH, P., VOEST, E. E., DUNDR, P., BARTEK, J., KLEIBL, Z., MEDEMA, R. H. a MACŮREK, L. Gain-of-function mutations of PPM1D/Wip1 impair the p53-dependent G1 check point. *The Journal of Cell Biology*. 2013, 201(4), 511-521. DOI: 10.1083/jcb.201210031. ISSN 0021-9525. Dostupné také z: <http://www.jcb.org/lookup/doi/10.1083/jcb.201210031> In MACŮREK, L. Objev českých molekulárních genetiků pomůže léčit rakovinu. *Gate2biotech.cz* [online]. Česká Republika: Ústav molekulární genetiky akademie věd, 2013, [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/objev-ceskych-molekularnich-genetiku-pomuze-lecit-rakovinu/>

KLENER, P. Angiogeneze jako součást nádorového „ekosystému“ a možnosti jejího ovlivnění. *Klinická Onkologie* [online]. Česká lékařská společnost Jana Evangelisty purkyně, Praha: Medica Healthworld a. s., 2010, 23(1), 14-20 [cit. 2015-12-05]. ISSN 1802-5307. Dostupné z: <http://www.linkos.cz/files/klinicka-onkologie/154/3581.pdf>

KLOPFLEISCH, R., KLOSE, P. a GRUBER, A. D. The Combined Expression Pattern of BMP2, LTBP4, and DERL1 Discriminates Malignant From Benign Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology* [online]. 2010a, 47(3), 446-454 [cit. 2016-05-24]. DOI: 10.1177/0300985810363904. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985810363904>

KLOPFLEISCH, R., SCHUTZE, M. a GRUBER, A. D. RAD51 Protein Expression Is Increased in Canine Mammary Carcinomas. *Veterinary Pathology* [online]. 2010b, 47(1), 98-101 [cit. 2016-05-25]. DOI: 10.1177/0300985809353310. ISSN 0300-9858. Dostupné z:

<http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985809353310>

KLOPFLEISCH, R., SCHÜTZE, M., LINZMANN, H., BRUNNBERG, L. a GRUBER, A. D. Increased Derlin-1 Expression in Metastases of Canine Mammary Adenocarcinomas. *Journal of Comparative Pathology* [online]. 2010c, 142(1), 79-83 [cit. 2016-05-25]. DOI: 10.1016/j.jcpa.2009.06.006. ISSN 00219975. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997509000917>

KLOPFLEISCH, R., LENZE, D., HUMMEL, M. a GRUBER, A. D. Metastatic canine mammary carcinomas can be identified by a gene expression profile that partly overlaps with human breast cancer profiles. *BMC Cancer* [online]. 2010d, 10(1), 618-629 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1186/1471-2407-10-618. ISSN 1471-2407. Dostupné z: <http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-10-618>

KLOPFLEISCH, R., LENZE, D., HUMMEL, M. a GRUBER, A. D. The metastatic cascade is reflected in the transcriptome of metastatic canine mammary carcinomas. *The Veterinary Journal* [online]. 2011a, 190(2), 236-243 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.10.018. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023310003655>

KLOPFLEISCH, R., EULER, H. V., SARLI, G., PINHO, S. S., GARTNER, F., a GRUBER, A. D. Molecular Carcinogenesis of Canine Mammary Tumors: News From an Old Disease. *Veterinary Pathology* [online]. 2011b, 48(1), 98-116 [cit. 2016-02-20]. DOI: 10.1177/0300985810390826. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985810390826>

KOMATSU, T., IWANO, H., EBISAWA, M., WATABE, A., ENDO, Y., HIRAYAMA, K., TANIYAMA, H. a KADOSAWA, T. Pathological Classification of Canine Mammary Tumor Based on Quantifying mRNA Levels of Hormonal Receptors, SATB1, and Snail in Tissue and Fine Needle Biopsy Samples. *Journal of Veterinary Medical Science* [online]. 2012, 74(6), 719-726 [cit. 2016-06-15]. DOI:

10.1292/jvms.11-0440. ISSN 0916-7250. Dostupné z:  
<http://japanlinkcenter.org/JST.JSTAGE/jvms/11-0440?lang=en>

KRÓL, M., PAWŁOWSKI, K. M., SZYSZKO, K., MACIEJEWSKI, H., DOLKA, I., MANUALI, E., JANK, M. a MOTYL, T. The gene expression profiles of canine mammary cancer cells grown with carcinoma-associated fibroblasts (CAFs) as a co-culture in vitro. *BMC Veterinary Research* [online]. 2012, 8(1), 35- [cit. 2016-05-31]. DOI: 10.1186/1746-6148-8-35. ISSN 1746-6148. Dostupné z:  
<http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-6148-8-35>

KUMARAGURUPARAN, R., KARUNAGARAN, D., BALACHANDRAN, C., MANOHAR, B. M. a NAGINI, S. Of humans and canines: A comparative evaluation of heat shock and apoptosis-associated proteins in mammary tumors. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2006, 365(1-2), 168-176 [cit. 2016-05-25]. DOI: 10.1016/j.cca.2005.08.018. ISSN 00098981. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898105005140>

KURZMAN, I. D. a GILBERTSON, S. R. Prognostic factors in canine mammary tumors. *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)* [online]. 1986, 1(1), 25-32 [cit. 2016-05-18]. PMID: 3507784. Dostupné z:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3507784> In WITHROW, S. J., VAIL, D. M. a PAGE R. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2013, s. 538-547. ISBN 978-1-4377-2362-5.

KUTZLER, Michelle. *Overview of Mammary Tumors* [online]. U.S.A.: Merck Sharp & Dohme Corp, 2014 [cit. 2016-06-10]. Dostupné z:  
[http://www.merckvetmanual.com/mvm/reproductive\\_system/mammary\\_tumors/overview\\_of\\_mammary\\_tumors.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/reproductive_system/mammary_tumors/overview_of_mammary_tumors.html)

LABELLE, P. a DE COCK, H. E. V. Metastatic Tumors to the Adrenal Glands in Domestic Animals. *Veterinary Pathology* [online]. 2005, 42(1), 52-58 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1354/vp.42-1-52. ISSN 0300-9858. Dostupné z:  
<http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1354/vp.42-1-52>

LAMBERT, E., DASSÉ, E., HAYE, B. a PETITFRÈRE, E. TIMPs as multifacial proteins. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* [online]. 2004, 49(3), 187-198

[cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2003.09.008. ISSN 10408428. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842803002749>

LANGENBACH, A., MCMANUS, P. M., HENDRICK, M. J., SHOFRER, F. S. a SORENMO, K. U. Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association* [online]. 2001, 218(9), 1424-1428 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.2460/javma.2001.218.1424. ISSN 0003-1488. Dostupné z: <http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2001.218.1424> In Sorenmo et al., 2011

LANGLEY, R. R. a FIDLER, I. J. Tumor Cell-Organ Microenvironment Interactions in the Pathogenesis of Cancer Metastasis. *Endocrine Reviews* [online]. 2007, 28(3), 297-321 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1210/er.2006-0027. ISSN 0163-769x. Dostupné z: <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/er.2006-0027>

LAVALLE, G. E., A. C. BERTAGNOLLI, W. L. F. TAVARES a G. D. CASSALI. Cox-2 Expression in Canine Mammary Carcinomas: Correlation with Angiogenesis and Overall Survival. *Veterinary Pathology*[online]. 2009, 46(6), 1275-1280 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1354/vp.08-VP-0226-C-FL. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1354/vp.08-VP-0226-C-FL>

LAVALLE, G. E., DE CAMPOS, C. B., BERTAGNOLLI, A. C. a CASSALI, G. D. Canine Malignant Mammary Gland Neoplasms with Advanced Clinical Staging Treated with Carboplatin and Cyclooxygenase Inhibitors: Lavallo GE 1, De Campos CB, Bertagnolli AC, Cassali GD. *In vivo*[online]. 2012, 26(3), 375-379 [cit. 2016-05-21]. Dostupné z: <http://iv.iijournals.org/content/26/3/375.long#aff-1>

LEE, C. H. a KWEON, O. K. Mutations of p53 tumor suppressor gene in spontaneous canine mammary tumors. *Journal of veterinary science (Suwon-si, Korea)* [online]. 2002, 3(4), 321-325 [cit. 2016-05-26]. ISSN 1229845X. PMID:12819382. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0042697575&origin=inward&txGid=0>

LESLIE, M. Making short work of p53. *The Journal of Cell Biology* [online]. 2013, 201(4), 491-491 [cit. 2016-02-25]. DOI: 10.1083/jcb.2014if. ISSN 0021-9525.

Dostupné z: <http://www.jcb.org/lookup/doi/10.1083/jcb.2014if> In MACŮREK, L. Objev českých molekulárních genetiků pomůže léčit rakovinu. *Gate2biotech.cz* [online]. Česká Republika: Ústav molekulární genetiky akademie věd, 2013, 20. 08. 2013 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/objev-ceskych-molekularnich-genetiku-pomuze-lecit-rakovinu/>

LEWIS, C. a MURDOCH, C. Macrophage Responses to Hypoxia. *The American Journal of Pathology*[online]. 2005, 167(3), 627-635 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62038-X. ISSN 00029440. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000294401062038X>

LI, D. I. a FENG, Y. M. Signaling mechanism of cell adhesion molecules in breast cancer metastasis: potential therapeutic targets. *Breast Cancer Research and Treatment*[online]. 2011, 128(1), 7-21 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1007/s10549-011-1499-x. ISSN 0167-6806. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10549-011-1499-x>

LI, J., HUANG, S., ZHENG, W., DING, H., ZHANG, Y., HUANG, S., ZHANG, Z., CHEN, B., LIANG, Z., HE, G., XIAO, X., LI, S., XU, T. a CHEN, X. The role of vascular epithelial growth factor receptor–tyrosine kinase inhibitors in the treatment of advanced breast cancer: a meta-analysis of 12 randomized controlled trials. *Current Medical Research and Opinion*[online]. 2013, 29(12), 1691-1699 [cit. 2016-06-01]. DOI: 10.1185/03007995.2013.836080. ISSN 0300-7995. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1185/03007995.2013.836080>

LOHR, C. V., TEIFKE, J. P., FAILING, K. a WEIS, E. Characterization of the Proliferation State in Canine Mammary Tumors by the Standardized AgNOR Method with Postfixation and Immunohistologic Detection of Ki-67 and PCNA. *Veterinary Pathology* [online]. 1997, 34(3), 212-221 [cit. 2016-05-23]. DOI: 10.1177/030098589703400306. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/030098589703400306>

LOMBARDI, P., FLORIO, S., PAGNINI, U., CRISPINO, A. a AVALLONE, L. Ovarian function suppression with a GnRH analogue: d-ser(But[t])[6]-Arzgly[10]-LHRH (Goserelin) in hormone dependent canine mammary cancer. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*[online]. 1999, 22(1), 56-61 [cit. 2016-

05-21]. DOI: 10.1046/j.1365-2885.1999.00184.x. ISSN 0140-7783. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2885.1999.00184.x>

LONDON, C. A., HANNAH, A. L., ZADOVOSKAYA, R., CHIEN, M. B., KOLLIAS-BAKER, C., ROSENBERG, M., DOWNING, S., POST, G., BOUCHER, J., SHENOY, N., MENDEL, D. B., MCMAHON, G. a CHERRINGTON, J. M. Phase I dose-escalating study of SU11654, a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies. *Clinical Cancer Research* [online]. 2003, 9(7), 2755-2768 [cit. 2016-05-21]. ISSN 10780432. PMID:12855656. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12855656> In SANTOS, A. A. a MATOS, A. J. F. Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours. Part 2: Invasion, angiogenesis, metastasis and therapy. *The Veterinary Journal* [online]. 2015, 205(2): 144-153 [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.03.029. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023315001264>

LONDON, C. A. Kinase dysfunction and kinase inhibitors. *Veterinary Dermatology*[online]. 2013, 24(1), 181-187.e39-40 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2012.01081.x. ISSN 09594493. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3164.2012.01081.x>

LOREK, A., TAKEI, Y., CADY, E. B., WYATT, J. S., PENRICE, J., EDWARDS, A. D., PEEBLES, D., WYLEZINSKA, M., OWEN-REECE, H., KIRKBRIDE, V., COOPER, C. E., ALDRIDGE, R. F., ROTH, S. C., BROWN, G., DELPY, D. T. a REYNOLDS, E. O. R. Delayed (“Secondary”) Cerebral Energy Failure after Acute Hypoxia-Ischemia in the Newborn Piglet: Continuous 48-Hour Studies by Phosphorus Magnetic Resonance Spectroscopy. *Pediatric Research* [online]. 1994, 36(6), 699-706 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1203/00006450-199412000-00003. ISSN 0031-3998. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1203/00006450-199412000-00003>

MACEWEN, E. G., HARVEY, H. J., PATNAIK, A. K., MOONEY, S., HAYES, A., KURZMAN, I. a HARDY, W. D. Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer. *Journal of Biological Response Modifiers*[online]. 1985, 4(4), 418-426 [cit. 2016-05-18]. PMID 4031952. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4031952> In WITHROW, S. J., VAIL, D. M. a

PAGE R. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2013, s. 538-547. ISBN 978-1-4377-2362-5.

MACEWEN, E. G. Current concepts in cancer therapy: biologic therapy and chemotherapy. *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)* [online]. 1986, 1(1), 5-16 [cit. 2016-05-27]. ISSN 08820511. PMID: 3333888. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0022664773&origin=inward&txGid=0>

MANTOVANI, A., ROMERO, P., PALUCKA, A. K. a MARINCOLA, F. M. Tumour immunity: effector response to tumour and role of the microenvironment. *The Lancet* [online]. 2008, 371(9614), 771-783 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60241-X. ISSN 01406736. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067360860241X>

MARCONATO, L., LORENZO, R. M., ABRAMO, F., RATTO, A. a ZINI, E. Adjuvant gemcitabine after surgical removal of aggressive malignant mammary tumours in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology* [online]. 2008, 6(2), 90-101 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2007.00143.x. ISSN 1476-5810. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5829.2007.00143.x>

MARCONATO, L., ROMANELLI, G., STEFANELLO, D., GIACOBONI, C., BONFANTI, U., BETTINI, G., FINOTELLO, R., VERGANTI, S., VALENTI, P., CIARAMELLA, L. a ZINI, E. Prognostic factors for dogs with mammary inflammatory carcinoma: 43 cases (2003–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association* [online]. 2009, 235(8), 967-972 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.2460/javma.235.8.967. ISSN 0003-1488. Dostupné z: <http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.235.8.967>

MARGOLIN, G., PETRYKOWSKA, H. M., JAMEEL, N., BELL, D. W., YOUNG, A. C. a ELNITSKI, L. Robust Detection of DNA Hypermethylation of ZNF154 as a Pan-Cancer Locus with in Silico Modeling for Blood-Based Diagnostic Development. *The Journal of Molecular Diagnostics* [online]. 2016, 18(2), 283-298 [cit. 2016-03-01]. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2015.11.004. ISSN 15251578. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525157815002743> In MIHULKA, RNDr. S. *Časná diagnostika nádoru testem metylace DNA* [online]. [cit. 2016-03-



01]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/budeme-diagnostikovat-casne-nadory-testem-metylase-dna/>

MARVAN, F., HAMPL, A., HLOŽÁNKOVÁ, E., KRESAN, J., MASSANYI, L. a VERNEROVÁ, E. *Morfologie hospodářských zvířat*. Vyd. 2. Praha: Brázda, 1998, s. 260-263. ISBN 80-209-0273-2.

MATOS, A. J. F., LOPES, C., CARVALHEIRA, J., SANTOS, M., RUTTEMAN, G. R. a GÄRTNER, F. E-cadherin Expression in Canine Malignant Mammary Tumours: Relationship to Other Clinico-Pathological Variables. *Journal of Comparative Pathology* [online]. 2006, 134(2-3), 182-189 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1016/j.jcpa.2005.10.004. ISSN 00219975. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997505001222>

MATOS, A. J. F. a SANTOS, A. A., Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours: Part 1. Proliferation, apoptosis and DNA repair. *The Veterinary Journal* [online]. 2015, 205(2): 136-143 [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.02.004. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023315000659>

MERLO, D. F., ROSSI, L., PELLEGRINO, C., CEPPI, M., CARDELLINO, U., CAPURRO, C., RATTO, A., SAMBUCCO, P. L., SESTITO, V., TANARA, G. a BOCCHINI, V. Cancer Incidence in Pet Dogs: Findings of the Animal Tumor Registry of Genoa, Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* [online]. 2008, 22(4), 976-984 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x. ISSN 08916640. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x>

MILLER, M. E., CHRISTENSEN, G. C. a EVANS, H. E. The mammary gland. *Anatomy of the Dog*. Philadelphia: WB Saunders company, 1964, s. 789–803. In SLEECKX, N., DE ROOSTER, H., VELDHUIS KROEZE, E. J. B., VAN GINNEKEN, C. a VAN BRANTEGEM, L. Canine Mammary Tumours, an Overview. *Reproduction in Domestic Animals* [online]. 2011, 46(6), 1112-1131 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x. ISSN 09366768. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x>

MILLANTA, F., CITI, S., DELLA SANTA, D., PORCIANI, M. a POLI, A. COX-2 expression in canine and feline invasive mammary carcinomas: correlation with

clinicopathological features and prognostic fmolecular markers. *Breast Cancer Research and Treatment* [online]. 2006, 98(1), 115-120 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1007/s10549-005-9138-z. ISSN 0167-6806. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10549-005-9138-z>

MILLANTA, F., ASPRONI, P., CANALE, A., CITI, S., a POLI, A. COX-2, mPGES-1 and EP2 receptor immunohistochemical expression in canine and feline malignant mammary tumours. *Veterinary and Comparative Oncology* [online]. 2016, 14(3), 270-280 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1111/vco.12096. ISSN 14765810. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/vco.12096>

MISDORP, W., COTCHIN, E., HAMPE, J. F., JABARA, A. G. a VON SANDERSLEBE, J. Canine Malignant Mammary Tumours I. Sarcomas. *Veterinary Pathology* [online]. 1971, 8(2), 99-117 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1177/030098587100800202. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4367432>

MISDORP, W. a HART, A. A. M. Canine mammary cancer. *Journal of Small Animal Practice* [online]. 1979,20(7), 395-404 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1748-5827.1979.tb06744.x. ISSN 00224510. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1748-5827.1979.tb06744.x>

MISDORP, W., ELSE, R. W., HELLMEN, E. a LIPSCOMB, T. P. *Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and the Cat*. 2nd edn. WASHINGTON D. C.: Armed Forces Institute of Pathology, 1999. In SLEECKX, N., DE ROOSTER, H., VELDHUIS KROEZE, E. J. B., VAN GINNEKEN, C. a VAN BRANTEGEM, L. Canine Mammary Tumours, an Overview. *Reproduction in Domestic Animals* [online]. 2011, 46(6), 1112-1131 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x. ISSN 09366768. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x>

MISDORP, W. Tumors of the mammary gland. MEUTEN, D. J. *Tumors in Domestic Animals*. 4th end. Iowa State Press, Ames, 2002, s. 575–606. In SLEECKX, N., DE ROOSTER, H., VELDHUIS KROEZE, E. J. B., VAN GINNEKEN, C. a VAN BRANTEGEM, L. Canine Mammary Tumours, an Overview. *Reproduction in Domestic Animals* [online]. 2011, 46(6), 1112-1131 [cit. 2016-06-07]. DOI:

10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x. ISSN 09366768. Dostupné z:  
<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x>

MITCHELL, L., DE LA IGLESIA, F. A., WENKOFF, M. S., VAN DREUMEL, A. A. a LUMB, G. Mammary tumors in dogs: survey of clinical and pathological characteristics. *The Canadian Veterinary Journal* [online]. 1974, 15(5), 131-138 [cit. 2016-06-05]. PMID: PMC1696500 Dostupné z:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1696500/>

MKAOUAR, L., ENDO, Y., JUN, H. X., LEE, S.-J., JAROENSONG, T., MOCHIZUKI, M., UCHIDA, K., NAKAYAMA, H., SASAKI, N. a NAKAGAWA, T. Relationship between NF- $\kappa$ B Expression and Malignancy of Canine Mammary Gland Tumor Tissues. *Journal of Veterinary Medical Science* [online]. 2012, 74(6), 713-718 [cit. 2016-05-23]. DOI: 10.1292/jvms.11-0380. ISSN 0916-7250. Dostupné z: <http://japanlinkcenter.org/JST.JSTAGE/jvms/11-0380?lang=en>

MODIANO, J. F. The genetic basis of cancer. WITHROW, S. J., VAIL, D. M. a PAGE, R. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, c2013, s. 1-15. ISBN 978-1-4377-2362-5.

MOE, L. Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* [online]. 2001, 57, 439-443 [cit. 2016-06-05]. PMID: 11787188. Dostupné z:  
<http://europepmc.org/abstract/med/11787188>

MORRISON, W. B. *Cancer in dogs and cats: medical and surgical management*. Baltimore: Williams, c1998. ISBN 06-830-6105-4.

MOULTON, J. E., TAYLOR, D. O. N., DORN, C. R. a ANDERSEN, A. C. Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology* [online]. 1970, 7(4), 289-320 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1177/030098587000700401. ISSN 0300-9858. Dostupné z:  
<http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/030098587000700401>

MOUSER, P., MILLER, M. A., ANTUOFERMO, E., BADVE, S. S. a MOHAMMED, S. I. Prevalence and Classification of Spontaneous Mammary Intraepithelial Lesions in Dogs Without Clinical Mammary Disease: News Froman Old Disease. *Veterinary Pathology* [online]. 2010, 47(2): 275-284

[cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1177/0300985809358603. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985809358603>

MURAKAMI, Y., TATEYAMA, S., RUNGSIPIPAT, A., UCHIDA, K. a YAMAGUCHI, Ryoji. Amplification of the Cyclin A Gene in Canine and Feline Mammary Tumors. *Journal of Veterinary Medical Science* [online]. 2000, 62(7), 783-787 [cit. 2016-05-23]. DOI: 10.1292/jvms.62.783. ISSN 09167250. Dostupné z: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/jvms/62.783?from=CrossRef>

NAJBRT, R., BEDNÁŘ, K., ČERVENÝ, Č., KAMAN, J., MIKYSKA, E. a ŠTARHA, O. *Veterinární anatomie 2*. První. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1982, s. 557. ISBN: 07-006-82

NAKAHIRA, R., MICHISHITA, M., YOSHIMURA, H., HATAKEYAMA, H. a TAKAHASHI, K. Neuroendocrine Carcinoma of the Mammary Gland in a Dog. *Journal of Comparative Pathology* [online]. 2015, únor až duben 2015, 152(2-3): 188-191 [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1016/j.jcpa.2014.12.009. ISSN 00219975. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997514003983>

NIETO, A., PENA, L., PEREZ-ALENZA, M. D., SANCHEZ, M. A., FLORES, J. M. a CASTANO, M. Immunohistologic Detection of Estrogen Receptor Alpha in Canine Mammary Tumors: Clinical and Pathologic Associations and Prognostic Significance. *Veterinary Pathology*[online]. 2000, 37(3), 239-247 [cit. 2016-06-14]. DOI: 10.1354/vp.37-3-239. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1354/vp.37-3-239>

NOWAK, M. A, MADEJ, J. P. B., ROSSOWSKA, J. C. a MADEJ, J. A. A. Involvement of CD8+ cells in protective mechanisms in canine mammary adenocarcinomas (short communication). *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* [online]. 2007, 51(3), 445-448 [cit. 2016-05-27]. ISSN 00424870. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-38049158102&origin=inward&txGid=0>

OWEN, L. N. *TNM Classification of Tumours in Domestic Animals* [online]. 1. vydání. Geneva: World Health Organization, 1980 [cit. 2016-06-05]. Dostupné z: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/68618>

PANDEY, P. R., SAIDOU, J. a WATABE, K. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. *Frontiers in Bioscience* [online]. 2010, 15(1), 226-236 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.2741/3617. ISSN 10939946. Dostupné z: <http://www.bioscience.org/2010/v15/af/3617/list.htm>

PAŇKOVÁ, D., JOBE, N., KRATOCHVÍLOVÁ, M., BUCCIONE, R., DRÁBEK, J. a RÖSEL, D. NG2-mediated Rho activation promote amoeboid in vasiveness of cancer cells. *European Journal of Cell Biology*[online]. 2012, 91(11-12), 969-977 [cit. 2016-02-20]. DOI: 10.1016/j.ejcb.2012.05.001. ISSN 01719335. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0171933512000830> In DRÁBEK, J. O krok blíže k zastavení metastáz. *Gate2biotech.cz* [online]. Česká Republika: Přírodovědecká fakulta Karlovy Univerzity, 2012, 30. 10. 2012 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/o-krok-blize-k-zastaveni-metastaz/>

PATSIKAS, M. N., KARAYANNOPOULOU, M., KALDRYMIDOY, E., PAPAZOGLU, L. G., PAPADOPOULOU, P. L., TZEGAS, S. I., TZIRIS, N. E., KAITZIS, D. G., DIMITRIADIS, A. S. a DESSIRIS, A. K. The Lymph Drainage of the Neoplastic Mammary Glands in the Bitch: A Lymphographic Study. *Anatomia, Histologia, Embryologia: Journal of Veterinary Medicine Series C* [online]. 2006, 35(4), 228-234 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1439-0264.2005.00664.x. ISSN 0340-2096. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0264.2005.00664.x>

PAWŁOWSKI, K. M., POPIELARZ, D., SZYSZKO, K., GAJEWSKA, M., MOTYL, T. a KRÓL, M. Growth hormone receptor (ghr) RNAi decreases proliferation and enhances apoptosis in CMT-U27 canine mammary carcinoma cell line. *Veterinary and Comparative Oncology* [online]. 2012,10(1), 2-15 [cit. 2016-05-24]. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2011.00269.x. ISSN 14765810. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5829.2011.00269.x>

PENA, L. L., NIETO, A. I., PEREZ-ALENZA, D., CUESTA, P. a CASTANO, M. Immunohistochemical Detection of Ki-67 and PCNA in Canine Mammary Tumors: Relationship to Clinical and Pathologic Variables. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* [online]. 1998, 10(3), 237-246 [cit. 2016-05-23]. DOI: 10.1177/104063879801000303. ISSN 1040-6387. Dostupné z: <http://vdi.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/104063879801000303>

PHILIBERT, J. Mammary Gland (Breast) Tumors in Dogs: Jeffrey Philibert. In: *Www.petplace.com* [online]. Cleveland, Bechwood USA, 2015 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <http://www.petplace.com/article/dogs/diseases-conditions-of-dogs/cancer-or-tumors/mammary-gland-tumors-in-dogs>

POIRIER, V. J., HERSHEY, A. E., BURGESS, K. E., PHILLIPS, B., TUREK, M. M., FORREST, L. J., BEAVER, L. a VAIL, D. M. Efficacy and Toxicity of Paclitaxel (Taxol) for the Treatment of Canine Malignant Tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine* [online]. 2004, 18(2), 219-222 [cit. 2016-05-21]. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2004.tb00164.x. ISSN 08916640. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1939-1676.2004.tb00164.x>

POST, G. Mammary Gland Tumor in Dogs. *PetMD.com* [online]. The Veterinary Cancer Center, 2015 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: [http://www.petmd.com/dog/conditions/cancer/c\\_dg\\_mammary\\_gland\\_tumor?page=show](http://www.petmd.com/dog/conditions/cancer/c_dg_mammary_gland_tumor?page=show)

PRIORI, S. G, ALIOT, E., BLØMSTROM-LUNDQVIST, C., BOSSAERT, L., BREITHARDT, G., BRUGADA, P., CAMM, J. A., CAPPATO, R., COBBE, S. M., DI MARIO, C., MARON, B. J., MCKENNA, W. J., PEDERSEN, A. K., RAVENS, U., SCHWARTZ, P. J., TRUSZ-GLUZA, M., VARDAS, P., WELLENS, H. J. J. a ZIPES, D. P. Summary of Recommendations: task force on sudden cardiac death, european society of cardiology. *Europace* [online]. 2002,4(1), 3-18 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1053/eupc.2001.0214. ISSN 10995129. Dostupné z: <http://europace.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1053/eupc.2001.0214>

PROCHÁZKA, Z. *Chov psů*. Vyd. 3., V Pasece 1. Praha: Paseka, 2005. ISBN 80-718-5768-8.

QUEIROGA, F. L., ALVES, A., PIRES, I. a LOPES, C. Expression of Cox-1 and Cox-2 in Canine Mammary Tumours. *Journal of Comparative Pathology* [online]. 2007, 136(2-3), 177-185 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1016/j.jcpa.2007.01.010. ISSN 00219975. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997507000199>

QUEIROGA, F. L., PIRES, I., LOBO, L. a LOPES, C. S. The role of Cox-2 expression in the prognosis of dogs with malignant mammary tumours. *Research in Veterinary Science* [online]. 2010,88(3), 441-445 [cit. 2016-05-27]. DOI:

10.1016/j.rvsc.2009.10.009. ISSN 00345288. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528809002550>

RASOTTO, R., GOLDSCHMIDT, M. H., CASTAGNARO, M., CARNIER, P., CALIARI, D. a ZAPPULLI, V. The Dog as a Natural Animal Model for Study of the Mammary Myoepithelial Basal Cell Lineage and its Role in Mammary Carcinogenesis. *Journal of Comparative Pathology* [online]. 2014, 151(2-3), 166-180 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1016/j.jcpa.2014.04.013. ISSN 00219975. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021997514000838>

REECE, W. O. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. 1. české vyd. Praha: Grada, 2011, s. 425-431. ISBN 978-80-247-3282-4

REINERT, T., BORRE, M., CHRISTIANSEN, A., HERMANN, G. G., ØRNTOFT, T. F., DYRSKJØT, L. a CHRISTENSEN, B. C. Diagnosis of Bladder Cancer Recurrence Based on Urinary Levels of EOMES, HOXA9, POU4F2, TWIST1, VIM, and ZNF154 Hypermethylation. *PLoS ONE* [online]. 2012-10-3, 7(10), e46297- [cit. 2016-06-15]. DOI: 10.1371/journal.pone.0046297. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0046297>

RESSEL, L., PULEIO, R., LORIA, G. R., VANNOZZI, I., MILLANTA, F., CARACAPPA, S. a POLI, A. HER-2 expression in canine morphologically normal, hyperplastic and neoplastic mammary tissues and its correlation with the clinical outcome. *Research in Veterinary Science* [online]. 2013, 94(2), 299-305 [cit. 2016-05-24]. DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.09.016. ISSN 00345288. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528812002949>

RESTUCCI, B., DE VICO, G. a MAIOLINO, P. Evaluation of Angiogenesis in Canine Mammary Tumors by Quantitative Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule Immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*[online]. 2000, 37(4), 297-301 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1354/vp.37-4-297. ISSN 03009858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1354/vp.37-4-297>

RICHARDS, H. G., MCNEIL, P. E., THOMPSON, H. a REID, S. W. J. An epidemiological analysis of a canine-biopsies database compiled by a diagnostic histopathology service. *Preventive Veterinary Medicine* [online]. 2001, 51(1-2), 125-136 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1016/S0167-5877(01)00211-2. ISSN 01675877. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587701002112>

RIVERA, P., MELIN, M., BIAGI, T., FALL, T., HAGGSTROM, J., LINDBLAD-TOH, K. a VON EULER, H. Mammary Tumor Development in Dogs Is Associated with *BRCA1* and *BRCA2*. *Cancer Research* [online]. 2009, 69(22), 8770-8774 [cit. 2016-05-16]. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1725. ISSN 0008-5472. Dostupné z: <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-09-1725>

RODO, A. a MALICKA, E. Immunohistochemical expression of protein p53 in neoplasms of the mammary gland in bitches. *Polish Journal of Veterinary Sciences* [online]. 2008, 11(2), 89-95 [cit. 2016-05-26]. ISSN 15051773. PMID:18683536. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-46049117331&origin=inward&txGid=0>

SÁNCHEZ-VEGA, F., GOTEA, V., PETRYKOWSKA, H. M., MARGOLIN, G., KRIVAK, T. C., DELOIA, J. A., BELL, D. W. a ELNITSKI, L. Recurrent patterns of DNA methylation in the ZNF154, CASP8 , and VHL promoters across a wide spectrum of human solid epithelial tumors and cancer cell lines. *Epigenetics* [online]. 2014, 8(12), 1355-1372 [cit. 2016-06-15]. DOI: 10.4161/epi.26701. ISSN 1559-2294. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/epi.26701>

SANTOS, A., LOPES, C., MARQUES, R. M., AMORIM, I., RIBEIRO, J., FRIAS, C., VICENTE, C., GÄRTNER, F. a DE MATOS, A. Immunohistochemical analysis of urokinase plasminogen activator and its prognostic value in canine mammary tumours. *The Veterinary Journal* [online]. 2011, 189(1), 43-48 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.05.023. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023310001863>

SANTOS, A. A. a MATOS, A. J. F. Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours. Part 2: Invasion, angiogenesis, metastasis and therapy. *The Veterinary Journal* [online]. 2015, 205(2): 144-153 [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.03.029. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023315001264>

SHAFIEE, R., JAVANBAKHT, J., ATYABI, N., KHERADMAND, P., KHERADMAND, D., BAHRAMI, A., DARAEI, H. a KHADIVAR, F. Diagnosis, classification and grading of canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: an Clinico-Cytohistopathological study with environmental factors in



fluencing public health and medicine. *Cancer Cell International* [online]. 2013, 13(1): 79- [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1186/1475-2867-13-79. ISSN 1475-2867. Dostupné z: <http://www.cancerci.com/content/13/1/79>

SCHAFFER, K. A., KELLY, G., SCHRADER, R., GRIFFITH, W. C., MUGGENBURG, B. A., TIERNEY, L. A., LECHNER, J. F., JANOVITZ, E. B. a HAHN, F. F. A Canine Model of Familial Mammary Gland Neoplasia. *Veterinary Pathology* [online]. 1998, 35(3), 168-177 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1177/030098589803500302. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/030098589803500302>

SCHNEIDER, R., DORN, C. R. a TAYLOR, D. O. N. Factors Influencing Canine Mammary Cancer Development and Postsurgical Survival. *Journal of the National Cancer Institute* [online]. 1969, 43(6), 1249-1261 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1093/jnci/43.6.1249. Dostupné z: <http://jnci.oxfordjournals.org/content/43/6/1249.abstract>

SILVER, I. A. Symposium on Mammary Neoplasia in the Dog and Cat—I The Anatomy of the Mammary Gland of the Dog and Cat. *Journal of Small Animal Practice* [online]. 1966, 7(11), 689-696 [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1748-5827.1966.tb04394.x. ISSN 0022-4510. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1748-5827.1966.tb04394.x>

SIMMONDS, P. C. Palliative chemotherapy for advanced colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal* [online]. 2000, 321(7260), 531-535 [cit. 2016-06-07]. Dostupné z: <http://search.proquest.com/openview/7e9ed1c397e59e3b40847c3b36ca2964/1?pq-origsite=gscholar>

SIVEEN, K. S. a KUTTAN, G. Role of macrophages in tumour progression. *Immunology Letters* [online]. 2009, 123(2), 97-102 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1016/j.imlet.2009.02.011. ISSN 01652478. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165247809000352>

SLEECKX, N., DE ROOSTER, H., VELDHUIS KROEZE, E. J. B., VAN GINNEKEN, C. a VAN BRANTEGEM, L. Canine Mammary Tumours, an Overview. *Reproduction in Domestic Animals* [online]. 2011, 46(6), 1112-1131 [cit.

2016-06-07]. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x. ISSN 09366768. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x>

SONNENSCHNEIN, E. G., GLICKMAN, L. T., GOLDSCHMIDT, M. H. a MCKEE, L. J. Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. *American Journal of Epidemiology* [online]. 1991, 133(7), 694-703 [cit. 2016-06-05]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2018024>

SORENMO, K. U., KRISTIANSEN, V. M., COFONE, M. A., SHOFER, F. S., BREEN, A.-M., LANGELAND, M., MONGIL, C. M., GRONDAHL, A. M., TEIGE, J. a GOLDSCHMIDT, M. H. Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. *Veterinary and Comparative Oncology* [online]. 2009, 7(3), 162-172 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2009.00184.x. ISSN 14765810. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5829.2009.00184.x>

SORENMO, K. U., RASOTTO, R., ZAPPULLI, V. a GOLDSCHMIDT, M. H. Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms. *Veterinary Pathology* [online]. 2011, 48(1), 85-97 [cit. 2016-06-05]. DOI: 10.1177/0300985810389480. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985810389480>

SORENMO, K. U., WORLEY, D. R. a GOLDSCHMIDT, M. H. Tumors of the Mammary Gland. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Elsevier, 2013, 538. DOI: 10.1016/B978-1-4377-2362-5.00027-X. ISBN 9781437723625. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978143772362500027X> In SANTOS, A. A. a MATOS, A. J. F. Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours. Part 2: Invasion, angiogenesis, metastasis and therapy. *The Veterinary Journal* [online]. 2015, srpen 2015, 205(2): 144-153 [cit. 2015-12-05]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.03.029. ISSN 10900233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023315001264>

SOUZA, M. C. H., TOLEDO-PIZA, E., AMORIN, R., BARBOZA, A. a TOBIAS M. C. Inflammatory mammary carcinoma in 12 dogs: Clinical features,

cyclooxygenase-2 expression, and response to piroxicam treatment. *The Canadian Veterinary Journal* [online]. 2009, 50(5), 506-510 [cit. 2016-04-02]. PMC2671873. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2671873/>

SPOERRI, M., GUSCETTI, F., HARTNACK, S., BOOS, A., OEI, CH., BALOGH, O., NOWACZYK, R. M., MICHEL, E., REICHLER, I. M. a KOWALEWSKI, M. P. Endocrine control of canine mammary neoplasms: serum reproductive hormone levels and tissue expression of steroid hormone, prolactin and growth hormone receptors. *BMC Veterinary Research* [online]. 2015,11(1), - [cit. 2016-06-14]. DOI: 10.1186/s12917-015-0546-y. ISSN 1746-6148. Dostupné z: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/11/235>

STACKER, S. A a ACHEN, M. G. *Lymphangiogenesis in cancer metastasis* [online]. Ilustrované. Dordrecht: Springer, c2009, 30. 09. 2009, ix, 249 p. [cit. 2015-12-05]. ISBN 90-481-2247-3. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=oIIB9NIAwFoC&hl=cs&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.cz/books?id=oIIB9NIAwFoC&hl=cs&source=gbs_navlinks_s)  
In FÖLDI, Mihály a Etelka FÖLDI. *Lymfologie* [online]. 1. české vyd. Praha: Grada, 2014, 07. 05. 2014, xvi, 698 s. [cit. 2015-12-05]. ISBN 978-80-247-4300-4. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=17bCAwAAQBAJ&dq=lymfangiogeneze&hl=cs&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.cz/books?id=17bCAwAAQBAJ&dq=lymfangiogeneze&hl=cs&source=gbs_navlinks_s)

STIELL, I. G., HEBERT, P. C., WEITZMAN, B. N., WELLS, G. A., RAMAN, S., STARK, R. M., HIGGINSON, L. A. J., AHUJA, J. a DICKINSON, G. E. High-Dose Epinephrine in Adult Cardiac Arrest. *New England Journal of Medicine* [online]. 1992, 327(15), 1045-1050 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1056/NEJM199210083271502. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199210083271502>

ŠOLTYS, M. Onkologie - novotvary mléčné žlázy u fen. *Jicinvet.cz: Veterinární zákroky* [online]. Jíčín: Veterinární klinika Jíčín, 2015, 29. 04. 2015 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.jicinvet.cz/sample-page/onkologie-novotvary-mlecne-zlazy-u-fen/>

ŠMRHOVÁ, J., LUKEŠ, J. Nádory mléčné žlázy. *Borazmiloticek.net* [online]. Milotičky, 2015 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: [http://www.borazmiloticek.net/clanky/zdravi/mlecna\\_zlaza1.htm](http://www.borazmiloticek.net/clanky/zdravi/mlecna_zlaza1.htm)

ŠTEFÁNEK, J. MUDr. *Rakovina* [online]. 2011 [cit. 2016-04-08]. Dostupné z: <http://www.stefajir.cz/?q=rakovina>

ŠTĚPÁNKOVÁ, T. MVDr. Nádory mléčné žlázy. *Veterinapruhonice.cz* [online]. Průhonice: Veterinární klinika Průhonice, copyright©2012, 2012 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.veterinapruhonice.cz/nadory-mlecne-zlazy,182.html>

TAYLOR, G. N., SHABESTARI, L., WILLIAMS, J., MAYS, C. W., ANGUS, W. a MCFARLAND, S. Mammary Neoplasia in a Closed Beagle Colony. *Cancer research* [online]. 1976, 36(8), 2740-2743 [cit. 2016-06-05]. Dostupné z: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/36/8/2740.full.pdf+html>

ULISSE, S., BALDINI, E., SORRENTI, S. a D'ARMIENTO, M. The Urokinase Plasminogen Activator System: A Target for Anti-Cancer Therapy. *Current Cancer Drug Targets* [online]. 2009, 9(1), 32-71 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.2174/156800909787314002. ISSN 15680096. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article>

UNSWORTH, A., ANDERSON, R. a BRITT, K. Stromal Fibroblasts and the Immune Microenvironment: Partners in Mammary Gland Biology and Pathology? *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* [online]. 2014, 19(2), 169-182 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1007/s10911-014-9326-8. ISSN 1083-3021. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10911-014-9326-8>

VAN GARDEREN, E. a SCHALKEN, J. A. Morphogenic and tumorigenic potentials of the mammary growth hormone/growth hormone receptor system. *Molecular and Cellular Endocrinology* [online]. 2002, 197(1-2), 153-165 [cit. 2016-05-24]. DOI: 10.1016/S0303-7207(02)00259-9. ISSN 03037207. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303720702002599>

VASCELLARI, M., BAIONI, E., RU, G., CARMINATO, A. a MUTINELLI, F. Animal tumour registry of two provinces in northern Italy: incidence of spontaneous tumours in dogs and cats. *BMC Veterinary Research* [online]. 2009, 5(1), 39- [cit. 2016-06-07]. DOI: 10.1186/1746-6148-5-39. ISSN 1746-6148. Dostupné z: <http://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-6148-5-39>

VELDHOEN, N., WATTERSON, J., BRASH, M. a MILNER, J. Identification of tumour-associated and germ line p53 mutations in canine mammary cancer. *British*

*Journal of Cancer* [online]. 1999,81(3), 409-415 [cit. 2016-05-26]. DOI: 10.1038/sj.bjc.6690709. ISSN 15321827. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/sj.bjc.6690709>

VĚTVIČKA, V. Psi a rakovina. *Pes přítel člověka*. 2003, 13(9): 7-8. ISSN 0231-5424.

VIHINEN, P. a KÄHÄRI, V. M. Matrix metalloproteinases in cancer: Prognostic markers and therapeutic targets. *International Journal of Cancer* [online]. 2002, 99(2), 157-166 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.1002/ijc.10329. ISSN 00207136. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.10329>

VIHINEN, P., ALA-AHO, R. a KAHARI, V. M. Matrix Metalloproteinases as Therapeutic Targets in Cancer. *Current Cancer Drug Targets* [online]. 2005, 5(3), 203-220 [cit. 2016-05-28]. DOI: 10.2174/1568009053765799. ISSN 15680096. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article>

VINTER, V. Stavba buněčné stěny. *Botanika.upol.cz* [online]. Olomouc: Katedra botaniky a zoologie přírodovědecké fakulty na Palackého Univerzitě, 2008 [cit. 2015-12-05]. Dostupné z: <http://www.botanika.upol.cz/atlas/anatomie/>

VOLPE, J. J. Neurobiology of Periventricular Leukomalacia in the Premature Infant. *Pediatric Research* [online]. 2001, 50(5), 553-562 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.1203/00006450-200111000-00003. ISSN 0031-3998. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1203/00006450-200111000-00003> In

PANDEY, P. R., SAIDOU, J. a WATABE, K. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. *Frontiers in Bioscience* [online]. 2010, 15(1), 226-236 [cit. 2016-05-29]. DOI: 10.2741/3617. ISSN 10939946. Dostupné z: <http://www.bioscience.org/2010/v15/af/3617/list.htm>

WAKUI, S., MUTO, T., YOKOO, K., TAKAHASHI, H., TOSHIO, M., HANO, H. a FURUSATO, M. Prognostic status of p53 gene mutation in canine mammary carcinoma. *Anticancer research* [online]. 2001, 21(1), 611-616 [cit. 2016-05-26]. ISSN 02507005. PMID:11299814. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0035060601&origin=inward&txGid=0#>

WITHROW, S. J., VAIL, D. M. a PAGE R. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2013, s. 538-547. ISBN 978-1-4377-2362-5.

YOSHIKAWA, Y., OCHIAI, K., MORIMATSU, M., SUZUKI, Y., WADA, S., TAODA, T., IWAI, S., CHIKAZAWA, S., ORINO, K. a WATANABE, K. Effects of the Missense Mutations in Canine BRCA2 on BRC Repeat 3 Functions and Comparative Analyses between Canine and Human BRC Repeat 3. *PLoS ONE* [online]. 2012, 7(10), e45833- [cit. 2016-05-25]. DOI: 10.1371/journal.pone.0045833. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0045833>

YOSHIMURA, H., MICHISHITA, M., OHKUSU-TSUKADA, K. a TAKAHASHI, K. Increased Presence of Stromal Myofibroblasts and Tenascin-C With Malignant Progression in Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology* [online]. 2011, 48(1), 313-321 [cit. 2016-05-31]. DOI: 10.1177/0300985810369901. ISSN 0300-9858. Dostupné z: <http://vet.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0300985810369901>

ZAVLARIS, M., ANGELOPOULOU, K., VLEMMAS, I. a PAPAIOANNOU, N. Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) Expression in Canine Mammary Tissues: A Specific Marker for Malignancy? *Anticancer Research* [online]. 2009, 29(1), 319-325 [cit. 2016-05-23]. DOI: 104063870601800407. ISSN 02507005. Dostupné z: <http://ar.iiarjournals.org/content/29/1/319.long>

ZHANG, Q., LIU, L., GONG, C., SHI, H., ZENG, Y., WANG, X., ZHAO, Y. a WEI, Y. Prognostic Significance of Tumor-Associated Macrophages in Solid Tumor: A Meta-Analysis of the Literature. *PLoS ONE* [online]. 2012, 7(12), e50946 [cit. 2016-05-27]. DOI: 10.1371/journal.pone.0050946. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0050946>

## 16. POUŽITÉ ZDROJE OBRÁZKŮ A FOTOGRAFIÍ

### 16.1 Zdroje obrázků a fotografií

1. VIKI. J. *Anatómie psa*. In: Dog forum [obrázek]. [Cit. 01. 04. 2016]. Dostupné z: <http://www.dogforum.sk/viewtopic.php?f=11&t=2249>
2. JELÍNEK. K. *Schéma uspořádání mléčných žláz ve vemeni*. In: Morfologie hospodářských zvířat [obrázek]. [Cit. 23. 02. 2016].
3. PROCHÁZKA, Z. *Mléčná žláza feny*. In: Chov psů. Vyd. 3., V Pasece 1. Praha: Paseka, 2005. ISBN 80-718-5768-8.
4. SOUZA. C. H. *Inflammatory mammary carcinoma*. In: The Canadian Veterinary Journal [fotografie]. [Cit. 02. 04. 2016]. Dostupné z: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2671873/figure/f1-cvj\\_05\\_506/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2671873/figure/f1-cvj_05_506/)
5. WITHROW.S. *Inflammatory mammary carcinoma in a dog*. In: *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. [fotografie]. [Cit. 15. 03. 2016].
6. PHILIBERT. J. *Mammary gland tumor in dogs*. In: Pet place [fotografie]. [Cit. 01. 04. 2016]. Dostupné z: <http://www.petplace.com/article/dogs/diseases-conditions-of-dogs/cancer-or-tumors/mammary-gland-tumors-in-dogs>
7. MILLER. P. *Nádor mléčné žlázy*. In: The pet healthy library [fotografie]. [Cit. 05. 12. 2015]. Dostupné z: <https://www.addl.purdue.edu/newsletters/2007/Fall/FinalDX.html>
8. ŠULTYS. M. *Rentgen plic feny, které jsou postiženy metastázemi*. In: Veterinární klinika Jičín [fotografie]. [Cit. 05. 12. 2015]. Dostupné z: [http://www.jicinvet.cz/sample-page/onkologie-novotvary-mlecne-zlazy-u-fen/plicni\\_metastazy\\_01/](http://www.jicinvet.cz/sample-page/onkologie-novotvary-mlecne-zlazy-u-fen/plicni_metastazy_01/)
9. SANTOS. A. A. *Systém propojení CDK, cyklinů a buněčného cyklu*. In: Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours: Part 1. Proliferation, apoptosis and DNA repair, 2015. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.02.004. ISSN 10900233 [obrázek]. [Cit. 20. 04. 2016].

10. ŠTĚPÁNKOVÁ. T. *Provedení částečné mastektomie u fenky pudla*. In: Veterinární klinika Průhonice [fotografie]. [Cit. 05. 12. 2015]. Dostupné z: <http://www.veterinapruhonice.cz/nadory-mlecne-zlazy,182.html>
11. LIPTAK. J. *Multiple bilateral mastectomy*. In: *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. [fotografie]. [Cit. 23. 02. 2016].
12. KAMIŠ. J. *Benigní smíšený nádor*. In: Veterinární klinika Aurum Vet [fotografie]. [Cit. 05. 12. 2015].