

Rozpoznawanie i klasyfikacja raków przejściowokomórkowych pęcherza moczowego u psów

Rafał Sapieryński

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Nabłonek pęcherza moczowego (*urotelium*) może być miejscem wyjścia różnorodnych zmian rozrostowych, począwszy od nienowotworowych płaskich rozrostów, poprzez brodawkowate zmiany niezłośliwe i złośliwe, aż do dużych guzowatych i często wielogniskowych zmian inwazyjnych złośliwych o wysokim potencjale przerzutowania, z możliwością rozsiewu ogólnoustrojowego (1; **ryc. 1**). Wśród zmian rozrostowych pęcherza moczowego u psów zdecydowanie przeważają raki (stanowią około 75% do wszystkich rozrostów nabłonka przejściowego w tej lokalizacji, z czego około 90% to raki o umiarkowanej lub wysokiej złośliwości/inwazyjności), następnie nienowotworowe zmiany rozrostowe (polipy pęcherza moczowego lub polipowatość w przebiegu zapalenia przewlekłego pęcherza moczowego), z kolei najrzadziej rozpoznaje się brodawkaki oraz raki *in situ* (1, 2, 3). Raki pęcherza moczowego u psów stanowią około 2% wszystkich spontanicznych złośliwych nowotworów rozpoznawanych u psów, szacuje się, że w samych Stanach Zjednoczonych rocznie na ten typ nowotworu może chorować nawet 20 tys. psów (4).

Wśród możliwych przyczyn rozwoju raków przejściowokomórkowych (transitional cell carcinomas – TCC) pęcherza moczowego u psów wymienia się karcynogeny chemiczne, w tym pestycydy, herbicydy, substancje wytwarzane podczas spalania, wykazano też możliwy udział czynników genetycznych w rozwoju raków przejściwonabłonkowych u psów takich ras, jak teriery szkockie (dwudziestokrotnie wyższe ryzyko rozwoju TCC w porównaniu do mieszańców), owczarki szetlandzkie, owczarki szkockie colie, keeshound, samojed oraz west highland white teriery (4). Psy są doskonałym modelem badawczym w onkologii porównawczej raków pęcherza moczowego u ludzi, bowiem raki przejściwonabłonkowe pęcherza moczowego u psów wykazują wiele klinicznych, patomorfologicznych, genetycznych i molekularnych cech wspólnych (4).

W dalszym ciągu podstawą rozpoznawania TCC zarówno u ludzi, jak i psów

są badania mikroskopowe materiału pobranego od pacjenta z rozpoznaniem guza nowotworowego pęcherza moczowego, jednak takie postępowanie często wiąże się z koniecznością sedacji pacjenta lub wykonania zabiegu w znieczuleniu ogólnym. Co więcej, pobieranie materiału od pacjenta (przeszkórna biopsja cienkoigłowa i gruboigłowa), a także niektóre procedury terapeutyczne związane z leczeniem TCC (cystotomia, katetyzacja) niosą ze sobą potencjalne ryzyko rozsiewu procesu nowotworowego do otaczających tkanek. Niektórzy autorzy sugerują, aby w ogóle unikać wykonywania przezskórnej biopsji zmian zlokalizowanych w pęcherzu moczowym (5). W trakcie procedury diagnostycznej nieodzowne są także badania obrazowe, z jednej strony ukierunkowane na uwidocznienie masy w samym pęcherzu moczowym, z uwzględnieniem jej struktury, zasięgu oraz relacji z otaczającymi tkankami (badanie ultrasonograficzne

Diagnosis and classification of transitional cell tumors of urinary bladder in dogs

Sapieryński R., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article presents histopathological classification of urinary bladder tumors in dogs and its use in veterinary practice. Urinary bladder tumors comprise approximately 2% of all naturally occurring cancers in dogs. The female sex, obesity and exposure to older generation of flea control products and lawn chemicals are proven risk factors. Scottish terriers, Shetland sheepdogs, West Highland White terriers, Beagles and Dalmatians are genetically predisposed to transitional cell carcinomas (TCC). Diagnostic procedures in dogs with TCC include urinalysis, cytology, visualization techniques with ultrasonography as obligatory and finally histopathological examination for the type of tumor confirmation. Tumors are highly locally invasive, moreover multi-systemic dissemination is common and difficult to control. Numerous prognostic factors in dogs with TCC were identified. Among them the TNM staging, the depth of the urinary bladder wall invasion and vascular invasion are the most important. Few classification systems of transitional cell non-neoplastic and neoplastic proliferations were established. Currently, at least three of them are used in veterinary urology.

Keywords: transitional cell carcinoma, classification, histopathology, cytology, dog.

Ryc. 1. Obraz morfologiczny rozsiazanego raka przejściowokomórkowego u psa. Na górnej rycinie widoczne ognisko przerzutowe w obrębie kości spojenia żuchwy – był to pierwszy stwierdzony klinicznie guz u tego pacjenta. Na rycinie dolnej – pomiędzy palcami badającego zlokalizowane w tkance podskórnej wtórne ognisko raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego





Ryc. 2. Obraz ultrasonograficzny raka przejściowokomórkowego u suki (rycina dzięki uprzejmości lek. wet. Macieja Wojtczaka)

pęcherza moczowego i cewki moczowej; **ryc. 2**), ale także te, których celem jest wykrycie ewentualnych ognisk przerzutowych w narządach lokalnych (badanie ultrasonograficzne – jama brzuszna i jama miednicy) oraz miejscach odległych (badanie rentgenowskie – głównie płuca; **ryc. 3 i 4**).

Nieinwazyjne metody diagnostyczne

W związku z faktem, że raki pęcherza moczowego u psów często rozpoznaje się w zaawansowanych stadiach i nie ma dobrych małoinwazyjnych testów wykrywania niezaawansowanych zmian poszukuje się nowych metod diagnostycznych, które pozwoliłyby na rozpoznanie choroby na wczesnym etapie. Jednym z takich potencjalnych testów jest test V-BTA, który pozwala na wykrycie substratów powstających w trakcie metabolizmu komórek nowotworowych lub w trakcie degradacji błony podstawnej nabłonka pęcherza moczowego katalizowanej przez enzymy uwalniane przez komórki nowotworowe.

Test ten cechuje się dobrą czułością, jednak nie jest to metoda w pełni wiarygodna, bowiem zdarzają się wyniki zarówno fałszywie ujemne, jak i fałszywie dodatnie (6). W pilotażowych badaniach oceniających przydatność testu V-BTA jego czułość oceniono na 90%, a swoistość na 78%, a takie parametry, jak sposób pobrania próbki moczu, pH moczu, ciężar właściwy, obecność kryształów, bakterii i walczków, bilirubinemia, nie wpływały na skuteczność testu (7). Jednakże uzyskane w tym badaniu wyniki fałszywie dodatnie stwierdzano szczególnie często w przypadku znacznej glikozurii, proteinurii, pyurii i hematurii (7). Autorzy pracy konkludują, że ten test może być z powodzeniem stosowany jako przeglądowy test wykluczający obecność raka przejściowonabłonkowego u psów starszych lub wykazujących objawy, które mogą sugerować obecność takiego rozrostu (7). Z kolei badania Billeta i wsp. (8) wykazały wysoką przydatność testu V-BTA (90% czułość i 94,4% swoistość) w odróżnianiu pacjentów z rakiem

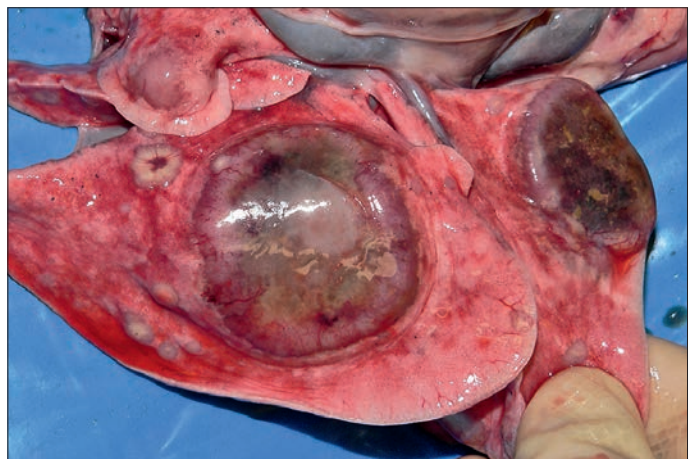
dróg moczowych od psów zdrowych, jednak swoistość testu w odróżnianiu pacjentów z rakiem dróg moczowych od pacjentów z nienowotworową chorobą dróg moczowych wyniosła jedynie 35%. Dlatego też autorzy tej pracy nie rekomendowali testu V-BTA jako wykrywającego nowotworzenie w obrębie dróg moczowych (8).

W innym badaniu, które przeprowadził Henry i wsp. (9), dokonano oceny przydatności testu V-BTA na populacji 229 psów z różnymi stanami patologicznymi dotyczącymi dróg moczowych: psy z rakiem przejściowokomórkowym, psy z nienowotworowymi chorobami obejmującymi drogi moczowe, psy chore ze „zdrowym” układem moczowym oraz zdrowymi psami kontrolnymi. Czulość testu okazała się wysoka (w granicach 85–88%), jednak swoistość była zmienna, zależna od stanu fizjologicznego/patologicznego dróg moczowych, wahała się w granicach 41% do 86% i była najniższa w przypadku nienowotworowych chorób układu moczowego (9). Jednak, podobnie jak autorzy wcześniej cytowanych badań pilotażowych, także Henry i wsp. (9) sugerują użycie V-BTA jako testu przesiewowego do wstępnego identyfikowania psów z podejrzeniem raka przejściowokomórkowego.

W ostatnio opublikowanych badaniach dokonano analizy przydatności oceny obecności biomarkerów białkowych w moczu pochodzącym od psów z rakiem przejściowokomórkowym i bez niego w rozpoznawaniu TCC (10). Na podstawie tych badań zaproponowano złożony test diagnostyczny, który wykrywa pewne produkty białkowe obecne w moczu psów chorych na TCC. Analizę przeprowadzono na próbkach moczu pobranych od psów zdrowych, psów z zakażeniem dróg moczowych i psów z rakiem przejściowokomórkowym za pomocą spektrometrii masowej. Analiza wykazała, że w moczu psów, u których doszło do rozwoju TCC, wykryto 93 specyficzne produkty białkowe, których nie stwierdzono w moczu psów zdrowych



Ryc. 3. Obraz rentgenowski klatki piersiowej psa z rozsiałym rakiem przejściowokomórkowym – widoczne guzowate zmiany przerzutowe w płucach (rycina dzięki uprzejmości lek. wet. Macieja Wojtczaka)



Ryc. 4. Obraz sekcyjny płuc psa z ryciny 3

ani u osobników z zakażeniem dróg moczowych (10). Dzięki analizie statystycznej wykazano, że obecność tych biomarkerów białkowych jest w stanie wykryć TCC z 90% skutecznością, jednak niezbędne są dalsze badania przeprowadzone na większej grupie pacjentów, które pozwoliłyby na ocenę praktycznego zastosowania tej metody diagnostycznej u psów (10).

Badanie ultrasonograficzne

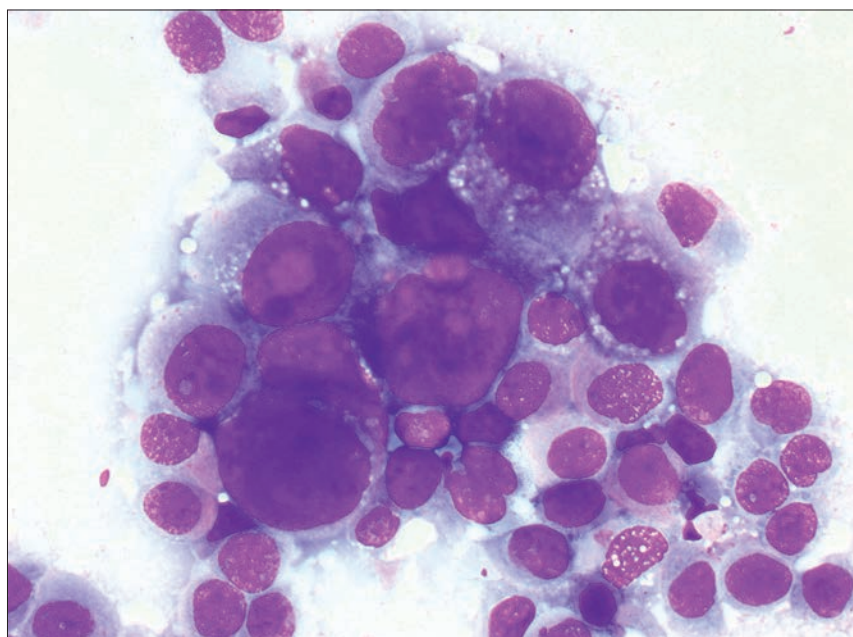
W medycynie człowieka badanie ultrasonograficzne służy nie tylko do wykrywania obecności zmian rozrostowych w pęcherzu moczowym, ale także do zdobywania informacji, które pomagają określić rokowanie (wielkość i lokalizacja guza, jego struktura oraz stopień naciekania ściany pęcherza moczowego). Obserwacje przeprowadzone przez Hanazono i wsp. (3) wykazały, że badanie ultrasonograficzne, o ile zostanie przeprowadzone przez osobę z dużym doświadczeniem, także może dostarczyć informacji cennych rokowniczo u pacjentów weterynaryjnych. Badanie przeprowadzono na grupie psów, które układano w pozycji grzbietowej, a pęcherz moczowy wypełniano roztworem fizjologicznym w ilości 2 ml/kg masy ciała. W trakcie badania oceniano następujące parametry: wielkość i kształt (polipowaty lub nie) guza, struktura (homogenna lub heterogenna), lokalizacja (okolica trójkąta pęcherza lub inna) oraz naciekanie ściany pęcherza moczowego. Jak wykazały przeprowadzone badania potwierdzone histologiczne naciekanie warstwy mięśniowej ściany pęcherza moczowego można wykryć badaniem ultrasonograficznym z 93%

czułością i 92% swoistością. Stwierdzenie tego objawu, w połączeniu z heterogenną strukturą zmiany (wynikającą jak się wydaje z obecności obszarów martwicy w obrębie nowotworu), szczególnie w przypadku zmian wywodzących się z okolicy trójkąta pęcherza moczowego, są rokowniczo niekorzystne, bowiem wiążą się z krótszymi okresami przeżycia po zabiegu chirurgicznej resekcji zmiany (3). Przykładowo, okres przeżycia dla psów z TCC, u których wykryto naciekanie ściany pęcherza moczowego, wyniósł 14,6 miesiąca, a dla psów bez cech inwazji 38,3 miesiąca. Z kolei pacjenci z guzem zlokalizowanym w okolicy trójkąta pęcherza moczowego przeżywali średnio 15 miesięcy od zabiegu resekcji, a psy, u których guz był zlokalizowany w innych obszarach narządu, przeżywali średnio 24 miesiące (3).

Badanie cytologiczne

Jedną z nieinwazyjnych/małoinwazyjnych metod rozpoznawania raków przejściowokomórkowych pęcherza moczowego u psów jest badanie cytologiczne, ukierunkowane na poszukiwanie w nim komórek, których cechy morfologiczne (pleomorfizm, anizocytos, anizokarioza, tworzenie dużych skupisk) pozwalają zakwalifikować je jako komórki nowotworowe (ryc. 5). Jednak uważa się, że rozpoznanie raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego, któremu towarzyszy stan zapalny i zakażenie bakteryjne, jest jednym z największych wyzwań cytologii weterynaryjnej (11). Materiał komórkowy można pobrać z próbki moczu (najlepiej do badania wykorzystać osad moczu;

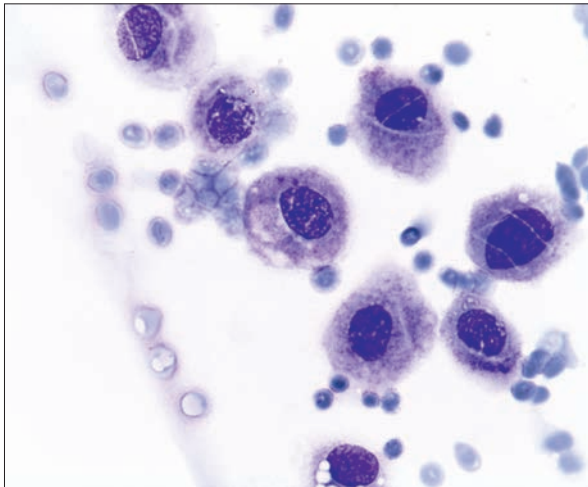
ryc. 6), drogą traumatycznej katetyzacji wykonanej na ślepo albo w trakcie cystoskopii lub też dokonując przezskórnej biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej masy guzowatej, najlepiej pod kontrolą ultrasonografu. Trzeba jednak pamiętać, że jedynie u 30% psów z TCC komórki nowotworowe stwierdza się w moczu, co sprawia, że skuteczność badania cytologicznego osadu moczu w rozpoznawaniu raka pęcherza moczowego została oceniona na niską (11). Niestety, z powodu właściwości moczu (wysoka osmolalność, zmiany pH) pojawiają się znaczne uszkodzenie komórek (ryc. 7) uniemożliwiającej ich ocenę, co więcej: nie w każdym takim przypadku możliwe jest określenie, czy te komórki są w rzeczywistości komórkami nowotworowymi (6, 11). Z drugiej strony atypię komórkową obserwuje się też w komórkach nabłonka przejściowego pobudzonego cytokinami w przebiegu zapalenia pęcherza moczowego, dlatego też rozpoznanie jest szczególnie trudne w przypadku, gdy oprócz atypowych komórek nabłonkowych w rozmazach obserwuje się też komórki zapalne oraz bakterie. Zwiększenie skuteczności badania cytologicznego można uzyskać, wykonując biopsję cienkoigłową masy guzowatej pęcherza moczowego – w takich przypadkach rozpoznanie cytologiczne można uzyskać w 90% przypadków (ryc. 8; 11). Niestety, raki przejściowokomórkowe pęcherza moczowego należą do tych zmian, które charakteryzują istotne z praktycznego punktu widzenia ryzyko rozsiewu w trakcie przezskórnych metod pobierania próbek do badań i według niektórych autorów powinno się w ogóle unikać tej



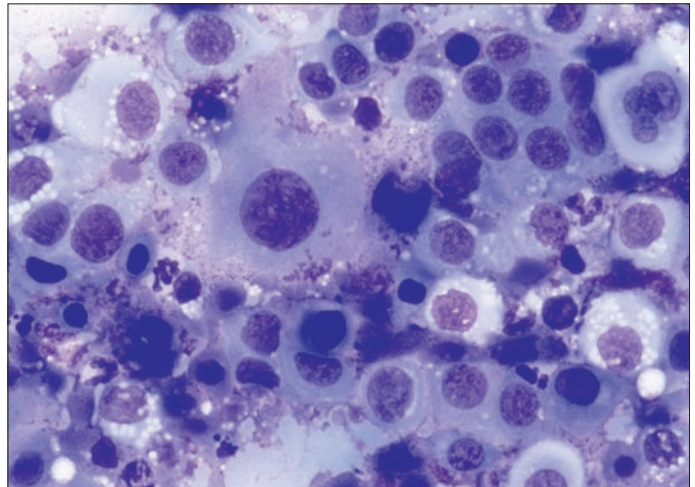
Ryc. 5. Obraz cytologiczny raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego u psa – widoczne skrajnie pleomorficzne komórki nowotworowe – w takich przypadkach rozpoznanie nie budzi wątpliwości. Materiał wykonany z osadu moczu, barwienie barwnikiem Giemsa, powiększenie 400×



Ryc. 6. W próbówce z EDTA widoczny moczu pobrany od pacjenta z rakiem przejściowokomórkowym – moczu odstawiono na godzinę do lodówki, co spowodowało osadzenie się materiału komórkowego przy dnie próbówki



Ryc. 7. Komórki nabłonka przejściowego z moczu psa – widoczne są łagodne zmiany uszkodzeniowe wynikające z właściwości moczu. Materiał wykonany z osadu moczu, barwienie barwnikiem Giemsa, powiększenie 400×



Ryc. 8. Obraz cytologiczny raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego u psa – w tym przypadku materiał pobrano drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej z guzów tkanki podskórnej, które pojawiły się w obrębie rany chirurgicznej po resekcji raka przejściowokomórkowego wykonanej kilka tygodni wcześniej; barwienie barwnikiem Giemsa, powiększenie 400×

metody uzyskiwania materiału do badań diagnostycznych (5).

W onkologii człowieka badanie cytologiczne charakteryzuje się raczej niską czułością, średnia czułość badania to około 48% (w zależności od badań oceniono ją na 28–76,5%), z kolei swoistość ocenia się na wysoką, rzędu 95% (w zależności od badań 81–100%; 12). Skuteczność cytologii jest szczególnie niska w przypadku nowotworów o małej złośliwości, co więcej: ocena jest dość subiektywna i zależna bardziej od interpretacji oceniającego niż specyficznych cech komórek obserwowanych w rozmazach cytologicznych (12).

Klasyfikacja histologiczna zmian rozrostowych nabłonka pęcherza moczowego

W patologii weterynaryjnej przez wiele lat w badaniu histopatologicznym zmian nowotworowych pęcherza moczowego u psów oceniano takie cechy mikroskopowe, jak charakter wzrostu, obecność atypii komórkowej oraz stopień naciekania ściany pęcherza moczowego, które uważano za czynniki rokowniczo istotne, skorelowane z takimi parametrami klinicznymi, jak ryzyko powstania przerzutów oraz czas przeżycia. Jednak istnieją doniesienia wskazujące na konieczność opracowania nowych systemów klasyfikacji, które w większym stopniu korelowałyby z zachowaniem biologicznym guzów oraz reakcją na zastosowane leczenie (1, 13). W medycynie onkologii urologicznej podstawą klasyfikacji rozrostowych zmian obejmujących urotelium jest badanie histopatologiczne, które pozwala na podjęcie decyzji odnośnie do sposobu postępowania z chorym pacjentem oraz pomaga określić rokowanie (13).

Na przestrzeni ostatnich lat klasyfikacja nowotworów z nabłonka przejściowego

(nowotworów przejściowokomórkowych) u ludzi uległa znacznej ewolucji, obecnie bazuje ona głównie na klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia i Międzynarodowego Towarzystwa Patologii Urologicznej – (WHO/ISUP) z 1998 r., która została uaktualniona w 2004 r. (14). Obecnie prowadzone są badania, które oceniają zastosowanie tej klasyfikacji także u pacjentów weterynaryjnych, głównie psów, ponieważ powszechnie akceptowana jest hipoteza, że zmiany nowotworu pęcherza moczowego u ludzi i psów wykazują liczne podobieństwa do morfologii, zachowania biologicznego czy odpowiedzi na chemioterapię (4, 15). Przeprowadzone badania wykazują pełną korelację odnośnie do aspektów morfologicznych pomiędzy rozrostami urotelium u ludzi i psów, jednak brak jest danych dotyczących rokowniczego zastosowania tej klasyfikacji histologicznej (Patrick 2006). Według tej klasyfikacji zmiany rozrostowe dzieli się na zmiany płaskie, zmiany brodawczakowate i niebrodawczakowate raki inwazyjne (14, 16)

Zmiany płaskie

Do zmian płaskich zalicza się rozrost nabłonka przejściowego pęcherza moczowego, atypowe zmiany reaktywne, atypowe zmiany nieznanego tła, zmiany dysplastyczne oraz raka śródnabłonkowego *in situ*. Jako rozrost nabłonka przejściowego określa się te przypadki, w których dochodzi do znacznego zgrubienia nabłonka, przy jednoczesnym braku atypii komórkowej, bez względu na liczbę warstw nabłonka (w przeszłości za graniczną wartość uważano 7 warstw komórek; **ryc. 9**). Zmiany o charakterze rozrostowym są częstą konsekwencją przewlekłego zapalenia lub drażnienia nabłonka np. przez kamienie moczowe. Atypię odczynową

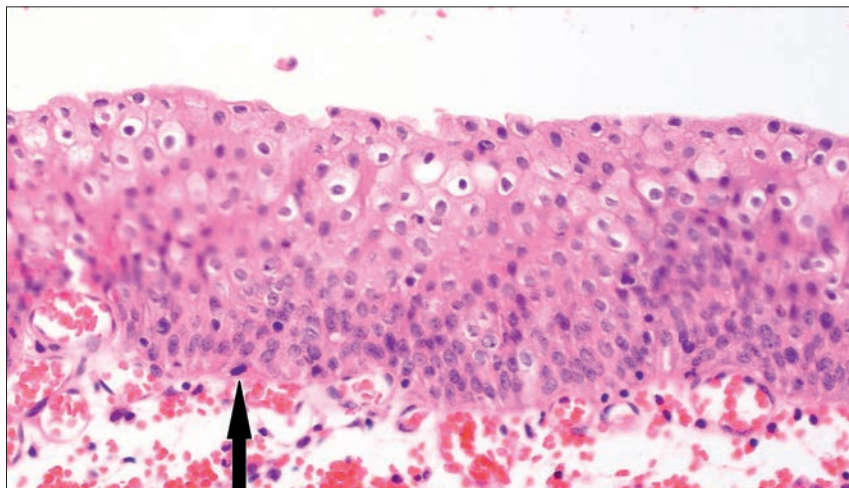
rozpoznaje się w przypadkach, gdy zmianom strukturalnym komórek nabłonka (jedolite powiększenie jąder komórkowych, z wyraźnymi centralnie położonymi jąderkami) towarzyszy obecność figur mitotycznych w niższych warstwach nabłonka oraz komórkowy naciek zapalny w warstwie podnabłonkowej. Ten typ reakcji jest najczęściej konsekwencją ostrego lub przewlekłego stanu zapalnego, cewnikowania lub dopęcherzowego stosowania leków (14). W obrazie mikroskopowym dysplazji nabłonka przejściowego (zmiany śródnabłonkowe o niskiej złośliwości) obserwuje się oprócz zmian dotyczących struktury samych komórek (nieregularne powiększenie jąder komórkowych, z hiperchromazją ich chaotycznym układem oraz pleomorfizmem komórkowym) także zaburzenie ich układu oraz obecność figur mitotycznych w wyższych warstwach nabłonka. Niestety, nie istnieją precyzyjne kryteria, które pozwalają na jednoznaczne odróżnianie dysplazji nabłonka o niespecyficznych zmian atypowych bez nowotworzenia, jak i od nowotworów (w tym raka *in situ* o niskiej złośliwości). Co więcej, u ludzi kilkanaście procent przypadków dysplazji nabłonka pęcherza moczowego oraz powyżej 30% przypadków niespecyficznych zmian atypowych ulega progresji w kierunku raka nabłonka przejściowego. Rak *in situ* nabłonka przejściowego (zmiany śródnabłonkowe o wysokiej złośliwości) w aktualnej klasyfikacji obejmuje też przypadki, które w poprzednich systemach zaliczono do dysplazji o umiarkowanym i ciężkim nasileniu, jest uznawany za zmianę na podłożu, w której dochodzi do progresji w kierunku raka pełnowazyjnego (14). Histologicznie stwierdza się w tych przypadkach chaotyczny układ pleomorficznych jąder komórkowych z hiperchromazją, które piętrzą się na siebie,

wręcz tworzą skupiska. W jądrach komórek nowotworu obserwuje się wyraźne, pojedyncze lub mnogie jąderka. Zmiany obejmują całą grubość nabłonka, jednak nie naciekają błony podstawnej, niekiedy obserwuje się jedynie jedną warstwę komórek przylegających do nieuszkodzonej błony podstawnej. Atypia komórkowa może być różnie wyrażona, jednak wysoki stosunek jądro-cytoplazmatyczny nie zawsze jest obecny.

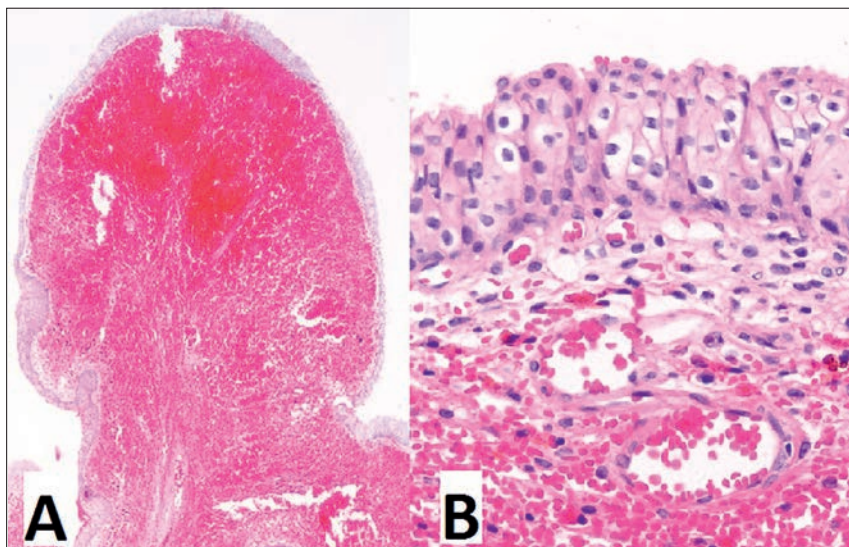
Zmiany brodawkowate

Zmiany brodawkowate (tworzą wystające ponad powierzchnię błony śluzowej wyrośla, które posiadają unaczyniony, łącznotkankowy zrąb) wywodzące się z nabłonka przejściowego pęcherza moczowego mogą mieć zarówno charakter nienowotworowych (rozrost brodawkowaty nabłonka), jak i nowotworowy (włączając w to zmiany niezłośliwe – brodawczaki, zmiany złośliwe – raki o niskim potencjale złośliwości, raki o niskiej złośliwości i raki o wysokiej złośliwości). Brodawczaki nabłonka przejściowego mają charakter zmian egzofitycznych, w których bogato unaczyniony łącznotkankowy zrąb (tworzący coś na kształt łodyżki lub trzonu) jest pokryty nabłonkiem o morfologii identycznej z prawidłowym nabłonkiem przejściowym pęcherza moczowego (bez cech atypii komórkowej), bez względu na liczbę jego warstw (ryc. 10; 14), chociaż niektóre źródła podają, że warstw w nabłonku brodawczaka powinno być mniej niż 6 (1). Brodawczaki odwrócone nabłonka przejściowego pęcherza moczowego makroskopowo także charakteryzują się obecnością zmiany egzofitycznej, jednak nabłonek nie pokrywa wyrośli łącznotkankowych, ale rozrasta się w obrębie błony śluzowej, tworząc łączące się ze sobą beleczki lub struktury przypominające cewki (ryc. 11).

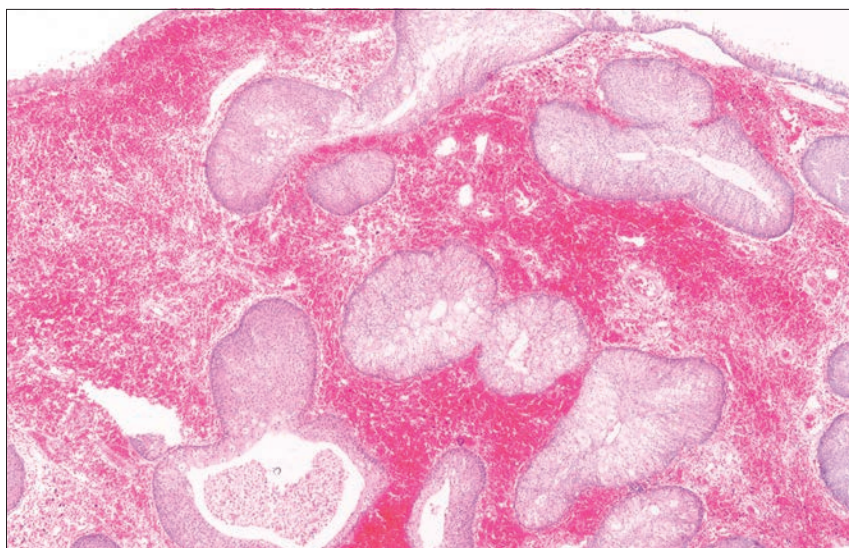
W związku z faktem, że część zmian rozrostowych nabłonka pęcherza moczowego nie wykazuje jednoznacznych cech, które pozwalają na ich zakwalifikowanie jako zmiany niezłośliwe (brodawczaki) lub złośliwe (raki), utworzono grupę rozrostów określanych mianem nowotworów z nabłonka przejściowego o niskim potencjale złośliwości. Rozrost ten charakteryzuje się miernie wyrażonymi zmianami cytoarchitektonicznymi (monotonne jądra komórkowe, bez cech atypii komórkowej, hiperchromazji), niskim indeksem mitotycznym (o ile mitozy są widoczne, to obecne są jedynie w dolnych warstwach nabłonka), jednak widoczne jest wyraźne zgrubienie nabłonka. Brodawczakowate raki nabłonka przejściowego o niskim stopniu złośliwości są utworzone z nabłonka, w którym układ komórek jest stosunkowo uporządkowany, jednak jądra komórkowe



Ryc. 9. Obraz histologiczny wskazujący na rozrost nabłonka przejściowego pęcherza moczowego – widoczne poszerzenie nabłonka, przy zachowaniu zarówno prawidłowego układu, jak i budowy samych komórek – strzałką oznaczono figurę mitotyczną. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 100×



Ryc. 10. Obraz histologiczny brodawczaka nabłonka przejściowego pęcherza moczowego. Na rycinie A (powiększenie 10×) widoczny brodawkowaty/grzybiasty twór utworzony z bogato unaczynionego zrębu łącznotkankowego, który pokryty jest nabłonkiem przejściowym. Na rycinie B (powiększenie 200×) widoczny nabłonek pokrywający łącznotkankowy zrąb bogaty w naczynia krwionośne, a w samym nabłonku nie widać cech atypii komórkowej. Barwienie hematoksylina-eozyna



Ryc. 11. Obraz histologiczny brodawczaka odwróconego nabłonka przejściowego pęcherza moczowego. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 100×

są często powiększone, chociaż nie wykazują znacznego pleomorfizmu ani anizokaryozy. Dodatkowo, jąderka nie są wyraźne, a figury mitotyczne są zazwyczaj obecne jedynie w niższych warstwach nabłonka (14), według Sledge i wsp. (1) liczba warstw nabłonka w takich przypadkach powinna być większa niż 6.

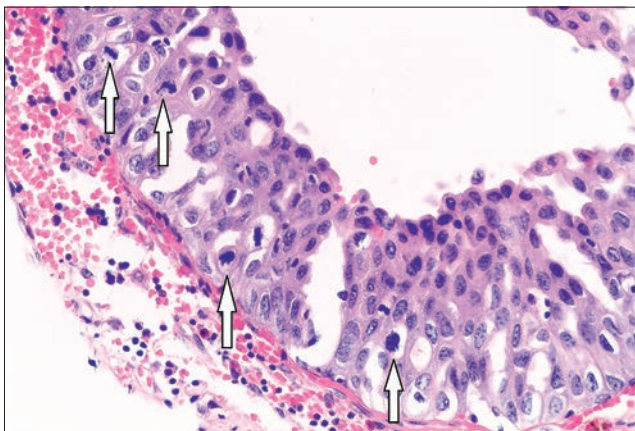
Inwazyjne raki niebrodawczakowate

Inwazyjne raki z nabłonka przejściowego makroskopowo mają charakter zmian polipowatych, grzybiastych, uszypułowanych, a także zmian naciekowych i zmian o charakterze „owrzodzenia” (16). Nabłonek wykazuje cechy znacznej dezorganizacji architektonicznej, z tendencją do złuszczenia się, dlatego możliwe jest jego zgrubienie, ale także znaczne ścieńczenie. Zarówno komórki, jak i jądra komórkowe wykazują umiarkowaną lub znaczną atypię, jądra są pleomorficzne, hiperchromatyczne, chromatyna jądrowa często zbita w grudki, jąderka są wyraźne i mogą być mnogie (ryc. 12 i 13). Figury mitotyczne

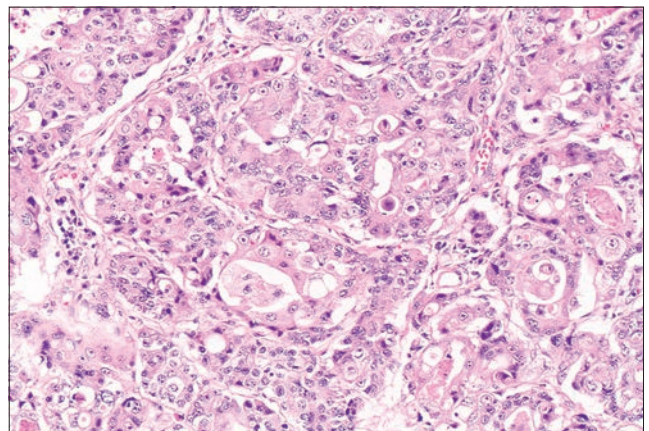
mogą być liczne oraz, co typowe, są obecne we wszystkich warstwach nabłonka nowotworowego. Chociaż w niektórych przypadkach mięsz nowotworu może nie wykazywać wyraźnych cech atypii komórkowej, częściej jednak jego komórki są wyraźnie atypowe, duże, z umiarkowanie obfitą lub obfitą kwasochłonną cytoplazmą. Komórki nowotworowe najczęściej tworzą gniazda, sznury, wyspy, które wstępują we wszystkie warstwy ściany pęcherza moczowego (ryc. 14), a w wielu przypadkach rozrostowi nowotworowemu towarzyszy reakcja desmoplastyczna zrębu (znacznego stopnia rozrost tkanki łącznej włóknistej), naciek komórek zapalnych, który w niektórych przypadkach może całkowicie przesłaniać komórki mięszu guza (16). Typową cechą raków inwazyjnych jest naciekanie (inwazja) naczyń chłonnych i krwionośnych (ryc. 15), które niekiedy ma bardzo duże nasilenie. W obrębie inwazyjnych raków nabłonka przejściowego (tak jak w przypadku wielu innych typów nowotworów) wyróżnia się wiele wariantów – czyli specyficznych

form histomorfologicznych, w których komórki nowotworowe tworzą specyficzne twory przestrzenne (16). W uropatologii medycznej istnieje kilkanaście takich wariantów, wśród których najpowszechniej rozpoznaje się: raki z różnicowaniem płaskonabłonkowym, raki z różnicowaniem gruczolowym, raki mikrobrodawkowe, raki z komórek jasnych, a także raki niezróżnicowane. W patologii weterynaryjnej takiej dodatkowej klasyfikacji jak dotąd nie opracowano.

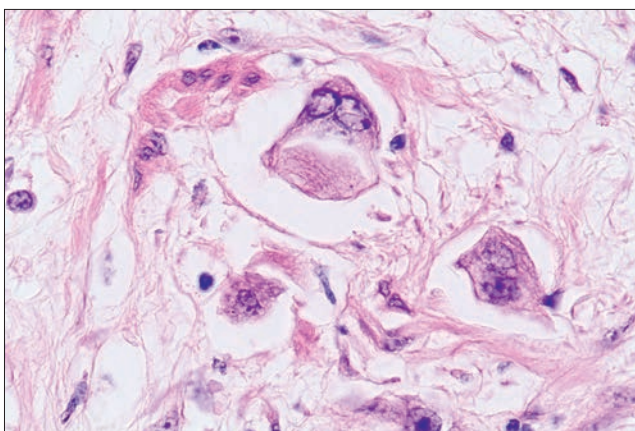
W modyfikacji klasyfikacji WHO/ISUP raki przejściowokomórkowe objęte są w jedną grupę raków brodawkowatych (papillary carcinoma) i subklasyfikowane na podstawie stopnia naciekania ściany pęcherza moczowego oraz liczby i umiejscowienia figur mitotycznych (1). W I stopniu złośliwości figury mitotyczne są rzadkie i ograniczone do warstwy podstawnej urotelium, a sam guz rozrasta się w obrębie błony śluzowej właściwej. W stopniu II obserwuje się naciekanie błony podśluzowej (ten stopień rozpoznaje się najczęściej – 94% raków przejściowokomórkowych



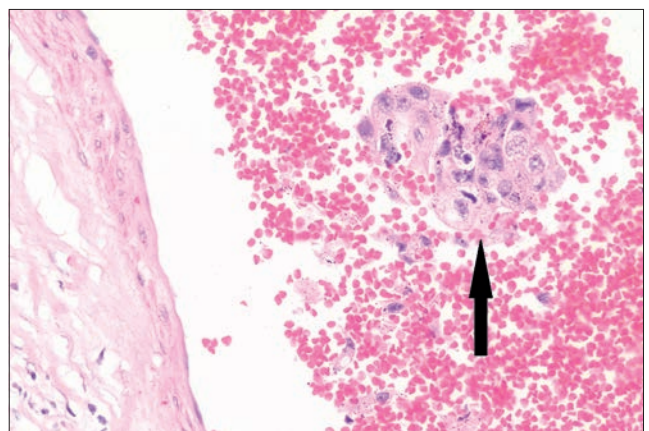
Ryc. 12. Obraz histologiczny raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego. W tym przypadku nowotwór utworzony jest z cienkiego kilkuwarstwowego nowotworowego nabłonka, którego komórki wykazują cechy umiarkowanej złośliwości, uwagę zwraca jednak duża liczba figur mitotycznych (strzałki). Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 200×



Ryc. 13. Obraz histologiczny raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego. W tym przypadku komórki nowotworowe wykazują znaczny pleomorfizm i cechy złośliwości. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 100×



Ryc. 14. Obraz histologiczny raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego – widoczne komórki nowotworowe naciekające błonę podśluzową. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 400×



Ryc. 15. Obraz histologiczny raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego – widoczne skupisko komórek nowotworowych w świetle naczynia krwionośnego. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 200×

u psów), komórki wykazują umiarkowaną atypię, a figury mitotyczne są nieliczne lub dość liczne i obecne we wszystkich warstwach nabłonka nowotworowego. Stopień III (około 40% raków przejściowokomórkowych u psów) charakteryzuje się naciekaniem blaszki mięśniowej błony śluzowej, znaczną atypią komórkową oraz obecnością licznych figur mitotycznych obecnych we wszystkich warstwach nowotworowego urotelium (1).

Kluczowa dla uzyskania pełnego opisu w badaniu histopatologicznym jest jakość przesłanej próbki. Z reguły próbki pobrane w trakcie zabiegu chirurgicznego mają wystarczającą wielkość i umożliwiają ocenę wszystkich wymienionych wyżej cech. W wielu przypadkach materiał do badania histopatologicznego pobierany jest w trakcie badania cystoskopowego, a próbka uzyskana tą drogą jest niewielka i zawiera tylko warstwy powierzchowne guza, w których widoczny jest jedynie miąższ nowotworu. Problem ten jest szczególnie istotny przy pobieraniu materiału tkankowego drogą cystoskopii u psów samców, co wynika z faktu, że stosuje się u nich cystoskopy o mniejszej średnicy niż u samic. W jednym z badań, w których pobierano wycinek guza drogą cystoskopii, udało się uzyskać rozpoznanie TCC u odpowiednio, 96% oraz 65% badanych samic i samców (17). Szansę na uzyskanie bardziej reprezentatywnej próbki (a tym samym większą szansę uzyskania rozpoznania) można zwiększyć, wykorzystując do jej pobrania druciane koszycki stosowane do usuwania kamieni moczowych, a także poprzez umieszczenie pobranych wycinków bezpośrednio w kasetce histologicznej (co zapobiega zagubieniu się małego obkurczonego wycinka w pojemniku z utrwalaczem; 17).

Jednocześnie sugerowano też, że w takich przypadkach nowotwory o niskim potencjale złośliwości u psów należy zaliczać do grupy raków przejściowokomórkowych I stopnia złośliwości (4). Co więcej, z uwagi na fakt, że u psów większość rozpoznawanych TCC należy do grupy guzów o wysokiej złośliwości, a ponadto istnieją pewne rozbieżności w ocenie stopnia złośliwości tych guzów pomiędzy różnymi patologami, zaproponowano uproszczony system klasyfikacji raków przejściowokomórkowych u psów. Mianowicie, na podstawie nasilenia atypii komórkowej oraz organizacji komórek nowotworowych raki przejściowokomórkowe u psów dzieli się na dwa stopnie złośliwości: o niskiej złośliwości i o wysokiej złośliwości (4). Raki przejściowokomórkowe o niskiej złośliwości charakteryzują się jedynie minimalną atypią komórkową/jądrową lub ogniskowym jej występowaniem w obrębie komórek miąższu guza. Figury mitotyczne są rzadkie i mogą być obecne na całej

Tabela 1. Podsumowanie systemów klasyfikacji raków przejściowokomórkowych u psów

Klasyfikacja WHO/ISUP (Grignon 2009)	
Zmiany płaskie nabłonka przejściowokomórkowego	<ul style="list-style-type: none"> - rozrost nabłonka - atypia odczynowa - dysplazja nabłonka - raki <i>in situ</i>
Zmiany brodawkowate nabłonka przejściowokomórkowego	<ul style="list-style-type: none"> - brodawczaki - brodawczaki odwrócone - nowotwory przejściowokomórkowe o niskim potencjale przerzutowania - brodawczakowate raki o niskiej złośliwości
Inwazyjne raki niebrodawczakowate	<ul style="list-style-type: none"> - raki I stopnia złośliwości - raki II stopnia złośliwości - raki III stopnia złośliwości
Zmodyfikowana klasyfikacja WHO/ISUP (Sludge i wsp. 2014)	
Zmiany nienowotworowe nabłonka przejściowokomórkowego	<ul style="list-style-type: none"> - polipy i zapalenie polipowate
Nowotwory nabłonka przejściowokomórkowego	<ul style="list-style-type: none"> - brodawczaki - nowotwory przejściowokomórkowe o niskim potencjale przerzutowania
Raki brodawkowate nabłonka przejściowokomórkowego	<ul style="list-style-type: none"> - raki I stopnia złośliwości - raki II stopnia złośliwości - raki III stopnia złośliwości
Klasyfikacja uproszczona raków przejściowonabłonkowych określona na podstawie badania małych próbek biopsyjnych (Knapp i wsp. 2014)	
Raki o niskiej złośliwości	<ul style="list-style-type: none"> - atypia komórkowa/jądrowa minimalnie wyrażona lub widoczna jedynie ogniskowo - mitozy rzadkie i obecne we wszystkich warstwach nabłonka nowotworowego
Raki o wysokiej złośliwości	<ul style="list-style-type: none"> - wyraźne zaburzenie architektury nabłonka - wyraźna atypia komórkowa/jądrowa - liczne figury mitotyczne obecne we wszystkich warstwach nabłonka nowotworowego

grubości nowotworowego nabłonka. Raki przejściowokomórkowe o wysokiej złośliwości cechuje znaczna dezorganizacja układu komórek nowotworowych, atypia komórkowa/jądrowa jest wyraźna, a figury mitotyczne są liczne (4).

Podsumowanie metod histologicznej klasyfikacji zmian rozrostowych pęcherza moczowego u psów zebrano w tabeli 1.

Badanie histopatologiczne może być pomocne w określeniu ryzyka powstania przerzutów, bowiem naciekowy wzrost nowotworu bez struktury brodawkowatej, głębokie naciekanie ściany pęcherza moczowego, naciekanie naczyń krwionośnych i chłonnych, a także obecność włókien na obrzeżach nowotworu obserwuje się często w tych przypadkach TCC, w których stwierdzono przerzuty. Z kolei w przypadkach, gdy nowotwór wykazuje wzrost brodawkowaty, histologicznie jest rakiem *in situ* lub o niskiej złośliwości, a na obrzeżach zmiany obserwuje się odczynową reakcję zapalną; proces jest najczęściej zlokalizowany – przerzutów się nie stwierdza.

Wysoka wartość indeksów mitotycznych (IM) była w jednym z badań uznana za czynnik rokowniczo niekorzystny w rakach przejściowokomórkowych u ludzi,

jednak badanie przeprowadzone na grupie psów z TCC nie wykazało takiej zależności (3). W badaniu tym wykazano wprawdzie, że wartość indeksów mitotycznych była zdecydowanie wyższa w przypadku raków zlokalizowanych w okolicy trójkąta pęcherza moczowego (czyli tych rokujących najgorzej), w porównaniu do zmian o innej lokalizacji, jednak nie było związku pomiędzy wartością indeksu mitotycznego a okresem przeżycia psów po zabiegu resekcji TCC (3).

Barwienie immunohistochemiczne

Markerami, które mogą być stosowane w ocenie zróżnicowania nowotworów pęcherza moczowego u psów, mogą być uroplakina III (występująca w warstwach powierzchownych nabłonka przejściowego) oraz cytokeratyna 7 (występująca w wielu narządowo specyficznych nabłonkach, w tym nabłonku przejściowym pęcherza moczowego; 1). Dodatkowo ekspresja tych markerów miała różne rozmieszczenie w zależności od typu zmian, przykładowo w zmianach nienowotworowych była ograniczona do warstw powierzchownych, w nowotworach niezłośliwych lub o niskim potencjale złośliwości stwierdzana

była w obrębie całego nabłonka nowotworowego, zaś w rakach przejściowokomórkowych brodawczakowatych komórki wykazujące immunоекспресję uroplakiny III i cytokeratyny była rozmieszczona nieregularnie lub też immunоекспресja była nieobecna w rakach o najwyższej złośliwości (1). Autorzy tych badań sugerują także, że utrata ekspresji uroplakiny III i cytokeratyny 7 może się wiązać ze zmianą fenotypu komórek, brakiem zróżnicowania oraz bardziej inwazyjnym charakterem wzrostu guza. Fakt ten może być pomocny w prognozowaniu przebiegu procesu nowotworowego, jednak może utrudniać rozpoznanie nowotworu, w przypadku gdy do badania pobrano niewielki wycinek tkanek guza (1). Obecność uroplakiny III jest też wykrywana w obrębie ognisk przerzutowych raka przejściowokomórkowego, także tych, które powstają w czasie rozsiewu w trakcie terapeutycznych i diagnostycznych zabiegów wykonywanych u psów (5).

Piśmiennictwo

- Sledge D.G., Patrick D.J., Fitzgerald S.D., Xie Y., Kiupel M.: Differences in expression of uroplakin III, cytokeratin 7, and cyclooxygenase-2 in canine proliferative urothelial lesions of the urinary bladder. *Vet. Pathol.* 2014, doi: 10.1177/0300985814522819.
- Sapierzyński R., Malicka E., Bielski W., Krawiec M., Osńska B., Sendecka H., Sobczak-Filipiak M.: Tumors of the urogenital system in dogs and cats. Retrospective review of 138 cases. *Pol. J. Vet. Sci.* 2007, **10**, 97–103.
- Hanazono K., Fukumoto S., Endo Y., Ueno H., Kadosawa T., Uchida T.: Ultrasonographic findings related to prognosis in canine transitional cell carcinoma. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 2014, **55**, 79–84.
- Knapp D.W., Ramos-Vara J.A., Moore G.E., Dhawan D., Bonney P.L., Young K.E.: Urinary bladder cancer in dogs, a naturally occurring model for cancer biology and drug development. *ILAR J.* 2015, **55**, 100–118.
- Higuchi T., Burcham G.N., Childress M.O., Rohleder J.J., Bonney P.L., Ramos-Vara J.A., Knapp D.W.: Characterization and treatment of transitional cell carcinoma of the abdominal wall in dogs: 24 cases (1985–2010). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2013, **242**, 499–506.
- Grzegory M., Kubiak K., Jankowski M., Spużak J., Glińska-Suchocka K., Haloń A., Dzimira S.: Rak brodawkowy z nabłonka przejściowego pęcherza moczowego u psa – opis przypadku. *Życie Wet.* 2011, **86**, 895–898.
- Borjesson D.L., Christopher M.M., Ling G.V.: Detection of canine transitional cell carcinoma using a bladder tumor antigen urine dipstick test. *Vet. Clin. Pathol.* 1999, **28**, 33–38.
- Billet J.P., Moore A.H., Holt P.E.: Evaluation of a bladder tumor antigen test for the diagnosis of lower urinary tract malignancies in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 2002, **63**, 370–373.
- Henry C.J., Tyler J.W., McEntee M.C., Stokol T., Rogers K.S., Chun R., Garrett L.D., McCaw D.L., Higginbotham M.L., Flessland K.A., Stokes P.K.: Evaluation of a bladder tumor antigen test as a screening test for transitional cell carcinoma of the lower urinary tract in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 2003, **64**, 1017–1020.
- Bracha S., McNamara M., Hilgart I., Milovancev M., Medlock J., Goodall C., Wickramasekara S., Meier C.S.: A multiplex biomarker approach for the diagnosis of transitional cell carcinoma from canine urine. *Anal. Biochem.* 2014, **455**, 41–47.
- Norris A.M., Laing E.J., Valli V.E., Withrow S.J., Macy D.W., Ogilvie G.K., Tomlinson J., McCaw D., Pidgeon G., Jacobs R.M.: Canine bladder and urethral tumors: a retrospective study of 115 cases (1980–1985). *J. Vet. Intern. Med.* 1992, **6**, 145–153.
- Konety B.R.: Molecular markers in bladder cancer: a critical appraisal. *Urol. Oncol. Sem Orig. Invest.* 2006, **24**, 326–337.
- Rocha T.A., Mauldin G.N., Patnaik A.K.: Prognostic factors in dogs with urinary bladder carcinoma. *J. Vet. Intern. Med.* 2000, **14**, 486–490.
- Grinon D.J.: The current classification of urothelial neoplasms. *Modern Pathol.* 2009, **22**, S60–S69.
- Patrick D.J., Fitzgerald S.D., Sesterhenn I.A.: Classification of canine urinary bladder urothelial tumours based on the World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification. *J. Comp. Pathol.* 2006, **135**, 190–199.
- Amin M.B.: Histological variants of urothelial carcinoma: diagnostic, therapeutic and prognostic implications. *Modern Pathol.* 2009, **22**, S96–S118.
- Childress M.O., Adams L.G., Ramos-Vara J.A., Freeman L.J., He S., Constable P.D., Knapp D.W.: Results of biopsy via transurethral cystoscopy and cystotomy for diagnosis of transitional cell carcinoma of the urinary bladder and urethra in dogs: 92 cases (2003–2008). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2011, **239**, 350–356.

Dr hab. Rafał Sapierzyński, prof. nadzw. SGGW,
e-mail: sapieh@wp.pl