

Margareta Strojjan Fležar<sup>1</sup>

# Citopatološka diagnostika raka sečnega mehurja v urinu in izpirku iz sečnega mehurja

*Cytopathologic Diagnosis of Bladder Cancer in Urine and Bladder Washings*

---

## IZVLEČEK

**KLJUČNE BESEDE:** sečni mehur, novotvorbe, patologija, urinska citodiagnostika

Citopatološka preiskava urina in izpirka sečnega mehurja je enostavna metoda za diagnostiko primarnega karcinoma sečnega mehurja pri bolnikih s hematurijo in drugimi simptomi obolenja uropoetskega trakta. Pomembna je tudi za spremljanje bolnikov po zdravljenju z namenom odkrivanja morebitnih ponovitev bolezni, ki so pri bolnikih z rakom sečnega mehurja razmeroma pogoste. S citopatološko preiskavo zanesljivo prepoznamo urotelijske karcinome visokega gradusa, metoda pa je manj uporabna za prepoznavo urotelijskih karcinomov nizkega gradusa. Zanesljivo prepoznamo celice z jasno izraženimi znaki malignosti tudi pri intraepitelijskem urotelijskem karcinomu, ne moremo pa točno opredeliti, ali je karcinom invaziven. K boljšim rezultatom citopatološke preiskave pomembno prispeva pravilen odvzem in prenos vzorca urina ali izpirka, ki naj mu sledi standardizirana obdelava vzorcev v citopatološkem laboratoriju. V zadnjem desetletju se pojavljajo nove dodatne metode, ki naj bi izboljšale citopatološko prepoznavo raka sečnega mehurja v dvomljivih primerih. Med novimi metodami največ obeta test *UroVysion*, pri katerem z metodo fluorescenčne *in situ* hibridizacije ugotavljamo citogenetske spremembe, ki so značilne za urotelijske karcinome različnih gradusov.

---

## ABSTRACT

**KEY WORDS:** bladder neoplasms, pathology, urine cytodiagnosis

The cytopathologic examination of urine and bladder washings is a simple method for the detection of primary bladder cancer in symptomatic patients or in patients with hematuria. This method is very useful for follow-up of patients after treatment in order to detect recurrence of bladder cancer, which occurs in a significant percentage of patients. Cytopathologic examination is very reliable for the diagnosis of high grade urothelial carcinoma, but it is less useful for the detection of low grade urothelial neoplasms. Cells with obvious morphological signs of malignancy can be reliably recognised as such also in the case of intraepithelial urothelial carcinoma. However, as isolated malignant cells are involved, they cannot be reliably assessed concerning their invasive potential. The proper handling and transport of urine or bladder washings, as well as standardised procedures in the cytopathology laboratory, are very important to achieve the best possible results of cytopathologic examination. In the last decade, several new methods have also emerged in attempt to improve the cytopathologic examination of bladder cancer in doubtful cases. Among these, the *UroVysion* test is the most promising one. By using the method of fluorescent *in situ* hybridisation, this test can detect several cytogenetic changes characteristic of bladder cancer of various grades.

---

<sup>1</sup> Doc. dr. Margareta Strojjan Fležar, dr. med., Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova 2, 1000 Ljubljana; margareta.strojjan-flezar@mf.uni-lj.si

## UVOD

Svetlobnomikroskopska preiskava celic v urinu in drugih celičnih vzorcev iz votlega sistema urinarnega trakta je enostavna, še vedno uporabna in poceni diagnostična metoda (1-3). Najpogostejša klinična napotna diagnoza, ki spremlja tovrstne celične vzorce, je hematURIJA, bodisi mikro- ali makroskopska. Ta je lahko prvi znak primarnega tumorja v sečnem mehurju, redkeje pa tumorja v zgornjem delu votlega sistema sečne poti (4-6). Druga najpogostejša napotna diagnoza je predhodni, že zdravljene tumor sečnega mehurja (1). Tumorji sečnega mehurja se namreč pogosto ponavljajo, lahko pa napredujejo v agresivnejšo obliko bolezni (7).

Pregled urina je eden izmed najstarejših medicinskih diagnostičnih postopkov. Iz Kahunovega papirusa, ki je nastal okoli leta 1900 pr. n. št., je razvidno, da so že stari Egipčani vedeli, da je krvav urin lahko znak raka sečnega mehurja, ki ga je v tistem delu sveta povzročala (in ga še vedno) *Schistosoma haematobium* (1, 8). Začetek svetlobnomikroskopskega pregleda celic iz urina je zabeležen leta 1856, ko je Lamb, češki zdravnik, uporabil mikroskop za pregled sedimenta urina (1, 8).

V sodobni medicini od diagnostične metode pričakujemo, da zagotovi čim hitrejšo diagnozo patološkega procesa. Izvide citopatološke preiskave urina ali izpirka iz mehurja kliniki lahko dobijo v 1 do 2 dneh. Citopatološki pregled celic iz urina ali izpirka iz sečnega mehurja ima določene prednosti, a tudi omejitve. S citopatološko preiskavo zelo zanesljivo prepoznamo predvsem urotelijske karcinome visoke stopnje malignosti (visokega gradusa) in intraepitelijske karcinome (lat. *carcinoma in situ*, CIS), ki imajo jasno izražene celične in jedrne znake malignosti (1, 9, 10). Nasprotno pa s to preiskavo ne moremo zanesljivo opredeliti celic papilarnega urotelijskega karcinoma nizke stopnje malignosti (nizkega gradusa), ker so pri teh neoplazmah celični in jedrni znaki malignosti slabo izraženi (1, 10, 11). Dodatna težava je, da iz celičnega vzorca ne moremo opredeliti izvora malignih celic. Maligne celice s povsem enako morfološko sliko v urinu lahko izvirajo iz katerega koli dela votlega sistema sečne poti,

kar kliniku pri iskanju primarnega tumorja lahko povzroči diagnostične zadrege.

Citopatološka preiskava urina je pomembna metoda za spremljanje bolnikov po zdravljenju raka sečnega mehurja in drugih delov votlega sistema urinarnega trakta (1). S pregledovanjem celic v vzorcih urina ali izpirkov iz sečnega mehurja skušamo pravočasno odkriti ponovitev bolezni ali morebitni nov primarni tumor, posredno pa lahko na ta način ocenjujemo tudi učinek zdravljenja.

Izjemoma citopatološko preiskavo urina uporabljamo v sekundarni preventivi delavcev, pri katerih je zaradi izpostavljenosti kemičnim kancerogenim snovem stopnja tveganja za nastanek raka v sečnem mehurju visoka (1).

## CELIČNI VZORCI IZ SEČNEGA MEHURJA IN VOTLEGA SISTEMA SEČNE POTI: PRIPRAVA ZA SVETLOBNOMIKROSKOPSKI PREGLED

Najpogostejši vzorci, ki jih kliniki pošljejo v citopatološko preiskavo, so spontano izločeni urin in izpirki iz sečnega mehurja. Občasno dobimo v preiskavo urin, selektivno odvzet iz sečevoda ali ledvičnega meha, pa tudi vzorce urina iz katetra ali nefrostome.

Pri spontano izločenem urinu moramo vedeti, da je v jutranjem urinu največ odluščanih celic. Ker te niso več del epitelijskega, ki štiti, so izpostavljene kislemu pH urina in drugim organskim snovem. Urin zaradi tega ni izotoničen, kar pospeši propadanje odluščanih celic (2). Morfološko so te slabo ohranjene in niso primerne za citopatološko preiskavo. Zato je priporočljivo, da v preiskavo pošljemo drug jutranji urin. Ker se celice v urinu neenakomerno luščijo z urotelija, ki prekriva steno sečnega mehurja, priporočamo pregled vzorcev urina treh zaporednih dni (2). Bolnike moramo poučiti, kako pravilno zberejo urin v poseben urinski lonček (slika 1). Spolovilo mora biti pred odvzemom čisto, sicer curek urina spere odluščene odmrle celice plošča tega epitelijskega in bakterije s površine telesa. Pri ženskah je urinu lahko primešana še sluz izločkov iz nožnice. Citopatološka preiskava takšnega vzorca je manj zanesljiva, saj so urotelijske celice slabo pregledne ali pa so povsem

**Spontan urin:**

- Bolnik očisti spolovilo, nato pa srednji curek drugega jutranjega urina ujame v urinski lonček in ga dobro zapre.
- Za citopatološko preiskavo potrebujemo 50–120 ml urina.
- Vzorci naj bi bili dostavljeni v laboratorij v največ treh urah po odvzemu.
- Če to ni mogoče, jih prefiksiramo: dolijemo enak volumen 50 % etanola s polietilenglikolom (angl. *carbobox*).

**Izpirek iz sečnega mehurja:**

- Za pripravo izpirka mehurja priporočamo uporabo fiziološke raztopine, ki optimalno ohrani morfologijo celic.
- Za preiskavo potrebujemo 50–120 ml vzorca.
- Vzorci naj bi bili dostavljeni v laboratorij v največ treh urah po odvzemu.
- Če to ni mogoče, jih prefiksiramo: dolijemo enak volumen 50 % etanola s polietilenglikolom (angl. *carbobox*).

Vsak vzorec mora spremljati ustrezna **napotnica za citopatološko preiskavo** z naslednjimi podatki:

- ime in priimek bolnika,
- datum rojstva,
- naslov stalnega prebivališča bolnika,
- naročnik (ime oddelka in zdravnika),
- datum in ura odvzema vzorca,
- vrsta vzorca (spontan urin, izpirek mehurja, urin iz katetra, drugo) in
- klinični podatki.

**Na posodi z vzorcem mora biti napisano IME in PRIIMEK bolnika oziroma NALEPKA S PODATKI o bolniku.**

Slika 1. Navodila za odvzem in pošiljanje urina in izpirka iz sečnega mehurja za citopatološko preiskavo.

prekrite s celicami ploščatega epitelija, bakterijami, celičnim drobirjem in sluzjo.

Tako pridobljene tekočinske celične vzorce moramo po odvzemu čim prej, najkasneje pa v 3 urah, poslati v laboratorij (slika 1). Če takojšen prenos ni mogoč, lahko vzorce delno fiksiramo z dolivanjem mešanice 50 % etanola s polietilenglikolom (angl. *carbobox*). Dolijemo enak volumen mešanice, kot je urina v lončku.

Ker so celice v tekočinskih vzorcih močno razredčene, jih v laboratoriju zgoščujemo na različne načine (2, 12). Številni laboratoriji urinske vzorce in izpirke iz sečnega mehurja centrifugirajo, iz sedimenta, ki vsebuje zgoščene celice, pa naredijo direkten razmaz celic na objektno stekelce. V laboratoriju Inštituta za patologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani (IP MF UL) uporabljamo membransko filtracijo. Pri tej metodi celično suspenzijo s pomočjo podtlaka filtriramo skozi polikarbonatni ali celulozni membranski filter, ki ima 5 µm velike pore. Po filtraciji ostanejo na filtru celice, ki so večje od 5 µm (uro-

teljske celice). Filter s celicami nato obrnemo na objektnik, ga pokrijemo s papirnim filtrom in z rahlim pritiskom prenesemo celice s filtra na objektnik. Za fiksacijo celic, ki smo jih prenesli na objektnik, je najprimernejši fiksativ, ki vsebuje poleg etanola še polietilenglikol, ker ta poveča adhezijo celic na objektnik. Med novejšo in dražje tehnike priprave sodijo komercialno dostopne metode, ki se sicer uporabljajo za pripravo brisov materničnega vratu, vendar za zdaj ni prepričljivih dokazov, da izboljšajo rezultate citopatološke preiskave (13, 14). Tako pripravljene celične vzorce obarvamo z metodo po Papanicolaou (12).

## ZANESLJIVOST CITOPATOLOŠKE DIAGNOZE

Po Kossu je ocena točnosti citološke diagnoze v citologiji urina odvisna od pričakovanih opazovalca (1). Citološke diagnoze malignosti ne moremo postaviti, če s svetlobnomikroskopskim pregledom vzorca ne najdemo celic z morfološki znaki malignosti. Dobro dife-

rencirani (neinvazijski) papilarni tumorji (papilomi in papilarni tumorji nizkega gradusa) luščijo celice, ki nimajo prepričljivih celičnih in jedrnih atipij in jih zato s citopatološko preiskavo ne moremo prepoznati kot maligne. V literaturi navajajo pri tej vrsti tumorjev zelo različno diagnostično zanesljivost citopatološke preiskave, ki niha od 0 do 88%, najpogosteje pa navajajo zanesljivost od 25 do 40% (1, 10, 15).

Morfološko izrazitejša atipija je povezana z višjim gradusom tumorjev. Papilarne tumorje gradusa II in III pravilno ocenimo v 72% (1). Med papilarnimi tumorji najzanesljiveje ocenimo tumorje gradusa III, pri katerih je citopatološka diagnoza pravilna v 91% (1). Citopatološka diagnoza je najzanesljivejša (96%) v diagnostiki invazijskih urotelijskih karcinoma in intraepitelijskega karcinoma, s katerih se luščijo celice z značilnimi morfološkiimi znaki malignosti (1).

V citopatološkem izvidu se lahko pojavlja tudi diagnoza atipije urotelijskih celic, ki je ne moremo nadalje zanesljivo opredeliti. Atipija urotelijskih celic je lahko povezana s kamni v urinarnem traktu, z vnetnimi procesi, ali pa je posledica predhodnih diagnostičnih in/ali terapevtskih posegov (2). Ker spremembe na urotelijskih celicah niso dovolj značilne za proces, ki je spremembe sprožil, ga iz citološkega vzorca ne moremo natančneje opredeliti. Atipične celice pa ne nazadnje lahko pripadajo tudi papilarnemu tumorju nizkega gradusa, zato ga včasih ne moremo zanesljivo izključiti iz diagnoze.

## DODATNE DIAGNOSTIČNE METODE V CITOPATOLOGIJI UROTELIJSKIH TUMORJEV

Za izboljšanje neinvazivne diagnostike karcinoma sečnega mehurja potrebujemo ob standardni citopatološki preiskavi dodatne diagnostične metode. V literaturi obstajajo poročila o različnih novejših biokemičnih in molekularnih metodah, na primer test BTA (angl. *bladder tumor antigen*), test NMP-22, *Immunocyt* in druge, ki pa niso dovolj občutljive ali specifične, zato se niso uveljavile v rutinski diagnostiki (16). V Sloveniji imamo na področju dodatne citopatološke diagnostike urina in izpirkov iz sečnega mehurja izkušnje

na področju merjenja DNA-ploidije (Onkološki inštitut Ljubljana) (17). V zadnjih mesecih pa pridobivamo izkušnje s testom *UroVysion*, ki temelji na metodi fluorescenčne *in situ* hibridizacije (IP MF UL) (18).

## DNA-ploidija

V vzorcu urina ali izpirka iz sečnega mehurja lahko s slikovnim ali pretočnim citometrom izmerimo DNA-ploidijo, ki odraža celokupno količino DNA (celoten genetski material) v preiskovani celični populaciji (16). S pretočnim citometrom izmerimo količino DNA v velikem številu celic (> 10.000) v kratkem času (v nekaj minutah), vendar preiskovanih celic ne moremo videti, ker jih merimo v zaprtem sistemu, na koncu pa zavržemo. V množici izmerjenih signalov ne moremo razločiti klonov maloštevilnih aneuploidnih celic, ki morda pomembno prispevajo k biološkemu potencialu preiskovanega tumorja. Prav prepoznavanje majhnih aneuploidnih klonov in posamičnih celic z veliko količino DNA (> 5c DNA) je prednost analize DNA-ploidije s sodobnim slikovnim citometrom (19). 1c je enota za količino DNA, ki ustreza polovici povprečne jedrne količine DNA v normalni (nespremenjeni) diploidni populaciji celic v fazi G<sub>0</sub>G<sub>1</sub> celičnega ciklusa. Slikovni citometer omogoča vidni nadzor nad celicami s svetlobnim mikroskopom, ki je del sistema, celice pa so fiksirane na objektnem stekelcu. Zato lahko ločimo ohranjene celice z veliko količino DNA od artefaktov ali skupkov celic v višjih ploidnih območjih, kar pri pretočno citometričnih meritvah ni mogoče. Sodobni slikovni citometri so zaradi zmogljivejših računalnikov tudi hitrejši in omogočajo analizo več tisoč celic v kratkem času (19, 20).

Raziskave DNA-ploidije urotelijskih karcinoma so pokazale, da je večina neinvazivskih papilarnih karcinoma nizkega gradusa diploidnih, medtem ko so papilarni karcinomi gradusa II v polovici primerov diploidni, v drugi polovici pa aneuploidni (21). Urotelijski papilarni karcinomi gradusa III in CIS so praviloma aneuploidni (20). Če analiza DNA-ploidije pokaže diploiden vzorec (kar je enako količini DNA v normalnih celicah), potem ne razreši vprašanja, ali so v vzorcu maligne celice ali ne. V nekaterih primerih so potrdili, da DNA-ploidijo zanesljiveje opre-

delijo s slikovnim citometrom, ker ta omogoča razpoznavo majhnih klonov aneuploidnih celic, ki se pri merjenju s pretočnim citometrom izgubijo med množico diploidnih celic (19). Dejstvo pa je, da podobno kot citologija merjenje DNA-ploidije ne prispeva k zanesljivejši diagnostiki papilarnih urotelijskih neoplazem nizke stopnje malignosti oziroma karcinomov nizkega gradusa (1, 21).

### **Fluorescenčna *in situ* hibridizacija (FISH)**

Pri metodi fluorescenčne *in situ* hibridizacije (FISH) uporabljamo fluorescenčno označene DNA-sonde, ki prepoznavajo različne kromosomske spremembe v celicah, vključno z aneuplosomijo (spremenjeno število kopij kromosomov), duplikacijo, amplifikacijo, delecijo in translokacijo (22). Obstajata dva tipa sond: sonde, ki označujejo število kromosomov (angl. *chromosome enumeration probes*, CEP) in se vežejo na centromere kromosomov, ter za lokus specifični označevalci (angl. *locus specific indicator*, LSI). CEP sonde odkrivajo aneuplosomijo, LSI sonde pa duplikacijo, amplifikacijo ali delecijo določenih genov (22).

V celicah urotelijskega karcinoma so našli tipične citogenetske spremembe. Število večine kromosomov je bilo pomnoženo, našli pa so tudi delecije na predelih 9p in 9q. Raziskave so pokazale, da so pri urotelijskih karcinomih visokega gradusa pogostejše spremembe na kromosomih 3, 4, 8, 11, 17 in 18, pri karcinomih nizkega gradusa pa so našli povečano število kromosomov 1 in 7 (trisomija) in spremembe na kromosomu 9 (23, 24). Prva poročila o možni uporabi metode FISH za prepoznavanje celic raka sečnega mehurja v urinu in izpirkih iz sečnega mehurja najdemo v literaturi iz devetdesetih let prejšnjega stoletja (22). Spoznanja so bila osnova za izdelavo komercialno dostopnega testa *UroVysion* (*Vysis/Abbott, Downers Grove IL, ZDA*), ki uporablja sonde za tarče na več kromosomih, posamezne sonde pa so različnih barv (18). S testom *UroVysion* prepoznamo aneuploidijo kromosomov 3 (CEP3 sonda), 7 (CEP7 sonda), 17 (CEP17 sonda) in izgubo lokusa 9p21 (LSI9p21 sonda).

Test *UroVysion* je hitra, enostavna in zanesljiva metoda z visoko občutljivostjo ter specifičnostjo za prepoznavanje celic raka seč-

nega mehurja v urinu in izpirkih iz sečnega mehurja (25, 26). Z uporabo tega testa lahko ob standardni citopatološki preiskavi, ki ima podobno specifičnost, vendar znatno nižjo občutljivost, izboljšamo prepoznavanje primarnih urotelijskih karcinomov in ponovitev bolezni. V novejših člankih poročajo, da test *UroVysion* zazna genetske spremembe pred nastankom morfoloških sprememb urotelijskih celic, ko tumor tudi cistoskopsko še ni viden, in s tem napoveduje njegovo ponovitev (27).

### **PRIMERI IZ VSAKDANJEGA DELA**

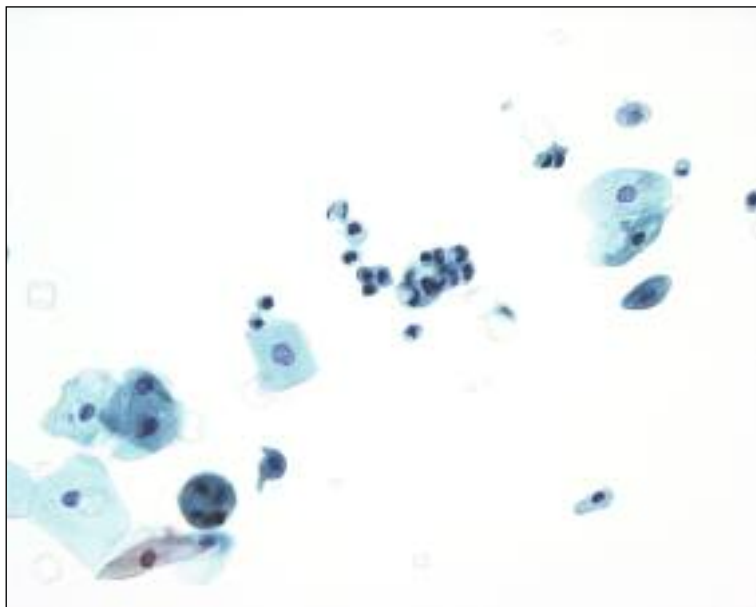
**Primer 1: Citopatološka diagnoza urina: negativno. Histopatološka diagnoza: urotelijski papilarni karcinom nizkega gradusa brez invazije.**

V citopatološko preiskavo smo dobili vzorec urina 61-letnega bolnika z napotno diagnozo »stanje po transuretralni resekciji recidivnih papilomov sečnika«. V računalniški bazi preiskav IP MF UL so bili shranjeni izvidi številnih biopsij sečnega mehurja, ki so bile narejene pri tem bolniku v preteklih 6 letih. V biopsijah izpred 3 in 4 let je bila postavljena diagnoza urotelijskega papilarnega karcinoma sečnega mehurja gradusa I/pTa brez invazijske rašče.

Pri svetlobnomikroskopskem pregledu vzorca urina smo v zmerno celularnem vzorcu našli disociirane celice vrhnjega sloja urotelija. Med njimi je bilo nekaj slabo ohranjenih celic, ki jih nismo mogli oceniti. V ozadju so bili še posamezni nevtrofilni granulociti in redki eritrociti ter nekaj celic ploščatega epitelija in vrhnjega sloja urotelija (slika 2). V citopatološki izvid smo zato zapisali, da v vzorcu ni malignih celic.

Čez 7 mesecev je sledila transuretralna resekcija cistoskopsko vidnih papilomov v sečniku. Histopatološki pregled je pokazal papilarni urotelijski karcinom nizkega gradusa brez invazije (pTa).

Po operaciji so bolnika spremljali in poslali v citopatološko preiskavo en vzorec urina po dveh mesecih in 3 vzorce urina šest mesecev po posegu. V nobenem ni bilo malignih celic, vidne so bile samo reaktivne spremembe na urotelijskih celicah in vnetnice.



Slika 2. Skupek slabo ohranjenih celic in posamezne celice vrhnjega sloja urotelija (Papanicolaou, 400×).

**Primer 2: Citopatološka diagnoza izpirka iz sečnega mehurja: sum, da gre za urotelijski karcinom. Histopatološka diagnoza: urotelijski papilarni karcinom nizkega gradusa brez invazije in CIS.**

V citopatološko preiskavo smo dobili izpirek iz sečnega mehurja 62-letnega bolnika z napotno diagnozo »stanje po transuretralni resekciji tumorja sečnega mehurja (T1GII)«. V računalniški bazi preiskav IP MF UL smo našli izvid biopsije sečnega mehurja, ki je bila opravljena leto poprej. Takratna histopatološka diagnoza je bila papilarni in invazijski urotelijski karcinom sečnega mehurja visokega gradusa/pT1.

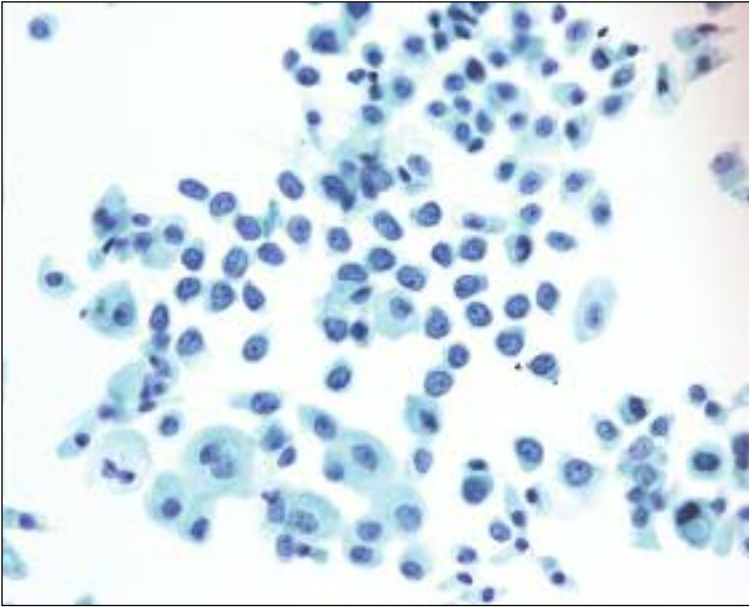
Pri svetlobnomikroskopskem pregledu celičnega vzorca izpirka sečnega mehurja smo našli zmerno celularen vzorec, ki so ga sestavljale manjše krpe in rahle, slabo kohezivne skupine ter disociirane celice večinoma vrhnjega sloja urotelija. Posamezne celice so imele nekoliko povečana, različno velika jedra, vidna so bila drobna jedrca. Citoplazma teh celic je bila zmerno obilna in dobro omejena. V ozadju so bili še posamezni nevtrofilni granulociti in redki eritrociti ter nekaj celic

ploščatega epitelijskega. V citopatološki diagnozi smo zapisali, da v vzorcu ni malignih celic, prisotne pa so reaktivne spremembe in blaga atipija urotelija.

Štiri mesece kasneje so ponovno poslali v citopatološki pregled izpirek iz sečnega mehurja. Takrat so bile v vzorcu prisotne tudi posamične atipične celice s povečanimi jedri, ki so bila različnih oblik in velikosti. Kromatinska struktura in jedrna membrana sta bili poudarjeni. Citoplazma teh celic je bila pičla. Zmerna celična in jedrna atipija sta vzbu-jali sum, da se pojavlja urotelijski karcinom (slika 3).

Čez mesec in pol je sledila transuretralna resekcija cistoskopsko vidnih tumorjev v sečniku. Histopatološki pregled je pokazal papilarni urotelijski karcinom nizkega gradusa brez invazije (pTa) in CIS.

Po operaciji je bolnik dobival intravezikalno imunoterapijo z *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), ki je oslavljen *Mycobacterium bovis* in se uporablja za zdravljenje CIS. Mesec dni po zaključku imunoterapije z BCG so ponovno poslali v citopatološko preiskavo izpirek iz sečnega mehurja (4 mesece po resekciji tumorja). Pri citopatološkem pregledu smo ugotovili, da



Slika 3. Urotelijske celice z zmerno celično in jedrno atipijo (Papanicolaou, 400 $\times$ ).

so poleg reaktivnih sprememb na celicah zaradi zdravljenja še vedno prisotne posamezne hudo atipične celice, ki so vzbujale sum, da se pojavlja urotelijski karcinom. Zato so ponovili transuretralno resekcijo tumorjev v sečnem mehurju. Histopatološki pregled je ponovno potrdil, da je bil prisoten papilarni urotelijski karcinom nizkega gradusa brez invazije. Bolnika je treba še naprej spremljati s citopatološkimi pregledi izpirkov iz sečnega mehurja in cistoskopijo.

**Primer 3: Citopatološka diagnoza izpirka iz sečnega mehurja: pozitivno, urotelijski karcinom. Histopatološka diagnoza: papilarni urotelijski karcinom visokega gradusa brez invazije.**

V citopatološko preiskavo so poslali izpirek iz sečnega mehurja 79-letnega bolnika. Pri cistoskopiji so opisovali resičast širokobazni tumor na sprednji steni sečnega mehurja. Celični vzorec so sestavljale slabo kohezivne skupine in disociirane maligne celice urotelijskega karcinoma. Celice so imele jasno izražene celične in jedrne znake malignosti. Jedrno-ci-

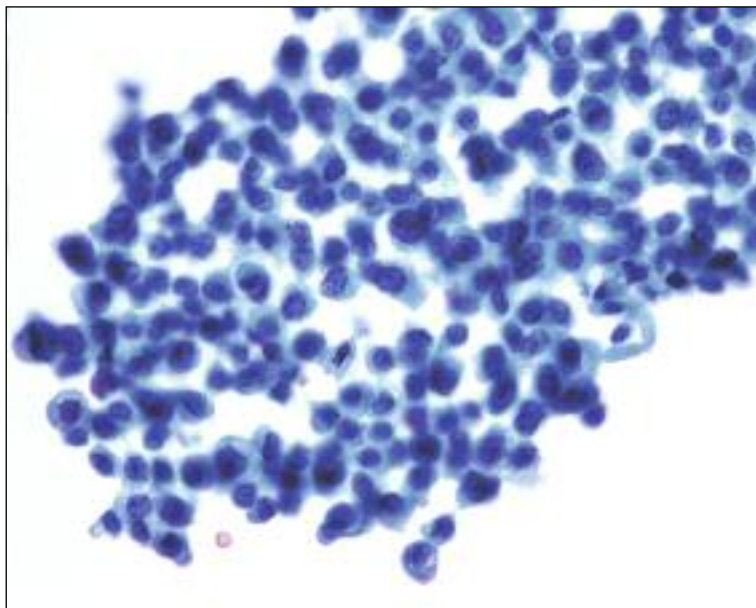
toplazemsko razmerje je bilo povečano v korist jedra. Jedra so bila povečana, nepravilnih oblik, razlikovala so se po velikosti in obliki. Kromatin je bil pomnožen in neenakomerno razporejen. Citoplazma teh celic je bila pičla do zmerno obilna. V vzorcu so bile le maloštevilne normalne urotelijske celice (slika 4).

Napravili so transuretralno resekcijo tumorja in histopatološka preiskava je potrdila papilarni urotelijski karcinom visokega gradusa brez invazije (pTa).

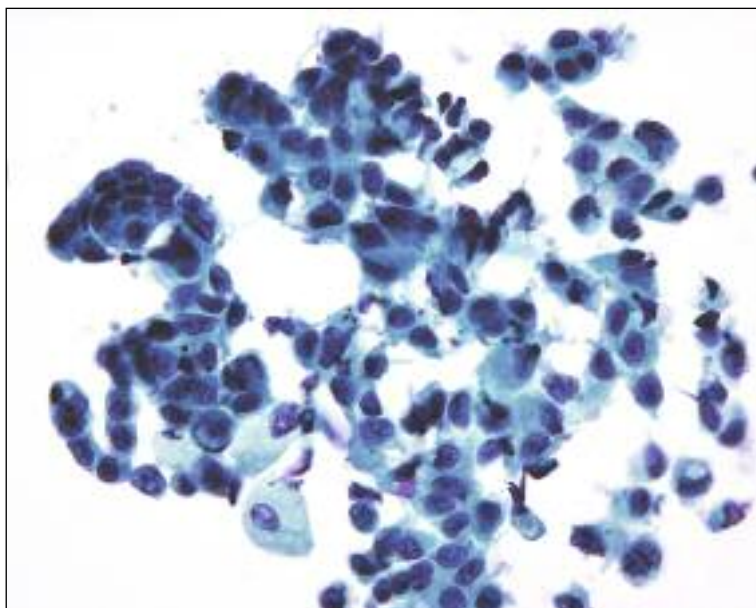
**Primer 4. Citopatološka diagnoza izpirka iz sečnega mehurja: pozitivno, urotelijski karcinom. Histopatološka diagnoza: invazijski urotelijski karcinom visokega gradusa.**

V citopatološko preiskavo so poslali izpirek sečnega mehurja 63-letnega bolnika, ki je zbolel za hematurijo. Pri cistoskopskem pregledu so ugotavljali tumor sečnega mehurja.

V celičnem vzorcu smo našli številne maligne celice urotelijskega karcinoma, ki so bile v večjih skupinah ali pa so ležale posamično. Celice so imele jasno izražene celične



Slika 4. Slabo kohezivne skupine in disociirane urotelijske maligne celice z jasno izraženimi celičnimi in jedrnimi znaki malignosti (Papanicolaou, 400 $\times$ ).



Slika 5. Maligne urotelijske celice visokega gradusa (Papanicolaou, 400 $\times$ ).



in jedrne znake malignosti. Prisotne so bile tudi patološke mitoze in kanibalizem (slika 5).

Še v istem mesecu je bila opravljena transuretralna resekcija mehurja. Histopatološka preiskava je potrdila multifokalen invazijski urotelijski karcinom visokega gradusa z invazijo v mišice. Zaradi slednjega so bolniku operativno odstranili sečni mehur s prostato in obturatornimi bezgavkami leve strani. Histopatološka preiskava je pokazala, da je v preostalem tkivu sečnega mehurja še obsežen invazijski urotelijski karcinom visokega gradusa, ki se vrašča v perivezikalno maščevje – pT3. Prisotni sta bili tudi perinevralna in limfovaskularna invazija.

**Primer 5: Citopatološka diagnoza izpirka iz sečnega mehurja: pozitivno, urotelijski karcinom. Histopatološka diagnoza: CIS urotelija in huda displazija urotelija.**

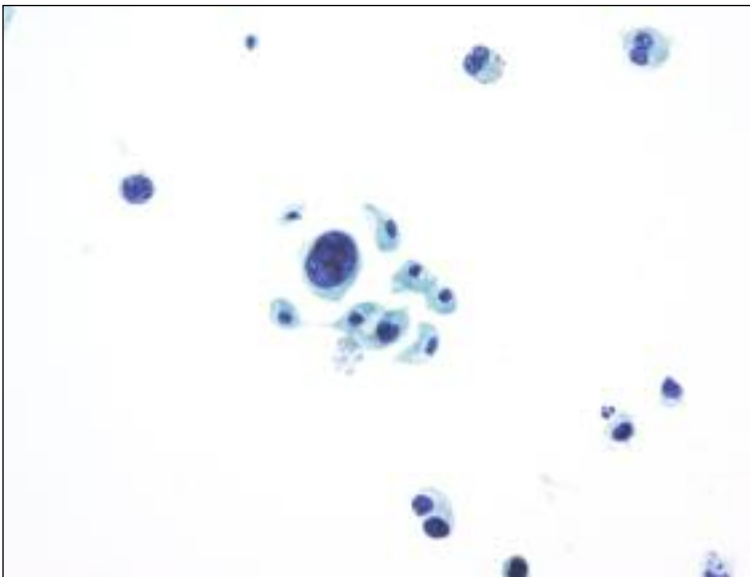
V citopatološko preiskavo so poslali urin 56-letnega bolnika s hematurijo ter ultrazvočno in

cistoskopsko postavljenim sumom, da ima bolnik karcinom sečnega mehurja.

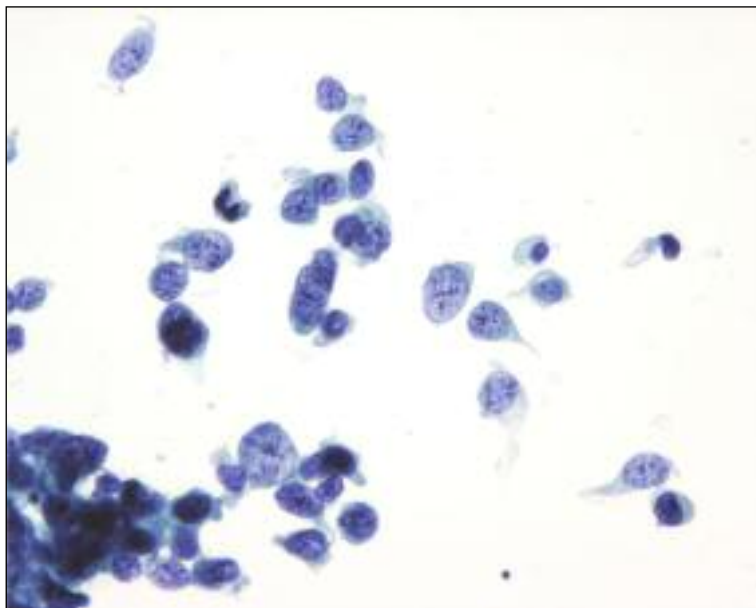
V celičnem vzorcu urina smo našli posamično ležeče maligne celice z jasno izraženimi celičnimi in jedrnimi znaki malignosti. Številne celice so imele skrčena jedra z zgoščenim, temnim kromatinom brez vidne strukture, citoplazma je bila zgoščena. Te morfološke značilnosti odražajo propadanje celic. V ozadju je bilo še nekaj nevtrofilnih granulocitov in celic ploščatega epitelija (slika 6a).

Čez 3 mesece so ponovno poslali vzorec v citopatološko preiskavo z napotno diagnozo hematurija in sumom, da gre za karcinom sečnega mehurja, tokrat so poslali izpirek iz sečnega mehurja. V vzorcu smo našli številne skupine in disociirane celice z jasno izraženimi celičnimi in jedrnimi znaki malignosti. Morfološka slika je ustrezala urotelijskemu karcinomu visokega gradusa (slika 6b).

Sledila je transuretralna resekcija tumorja v sečnem mehurju. S histopatološko preiskavo so ugotovili CIS urotelija in hudo displazijo urotelija. Invazijske rašče niso našli.



Slika 6a. Posamično ležeče maligne urotelijske celice z jasno izraženimi celičnimi in jedrnimi znaki malignosti v urinu (Papanicolaou, 400×).



Slika 6b. Skupki in disociirane urotelijske celice z jasno izraženimi celičnimi in jedrnimi znaki malignosti v izpirku sečnega mehurja (Papanicolaou, 400 $\times$ ).

## ZAKLJUČKI

Če razumemo osnove citopatološkega ocenjevanja vzorcev, ki sloni na opazovanju izoliranih celic ali celičnih skupin, ki so izgubile stik s prvotnim tkivom in njegovo strukturo, potem razumemo prednosti in omejitve citopatološke diagnostike urotelijskih tumorjev. Citopatološka preiskava urina je zelo uporabna neinvazivna metoda za diagnostiko primarnih tumorjev in spremljanje bolnikov po zdravljenju karcinoma sečnega mehurja ter drugih delov votlega sistema urinarnega trakta (primeri 2–5) (1, 3, 5, 6). Omogoča zanesljivo diagnostiko urotelijskih karcinomov, ki jih sestavljajo morfološko prepričljivo maligne celice (primeri 3–5), kar pomeni, da je zelo specifična, po drugi strani pa je diagnostika urotelijskih tumorjev s slabo izraženimi celičnimi in jedrnimi znaki malignosti nezanesljiva (primer 1) (1, 7, 10, 15).

V praksi lahko pride do razkoraka med izvidi diagnostičnih preiskav, ko ima bolnik za malignom sumljive klinične znake in/ali sumljiv izvid cistoskopije, izvid citopatološke

preiskave urina ali izpirka iz sečnega mehurja pa je negativen (primer 1). Citopatološka diagnoza namreč ni zanesljiva pri neinvazivskih papilarnih urotelijskih tumorjih nizkega gradusa, kamor po klasifikaciji Svetovne zdravstvene organizacije uvrščajo neinvazijski papilarni urotelijski karcinom nizkega gradusa, papilarno urotelijsko neoplazmo nizkega malignostnega potenciala in urotelijske papilome (primera 1 in 2) (1, 7, 11). Glede na objavljene podatke lahko v teh primerih citopatološko potrdimo tumor le v 25 do 40% (1, 10, 15). Za diagnostiko in spremljanje bolnikov z nizko malignimi papilarnimi tumorji so zato potrebne druge preiskave, ki so zanesljivejše, predvsem cistoskopija in slikovnodagnostične preiskave, saj so ti tumorji makroskopsko (cistoskopsko) vidni kot resičasti izrastki. Čeprav citopatološka diagnostika na tem področju odpove, pa ostaja dejstvo, da imamo opravka s tumorjem, ki nima morfološko prepričljivih malignih celic, zato jih kljub ponavljajočim se pregledom vzorcev urina ali izpirkov iz sečnega mehurja ne moremo prepoznati. Tumor

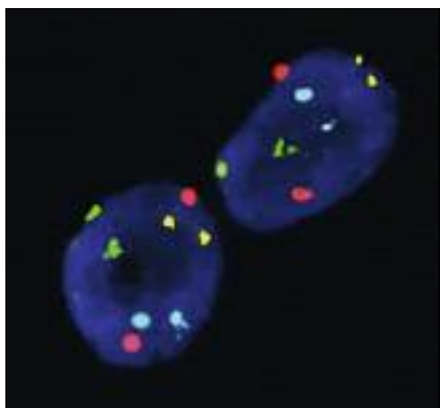
s takšnimi celicami je torej nizko malignen in ne ogroža bolnikovega življenja.

Druga skrajnost je za urotelijski karcinom pozitiven citopatološki izvid ob negativnem cistoskopskem izvidu. V določenih primerih najdemo v urinu (redkeje pa v izpirkih iz mehurja) morfološko jasno maligne celice, vendar s slikovnimi preiskavami in/ali cistoskopijo urologi tumorja ne najdejo. Sklepanje, da je citopatološka diagnoza napačna, če makroskopsko vidnega tumorja ni, je nevarno. Invazijski urotelijski karcinom lušči morfološko enake maligne celice kot CIS, ki je pri cistoskopiji lahko prikrit (1, 3). Citopatolog na podlagi pregleda izoliranih celic ne more ugotoviti, ali te pripadajo invazivnemu karcinomu ali CIS (primer 5). Iz vzorca, v katerem ni nekroze, vnetnih celic ali rdečih krvničk, lahko posredno sklepamo, da pripada CIS, ker ta zaradi narave svoje rasti ne sproža tako izrazitega imunskega odgovora organizma (1, 3). Vsekakor pa se moramo zavedati, da citopatološka diagnoza malignega tumorja pomeni, da imamo opraviti s tumorjem, ki ima jasno izražene celične znake malignosti (primeri 3–5). To pomeni, da je visokega gradusa in je bodisi že invazijski ali pa intraepitelijski, ki lahko preide v invazijskega, in da bo kot tak lahko ogrozil bolnikovo življenje. V teh primerih je zelo pomembna komunikacija med klinikom in citopatologom, najne so nadaljnje diagnostične preiskave za odkritje primarnega tumorja. Cistoskopsko je

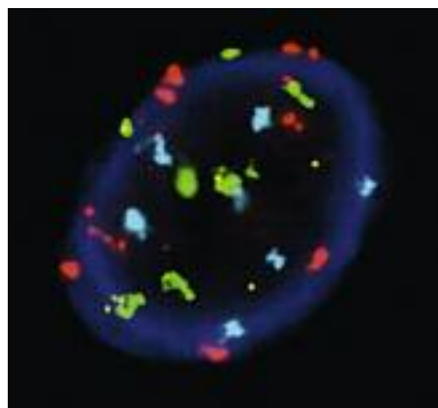
treba najti karcinom sečnega mehurja; če je izvid cistoskopije negativen, pa moramo vedno pomisliti tudi na možnost, da so celice v urinu odluščene iz prikritega karcinoma v sečevodu ali ledvičnem mehu.

Karcinom sečnega mehurja je v Sloveniji med vsemi raki pri moških na 7. mestu, pri ženskah pa je razmeroma redek (28). Pojavnost narašča in je bila po zadnjih podatkih Registra raka za Slovenijo v letu 2005 21,5/100.000 pri moških in 6,3/100.000 pri ženskah. Rak sečnega mehurja se začne pojavljati po 45. letu, največ primerov odkrijemo v starosti od 70 do 75 let pri moških in po 75. letu pri ženskah. Ob sumljivih kliničnih znakih, med katerimi je v ospredju neboleča hematurija, neinvazivna citopatološka preiskava urina pomaga izbirati bolnike za nadaljnje invazivne diagnostične posege; prva standardna (invazivna) diagnostična metoda je cistoskopija.

Čeprav rak sečnega mehurja ni pogosta bolezen, pa se pogosto ponavlja. Neinvazijski papilarni urotelijski karcinomi se ponovijo v približno 70 %, v približno 5 % pa napredujejo v invazijski karcinom (7). Poseben klinični problem so bolniki s plitko invazijo karcinoma (v lamino proprijo) ob prvi diagnozi. Pri teh bolnikih karcinom napreduje z vraščanjem v mišični sloj v 20–30 %, kar pomeni širjenje bolezni, ki ogrozi bolnikovo življenje (25), zato bolnike kliniki urologi redno spremljajo. Citopatološka preiskava urina in izpirka iz sečnega



Slika 7a. FISH negativen: diploidni celici (normalno število kopij kromosomov 3, 7, 17, 9p21).



Slika 7b. FISH pozitiven: aneuploidna (maligna) celica (pomnoženo število kopij kromosomov 3, 7, 17, 9p21).

mehurja z dodatnimi metodami ostaja ob cistoskopiji in slikovnodiagnostičnih preiskavah pomembna diagnostična metoda za odkrivanje ponovitev bolezni.

Če poznamo prednosti in omejitve citopatološke preiskave urina in izpirkov iz sečnega mehurja, bo ta kot prva diagnostična

metoda pri bolnikih s simptomi prispevala k nadaljnjim namenskim diagnostičnim postopkom, pri bolnikih po zdravljenju pa k hitrejšim ukrepom pri ponovitvah bolezni. Upamo pa tudi, da nam bo novi test *UroVysion* pomagal izboljšati neinvazivno diagnostiko urotelijskega karcinoma (sliki 7a in 7b).

## LITERATURA

1. Koss LG. Tumors of the urinary tract in urine and brushings. In: Koss LG, Melamed MR, eds. *Koss's diagnostic cytology and its histopathologic bases*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 777-846.
2. Koss LG. The lower urinary tract in the absence of cancer. In: Koss LG, Melamed MR, eds. *Koss's diagnostic cytology and its histopathologic bases*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 738-76.
3. Rosenthal DL, Raab SS. Cytologic detection of urothelial lesions. In: Rosenthal DL, ed. *Essentials in cytopathology series*. New York (NY): Springer; 2005. p. 57-62.
4. Bratuš D, ed. Seminar o nujnih stanjih v urologiji. Zbornik predavanj; 2004 May 21; Maribor.
5. Grossfeld GD, Litwin MS, Wolf JS Jr, et al. Evaluation of asymptomatic microscopic hematuria in adults: The American Urological Association best practice policy – part I: definition, detection, prevalence, and etiology. *Urology*. 2001; 57: 599-603.
6. Grossfeld GD, Litwin MS, Wolf JS Jr, et al. Evaluation of asymptomatic microscopic hematuria in adults: the American Urological Association best practice policy – part II: patient evaluation, cytology, voided markers, imaging, cystoscopy, nephrology evaluation, and follow-up. *Urology*. 2001; 57: 604-10.
7. Greene LF, Hanash KA, Farrow GM. Benign papilloma or papillary carcinoma of the bladder? *J Urol*. 1973; 110: 205-7.
8. Grunze H, Springss AL. History of clinical cytology. A selection of documents. Darmstadt: G-I-T Verlag Ernst Giebler; 1980.
9. Lopes-Beltran A, Sauter G, Gasser T, et al. Infiltrating urothelial carcinoma. In: WHO Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARC Press; Oxford: Oxford University Press (distributor); 2004. p. 93-109.
10. Curry JL, Wojcik EM. The effect of the current World Health Organisation/International society of urologic pathologists bladder neoplasm classification system on urine cytology results. *Cancer*. 2002; 96: 140-5.
11. Sauter G, Algaba F, Amin MB, et al. Non-invasive urothelial tumors. In: WHO Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARC Press; Oxford: Oxford University Press (distributor); 2004. p. 110-9.
12. Strojjan Fležar M. Osnove diagnostične citopatologije. *Med Razgl*. 2008; 47: 87-95.
13. The ThipPrep Pap Test. The most trusted pap test for your cervical health concerns [internet]. Bedford (MA): Hologic™; c2009 [citirano 2009 Apr 2]. Dosegljivo na: <http://www.thinprep.com/>
14. BD SurePath™ liquid-based Pap test [internet]. Franklin Lakes (NJ): Becton, Dickinson and Company; c2010 [citirano 2009 Apr 2]. Dosegljivo na: <http://www.bd.com/tripath/physicians/surepath.asp>
15. Bastacky S, Ibrahim S, Wilczynski SP, et al. The accuracy of urinary cytology in daily practice. *Cancer Cytopathol*. 1999; 87: 118-28.
16. Ross JS, Cohen MB. Ancillary methods for the detection of recurrent urothelial neoplasia. *Cancer*. 2000; 90: 75-86.
17. Us-Krašovec M. Pretočna in slikovna citometrija – novi kvantitativni metodi. *Onkologija*. 1998; 2: 40-2.
18. Urovysion.com [internet]. Downers Grove: Abbott Laboratories; c2009 [citirano 2009 Apr 2]. Dosegljivo na: <http://www.urovysion.com/>
19. Böcking A, Striepecke E, Auer H, et al. Static DNA cytometry. Biological background, technique and diagnostic interpretation. In: Wied GL, Bartels PH, Rosenthal D, eds. *Compendium on computerized cytology and histology laboratory*. Chicago: Tutorials of cytology; 1994. p. 107-28.
20. Strojjan Fležar M, Us Krašovec M. Slikovna citometrija v onkologiji. *Med Razgl*. 2002; 41: 313-20.
21. Tribukait B. Flow cytometry in assessing the clinical aggressiveness of genitourinary neoplasms. *World J Urol*. 1987; 5: 108-22.
22. Halling KC, Kipp BR. Fluorescence in situ hybridization in diagnostic cytology. *Hum Pathol*. 2007; 38: 1137-44.
23. Richter J, Beffa L, Wagner U, et al. Patterns of chromosomal imbalances in advanced urinary bladder cancer detected by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol*. 1998; 153: 161-21.

24. Zhao J, Richter J, Wagner U, et al. Chromosomal imbalances in noninvasive papillary bladder neoplasms (pTa). *Cancer Res.* 1999; 59 (18): 4658–61.
25. Bubendorf L, Grilli B, Sauter G, et al. Multiprobe FISH for enhanced detection of bladder cancer in voided urine specimens and bladder washings. *Am J Clin Pathol.* 2001; 116: 79–86.
26. Schmitt FC, Longatto-Filho A, Valent A, et al. Molecular techniques in cytopathology practice. *J Clin Pathol.* 2008; 61: 258–67.
27. Kipp BR, Tanasescu M, Else TA, et al. Quantitative fluorescent in situ hybridisation and its ability to predict bladder cancer recurrence and progression to muscle invasive bladder cancer. *J Mol Diagn.* 2009; 11 (2): 148–54.
28. Cancer Registry of Slovenia. Cancer Incidence in Slovenia 2005. Report No. 47. Ljubljana: Institute of Oncology; 2008.

Prispelo 3. 4. 2009