

wyższa przy dysponowaniu w pracowni bakteriologicznej całym migdałkiem, a nie jego wycinkiem (7). Wobec zanieczyszczenia migdałków również inną niż *A. pleuropneumoniae* florą bakteryjną i w konsekwencji wzrostem różnych kolonii na agarze z krwią, nawet w sferze oddziaływania NAD, kolonie morfologicznie podobne do kolonii *A. pleuropneumoniae* należy dodatkowo identyfikować za pomocą PCR, porównując znany i badany DNA. Badania właściwości biochemicznych i antygenowych izolowanych szczepów nie mają dużej wartości diagnostycznej, gdyż istnieją odczyny krzyżowe z innymi gatunkami niż *A. pleuropneumoniae*, też występującymi w migdałkach.

Przechorowanie po zakażeniu jednym serotypem *A. pleuropneumoniae* może chronić świnie przed zakażeniem innym serotypem, ale nie zawsze ma to miejsce i zależy od różnych stopni pokrewieństwa antygenowego.

Podsumowanie

Wywołana przez *A. pleuropneumoniae* pleuropneumonia świń, jak wynika

z przedstawionych danych pozostaje ważnym problemem w stadach świń w licznych krajach, ale stopień zagrożenia jest zróżnicowany. W niektórych krajach straty są znaczące. W innych przypadkach, jak np. w USA, mamy do czynienia przede wszystkim z przebiegiem podklinicznym oraz pytaniem, co do różnicy wielkości strat po różnym ilościowym przechodzeniu postaci bezobjawowej w postaci klinicznej. Problem zwalczania postaci podklinicznej należy uznać jako istotny w sensie dążenia do eradykacji bezobjawowego zakażenia świń, co powinno być celem ostatecznym, gdyż jest ekonomicznie uzasadnione.

Jak wynika z opinii Gottschalka (3), wybitnego i wieloletniego badacza pleuropneumonii świń, po 50 latach badania tej choroby i właściwości *A. pleuropneumoniae* ciągle pozostają niewyjaśnione niektóre zagadnienia, np. dlaczego niektóre ściśle określone szczepy lub serotypy zarazka w jednych fermach wywołują chorobę, a w innych nie. Są też inne niezrozumiałe zjawiska, które uzasadniają kontynuowanie badań nad zwalczaniem wywołanej przez *A. pleuropneumoniae* pleuropneumonii świń w naszym kraju.

Piśmiennictwo

1. Gottschalk M., Broes A., Fittipaldi N.: Recent developments on *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Proc. Am. Assoc. Swine Vet.* 2003, s. 387-393.
2. Gottschalk M., Taylor D.J.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*. W: Straw B.E., Zimmerman J.J., D'Allaire S., Taylor D.J.: *Diseases of Swine*. 9th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 2006, s. 563-576.
3. Gottschalk M.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*: an old but still relevant swine pathogen in the XXI century. *22nd International Pig Veterinary Society Congress*, Korea 2012, L.S-002, 26-31.
4. Marois C., Gottschalk M., Morvan H., Fablet C., Madec F., Kobisch M.: Experimental infection of SPF pigs with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 alone or in association with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 2009, **135**, 283-291.
5. Desrosiers R.: Epidemiology, diagnosis and control of swine diseases. Howard Dunne Memorial Lecture. *Proc. Am. Assoc. Swine Vet.* 2004, 9-37.
6. MacInnes J.L., Gottschalk M., Lone A.G., Metcalf D.S., Ojha S., Rosendal T., Watson S.B., Friendship R.M.: Prevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Pasteurella multocida*, and *Streptococcus suis* in representative Ontario swine herds. *Can. J. Vet. Res.* 2008, **72**, 242-248.
7. Fittipaldi N., Broes A., Harel J., Kobisch M., Gottschalk M.: Evaluation and field validation of PCR tests for detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in subclinically infected pigs. *J. Clin. Microbiol.* 2003, **41**, 5085-5093.

Prof. dr hab. Marian Truszczyński, Państwowy Instytut Weterynaryjny, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl

Przerzuty nowotworowe – drogi szerzenia się nowotworów

Rafał Sapieryński

z Zakładu Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Nowotwór jest rozrostem prawidłowych, ale nieodwracalnie zmienionych komórek własnych, który nie poddaje się mechanizmom kontroli gospodarza, przez co uzyskuje wzrost autonomiczny, anarchiczny, bezcelowy i często niekorzystny, a wręcz śmiertelny dla osobnika, w obrębie którego się rozwija. Upraszczając, pod względem zachowania biologicznego zmiany nowotworowe podzielono na niezłośliwe, czyli takie, które pozostają w miejscu powstania i nie mają zdolności rozprzestrzeniania się w obrębie tkanek gospodarza, oraz nowotwory złośliwe, czyli te, które przynajmniej potencjalnie mogą rozprzestrzenić się w organizmie, dając początek ogniskom wtórnym, czyli przerzutom. Istnieje jeszcze grupa zmian, które określa się mianem nowotworów o złośliwości miejscowej, czyli tych, które zdolności do dawania przerzutów nie mają, jednak ognisko

guza miejscowo zachowuje się jak zmiana złośliwa, czyli ma zdolność naciekania okolicznych tkanek. Do najbardziej znanych nowotworów o miejscowej złośliwości u zwierząt należą guzy podstawnokomórkowe, sarkoidy u koni oraz nerwiakowłókniakomięsaki i obłoniaki u psów. Nie wszystkie nowotwory złośliwe charakteryzują się takim samym potencjałem dawania przerzutów, niektóre, jak np. raki podstawnokomórkowe i guzy mózgu, pomimo miejscowej złośliwości rzadko dają przerzuty odległe, inne zaś, jak kostniakomięsaki, czerniaki dają przerzuty bardzo łatwo i wcześnie. Istnieje zjawisko „tropizmu” niektórych przerzutów nowotworowych do określonych tkanek, co oznacza, że w przypadku określonych nowotworów można się spodziewać obecności przerzutów w określonych miejscach.

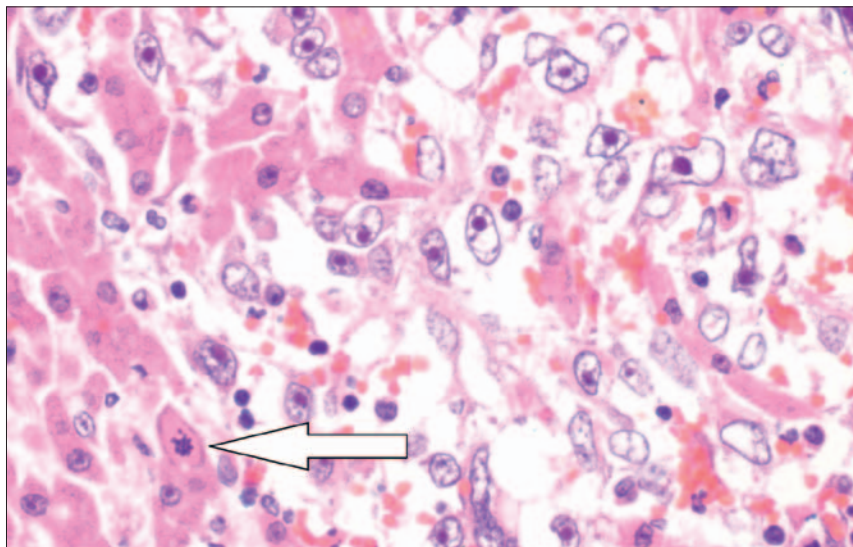
Naciekanie miejscowe tkanek jako cecha złośliwości rozrostu polega na tym, że

Metastases of tumors – route of spread

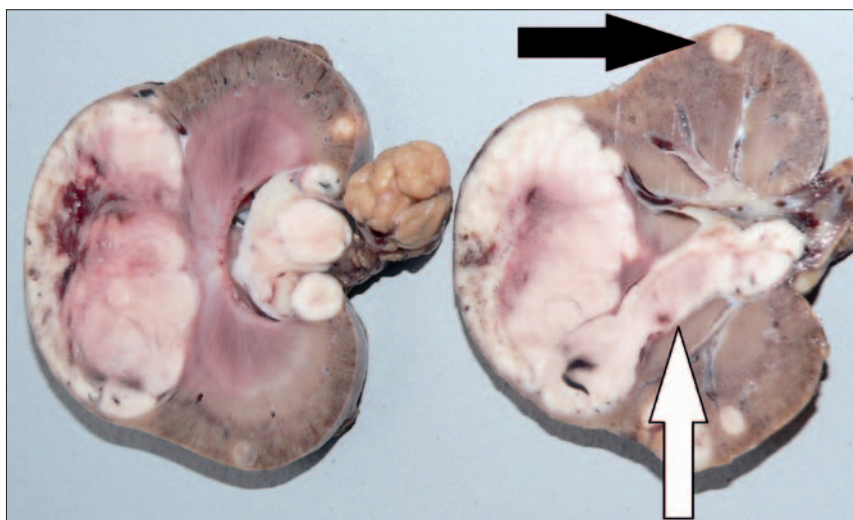
Sapieryński R., Division of Animal Pathomorphology, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

Malignant tumors are often highly invasive and in some cases possess high metastatic potential. Metastasis occurs when colonies of tumor cells take up residence at some distance from the parent tumor. Metastasis is the single most reliable hallmark of malignancy – benign tumors do not metastasize. Cancer can metastasize by seeding of the body cavities (transcelomic spread) and surfaces, by lymphatic spread, or by hematogenous spread. Metastasis is a complex process requiring invasion of the extracellular matrix, entry into vascular or lymphatic vessels, extravasation of tumor cells, and colonization of the metastatic site. In rare cases neoplastic cells can be disseminated during medical intervention – iatrogenic spread. In veterinary medicine there are at least two types of the tumors that can metastasize not only within the animals body but also within animals population – transmissible venereal tumor in dogs and devils facial tumor disease in Tasmanian devils.

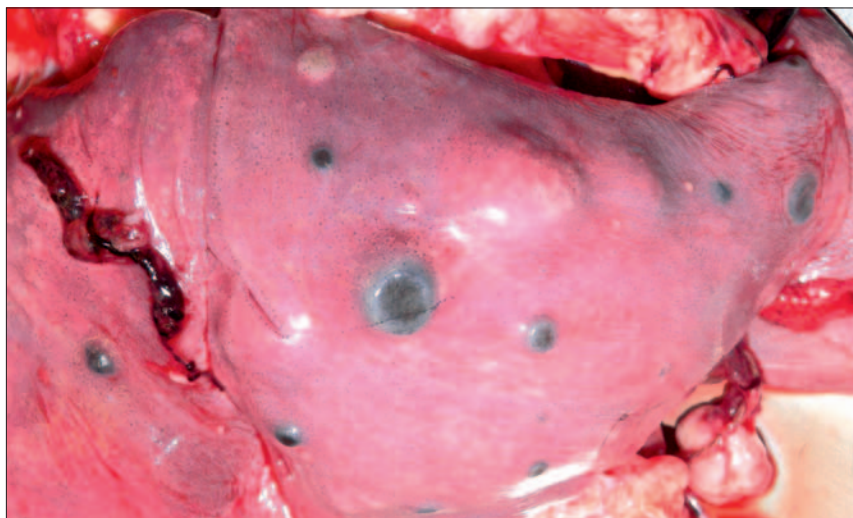
Keywords: malignancy, transcelomic, hematogenic, lymphogenic.



Ryc. 1. Komórki naczyńmięśnaka (po prawej i w centrum) naciekają beleczyki wątrobowe, prowadząc do ich dezorganizacji, zmian wstecznych i martwicy (hepatocyt oznaczony strzałką). Wątroba kota, barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 400 ×



Ryc. 2. Po lewej, na przekroju nerki widoczna masa w miedniczce nerkowej oraz duży guz zlokalizowany w warstwie korowej; oddzielone od siebie mięszem rdzenia narządu – taki obraz sugeruje obecność przerzutu. Po prawej – kolejny przekrój pokazał, że wymienione ogniska pozostają ze sobą w bezpośrednim kontakcie (biała strzałka) – kryteria przerzutu nie są spełnione. Widoczne jedno małe okrągłe ognisko (czarna strzałka) nieposiadające połączenia z guzem pierwotnym – to ognisko spełnia kryteria przerzutu. Rak komórek kanalików nerkowych u psa



Ryc. 3. Przerzuty czerniaka do płuc psa; miejscem wyjścia guza była jama ustna

komórki rozrostu nie uznają naturalnych granic w obrębie organizmu. Mogą naciekać otaczające zdrowe tkanki, co oznacza, że mogą wnikać pomiędzy otaczające komórki, uszkadzać je i zabijać, a przez to niszczyć strukturę narządu, w którym się rozwijają. Granica między mięszem guza złośliwego a otaczającymi tkankami jest najczęściej niewyraźna (**ryc. 1**). Z kolei **przerzutem** (*metastasis*, ognisko wtórne, ognisko przerzutowe) nazywamy ognisko (zmianę patologiczną), którego komórki pochodzą z ogniska pierwotnego nowotworu (miejsce powstania nowotworu) złośliwego, jednak nie pozostają z nim w bezpośrednim kontakcie. Innymi słowy, o przerzucie mówimy wtedy, gdy ognisko wtórne jest oddzielone od ogniska pierwotnego przez komórki lub tkanki gospodarza (**ryc. 2**).

Przerzuty umownie można podzielić na:

- przerzuty miejscowe, które powstają w bezpośredniej bliskości ogniska pierwotnego,
- przerzuty regionalne, które powstają najczęściej drogą naczyń chłonnych i lokalizują się w regionalnych węzłach chłonnych,
- przerzuty odległe, które najczęściej powstają na drodze hematogennej i lokalizują się w narządach wewnętrznych z dala od ogniska pierwotnego, najczęściej w płucach (**ryc. 3**), wątrobie, ale i w każdym innym narządzie.

Termin „metastasis” wprowadził w 1829 r. Jean Claude Recamier do określenia przeniesienia choroby z jednego narządu lub jego części w inne miejsce, które nie pozostaje w bezpośrednim kontakcie (1). Jednak w terminologii anglojęzycznej „metastasis” oznaczać może zarówno przerzut, jak i przerzutowanie, czyli powstawanie przerzutu, dlatego też termin „przerzut” powinien być używany jako wyrażenie określające zmianę morfologiczną, którą można zobaczyć na poziomie mikroskopowym lub/i makroskopowym, czyli wtórne ognisko nowotworu.

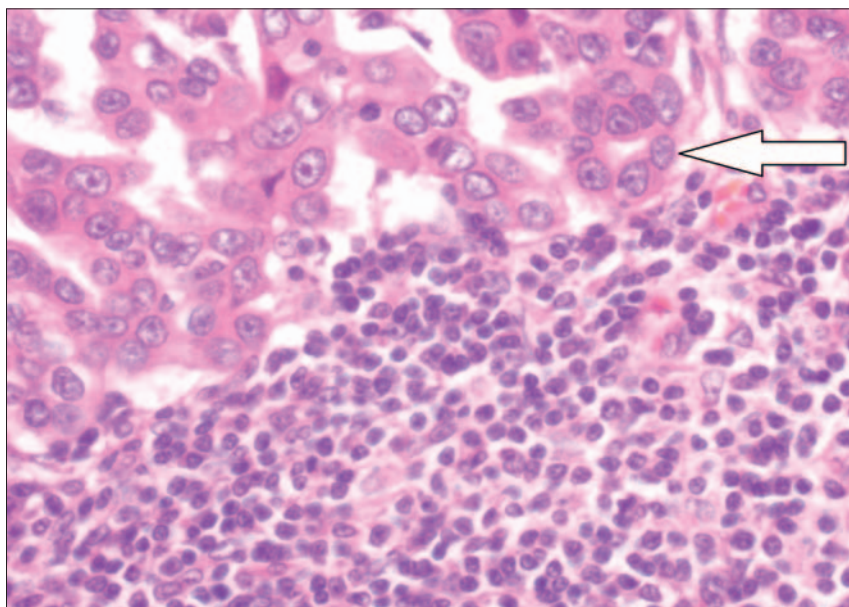
Przerzutowanie jest procesem, w czasie którego dochodzi do powstania przerzutów. Obecność przerzutów, bez względu na inne cechy nowotworu, jest bezwzględny wykładnikiem jego złośliwości, jednak należy pamiętać, że nie wszystkie nowotwory złośliwe dają przerzuty. Zazwyczaj guzy, które rosną szybko, uzyskują duże rozmiary, mają większą skłonność do dawania przerzutów, chociaż w niektórych przypadkach nawet małe, powoli powiększające się guzki dają liczne przerzuty, dlatego też w żadnym przypadku wygląd ogniska pierwotnego nie może być wykładnikiem systemowej złośliwości guza. Powstawanie przerzutów jest złożonym procesem, w przebiegu którego musi zaistnieć wiele etapów,

a cały proces od powstania ogniska pierwotnego do wykrycia przerzutu zajmuje długi czas. Komórki nowotworowe uzyskują zdolność oddzielania się od guza pierwotnego, zaczynają się poruszać, naciekają błony podstawne i istotę międzykomórkową, wnikają do naczyń krwionośnych, tam przeżywają, aby następnie zacząć proliferować i wytworzyć guz wtórny – właśnie przerzut. Co interesujące, badania eksperymentalne wykazały, że jedynie 0,01% komórek nowotworowych, które dostały się do krążenia ogólnego, będzie w stanie dać początek ognisku wtórnemu (2).

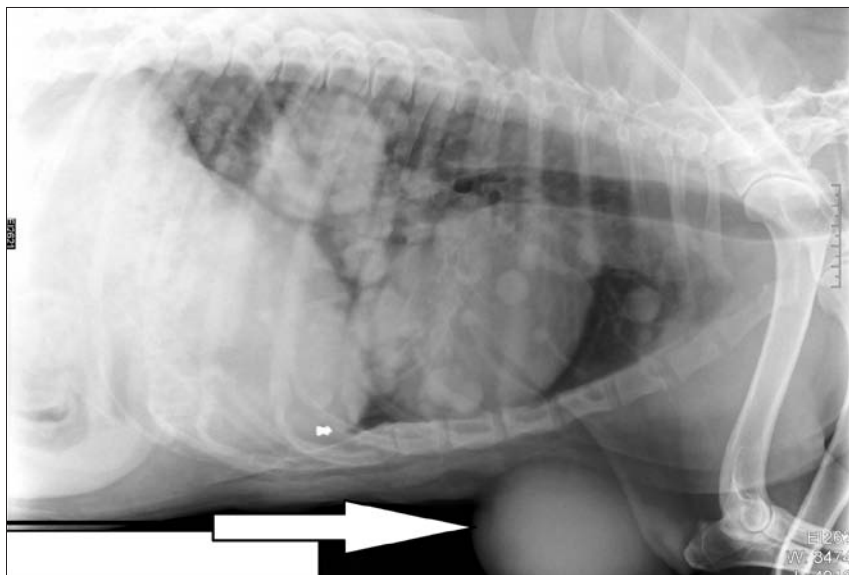
W czasie metastazy mają miejsce nie tylko zmiany funkcjonalne, ale i strukturalne komórek nowotworowych, dlatego też wygląd komórek ogniska pierwotnego i przerzutu może być odmienny. Najczęściej komórki przerzutu są wynikiem rozwoju jednego klonu komórek z ogniska pierwotnego i dlatego są mniej zróżnicowane, bardziej jednolite, chociaż nie zawsze jest to regułą. Przykładowo, wygląd przerzutu raka złożonego gruczolu sutkowego może znacząco różnić się od wyglądu ogniska pierwotnego, bowiem możliwe jest, że jedynie komórki komponentu nabłonkowego uzyskują zdolność przerzutowania. Często też gruczolaki o budowie cewkowej w ognisku pierwotnym przyjmują strukturę bardziej litą, kiedy dostaną się do węzła chłonnego (ryc. 4) lub do płuc.

Nieco inaczej wygląda sprawa nowotworów, które rozwijają się z komórek układu krwiotwórczego (chłoniaki i białaczki), dlatego że w tym przypadku komórki nowotworowe dostają się do krążenia limfaticznego lub krwiobiegu w sposób „naturalny”, dlatego w przypadku tych rozprzestrzeniających się nowotworów bardziej zasadne jest określenie rozsiew (*disseminatio*) niż przerzutowanie. Dodatkowo, według niektórych autorów w przebiegu takich chorób nowotworowych komórki rozrostu są zawsze obecne we krwi obwodowej bez względu na to, czy je się tam wykrywa czy też nie.

Pomimo faktu, że z każdym rokiem notuje się duży postęp medycyny zarówno w onkologii dotyczącej ludzi, jak i w weterynaryjnej diagnostyce i leczeniu, to najpoważniejszą przyczyną zgonów w przebiegu choroby nowotworowej jest właśnie rozsiew choroby z powstawaniem przerzutów, których w żaden sposób nie daje się kontrolować lub takie możliwości są mocno ograniczone (3). Często usunięcie ogniska pierwotnego nie nastręcza większych problemów (zabieg chirurgiczny, naświetlanie), kłopot sprawiają natomiast właśnie wtórne, niekiedy liczne ogniska wtórne (ryc. 5). W niektórych przypadkach obecność przerzutów lub wieloogniskowy



Ryc. 4. Komórki przerzutu gruczolakoraka sutka do węzła chłonnego (skupiska dużych komórek na górze), niektóre komórki w dalszym ciągu tworzą struktury cewkowe (oznaczona strzałką). Węzeł chłonny kota, barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 400 ×



Ryc. 5. Obraz rentgenowski klatki piersiowej suki – widoczne liczne przerzuty w obrębie pól płucnych – chirurgiczna resekcja guza pierwotnego (oznaczony strzałką) nie nastręcza problemu, nawet mniej doświadczonemu chirurgowi; poważnym problemem są w tym przypadku ogniska wtórne (dzięki uprzejmości lek. wet. Macieja Wojtczaka)

rozsiew choroby poprzedza rozpoznanie ogniska pierwotnego lub też ogniska pierwotnego nie udaje się wykryć (4). Przypadki takie w medycynie człowieka stanowią 3–5% wszystkich raków i najczęściej są to gruczolakoraki.

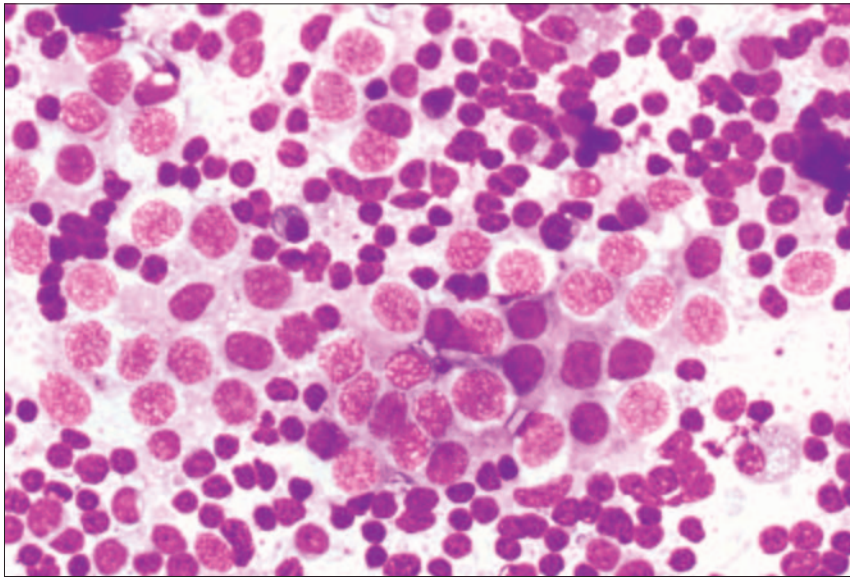
Przerzuty nowotworowe mogą pojawić się w różnych narządach i tkankach, jednak najczęściej pojawiają się w obrębie węzłów chłonnych (ryc. 6), płuc (ryc. 7), wątroby, kości i mózgu (2). Niektóre typy nowotworów najczęściej dają przerzuty do specyficznych tkanek, co częściowo wyjaśnia się interakcją pomiędzy komórkami nowotworu a mikrośrodowiskiem tkanek docelowych

(teoria „ziarna i gleby”). Dodatkowo istotną rolę w umiejscowieniu przerzutów odgrywa układ naczyń w wybranych narządach.

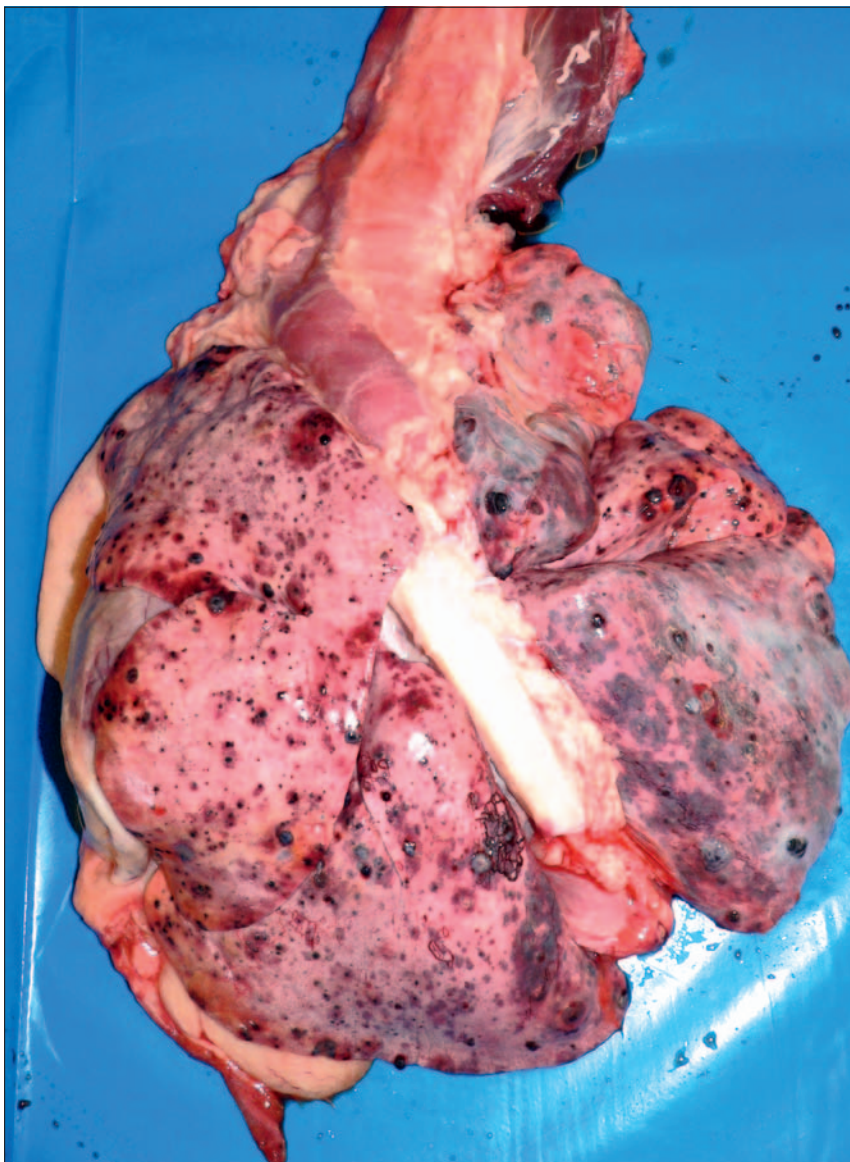
Drogi szerzenia się przerzutów nowotworowych

Bezpośredni rozsiew i wszczepianie komórek nowotworowych

Nowotwory wzrastające w obrębie jam ciała (otrzewnej, opłucnej, jam stawowych, komorze oka) mogą być utworzone z komórek, które łatwo się złuszcza (oddzielają od głównej masy guza) dostają



Ryc. 6. Komórki przerzutu mięsaka okrągłokomórkowego rozproszone pomiędzy limfocytami węzła chłonnego (małe komórki z ciemnym, okrągłym jądrem komórkowym). Węzeł chłonny psa, biopsja aspiracyjna cienkoigłowa, barwienie barwnikiem Giemsa, powiększenie 400 ×



Ryc. 7. Płuca są częstym siedliskiem przerzutów nowotworowych. Rozsiany naczyńniakomięsak u psa – ognisko pierwotne zlokalizowane było w obrębie przedsionka prawego

do płynu surowiczego (**ryc. 8, 9**) i wraz z nim biernie są rozprawdane w obrębie jamy ciała i mogą zasiedlić inne obszary tej jamy (**droga transcelomiczna**). Z takiej drogi rozsiewu korzystają nowotwory międzybłonka, raki jajnika, naczyniakomięsaki śledziony, penetrujące powierzchnię wątroby raki tego narządu. W przypadku złośliwych guzów jajnika i międzybłoniaków często obserwuje się obecność licznych wtórnych ognisk nowotworowych rozsianych do różnych rejonów jamy surowiczej, tak że praktycznie cała błona surowicza jest pokryta niezliczonymi przerzutami (**carcinomatosis**) bez jednoczesnej penetracji komórek do narządów wewnętrznych. W podobny, bardzo prosty sposób nowotwór złośliwy wzrastający na górnej powiece może przenieść się na powiekę dolną (**droga wszcepienna**). Na podobnej zasadzie mięsak weneryczny zlokalizowany na prąciu psa może zostać rozwleczony do jamy ustnej, nosowej lub na spojówkę (lizanie czy wączanie narządów płciowych). Właściwością bezpośredniego rozsiewu dla komórek nowotworowych jest fakt, że pomiędzy guzem pierwotnym a potencjalnym miejscem zasiedlenia nie istnieją żadne lub istotne bariery, które utrudniałyby rozprzestrzenianie się komórek rozrostu, co więcej istnieje medium, które taki rozsiew ułatwia (płyn surowiczy, śluz, płyn wodnisty komór oka).

Droga kanalikowa

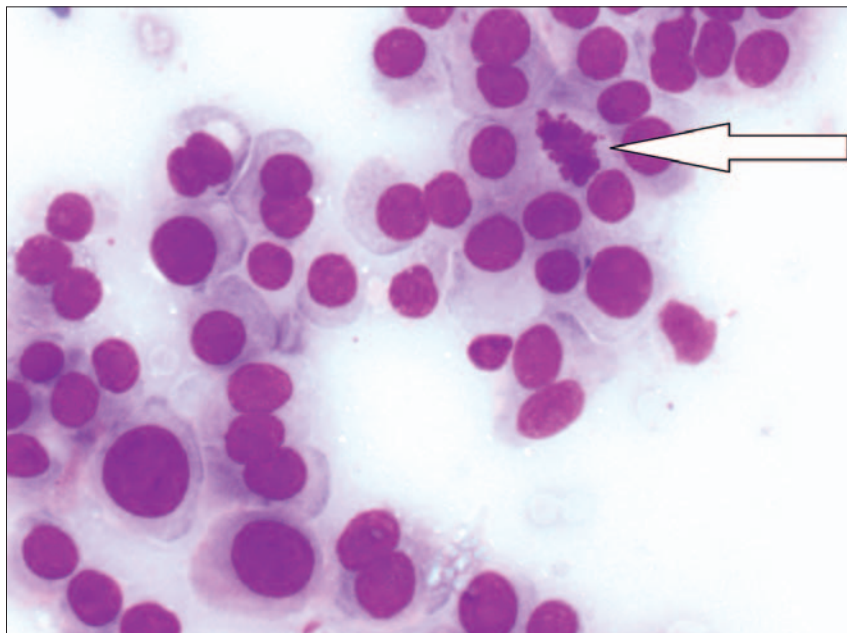
Ta droga powstawania przerzutów jest zbliżona swoim mechanizmem do bezpośredniego rozsiewu. W tym przypadku guz rozwija się w obrębie lub na powierzchni struktur, które mają światło, np. przewody żółciowe, drogi oddechowe czy drogi wyprowadzające mocz. Przykładowo, komórki nowotworu złośliwego oskrzelików mogą oddzielać się od głównej masy guza (złuszczać się) i wraz z produkowanym śluzem są przemieszczane w kierunku tchawicy, gdzie, o ile nie zginą lub nie zostaną zniszczone, mogą zasiedlić powierzchnię śluzówki oskrzeli lub tchawicy. Po okresie wzrostu pojawia się ognisko wtórne, które nie ma bezpośredniego kontaktu z główną masą guza w obrębie oskrzelika, tak więc powstała zmiana spełnia kryteria przerzutu. Przerzuty drogą kanalikową określa się niekiedy mianem przerzutów wewnątrznarządowych.

Droga limfatyczna (limfogenna)

W tym przypadku strukturami, które umożliwiają komórkom nowotworowym rozsiew są naczynia limfatyczne, które dzięki temu, że ich ściana ze względu na



Ryc. 8. Płyn pobrany z jamy klatki piersiowej od kota z rozsiałym gruczolakorakiem sutka – po odwirowaniu na dnie próbówki widoczny osad elementów komórkowych, zapewne bogaty w komórki nowotworowe



Ryc. 9. Obraz mikroskopowy rozmazu wykonanego z materiału widocznego na ryc. 8 – widoczne liczne pleomorficzne komórki z wyraźną anizokarią i hiperchromacją, widoczna też figura mitotyczna (strzałka). Taki obraz upoważnia do postawienia rozpoznania nowotworu złośliwego. Barwienie barwnikiem Giemsa, powiększenie 400 ×

strukturę jest nikłą przeszkodą dla komórek nowotworowych. Jest to najczęstsza droga rozprzestrzeniania się raków; zdecydowanie rzadziej rozsiewają się tą drogą mięsaki. Komórki, które dostają się do światła naczyń chłonnych w czasie swojej wędrówki trafiają na węzły chłonne, z założenia będące strażnikami uniemożliwiającymi dalszy rozrost, chociaż wiadomo, że tę rolę wypełniają raczej w umiarkowanym stopniu. Komórki, które dostaną się do najbliższego węzła chłonnego (wartowniczego) drenowanej przez nie okolicy mogą:

- zostać w nim zatrzymane i zabite przez komórki układu immunologicznego,
- niezauważone przedostać się przez węzeł wartowniczy i dostać się do kolejnych węzłów na drodze przepływu chłonki i/lub do głównych naczyń limfatycznych i stąd do krążenia ogólnego,
- zostać w nim zatrzymane, ale są w stanie proliferować i wytworzyć ognisko wtórne (przerzut),
- wzrastać w obrębie naczyń chłonnych, zatykając ich światło, co prowokuje powstanie reakcji zapalnej i tworzenie przesięku w tkankach obwodowych (tzw. rakowate zapalenie naczyń chłonnych).

Obecność przerzutów w węzle chłonnym prędzej czy później doprowadza do jego powiększenia (limfadenomegalii). Należy tu jednak mieć na uwadze dwa problemy: drobne przerzuty (mikroprzerzuty) nie będą powodowały widocznego makroskopowo powiększenia węzła chłonnego lub też powiększenie węzła chłonnego najbliższego w stosunku

do guza złośliwego nie zawsze wynika z obecności w nim przerzutów – możliwa jest reakcja immunologiczna (rozwrost odczynowy, plazmocytoza) na antygeny nowotworowe w tkankach obwodowych lub też rozwija się reakcja zapalna, gdy dojdzie do powierzchownego owrzodzenia lub zakażenia guza. Znajomość anatomii pozwala przypuszczać, w którym węzle chłonnym należy spodziewać się przerzutu guza pierwotnego w wykrytej lokalizacji (jest to istotne z punktu widzenia klinicznego, które węzły należy poddać badaniu biopsijnemu w celu określenia, czy doszło do rozsiewu choroby). W przypadku guzów sutka u suk i kotek badaniu poddaje się węzeł chłonny pachowy lub pachwinowy w zależności od lokalizacji ogniska pierwotnego w gruczole sutkowym. Najprostszą i wiarygodną metodą badania węzłów chłonnych pod kątem występowania przerzutów jest biopsja aspiracyjna cienkoigłowa i ocena cytopatologiczna tak pobranego materiału.

Droga krwionośna (hematogenna)

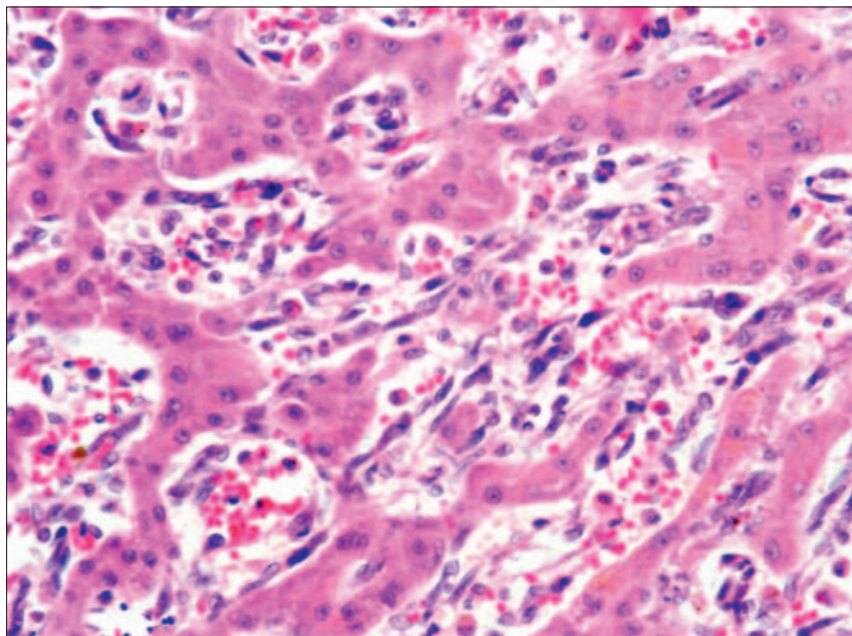
Jest ona dość powszechnie wykorzystywana przez komórki mięsaków, jednak raki także dają przerzuty w taki sposób. Część komórek guza, które są obecne we krwi mogą pochodzić z naczyń limfatycznych. Najbardziej podatne na inwazję są drobne naczynia żyłne i większe żyły, zdecydowanie rzadziej komórki nowotworu wnikają przez ścianę tętnic. Ma to rzecz jasna związek z grubością i budową ściany tętnic, która jest trudniejsza do pokonania przez inwazyjne komórki

złośliwego guza. Wykazano, że największą rolę w procesie wnikania komórek nowotworu złośliwego do krwiobiegu odgrywają drobne naczynia włosowate powstające w procesie angiogenezy, tworzące się w obrębie guza na etapie progresji nowotworowej. Naczynia takie mają cienką ścianę, nieciągłą, mają duże pory i są łatwe do spenetrowania przez komórki guza (4). Do narządów, które są najczęściej siedliskiem przerzutów powstałych na drodze hematogennej należą wątroba (przez wątrobę żyłą wrotną przepływa krew z innych narządów jamy brzusznej; ryc. 10) i płuca (ze względu na sieć naczyń włosowatych płuca są filtrem krwi, która płynie z serca tętnicą płucną). Tylko nieliczne komórki, które dostaną się do krwiobiegu będą w przeszłości źródłem przerzutów, większość z nich ginie, jest eliminowana bądź nie będą w stanie odbyć etapów niezbędnych do powstania ogniska wtórnego.

W związku z faktem, że istnieją liczne połączenia pomiędzy układem naczyń krwionośnych i chłonnych podział dróg przerzutowania na drogi hematogenną i limfogenną wydaje się nieco sztuczny, wiadomo też, że komórki nowotworowe są w stanie przemieszczać się z jednego układu do drugiego (3).

Droga jatrogenna

Nie jest częstym (poza badaniami eksperymentalnymi, gdzie przerzuty nowotworowe są celowo wywoływane) źródłem przerzutów nowotworowych, jednak możliwy jest rozsiew komórek guza w sytuacji niestosowania zasad ostrożności



Ryc. 10. Komórki naczyniakomięsaka w zatokach wątrobowych. Wątroba psa. Barwienie hematoksylina-eoźyna, powiększenie 200 ×

w trakcie onkologicznych zabiegów chirurgicznych, przeszczepów narządów, czy też jest nie do uniknięcia w czasie procedur diagnostycznych, np. pobierania materiału do biopsji. Rozsiew nowotworów (najczęściej czerniaków i nowotworów tkanki hemopoetycznej) z organizmu dawcy do biorcy notuje się około 0,04–0,06% przypadków przeszczepów narządów (5). Chociaż istnieje wśród niektórych właścicieli zwierząt obawa, że podczas biopsji dojdzie do rozsiewu nowotworu (często słyszany zwrot: „lepiej nie ruszać, bo pies znajomego miał kiedyś...”), to jak się wydaje takie ryzyko w praktyce jest znikome i nigdy nie powinno być przyczyną odstąpienia od badań diagnostycznych. Należy jednak pamiętać, że droga jatrogenna powstania przerzutów jest pojęciem sztucznym, bowiem nie mamy tu do czynienia ze specyficznym mechanizmem rozprzestrzeniania się komórek nowotworu w obrębie organizmu (komórki mogą zostać rozwleczone poprzez rozsiew bezpośredni czy drogą naczyń krwionośnych), ale istnieje jedynie wspólny mianownik, jakim jest zamierzona lub niezamierzona interwencja człowieka.

Przerzuty międzyosobnicze

Nowotwory złośliwe rozprzestrzeniają się w obrębie chorego organizmu; zdecydowanie rzadziej wtórne ogniska rozrostu mogą rozsiewać się (przerzucać) pomiędzy osobnikami w obrębie populacji danego gatunku. Przypadków takich nie należy określać nowotworami zakaźnymi i utożsamiać z nowotworami, które są wywołane przez czynniki zakaźne (bakterie,

wirusy), bowiem nie są to przerzuty. Nowotwory, które dają przerzuty międzyosobnicze określa się jako przekazywalne (transmissible), chociaż można byłoby je określać mianem zaraźliwych (jeśli za czynnik przenoszący chorobę uzna się komórkę nowotworową). U ludzi ta droga powstawania przerzutów wiąże się z drogą jatrogenną (przeszczepy, transfuzje), chociaż notowano też przypadki występowania przerzutów drogą wewnątrzmaciczną, np. od matki do płodu (czerniaki, chłoniaki, białaczki) oraz przypadki przeniesienia się nowotworu (raka) pomiędzy płodami bliźniaczymi (5). Dobrze opisany jest też przypadek chirurga, u którego rozwinął się mięsak, w wyniku skaleczenia skalpelem jakiego doznał w trakcie operacji usuwania guza złośliwego od pacjenta (cyt. 5). W medycynie weterynaryjnej znane są co najmniej dwa przypadki, w których ma miejsce rozsiew nowotworu złośliwego w obrębie populacji zwierząt.

Mięsak weneryczny (guz Stickera, zakaźny guz weneryczny, pasażowalny guz weneryczny, transmissible venereal tumor)

Jest wywodzącym się z histiocytów nowotworem rozpoznawanym u psów, który najczęściej wzrasta w obrębie narządów płciowych zewnętrznych jako wynik przeniesienia żywych komórek nowotworowych od jednego osobnika na drugiego (droga wszczepienna). Pochodzenie guza wenerycznego u psów jest przedmiotem spekulacji, uważa się, że do powstania pierwszego klonu komórek tego nowotworu szacunkowo potrzeba było

od 250 do 2500 lat. Możliwe też, że miało to miejsce jeszcze u protoplasty psa – wilka (6). Pierwszy klon komórek nowotworowych mógł powstać jako wynik mutacji komórek pochodzenia histiocytarnego, wywołanej przez wirus, czynniki chemiczne bądź inne karcynogeny. Dowodem na pochodzenie komórek mięsaka wenerycznego z jednego klonu transformowanych komórek są zaburzenia chromosomalne w nich obserwowane – komórki guzów wenerycznych bez względu na obszar geograficzny, w którym są rozpoznawane wykazują stałe zaburzenia cytogenetyczne przejawiające się odmienną liczbą chromosomów w porównaniu do prawidłowych komórek psa (5). Transmisja komórek nowotworowych ma miejsce podczas aktywności seksualnej, np. kopulacji, lizania i obwąchiwania narządów płciowych, dlatego ogniska guza obserwuje się na prąciu, w pochwie, na śluzówce jam ustnej i nosowej, w okolicy odbytu i na spojówkach (7). Do rozsiewu komórek mięsaka wenerycznego może też dochodzić u chorego psa i to zarówno na drodze wszczepiania (lizanie i obwąchiwanie własnych narządów płciowych), ale także na drodze klasycznej, np. drogami hematogenną i limfogenną do skóry, narządów wewnętrznych i węzłów chłonnych (8). Guzy weneryczne najczęściej występują u zwierząt w okresie najwyższej aktywności seksualnej. Średnia wieku chorych psów wynosi od 4 do 5 lat, są one szeroko rozpowszechnione na całym świecie, szczególnie w krajach o wysokiej wilgotności i z wysoką średnią opadów atmosferycznych oraz w rejonach, gdzie jest dużo bezdomnych psów.

Nowotworowa choroba twarzy diabłów tasmańskich (devils facial tumor disease)

Jest drugim przykładem złośliwego nowotworu, który drogą wszczepienną rozsiewa się w populacji diabłów tasmańskich (*Sarcophilus harrisi*), dużych mięsożernych australijskich torbaczy. Pierwsze przypadki dużych guzowatych mas zlokalizowanych na twarzy tych zwierząt odnotowano w 1996 r., a obecnie w niektórych obszarach Tasmanii choruje nawet powyżej 80% osobników; choroba rozprzestrzeniła się na większości obszarów Tasmanii (9, 10). Nowotwór wywodzi się z komórek pochodzenia neuroendokrynnego, prawdopodobnie z komórek Schwanna, jest więc mięsakiem, którego komórki są przenoszone z jednego osobnika na drugiego w czasie walk i kąsania, kiedy zostają wszczepione w okolicy jamy ustnej oraz twarzy i wzrastając, tworzą rozrastającą się masę, która zaburza, a z czasem uniemożliwia pobieranie

pokarmu, w konsekwencji prowadząc do wyniszczenia i śmierci (11, 12). Zwierzęta zaczynają chorować w młodym wieku, a śmierć następuje najczęściej w wieku 2–4 lat, co sprawia, że znacznie spada liczba osobników będących w wieku rozrodczym (9). Tryb życia tych interesujących zwierząt (często dochodzi do walk pomiędzy osobnikami, które walczą o padlinę) sprawia, że ten mechanizm roznoszenia się choroby jest bardzo efektywny w rozprzestrzenianiu się nowotworu. Sprawia to, że nowotwór jest przyczyną szybkiego zmniejszania się populacji diabłów tasmańskich i istnieje potencjalna możliwość całkowitego wymarcia tego gatunku w naturze w ciągu kilku dekad. Nie wydaje się, aby w rozprzestrzenianiu się choroby jakąkolwiek rolę odgrywało spożywanie padliny lub, że choroba może być przenoszona przez jakieś wektory.

Guzy są często dobrze odgraniczone (87% przypadków), przybierają postać płaskich, jędrnych mas, często o owrzodzonej sączącej powierzchni, zlokalizowanych głównie na skórze części twarzowej i w jamie ustnej (10). W większości

przypadków (65%) u chorych diabłów tasmańskich obserwuje się występowanie przerzutów, najczęściej do węzłów chłonnych, płuc, śledziony, serca oraz otrzewnej.

Piśmiennictwo

1. Talmadge J.E., Fidler I.J.: AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective. *Cancer Res.* 2010, **70**, 5649–5659.
2. Langley R.R., Fidler I.J.: The seed and soil hypothesis revisited—the role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs. *Int. J. Cancer.* 2011, **128**, 2527–2535.
3. Langley R.R., Fidler I.J.: Tumor cell-organ microenvironment interactions in the pathogenesis of cancer metastasis. *Endocr. Rev.* 2007, **28**, 297–321.
4. Pavlidis N., Pentheroudakis G.: Cancer of unknown primary site. *Lancet.* 2012, **379**, 1428–1435.
5. Welsh J.S.: Contagious cancer. *Oncologist* 2011, **16**, 1–4.
6. Murgia C., Pritchard J.K., Kim S.Y.: Clonal origin and evolution of a transmissible cancer. *Cell* 2006, **126**, 477–487.
7. Rogers K.S., Walker M.A., Dillon H.B.: Transmissible venereal tumor: a retrospective study of 29 cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1998, **34**, 463–470.
8. Albanese F., Salerni F.L., Giordano S., Marconato L.: Extragenital transmissible venereal tumour associated with circulating neoplastic cells in an immunologically compromised dog. *Vet. Comp. Oncol.* 2006, **4**, 57–62.
9. Hawkins CE, Baars C, Hesterman H, Hocking GJ, Jones ME: Emerging disease and population decline of an island endemic, the Tasmanian devil *Sarcophilus harrisii*. *Biol. Conserv.* 2006, **131**, 307–324.
10. Loh R., Bergfeld J., Hayes D., O'hara A., Pyecroft S., Raidal S., Sharpe R.: The pathology of devil facial tumor

disease (DFTD) in Tasmanian Devils (*Sarcophilus harrisii*). *Vet. Pathol.* 2006, **43**, 890–895.

11. Loh R., Hayes D., Mahjoor A., O'Hara A., Pyecroft S., Raidal S.: The immunohistochemical characterization of devil facial tumor disease (DFTD) in the Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). *Vet. Pathol.* 2006, **43**, 896–903.
12. Murchison E.P., Tovar C., Hsu A., Bender H.S., Kheradpour P., Rebbeck C.A., Obendorf D., Conlan C., Bahlo M., Blizzard C.A., Pyecroft S., Kreiss A., Kellis M., Stark A., Harkins T.T., Marshall Graves J.A., Woods G.M., Hannon G.J., Papenfuss A.T.: The Tasmanian devil transcriptome reveals Schwann cell origins of a clonally transmissible cancer. *Science* 2010, **327**, 84–87.

Dr hab. Rafał Sapieryński,
e-mail: rafal_sapierynski@sggw.pl

Modele doświadczalne w badaniach onkologicznych. Część I. Sferoidy i model *in ovo*

Kaja Urbańska, Justyna Sokołowska

z Katedry Nauk Morfologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Badania z zakresu biologii komórek nowotworowych oraz ich potencjału proliferacyjnego i metastatycznego oraz odpowiedzi na podane chemioterapeutyki lub inne substancje o charakterze przeciwnowotworowym, jak również charakterystyka farmakodynamiki tych związków w komórkach transformowanych nowotworowo w pierwszym etapie badań przedklinicznych oraz w badaniach naukowych, przeprowadzane są w warunkach *in vitro*. W tym celu wykorzystuje się komercyjnie dostępne linie komórek nowotworowych, pozyskane z banków linii komórkowych: ECACC (European Collection of Cell Cultures) lub ATCC (American Type Culture Collection) bądź wyprowadza się taką linię z guza pobranego śródoperacyjnie.

Badania w warunkach *in vitro* mają jednak swoje ograniczenia, co sprawia, że interpretacja wyników końcowych bywa trudna i nie zawsze odzwierciedla odpowiedź komórek nowotworowych wzrastających *in vivo*. Jest to związane przede wszystkim z tym, że większość komercyjnie dostępnych linii nowotworowych wprowadza się, wykonując seryjne pasażę i prowadząc selekcję komórek w kierunku pożądanego cech, takich jak ekspresja określonych genów, określone cechy morfologiczne i funkcje. Podczas tego kontrolowanego wzrostu komórki nowotworowe nabywają cech fenotypowych, które pozwalają im zaadaptować się do warunków *in vitro* (1). Ponadto w hodowlach jednowarstwowych (typu monolayer) komórki mają zapewniony łatwy dostęp

do składników odżywczych i tlenu, w wyniku czego powstaje jednolita pod względem genotypowym i fenotypowym populacja komórek (2). Należy podkreślić, że komórkom nowotworowym hodowanym w takich warunkach brakuje złożoności budowy guza wzrastającego w warunkach *in vivo*, w tym unaczynienia i obecność komórek zapalnych (3). Hodowla komórkowa pozbawiona jest również macierzy zewnątrzkomórkowej (4). Stwarza to konieczność poszukiwania innych modeli doświadczalnych do badań onkologicznych, na których można byłoby prowadzić badania z zakresu biologii nowotworów, jak również określać odpowiedź komórek nowotworowych na podawane substancje przeciwnowotworowe.

Sferoidy

W ocenie skuteczności działania leków przeciwnowotworowych lub innych substancji o potencjalnym charakterze supresorowym coraz częściej wykorzystuje się sferoidy (hodowle trójwymiarowe – 3D) – agregaty komórek nowotworowych, które hoduje się w warunkach *in vitro*. Wielokomórkowe sferoidy nowotworowe wykazują cechy guza wzrastającego w warunkach *in vivo* we wczesnej fazie