

VARIANTI MIKROPAPILLAR I KARCINOMËS ME QELIZA KALIMTARE I VESHIKËS URINARE: STUDIM MORFOLOGJIK DHE IMUNOHISTOKIMIK

SERGIO TRIPODI, LUTFI ALIA*

Summary

MICROPAPILLARY VARIANT OF TRANSITIONAL CELL CARCINOMA OF BLADDER: AN MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY

Purpose: Micropapillary variant of transitional cell carcinoma of bladder (MPTCCB), is a rare morphological type, expressed with apparent high metastatic potential, aggressive behavior, and poor prognosis. This variant of TCCB is characterised by the presence of micropapillary component that mimicks papillary serous carcinoma of the ovary. Up to date, mechanisms able to explain the peculiar morphology and the aggressive behaviour of such tumors, has not yet been identified. In this study we presented 12 cases of MPTCCB. A significant progressive loss of CD44s, whereas overexpression of cytokeratin 20, and stromal expression of collagen IV, was identified in the micropapillary variant of TCCB.

The aim of this study was to investigated the expression of CD44 and CK20 in micro-papillary variant of TCCB. Moreover, since the key pathological feature of micropapillary is the artefactual lacunae around micropapillae, we have investigated the presence and distribution of the components of basal membrane, as CD31, and collagen IV.

Materials and methods: 543 cases with high grade and high stage of TCCB, diagnosed between 1995-2001, in the Institute of Pathology of Siena, were reviewed and 12 cases containing a micropapillary component were selected. These cases were tested by immunohistochemistry for the expressions of CD44s and CK20, and for the components of basal membrane as endotelial component CD31, and collagen IV.

Results: The incidence of micropapillary variant of TCCB is 2,2%. All patients were stage T3a disease. Tumours were locally invasive into perivesical fat in 11/12 cases; and one case was metastatic to the liver. Immunoreactivity to CD44s was absent in 10/12 cases ($p < 0.001$). In contrast, 1/12 cases of poor differentiated urothelial carcinoma displayed weak reactivity (+) and 1/12 cases displayed diffuse but moderately reactivity (++) ($p = 0,05$). The over expression of CK20 was present in all cases. The antibody against collagen IV were expressed diffusely in the tuomr's stroma in all cases, but CD31 was negative.

Conclusions: The presence of a micropapillary component in TCCB is associated with high-grade and high-stage and poor prognosis. MPTCCB have a tendency to vascular invasion and metastasis. We hypothesize that a loss of CD44s and over expression of CK20, and collagen IV, may play a role in the aggressive behaviour and local invasion and metastasis of micropapillary variant of TCCB, and then the lacunae around neoplastic micropapillae are artefact.

* Dërgoi në Redaksi në Janar 2007, miratoi për botim Shtator 2008.

Nga Instituti i Kirurgjisë, Univesriteti i Sienës, Itali.
Adresa për letërkëmbim: Tripodi S., Instituti i Kirurgjisë,
Univesriteti i Sienës, Itali.

Varianti mikropapillar i KQKVU, takohet rrallë e shprehet me kuadër morfologjik të mbizotëruar nga arkitektura mikropapillare, me aftësi të lartë invazioni lokal, zhvillim metastazash, me sjellje klinike agresive e me prognozë të keqe (1,2,3). Për herë të parë u përshkrua nga Amin me 1941 (1) e deri tani janë publikuar rreth 140 raste (1-40), të cilave u shtohen dhe 12 rastet tona, që po i prezantojmë në këtë punim (tabela nr.1).

Modeli morfologjik i karcinomave mikropapillare, është përshkruar dhe në organe të tjera, si në ovare (karcinoma papillare seroze e ovareve) (1,19,24,38), në gjëndërrat e qumështit (karcinoma duktaale invazive mikropapillare) (4,20), në gjëndërrat salivare (adenokarcinoma me komponent mikropapillar) (21), në tyroide (karcinoma papillare me përbërës mikropapillar) (14,22), në mushkëri (adenokarcinoma mikropapillare) (25) etj. Variantet mikropapillare të karcinomave në këto organe, manifestohen me sjellje klinike agresive, me invazion vaskular periferik (4) dhe me metastaza (1-26).

Shëmbëlltyra mikroskopike e variantit mikropapillar të KQKVU, prezantohet me dy tipe dëmtimi: a. në sipërfaqe qelizat neoplazike bëjnë rritje papillare, filiforme, elegante e të brishta; b. në thellësi shihen aglomerate të vogla papillare, të ndryshme në disa lakuna stromale (1-39). Në stromën rreth lakunave shihet proliferim difuz miofibroblastik (16) dhe shtim fibra kolagene (7,23,40). Strukturat lakunare sugjestionojnë infiltrimin karcino-matoz të vazave të gjakut dhe limfatike, por studimet morfologjike dhe imunohistokimike kanë vërtetuar se ato nuk janë vaza, por vetëm struktura artefaktale (1,2,8,11). Rritjet papillare

në sipërfaqen e epitelit, vishen me qeliza uroteliale polimorfe, të mbështetura në një aks stromal delikat. Këto rritje papillifere sipërfaqësore, imitojnë karcinomën seroze papillare të ovareve (1,5,7,9,10,11,19,38). Bazuar në ngjashmërinë me karcinomën seroze të ovarit, disa autorë (6,16) kanë analizuar shprehjen e markerit ovarial CA125, i cili rezultoj pozitiv në mbi 30% të rasteve me variantin mikropapillare të KQKVU, madje bazuar në këto të dhëna Johanson (6), fillimisht e konsideroj si variant të rrallë të adeno-karcinomës të veshikës urinare.

Në studimet imunohistokimike rezulton se qelizat neoplazike të karcinomës mikro-papillare të veshikës urinare, shprehin CK 7 dhe CK 20, në ndryshim nga qelizat e urotelit normal ku shprehet vetëm CK 19 (4,16). Kur në një material bioptik rezultojnë pozitive shprehja e CK7 dhe e CK 20, atëherë sugjerohet se kemi një neoplazi mikropapillare parësore të veshikës urinare (4). Këto të dhëna dëshmojnë se CK20 është një marker i ndjeshëm i diferencimit të urotelit dhe shprehja e saj në karcinomat e vijave urinare, është konsideruar si faktor me efekt sinjifikativ për ndjekjen e ecurisë natyrale të këtyre neoplazive, sidomos të recidivave (4,9,33,37).

Për të përcaktuar natyrën e strukturave lakunare, shumë autorë kanë studiuar për-bërësit struktural të membranës bazale të vazave të gjakut, si lamininën, kolagenin IV dhe markerin endotelial CD31 (12,18,24). Hulumtimet kanë konfirmuar mungesën e këtyre elementeve në paretet e lakunave, çka ka vërtetuar se nuk janë vaza gjaku dhe as limfatike, por thjeshtë spaciume artefaktale, që kanë në brendësi aglomeratet e qelizave neoplazike, ku vendosen në trajtë papilliforme (3-36).

Tabela nr.1

Autorët	Nr.	M-F ratio	Mosha mes.
Amin, 1994 (1)	18	5:1	66,6
Lopez, 1999 (2)	1	1:0	91
Johansson, 1999 (6)	20	2,3:1	69
Baschinsky, 2000 (3)	1	1:0	
Vang 2000 (10)	1	0:1	79
Maranchie, 2000 (7)	5	5:0	73,6
Oh, 2000 (8)	1	1:0	79
Dominici, 2001 (5)	1	1:0	68
Ylagan, 2001 (11)	3	3:0	

Hong, 2002 (26)	1	1:0	
Ramalingam 2003 (4)	1	0:1	59
Nishizawa 2005 (9)	1	0:1	80
Alvarado-Cabrero 2005 (12)	37	37:1	68
Ripa 2005 (13)	1	1:0	72
Dhouibi 2005 (15)	2	1:1	68,5
Kamat 2006 (16)	44	13:1	64,3
Kuroda 2006 (17)	1	1:0	66
Charfi 2006 (18)	1	1:0	59
Materiali i jonë 2007	12	6:1	76

Studime sistematike kanë evidencuar se në stromën e karcinomave mikropapillare, ndodh shtimi i kolagenit IV dhe i lamininës, të cilat identifikohen si në tumorin parësor dhe në metastazat (12,13,16,17,18,40). Është konfirmuar aftësia e qelizave neoplazike të karcinomës papillare ovariale për të alteruar në mënyrë dinamike shprehjen stromale të kolagenit IV e të lamininës, që ndikojnë në shkëputjen e shëtitjen e qelizave neoplazike në hapsirën peritoneale e për pasojë implantimin, invazionin lokal e zhvillimin e metastazave (23). Shtimi i kolagenit IV në stromën e karcinomës mikropapillare të KQKVU, mendohet se ka rol në morfopatogenezën, pasi stimulon proliferimin, adezionin dhe migrimin e qelizave neoplazike më shumë se sa kolageni I (1,23,24,25). Këto të dhëna sugjerojnë se kolageni IV në KMPQK, është faktor i rëndësishëm në modifikimin e stromës, duke i krijuar mundësi qelizave neoplazike të lëvizin e të përçajnë matriksin e të krijojnë lakuna, në brendësi, të cilave ndodh rritja lokale e qelizave neoplazike, që marrin trajtat mikro-papillare. Karcinoma mikropapillare në rritje të vazhdueshme e infiltron paretin dhe indet e buta rreth veshikës urinare dhe jep metastaza në limfonodujt rajonal e në organe të largët (13,17,23). Struktura histologjike e metastazave mund të përbëhet kryesisht nga komponenti mikropapillar, çka sugjestionon diagnozë të gabuar, pasi merret si neoplazi parësore e organit ku është marrë biopsia, por përbëhet dhe nga struktura të kombinuara (3,4,5).

Proгноza e pacientëve me KMPQK në 67-80% të rasteve është e keqe e shprehur me mbijetesë të shkurtër (6,13,16,17). Në serinë e rasteve të studiuara nga Johanson (6), vetëm 25% e të sëmurëve mbijtuhan deri në 5 vjet, në studimin e Kamat (16) rezultojnë 22% me metastaza dhe

vetëm 19% me mbijetesë deri në 5 vjet, ndërsa në studimin e Amin (1,24) rezultojnë rreth 50% e rasteve me metastaza e 20% me mbijetesë 5 vjet.

Edhe pse ende nuk janë sqaruar plotësisht mekanizmat, që krijojnë këtë veçori morfologjike e këtë sjellje agresive (7), ndërkohë është konstatuar se mbi 50% e të sëmurëve me variantin mikropapillar të KQKVU me shprehje të p53 mutante, kanë ecuri progresive, bëjnë recidiva e të sëmurët kanë jetëgjatësi të shkurtër (39). Autorë të ndryshëm kanë verifikuar dhe marker të tjerë, si kateninat alpha, beta dhe gamma, që janë parametra të migrimit të qelizave neoplazike, por jo sinjifikative për karcinomën mikropapillare (7,39).

Nga studimi me citometri statike të rasteve me variantin mikropapillar të KQKVU me infiltrim periveshikal dhe me metastaza, rezultojnë me DNA aneuploidi, çka konfirmon agresivitetin e lartë, që karakterizon këtë neoplazi (8,23).

Në ecurinë natyrale të KQKVU, rezultojnë variacione në shprehjen e CD44s, një glukoproteinë polimorfe integrale e membranës qelizore, e cila kodifikohet nga një gen i vetëm në krahun e shkurtër të kromozomit 11, në bandën 13 (27). CD44s kryen funksione receptore, duke u implikuar në ndërlidhjen qelizë-qelizë dhe qelizë-matriks ekstraqelizor (30,31,32). Ligandi kryesor i CD44s është Hyalluronan, por ligand të tij janë dhe përbërës të tjerë të shtrojës ndërqelizore si kolageni IV, fibronektina, kondroitinsulfati, serglycina e laminina (27,32). Në urotelin normal CD44s identifikohet vetëm në qelizat e shtresës bazale, ndërsa në epitelin karcinomatous pëson variacione në shtrirje e në intensitetin e imunongjyrimin. Në KQKVU, ndodh humbje e imunoreaktivitetit membranor të CD44s, që bashkëshoqëron diferencimin tumoral, gradën histologjike, stadin

e avancuar patologjik, anormalitetet në DNA (27,30) dhe fenotipin (34). Pra në KQKVU, shprehja e CD44s ndryshon në varësi të tipit morfologjik, kështu që në neoplazinë uroteliale papillare me potencial të ulët malinjiteti e në papillomën uroteliale, ka shprehje difuze dhe intensive; në karcinomën me qeliza kalimtare të gradës I, shprehet në mënyrë të moderuar, ndërsa pakësohet në karcinomat e gradës II dhe pothuaj çduket në karcinomat e gradës III, ku ruan pozitivitet në grupe të izoluara qelizash (33,34,35,36). Humbja e CD44 vërehet dhe në karcinomën me qeliza të vogla të veshikës urinare, e konsideruar varianti me malinjitet më të lartë, çka orjenton për implikimin dhe të kësaj molekule në karcinogenezë (27,34). Shumë autorë referojnë pakësim progresiv të CD44s, që shkon paralel me rritjen e agresivitetit dhe të shkallës së malinjitetit të variantit mikropapillar të KQKVU (33,37).

Këto veçori morfologjike dhe imunohistokimike komplekse, na nxitën të prezantojmë rezultatet që morëm nga studimi i 12 rasteve me MPKQKVU, ku vlerësuar shprehjen e markers CD44s, CK20, si parametra të gradës së malinjitetit e të agresivitetit të neoplazisë; studiuam komponentet e membranës bazale si markerin endotelial CD31, kolagenin IV, për të vërtetuar se lakunat janë artefakte dhe jo vaza gjaku. Mbishprehja stromale e kolagenit IV, na ndihmoi të vlerësojmë raportet dhe rolin e këtij përbërësi në shpërbërjen e stromës, formimin e lakunave, zhvillimin e invazionit vaskular lokal dhe të metastazave.

Materiali dhe metodat

Materiali i studiuar përbëhet nga 12 raste me variantin mikropapillar të KQKVU, të cilët u seleksionuan nga analiza retrospektive e 543 rasteve me KQKVU, të diagnostikuara në periudhën 1995-2001 në Institutin e Anatomisë Patologjike-Universiteti i Sienës dhe të trajtuara në Departamentin e Urologjisë të Spitalit Universitar të Sienës.

Histopatologjia. Të gjitha kampionet e marra nga masa neoplazike, u fiksuan në formalinë 10%, u derdhën në parafinë dhe u proceduan me teknikat routine të ngjyritit me eozine-hematoksilinë për ekzaminim histopatologjik.

Përcaktimi i gradës histologjike u bazua në kriteret e klasifikimit WHO/ISUP-1999 (28),

ndërsa vlerësimi i stadeve u bazua në kriteret e sistemit TNM – UICC (29).

Pattern-i i rritjes mikropapillare u përcaktua në seksionet e ngjyrosura me eozine-hematoksilinë sipas kriterëve të rekomanduara nga Amin (1), që mund t'i përmbledhim në dy grupe dëmtimesh të mirëfillta: a) aglomerate qelizash neoplazike të ngjeshura, me pamje papillare të mbyllura në lakunat e matriksit stromal; b) rritje mikropapillare në sipërfaqe të epitelit, që imitojnë karcinomën papillare seroze të ovarit. Dëmtimet sipërfaqësore mund të mos jenë gjithmonë të pranishme, sidomos në rastet kur neoplazia është e ulçeruar.

Imunohistokimia. Seksionet e prera nga blloku i parafinës, me trashësi 3-5µ, u përdorën për ngjyrimet imunohistokimike, me metodën APAAP, që na ndihmoi të testojmë shprehjen e antitropave CD44s, CK20, markerin endotelial CD31 dhe kolagenin IV.

Teknika: Seksionet nga çdo rast të montuara në xhamat shtrues, u lanë të thahen në temperaturë 37° C gjatë natës. Me pas u çparafinuan në ksilol, u rihidratuan në alkool me disa kalime në gradë me rritje progresive dhe u shpërlanë në Tris Buffered Saline (TBS). Solucioni buffer u përdor për një shpëlarje të më vonëshme dhe për hollimin e antitropave. Seksionet indore u ngrohën në furrë me mikroonde për 5 minuta në 750 W në citrate buffer (pH 6). Më pas seksionet u shpërlanë në hydrogen peroxide 0,5% dhe u bllokuan me serum antirabbit të holluar 10% (DAKO). Në vazhdim, seksionet e veçanta indore u inkubuan për 1 orë në temperaturën e dhomës me antitropa anti-CD44, anti-CK20, anti-CD31, anti-kolagen IV, të holluara në proporcionet 1:800, dhe më pas u ruajtën për 30 minuta në temperaturën e dhomës, në solucion të holluar me përmbajtje antitropash anti-rabbit biotinylated (DAKO).

Në përfundim, seksionet indore i u nënshtruan procedurave sipas kriterëve ABC method (DAKO), duke u konservuar për 30 minuta në temperaturën e dhomës. Për substrat ngjyruar të seksioneve indore u përdor New Fuchsina. Pas shpërlarjes me TBS, seksionet indore u kundërngjyrosën me Mayer's Haematoxylin, u rishpërlanë me TBS dhe u montuan me aqueous mounting medium.

Kuantifikimi imunopatologjik: Rezultatet e imunongjyritit u vlerësuan në bazë të kriterëve

semikuantitative të shprehjes në intensitet e të shtrirjes së ngjyimit. Reaktiviteti imun u observua në mënyrë të pavarur nga dy anatomopatologë, të cilët nuk kishin asnjë të dhënë për aspektin klinik të pacientëve. Në çdo kampion tumoral u zgjodhën randomy së paku 20 fusha në seksione indore të plota. Reaksioni i imunongjyimit u klasifikua sipas shprehjes membranore për CD44s; shprehjes citoplazmatike për citokeratinën 20, si dhe të shprehjes stromale për kolagenin IV.

Rezultatet e intensitetit të ngjyimit u vlerësuan në bazë të përqindjes të pozitivitetit të shprehur në qelizat neoplazike dhe të shtrirjes në seksionet indore në bazë të kriterëve:

- a. mungesë imunongjyimi (-);
- b. imunoreaktivitet i shprehur nën 30% e qelizave, pozitivitet i lehtë (+),
- c. me shprehje nga 30 në 70% të qelizave - pozitivitet i moderuar(++)
- d. imunoreaktivitet i shprehur në mbi 70% e qelizave në seksion, pozitivitet i lartë (+++).

Statistika. Analiza statistikore u realizua duke zbatuar Sistemin Statistical Package Software - SPSS. Të gjitha seksionet u analizuan për prani ose mungesë pozitiviteti në imunongjyime. Në analizën e rasteve u përdorur square and Fisher's exact test.

Rezultatet

Histopatologjia: Nga analiza retrospektive e 543 rasteve me karcinoma me qeliza kalimtare të veshikës urinare me gradë të lartë malinjiteti (grada 3, sipas klasifikimit WHO/ISUP-1999) të diagnostikuara në periudhën 1995-2001, u seleksionuan 12 raste me komponent mikropapillar (2,2%). Mosha mesatare e të sëmurëve është 76 vjeç (range 48-89 vjeç), me mbizotërim të meshkujve ndaj femrave në raport 6:1.

Të gjitha rastet janë të stadit T3a, pra me gradë të lartë malinjiteti. Në ekzaminimin me eozina&hematoksilina, substrati morfologjik i KMPQK prezantohet me dy grupe lezionesh të mirëfillta:

a) aglomerate qelizash neoplazike të ngjeshura, të rritura në formë mikropapillash dytësore në brendësi të lakunave në matriksin ekstraqelizor. Qelizat neoplazike janë të tipit kuboidal, deri në qeliza kolonare, kanë bërthama uniforme, janë me gradë të lehtë ose ndërmjetëse diferencimi, janë të mbështetura mbi një aks

stromal delikat, ku konstatohet dhe proliferim miofibroblastesh. Këto struktura filiforme delikate të formuara nga grumbuj qelizash neoplazike, prezantohen në trajtë agregatesh mikropapillare, në brendësi të lakunave, të cilat në mikroskop fotonik kanë pamje aureole optikisht boshe (figura nr.1).

b) rritje mikropapillare në sipërfaqe të epitelit të hollë, që imitojnë karcinomën papillare seroze të ovarit (figura nr.2). Veçoritë citologjike të KMPQKVU, shprehin malinjitet të gradës 3°; epiteli neoplazik përbëhet me mbi 3 shtresa qelizash polimorfe, me polaritet të alteruar dhe me figura mitotike të shumta. Stroma neoplazike është edematoze dhe e infiltruar me elemente inflamatore kronike.

Në 11/12 raste neoplazia shprehet me invazion lokal në indin dhjamor periveshikal, ndërsa në 1/12 raste ka metastaza në mëlçi. Lezionet e CIS në epitelin fqinj me neoplazinë u identifikuan në 4 raste. Në 2/12 raste, komponenti mikropapillar përfshinë deri 20% të territorit të karcinomës me qeliza kalimtare, në 3/12 raste, shtrirja arrinë në 50-80% të territorit, ndërsa në 7/12 raste është më e gjërë, ku përfshinë mbi 85% të territorit.

Nga analiza morfologjike e metastazave në limfonodujt rajonal e në mëlçi, rezulton se komponenti mikropapillar mbizotëron në mbi 50% të territorit të indit metastatik. Në 3 raste ka ndodhur përsëritja lokale, 2 vjet pas rezeksionit të neoplazisë parësore.

Imunohistokimia: Grupi i 12 rasteve me KMPQKVU, u ekzaminua me imunohisto-kimi për të vlerësuar shprehjen e CD44s, të CK20, të CD31 dhe të kolagenit IV.

Analiza semikuantitative e shprehjes të CD44s rezultoj me imunoreaktivitet negativ në 10/12 raste ($p < 0.001$), por me pozitivitet të ruajtur në grupe qelizash të izoluara, ndërsa epiteli i karcinomës me qeliza kalimtare, manifeston pozitivitet intensiv dhe me shtrirje difuze (figura nr.3). Në një rast të keq diferencuar shprehja e CD44s rezulton me imuno reaktivitet të dobët (+), ndërsa një rast tjetër, CD44s shprehet me intensitet të moderuar membranor (++) ($p = 0.05$).

Shprehja e CK 20 rezulton pozitive intracitoplazmike në të gjitha rastet tona, çka dëshmonë se kjo citokeratine është një marker i ndjeshëm i diferencimit të uroteliumit dhe mbishprehja e saj në karcinomat e vijave urinare konsiderohet faktor me rol sinjifikativ për

ndjekjen e ecurisë natyrale të këtyre neoplazive, sidomos të recidivave.

Markeri endotelial CD31, rezultoj me reaktivitet negativ në të gjitha rastet (figura nr.4), çka konfirmon se lakunat nuk janë vaza gjaku dhe as vaza limfatike, por vetëm artefakte.

Shprehja e kolagenit IV, e gjetëm me një pozitivitet të lehtë e segmentar në paretet e lakunave, por difuz dhe intensiv në stromën e neoplazisë (figura nr.5), çka sugjeron impliki-min e tij në mekanizmat patogenetik të MPKQKVU.

Diskutimi

Varianti mikropapillar i KQKVU, takohet rallë dhe karakterizohet me sjellje klinike agresive dhe me prognozë të keqe. Tablloja morfologjike mbizotërohet nga arkitektura mikropapillare, brenda karcinomës me qeliza kalimtare të veshikës urinare (1,2,3,4). Komponenti mikropapillar përbëhet nga dy tipe lezionesh: a) mikropapilla dytësore të shumta të vendosura në matriksin ekstraqelizor, në trajtë aglomeratesh ose në agregate të mbyllura në lakuna boshe; b) rritje mikropapillare në sipërfaqe të epitelit të hollë, që imitojnë karcinomën papillare seroze të ovarit (1,5,6,7,24,25). Dëmtimet sipërfaqësore mund të mos jenë gjithmonë të pranishme, sidomos kur neoplazia është e ulçeruar (1,2,3).

Për herë të parë u përshkrua nga Amin më 1941 (1) e deri tani janë publikuar rreth 140 raste (1-40), të cilave u shtohen dhe 12 rastet tona, të prezantuara në këtë punim.

Nga analiza retrospektive e një kohorte prej 543 rastesh me karcinoma me qeliza kalimtare të veshikës urinare me gradë të lartë malinjiteti (grada 3, WHO/ISUP-1999) të diagnostikuara në periudhën 1995-2001, seleksionuam 12 raste (2,2%) me përmbajtje komponentin mikropapillar. Shumë autorë të tjerë (6, 12, 16, 24), që e kanë identifikuar variantin mikropapillar me metodika studimore retrospektive në materiale konsistente me karcinoma të veshikës urinare, referojnë të dhëna të përafërta rastisje (0,7-3,6%).

Pacientët tanë me KQKVU janë më shumë meshkuj se femra, në raport 6:1, raporte të njëjta me ato që referojnë dhe autorë të tjerë (1,6,12,16,25). Mosha mesatare e të sëmurëve tanë rezultoi 76 vjeç (range 48-89 vjeç), çka orienton se ashtu si ndodh në përgjithësi me karcinomat e tjera të veshikës urinare dhe varianti

mikropapillar i KQKVU, prek kryesisht subjektet e moshuar (tabela nr.1) (1-26).

Të gjitha rastet janë të stadit T3a, pra me gradë të lartë malinjiteti. Në 11/12 raste neoplazia shprehet me invazion lokal në indin dhjamor periveshikal e pelvik, ndërsa 1/12 raste ka metastaza në mëlçi. Lezionet e CIS në epitelin fqinj me neoplazinë u identifikuan të pranishme në 4 raste. Në 2/12 raste, komponenti mikropapillar shtrihet deri në 30% të territorit të karcinomës me qeliza kalimtare, në 3/12 raste, shtrirja përfshinë rreth 40-80% të territorit, ndërsa në 7/12 raste është më e gjërë, ku përfshinë mbi 85% të territorit. Në një studim (24), konstatohet se në 20% të rasteve komponenti mikropapillar shtrihet në mbi 90% të masës neoplazike, në 50% të rasteve prek 50-90% të territorit dhe në 30% të rasteve shtrihet në masën 25-50% të territorit.

Modeli morfologjik i karcinomave mikropapillare, është përshkruar dhe në organe të tjera, si në ovare (karcinoma papillare seroze e ovareve) (1,19,38), në gjëndërrat e qumështit (karcinoma duktale invazive mikropapillare) (4,20), në tyroide (karcinoma difuze papillare me përbërës mikropapillar) (14,22), në gjëndërrat salivare (adenokarcinoma me komponent mikropapillar) (21), në mushkëri (adenokarcinoma mikropapillare) (25) etj. Në këto organe, ashtu si në veshikën urinare, karcinomat mikropapillare manifestohen me sjellje klinike tepër agresive (9), zhvillojnë invazion vaskular, që është i pranishëm gjithmonë në periferi të neoplazisë (4) dhe japin metastaza (1-26).

Në varianti mikropapillar të KQKVU, qelizat neoplazike kanë aftësi të përçajnë e të zëvendësojnë matriksin stromal, duke krijuar struktura lakunare, që imitojnë vazat e gjaku dhe vazat limfatike (1,2,24). Rritjet mikropapillare në brendësi të lakunave stromale, gradualisht invadojnë paretin veshikal dhe indet e buta për rreth dhe vazat periferike. Nga këto karakteristika morfologjike, varianti mikropapillar i karcinomës me qeliza kalimtare, në ekzaminimin ekografik prezantohet si densitet indor i shtuar në paretin e veshikës dhe në fashën retroperitoneale të paretit veshikal, çka ndryshon nga modeli klasik i karcinomës me qeliza kalimtare të veshikës urinare, ku proliferimi qelizor formon masa ekzofite makro-

papillare në brendësi të lumenit të veshikës urinare (9).

Aftësia e qelizave neoplazike KMPQKVU të alterojnë në mënyrë dinamike shprehjen stromale të kolagenit IV dhe të lamininës, favorizon shpërndarjen e qelizave kanceroze në paretin e veshikës, në hapsirën periveshikale, invadimin e vazave të gjakut dhe në zhvillimin e metastazave (23,40). Dihet se kolageni IV ka aftësi të nxisi proliferimin, adezionin dhe migrimin e qelizave më shumë se kolageni I (6,16,23). Kolageni IV në KMPQK është faktor që modifikon stromën, duke i krijuar mundësi qelizave neoplazike të lëvizin e të përçajnë matriksin e organit, të krijojnë lakuna e kësisoj në këtë terren të brishtë favorizohet rritja lokale e në trajtë mikropapillare e qelizave neoplazike, madje me tej arrijnë të infiltrojnë paretin e veshikës e të migrojnë, duke dhënë metastaza në limfo-nodujt rajonal e në organe të tjera në distancë (23,40), si në rastin tonë në mëlçi.

Në ekzaminimin imunohistokimik të materialit tonë, në të gjitha rastet konstatuam në stromën e neoplazisë mbishprehje difuze të kolagenit IV (figura nr.6), madje konstatuam se fragmente fibrash kolagene vendosen në segmente të vogla mbështetëse në paretet e lakunare, por jo si elemente strukturale, thjeshtë si karkas parciale. Mbishprehja stromale e kolagenit IV, orjenton implikimin e tij në mekanizmat morfopatogenetik të variantit mikropapillar të KQKVU. Prania dhe roli kritik i kolagenit IV në zhvillimin e variantit mikropapillar, është vërtetuar dhe në karcinomat e ovarit e në karcinomën e mëlçisë ku, në këtë të fundit, ky komponent ndikon në rritjen e duktuseve biliare (1,19,24,26,38). Shtimi i kolagenit IV në stromën e rreth lakunave, është rrethanë mjedisore e rëndësishme që influencon në rritjen dhe lëvizjen e qelizave neoplazike, në invazionin e zhvillimin e metastazave të KMPQK (23). Në karcinomën mikropapillare të gjirit, pozitiviteti imuno-reaktiv i shprehjes së kolagenit është në ndërvare si me rritjen e përmasave të neoplazisë, por në varësi të kundërt me praninë e receptorëve estrogenik (ER) dhe statusin e receptorëve PgR (4).

Për të studiuar natyrën e këtyre strukturave lakunare, për të verifikuar nëse janë vaza gjaku apo limfatike, shumë autorë kanë studiuar përbërësit struktural të membranës bazale,

sidomos markerin endotelial CD31, kolagenin IV dhe lamininën (7,19,21,33,34). Rezultatet e hulumtimeve histopatologjike dhe në mikroskopi elektronike, kanë sugjeruar se hapësirat me përmbajtje qelizash neoplazike, nuk janë vaza gjaku dhe as vaza limfatike, por thjesht artefakte lakunare, që ndryjnë brenda struktura neoplazike papilliforme (2-10). Për të verifikuar këtë konstatim, përdorëm antitruapat anti CD31, që rezultuan negative në të gjitha rastet e materialit tonë, çka konfirmon se lakunat nuk janë vaza gjaku.

KMPQK janë tepër agresive e shoqërohen me invazion vaskular, që është gjithmonë i pranishëm në periferi të neoplazisë (3,4,5). Gjithashtu, variantet mikropapillare në faza të avancuara, kanë prirje të lartë për të dhënë metastaza në limfonodujt rajonal e në faza të avancuara dhe në organe të tjera (3,4). Struktura histologjike e metastazave mund të jetë e përbërë tërësisht nga komponenti mikropapillar, çka shpesh sugjestionon diagnozën e gabuar, pasi konsiderohen neoplazi parësore të organit ku gjendet. Në një numër rastesh, metastaza mund të përbëhet dhe nga struktura të kombinuara (3). Në rastin tonë, metastaza në mëlçi në mbi 90% të territorit, përbëhet nga komponenti mikropapillar.

Proгноza e pacientëve me KMPQK ne 67-80% të rasteve është e keqe. Në serinë e rasteve të studiuar nga Johanson (6), vetëm 25% e të sëmurëve mbijtuam deri në 5 vjet, në studimin e Kamat (16) rezultojnë 22% me metastaza dhe vetëm 19% me mbijetesë deri në 5 vjet, ndërsa Amin (1,24,25) konstaton rreth 50% të rasteve me metastaza dhe 20% me mbijetesë deri 5 vjet. Në analizën e materialit tonë, rezultojnë se 3 pacienta (25%) kishin mbijetesë deri në 5 vjet. Të dhëna të përafërta referojnë dhe autorë të tjerë (2,4,7,9,12).

Në ecurinë natyrale të karcinomës me qeliza kalimtare të veshikës urinare, me rritjen e shkallës së malinjitetit dhe të agresivitetit, rezultojnë ndryshueshmëri e shprehjes të CD44, e cila është një molekulë adezive e qelizave uroteliale (PgP-1, ECM III, Hermes antigen), një glukoproteinë-polimorfe e membranës qelizore, me multifunksione receptore e implikuar në nderlidhjen qelizë-qelizë si dhe qelize-matriks ekstraqelizor (ECM), etj (27,30,31,32). Acidi Hyaluronik, një ndër komponentet e matriksit ekstraqelizor është ligandi kryesor i CD44, ndërsa

ligande të tjerë të CD44 janë dhe përbërësit e ECM si kolageni IV, fibronektina, kondroitin sulfati dhe laminina. Në epitelin normal të veshikës urinare CD44s identifikohet vetëm në qelizat e shtresës bazale, ku ka shprehje mikrofibrilare membranore (27). Ndryshueshmëria e shprehjes së CD44 është raportuar në tipa të ndryshëm kanceresh epitelial human dhe në limfomat malinje (33,34,35,36). Shumë autorë kanë konstatuar se me progresimin e karcinomës me qeliza kalimtare të veshikës urinare, ndodh humbje sinjifikative e shprehjes së imunoreaktivitetit të CD44s, një situatë kjo që bashkëshoqëron diferencimin tumoral, gradën histologjike, stadin e avancuar patologjik, anormalitete në DNA nga qelizat neoplazike dhe fenotipin agresiv (33,34,36,37). Genproteina CD44s ka shprehje difuze në papillomën e veshikës, në neoplazinë uroteliale papillare me potencial të ulët malinjiteti (PUNLMP), ka shprehje të moderuar (40–70% të seksioneve) në karcinomën e gradës I, ndërsa ulët madje fillon të humbasi në karcinomat me gradën e II dhe të tretë të malinjitetit, ku ruan pozitivitet në grupe të izoluar qelizash, deri në çdukje të plotë në fusha të gjëra të seksioneve (33,34). Humbja e CD44 vërehet dhe në variantin me qeliza të vogla të karcinomës së veshikës urinare, që konsiderohet varianti me malinjitetin më të lartë ndërmjet karcinomave të veshikës urinare (31).

Analiza semikuantitative e shprehjes të CD44s rezultoj me imunoreaktivitet negativ në 10/12 raste ($p < 0.001$), por me pozitivitet të ruajtur në grupe qelizash të izoluar, ndërsa epiteli i karcinomës me qeliza kalimtare, që është

komponent përbërës i neoplazisë, manifeston pozitivitet intensiv dhe me shtrirje difuze (figura nr.3). Në një rast i keq diferencuar, shprehja e CD44s rezulton me imunoreaktivitet të dobët (+), ndërsa në një rast tjetër, CD44s shprehet me intensitet të moderuar membranor (++) ($p = 0.05$).

Cytokeratina 20 (CK20) është një marker i ndjeshëm i diferencimit të urotelit dhe shprehja e saj në karcinomat me qeliza kalimtare të vijave urinare, është konsideruar si i vetmi faktor me efekt sinjifikativ për ndjekjen e ecurisë natyrale të këtyre neoplazive, sidomos të recidivave të neoplazisë pas rezeksionit kirurgjikal (26).

Në punimin tonë, duke përdorur antitruat monoklonal anti CK20, gjetëm imunoreaktivitet pozitiv intracitoplazmik në të gjitha rastet tona, çka dëshmon se kjo citokeratine është një marker i ndjeshëm i diferencimit të urotelit dhe mbishprehja e saj në KMQKVU, konsiderohet faktor me rol sinjifikativ për ndjekjen e ecurisë natyrale të këtyre neoplazive, sidomos të recidivave.

Konkluzione: Varianti mikropapillar i karcinomës me qeliza kalimtare të veshikës urinare, është neoplazi e rrallë, e shprehur me gradë të lartë malinjiteti, me invazion vaskular, me zhvillim metastazash, me prognozë të keqe dhe mijetesë të shkurtër. Humbja progresive e CD44s, mbishprehja difuze e CK20 dhe shprehja stromale e kolagenit IV, janë parametra morfologjike, që shprehin sjelljen agresive, invazionin lokal dhe praninë e metastazave të karcinomës mikropapillare të veshikës urinare. Mungesa e imunongjyrimit për komponentin endotelial CD31, dëshmon se strukturat lakunare nuk janë vaza gjaku, por artefakte.

Figura nr.1 Struktura mikropapillare të vendosura në brendësi të lakunave

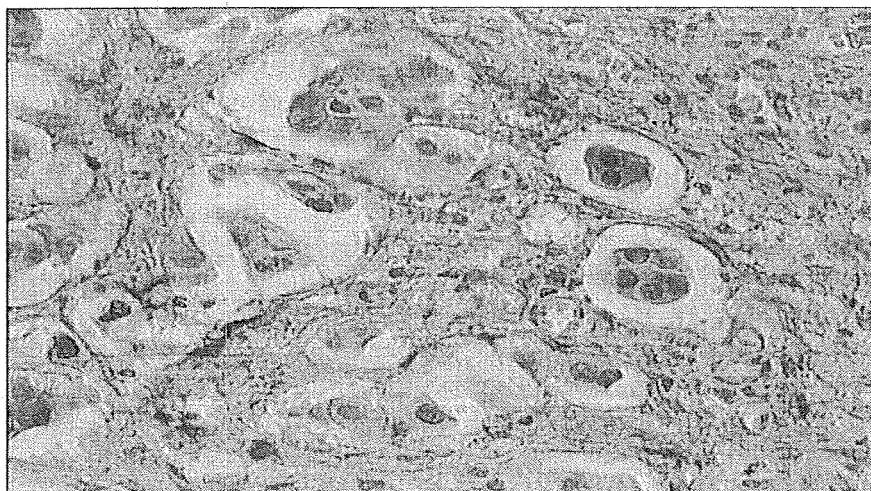


Figura nr.2 Rritjet papillare në sipërfaqen e epitelit neoplazik

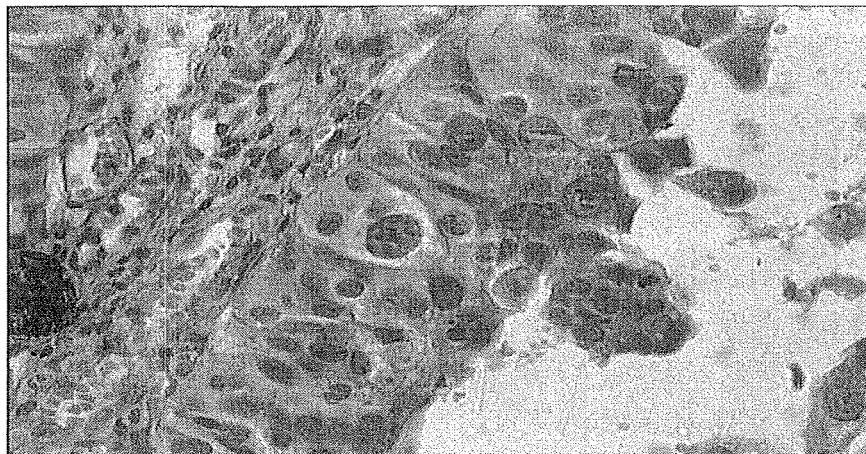


Figura nr.3 Strukturat mikropapillare (MP) rezultojnë negative në imunongjyrimin me antitrupa monoklonal anti CD44s, ndërsa pjesa e neoplazisë me qeliza kalimtare (KQK) është e ngjyrosur intensivisht

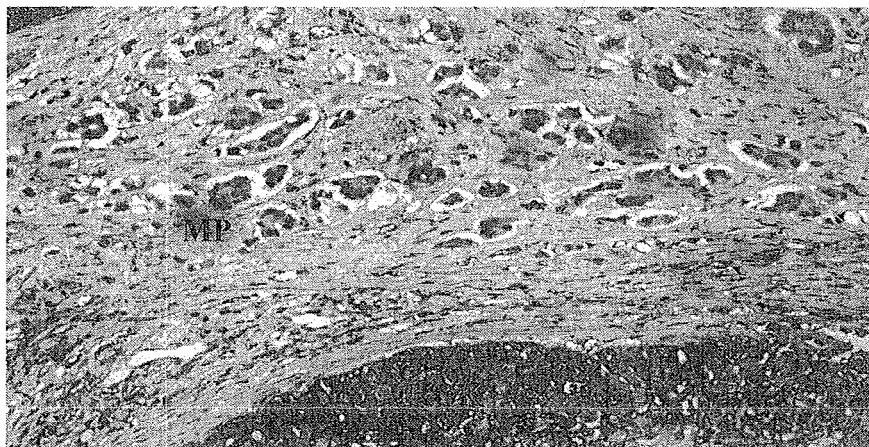


Figura nr.4 Tufa të gjëra kolageni të tipit IV, me imunoreaktivitet intensiv ndaj antitropave monoklonale antikolagen IV, rrethojnë çerdhet e qelizave neoplazike (lakunat me përmbajtje strukturash mikropapillare

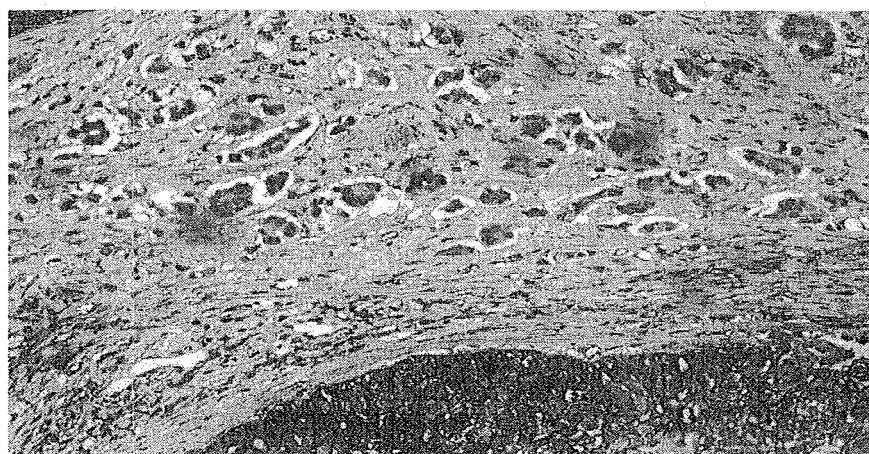
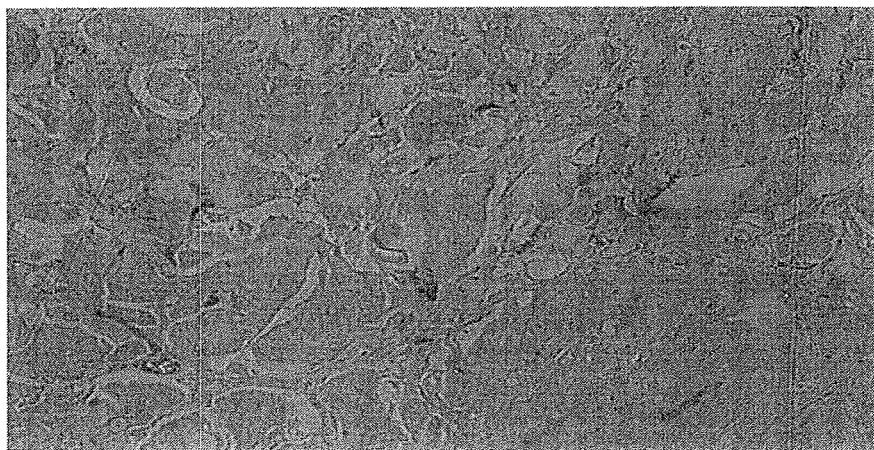


Figura nr.5 Imunongjyrimi me antitrupa anti CD31 rezulton negativ në paretet e lakunave, çka dëshmon se këto struktura janë artefakte



BIBLIOGRAFIA

1. Amin MB, Ro JY, el-Sharkawy T., Lee KM, Troncoso P., Silva EG, Ordóñez NG and Ayala AG: Micropapillary variant of transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Histologic pattern resembling ovarian papillary serous carcinoma. Am J Surg Pathol. 18: 1224 - 1232., 1994.
2. Lopez JI, Elorriaga K., Imaz I., Bilbao FJ: Micropapillary transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Histopathology. 34: 561-2, 1999.
3. Baschinsky DY, Chen JH, Vadmal MS, Lucas JG, Bahnson RR, Niemann TH: Carcinosarcoma of the urinary bladder an aggressive tumor with diverse histogenesis. A clinicopathologic study of 4 cases and review of the literature. Arch Pathol Lab Med. 124: 1172 - 1178., 2000.
4. Ramalingam P., Middleton LP, Tamboli P., Troncoso P., Silva EG, Ayala AG.: Invasive micropapillary carcinoma of the breast metastatic to the urinary bladder and endometrium: diagnostic pitfalls and review of the literature of tumors with micropapillary features. Ann Diagn Pathol. 2003 Apr; 7 (2): 112 - 119.
5. Dominici A., Nesi G., Mondaini N., Amorosi A., Rizzo M: Skin involvement from micropapillary bladder carcinoma as the first clinical manifestation of metastatic disease. Urol Int. 67: 173 - 174, 2001.
6. Johansson SL, Borghede G., Holmang S.: Micropapillary bladder carcinoma: a clinicopathological study of 20 cases. J Urol. 161: 1798 - 1802., 1999.
7. Maranchie JK, Bouyounes BT, Zhang PL, O'Donnell MA, Summerhayes IC, DeWolf WC: Clinical and pathological characteristics of micropapillary transitional cell carcinoma: a highly aggressive variant. Journ. Urol. 163: 748 - 751, 2000.

8. Oh DJ, Martinez AR, Lee GM, Francis K., Palsson BO: Extension of osmolarity-induced podia is observed from fluorescently labeled hematopoietic cell lines in hyperosmotic medium [In Process Citation]. *Cytometry*. 40: 109-18, 2000.
9. Koji Nishizawa, Takashi Kobayashi et al.: Micropapillary bladder cancer. *International Journal of Urology*. Vol. 12 Issue 5; 506, 2005.
10. Vang R., Abrams J.: A micropapillary variant of transitional cell carcinoma arising in the ureter. *Arch Pathol Lab Med*. 124: 1347 - 1348., 2000.
11. Ylagan LR, Humphrey PA: Micropapillary variant of transitional cell carcinoma of the urinary bladder: a report of three cases with cytologic diagnosis in urine specimens. *Acta Cytol*. 45: 599 - 604., 2001.
12. Alvarado-Cabrero et al.: Micropapillary carcinoma of the urothelial tract. A clinicopathologic study of 38 cases. *Ann Diagn Pathol*. 2005 Feb;9 (1): 1-5
13. Ripa Saldias L., Guarch Troyas, Hualde Alfaro A., De Pablo Cárdenas A., Pinós Paul M., Santiago González de Garibay A.: Micropapillary carcinoma of the bladder: case report and review of the literature: *Actas Urol Esp*. 2005 Apr; 29 (4):408-413
14. Cetta F., Toti P., Alia L., Dharmo A.: Thyroid carcinoma (paillary variant associated with familial adenomatous polyposis. *Inter. Congress of Oncology*. Prishtina 2004
15. Dhouib RS, Abbes I., Mrad K., Sassi S., Leila A., Driss M., Salah R., Romdhane KB.: Micropapillary transitional cell carcinoma of the urinary bladder: report of two cases: *Pathologica*. 2005 Oct; 97(5): 338-340.
16. Kamat AM, Gee JR, Dinney CP, Grossman HB, Swanson DA, Millikan RE et al.: The case for early cystectomy in the treatment of nonmuscle invasive micropapillary bladder carcinoma. *Journ. Urol*. 2006 Mar; 175 (3 Pt1): 881-885.
17. Kuroda N., Tamura M., Ohara M., Hirouchi T., Mizuno K., Miyazaki E.: Invasive micropapillary carcinoma of the urinary bladder: an immunohistochemical study of neoplastic and stromal cells: *Int J Urol*. 2006 Jul;13 (7):1015-1018.
18. Charfi S., Moussa A., Njim L., Toffahi M., Hadhri R., Mahmoudi H., Zakhama A.: Micropapillary bladder carcinoma. *Prog Urol: Nov*; 16 (5): 607-609, 2006.
19. Piura B., Rabinovich A., Yanai-Inbar I.: Micropapillary serous carcinoma of the ovary: case report and review of literature. *Eur J Gynaecol Oncol*. 21:374-6, 2000.
20. Nassar H., Wallis T., Andea A., Dey J., Adsay V., Visscher D.: Clinicopathologic analysis of invasive micropapillary differentiation in breast carcinoma. *Mod Pathol*. 14: 836-841, 2001.
21. Michal M., Skalova A., Mukensnabl P.: Micropapillary carcinoma of the parotid gland arising in mucinous cystadenoma. *Virchows Arch*. 437: 465 - 468., 2000.
22. Carcangiu ML Bianchi S: Diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. Clinicopathologic study of 15 cases. *Am J Surg Pathol*. 13: 1041 - 1049., 1989.
23. Ioachim E., Charchanti A., Briasoulis E., Karavasilis V., Arvanitis DL et al.: Immunohistochemical expression of extracellular matrix components tenascin, fibronectin, collagen type IV and laminin in breast cancer: their prognostic value and role in tumour invasion and progression. *Eur J Cancer*. 38: 2362 - 2370, 2002
24. Amin MB, Ro JY, el-Sharkawy T., Lee KM, Troncoso P., Silva EG, Ordonez NG, Ayala AG: Micropapillary variant of transitional cell carcinoma of urinary bladder. Histologic pattern resembling ovarian papillary serous carcinoma. *Am J. Surg Pathol*. 26:358-364, 2003.
25. Amin MB, Tamboli P., Merchant SH, Ordonez NG, Ro J., Ayala AG and Ro JY: Micropapillary component in lung adenocarcinoma: a distinctive histologic feature with possible prognostic significance. *Am J Surg Pathol*. 26:358-364, 2002.
26. Hong SP, Park SW, Lee SJ, Chung JP, Song SY, Chung JB, Kang JK, Cho NH: Bile duct wall metastasis from micropapillary variant transitional cell carcinoma of the urinary bladder mimicking primary hilar cholangiocarcinoma. *Gastrointest Endosc*. 56:756-760, 2002.
27. Goodison S., Urquidi V., Tarin D.: CD44 cell adhesion molecules. *Mol Pathol*. 52: 189-196, 1999.
28. Christer Busch, Ferran Algaba: The WHO/ISUP 1998 and WHO 1999 systems for malignancy grading of bladder cancer.

- Scientific foundation and translation to one another and previous systems. *Virchows Archives*. 441: 105 – 108, 2002
29. International Union against Cancer, Harmer MH and International Union against Cancer. Committee on TNM Classification: TNM classification of malignant tumours. Geneva, The Union, 1978, pp 152.
30. Higashikawa K., Yokozaki H., Ue T., Taniyama K., Ishikawa T., Tarin D., Tahara E.: Evaluation of CD44 transcription variants in human digestive tract carcinomas and normal tissues. *Int J Cancer*. 66: 11 - 17, 1996.
31. Harabin-Slowinska M., Slowinski J., Konecki J., Mrowka R: Expression of adhesion molecule CD44 in metastatic brain tumors. *Folia Neuropathol*. 36: 179-184, 1998.
32. Rochman M., Moll J., Herrlich P., Wallach SB, Nedvetzki S., Sionov RV, Golan I., Ish-Shalom D., Naor D.: The CD44 receptor of lymphoma cells: structure-function relationships and mechanism of activation. *Cell Adhes Commun*. 7: 331-347, 2000.
33. Desai S., Lim SD, Jimenez RE, Chun T., Keane TE, McKenney JK, Zavala-Pompa A., Cohen C., Young H., Amin MB: Relationship of cytokeratin 20 and CD44 protein expression with WHO/ISUP grade in pT_apT₁ papillary urothelial neoplasia. *Mod Pathol*. 13: 1315 - 1323, 2000.
34. Alia L.: Expression of the CD44 cell adhesion molecule in urinary bladder of transitional cell carcinoma. *Rev. Med*. 2002, 2, 7 - 20.
35. Sugino T., Gorham H., Yoshida K., Bolodeoku J., Nargund V., Cranston D., Goodison S., Tarin D.: Progressive loss of CD44 gene expression in invasive bladder cancer. *Am J Pathol*. 149: 873 - 882, 1996.
36. Iczkowski KA, Shanks JH, Bostwick DG: Loss of CD44 variant 6 expression differentiates small cell carcinoma of urinary bladder from urothelial (transitional cell) carcinoma. *Histopathology*. 32: 322 - 327, 1998.
37. Harnden P., Mahmood N., Southgate J.: Expression of cytokeratin 20 redefines urothelial papillomas of the bladder. *Lancet*. 353: 974 - 977, 1999.
38. Capo-Chichi CD, Smith ER, Yang DH, Roland IH, Vanderveer L., Cohen C., Hamilton TC, Godwin AK, Xu XX: Dynamic alterations of the extracellular environment of ovarian surface epithelial cells in premalignant transformation, tumorigenicity, and metastasis. *Cancer*. 95: 1802 - 1815, 2002.
39. Esrig D., Elmajian D., Groshen S., Freeman JA, Stein JP, Chen SC, Nichols PW, Skinner DG, Jones PA, Cote RJ.: Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *N Engl J Med*. 1994 Nov 10;331(19):1259-64
40. Chen Y., Satoh T., Sasatomi E., Miyazaki K., Tokunaga O.: Critical role of type IV collagens in the growth of bile duct carcinoma. In vivo and in vitro studies. *Pathol Res Pract*. 197: 585 - 596, 2001.