

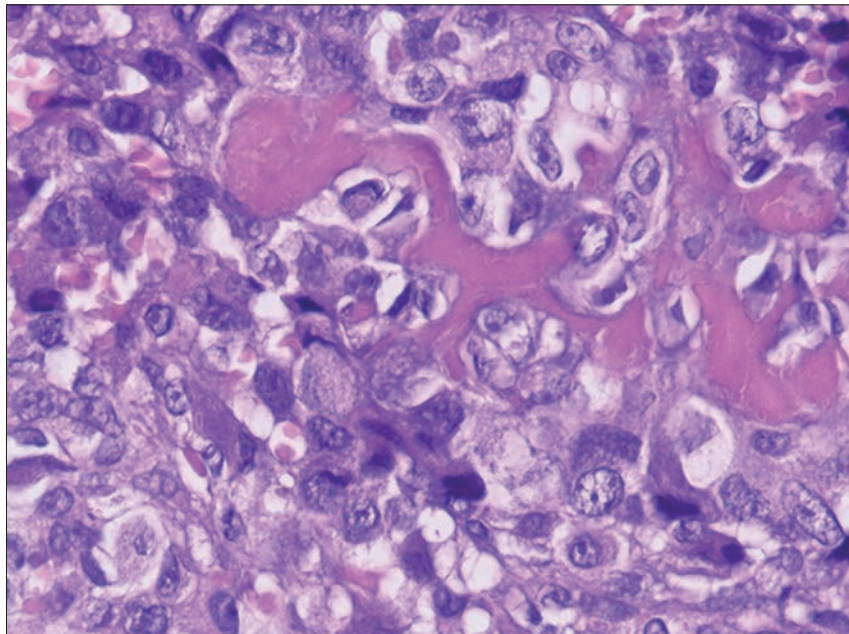
Kostniakomięsak u psów

Rafał Sapieryński

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Kostniakomięsak (osteosarcoma, OSA) jest nowotworem, którego komórki (nowotworowe osteoblasty) produkują nowotworowy osteoid lub nowotworową

kość (**ryc. 1**). Zarówno jakość, jak ilość owej macierzy może się znacznie różnić w poszczególnych przypadkach (1). W wielu przypadkach produkcja macierzy przez



Ryc. 1. Obraz mikroskopowy kostniakomięsaka – widoczne atypowe komórki o morfologii mezenchymalnej oraz macierz pozakomórkowa w formie beleczek osteoidu (różowe nieregularne pasma). Barwienie hematoxylina-eozyna, powiększenie 400×

komórki nowotworowe jest skąpa lub wielogniskowa, dlatego też obraz histologiczny kostniakomięsaków bywa różny, co ma odzwierciedlenie w różnorodności histologicznej kostniakomięsaków – patrz dalej (1). Kostniakomięsaki to najpowszechniejsze pierwotne nowotwory kości rozpoznawane u psów (około 85–98% wszystkich nowotworów kości u psów), w samych Stanach Zjednoczonych rozpoznaje się około 10 tys. nowych przypadków rocznie, oszacowano też, że rocznie stanowi to około 13,9 nowych przypadków OSA na każde 100 tys. psów (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Uważa się, że kostniakomięsak psów to jeden z najbardziej złośliwych nowotworów znanych w medycynie weterynaryjnej, z wysoką tendencją do wznowy i występowania przerzutów, są to zmiany szybko rosnące i powodujące powstawanie objawów klinicznych zależnych od lokalizacji i tempa wzrostu guza (1).

Przyczyny powstawania kostniakomięsaków są niejasne, do potwierdzonych lub możliwych czynników etiologicznych zalicza się: narażenia na promieniowanie jonizujące, powtarzające się drobne urazy i zawały kości. Podczas poszukiwania możliwych czynników odpowiedzialnych za rozwój OSA u psów oceniono wpływ narażenia na związki fluorowe zawarte w wodzie pitnej (taki związek podejrzewano u ludzi), jednak nie wykazano takiej zależności (8). Postulowany w przeszłości związek pomiędzy rozwojem kostniakomięsaków u psów a obecnością metalowych implantów lub płyt stosowanych do leczenia złamań kostnych, potwierdzono ostatnio w trakcie

długookresowych obserwacji, wydaje się jednak, że ryzyko rozwoju OSA w miejscu interwencji chirurgicznej jest niewielkie. Jedynie u 0,0008% psów, u których wykonywano otwarty zabieg chirurgiczny w leczeniu złamania kości, pojawił się złośliwy nowotwór kości (9, 10). Jako możliwe mechanizmy odpowiedzialne za rozwój kostniakomięsaków w miejscu obecności metalowych implantów wymienia się mutagenne działanie związków uwalnianych do tkanek ze skorodowanego wszczepu lub też prowokowanie przewlekłego stanu zapalnego w obrębie otaczających tkanek, w tym szpiku kostnym, w których odbywa się przewlekły proces naprawczy – proliferujące w tym obszarze komórki mogą być podatne na mutacje genetyczne. Jednak ostatnie badania nie wykazały, aby proces gojenia się kości wpływał na wzrost ryzyka rozwoju OSA (9). Z drugiej strony, opisano też przypadek kostniakomięsaków tkanek miękkich, który rozwinął się u psa w miejscu wcześniejszej iniekcji podskórnej (tkanka podskórna okolicy międzyłopatkowej), co sugeruje możliwość rozwoju kostniakomięsaka w obrębie obszaru objętego przewlekłym procesem zapalnym, jaki pojawia się po iniekcjach podskórnych (podobnie jak ma to miejsce u kotów; 11).

Wieloletnie badania wskazują na związek pomiędzy rozwojem kostniakomięsaków u psów z występowaniem zaburzeń/mutacji genetycznych w obrębie takich genów, jak *PTEN*, *Rb1*, *c-MET* (gen receptora dla czynnika wzrostu hepatocytów), *erb-B2* (gen koduje receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu – HER-2), *MYC*, *c-KIT* oraz *TP53*, a także zaburzeń ekspresji genów kodujących czynniki zaangażowane w ścieżki przekazywania sygnałów szlaku Wnt i szlaku apoptozy oraz zmian w aktywności telomerazy czy survivaliny (3, 12, 13). Wykazano też, że niektóre z tych mutacji występują powszechnie w komórkach kostniakomięsaków u psów i, co więcej, niektóre z nich wydają się mieć znaczenie rokownicze (14). Lepsze poznanie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw rozwoju, wzrostu i szerzenia się komórek kostniakomięsaków daje możliwość zastosowania wyników uzyskanych badań w terapii celowanej, w której blokuje się działanie swoistych cząstek chemicznych zaangażowanych w nowotworzenie (12, 13, 14). Zapewne pomocne w takich badaniach będą efekty pracy badaczy z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, którzy opracowali model badawczy do badań *in vivo* – uzyskali wzrost komórek psiego kostniakomięsaka (unaczynionego guza nowotworowego) na błonie omoczniowo-kosmówkowej zarodka kurzego (15).

Występowanie i epidemiologia

W analizie epidemiologicznej przeprowadzonej w oparciu o dane z krajowego rejestru nowotworów u zwierząt w Szwajcarii wśród prawie 68 tys. nowotworów rozpoznanych u psów, kostniakomięsaki i kostniaki stanowiły 1,24% wszystkich przypadków (16). Brak jest jednoznacznych dowodów na związek pomiędzy płcią psa a zwiększonym ryzykiem pojawienia się u niego kostniakomięsaka (1, 9, 17, 18). W badaniach własnych, które obejmowały 120 psów z rozpoznaniem kostniakomięsakiem, nowotwory rozpoznawano nieco częściej u samic (56%), bez różnicy wieku w zależności od płci chorego psa (6). W badaniach autorów szwajcarskich nie stwierdzono predyspozycji płci do występowania guzów kości, jednak stwierdzono podwyższone ryzyko u kastrowanych samców (16), a w innym opracowaniu ponad połowa z 54 psów z kostniakomięsakiem była psami kastrowanymi (4).

Kostniakomięsaki rozpoznaje się głównie u psów starszych, średnia wieku psów z kostniakomięsakiem wyniosła w badaniach własnych 8,7 roku, w zakresie od 9 miesięcy do 19 lat (6), podobne wyniki (mediana od 7 do 10 lat) podają inni autorzy (4, 5, 7, 8, 9, 18, 19, 20, 21, 22). Wydaje się, że ryzyko rozwoju OSA u psów jest wyższe u osobników starszych niż 6 lat i nie zwiększa się wraz ze starzeniem się osobnika, co więcej, w ostatnio publikowanych badaniach nie wykazano, aby występował podwójny pik zachorowalności, jak to opisywano w starszych opracowaniach (1, 16). Nie stwierdzono też różnicy odnośnie do wieku pomiędzy pasami rasowymi i mieszaneściami, chociaż istnieją doniesienia, że guzy kości w dużych psów występują nieco wcześniej niż u osobników ras małych (1, 6). Kostniakomięsaki tkanek miękkich występują u psów starszych niż kostniakomięsaki kości, średni wiek pacjentów waha się w granicach 10,5–11,5 roku.

Kostniakomięsaki to w zdecydowanej większości choroba psów ras dużych i olbrzymich, ze średnią masą ciała 30–38,5 kg, oszacowano też, że ryzyko zachorowania na kostniakomięsaka u psów o masie ciała wyższej niż 36 kg jest 60,9 razy większe niż u psów ras małych (4, 5, 7, 8, 19, 20, 21). Do ras psów predysponowanych do OSA należą: rottweilery (w badaniach własnych prawie 20% psów z rozpoznaniem OSA), golden retrievery, labradory, bernardyny, dogi niemieckie, setery irlandzkie, pointerzy, doberman, bokserzy, sznauclery olbrzymie, cane corso, leonbergery, owczarki niemieckie, charty rosyjskie, greyhoundy, owczarki kaukaskie i owczarki szkockie collie (4, 5, 6, 7, 8, 19, 20, 21). W badaniach własnych mieszańce okazały się niedoreprezentowane, z kolei jako czynnik ryzyka

Osteosarcoma in dogs

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

This article aims at the presentation bone tumor in dogs. Osteosarcoma (OSA), is the most common, primary bone-producing malignant tumor, recognized in canine and also in feline patients. It is rare in other species. It's usual features are very aggressive behavior with massive destruction in primary site and rapid pulmonary metastases, present in majority of affected dogs. Appendicular skeleton (especially distal humerus or femur and proximal radius or tibia), is the most common site of tumor development, followed by axial skeleton (with predominance of skull bones), and extraskeletal sites (mammary glands are usually affected). Large and giant breeds are most frequently affected. Rottweilers, Greyhounds, Great Danes, Saint Bernards, Doberman Pinchers, Irish Setters, Golden Retrievers and German Shepherds are in the increased risk of OSA development. The first step of diagnostic process is fine-needle aspiration biopsy and cytological examination. In some cases however, histopathology of tissue samples collected during surgical procedures is necessary. Diagnostic imaging, including chest radiography or computed tomography, should be performed in every patient with OSA together with cytology of regional lymph nodes and any suspected visceral lesions. Numerous proven prognostic factors for dogs with OSA were established, with high histological grade, lymph nodes and distal organs involvement, elevated pre-treatment serum ALP activity and proximal humerus, rib or scapular involvement as the most important negative indices.

Keywords: dog, osteosarcoma, histopathology, prognosis.

rozwoju OSA w kośćcu określono wielkość psa (psy ras dużych i olbrzymich – odpowiednio było to 47% i 35% psów objętych badaniem) – ryzyko było prawie 6-krotnie wyższe w porównaniu do psów średniej wielkości i małych (6). Zmniejszone ryzyko zachorowania stwierdzono u psów ras małych (6, 16). Predyspozycja do występowania OSA kości płaskich występuje prawdopodobnie u bokserów – około 30% wszystkich OSA obejmuje u nich kości płaskie, chociaż w jednym z badań najwięcej przypadków OSA kości płaskich stwierdzono u labradorów (21). Nie stwierdzono predyspozycji rasowych lub związanych z masą ciała do występowania kostniakomięsaków tkanek miękkich (1).

Szczególną predyspozycję do występowania OSA wykazują charty szkockie (z ankiety przeprowadzonej wśród hodowców i właścicieli tych psów w Ameryce wskazano, że 9–12 i 11–16% odpowiednio psów



Ryc. 2. Typowy przypadek kostniakomięsaka u psa – deformacja zlokalizowana w dalszej części podramienia u psa, samca rasy dog niemiecki, w wieku 7 lat

samców i suk choruje z powodu kostniakomięsaka), rottweilery, wilczarze irlandzkie i greyhoundy; jak wykazano, owa predyspozycja ma genetyczne podłoże, jednak jej precyzyjny mechanizm nie został jak dotąd wyjaśniony (23, 24). Dodatkowo, wykazano, że u rottweilerów wczesna sterylizacja/kastracja (wykonana przed pierwszym rokiem życia) zwiększa ryzyko rozwoju mięsaka kości o osobników obu płci (23).

Lokalizacja kostniakomięsaków

Spśród wszystkich kostniakomięsaków u psów zmiany lokalizują się najczęściej w obrębie kości długich (kończyn), gdzie ryzyko rozwoju jest 3–4-krotnie wyższe w porównaniu do kości szkieletu osiowego.



Ryc. 4. Czaszka jest innym dość częstym miejscem wzrostu kostniakomięsaków u psów



Ryc. 3. W tym przypadku inna typowa dla kostniakomięsaka lokalizacja u dużego psa; zmiana zlokalizowana w obrębie kości udowej, deformacja wprawdzie niewidoczna, ale uniesiona kończyna miedniczne prawa wskazuje na znaczną bolesność – w badaniu RTG stwierdzono obszar lizy kości, a badanie cytologiczne bioptatów wykazało kostniakomięsaka

Ryzyko pojawienia się OSA jest szczególnie wysokie w obrębie kości kończyny pierświowej, około 1,5–2-krotnie wyższe niż w kończynie miednicznej, ze szczególną predyspozycją do kości dalszego odcinka przedramienia i bliższego odcinka kości ramiennej oraz rzadziej w obrębie kości dalszego odcinka kości udowej lub w obrębie kości piszczelowej (ryc. 2 i 3; 1, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 18, 19, 20). Należy jednak zaznaczyć, że istnieją pewne różnice rasowe w częstości OSA w poszczególnych lokalizacjach, przykładowo 67% OSA u dogów niemieckich lokalizuje się w obrębie dalszego odcinka kości promieniowej, a ten odsetek u bokserów wynosi tylko 9% (1). W 25–27% przypadków kostniakomięsaków kości u psów lokalizuje się w obrębie kości szkieletu osiowego (kości płaskie i nieregularne). Pośród kostniakomięsaków o tej lokalizacji najczęściej przypadków odnotowano w obrębie kości czaszki (ryc. 4; 50–65% przypadków, najczęściej żuchwa, rzadziej szczeka), rzadziej były to inne kości płaskie i nieregularne (6, 18, 21). W pozaczaszkowej lokalizacji OSA szkieletu osiowego rozpoznawane są najczęściej w obrębie żeber (48% przypadków), łopatk (11%), kości miednicy (15%), rzadziej w obrębie kręgów i mostka (21).

Kostniakomięsaki tkanek miękkich (kostniakomięsaki pozaszkieletowe) u psów obserwuje się zdecydowanie rzadziej niż w obrębie kości, a jedną z częściej obserwowanych lokalizacji jest gruczoł sutkowy u suk (6, 8, 17, 25). Do innych możliwych lokalizacji należą narządy jamy brzusznej (głównie śledziona, wątroba i nerki), płuca, gałki oczne, mięśnie szkieletowe i tkanka podskórna, a także w niektórych rejonach geograficznych ściana przełyku – na tle inwazji nicienia *Spirocerca lupi*

(1, 26). W badaniach własnych zdecydowana większość kostniakomięsaków zlokalizowana była w obrębie układu kostnego (79% wszystkich nowotworów; szczególnie w obrębie kości kończyn – 75,5% wszystkich OSA kości), rzadziej w obrębie tkanek miękkich (6). W badaniach autorów szwajcarskich 88% OSA zlokalizowanych było w obrębie szkieletu, rzadziej były to tkanki miękkie, przy czym najczęściej skóra i tkanka podskórna (3% wszystkich OSA; 16).

Nie wykazano związku między lokalizacją guza w obrębie szkieletu (szkielet kończyn vs. szkielet osiowy) a wiekiem chorych psów czy płcią (8, 21, 22). Według niektórych autorów psy z OSA kości kończyn są cięższe niż osobniki, u których nowotwór rozwijał się w obrębie szkieletu osiowego, jednak w ostatnio publikowanych badaniach nie wykazano owej zależności – mediana masy ciała psów z OSA kości długich to 37 kg, a dla OSA żuchwy 35 kg (8, 21, 22). Kostniakomięsaki żuchwy występują najczęściej u mieszaińców, wśród psów rasowych zmiany rozpoznano u rottweilerów, labradorów, golden retrieverów i dobermanów (22).

Rozpoznawanie

W zdecydowanej większości przypadków rozpoznanie kostniakomięsaka nie następuje bez większych problemów, jednak niekiedy diagnoza może wymagać wdrożenia złożonego postępowania z użyciem różnych testów diagnostycznych (27). Istotne jest, aby rozpoznanie typu wykrytej zmiany kostnej określić jeszcze przed planowanym zabiegiem chirurgicznym, bowiem w świetle niekorzystnego rokowania dla pacjentów z OSA fakt rozpoznania kostniakomięsaka

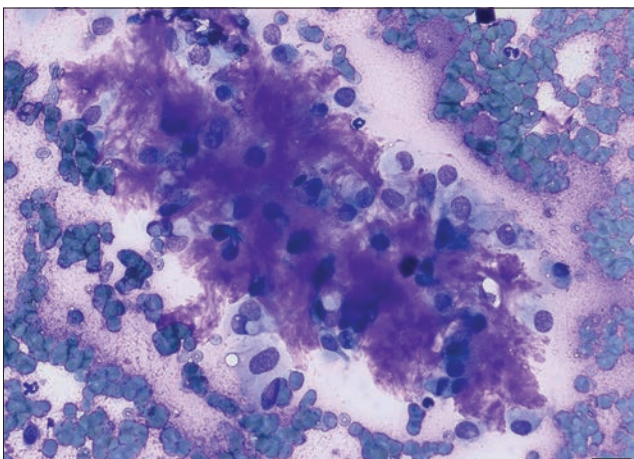
może wypłynąć na podjęcie decyzji o przeprowadzeniu zabiegu w ogóle.

Dobrą przedoperacyjną metodą diagnostyczną jest **badanie cytologiczne** aspiratów pobranych za pomocą biopsji cienkoigłowej (ryc. 5 i 6; 5, 7). W ostatnio opublikowanej pracy wykazano, że badanie cytologiczne charakteryzuje się dużą zgodnością (83%) w rozróżnianiu pomiędzy procesem złośliwym i niezłośliwym, wysoką czułością (83%) w rozpoznawaniu procesu złośliwego i umiarkowaną (około 50%) czułością w rozpoznawaniu konkretnego typu nowotworu złośliwego (5). Niestety, w 17% przypadków badanie cytologiczne określono jako niediagnostyczne, głównie z powodu małej liczby komórek w preparatach. Jednak, co istotne, nie wykazano, aby zastosowanie badania histologicznego małych wycinków tkankowych pobranych metodą biopsji gruboigłowej cechowało się wyższą skutecznością rozpoznania zmian kostnych (przykładowo zgodność w rozróżnianiu pomiędzy procesem złośliwym i niezłośliwym – 83%, czułość w rozpoznawaniu zmian złośliwych – 72% i czułość w rozpoznawaniu konkretnego typu nowotworu złośliwego 55,5%; 5). Z kolei Kirpensteijn i wsp. (19) wskazują na zdecydowanie wyższą przydatność biopsji rdzeniowej, w porównaniu do badania cytologicznego, które według autorów tej pracy nie pozwala na precyzyjne określenie zarówno stopnia histologicznej złośliwości, jak i typu histologicznego. Obserwacje własne autora tego opracowania są zgodne z obiema powyższymi sugestiami, z jednej strony, badanie mikroskopowe wycinków gruboigłowych pobranych ze zmian kostnych częstokroć nie daje odpowiedzi odnośnie do charakteru zmiany, ale z drugiej strony określenie stopnia złośliwości histologicznej i podtypu histologicznego na podstawie badania cytologicznego może być tylko szacunkowe. Na wynik badania cytologicznego nie ma wpływu lokalizacja

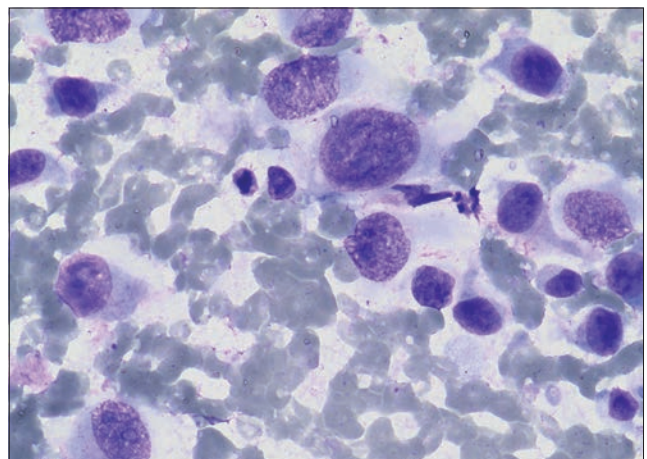
zmiany, jej wielkość i stopień histologicznej złośliwości, zanieczyszczenie próbki krwią, a także fakt, czy liza zajętej kości jest nasilona, czy nie. Wydaje się że pierwszym krokiem diagnostycznym w przypadku wykrycia zmian kostnych u psa powinno być badanie cytologiczne biopłatów, a dopiero potem, w sytuacji gdy to badanie nie da odpowiedzi odnośnie do typu zmiany, powinno się pobrać materiał za pomocą grubej igły do badania histopatologicznego (5, 6). Co więcej, w przypadku typowego obrazu mikroskopowego w świetle specyficznych objawów klinicznych, lokalizacji i wyglądu zmiany w obrazie rentgenowskim, cytologiczne rozpoznanie jest wystarczające do postawienia ostatecznego przedoperacyjnego rozpoznania kostniakomięsaków u psów (1). W niektórych przypadkach badanie cytologiczne nie będzie rozstrzygające, co dzieje się najczęściej wtedy, gdy materiał pobrano z obszarów objętych martwicą, igłę biopsyjną wprowadzono zbyt płytko, gdy nowotwór zlokalizowany w jamie szpikowej nie uszkadza kości korowej (wtedy wprowadzenie igły do masy guza jest po prostu niemożliwe) lub w przypadkach kostniakomięsaków naczyniakowatych (aspirowany materiał zawiera tylko krew). Pomimo umiarkowanej tendencji kostniakomięsaków do rozsiewu drogą limfogenną, u każdego pacjenta z rozpoznaniem guzem powinno się przeprowadzić badanie cytologiczne regionalnych węzłów chłonnych (19).

W przypadku typowego obrazu mikroskopowego, w świetle specyficznych objawów klinicznych, lokalizacji i wyglądu zmiany w obrazie rentgenowskim cytologiczne rozpoznanie jest wystarczające do postawienia ostatecznego przedoperacyjnego rozpoznania kostniakomięsaków u psów.

Badanie histopatologiczne jest podstawową metodą rozpoznawania kostniakomięsaków, może być ono wykonane przed zabiegiem resekcji zmiany (takie badanie z pobraniem małego wycinka guza jest uzasadnione tylko w niektórych przypadkach), a powinno być przeprowadzone w każdym przypadku, gdy nowotwór usunięto chirurgicznie. Niestety, badanie histologiczne małych wycinków guza często nie jest miarodajne odnośnie do rozpoznania konkretnego typu histologicznego rozrostu – stwierdzenie, czy badany guz jest kostniakomięsakiem, włókniakomięsakiem, czy chrzęstniakomięsakiem – co jest o tyle istotne że rozpoznanie typu histologicznego w dużym stopniu warunkuje rokowanie (w przypadku badania małych wycinków należy położyć nacisk na to, czy zmiana jest kostniakomięsakiem, czy nie, a w mniejszym stopniu jaki jest stopień złośliwości histologicznej lub typ histologiczny nowotworu). Sytuacja ta wiąże się z faktem, że produkcja nowotworowego osteoidu i/lub nowotworowej kości przez komórki nowotworowe (co jest warunkiem *sine qua non* dla odróżnienia kostniakomięsaka od innych mięsaków) często bywa ogniskowa lub jest widoczna tylko w nielicznych obszarach guza (1). Innym problemem może być pobranie materiału z obszarów lizy kości i martwicy komórek nowotworowych lub też uzyskanie próbek z obszarów przylegających do rozrostu nowotworowego, gdzie występuje jedynie odczynowa tkanka kostna. Pomocne w takich przypadkach jest pobranie kilku (co najmniej trzech) wycinków z różnych obszarów guza, a miejsce wyboru wycinka należy wybrać na podstawie szczegółowej oceny radiogramów zajętej kości – poszukujemy obszarów, gdzie wyraźnie widać aktywność lityczną komórek nowotworowych lub odwrotnie: gdzie tworzenie kości nowotworowej jest dobrze wyrażone (1). Problemem diagnostycznym



Ryc. 5. Obraz cytologiczny kostniakomięsaka – widoczne obfite kwasochłonne (różowe) masy macierzy pozakomórkowej oraz dość liczne atypowe komórki mezenchymalne. Barwienie odczynnikiem Giemsy, powiększenie 200×



Ryc. 6. Obraz cytologiczny kostniakomięsaka – widoczne atypowe komórki mezenchymalne, szczególną uwagę zwraca anizokarioza (zmienna wielkość jąder komórkowych). Barwienie odczynnikiem Giemsy, powiększenie 400×

podczas badania małych wycinków tkankowych może być też odróżnienie dobrze zróżnicowanego kostniakomięśaka z obfitą produkują osteoidu od kości odczynowej lub (co jest jeszcze trudniejsze) od tkanki kostnej grubosplotowatej tworzącej się w obrębie pęknięcia lub złamania kości. Największym wyzwaniem może być ustalenie rozpoznania w przypadku patologicznego złamania kości w obrębie rozwijającego się kostniakomięśaka i niekiedy określenie rozpoznania nie jest możliwe w trakcie pojedynczego badania, a konieczna będzie regularna obserwacja pacjenta i kontrolne sekwencyjne badania radiologiczne zmienionej kości, niekiedy połączone z okresowym pobieraniem próbek do badań mikroskopowych (1).

Z powodu tego, że kostniakomięśaki wywodzą się z multipotencjalnych komórek mezenchymalnych jamy szpikowej, to ich obraz histologiczny bywa rozmaity, co wynika z dużej zmienności procesu różnicowania i dojrzewania komórek nowotworowych. Potwierdzają to wyniki badań histomorfologicznych, w których oprócz stwierdzenia różnych

typów histologicznych OSA (zaprezentowanych w tabeli 1), stwierdzono, że większość z guzów rozpoznanych u psów charakteryzuje się mieszaną morfologią – występowaniem obszarów o różnym typie histologicznym (18). Stopień złośliwości histologicznej kostniakomięśaków jest różny, najczęściej zmiany zlokalizowane w obrębie szkieletu kończyn charakteryzują się wysoką (III stopień) lub umiarkowaną (II) złośliwością histologiczną, z kolei guzy żuchwy to najczęściej zmiany o niskiej (I stopień), rzadziej o umiarkowanej, a najrzadziej o wysokiej złośliwości histologicznej (1, 17, 19). W jednym z badań wykazano, że u pacjentów z OSA zlokalizowanymi w szkielecie osiowym najczęstszym typem histologicznym jest typ osteoblastyczny (41–74% wszystkich OSA w obrębie tych kości), a większość zmian (51–76% zmian) należy do grupy kostniakomięśaków o najniższym stopniu złośliwości (21, 22).

W części przypadków, gdy komórki nowotworowe produkują niewielkie ilości macierzy pozakomórkowej, określenie, że nowotwór jest kostniakomięśakiem, jest niezwykle trudne w oparciu jedynie o wygląd



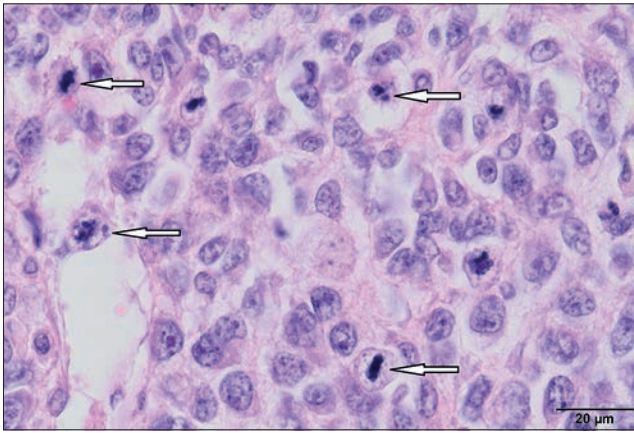
Ryc. 7. Rycina ukazuje wewnątrzjamowy wzrost kostniakomięśaka w jamie szpikowej kości udowej u psa, widoczne też niszczenie kości korowej oraz wzrost mięszu nowotworu na powierzchni zajętej kości

morfologiczny komórek. W tych przypadkach niezbędne jest zastosowanie dodatkowych metod identyfikacji pochodzenia

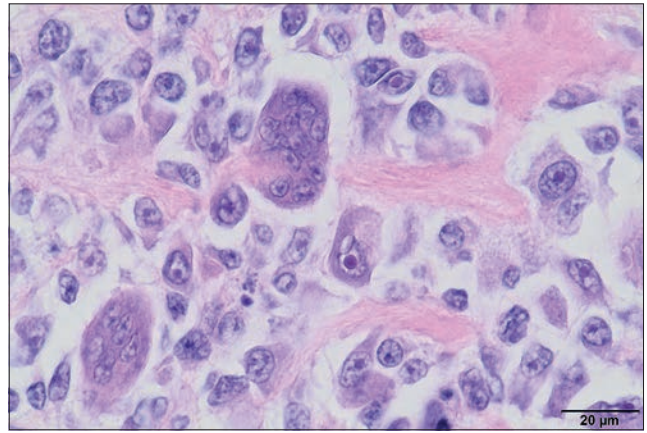
Tabela 1. Typy histologiczne kostniakomięśaków (opracowano na podstawie (1, 17, 18))

<p>Kostniakomięśaki centralne (medullary) wywodzą się z tkanki kostnej jam szpikowych (ryc. 7)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Słabo zróżnicowany – utworzony z nisko zróżnicowanych, pleomorficznych, szybko proliferujących komórek, z minimalną ilością macierzy kostnej (osteoid) lub beleczek kostnych (ryc. 8). • Osteoblastyczny – utworzony z komórek w typie osteoblastów lub bardziej prymitywnych form tych komórek. Często komórki mają kanciaste zarysy, a jądro komórkowe leży z boku silnie zasadochłonnej cytoplazmy. Tworzenie nowotworowego osteoidu i kości jest mniej lub bardziej wyrażone w formie beleczek lub nieregularnych wysp (ryc. 9). • Chondroblastyczny – komórki nowotworowe produkują zarówno macierz kostną, jak i macierz chrzęstną wymieszane ze sobą w różnym stopniu. • Fibroblastyczny – komórki nowotworowe wydłużone, wrzecionowate przypominają komórki włókniakomięśaków, jednak oprócz macierzy kolagenowo-włóknistej obserwuje się też w mięszu guza obszary kościotworzenia lub wyspy osteoidu. • Kostniakomięśak naczylniakowaty (teleangiektyczny) – oprócz proliferacji komórkowej oraz obecnych wysp macierzy kostnej (zazwyczaj niezmineralizowanego osteoidu), widoczne są jamy wysłane komórkami nowotworowymi wypełnione erytrocytami (komórki wyścielające jamy nie wykazują ekspresji markera komórek śródbłonna naczyniowego – czynnik VIII). • Kostniakomięśak bogaty w komórki olbrzymie – w mięszu guza obecne liczne komórki olbrzymie wielojądrowe w typie osteoklastów. Odróżnianie tej formy OSA od guzów olbrzymiokomórkowych kości (najczęściej niezłośliwych) jest poważnym problemem w onkologii medycznej, jednak stwierdzenie jednojądrowych, silnie atypowych komórek nowotworowych o wysokiej aktywności proliferacyjnej pomiędzy skupiskami komórek olbrzymich przemawia za kostniakomięśakiem bogatym w komórki olbrzymie. • Nabłonkowaty* – lite pola utworzone z komórek o wielokątnej, kwasochłonnej cytoplazmie, o okrągłych i owalnych dużych jądrach komórkowych. • Okrągłokomórkowy* – lite pola utworzone z gęsto upakowanych komórek o okrągłych lub lekko owalnych jądrach komórkowych i skąpej jasnej cytoplazmie wymieszanych z wyspami osteoidu. • Śluzakowaty* – komórki wrzecionowate o luźnym układzie zatopione w bogatej śluzakowatej macierzy pozakomórkowej.
<p>Kostniakomięśak powierzchniowy (juxacortical) rozwija się na powierzchni lub tuż przy powierzchni okostnej, występuje zdecydowanie rzadziej. Charakteryzuje się on mniejszą agresywnością biologiczną, niższą tendencją do dawania przerzutów</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Kostniakomięśak przykostny – wywodzi się z zewnętrznej, włóknistej warstwy okostnej, rzadko rozpoznawany u zwierząt. Zmiany mogą być mylone z niezłośliwymi guzami kości. • Kostniakomięśak okostnowy – wywodzi się z niezróżnicowanych komórek mezenchymalnych miążgi twórczej okostnej, w pierwszej kolejności wzrasta w kierunku otaczających tkanek miękkich, a w późniejszym stadium nacieka kość korową. Formy zdecydowanie rzadko rozpoznawane u zwierząt.
<p>Kostniakomięśak tkanek miękkich (pozaszkieletowy) jest formą złośliwego nowotworu mezenchymalnego, który charakteryzuje się tworzeniem macierzy kostnej bez pierwotnego zajęcia tkanki kostnej</p>	

* typy histologiczne opisane w jednym opracowaniu



Ryc. 8. Obraz mikroskopowy kostniakomięsaka – kostniakomięsak słabo zróżnicowany – widoczne atypowe komórki o morfologii mezenchymalnej z niewielką ilością włóknistej macierzy pozakomórkowej; uwagę zwraca wysoka aktywność mitotyczna komórek – strzałkami oznaczono mitozy. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 400×



Ryc. 9. Obraz mikroskopowy kostniakomięsaka – kostniakomięsak osteoblastyczny – oprócz atypowych osteoblastów, widoczne beleczki nowotworowego osteoidu oraz wielojądrowe komórki w typie osteoklastów. Barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 400×

komórek, szczególnie barwienia immunohistochemicznego, które pozwalają na wykrycie markerów białkowych taką identyfikację umożliwiającą. W jednym z badań oceniono ekspresję immunohistochemiczną mikrofilamentów pośrednich w komórkach kostniakomięsaków i wykazano możliwość występowania w nich nie tylko wimentyny (marker pochodzenia mezenchymalnego obecny we wszystkich przypadkach OSA), ale też i cytokeratyny (marker pochodzenia nabłonkowego), aktyny mięśni gładkich i desminy (markery pochodzenia mięśniowego) oraz neurofilamentów i kwaśnego białka włókninkowego gleju (markery pochodzenia nerwowego; 18). Wskazuje to na małą przydatność barwienia immunohistochemicznego/immunocytochemicznego wykrywającego obecność mikrofilamentów pośrednich w odróżnianiu nietypowych form kostniakomięsaków od innych nowotworów złośliwych (mięsaków tkanki mięśniowej, nowotworów pochodzenia neuroepitelialnego), w tym raków u psów (18). Wobec powyższego badaniem potwierdzającym

rozpoznanie nietypowej formy kostniakomięsaka może być barwienie cytochemiczne na obecność fosfatazy zasadowej lub barwienie immunocytochemiczne/immunohistochemiczne wykrywające obecność osteokalcyny w komórkach nowotworowych (27). Należy jednak zaznaczyć, że barwienie immunoekspresji osteokalcyny nie może służyć do odróżnienia OSA od chrzęstniakomięsaków, bowiem ekspresję osteokalcyny stwierdza się w komórkach obu typów nowotworów, jednak może być przydatne dla odróżniania OSA od włókniakomięsaków, mięsaków histiocytarnych czy naczynekomięsaków – co może być problemem, gdy do badania pobrano niewielki wycinek guza (28). Z kolei w odróżnieniu kostniakomięsaków naczynekowatych od pierwotnych naczynekomięsaków kości pomocne jest zastosowanie barwienia immunohistochemicznego z użyciem przeciwciał anti – czynnik VIII/von Willebrand – reakcja dodatnia obserwowana w drugim przypadku (29). Pewne trudności diagnostyczne może sprawiać odróżnienie dobrze zróżnicowanych

kostniakomięsaków od kostniaków, bowiem cechy świadczące o potencjalnej złośliwości komórek rozrostu mogą być subtelne i widoczne jedynie w niektórych obszarach guza (30).

Kolejnym etapem procesu diagnostycznego u psów z kostniakomięsiakiem są **badania obrazowe**, które służą zarówno do wykrywania zmian, jak i są niezbędne w ocenie stadium zaawansowania klinicznego choroby, w tym miejscowego zasięgu procesu oraz oceny występowania ewentualnych przerzutów (głównie do płuc i do kości), a wobec tego umożliwiają określenie rokowania i wybór metody terapeutycznej (31). Oceny zasięgu miejscowego w obrębie zajętej kości dokonuje się w oparciu o badanie RTG, obejmujące staw znajdujący się powyżej i poniżej guza. W badaniu rentgenowskim ocenia się następujące parametry: liza kości, zmiany odczynowe okostnej, tworzenie nowej kości oraz obrzęk okolicznych tkanek miękkich (ryc. 10 i 11). Zdecydowaną poprawę oceny zasięgu miejscowego choroby według niektórych autorów daje badanie rezonansem



Ryc. 10. Przypadek kostniakomięsaka o wybitnie osteolitycznym charakterze wzrostu, co wyraźnie widać na zdjęciu RTG



Ryc. 11. W tym przypadku nowotwór charakteryzuje się tworzeniem nowotworowej kości

magnetycznym, chociaż według innych badań badanie RTG, tomografia komputerowa (TK; ryc. 12) i rezonans magnetyczny (MRI) cechuje taka sama skuteczność w tym zakresie (2).

W każdym przypadku należy wykonać badanie radiologiczne klatki piersiowej w trzech projekcjach, a także wszystkich podejrzanych lokalizacji, w tym kości, w których podejrzewa się występowanie przerzutów (bardziej miarodajne w tym zakresie jest wykonanie badania scyntygraficznego całego szkieletu, jednak metoda ta jest trudno dostępna). Wraz ze zwiększeniem dostępności badania tomograficznego sugeruje się użycie tej metody diagnostycznej do poszukiwania obecności przerzutów do płuc, bowiem wykazano, że w części przypadków, w których badanie RTG klatki piersiowej nie ujawniło przerzutów OSA do płuc wykryto je badaniem tomograficznym (31). W innym badaniu, w którym porównywano przydatność badania RTG z badaniem tomograficznym klatki piersiowej u psów z OSA kończyn wykazano zdecydowaną poprawę wykrywalności przerzutów do płuc dzięki badaniu TK (przerzuty wykryto u 28% psów), w porównaniu do badania RTG (przerzuty wykryto u 5% psów; 20). Badanie tomograficzne pozwala na wykrycie ognisk o średnicy nawet 2 mm (20). Autorzy jednej z prac konkludują jednak, że u każdego psa z rozpoznany/podejrzany kostniakomięsak kości powinno się wykonać badanie RTG klatki piersiowej, a następnie dodatkowo badanie tomograficzne klatki piersiowej u tych pacjentów, u których przerzutów w płucach nie wykryto badaniem radiograficznym (pozwala to ograniczyć koszty procedury diagnostycznej; 31). Nie wykazano jednak, aby badanie tomograficzne całego ciała na tyle istotnie zwiększało

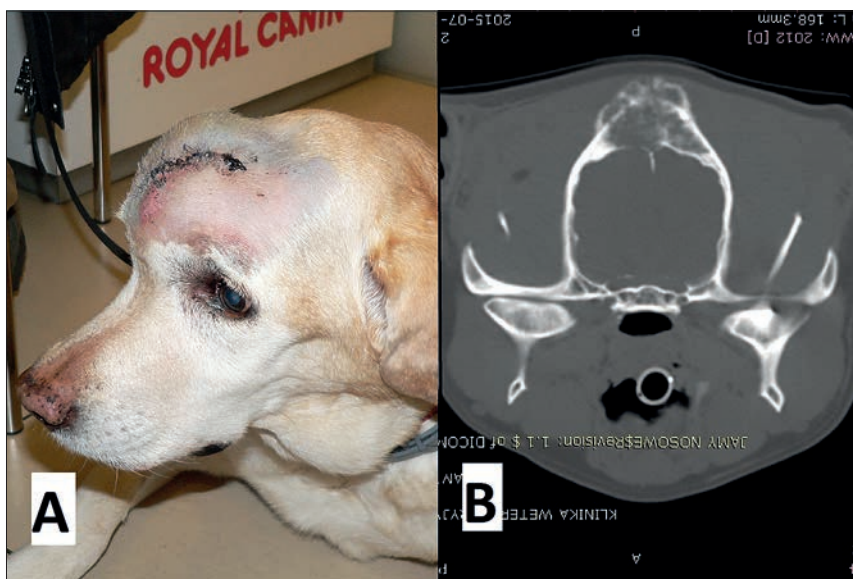
szansę na wykrycie ognisk wtórnych w obrębie innych kości, w stosunku do rutynowego badania radiograficznego, aby można było je wskazać jako postępowanie z wyboru; dodatkowo obie te metody wykazywały się mniejszą precyzją niż badanie scyntygraficzne kości (7, 31). Dlatego Obalak i wsp. (31) sugerują, że w przypadku braku dostępności badania scyntygraficznego poszukiwanie przerzutów do kości powinno się ograniczyć do tych przypadków, gdy istnieje takie podejrzewanie kliniczne, i rozpocząć od badania RTG podejrzewanego miejsca i dopiero gdy nie ujawnia ono żadnych nieprawidłowości (lub wyniki są niejednoznaczne), wykonać badanie tomograficzne.

Rokowanie

Kostniakomięsaki wymagają złożonego i bardzo agresywnego postępowania terapeutycznego (32). Ogólne rokowanie w przypadku kostniakomięsaków u psów, bez względu na podtyp guza, jest złe, bowiem charakteryzują się one agresywnym zachowaniem biologicznym, z często występującym rozsiewem ogólnoustrojowym, najczęściej do płuc i kości (przykładowo, przerzuty do płuc stwierdza się u około 85–90% psów z OSA kończyn oraz u 58% psów z OSA łapy), rzadziej do regionalnych węzłów chłonnych, skóry i śródpiersia (22). Należy jednak pamiętać, że w momencie rozpoznania guza rzadko wykrywa się obecność przerzutów w płucach, nawet gdy zastosuje się badanie tomograficzne (przykładowo u żadnego spośród 57 psów z OSA łapy nie obserwowano przerzutów do płuc w momencie rozpoznania; 22). W jednym z badań obejmujących 39 psów z pierwotnym kostniakomięsakiem kości kończyn, przerzuty do płuc w momencie

rozpoznania stwierdzono jedynie u 5% pacjentów, a u żadnego z tych psów nie obserwowano przerzutów w obrębie szkieletu (7), chociaż inni autorzy wskazują na dość częste zajęcie innych kości (nawet do 27% psów). Mediana okresu przeżycia dla psów z kostniakomięsakiem kończyn, które pozostawiono bez leczenia lub wdrożono amputację jako jedyną metodę terapeutyczną, wynosi 14–19 tygodni, a u pacjentów z guzami szkieletu osiowego około 22 tygodni (1). Przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych zdarzają się umiarkowanie często (około 25% przypadków OSA), ale jeżeli już wystąpią, to są zdecydowanie niekorzystnym rokowniczo zjawiskiem (19). Szczególnie źle rokującymi guzami są kostniakomięsaki tkanek miękkich, przerzuty występują równie często jak w przypadku gdy guz wywodzi się z kości, jednak rzadziej dochodzi do zajęcia płuc, a częściej węzłów chłonnych oraz narządów jamy brzusznej.

W różnych publikacjach wykazano, że różnorodne parametry kliniczne, laboratoryjne, morfologiczne, histologiczne i inne mogą mieć znaczenie rokownicze u psów z kostniakomięsakiem, jednak w zależności od opublikowanej pracy niektóre parametry uznane za istotne rokowniczo w jednej z analiz, okazywały się nieistotne w innych, lub też kryteria badające zachowanie biologiczne guzów różniły się między sobą, co uniemożliwiło wyciągnięcie jednoznacznych wniosków (dla przykładu potwierdzone lub potencjalne czynniki o przydatności rokowniczej u psów z kostniakomięsakami kości przedstawiono w tabeli 2). W celu uzyskania jednoznacznych wniosków Boreman i wsp. (33) dokonali metaanalizy, poprzez dokonanie przeglądu piśmiennictwa w zakresie rokowania i przeżycia psów z kostniakomięsakami, które zostały opublikowane w okresie od 1970 do 2011 r. Za pomocą wyszukiwarki internetowej PubMed zebrali 821 publikacji naukowych z omawianego tematu i po ich wnikliwej analizie wytypowali 55 prac, które uznano za najbardziej wartościowe pod względem analizowanych danych (duża liczba dobrze udokumentowanych przypadków, dobrze zaplanowane badania – najbardziej korzystne były podwójnie ślepe randomizowane badania prospektywne, odpowiednia metodyka statystyczna, zastosowanie grupy kontrolnej, udokumentowany okres obserwacji pacjentów, zdefiniowanie właściwych czynników rokowniczych, precyzyjne określenie metod terapeutycznych) i poddano je szczegółowej analizie statystycznej. Badanymi potencjalnymi czynnikami rokowniczymi w tej pracy, które powtarzały się w większości analizowanych publikacji były: aktywność osoczowa fosfatazy zasadowej (ALP) w momencie rozpoznania,



Ryc. 12. Kostniakomięsak kości pokrywy czaszki w obrazie klinicznym (A) i w badaniu tomografem komputerowym (B)

lokalizacja kostniakomięśaka w obrębie szkieletu oraz wiek psa w momencie rozpoznania, a odnośnikami wskazującymi na rokowanie były: całkowity okres przeżycia i czas wolny od choroby (33). Odnośnie do surowiczej aktywności ALP wykazano, że psy, u których było ona podwyższona, żyły o 156 dni krócej (okres wolny od choroby był o 123 dni krótszy) w stosunku do pacjentów z prawidłową aktywnością ALP. Odnośnie do lokalizacji kostniakomięśaka w obrębie szkieletu kończyn wykazano, że w przypadku OSA zlokalizowanych w bliższej części kości ramiennej pacjenci żyli o 132 dni krócej (okres wolny od choroby był o 110 dni krótszy) w stosunku do psów z OSA kończyn o innej lokalizacji. Odnośnie do wieku w momencie rozpoznania wyniki metaanalizy były niejednoznaczne; autorzy tej pracy konkludują że wzrastający wiek jest najprawdopodobniej czynnikiem niekorzystnym rokowniczo, jednak z uwagi na ograniczoną ilość dostępnych informacji nie wykazano statystycznej istotności rokowniczej tego parametru (33).

Kolejnej metaanalizy w poszukiwaniu czynników o znaczeniu rokowniczym odnośnie do wczesnego występowania przerzutów i współczynnika umieralności u psów z kostniakomięśakami kości kończyn, które poddano leczeniu chirurgicznemu, dokonali Schmidt i wsp. (34). Analizie poddano publikowane i niepublikowane wyniki badań obejmujących psy z OSA i zebrano informacje na temat 1336 psów (w części przypadków dostępne były dane odnośnie do umieralności, a w części odnośnie do występowania przerzutów). Szczegółowa analiza statystyczna danych wykazała, że czynnikami niekorzystnymi rokowniczo odnośnie do występowania przerzutów u tych pacjentów były: wysoka masa ciała, wysoka aktywność ALP w surowicy w momencie rozpoznania; czynnikami korzystnymi rokowniczo były zaś lokalizacja guza w obrębie dalszego odcinka kości promieniowej (34). Z kolei odnośnie do współczynnika umieralności do czynników rokowniczo niekorzystnych należały: podeszły wiek, wysoka masa ciała, wysoka aktywność ALP w surowicy, obecność guza w bliższym odcinku kości ramiennej oraz okolicy kolana (dalszy odcinek kości udowej i bliższy odcinek podudzia; 34). Co interesujące, nie wykazano, aby zastosowanie chemioterapii adiuwantowej miało jakikolwiek wpływ na występowanie przerzutów lub śmiertelność psów z OSA (34).

Interesujące badanie przeprowadzili też Culp i wsp. (35). Poddali oni analizie przypadki psów z kostniakomięśakiem kości kończyn, które przeżyły ponad 1 rok od momentu postawienia rozpoznania (mediana długości okresu przeżycia ponad

Tabela 2. Potencjalnie i potwierdzone niekorzystne czynniki rokownicze, które wiążą się z krótszym okresem przeżycia u psów z kostniakomięśakiem kończyn (2, 17, 33)

- Młody wiek
- Zaawansowany wiek
- Wczesna sterylizacja/kastracja
- Duża masa ciała/rasa
- Duża masa guza/ rozległe zajęcie kości
- Podwyższona aktywność ALP całkowitej lub kostnej (mierzona w czasie rozpoznania)
- Przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych
- Przerzuty do płuc
- III stadium zaawansowania klinicznego (przerzuty do kości lub/i innych miejsc odległych)
- III stopień histologicznej złośliwości
- Bogate mikrounaczynienie mięszu nowotworu
- Pojawienie się ognisk martwicy mięszu nowotworu po chemioterapii
- Wysoki indeks mitotyczny
- Zajęcie bliższego odcinka kości ramiennej, udowej, żeber lub łopatki
- Niedośćętna resekcja chirurgiczna

1 rok wyniosła 8 miesięcy). Średnia wieku dla tych pacjentów wyniosła 8,2 roku, masa ciała 38 kg (były to głównie mieszance i labradory, rzadziej golden retrievery i rottweilery oraz inne psy dużych ras), a nowotwory zlokalizowane były głównie w kościach długich dystalnych części kończyn (podudzie i podramię). Czynnikiem rokowniczo korzystnym dla dłuższego okresu przeżycia dla psów objętych tym badaniem, u których zastosowano zabieg oszczędzający kończynę, było rozwinięcie się zakażenia w miejscu operacji (mediana okresu przeżycia 6 miesięcy, w porównaniu do niespełna 1 miesiąca u pacjentów, u których zakażenie się nie rozwinęło; 35). Nie wykazano natomiast wpływu takich parametrów, jak: wiek pacjenta, masa ciała, aktywność ALP, lokalizacja guza czy metoda leczenia dodatkowego do zabiegu chirurgicznego (chemioterapia adiuwantowa, radioterapia, leczenie pamidronatem; 35). Warto przypomnieć, że rozwój zakażenia w operowanym miejscu jest też czynnikiem rokowniczo korzystnym dla psów z OSA bez względu na to, czy przeżyły one rok, czy nie.

Istotnym czynnikiem o znaczeniu rokowniczym w przypadku kostniakomięśaków wydaje się **lokalizacja guza**. Przykładowo, kostniakomięśaki pozaszkieletowe cechują się wybitnie niekorzystnym rokowaniem, mediana okresu przeżycia w takich przypadkach wynosi od 1 do 3 miesięcy, bez względu na to, czy wdrożono leczenie i jaki był schemat terapeutyczny (26). W niektórych badaniach sugerowano, że kostniakomięśaki szkieletu osiowego (szczególnie zmiany zlokalizowane w obrębie zuchwy) rokują lepiej (dłuższe okresy przeżycia i mniejsze ryzyko powstawania przerzutów) niż kostniakomięśaki kości kończyn, jednak w innych opracowaniach taka zależność nie została potwierdzona (18, 21, 22). Z kolei w przypadku OSA szkieletu osiowego, z wyłączeniem kości czaszki gorsze rokowanie (zwiększone ryzykiem zgonu) stwierdzono w przypadku,

gdy nowotwór był zlokalizowany w obrębie łopatki niż w innym umiejscowieniu (21). Wielu autorów wykazało, że **obecność przerzutów w momencie rozpoznania** OSA u psa jest czynnikiem rokowniczo niekorzystnym. Z kolei gdy do wykrywania przerzutów w płucach użyto tomografu komputerowego, nie stwierdzono różnicy w długości okresu przeżycia pomiędzy osobnikami z przerzutami i bez nich, zarówno w grupie psów pozostawionych bez leczenia, jak i leczonych za pomocą chirurgicznej resekcji guza (20). Wykazano jednak, że okres przeżycia był skorelowany z liczbą ognisk wykrytych w badaniu TK: większa liczba guzków – krótsze okresy przeżycia (20). U znacznego odsetka chorych psów (w jednym z badań 39% pacjentów z OSA kości kończyn, a w innym u 50% psów z OSA kości płaskich i nieregularnych) stwierdza się **wzrost aktywności ALP** w surowicy (mediana 199 mg/dl, w zakresie od 121 do 940 mg/dl), który zazwyczaj ustępuje po zabiegu resekcji guza lub amputacji chorej kończyny. Wykazano że wzrost aktywności ALP w surowicy w momencie rozpoznania kostniakomięśaka jest czynnikiem rokowniczo niekorzystnym, bowiem podwyższona aktywność tego enzymu (zarówno ALP całkowita, jak i ALP specyficzna dla tkanki kostnej) u psów z kostniakomięśakiem bez względu na nasilenie wiązała się z krótszym okresem przeżycia po zabiegu resekcji guza (1). Podobnie wzrost aktywności ALP u psów z OSA kości płaskich i nieregularnych wiązał się z gorszym rokowaniem (21).

W ostatnio opublikowanych badaniach oceniano potencjalny wpływ stanu odżywienia na rokowanie u psów z rozpoznaniem kostniakomięśakiem kończyn **i nie wykazano, aby otyłość lub niedowaga** w momencie rozpoznania nowotworu wpływały na takie parametry rokownicze, jak całkowity okres przeżycia czy okres wolny od nawrotu choroby (4). **Brak chemioterapii adiuwantowej** u psów z OSA zuchwy leczonych chirurgicznie zwiększało

ryzyko pojawienia się przerzutów (2,6 razy) i śmierci z powodu nowotworu (o 2,8 razy) w stosunku do psów, u których chemioterapię zastosowano (22). Z kolei w badaniach Schmidt i wsp. (36) wykazano, że zastosowanie chemioterapii adiuwantowej (bez względu na zastosowany schemat) po leczeniu chirurgicznym przynosi wyraźne korzyści u pacjentów, u których ryzyko wczesnej śmierci z powodu OSA jest szczególnie wysokie.

Istotnych informacji przydatnych rokowniczo może dostarczyć badanie histopatologiczne, w badaniu mikroskopowym guza poszukuje się następujących cech nowotworu: naciekanie tkanek (kość korowa, szpik kostny), naciekanie naczyń krwionośnych, typ histologiczny, stopień złośliwości histologicznej.

- **Naciekanie naczyń krwionośnych** jest częstym zjawiskiem obserwowanym w tkankach sąsiadującym z mięszem kostniakomięsaka u psów – obserwowano je w około 70% przypadków OSA; inwazja naczyń ma znaczenie rokowniczo niekorzystne (krótsze okresy przeżycia w porównaniu do przypadków przebiegających bez zajęcia naczyń krwionośnych), jednak nie w każdym przypadku, gdy stwierdza się obecność komórek nowotworowych w świetle naczyń krwionośnych, musi dojść do powstania przerzutów (19).
- **Stopień złośliwości.** Stopień złośliwości kostniakomięsaków ustala się na podstawie takich kryteriów mikroskopowych, jak: pleomorfizm jąder komórkowych, aktywność proliferacyjna (mierzona za pomocą indeksów mitotycznych), rozległość obszarów martwicy (szczegóły w tabeli 3). W badaniach przeprowadzonych przez Loukopoulos i Robinson (17) wykazano

przydatność rokowniczą zastosowanego przez autorów tej pracy systemu klasyfikacji histologicznej stopnia złośliwości. Kostniakomięsaki, w przebiegu których rozwinęły się przerzuty do płuc, cechowały się wyższym stopniem złośliwości histologicznej, w porównaniu do psów z OSA, u których przerzutów do płuc nie obserwowano (17). W przypadku kostniakomięsaków kości kończyn wyższa aktywność proliferacyjna (mierzona za pomocą indeksów mitotycznych) wiązała się z większą tendencją do dawania przerzutów i wyższym stopniem złośliwości histologicznej (17). W starszym badaniu, stosując podobny system klasyfikacji (w stosunku do powyższego oceniano dodatkowo gęstość komórek, produkcję macierzy pozakomórkowej, obecność komórek wielojądrowych, naciekanie naczyń krwionośnych), wykazano, że OSA III stopnia złośliwości rokuje gorzej niż OSA I i II stopnia złośliwości (19). Istnieją jednak pewne wady histologicznej klasyfikacji stopnia złośliwości, mianowicie fakt, że w zależności od podtypu histologicznego ilość produkowanej macierzy pozakomórkowej jest zmienna, ocena stopnia złośliwości histologicznej może być trudna lub daje niejednoznaczne wyniki (21). Potwierdzeniem tych wątpliwości mogą być badania, w których oceniono przydatność systemu oceny histologicznego stopnia złośliwości dla kostniakomięsaków kości płaskich i nieregularnych (z wyłączeniem kości czaszki) i nie wykazano związku pomiędzy stopniem złośliwości histologicznej a rokowaniem wyrażonym długością okresu przeżycia (21). Z drugiej strony wykazano też, że stopień histologicznej złośliwości wpływał

na rokowanie u psów z OSA zuchwy, ryzyko pojawienia się przerzutów dla psów z OSA II/III stopnia złośliwości histologicznej było 2,5-krotnie wyższe niż dla psów z OSA I stopnia złośliwości; ryzyko śmierci z powodu OSA zuchwy było 2,8 razy wyższe dla psów z nowotworem II/III stopnia złośliwości niż dla pacjentów z guzem I stopnia złośliwości. Jedynie 24% psów z OSA II/III stopnia złośliwości przeżyło dłużej niż rok, z kolei aż 77% psów z OSA I stopnia złośliwości przeżyło dłużej niż rok (22). Prawdopodobnym czynnikiem o znaczeniu rokowniczym w przypadku kostniakomięsaków zuchwy może być nasilenie proliferacji komórek nowotworowych mierzone za pomocą indeksów mitotycznych (stwierdzenie powyżej 40 mitoz w 10 polach widzenia mikroskopowego może wiązać się z krótszymi okresami przeżycia i wyższym ryzykiem przerzutów; 22).

Istnieją pewne kontrowersje odnośnie do przydatności opisanych powyżej systemów klasyfikacji kostniakomięsaków u psów, żaden nie uzyskał pełnej aprobaty wśród patologów weterynaryjnych, co ma związek ze znaczną różnorodnością miąższu nowotworu – obszary lepiej zróżnicowane, sąsiadują z obszarami o wyższej złośliwości histologicznej. Wydaje się, że żaden z systemów nie nadaje się do oceny małych wycinków guza, najbardziej sensowna wydaje się ocena stopnia złośliwości w przypadku guzów usuniętych doszczętnie lub gdy zabieg obejmował amputację zajętej kończyny lub bloku tkankowego (1). Nie wydaje się też zasadne, aby w oparciu o ocenę stopnia złośliwości w badaniu przedoperacyjnym małych wycinków tkankowych można było podjąć rozsądną decyzję odnośnie do sposobu leczenia chirurgicznego (amputacja lub resekcja samego guza) lub też chemioterapia adiuwantowa winna być wdrożona, czy też nie (1).

- **Typ histologiczny.** Chociaż nie ma jednoznacznych dowodów na to, że podtyp histologiczny ma przydatność rokowniczą, to istnieją pewne przesłanki (wynikające z wyników dawniejszych badań) świadczące, że kostniakomięsak fibroblastyczny może mieć korzystniejsze, a kostniakomięsak naczyńniakowaty mniej korzystne rokowanie, w porównaniu do innych podtypów histologicznych (taką zależność wykazano w kostniakomięsakach u ludzi). Kostniakomięsaki osteoblastyczne z minimalną aktywnością kościotwórczą częściej były nowotworami o najwyższym stopniu złośliwości histologicznej, w porównaniu do innych typów histologicznych (17). Jednak inne badania obejmujące dużą grupę psów

Tabela 3. Parametry oceny histologicznej złośliwości kostniakomięsaków u psów (17)

Oceniane parametry
Pleomorfizm jądrowy <ul style="list-style-type: none"> • Brak - 0 • Łagodny - 1 • Umiarkowany - 2 • Znaczny - 3
Wartość indeksów mitotycznych (liczba mitoz na 10 hpf – powiększenie 400x) <ul style="list-style-type: none"> • 1-10 - 1 • 11-20 - 2 • 21-30 - 3 • Powyżej 30 - 4
Stopień martwicy (%) <ul style="list-style-type: none"> • Brak - 0 • Poniżej 15 - 1 • 15-50 - 2 • Powyżej 50 - 3
Sumaryczna ocena stopnia złośliwości <ul style="list-style-type: none"> • 1-5: I - dobrze zróżnicowany • 6-7: II - umiarkowanie zróżnicowany • 8-10: III

z kostniakomięsakiem kości nie wykazały korelacji pomiędzy typem histologicznym a rokowaniem (18, 19).

- Obecność komórek **nowotworowych w obrębie marginesu chirurgicznego** (niedoszczętna resekcja chirurgiczna) może być oceniona w preparatach histologicznych, jednak aby można było dokonać oceny takiego parametru, przesłany do badania materiał musi być w odpowiedni sposób zabezpieczony, a brzegi, które mają być poddane ocenie – oznaczone w stosowny sposób. Niedoszczętność zabiegu chirurgicznego jest czynnikiem niekorzystnym rokowniczo.

Piśmiennictwo

1. Thompson K.G., Dittmer K.E.: Tumors of bone. W: Meuten D.J.: *Tumors in Domestic Animals*. Wyd. 5, Wiley Blackwell, Ames, 356–424.
2. Morello E., Martano M., Buracco P.: Biology, diagnosis and treatment of canine appendicular osteosarcoma: similarities and differences with human osteosarcoma. *Vet. J.* 2011, **189**, 268–277.
3. Rowell J.L., McCarthy D.O., Alvarez C.E.: Dog models of naturally occurring cancer. *Trends. Mol. Med.* 2011, **17**, 380–388.
4. Romano F.R., Heinze C.R., Barber L.G., Mason J.B., Freeman L.M.: Association between body condition score and cancer prognosis in dogs with lymphoma and osteosarcoma. *J. Vet. Intern. Med.* 2016, **30**, 1179–1186.
5. Sabattini S., Renzi A., Buracco P., Defourny S., Garnier-Moironx M., Capitani O., Bettini G.: Comparative assessment of the accuracy of cytological and histologic biopsies in the diagnosis of canine bone lesions. *J. Vet. Intern. Med.* 2017, doi: 10.1111/jvim.14696.
6. Sapierzynski R., Czopowicz M.: The animal-dependent risk factors in canine osteosarcomas. *Pol. J. Vet. Sc.* 2017, **20**, 293–298.
7. Talbott J.L., Beston S.E., Milner R.J., Lejeune A., Souza C.F.M., Kow K., Bacon N.J., Hernandez J.A.: Retrospective evaluation of whole body computed tomography for tumor staging in dogs with primary appendicular osteosarcoma. *Vet. Surg.* 2017, **46**, 75–80.
8. Rebhun R.B., Kass P.H., Kent M.S., Watson K.D., Withers S.S., Culp W.T.N., King A.M.: Evaluation of optimal water fluoridation on the incidence and skeletal distribution of naturally arising osteosarcoma in pet dogs. *Vet. Comp. Pathol.* 2016, doi: 10.1111/vco.12188.
9. Arthur E.G., Arthur G.L., Keeler M.L., Bryan J.N.: Risk of osteosarcoma in dogs after open fracture fixation. *Vet. Surg.* 2016, **45**, 30–35.
10. Gilley R.S., Hiebert E., Clapp K., Bartl-Wilson L., Nappier M., Were S., Barnes K.: Long-term formation of aggressive bony lesions in dogs with mid-diaphyseal fractures stabilized with metallic plates: incidence in a tertiary referral hospitals population. *Front. Vet. Sc.* 2017, **4**, doi: 10.3389/fvets.2017.00003.
11. Selmic L.E., Griffin L.R., Rector M.H., Lafferty M., Pool R., Ehrhart N.P.: Treatment of extralethral osteosarcoma at a previous injection site resulting in prolonged survival in 1 dog. *Can. Vet. J.* 2016, **57**, 950–954.
12. Kow K., Bailey S.M., Williams E.S., Withrow S., Lana S.E.: Telomerase activity in canine osteosarcoma. *Vet. Comp. Oncol.* 2006, **4**, 184–187.
13. Szigetvari N., Imai D.M., Piskun C.M., Rodrigues L.C.S., Chon E., Stein T.J.: Wnt5a expression in canine osteosarcoma. *Vet. Comp. Oncol.* 2013, **14**, 225–235.
14. Shoemaker J.K., Ehrhart E.J. III, Charles J.B., Thamm D.H.: Survivin inhibition via EZN-3042 in canine lymphoma and osteosarcoma. *Vet. Comp. Oncol.* 2014, **14**, e45-e57.
15. Walewska M., Dolka I., Małek A., Wojtalewicz A., Wojtkowska A., Zbikowski A., Lechowski R., Zabielska-Koczyńska K.: Experimental tumor growth of canine osteosarcoma cell line on chick embryo chorioallantoic membrane (in vivo studies). *Acta Vet. Scand.* 2017, **59**, 30.
16. Grützig K., Graf R., Boo G., Guscetti F., Hässing M., Axhausen K.W., Fabrikant S., Welle M., Meier D., Folkers G., Pospischil A.: Swiss Canine Cancer Registry 1955–2008: occurrence of the most common tumor diagnoses and influence of age, breed, body size, sex and neutering status on tumor development. *J. Comp. Pathol.* 2016, **155**, 156–170.
17. Loukopoulos P., Robinson W.E.: Clinicopathological relevance of tumor grading in canine osteosarcomas. *J. Comp. Pathol.* 2007, **136**, 65–73.
18. Nagamine E., Hirayama K., Matsuda K., Okamoto M., Ohmachi T., Kadosawa T., Taniyama H.: Diversity of histologic patterns and expression of cytoskeletal proteins in canine skeletal osteosarcoma. *Vet. Pathol.* 2015, **52**, 977–984.
19. Kirpensteijn J., Kik M., Rutteman G.R., Teske E.: Prognostic significance of a new histologic grading system for canine osteosarcoma. *Vet. Pathol.* 2002, **39**, 240–246.
20. Eberle N., Fork M., von Babo V., Nolte I., Simon D.: Comparison of examination of thoracic radiographs and thoracic computed tomography in dogs with appendicular osteosarcoma. *Vet. Comp. Oncol.* 2010, **9**, 131–140.
21. Kruse M.A., Holmes E.S., Balko J.A., Fernandez S., Brown D.C., Goldschmidt M.H.: Evaluation of clinical and histopathologic prognostic factors for survival in canine osteosarcoma of the extracranial flat and irregular bones. *Vet. Pathol.* 2012, **50**, 704–708.
22. Coyle V.J., Rassnick K.M., Borst L.B., Rodriguez Jr C.O., Northrup N.C., Fan T.M., Garrett L.D.: Biological behaviour of canine mandibular osteosarcoma. A retrospective study of 50 cases (1999–2007). *Vet. Comp. Oncol.* 2013, **13**, 89–97.
23. Dobson J.M.: Breed – predispositions to cancer in pedigree dogs. *ISRN Vet. Sc.* 2013, doi: 10.1155/2013/941275.
24. Dillberger J.E., McAttee S.A.: Osteosarcoma inheritance in two families of Scottish deerhounds. *Canine Gen. Epidemiol.* 2017, doi: 10.1186/s40575-017-0042-8.
25. Dolka I., Sapierzynski R., Król M.: Retrospective study and immunohistochemical analysis of canine mammary sarcomas. *BMC Vet. Res.* 2013, **9**, 248–257.
26. Duffy D., Selmic L.E., Kendall A.R., Powers B.E.: Outcome following treatment of soft tissue and visceral extralethral osteosarcoma in 33 dogs: 2008–2013. *Vet. Comp. Oncol.* 2015, doi: 10.1111/vco.12141.
27. Mesquita L., Mortier J., Ressel L., Finotello R., Silvestrini P., Piviani M.: Neoplastic pleural effusion and intrathoracic metastasis of a scapular osteosarcoma in a dog: a multidisciplinary integrated diagnostic approach. *Vet. Clin. Pathol.* 2017, doi: 10.1111/vcp.12474.
28. Wehrle-Martinez A.S., Dittmer K.E., Aberdein D., Thompson K.G.: Osteocalcin and osteonectin expression in canine osteosarcoma. *Vet. Pathol.* 2016, **53**, 781–787.
29. Giuffrida M.A., Macon N.J., Kamstock D.A.: Use of routine histopathology and factor VII-related antigen/von Willebrand factor immunohistochemistry to differentiate primary hemangiosarcoma of bone from teleangiectatic osteosarcoma in 54 dogs. *Vet. Comp. Oncol.* 2016, doi: 10.1111/vco.12259.
30. Soltero-Rivera M., Engiles J.B., Reiter A.M., Reetz J., Lewis J.R., Sanchez M.D.: Benign and malignant proliferative fibro-osseous and osseous lesions of the oral cavity of dogs. *Vet. Pathol.* 2015, **52**, 894–902.
31. Oblak M.L., Boston S.E., Woods J.P., Nykamp S.: Comparison of concurrent imaging modalities for staging of dogs with appendicular primary bone tumors. *Vet. Comp. Pathol.* 2013, **13**, 28–39.
32. Khanna C.: The current state and a perspective towards the future of osteosarcoma in dogs. *Vet. Comp. Oncol.* 2016, **14**, e1-e3.
33. Boerman L., Selvarajah G. T., Nielsen M., Kirpensteijn J.: Prognostic factors in canine appendicular osteosarcoma – a meta-analysis. *BMC Vet. Res.* 2012, **8**, 56–67.
34. Schmidt A.F., Nielsen M., Klungel O.H., Hoes A.W., Boer A., Groenwold R.H.H., Kirpensteijn J.: Prognostic factors of early metastasis and mortality in dogs with appendicular osteosarcoma after receiving surgery: an individual patient meta-analysis. *Prev. Vet. Med.* 2013, **112**, 414–422.
35. Culp W.T.N., Olea-Popelka F., Sefton J., Aldridge C.F., Withrow S.J., Lafferty M.H., Rebhun R.B., Kent M.S., Ehrhart N.: Evaluation of outcome and prognostic factors for dogs living greater than one year after diagnosis of osteosarcoma: 90 cases (1997–2008). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2014, **245**, 1141–1146.
36. Schmidt A.F., Groenwold R.H.H., Amsellem P., Bacon N., Klungel O.H., Hoes A.W., de Boer A., Kow K., Martioto K., Kirpensteijn J., Nielsen M.: Which dogs with appendicular osteosarcoma benefit most from chemotherapy after surgery? Results from an individual patient data meta-analysis. *Prev. Vet. Med.* 2016, **125**, 116–125.