

Rozpoznawanie i czynniki rokownicze w nowotworach melanocytarnych u psów i kotów.

Część II. Nowotwory melanocytarne skóry i gałki ocznej

Katarzyna Kliczkowska-Klarowicz, Rafał Sapieryński

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

W poprzednim artykule opisano zasady rozpoznawania nowotworów melanocytarnych u psów i kotów z uwzględnieniem badania cytologicznego oraz histopatologicznego niezależnie od lokalizacji guza, a także przedstawiono czynniki rokownicze dla czerniaków zlokalizowanych w jamie ustnej. W niniejszym artykule skupiono się na czynnikach rokowniczych dla guzów zlokalizowanych w skórze oraz przybliżono najważniejsze cechy nowotworów melanocytarnych gałki ocznej.

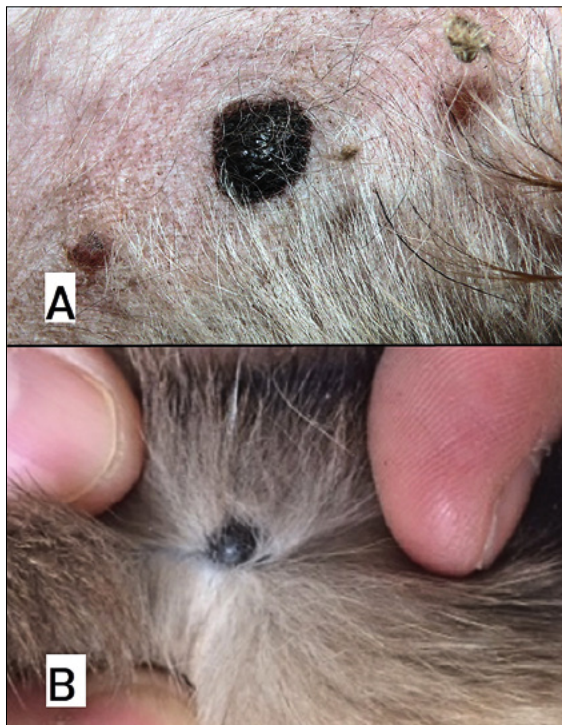
Nowotwory melanocytarne skóry

Nowotwory melanocytarne skóry występują głównie u psów, u kotów pozostają rzadkością. Guzy te w większości przypadków cechują się łagodnym charakterem biologicznym, dlatego często określane są mianem melanocytoma, które oznacza nowotwór łagodny, wywodzący się z melanocytów naskórka, skóry właściwej lub przydatków skóry. Melanocytomy szczególnie często spotykane są u wyżłów węgierskich, sznaucerów

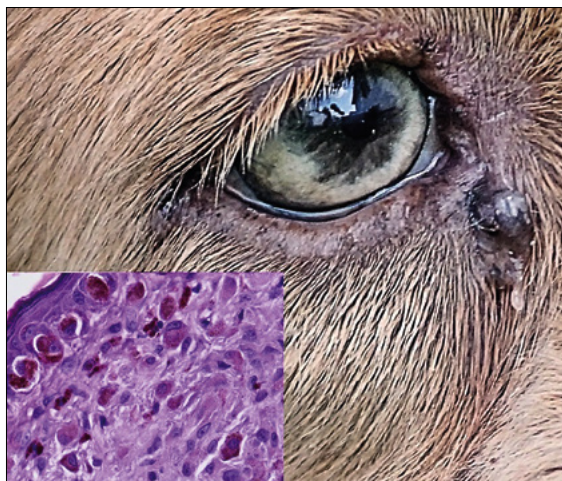
miniaturowych, seterów, sznaucerów standardowych i terierów australijskich, zazwyczaj na głowie i powiekach. Złośliwe nowotwory melanocytarne skóry – czerniaki, rozpoznawane są głównie u psów dorosłych (mediana wieku 10 lat), bez predylekcji płciowej, jednak ze zwiększonym ryzykiem występowania u sznaucerów, chow chow, shar pei i terierów szkockich (1, 2, 3). Guzy te występują u psów zazwyczaj na głowie, mosznie, kończynach, rzadziej skórze jamy brzusznej. U kotów nowotwory melanocytarne skóry spotykane są rzadko, najczęściej u kotów domowych krótkowłosych, dorosłych i starszych, na głowie i grzbiecie (1).

Obraz kliniczny

Nowotwory melanocytarne skóry przybierają postać pojedynczych, nieotorbionych guzków lub guzów o różnym kształcie, różnej wielkości (choć większość nie przekracza w momencie rozpoznania 2–3 cm), często (choć nie zawsze) pigmentowanych – szarych, brązowych czy wręcz czarnych (**ryc. 1, 2**).



Ryc. 1. Wygląd makroskopowy niezłośliwych nowotworów melanocytarnych skóry – melanocytom, u psa (ryc. A) i kota (ryc. B). W obu przypadkach zmiany są małe, dobrze odgraniczone od otaczającej skóry, kopulaste i ciemno pigmentowane



Ryc. 2. Wygląd makroskopowy melanocytomy w okolicy oka u psa. Wstawka przedstawia obraz mikroskopowy tego przypadku, barwienie hematoksylina-eozyna, powiększenie 100x

W przypadku czerniaków guzy są zazwyczaj większe, często obserwuje się naciekający wzrost (związanie z otaczającymi tkankami) i owrzodzenie powierzchni guza (ryc. 3). Specyficzną formą anatomiczną/topograficzną czerniaków są czerniaki łożyska pazurów (do 8% wszystkich złośliwych zmian melanocytarnych u psów; 1). Zmiany te pojawiają się w obwodowych odcinkach palców, szczególnie często u sznaucerów, rottweilerów i terierów szkockich, nierzadko powodując całkowite zniszczenie pazura. Są zazwyczaj mocno pigmentowane, ale bywają też amelanocytne (ryc. 4). U psów na uwagę zasługują też czerniaki rozwijające się w okolicy odbytu, które – jak się wydaje – wykazują szczególną agresywność biologiczną. We wszystkich

Diagnosis and prognostic factors in melanotic tumors in dogs and cats. Part II. Cutaneous and ocular melanotic tumors

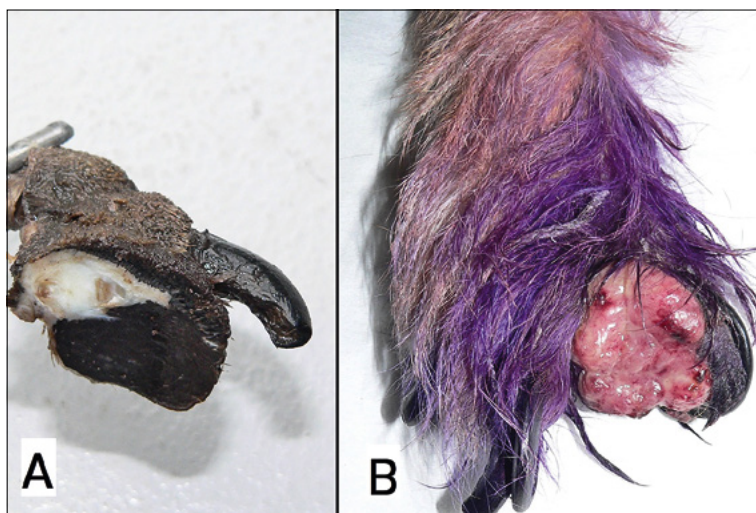
Kliczkowska-Klarowicz K., Sapieryński R., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article aims at the presenting of cutaneous and ocular melanocytic neoplasms in small companion animals. These tumors are common in dogs and quite uncommon in cats. Melanocytic tumors in dogs behave in a different way, depending on their location – oral tumors are in most cases aggressive and skin tumors are considered to be of more benign nature. In both, skin and oral groups of these neoplasms, there are some exceptions with their own peculiarities. Histopathology is crucial in making proper diagnosis of melanoma and it also enables to predict biological behaviour of the tumor. The most important prognostic factors, that can be established by microscopical examination, are mitotic count (MC), nuclear atypia and expression of Ki67 protein. Melanocytic tumors of the eye globe are considered as a separate group of neoplasms with different classification schemes and own prognostic factors.

Keywords: dog, cat, melanocytic neoplasms, eye globe tumours, melanocytoma, melanoma, malignant melanoma, prognosis.



Ryc. 3. Wygląd makroskopowy czerniaka skóry u psa – widoczny jest duży guz, z owrzodzeniem pokrywającej go skóry. Guz został usunięty chirurgicznie, jednak po kilku tygodniach stwierdzono przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych (węzeł nadprącowy)



Ryc. 4. Dwa przypadki czerniaka palca u psów – jak w każdej innej lokalizacji czerniaki palców mogą być silnie pigmentowane (ryc. A) lub pozbawione melaniny (ryc. B) – jednak ilość melaniny w mięszu czerniaka nie ma znaczenia rokowniczego

Ryc. 5.

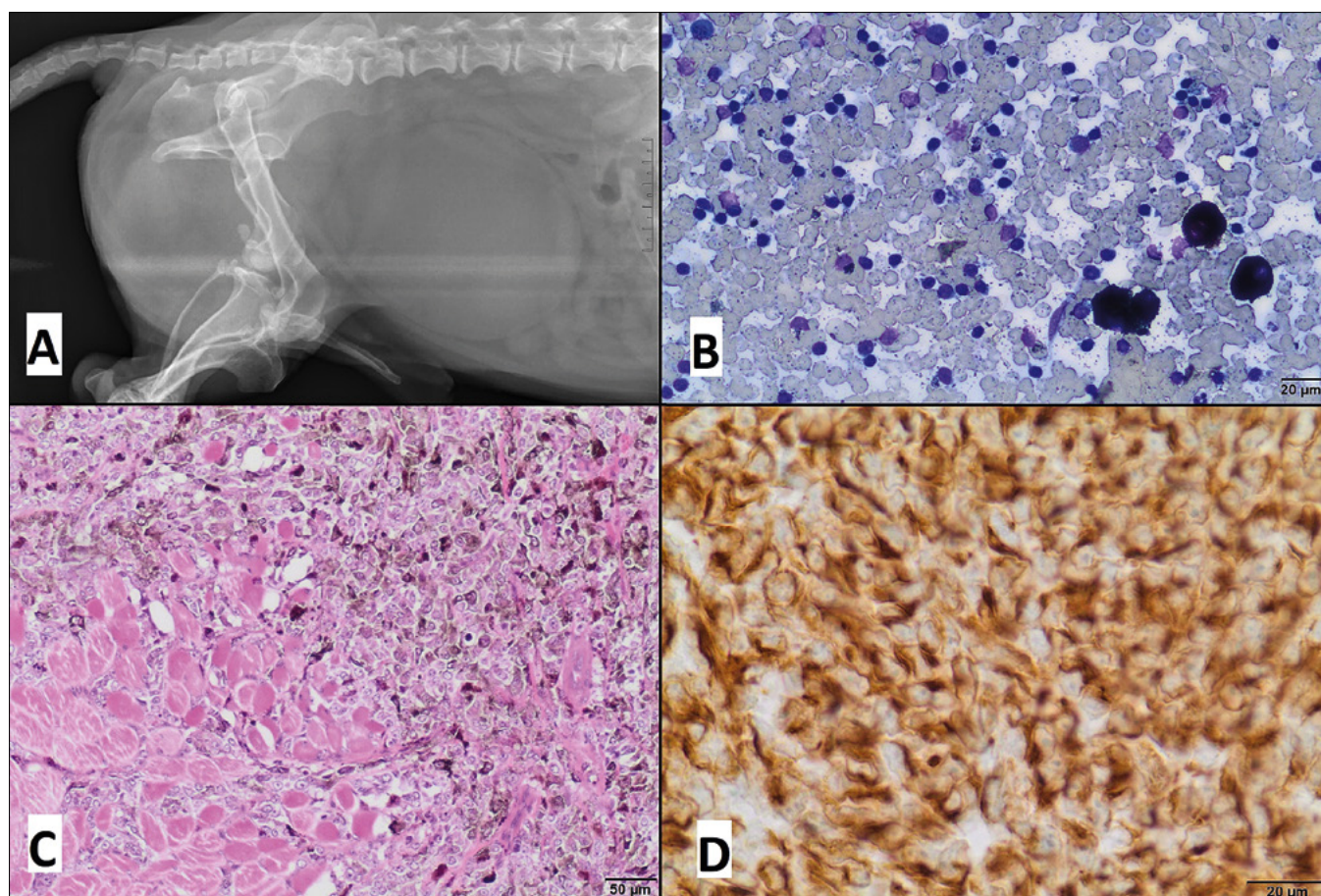
Wygląd makroskopowy czerniaka okolicy odbytu – guz rośnie w postaci dużej, owrzodziałej „brodawki”



4 przypadkach takich czerniaków rozpoznanych przez jednego z autorów stwierdzono występowanie przerzutów do węzłów chłonnych biodrowych przysródkowych, które pojawiły się w okresie kilku tygodni od zabiegu resekcji guza pierwotnego (ryc. 5 i 6).

Rokowanie

Większość guzów melanocytarnych skóry (z wyłączeniem palców/łożyska pazurów i okolicy odbytu) wykazuje łagodny przebieg kliniczny i rokowanie po zabiegu chirurgicznym jest dobre – jedynie 12% guzów usuniętych chirurgicznie daje wznowy lub przerzuty, a z przyczyn związanych z nowotworem, umiera około 7% pacjentów (4). W jednym ze starszych badań mediana czasu przeżycia wśród psów, które padły z przyczyn związanych z nowotworem wyniosła 250 dni (ponad 8 miesięcy) od zabiegu chirurgicznego (4). Natomiast w badaniach Bongiovanni i wsp. (5) żaden z psów, u których usunięto nowotwór melanocytarny skóry (również o złośliwym obrazie mikroskopowym) i u których w czasie rozpoznania nie występowały przerzuty do węzłów chłonnych, nie padł w trakcie prowadzenia obserwacji (2–3 lata w zależności od przypadku; 5). W najnowszych badaniach przeprowadzonych na 87 psach z nowotworami melanocytarnymi skóry wznowy obserwowano u 8% psów, a przerzuty u 22%, jednak okres wolny od choroby wyniósł aż 3,5 roku od zabiegu, a całkowity czas przeżycia oscylował pomiędzy 3,5 i 4 latami (6). Z kolei czerniaki rozwijające się w obrębie wału pazura często wykazują



Ryc. 6. Czerniak okolicy odbytu – przypadek z ryc. 5. Na ryc. A widoczne zdjęcie RTG tylnej części ciała wykonane u psa, u którego miesiąc wcześniej usunięto czerniaka okolicy odbytu, a u którego doszło do zatrzymania moczu – widoczne silne wypełnienie pęcherza moczowego. W badaniu rektalnym stwierdzono znaczne powiększenie obu węzłów chłonnych biodrowych przysródkowych, a biopsja tych węzłów wykazała przerzuty czerniaka (ryc. B) – widoczne limfocyty oraz duże komórki z obfitą cytoplazmą zawierającą melaninę; barwienie odczynnikami Giemsa, pow. 100x. Na ryc. C widoczny obraz histologiczny guza, w którym widoczne jest naciekanie mięśni (różowe struktury w dolnym lewym rogu) przez komórki nowotworowe (na górze i po prawej); barwienie H-E, pow. 100x. Na ryc. D widoczny wynik barwienia immunohistochemicznego mięszu guza, z użyciem przeciwciała wykrywającego antygen MelanA – brązowa barwa cytoplazmy wskazuje na wynik pozytywny; barwienie immunohistochemiczne, pow. 200x

złośliwy charakter, zarówno histologiczny, jak i biologiczny. Dzięki lokalizacji umożliwiającej wczesne wykrycie nowotworu i możliwość szybkiej i doszczętnie resekcji chirurgicznej (amputacji kończyny) rokowanie dla psów z tym rodzajem czerniaka nie jest bardzo złe, jednak powinno być ono co najmniej ostrożne. Według niektórych doniesień około 30–50% takich guzów daje przerzuty drogą naczyń limfatycznych, zarówno do węzłów chłonnych, jak i narządów odległych, co prowadzi do śmierci, nawet u pacjentów, u których dokonano amputacji (7). W innym z badań z powodu nowotworu padła połowa pacjentów z czerniakiem obwodowych odcinków kończyn, a mediana czasu przeżycia dla psów we wspólnej grupie czerniaków zlokalizowanych w obrębie warg oraz obwodowych odcinków kończyn wyniosła około 9 miesięcy (1, 4).

Czynniki rokownicze w nowotworach melanocytarnych skóry

Parametry kliniczne

Wpływ wieku pacjenta na przebieg choroby jest dyskusyjny – przez niektórych autorów starszy wiek uznawany jest za negatywny czynnik prognostyczny (4, 6), według innych zarówno wiek, jak i masa ciała psa nie mają istotnego znaczenia rokowniczego (2). W niektórych badaniach wielkość guza oraz obecność owrzodzenia powierzchni są negatywnie skorelowane z czasem przeżycia psów (8). Czynnikiem rokowniczym w przypadku nowotworów melanocytarnych skóry u psów wydaje się rozległość procesu w obrębie skóry, wyrażona głębokością nacieku nowotworowego, mierzona prostopadłe do linii naskórka. W najnowszym badaniu przeprowadzonym na 77 psach z guzami melanocytarnymi skóry melanocytozy okazały się być istotnie cieńsze niż czerniaki (2–5 mm vs 5–11 mm) i zasugerowano, że wartość graniczna tego parametru wynosząca 4,5 mm może być pomocna w różnicowaniu pomiędzy melanocytomą a czerniakiem. Ponadto, większa grubość guza zwiększała szansę wystąpienia wznowy/przerzutów 5-krotnie oraz ryzyko śmierci z powodu nowotworu 10-krotnie w porównaniu do psów, u których grubość guza była mniejsza (wartości graniczne 7,5 i 9,5 mm; 3). Co ciekawe, w badaniu tym nie wykazano, aby doszczętność zabiegu chirurgicznego miała istotny wpływ na wystąpienie przerzutów oraz wznowy pooperacyjnej u psów z nowotworem melanocytarnym skóry (3).

Parametry mikroskopowe

Ze względu na fakt, że większość nowotworów melanocytarnych skóry wykazuje łagodny charakter biologiczny, rozpoznanie przypadków o wyższej złośliwości biologicznej może stanowić dla patologa wyzwanie. Obraz mikroskopowy sugerujący łagodny charakter zmiany melanocytarnych skóry obejmuje brak pleomorfizmu komórkowego, ognisk martwicy i komórek nowotworowych w pobliżu naczyń, a także niską sumaryczną liczbę figur mitotycznych (mitotic count – MC) w 10 polach widzenia mikroskopowego przy dużym powiększeniu (high power field – HPF)

Tabela 1. Czynniki rokownicze możliwe do oceny w badaniu histopatologicznym w przypadku czerniaków skóry owłosionej (opracowano na podstawie 1, 4, 8). Opis w tekście

| Parametr | Rokowanie pozytywne | Rokowanie negatywne |
|----------------|---|---|
| MC | <3 w 10 HPF 90% psów żyje dłużej niż 2 lata, mediana przeżycia ponad 2 lata | ≥3 w 10 HPF 50% nie przeżywa 7 mies., mediana przeżycia 7,5 mies. |
| Atypia jądrowa | <20% komórek | ≥20% komórek |
| Ki67 | <15% | ≥ 15% |

– ustalono że w przypadkach, gdy liczba mitoz wynosi poniżej 3/10 HPF, rokowanie jest korzystne. Do cech złośliwości histologicznej zalicza się z kolei obecność pleomorfizmu komórkowego, ognisk martwicy, atypowych figur mitotycznych oraz wysoką aktywność mitotyczną (MC ≥ 3 na 10 HPF), a według niektórych autorów także obecność nacieków komórkowych zapalnych w miększu guza (4, 5). Tak samo jak w przypadku jamy ustnej podtyp histologiczny (morfologiczny) oraz intensywność pigmentowania nie ma wpływu na zachowanie biologiczne guza (1, 2).

Mikroskopowa procedura diagnostyczna dla nowotworów melanocytarnych skóry jest podobna do tej opisanej przy czerniakach jamy ustnej. Poszczególne etapy różnią się od siebie wartościami progowymi dla poszczególnych parametrów, co przedstawiono w tabeli 1.

Potencjalnym czynnikiem rokowniczym dla psów z nowotworami melanocytarnymi skóry może być jądrowa immunoekspresja surwiwiny liczona w 1000 komórek nowotworowych. Immunoekspresja w powyżej 8% jąder komórek nowotworowych wiązała się z wyższym ryzykiem wystąpienia przerzutów lub śmierci z przyczyn związanych z nowotworem (ekspresja cytoplazmatyczna nie miała związku z rokowaniem; 5). Potwierdzonym parametrem rokowniczym dla psów z czerniakiem uzyskiwanym w toku barwienia immunohistochemicznego jest immunoekspresja jądrowa białka Ki67 oceniana w preparatach histologicznych barwionych przeciwciałem MIB-1 (8; tab. 1).

Co powinno się znaleźć w wyniku badania histopatologicznym czerniaka skóry u psa?

- Rozpoznanie z oceną histologiczną złośliwości (ocena subiektywna badającego oparta m.in. na obecności pleomorfizmu komórkowego, ognisk martwicy, komórek nowotworowych w pobliżu naczyń, masywnych nacieków zapalnych w masie guza, owrzodzenia powierzchni).
- Głębokość naciekania skóry (o ile to możliwe do przeprowadzenia, wycinek musi być odpowiednio przygotowany).
- Wartość MC (sumaryczna liczba mitoz w 10/HPF).
- Ocena nasilenia atypii jądrowej, podana w formie odsetka (ocena subiektywna)
- Czystość marginesów histologicznych (o ile to możliwe do przeprowadzenia, wycinek musi być odpowiednio przygotowany; parametr bez udokumentowanej wartości rokowniczej).
- Inwazja naczyń limfatycznych (o ile to możliwe do przeprowadzenia, wycinek musi być odpowiednio przygotowany).
- Ocena ekspresji Ki67 (barwienie to nie wchodzi w zakres rutynowej oceny, wykonanie barwienia powinno być dodatkowo zleczone i jest dodatkowo płatne).

NOWOTWORY MELANOCYTARNE GAŁKI OCZNEJ

Opracowano na podstawie: Dubielzig R.R.: Tumors of the Eye. W: Meuten D.J.: Tumors in Domestic Animals. Wyd. 5, Wiley Blackwell, Ames, 2017, 892–922.

Wśród nowotworów gałki ocznej pochodzenia melanocytarnego wyróżnić można zarówno guzy o charakterze niezłośliwym – melanocytozy oraz nowotwory złośliwe – czerniaki. Za histopatologicznie niezłośliwe uznaje się guzy, w których ilość figur mitotycznych jest niższa lub równa 2/HPF.

Melanocytozy gałki ocznej występują głównie u psów i najczęstszym miejscem ich występowania jest przednia część błony naczyniowej (anterior uveal melanocytoma, w tym tęczęwka i zrąb ciała rzęskowego) oraz rąbek rogówki (epibulbar melanocytoma). Nie wykazano predylekcji rasowej ani płciowej do występowania melanocytozy gałki ocznej zarówno u psów, jak i u kotów, wyjątkiem są melanocytozy rąbka rogówki, które występują częściej u owczarków niemieckich. Mimo niezłośliwego charakteru biologicznego melanocytozy mogą przybierać znaczne rozmiary prowadząc do niedomykalności powiek, nawracającego zapalenia spojówek, jaskry, rozwarstwienia rogówki, czy krwotoków wewnątrzgałkowych. W przypadkach takich wskazana jest obserwacja guza, a w przypadku kiedy wykazuje on szybki wzrost lub jest przyczyną zaburzeń wymienionych powyżej, powinien on zostać usunięty chirurgicznie. W celu wykluczenia złośliwego charakteru procesu po usunięciu guza należy poddać go zawsze badaniu histopatologicznemu. Około 1/5 nowotworów gałki ocznej u psów wykazuje charakter złośliwy

(w nomenklaturze widnieją tym samym jako czerniaki) – wywodzą się zazwyczaj z przedniej części błony naczyniowej, występując bez wyraźnej predylekcji rasowej czy płciowej. Przerzuty odległe czerniaka gałki ocznej, chociaż możliwe, to występują rzadko i są przyczyną śmierci zwierzęcia tylko w wyjątkowych przypadkach.

U kotów nowotwory melanocytarne gałki ocznej rozwijają się w obrębie tęczęwki, przybierając postać rozszanega czerniaka tęczęwki (feline diffuse iris melanoma). Guz ten występuje u starszych kotów bez predylekcji rasowej i płciowej. Makroskopowo przyjmuje postać wypukłych, pigmentowanych ognisk i guzków tęczęwki, a ogniskowe zwiększenia pigmentacji tęczęwki mogą pojawić się nawet kilka lat przed progresją do formy złośliwej. U wielu dotkniętych tym nowotworem kotów z czasem dochodzi do powstawania przerzutów odległych, głównie do wątroby, płuc i nerek. Z tego powodu w przypadku wykrycia guza tęczęwki u kota zalecana jest uważna obserwacja i w przypadku, gdy rozpoczyna się naciekanie ciała rzęskowego i rogówki, usunięcie całej gałki ocznej. Takie postępowanie pozwala znacznie zredukować ryzyko wystąpienia przerzutów do narządów wewnętrznych. Postępowanie rozpoczyna się jednak od regularnych kontroli stopnia zaawansowania procesu, ponieważ w części przypadków guzy te rosną powoli i usunięcie gałki ocznej może okazać się niepotrzebne.

Piśmiennictwo

1. Goldschmidt M.H, Goldschmidt K. H.: Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. W: Meuten D.J.: *Tumors in Domestic Animals*. Wyd. 5, Wiley Blackwell, Ames, 2017, 123–131.
2. Smedley R.C., Spangler W.L., Esplin D.G., Kitchell B.E, Bergman P.J., Ho H.Y., Bergin I.L., Kiupel M.: Prognostic markers for canine melanocytic neoplasms: a comparative review of the literature and goals for future investigation. *Vet. Pathol.* 2011, **48**(1), 54–72.
3. Silvestri S., Porcellato I., Mechelli L., Menchetti L., Rapastella S., Brachelente C.: Tumor Thickness and Modified Clark Level in Canine Cutaneous Melanocytic Tumors. *Vet. Pathol.* 2018, doi: 10.1177/0300985818798094.
4. Spangler W.L., Kass P.H.: The histologic and epidemiologic bases for prognostic consideration in canine melanocytic neoplasia. *Vet. Pathol.* 2006, **43**, 136–149.
5. Bongiovanni L., D'Andrea A., Porcellato I., Ciccarelli A., Malatesta D., Romanucci M., Della Salda L., Mechelli L., Brachelente C. Canine cutaneous melanocytic tumours: significance of β -catenin and survivin immunohistochemical expression. *Vet. Dermatol.* 2015, **26**, 270–e59.
6. Laver T., Feldhaeusser B.R., Robat C.S., Baez J.L., Cronin K.L., Buracco P., Annoni M., Regan R.C., McMillan S.K., Curran K.M., Selmic L.E., Shiu K.B., Clark K., Fagan E., Thamm D.H.: Post-surgical outcome and prognostic factors in canine malignant melanomas of the haired skin: 87 cases (2003–2015). *Can. Vet. J.* 2018, **59**(9), 981–987.
7. Vail D.M., Withrow S.J.: Tumors of the skin and subcutaneous tissue. W: Withrow S.J., Vail D.M.: *Withrow's & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, wyd. 4, Saunders Elsevier, St. Louis, 2007, 375–401.
8. Laprie C., Abadie J., Amardeilh M., Net J., Lagadic M., Delverdiere M.: MIB-1 immunoreactivity correlates with biologic behaviour in canine cutaneous melanoma. *Vet. Derm.* 2001, **12**, 139–147.

Lek. wet. Katarzyna Kliczkowska,
e-mail: katarzyna_kliczkowska@sggw.pl