

Guzy nabłonkowe grasicy u psów – nowa klasyfikacja histologiczna

Rafał Sapieryński

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Choroby grasicy są u zwierząt rozpoznawane rzadko, do najczęściej rozpoznawanych nieprawidłowości w tym narządzie u psów należą grasiczaki (50% wszystkich zmian), chłoniaki (33% zmian), rzadziej rozpoznaje się zmiany torbielowate, niedorozwój oraz zaburzenia krążenia (1). W patologii weterynaryjnej nowotwory nabłonkowe grasicy (thymic epithelial tumour – TET) dzieli się zwyczajowo na grasiczaki oraz raki grasicy.

Grasiczak (*thymoma*) jest niezłośliwym nowotworem, który wywodzi się z komórek nabłonkowych zrębu grasicy. Z kolei rak grasicy (thymic carcinoma) jest nowotworem wywodzącym się z komórek nabłonkowych zrębu grasicy, którego komórki wykazują cytologiczną i histologiczną złośliwość. Jednak w medycynie weterynaryjnej często w pojęciu grasiczaka mieszczą się wszystkie przypadki nowotworów pochodzących z komórek nabłonka grasicy, bez względu na ich biologiczne zachowanie, w tym ujęciu zdecydowanie przeważają formy niezłośliwe (2, 3). Dodatkowo ze względu na słabą korelację pomiędzy obrazem histologicznym grasiczaków u psów (także i u kotów) a ich zachowaniem biologicznym, z praktycznego punktu widzenia u zwierząt grasiczaki dzieli się na nieinwazyjne i inwazyjne. Cechy wskazujące na złośliwy charakter i sugerujące agresywne zachowanie biologiczne to naciekanie torebki narządu oraz otaczających tkanek, obecność komórek nowotworowych w wysięku w jamie opłucnej, obecność przerzutów lokalnych (np. na opłucnej) i odległych.

Przedstawione ujęcie powodowało pewne trudności diagnostyczne, a także uniemożliwiało porównywanie między sobą różnych badań dotyczących grasiczaków u psów. W związku z tym, w ostatnio opublikowanych badaniach Burgess i wsp. (4) podjęli próbę opracowania nowego podejścia do klasyfikacji histologicznej nowotworów nabłonka grasicy u psów, w oparciu o klasyfikację WHO opracowaną dla ludzi. W klasyfikacji tej wszystkie nowotwory grasicy wywodzące się z komórek nabłonka narządu podzielono w oparciu o wygląd komórek nowotworowych, cechy morfologiczne oraz zawartość nienowotworowych limfocytów w miąższu guza (tab. 1). W onkologii medycznej podtyp

określony na podstawie tej klasyfikacji pozwala określić rokowanie, w tym przewidzieć ryzyko powstania nawrotów oraz okres przeżycia pacjenta.

Obraz kliniczny

Guzy nabłonkowe grasicy rozpoznaje się u osobników w średnim wieku i starszych (ze średnią 8–10 lat), częściej u labradorów, golden retrieverów (w jednym z badań 38% psów z rozpoznaniem grasiczakiem należało do tych dwóch ras), owczarków niemieckich, angielskich springer spanieli niż u psów innych ras (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10). Brak jest predylekcji płci do występowania grasiczaków, jednak wykazano, że problem dotyczy psów dużych (mediana 30,7 kg), chociaż nowotwory opisywano też u osobników o masie ciała wynoszącej 2,5 kg (4). Najpowszechniejsze objawy kliniczne, które rozpoznaje się u psów z grasiczakiem, to postępujące zaburzenia oddechowe, kaszel, utrudnione połykanie i ślinotok, wodopiersie lub/i wodobrzusze (ryc. 1) związane z powiększeniem się masy w śródpiersiu, a także wymioty i regurgitacja – szczególnie gdy guzowi towarzyszy nużliwość mięśni (miastenia; 7, 8, 11). Powszechne nieprawidłowości, które obserwuje się u psów z grasiczakiem, to hiperkalcemia (około 38% osobników), nużliwość mięśni (17 do 47% osobników) lub inne choroby o podłożu immunologicznym (7% osobników; 4, 9). Dodatkowo u 27% psów z rozpoznaniem grasiczakiem rozpoznano też inny typ nowotworu zlokalizowanego poza grasicą (8). Opisano też przypadki rumienia wielopostaciowego u labradora z grasiczakiem, który ustąpił

Thymic epithelial tumors in dogs – the new histologic classification

Sapieryński R., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article aims at the presentation of thymic epithelial tumors (TETs), which represent rare malignancies arising from the epithelium of the thymic gland and are uncommon tumors in dogs. When reported, they tend to occur in older animals, with no apparent breed or sex predilection, although German shepherds and Labrador retrievers may be over-represented. Similarly to humans, dogs with TETs can be afflicted with potentially fatal paraneoplastic syndromes, including myasthenia gravis and other immune mediated diseases in up to 67% of patients. Thymus is a complex lymphoepithelial organ composed of at least four different types of epithelial cells providing a microenvironment for the maturation and differentiation of T lymphocytes. Histologically, thymic tumors are categorized as lymphocyte predominant, epithelial cell predominant and mixed. However, because of the poor correlation between histological characteristics and clinical behavior, TETs in animals are divided into non-invasive and invasive tumors. Recently, new histopathologic classification, based on the TETs cytomorphological features, was proposed for dogs. It has utilized the WHO classification of human thymic tumors, but despite histological similarities, this system seems to be of little prognostic usefulness in veterinary medicine.

Keywords: TETs, thymic carcinoma, thymic epithelial tumor, thymoma, dog.

w 4 miesiące po resekcji guza ze śródpiersia (8). Grasiczakowi może towarzyszyć obwodowa limfocytoza, najczęściej związana z nagromadzeniem we krwi limfocytów o immunofenotypie CD3 (limfocytoza ustępuje po resekcji guza, co potwierdza związek przyczynowo-skutkowy; 10). Powikłaniem grasiczaka, a właściwie towarzyszącej mu nużliwości mięśni może być też zachłystowe zapalenie płuc (6).

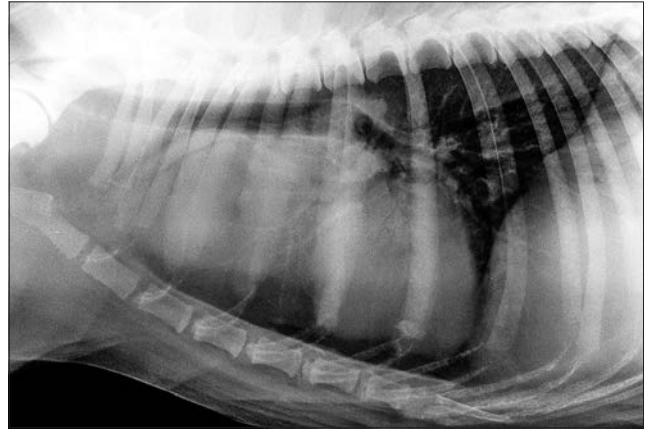
Objawy kliniczne nowotworów grasicy są nieswoiste i najczęściej nie pozwalają na

Tabela 1. System klasyfikacji histologicznej grasiczaków u psów w oparciu o klasyfikację WHO u ludzi (4)

Typ	Opis histologiczny	Typ histologiczny
A	Komórki owalne/wrzecionowate, brak atypii, limfocyty nieliczne	Grasiczak
AB	Opis jak wyżej z ogniskami bogatymi w limfocyty	Grasiczak
B1	Przypomina prawidłową grasicę, bogaty w limfocyty, obecne obszary z różnicowaniem korowo-rdzeniowym	Grasiczak
B2	Rozproszone skupiska komórek nabłonka, obraz bogaty w limfocyty, mniej wyraźne ogniska różnicowania o wyglądzie rdzenia	Grasiczak
B3	Komórki okrągłe lub wielokątne, brak lub łagodna atypia komórek, limfocyty średnio liczne	Grasiczak atypowy
C	Obecne cechy atypii komórkowej, architektonika przypomina obserwowaną w przypadku innych raków, brak dojrzałych limfocytów	Rak grasicy



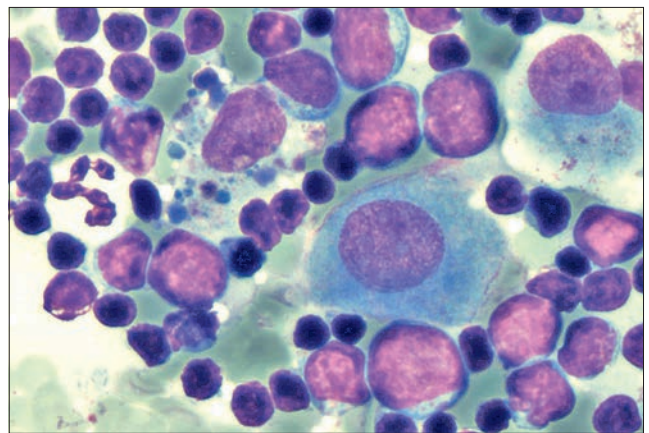
Ryc. 1. Ośmioletni pies, labrador z rozpoznaniem guzem śródpiersia przedsercowego, najprawdopodobniej grasiczakiem – zwraca uwagę powiększenie zarysu powłok brzusznych spowodowane wodobrzuszem



Ryc. 2. Obraz rentgenowski berneńskiego psa pasterskiego z grasiczakiem – w śródpiersiu przedsercowym masa o wysyceniu tkanek miękkich



Ryc. 3. Obraz ultrasonograficzny guza śródpiersia, u psa z ryciny 1. Obraz guza przemawia za obecnością grasiczaka



Ryc. 4. Obraz cytologiczny grasiczaka u psa – w centrum pola widzenia i na górze po prawej komórki nowotworowe, poza tym widoczne liczne małe limfocyty i mniej liczne średnie i duże blastyczne limfocyty. Materiał pobrano drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, barwienie barwnikiem Giemsa, powiększenie 1000×

odróżnienie tych guzów od innych zmian zlokalizowanych w śródpiersiu, może poza objawami męczliwości mięśniowej, która zawsze powinna skłaniać do uwzględnienia grasiczaka w rozpoznaniu różnicowym. W badaniach obrazowych obserwuje się twory guzowate o wysyceniu tkanek miękkich, zlokalizowane w śródpiersiu przedsercowym, niekiedy znacznych rozmiarów przemieszczające narządy klatki piersiowej (**ryc. 2**). W obrazie ultrasonograficznym grasiczaki często mają dość typowy wygląd, mianowicie stwierdza się obecność masy, w obrębie której widoczne są ogniska hipoechogeniczne wymieszane z ogniskami hiperechogenicznymi (**ryc. 3, 4**).

Badanie cytologiczne jest dobrą metodą rozpoznawania grasiczaków, pod warunkiem że uda się pobrać dobrej jakości próbkę (co ze względu na często wielojamową strukturę guza nie zawsze jest to łatwe). Badania przeprowadzone przez Pintore i wsp. (12) wykazały, że metoda pobrania próbki (na ślepo, pod kontrolą ultrasonograficzną lub tomograficzną) nie wpływała na jej jakość oraz uzyskanie

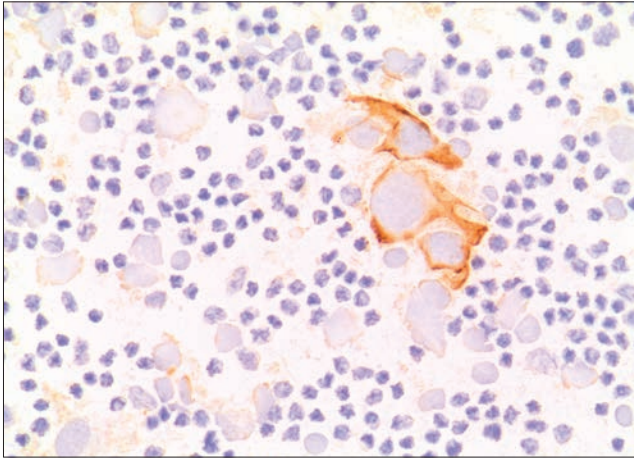
poprawnego wyniku badania. Badacze ci wykazali wysoką skuteczność badania cytologicznego w rozpoznawaniu grasiczaków u psów (prawidłowe rozpoznanie uzyskano w 4 na 5 zbadanych cytologicznie grasiczaków). W większości przypadków w próbce dominują limfocyty (zazwyczaj małe, rzadziej formy blastyczne), komórki miąższu guza są z reguły mniej liczne, a czasami mogą być wręcz nieobecne (**ryc. 4, 5**). W ponad połowie grasiczaków próbki zawierają też prawidłowe komórki tuczne, szczególnie dobrze widoczne w preparatach zabarwionych błękitem toluidyny. W przypadkach wątpliwych w rozpoznawaniu grasiczaków pomocne jest barwienie immunocytochemiczne/immunohistochemiczne z zastosowaniem markera komórek nabłonkowych – cytokeratyny (**ryc. 5, 6; 10**). W odróżnianiu grasiczaków bogatych w limfocyty od chłoniaków (kolejny pod względem częstości występowania nowotwór grasicy u psów) może być badanie cytometryczne, w którym analizuje się immunofenotyp limfocytów (13). Wykazano mianowicie, że w przypadku

grasiczaków co najmniej 10% limfocytów wykazywało koekspresję CD4 i CD8 (immunofenotyp typowy dla tymocytów), z kolei w przypadku chłoniaków obejmujących grasicę immunofenotyp CD4/CD8 wykazywało poniżej 2% przeanalizowanych limfocytów (13).

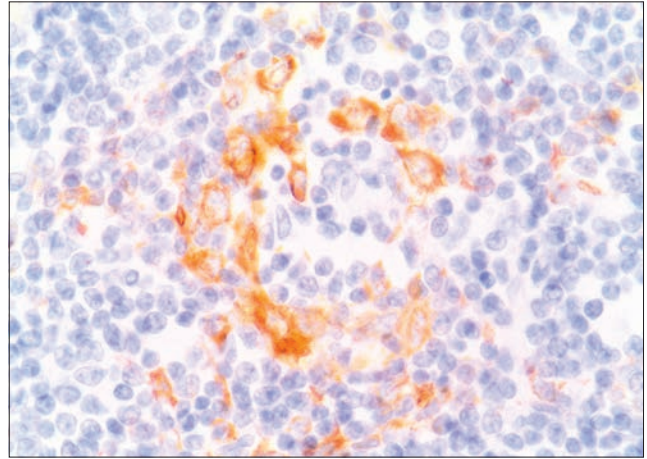
Obraz histologiczny – klasyfikacja według WHO

Wśród kryteriów mikroskopowych, które należy brać pod uwagę przy określaniu typu histologicznego nabłonkowych nowotworów grasicy, zalicza się: pleomorfizm komórkowy, obecność figur mitotycznych, naciekanie torebki narządu i obecność nacieku komórkowego zapalnego (4).

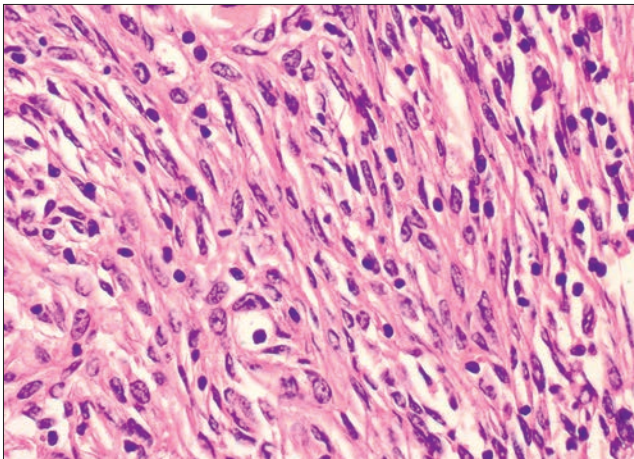
Grupa guzów zaliczonych do grasiczaków (typy histologiczne A, AB, B1 i B2) zawiera w sobie zmiany o różnym wyglądzie histologicznym. Bez względu na podtyp histologiczny figury mitotyczne są tu nieliczne, pleomorfizm komórkowy jest słabo wyrażony, a cechy naciekania torebki przez komórki nowotworowe obserwuje



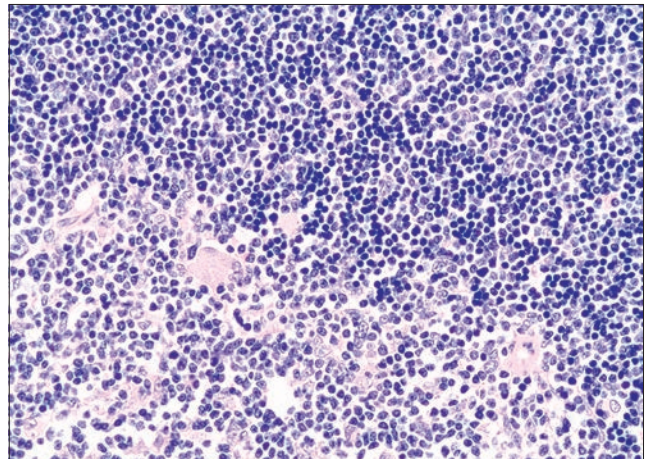
Ryc. 5. Obraz immunocytochemiczny grasiczaka u psa. Preparat cytologiczny zabarwiono przeciwciałem wykrywającym cytokeratynę (marker komórek nabłonkowych) – brązowa barwa świadczy o reakcji dodatniej. Materiał pobrano drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, barwienie immunocytochemiczne, powiększenie 400×



Ryc. 6. Obraz immunohistochemiczny grasiczaka u psa. Preparat zabarwiono przeciwciałem wykrywającym cytokeratynę – widoczna dodatnia reakcja (brązowa barwa cytoplazmy) wskazuje na nabłonkowe pochodzenie komórek nowotworowych – pozostałe komórki to nienowotworowe limfocyty infiltrujące mięsz guza. Barwienie immunocytochemiczne; powiększenie 400×



Ryc. 7. Obraz histologiczny grasiczaka u psa – typ histologiczny A. Mięsz guza utworzony jest z komórek wydłużonych i wrzecionowatych o wydłużonych i minimalnie pobudzonych jądrach komórkowych, limfocyty są nieliczne, figury mitotyczne nieobecne. Barwienie hematoksylina-eozyna; powiększenie 200×



Ryc. 8. Obraz histologiczny grasiczaka u psa – typ histologiczny B1. Mięsz nowotworu przypomina prawidłową grasicę. Na górze ryciny bogate w limfocyty obszary przypominające korę narządu, na dole ryciny struktura przypominająca rdzeń grasicy, w której komórek nowotworowych jest więcej – stąd ten obszar jest jaśniejszy. Barwienie hematoksylina-eozyna; powiększenie 100×

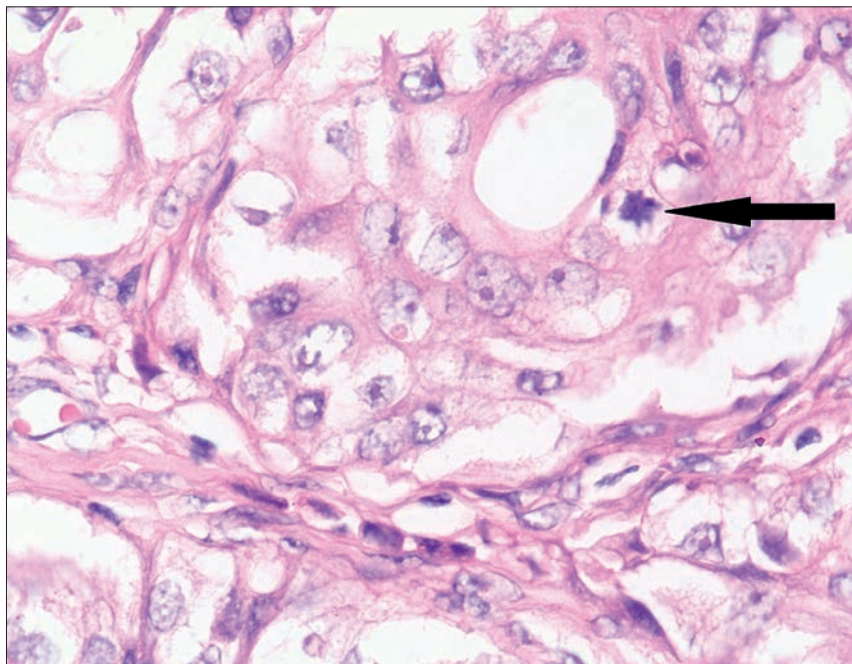
się jedynie w 20% przypadków (4). W typie A obserwuje się lite pola zawierające komórki wydłużone lub wrzecionowate, ułożone w pasma, które posiadają jądra wydłużone, jednak niewykazujące cech atypii komórkowej i jądrowej. Figury mitotyczne są zwykle nieobecne, a nienowotworowe limfocyty obserwuje się rzadko (**ryc. 7**). Typ AB jest zbliżony wyglądem do poprzedniego typu, jednak mięsz rozrostu zawiera ogniska, które są bogate w nacieki limfocytarne. W typie B1 w obrazie mikroskopowym stwierdza się obraz przypominający prawidłową grasicę, guz jest bogaty w limfocyty, które mogą przesłaniać mięsz nowotworu, jednak w niektórych obszarach nowotworu można dostrzec cechy różnicowania korowo-rdzeniowego (**ryc. 8**). Typ B2 wytworzony jest ze skupisk komórek nabłonkowych przemieszanych z obszarami bogatymi w małe limfocyty. W niektórych przypadkach zmian

z grupy grasiczaków mięsz jednego nowotworu może być utworzony z obszarów o różnym wyglądzie histologicznym (np. obszary typowe dla typu B1 wymieszane z obszarami typowymi dla typu B2), w takiej sytuacji ostatecznie określa się typ, który charakteryzuje się mniejszym zróżnicowaniem.

Rzadziej rozpoznawanym typem guzów nabłonkowych grasicy (precyzyjnie opisanych przypadków tych guzów u psów jest kilka) są grasiczaki atypowe (typ B3), które są utworzone w głównej mierze z komórek nabłonkowych, o okrągłym lub wielokątnym kształcie z minimalną ilością komponentu limfocytarne (choć w pewnych obszarach niektórych guzów limfocyty mogą być dość liczne). Komórki nowotworowe tworzą lite pola, ale obserwuje się też obszary o strukturze pęcherzykowej lub cewkowej. Obecność figur mitotycznych stwierdza się w ponad 80%

przypadków grasiczaków atypowych, często (70% przypadków) obserwuje się też wyraźny pleomorfizm komórkowy, a naciekanie torebki narządu przez komórki nowotworowe odnotowano w ponad połowie przypadków (4).

Najrzadziej rozpoznawanym typem histologicznym nowotworów wywodzących się z nabłonka grasicy u psów jest rak grasicy (typ histologiczny C; 4, 7). Główną masę guza tworzą komórki, które wykazują ekspresję cytokeratyny (marker komórek nabłonkowych) i charakteryzują się znacznym pleomorfizmem komórkowym (83% przypadków tych rozrostów) oraz innymi cechami wskazującymi na złośliwość histologiczną, np. obecność licznych figur mitotycznych (83% przypadków). Komórki te mają często obfitą kwasochłoną cytoplazmę, układają się w gniazda lub wyspy, mogą tworzyć struktury przypominające ciała Hassala



Ryc. 9. Obraz histologiczny raka grasicy u psa – typ histologiczny C. Nowotwór utworzony jest z dużych komórek o pleomorficznych jądrach komórkowych, z wyraźnymi jąderkami i obfitej jasnej cytoplazmie. Nieco powyżej od centrum ryciny struktura przypominająca cewkę, strzałką oznaczono figurę mitotyczną. Barwienie hematoksylina-eozyna; powiększenie 400×

i często są wymieszane z bogatym zrębem łącznotkankowym (ryc. 9; 4, 7). W niektórych przypadkach komórki nowotworu mają kształt wrzecionowaty, w innych obserwuje się tzw. komórki jasne – o obfitej i jasnej (jakby pustej) cytoplazmie (4). Podobnie jak w grasiczakach, w opisywanych u psów rakach grasicy obserwuje się także obecność prawidłowych limfocytów o immunofenotypie CD3, jednak ich liczba jest zazwyczaj zdecydowanie mniejsza niż w przypadku grasiczaków (7). W związku z tym, że komórki raków grasicy nie posiadają specyficznych cech morfologicznych, które wskazywałyby na pochodzenie z grasicy, to rozpoznanie stawia się w dużej mierze w oparciu o lokalizację masy guza, przy jednoczesnym braku ognisk w innej lokalizacji. W jednej z prac wszystkie z 6 opisanych raków grasicy u psów wykazywały naciekanie torebki narządu (4).

Leczenie i rokowanie

Główną metodą leczenia grasiczaków u psów jest zabieg chirurgiczny, który można przeprowadzić na wiele sposobów, między innymi wykonując go techniką wideoskopową lub przeprowadzając zabieg z otwarciem klatki piersiowej (6, 14). W badaniu obejmującym 116 psów z grasiczakiem zabieg chirurgiczny udało się przeprowadzić u 72% pacjentów, spośród których wznowa pojawiła się u 17% osobników (9). Mediana okresu przeżycia dla psów z grasiczakiem, które poddano leczeniu chirurgicznemu, wyniosła w jednym

z badań około 21 miesięcy, a dla pacjentów nieleczonych około 2,5 miesiąca (9). W innym badaniu wyniki były nawet lepsze, bowiem mediana okresu przeżycia dla 11 psów wyniosła 26 miesięcy, 64% pacjentów przeżyło rok po zabiegu, a po 3 latach od zabiegu przy życiu pozostało 42% osobników (14).

Do czynników niekorzystnych dla rokowania u psów z grasiczakiem należą: nieprzeprowadzenie zabiegu chirurgicznego, obecność innego (kolejnego) nowotworu wykrytego w momencie rozpoznania grasiczaka, znaczne miejscowe zaawansowanie procesu nowotworowego, obecność przełyku olbrzymiego jako powikłanie nużliwości mięśni, a także mniejsza liczba limfocytów infiltrujących guz nowotworowy (9, 14). Z kolei wiek chorych psów, obecność hiperkalcemii, miastenia, typ histologiczny grasiczaka (w tym inwazyjność i nasilenie proliferacji komórek nowotworowych) oraz pojawienie się innego typu nowotworu już po momencie rozpoznania nowotworu grasicy pozostawały bez wpływu na rokowanie (9, 14).

W badaniu oceniającym nowe podejście klasyfikacyjne w przypadku nabłonkowych nowotworów grasicy nie wykazano przydatności rokowniczej systemu klasyfikacji guzów nabłonkowych grasicy w oparciu o klasyfikację WHO (4). W badaniu tym, które obejmowało 31 psów z grasiczakiem leczonych za pomocą zabiegu chirurgicznego, mediana całkowitego okresu przeżycia wyniosła 243 dni, a rok po operacji przeżyło 39% psów (4). Mediana okresu przeżycia dla psów z grasiczakiem

(typy A, AB, B1, B2) nie różniła się istotnie od wartości uzyskanych u pacjentów z grasiczakiem atypowym (typ B3) i z rakiem grasicy (typ C).

Piśmiennictwo

- Day M.J.: Review of thymic pathology in 30 cats and 36 dogs. *J. Small Anim. Pract.* 1997, **38**, 393–403.
- Baker R., Lumsden J.H.: The lymphatic system. W: *Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat*. Mosby, St. Louis, 2000, 71–94.
- Jakobs R.M., Messick J.B., Valli V.E.: Tumors of the hemolymphatic system. W: Meuten D.J.: *Tumors in Domestic Animals*. 4th ed., Blackwell Publishing, Ames 2002, 119–198.
- Burgess K.E., DeRegis C.J., Brown F.S., Keating J.H.: Histologic and immunohistochemical characterization of thymic epithelial tumours in the dog. *Vet. Comp. Oncol.* 2013, doi: 10.1111/vco.12072.
- Foley P., Shaw D., Runyon C., McConkey S., Ikede B.: Serum parathyroid hormone-related protein concentration in a dog with a thymoma and persistent hypercalcemia. *Can. Vet. J.* 2000, **41**, 867–870.
- Mayhew P.D., Friedberg J.S.: Video-assisted thoracoscopic resection of noninvasive thymomas using one-lung ventilation in two dogs. *Vet. Surg.* 2008, **37**, 756–762.
- Faisca P., Henriques J., Dias T.M., Resende L., Mestrinho L.: Ectopic cervical thymic carcinoma in a dog. *J. Small Anim. Pract.* 2011, **52**, 266–270.
- Tepper L.C., Spiegel I.B., Davis G.J.: Diagnosis of erythema multiforme associated with thymoma in a dog and treated with thymectomy. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2011, **47**, e19–25.
- Robat C.S., Cesario L., Gaeta R., Miller M., Schrempf D., Chun R.: Clinical features, treatment options, and outcome in dogs with thymoma: 116 cases (1999–2010). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2013, **243**, 1448–1454.
- Burton A.G., Borjesson D.L., Vernau W.: Thymoma-associated lymphocytosis in a dog. *Vet. Clin. Pathol.* 2014, **43**, 584–588.
- Moffet A.C.: Metastatic thymoma and acquired generalized myasthenia gravis in a beagle. *Can. Vet. J.* 2007, **48**, 91–93.
- Pintore L., Bertazzolo W., Bonfanti U., Gelain M.E., Bottero E.: Cytological and histological correlation in diagnosis feline and canine mediastinal masses. *J. Small Anim. Pract.* 2014, **55**, 28–32.
- Lana S., Plaza S., Hampe K., Burnett R., Avery A.C.: Diagnosis of mediastinal masses in dogs by flow cytometry. *J. Vet. Intern. Med.* 2006, **20**, 1161–1165.
- Zitz J.C., Birchard S.J., Couto G.C., Samii V.E., Weisbrode S.E., Young G.S.: Results of excision of thymoma in cats and dogs: 20 cases (1984–2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2008, **232**, 1186–1192.