

Granulosa-theca cell tumors in mares – the histopathological study of five cases

Katkiewicz M.¹, Witkowski M.¹, Osińska B.², Landsberg P.³, Department of Large Animals Diseases with Clinic¹, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics², Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Equine Clinic on Warsaw Racetrack³

The purpose of this article was to present histopathological findings of five cases of equine granulosa-theca cell tumors. These are ovarian tumors predominantly composed of either granulosa cells (follicular cells) or theca cells. They are associated with excessive production of estrogen and in some cases – androgens. In our study, ovaries with granulosa-theca tumors removed from 5 mares were submitted to the histopathological examination. Some structural differences between them were found and in one case luteinization of interstitial cells while in another infiltrative tumor growth was observed. Histopathological description of all cases was presented.

Keywords: granulosa-theca cell tumor, ovary, mare.

Gonady żeńskie u koniowatych (Equidae) mają odmienny układ warstw w jajnikach w porównaniu do innych gatunków zwierząt gospodarskich. Proces oogenezy i folikulogenezy ma miejsce w części rdzennej gonady, natomiast unaczyniony i unerwiony zrąb stanowi jej część obwodową. W związku z tym, zarówno ocena stanu fizjologicznego gonady, jak i rozpoznawanie zaburzeń w jej funkcji, to jest procesu dojrzewania pęcherzyków i owulacji, jest w badaniu klinicznym trudniejsza, w porównaniu np. do tych procesów u krowy. Także wielokrotnie większy jajnik klaczy niż krowy wymaga dużego nakładu pracy w celu wykonania oceny struktury mikroskopowej całej gonady. Stąd też przypuszczalnie wynika stosunkowo skąpa wiedza na temat zmian histopatologicznych występujących w jajnikach klaczy, w porównaniu do krowy lub suki.

Struktura morfologiczna ziarniszczków jajnika klaczy – opis pięciu przypadków

Maria Katkiewicz¹, Maciej Witkowski¹, Barbara Osińska², Paulina Landsberg³

z Katedry Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką¹ i Zakładu Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej² Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie oraz Szpitala Koni Służewiec w Warszawie³

Przedmiotem pracy jest opis budowy komórkowej ziarniszczków jajnika klaczy. Guzy te, gdy osiągają duże rozmiary są z łatwością rozpoznawane w badaniu klinicznym. Należy jednak pamiętać, że guz w fazie początkowej rozrostu nowotworowego, podobnie jak innego typu zmiany patologiczne rozwijające się na poziomie komórkowym w jajniku, są nieuchwytne przy stosowaniu rutynowych metod badania klinicznego. Ziarniszczaaki rozwijają się w wyniku nowotworowej proliferacji komórek warstwy ziarnistej pęcherzyków jajnikowych. Jednak zrąb guza także ulega proliferacji, co jest wyrazem zaburzenia równowagi komórkowej gonady. W warunkach fizjologicznych w gonadzie istnieje ścisła interakcja między komórkami pęcherzykowymi i osłonką pęcherzykową. Obecność w ziarniszczaakach zmienionych nowotworowo komórek osłonki pęcherzykowej stanowi efekt zaburzeń w interakcji obu typów komórek. Dlatego też ten typ guzów jest określany mianem guzów komórek warstwy ziarnistej i osłonki pęcherzyka jajnika (granulosa – theca cells tumors). W większości przypadków komórki guza są aktywne hormonalnie, czego efektem jest występowanie u klaczy objawów klinicznych charakterystycznych dla danego typu endokrynopatii.

Ziarniszczaaki jajników klaczy nie należą do często stwierdzanych rozrostów nowotworowych. Komórki, które uległy transformacji nowotworowej mogą być w tych guzach zróżnicowane, i to zarówno pod względem typu komórek, jak

i sekrecji produkowanych przez nie hormonów. Zwykle nowotwór atakuje jedną gonadę. Jednak znane są przypadki, kiedy guz rozwija się w obu jajnikach (1, 2). Etiopatogeneza transformacji nowotworowej nie jest poznana, lecz charakter rozrostu nowotworowego może sugerować występowanie u chorej klaczy pierwotnych zaburzeń hormonalnych, które sprzyjają transformacji nowotworowej. Ostatnio pojawiły się doniesienia o roli czynnika hamującego rozwój przewodów Müllera w rozwoju ziarniszczków jajnika (3). Ziarniszczaaki jajników klaczy, jak wynika z dotychczasowych obserwacji klinicznych, są w większości przypadków guzami niezłośliwymi i po usunięciu chirurgicznym guza następuje wyleczenie zwierzęcia. Znane są jednak przypadki występowania złośliwego charakteru tych guzów (4, 5).

Materiał i metody

Materiał do badań pochodził od 4 klaczy, u których w jednym jajniku klinicznie stwierdzono obecność guza. Zmienione chorobowo jajniki były chirurgicznie usuwane. W jednym przypadku materiał pochodził od klaczy, która została poddana ubojowi w rzeźni. Po wykonaniu oceny makroskopowej zmienionych chorobowo jajników, pobierano wycinki zmienionej nowotworowo tkanki i utrwalano w buforowanej 10% formalinie. Wycinki były poddane rutynowej obróbce histopatologicznej – zatopiono w bloczki parafinowe,

a skrawki mikrotomowe barwiono hematoksylina i eozyną.

Wyniki badań

Przypadek 1

Guz jajnika pochodził od klaczy, półkrwi szlachetnej, w wieku 10 lat. Badaniem makroskopowym guza stwierdzono konsystencję gąbczastą, o powierzchni nierównej, spowodowanej obecnością licznych torbieli. Na przekroju mięsz guza był zbudowany z licznych torbieli o bezbarwnej, płynnej zawartości, ograniczonych wąskimi pasmami zrębu guza.

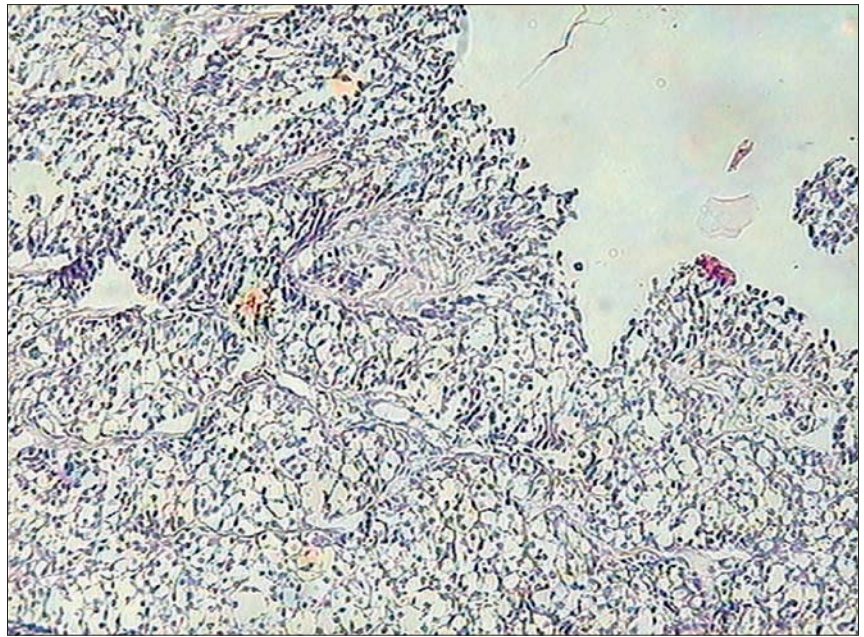
Badaniem mikroskopowym wycinka guza stwierdzono obecność licznych torbieli utworzonych przez zmienione nowotworowo komórki pęcherzykowe (ryc. 1). Komórki mięszu nowotworu tworzyły także lite gniazda ograniczone wąskim pasmem zrębu guza. Na obwodzie tych gniazd komórki były ułożone w formie palisady i miały owalne jądra. Komórki centralnej części gniazda miały wakuole cytoplazmatyczne i okrągłe jądra. W opisywanym przypadku guza była widoczna wyraźna dominacja rozrostu komórek pęcherzykowych nad proliferacją zrębu.

Przypadek 2

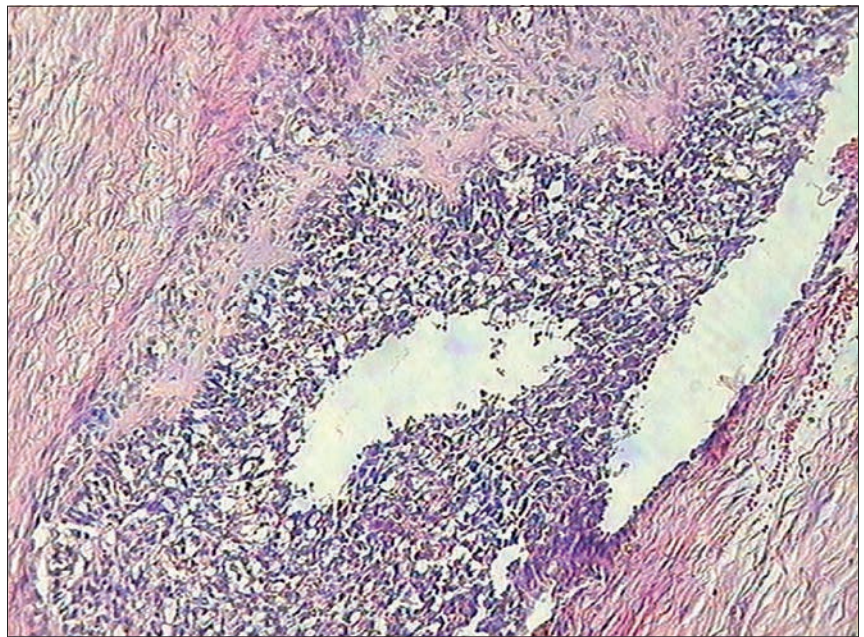
Guz jajnika pochodził od klaczy pełnej krwi angielskiej w wieku 12 lat. Wygląd makroskopowy guza był podobny do wyżej opisanego. Badanie mikroskopowe wycinka guza wykazało, że mięsz guza tworzą torbiele. Lite pola rozrostu nowotworowego stanowiły ok. 25% powierzchni badanego wycinka. Komórki tworzące lite pola rozrostu posiadały wakuole cytoplazmatyczne. Wąskie pasma zrębu miały cechy szkliwienia. W małym ognisku guza, stwierdzonym w niezmięnionej tkance jajnika, jądra komórkowe miały cechy morfologiczne nawiązujące do występowania złośliwych komórek guza (ryc. 2).

Przypadek 3

Guz jajnika pochodził od klaczy czystej krwi arabskiej, w wieku 7 lat. W odróżnieniu od poprzednio opisanych, w badaniu makroskopowym guza stwierdzono bardziej tęgą konsystencję tego guza. Na przekroju guz był zbudowany z litej tkanki oraz małych torbieli. Badanie mikroskopowe wykazało obecność typowego utkania dla guzów o cechach morfologicznych ziarniszczaka. Jednak, w odróżnieniu od wyżej opisanych guzów, w tym przypadku stwierdzono obecność komórek, których struktura mikroskopowa była podobna do komórek luteinowych (ryc. 3). Komórki te ułożone w zrębie guza tworzyły liczne



Ryc. 1. Ziarniszczak jajnika klaczy, przypadek 1. Widoczna proliferacja nowotworowa komórek ziarniszczaka. Gniazda komórek nowotworu oddzielają wąskie pasma zrębu guza. Barwienie hematoksylina-eozyna, $\times 20$



Ryc. 2. Ziarniszczak jajnika klaczy, przypadek 2. W zrębie jajnika widoczne ognisko wzrostu naciekowego ziarniszczaka. Barwienie hematoksylina-eozyna, $\times 20$

pasma lub gniazda. Zręb guza wykazywał także cechy proliferacji nowotworowej.

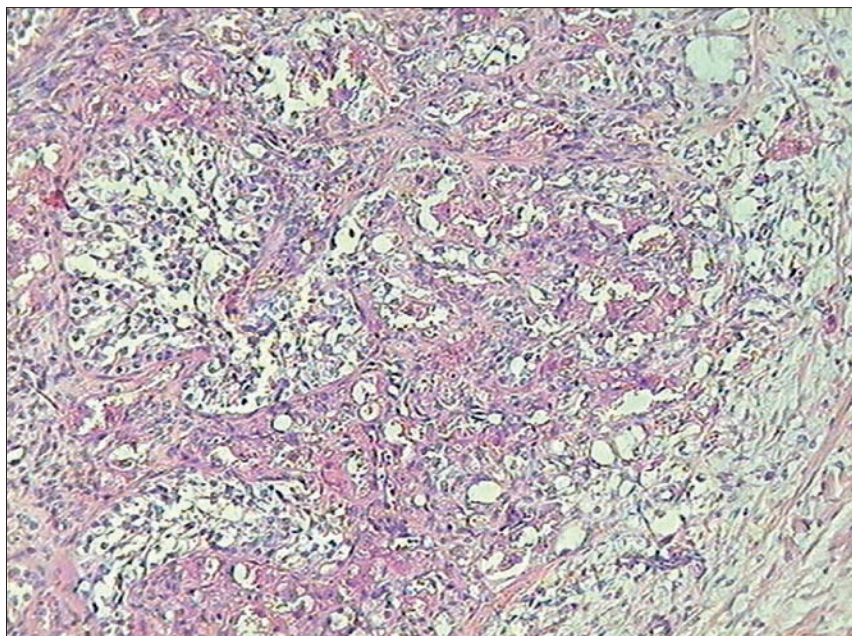
Przypadek 4

Guz jajnika pochodził od klaczy półkrwi, w wieku 9 lat. W obrazie makroskopowym jajnika stwierdzono obecność licznych małych ognisk, barwy szarobiałej. W badaniu mikroskopowym wycinków zmienionej tkanki gonady stwierdzono występowanie bardzo małych ognisk ziarniszczaka. W zrębie jajnika były także wyznaczynienia krwi i liczne, rozsiane syderocyty (ryc. 4). Równocześnie w zrębie jajnika stwierdzono obecność rozsianych, małych

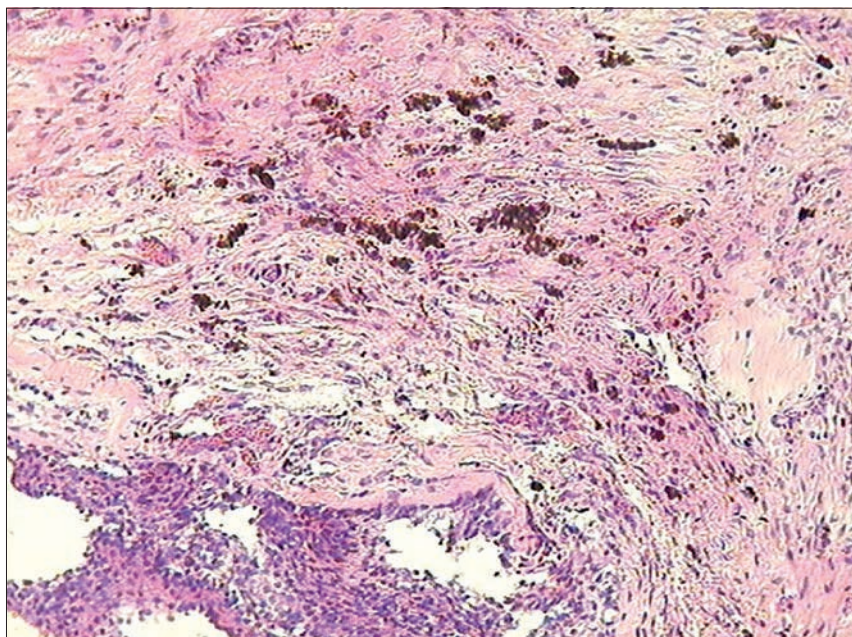
pęcherzyków jajnikowych z wyraźnymi cechami nekrobiozy, które najwyraźniej były zarysowane w komórkach jajowych. Oocyty otoczone komórkami wieńca promienistego traciły kulisty kształt i ulegały obkurczeniu. Inną cechą patologiczną widoczną w pęcherzykach jajnikowych było zgrubienie błon podstawnych.

Przypadek 5

Rozrost nowotworowy o bardzo małych rozmiarach stwierdzono w gonadzie klaczy, która została poddana ubojowi w rzeźni. Przypadkowo stwierdzone ognisko rozrostu (ryc. 5) miało wymiary 15×6 mm.



Ryc. 3. Złamszczak jajnika klaczy, przypadek 3. Luteinizacja komórek zrębu widoczna w postaci pola komórek o intensywnie eozynochłonnej cytoplazmie. Barwienie hematoksylina-eozyna, $\times 20$



Ryc. 4. Złamszczak jajnika klaczy, przypadek 4. W zrębie widoczne liczne brunatno zabarwione syderocyty. Barwienie hematoksylina-eozyna, $\times 20$

Obok ogniska proliferacji stwierdzono obecność torbieli.

Omówienie wyników

Wyniki badania mikroskopowego 5 przypadków złamszczaków jajników klaczy potwierdziły występowanie zróżnicowania w ich strukturze komórkowej. Powszechnie wiadomo, że guzy te mogą być przyczyną występowania u chorych klaczy zaburzeń hormonalnych, w tych przypadkach, kiedy posiadają zdolność sekrecji określonego typu hormonu. Potwierdzają to zarówno obserwacje kliniczne, jak i wyniki badań stężenia estrogenów, testosteronu oraz

inhibiny w surowicy krwi chorych klaczy (1, 6, 7, 8). W zależności od typu endokrynopatii u chorej klaczy pojawiają się charakterystyczne dla określonych zaburzeń hormonalnych objawy kliniczne choroby (9). Ten zróżnicowany efekt aktywnego hormonalnie guza jest uwarunkowany przewagą rozrostu określonego typu komórek nowotworowych. Kiedy w guzie przeważa rozrost komórek wywodzących się z komórek pęcherzykowych, wzrasta stężenie estrogenów i inhibiny. Natomiast kiedy w guzie jest przewaga komórek wywodzących się ze zrębu osłonki pęcherzykowej, komórki te wydzielają androgeny. Stąd też w obrazie klinicznym choroby można

obserwować nimfomanię lub cechy mskulinizacji samicy. Podwyższone stężenie inhibiny w surowicy krwi jest uważane za marker obecności złamszczaka jajnika u kobiet (10).

W dwu guzach (przypadki 1 i 2) obserwowano wyraźną przewagę rozrostu nowotworowego komórek pęcherzykowych. W tych przypadkach choroby można się spodziewać znacznego stopnia wzrostu stężenia inhibiny w surowicy krwi chorej klaczy. Efektem tego wzrostu będzie hamowanie wydzielania przysadkowego FSH, co znajdzie swoje odbicie w zaburzeniu oogenezy i folikulogenezy w drugim, zdrowym jajniku.

W 3. przypadku złamszczaka jajnika stwierdzono nieco inną strukturę mikroskopową guza, która może sugerować także obecność innego typu zaburzeń hormonalnych u chorej klaczy. Obok utkania złożonego z charakterystycznych dla złamszczaka komórek wywodzących się z komórek pęcherzykowych obserwowano znacznego stopnia rozrost komórek zrębu. Jak wiadomo, komórki te mają zdolność sekrecji androgenów. Ponadto w tym guzie występowały pasma lub pola komórek podobnych do komórek luteinowych, które nie występowały w pozostałych opisywanych guzach. Komórki te zostały już opisane w złamszczakach jajnika klaczy (8). W opisywanym przypadku guza komórki podobne do komórek luteinowych były zwykle ułożone w zrębie, który otaczał pseudopęcherzyki utworzone z komórek nowotworowych złamszczaka. Nasuwa to przypuszczenie, iż jest to forma luteinizacji komórek nowotworowych, które wywodzą się z osłonki pęcherzykowej, analogicznie jak to ma miejsce w warunkach fizjologicznych powstawania ciała żółtego. W ubiegłym roku ukazała się praca (11), w której wykazano, że komórki te cechuje zdolność do syntezy androgenów. A zatem, stwierdzenie licznych tego typu komórek w zrębie złamszczaka może być przyczyną znacznego stopnia podwyższenia stężenia testosteronu u klaczy z tego typu rozrostem nowotworowym.

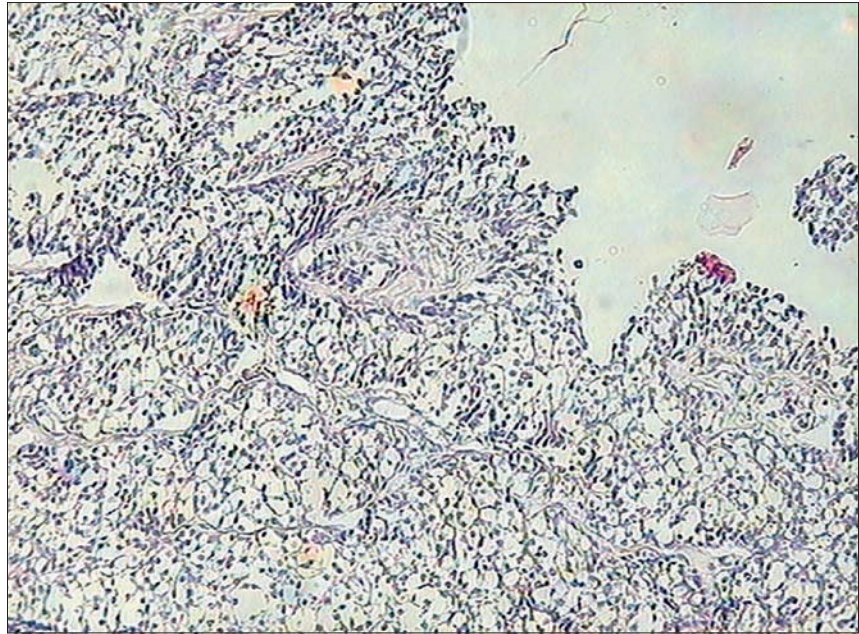
W przeciwieństwie do wyżej opisanych guzów, które w obrazie makroskopowym stanowiły dużą masę tkanki nowotworowej zlokalizowanej w jajniku, złamszczak pochodzący z 4. przypadku choroby nie tworzył jednego guza, lecz występował w postaci bardzo licznych ognisk rozsianych w zrębie gonady. Cecha ta może wskazywać na to, że metaplasja nowotworowa może pojawić się równocześnie w licznych pęcherzykach jajnikowych. Być może gonada została usunięta w początkowej fazie choroby nowotworowej. Skutki obecności metaplazji nowotworowej w jajniku są widoczne

w postaci zaburzeń w oogenezie i folikulogenezie, wylewów krwawych, czego następstwem jest występowanie w zrębie licznych syderocytów.

Rozrost nowotworowy komórek ziarnistych opisany u kłaczy poddanej ubojowi z uwagi na bardzo małe rozmiary stanowi bez wątpienia fazę początkową wzrostu guza. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że zmianom chorobowym stwierdzonym w gonadzie towarzyszył zaawansowany proces chorobowy w macicy (dane nieopublikowane).

W podsumowaniu można stwierdzić, że ziarniszczaki jajników kłaczy mają zróżnicowaną strukturę komórkową, i to zarówno pod względem ilościowym, jak i jakościowym komórek guza. W związku z tym można podejrzewać, że u tych kłaczy czynniki etiologiczne prowadzące do wystąpienia transformacji nowotworowej komórek jajnika miały także zróżnicowany charakter.

Usunięcie guza zwykle stanowi o całkowitym wyleczeniu kłaczy. W omawianych przypadkach kłacz nr 2 oraz 3 po około 6 miesiącach od zabiegu usunięcia jajnika odzyskały pełną aktywność pozostawionej gonady i zostały skutecznie zażrebione. W pozostałych przypadkach, jak dotąd nie podjęto prób krycia zoperowanych kłaczy. Jednak w rzadkich przypadkach rozrost nowotworowy może pojawić się w drugim jajniku. Równie rzadko były opisywane guzy złośliwe, które rosły naciekowo w obrębie narządów jamy brzusznej. W związku z tym trudna jest ocena makroskopowa charakteru guza. Wskazane jest wykonanie badania histopatologicznego, które pozwala na bliższe określenie charakteru rozrostu nowotworowego.



Ryc. 5. Ognisko ziarniszczaka jajnika kłaczy, przypadek 5. Barwienie hematoksylina-eozyna, $\times 20$

Piśmiennictwo

1. L. M. Frederico, M. P. Gerard, C.R.F. Pinto, C. M. Gradil: Bilateral occurrence of granulosa-theca cell tumors in an Arabian mare. *Can. Vet. J.* 2007, **48**, 502-505.
2. Turner T.A., Manno M.: Bilateral granulosa cell tumor in a mare. *J Am. Vet. Med. Assoc.* 1983, **187**, 713-714.
3. Ball B.A., Conley A.J., MacLaughlin D.T., Grundy S.A., Sabeur K., Liu I.K.: Expression of anti-Mullerian hormone (AMH) in equine granulosa-cell tumors and in normal equine ovaries. *Theriogenology* 2008, **70**, 968-977.
4. Patrick D.J., Kiupel M., Gerber V., Carr E.A.: Malignant granulosa-theca cell tumor in a two-year-old miniature horse. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003, **15**, 60-63.
5. Gift L.J., Gaughan E.M., Schoning P.: Metastatic granulosa cell tumor in a mare. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992, **200**, 1525-1526.
6. Bailey M.T., Troedsson M.H., Wheaton J.E.: Inhibin concentration in mares with granulosa cell tumors. *Theriogenology* 2002, **57**, 1885-95.
7. Ellenson L.H., Pirog E.C.: The female genital tract. W: Kumar V. (edit.): *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 8th ed., Saunders Elsevier, Philadelphia 2010.
8. MacLachlan N.J., Kennedy P.C.: Tumors of the genital systems, W: Meuten D.J. (edit.): *Tumors in Domestic Animals*, 4th ed., Iowa State Press, Ames, Iowa 2002.
9. Crabtree J.: Review of seven cases of granulosa cell tumor of the equine ovary. *Vet. Rec.* 2011, **169**, 251.
10. Robertson D.M., Stephenson T., Pruyers E., Burger H.G., McCloud P., Tsigos A., Groome N., Marners P., McNeillage J., Jobling T., Healy D.: Inhibins/activins as diagnostic markers for ovarian cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2002, **191**, 97-103.
11. Neto A.C., Ball B.A., Browne P., Conley A.J.: Cellular localization of androgen synthesis in equine granulosa-theca cell tumors: Immunohistochemical expression of 17 α -hydroxylase/17,20-lyase cytochrome P450. *Theriogenology* 2010, **74**, 393-401.

Prof. dr hab. Maria Katkiewicz,
e-mail: m.katkiewicz@gmail.com