

Nowotwory skóry i tkanki podskórnej u psów i kotów. Część III. Nowotwory melanocytarne

Rafał Sapieryński

z Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Śród wszystkich zmian barwnikowych w obrębie skóry można wyróżnić zmiany będące typowymi nowotworami złośliwymi i niezłośliwymi oraz rozrosty nienowotworowe różnego tła, w tym zmiany wrodzone i przebarwienia pozapalne. W związku z tym w nomenklaturze dermatopatologicznej spotyka się różnorakie określenia wymienionych stanów. **Czerniak** (*melanoma*) jest z definicji złośliwym nowotworem wywodzącym się z komórek barwnikotwórczych – melanocytów lub melanoblastów. W celu uniknięcia nieporozumień zmiany wykazujące atypię komórkową, agresywny charakter wzrostu i prawdopodobieństwo dawania przerzutów należy określać mianem **czerniaków złośliwych** (*melanoma malignum*, malignant melanoma). Innym, często spotykanym określeniem jest **melanocytoza**, co oznacza niezłośliwy rozrost nowotworowy wywodzący się z melanocytów. Pod pojęciem **znamień barwnikowe** (*naevus pigmentosus*) określa się nieprawidłową, wrodzoną proliferację komórek barwnikowych w obrębie skóry (1).

U ludzi klasyfikacja zmian rozrostowych wywodzących się z komórek barwnikotwórczych jest bardzo rozbudowana, ze względu na powszechność ich występowania i znaczenie kliniczne poszczególnych postaci. U zwierząt obecność gęstej okrywy włosowej często i silnie pigmentowanej skóry sprawia, że te nienowotworowe rozrosty niezbyt często zauważa się i opisuje. Dlatego też dokładna klasyfikacja omawianych zmian, choćby nawiązująca do używanej w medycynie, nie była szczegółowo opracowana. Dawna klasyfikacja dzieląca zmiany barwnikowe u zwierząt na niezłośliwe i złośliwe wydaje się niewystarczająca, a nowsze podziały są często niejednolite i mogą wprowadzać zamieszanie (2).

W podręczniku dermatopatologii psów i kotów wszystkie rozrosty barwnikowe w obrębie skóry podzielono na nienowotworowego pochodzenia plamy soczewicowe (plamy barwnikowe) i znamiona barwnikowe, a nowotwory podzielono na niezłośliwe melanocytozy i czerniaki złośliwe (3). Podobną klasyfikację podaje Stokking w jednym z nowszych podręcz-

ników dermatologicznych i wydaje się, że właśnie taki podział u psów i kotów jest jak najbardziej uzasadniony (1).

Omawiane zmiany wywodzą się z melanocytów, komórek produkujących barwnik – melaninę. Badania histochemiczne, immunohistochemiczne i molekularne wykazały, że melanocyty są komórkami pochodzenia neuroektodermalnego. Melanocyty to komórki barwnikotwórcze, które w obrębie skóry są ograniczone do warstwy podstawnej naskórka, skóry właściwej i i mieszków włosowych (4). W ziarnistościach melanocytów – melanosomach produkowany jest barwnik – melanina, której komórki nie gromadzą, tylko przekazują keratynocytom warstwy kolczastej. Oprócz skóry melanocyty stwierdzane są w błonach śluzowych pochwy, jamy ustnej i odbytu, w tęczęwce oka oraz w oponach mózgu (5). Główną rolę komórek barwnikotwórczych jest ochrona komórek skóry przed uszkodzającym działaniem promieni słonecznych.

Występowanie

Nienowotworowe zmiany barwnikowe powstają na drodze dwóch mechanizmów, po pierwsze dochodzi może do wzmożonej aktywności komórek barwnikotwórczych, która przejawia się ich powiększeniem, rozbudową wypustek i nadmierną produkcją melaniny, czego objawem jest przebarwienie naskórka (6). Przykładem takich zmian są przebarwienia pozapalne, które obejmują większe obszary skóry w miejscach długo utrzymującego się zapalenia skóry (ryc. 1). Drugim mechanizmem powstawania niezłośliwych zmian melanocytarnych jest rozrost komórek barwnikotwórczych, w przebiegu którego dochodzi do zwiększenia liczby tych komórek. Przykładem takich zmian są znamiona i plamy soczewicowe. **Plamy soczewicowe** (*lentigo simplex*, plamy barwnikowe, lentigo) to ogniska proliferacji melanocytów, zazwyczaj ograniczone do naskórka, które uznawane są za rozrost (hiperplazję) melanocytów, a nie prawdziwy nowotwór (3). **Znamiona barwnikowe** (*naevus pigmentosus*) to wrodzone, zaburzenia proliferacji komórek barwnikotwórczych w obrębie

Neoplasms of the skin and subcutaneous tissue in dogs and cats. Part III. Melanocytic neoplasms

Sapieryński R. • Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University.

Melanocytic neoplasms arise from melanocytes, the pigment melanin producing cells. They are relatively common skin tumors in the dog but rare in the cat accounting for 5–7% and 0,8–2,7% of all canine and feline dermal neoplasms, respectively. In the dog only 10–33% of cutaneous melanomas are malignant, with exception of tumors involving the digits and mucocutaneous junction. In the cat the majority of melanomas involve the head, the eye and eyelids. Melanocytic tumors range in gross appearance from unsuspecting, black macules, to large, rapidly growing mass that may be either amelanotic or dark brown to gray or black. Malignant melanomas are usually larger than the benign ones (melanocytomas) and the overlying skin is frequently ulcerated and secondarily infected. The treatment of choice for local cutaneous melanoma, both in cats and dogs, is surgical excision of the tumor with margins 2 cm wide at least. Tumors in dogs with benign prognostic criteria carry an excellent prognosis following complete excision. Chemotherapy for malignant melanoma in the dog has shown little promise in the veterinary literature. Encouraging results have been reported in patients treated systematically with carboplatin and locally (intralesionally) with cisplatin, methotrexate or carmustine. Radiotherapy has been used with limited success for local treatment of oral malignant melanomas and it is likely to be beneficial for dermal tumors when surgery can not be performed.

Keywords: melanocytic neoplasms, melanocytomas, malignant melanomas, histopathology, dog, cat.

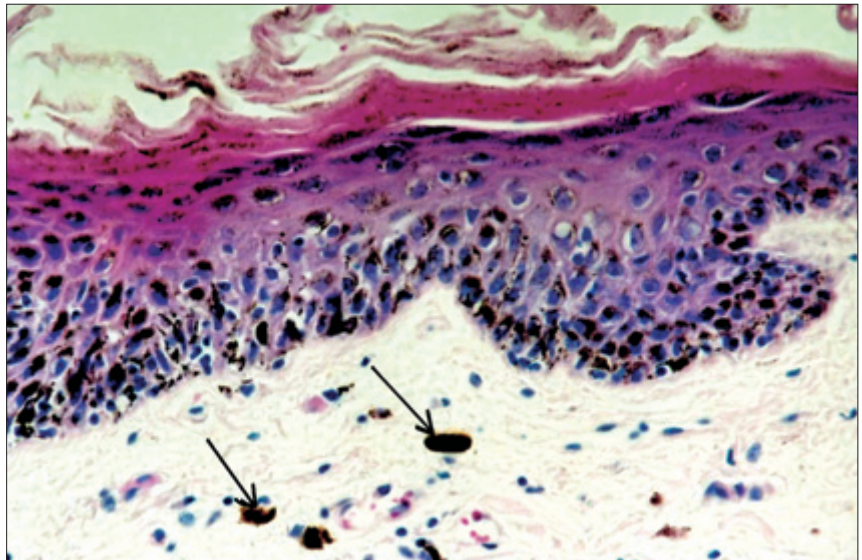
skóry, których istotą jest nienowotworowy rozrost, często jednak trudny do odróżnienia od niezłośliwego nowotworu. Znamiona w skórze występują w postaci niewielkich guzków o zróżnicowanym obrazie histopatologicznym (5). W dermatopatologii weterynaryjnej określenie znamień barwnikowe nie jest chętnie używane, albowiem ich wrodzone tło u zwierząt nie zostało w pełni potwierdzone, a ponadto unikanie tego określenia wprowadza pewien porządek w nomenklaturze. U ludzi plamy soczewicowe, jak i niektóre typy znamion barwnikowych, szczególnie u osób starszych mogą stanowić zmiany, na bazie których rozwijają się czerniaki złośliwe (6). Dlatego też u ludzi istnieje bardzo szczegółowa klasyfikacja tych zmian, co ma przełożenie na postępowanie terapeutyczne.

U kotów plamy soczewicowe pojawiają się u zwierząt młodych (zazwyczaj u osob-

ników poniżej 1 roku), z czasem ich liczba i wielkość zwiększa się, aby po pewnym czasie ustabilizować się na stałym poziomie (3, 7). Nie stwierdza się predylekcji rasowej ani związanej z płcią, jednakże najczęściej występują one u kotów o rudym, kremowym lub srebrnym umaszczeniu oraz u kotów o ubarwieniu trikolor (7). Podobnie u psów nie obserwuje się predylekcji związanej z płcią czy rasą; plamy soczewicowe u tego gatunku zwierząt pojawiają się najczęściej u zwierząt starszych, ale obserwowano je też u zwierząt młodych (psy w wieku 5 miesięcy do 17 lat; 3, 7). Nie wykazano, aby u domowych mięsożernych plamy soczewicowe mogły ulegać transformacji złośliwej, jak to ma miejsce u ludzi, jednakże ich badanie wykonuje się w celu wykluczenia obecności czerniaka złośliwego.

Czerniaki skóry w rozumieniu zarówno nowotworów złośliwych, jak i niezłośliwych u psów są dość często stwierdzane. Szacuje się, że stanowią one od 5 do 7% wszystkich zmian nowotworowych w tej lokalizacji (8, 9, 10). U kotów nie występują one często, spośród wszystkich nowotworów skóry u tego gatunku mięsożernych czerniaki stanowią 0,8–2,7% zmian (cyt. za 2, 8, 11); w jednym z badań obejmujących 340 nowotworów skóry kotów czerniaki stanowiły 3 przypadki (0,8%), przy czym dwa z nich stwierdzono u jednego osobnika (12).

U ludzi określono kilka czynników, które zwiększają ryzyko zachorowania na czerniaka złośliwego. Należą do nich: obciążenie rodzinne, narażenie na promieniowanie ultrafioletowe, obecność licznych atypowych bądź dużych znamion barwnikowych, narażenie na pewne karcynogeny chemiczne, takie jak insektycydy (1). U zwierząt przyczyny czerniaków nie są do końca znane, wpływ promieniowania słonecznego na ich powstawanie nie wydaje się istotny z tego względu, że u psów i kotów guzy te pojawiają się najczęściej na skórze owłosionej lub w jamie ustnej. Wśród czynników chemicznych wyciągi smoły używane w terapii miejscowej mogą prowadzić do rozwoju czerniaka złośliwego u psów. Prowadzone są liczne badania, które sugerują udział czynników genetycznych oraz immunologicznych w patogenezie czerniaków, co wydaje się potwierdzone przez skłonność pewnych ras psów do częstszego występowania tych guzów. U zwierząt wykazano związek występowania czerniaków z zaburzeniami funkcjonowania takich genów supresorowych, jak *p53*, *Rb-1* (retinoblastoma-1; cyt. za 1). Możliwość transformacji czerniaków niezłośliwych w zmiany złośliwe u ludzi była wykazana w nielicznych przypadkach. U zwierząt także bierze się pod uwagę taką możliwość, jednak nie została ona udowodniona (1, 3). Wykazano, że niektó-



Ryc. 1. Przebarczenie pozapalne: duża ilość melaniny zgromadzona w komórkach wszystkich warstw naskórka oraz w melanofagach (strzałki) skóry właściwej; barwienie hematoksylina-eozyna, pow. 200×

re czerniaki, które w badaniu histopatologicznym uznano za niezłośliwe, cechowały się występowaniem wznowy pooperacyjnej lub odległych przerzutów. Sytuacja taka wynika z jednej strony z braku jasnych kryteriów w odróżnianiu czerniaków złośliwych od melanocytów, a z drugiej strony w niektórych przypadkach granica pomiędzy tymi zmianami może być płynna. U kotów udało się wywołać czerniaka po eksperymentalnym zakażeniu wirusem mięsaka kotów (feline sarcoma virus – FSV), jednakże zakażenia nie wiązano z naturalnie stwierdzanymi nowotworami melanocytarnymi u tych zwierząt (8).

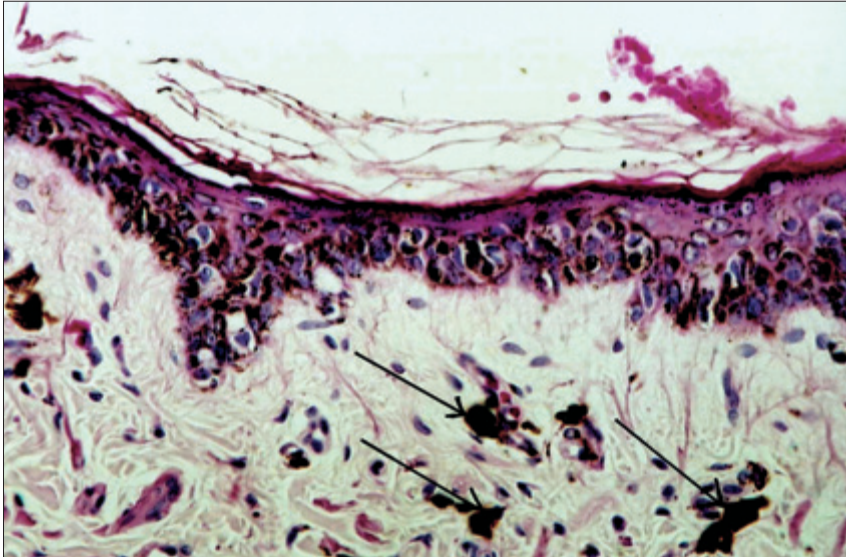
Melanocytozy (melanocytoma), czyli czerniaki niezłośliwe, są nowotworami dość częstymi u psów, a rzadkimi u kotów. Częstość ich występowania nie była dokładnie ustalona z tego względu, że nierzadko w badaniach nie dokonywano rozróżnienia pomiędzy czerniakami złośliwymi i niezłośliwymi. Szacunkowo określa się, że u psów melanocytozy stanowią od 60–90% wszystkich czerniaków w obrębie skóry, z kolei u kotów 29–47% guzów melanocytarnych skóry uznano w badaniu histopatologicznym jako zmiany niezłośliwe (cyt. za 3, 9). Średnia wieku psów z melanocytozą wynosi około 8–9 lat, jednakże zmiany opisano też u zwierząt bardzo młodych. Niektóre badania wykazały częstsze występowanie czerniaków niezłośliwych u samców oraz u ras psów z ciemnym umaszczeniem, takich jak: teriery szkockie, airedale teriery, doberman, sznauclery miniaturowe oraz u spanieli, bokserów, golden retrieverów, chow chow, chihuahua (1, 3).

Czerniaki złośliwe w obrębie skóry zdarzają się rzadko u domowych mięsożernych. Szacuje się, że u psów stanowią one 2–3% nowotworów skóry, a u kotów są jeszcze rzadsze (cyt. za 3). W badaniach przeglądowych 33 i 53–71% spo-

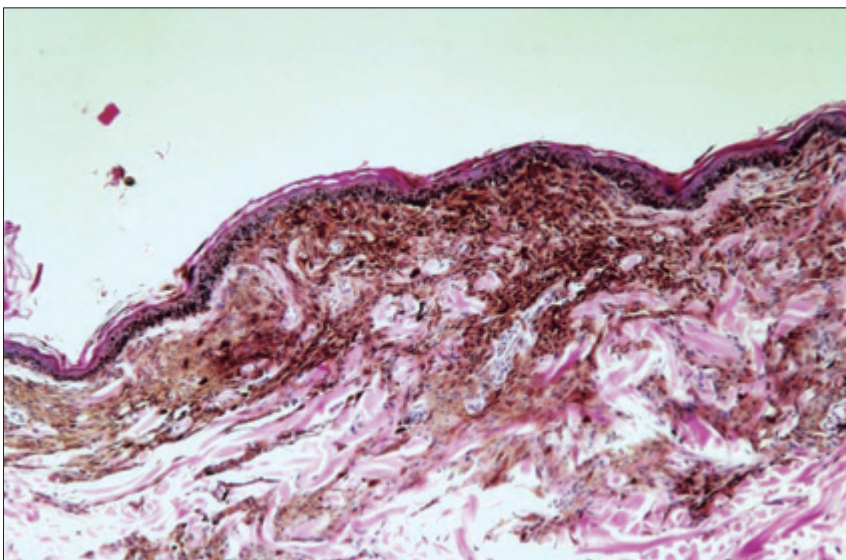
śród wszystkich czerniaków skóry odpowiednio u psów i kotów uznano w badaniu histopatologicznym za zmiany złośliwe (13, 14). Guzy te stanowiły 31% spośród wszystkich nowotworów złośliwych w badaniu przeglądowym obejmującym zmiany guzowate w obrębie palców u psów i były drugie w częstości występowania po rakach płaskonabłonkowych (15). Czerniaki złośliwe obserwuje się najczęściej u zwierząt starszych: średnia wieku wynosi 9–11 lat u psów i około 10–12 lat u kotów, jednakże czasami zmiany te stwierdzano u zwierząt bardzo młodych, nawet 6-miesięcznych (1, 3, 10, 11, 12, 16, 17, 18). U kotów nie stwierdzano predylekcji związanej z płcią, rasą czy barwą sierści do występowania czerniaków złośliwych, zaś u psów częściej spotyka się je u zwierząt z silnie pigmentowaną skórą bądź sierścią, takich jak: teriery szkockie, boston teriery, airedale teriery, cocker spaniele, sznauclery, setery i golden retrievery (1, 3, 17).

Objawy i wygląd makroskopowy guzów

Plamy soczewicowe i znamiona barwnikowe są ciemnymi, prawie czarnymi, płaskimi plamkami (*maculae*) bądź są nieznacznie wyniesione ponad powierzchnię skóry, ostro odgraniczone od tkanek otaczających i zazwyczaj mają średnicę poniżej 1 cm (3, 7). Często zmiany te są mnogie, czasami bardzo liczne; u kotów występują na głowie, szczególnie często na wargach, brzegach powiek, płytce nosowej oraz na opuszkach łap (7). Opisano też przypadki zmian uogólnionych; u jednego kota obserwowano bardzo liczne plamy rozmieszczone na całym ciele. U psów plamy soczewicowe stwierdzano bardzo często na brodawkach sutkowych, rzadziej na brzuchu, kończynach i głowie, przy czym mogą występować w skupiskach bądź są rozpro-



Ryc. 2. Plama soczewicowa (z okolicy brodawek sutkowych suki): widoczny intensywny rozrost silnie pigmentowanych melanocytów w niższych warstwach naskórka, w skórze właściwej widoczne melanofagi (strzałki); barwienie hematoksylina-eozyna, pow. 200×



Ryc. 3. Znamię barwnikowe naskórkowo-skórne; barwienie hematoksylina-eozyna, pow. 100×

szone (7). Nie stwierdza się świądu skóry w miejscach przebarwienia.

Czerniaki niezłośliwe – melanocyto-my są guzami dobrze odgraniczonymi od otaczających tkanek, zazwyczaj silnie pigmentowane, ciemnobrązowe lub czarne, twarde. Są wyniesione ponad powierzchnię skóry, kopulaste, z szeroką podstawą, czasem uszypułowane i nie związane z tkanką podskórną (8). Stwierdza się je najczęściej na tułowiu oraz głowie, szczególnie na powiekach i fałdach, tułowiu oraz w przestrzeniach międzypalcowych. Zmiany obejmujące naskórek i skórę właściwą mają średnicę zazwyczaj nie przekraczającą 1 cm, powierzchnia jest gładka lub nieznacznie brodawkowata, skóra leżąca ponad nimi jest zazwyczaj pozbawiona włosów, tylko wyjątkowo ulega owrzodzeniu (3). Melanocyto-my obejmujące jedynie skórę właściwą są nieco większe, osiągają bowiem średnicę do 4 cm, i niekiedy bywa-

ją barwy ciemnosinej (gdy naskórek ponad zmianą nie jest silnie pigmentowany, tak jak w przypadku znamion błękitnych u ludzi). Ten typ czerniaków niezłośliwych u psów najczęściej występuje w skórze tułowia oraz na kończynach, zwłaszcza pomiędzy palcami (3).

Czerniaki złośliwe cechują się szybkim wzrostem, z reguły osiągają wielkość 2–3 cm, ale opisywano też zmiany, których średnica przekraczała 10 cm. U psów guzy te lokalizują się najczęściej na powiekach, palcach oraz tułowiu, z kolei u kotów częściej stwierdzano je na twarzy, bokach ciała oraz palcach (3, 10, 11, 18). Dość często, szczególnie w zmianach większych, powierzchnia guza ulega owrzodzeniu. Barwa mięszu czerniaków złośliwych bywa różna i zależy od ilości melaniny produkowanej przez komórki guza, od aktywności brzożnej (intensywna proliferacja melanocytów z produkcją dużych ilości melaniny na gra-

nicy naskórka i skóry właściwej) oraz od przebarwienia odczynowego naskórka.

Wygląd mikroskopowy

Plamy soczewicowe histopatologicznie charakteryzują się obecnością nieregularnej hiperplazji naskórka, nadmierną jego pigmentacją oraz zwiększeniem liczby intensywnie pigmentowanych melanocytów (ryc. 2). Rozrost warstwy podstawnej naskórka jest silniej wyrażony w zmianach pochodzących od psów niż od kotów, a rozrost melanocytów może obejmować warstwę podstawną naskórka lub też stwierdzany jest w warstwie kolczystej. Melanocyty w obrębie plam soczewicowych są powiększone z powodu nagromadzenia dużych ilości ziaren melaniny. Komórki te są rozproszone wśród komórek naskórka, pojedynczo bądź w mniejszych lub większych grupach, czasami ich skupiska stwierdza się na granicy skóry właściwej i naskórka (3). Niekiedy nieliczne komórki fagocytykujące ziarna melaniny (melanofagi) rozsiane są w powierzchniowych warstwach skóry właściwej poniżej zmian w obrębie naskórka. Same komórki barwnikotwórcze w obrębie plam soczewicowych są cytologicznie prawidłowe, poza zwiększoną ilością melaniny w cytoplazmie. **Znamiona barwnikowe** różnią się od siebie w zależności od lokalizacji i kształtu komórek je tworzących. Rozróżnia się znamiona śródskórkowe (*naevus epidermalis*), w których komórki stwierdza się wyłącznie w obrębie naskórka, bez przekraczania błony podstawnej, znamiona naskórkowo-skórne (znamiona złożone, *naevus compositus*, ryc. 3), gdzie gniazda proliferacji melanocytów obserwuje się zarówno w naskórku, jak i skórze właściwej, a także w nabłonku mieszków włosowych oraz znamiona skórne (*naevus dermalis*), w których komórki znamionowe stwierdza się wyłącznie w obrębie skóry właściwej (1).

W rozpoznaniu zmian barwnikowych skóry najważniejszą kwestią jest odróżnienie zmian niezłośliwych od czerniaków złośliwych. Rozstrzygającą rolę odgrywa badanie histopatologiczne usuniętej zmiany bądź jej wycinka. W ocenie klinicznej zmian barwnikowych należy wziąć pod uwagę ich wielkość, kształt, granice, zabarwienie, występowanie świądu i pojawianie się nowych ognisk (5). W diagnostyce histopatologicznej nienowotworowych zmian barwnikowych bierze się pod uwagę:

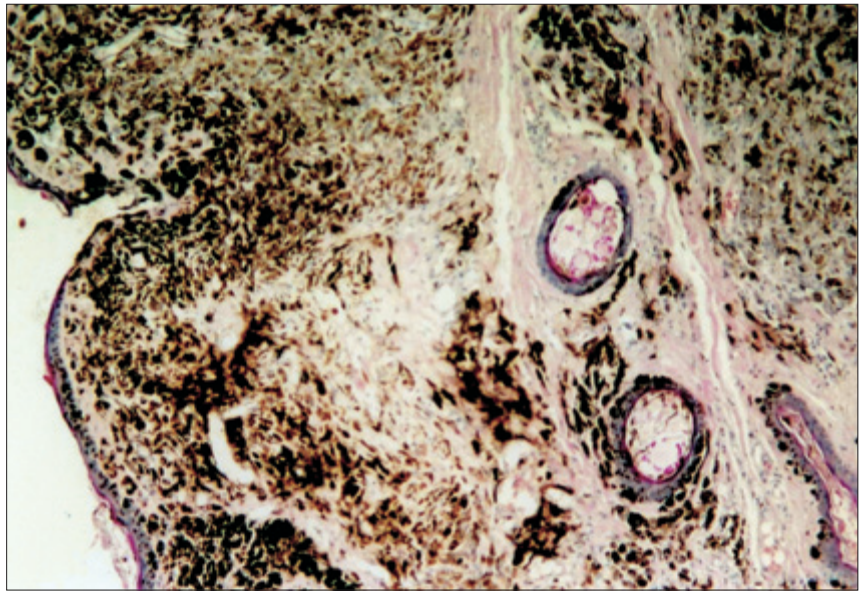
- obecność wrzecionowatych, drzewkowatych rzadziej nabłonkowatych melanocytów,
- produkcję dużych ilości barwnika przez komórki zmiany,
- bezładny układ komórek, które wnikać mogą pomiędzy naczynia i nerwy,

- obecność licznych komórek fagocytujących melanicę (melanofagów),
- małą aktywność mitotyczną komórek (5, 19).

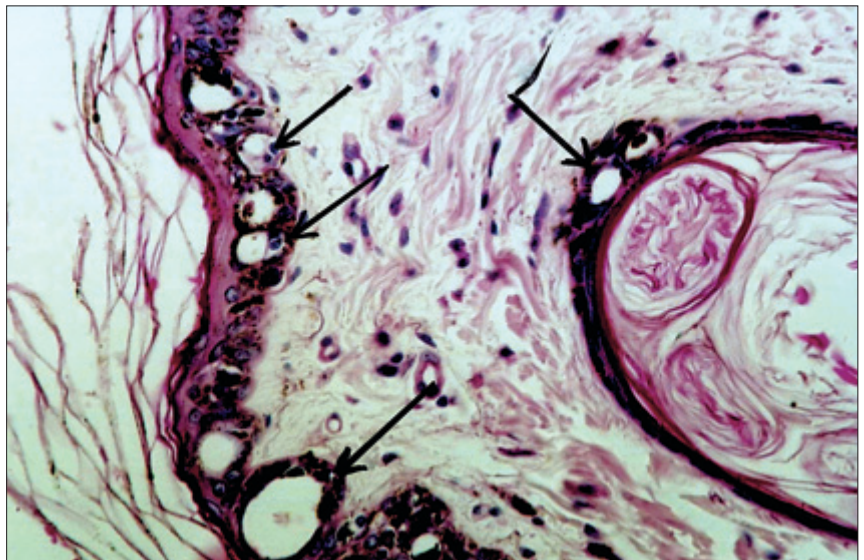
Plamy soczewicowe odróżniają się od pigmentowanych znamion naskórkowych brakiem brodawkowatych rozrostów naskórka oraz cech nadmiernego rogowacenia w obrębie naskórka. Cechy cytopatologiczne zaś pozwalają na odróżnianie ich od czerniaków, szczególnie form złośliwych.

U psów i kotów opisano dwa rodzaje **melanocytom**, które różnią się lokalizacją komórek nowotworowych w obrębie skóry. W przypadku melanocytom złożonych (compound melanocytoma) obecność nowotworowych melanocytów stwierdza się zarówno w naskórku, jak i skórze właściwej (ryc. 4). Zmiana jest dość dobrze ograniczona, nie ma jednak torebki łącznotkankowej i składa się z wielokątnych, wrzecionowatych bądź bardziej okrągłych komórek, które swym wyglądem przypominają komórki nabłonka (3). Często w miejscu połączenia skóry właściwej i naskórka obserwuje się obecność gniazd proliferujących komórek wypełnionych obficie melanicą, co jest przejawem tzw. aktywności brzeźnej (junctional activity; ryc. 5). W skórze właściwej obserwuje się skupiska małych, wrzecionowatych lub wielokątnych komórek ułożonych w gniazda, pasma bądź struktury wirowate (3). Ilość barwnika w cytoplazmie nowotworowych melanocytów jest zmienna tak w poszczególnych obszarach tej samej zmiany, jak i w różnych guzach. W przypadku melanocytom skórnych (dermal melanocytoma) masa nowotworu zlokalizowana jest w skórze właściwej, czasami komórki wnikają na obszar tkanki podskórnej, pomiędzy lipocyty tkanki tłuszczowej. Komórek nowotworowych nie obserwuje się w obrębie naskórka, który jednakże może ulegać hiperpigmentacji (3). Owrzodzenia, szczególnie w przypadkach zmian większych, obserwuje się dość często, z czym wiąże się pojawienie się nacieku granulocytarnego w mięszu guza.

Morfologia komórek mięszu melanocytomy może być trudna do określenia w przypadkach zmian silnie pigmentowanych. Ziarna melanicę stwierdzane w cytoplazmie komórek są małe, mają zazwyczaj jednolite rozmiary i są równomiernie rozproszone w całej komórce. Jądra komórkowe są owalne, okrągłe, piankowate, nieco większe niż w komórkach prawidłowych, z niewyraźnym jąderkiem. Aktywność mitotyczna komórek nie jest wysoka. Nie stwierdza się obecności atypowych mitoz. Często na obrzeżach zmiany stwierdza się obecność zapalnego nacieku komórkowego, w skład którego wchodzi między innymi makrofagi obładowane sfagocytowanymi ziarnami melanicę – mela-



Ryc. 4. Melanocytoma: niezłośliwy nowotworowy rozrost melanocytów w obrębie naskórka i skóry właściwej; barwienie hematoksylina-eoźyna, pow. 100×

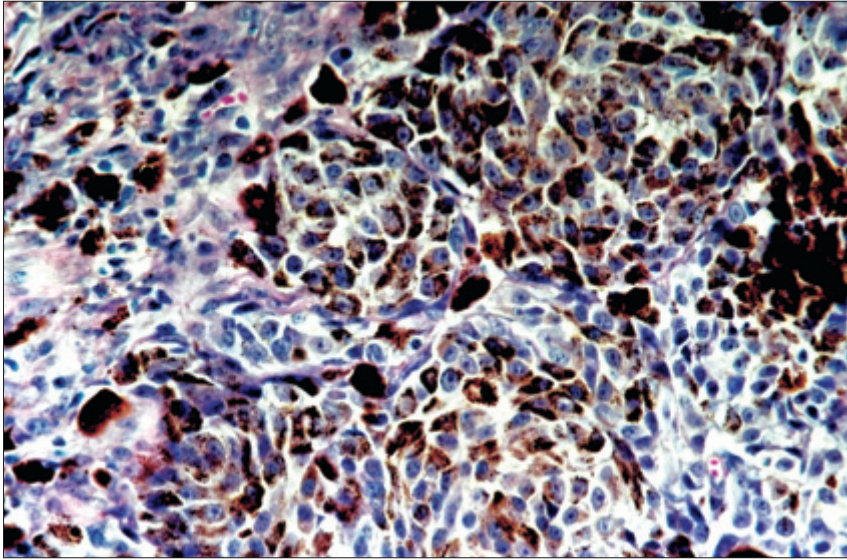


Ryc. 5. Aktywność brzeźna: na granicy naskórka i skóry właściwej widoczne „gniazda” melanocytów (strzałki); barwienie hematoksylina-eoźyna, pow. 100×

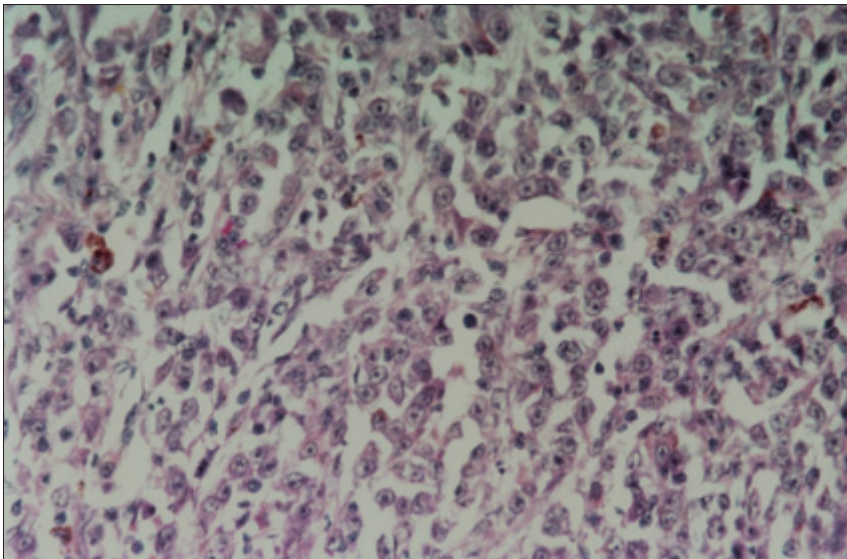
nofagi. Rzadką formą czerniaków niezłośliwych są czerniaki balonowatokomórkowe (balloon-cell melanocytoma), które mają postać guzków zbudowanych z komórek obficie wypełnionych jasną cytoplazmą nie zawierającą barwnika lub barwnik występuje w nich w tak małych ilościach, że do jego wykazania niezbędne są specyficzne barwienia histochemiczne (2, 3).

Obraz mikroskopowy **czerniaków złośliwych** bywa różny. W zależności od morfologii komórek nowotworowych opisano typ wrzecionowatokomórkowy, nabłonkowatokomórkowy i mieszany (2). Jednakże granica pomiędzy tymi typami histopatologicznymi jest płynna, zązębia się i często zdarza się, że różne obszary tego samego guza wykazują inną budowę. Obecność komórek nowotworowych stwierdza się w różnych warstwach skóry, najczęściej w skórze właściwej i naskórku, często w sa-

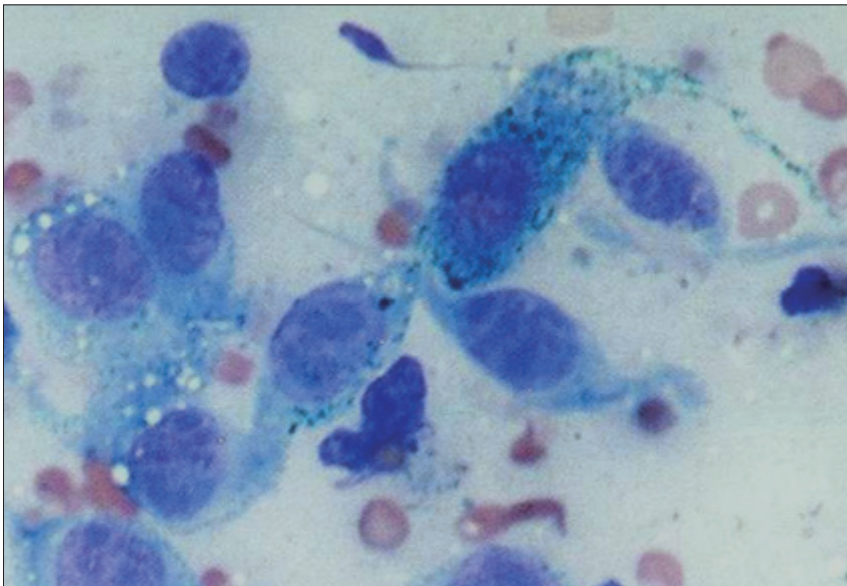
mej skórze właściwej, czasami z naciekiem tkanki podskórnej. Bardzo rzadko u zwierząt opisuje się czerniaki złośliwe czysto śródnaskórkowe, kiedy to proces nowotworowy ograniczony jest i szerzy się powierzchownie w naskórku (2). Granica pomiędzy rozrostem nowotworowym a tkanką zdrową jest niewyraźna, ponadto stwierdza się obecność układającego się w pasma nacieku komórkowego zapalnego, na granicy guza oraz w jego mięszu. Komórki czerniaka złośliwego naciekają naskórek, w którego warstwie rogowej stwierdza się duże ilości melanicę, posiadają one dość obfitą, bładą cytoplazmę, cechują się one dyskohecją, czyli brakiem połączeń międzykomórkowych (2, 3, 5). Duże jądra komórkowe, kształtu okrągłego, owalnego lub wydłużonego z silnie zaznaczonym pleomorfizmem, są typową cechą czerniaków złośliwych, podobnie jak



Ryc. 6. Czerniak złośliwy melanotyczny: duże ilości melaniny widoczne w komórkach nowotworu i melanofagach; barwienie hematoksylina-eozyna, pow. 400×



Ryc. 7. Czerniak złośliwy amelanotyczny: barwnik widoczny jedynie w pojedynczych komórkach mięszu nowotworu; barwienie hematoksylina-eozyna, pow. 400×



Ryc. 8. Czerniak złośliwy, materiał pobrany drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej; widoczne wrzecionowate komórki nowotworowe, w niektórych wyraźne ziarna melaniny; barwienie barwnikiem Giemsa, pow. 1000×

obecność wyraźnych, dużych i często amarantowych jąder. Aktywność mitotyczna komórek jest wysoka, często obserwuje się atypowe figury podziałowe (ryc. 6 i 7).

Badanie cytopatologiczne materiału pobranego drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej z czerniaków skóry dostarcza komórek o wyglądzie komórek nabłonkowych bądź mezenchymalnych, a czasami nawet w przypadku tej samej zmiany obserwuje się oba rodzaje komórek (20). Cytoplazma może zawierać mniej lub bardziej wyraźne ziarnistości, ciemnozielone, brązowe, szare, a nawet czarne (ryc. 8). Niekiedy występują one pod postacią pyłu, a czasami do ich wykazania niezbędne jest wykonanie srebrzenia metodą Fontana. W silnie pigmentowanych guzach obecność barwnika przesłania szczegóły struktury komórek, co utrudnia ocenę stopnia ich zróżnicowania (wskazane jest wtedy odbarwienie melaniny za pomocą wody utlenionej czy nadmanganianu potasu), ponadto ziarna barwnika obserwuje się rozsypane luźno poza komórkami. W czerniakach, szczególnie postaciach złośliwych, stwierdza się silnie zaznaczone cechy atypii komórkowej i jądrowej. Jądra komórkowe są bardzo duże (czasami osiągają średnicę 3–4 erytrocytów), z licznymi, dużymi i bardzo wyraźnymi jąderkami (ryc. 9). Figury podziału mitotycznego są liczne, często są atypowe (20). W przypadkach czerniaków, których komórki są dość dobrze zróżnicowane, różnicowanie na guzy złośliwe i niezłośliwe wymaga wykonania badania histopatologicznego.

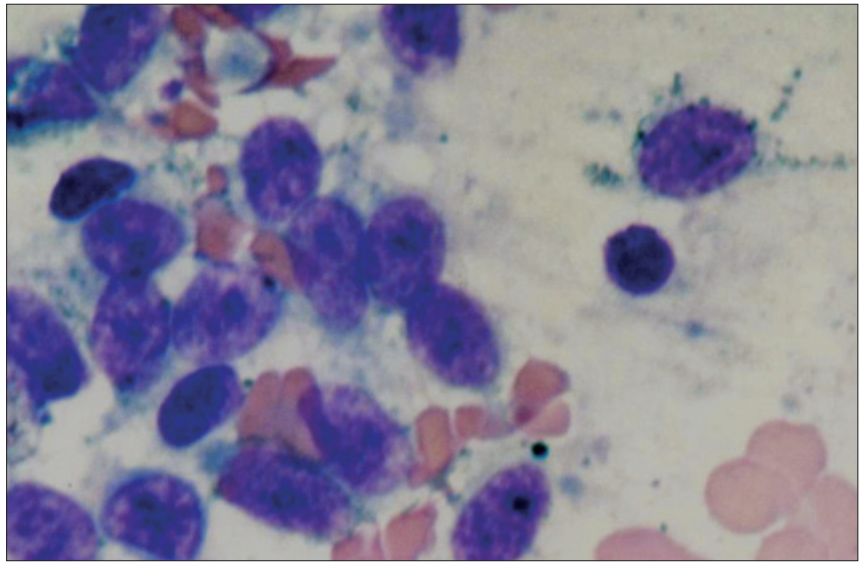
Rozpoznawanie i ocena stopnia zaawansowania zmian

Bardzo ważną kwestią postępowania w przypadkach nowotworów z tkanki barwnikowej jest ustalenie ostatecznego rozpoznania, którego podstawą jest badanie histopatologiczne zmian usuniętych w czasie zabiegu chirurgicznego. Badanie kliniczne nigdy nie powinno być podstawą do takiego rozpoznania, a mnogość zmian, które należy uwzględnić w diagnozie różnicowej przedstawia tabela 1. Obecność barwnika w mięszu nowotworu, rozmiar guza, owrzodzenie powierzchni, czy obecność pól martwicy w masie guza nie mogą być kryterium określania biologicznego zachowania czerniaka. Nawet bardzo małe, silnie pigmentowane guzki mogą mieć bardzo agresywny charakter i cechować się tendencją do dawania przerzutów (1). Ponadto uważa się, że u kotów najczęściej występującymi guzami skóry zawierającymi melaninę, nie są czerniaki tylko guzy podstawnkomórkowe. W przypadku braku możliwości wykonania badania histopatologicznego czerniaki, które wywodzą się z połączeń skórno-słuzówkowych, łożyska pazurów czy spojówek należy uznać

za zmiany złośliwe, do czasu ustalenia ostatecznej diagnozy. Podobnie za złośliwe należy uznawać czerniaki u psów starszych, ponadto w przypadku guzów skóry owłosionej bez względu na lokalizację u terierów szkockich oraz u samców sznaucerów miniaturowych, szczególnie na owłosionej skórze kończyn piersiowych (1).

Ażeby patolog mógł postawić właściwe rozpoznanie histopatologiczne, lekarz klinicysta powinien wraz z przesyłanym materiałem, co do którego istnieje podejrzenie czerniaka złośliwego, dostarczyć skierowanie, w którym musi uwzględnić: wiek, płeć i rasę zwierzęcia, umiejscowienie, liczbę i wygląd makroskopowy zmian/zmiany chorobowej. Ważny jest także czas trwania procesu i ewentualne zmiany wyglądu guza, a także informacja, czy otrzymany materiał stanowi wycinek, całość zmiany i czy wcześniej były już usuwane zmiany guzowate, jeśli tak, to czy jest rozpoznanie histopatologiczne (cyt. za 21).

Odróżnienie melanocytom od czerniaków złośliwych może być trudne, nawet gdy do badania przesłano cały usunięty guz. U psów do najważniejszych kryteriów, które brane są pod uwagę w badaniu histopatologicznym, to obecność atypii komórkowej i jądrowej. Obecność różnokształtnych jąder komórkowych, o różnej wielkości, szczególnie posiadających wyraźne, duże i kwasochłonne barwiące się jąderko, przemawia za guzem złośliwym. Bardzo ważną cechą czerniaków złośliwych u psów jest wysoka aktywność mitotyczna komórek nowotworu (3 i więcej mitoz w polu widzenia), obecność nieprawidłowych figur podziałowych oraz naciekanie górnych warstw naskórka przez nowotworowe melanocyty (3). W odróżnianiu zmian złośliwych od niezłośliwych oraz w ocenie stopnia złośliwości nowotworu pomocne jest badanie ploidi DNA komórek czerniaka (10). Z kolei u kotów wykazano, że jedynie obecność atypii jąder komórkowych oraz naciekanie okolicznych tkanek przez komórki guza świadczą o złośliwości czerniaków. Obecność nacieku ko-



Ryc. 9. Czerniak złośliwy, materiał pobrany drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej; wyraźnie widoczne jąderka, w komórce w prawym górnym rogu widoczne wypustki cytoplazmatyczne i ziarna melaniny; barwienie barwnikiem Giemsa, pow. 1000×

mórkowego zapalnego w skórze w okolicy guza u kotów także sugeruje taką możliwość, a za jej brakiem przemawia ograniczenie procesu do połączenia naskórko-skórnego (1).

Grupą guzów, które mogą sprawiać problemy diagnostyczne są czerniaki amelanotyczne, które nie zawierają melaniny w ogóle lub zawierają ją w ilościach tak małych, że jest ona niewidoczna w rutynowym barwieniu hematoksylina-eozyna. Dlatego też w takich przypadkach wymagane są dodatkowe barwienia, takie jak srebrzenie melaniny metodą Fontana oraz badania immunohistochemiczne wykrywające ekspresję antygenów typowych dla komórki czerniaków (5). Zastosowanie panelu przeciwciał wykrywających markery, takie jak białko S100, neurospecyficzna enolaza (NSE), wimentyna, Melan-A (MART – melanoma-specific antigen recognized by T cells), HMB-45 pozwala w większości przypadków na postawienie ostatecznego rozpoznania (5, 18, 22).

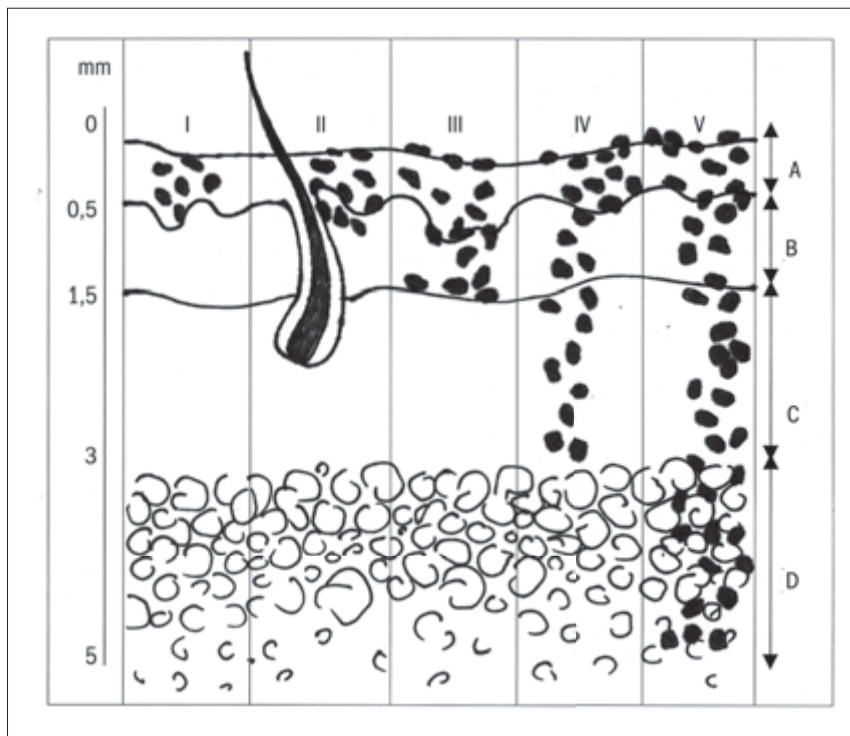
W przypadku stwierdzenia w badaniu histopatologicznym czerniaka złośliwego

ważne jest określenie stopnia jego złośliwości i zaawansowania procesu chorobowego. Istnieje klasyfikacja według Clarka, w której w zależności od typu nowotworu oraz głębokości naciekania poszczególnych warstw skóry przez komórki nowotworowe rozróżnia się pięć stopni złośliwości czerniaków złośliwych (ryc. 10; 19). Inne ważne kwestie, które powinno się wyjaśnić w badaniu histopatologicznym, to odpowiedź na pytanie, czy zmiana została usunięta z marginesem niezmięconej skóry z każdej strony i czy stwierdza się obecność komórek nowotworowych w naczyniach krwionośnych (21).

W każdym przypadku, w których stwierdzono obecność czerniaka złośliwego należy wykonać badanie węzłów chłonnych zbierających chłonkę z danego regionu, a przy ich powiększeniu wskazane jest wykonanie biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej. W celu określenia ogólnego stanu zdrowia wykonuje się badanie hematologiczne, biochemiczne surowicy krwi, badanie moczu, a u kotów także oceniamy funkcję tarczycy. Należy także wykonać ba-

Tabela 1. Guzy uwzględniane w diagnostyce różnicowej czerniaków pigmentowanych, amelanotycznych i czerniaków łożyska pazura (Stokking 2004)

Guzy pigmentowane	Guzy niepigmentowane	Guzy łożyska pazura
błędniak pigmentowany	błędniak (hamartoma)	rak płaskonabłonkowy
guz podstawnokomórkowy (koty)	guz podstawnokomórkowy (koty)	<i>keratoacanthoma</i>
plamy soczewicowe	guzy przydatków	guz z komórek tucznych
płytką barwnikowa (psy)	<i>keratoacanthoma</i>	kostniakomięsak
rak kolczystokomórkowy	rak kolczystokomórkowy	włókniamięsak
naczyński skóry	chłoniak skóry	chłoniak skóry
	guz z komórek tucznych	naczyniak i naczyński mięsakiowy
	naczyński i naczyński mięsakiowy	śluzakomięsak
	plazmocytoza	nerwiakowłókniak
	włókniak/włókniamięsak	przerzuty z innych miejsc
	mięsak niezróżnicowany	brodawczak odwrócony
	rak niezróżnicowany	zapalenie kości i szpiku
	ziarniniaki (bakteryjne, grzybicze)	zanokcica (bakteryjna, grzybicza)



Ryc. 10. Czerniak złośliwy skóry (*melanoma malignum*) – schemat naciekania według skali Clarka. I–V – stopnie naciekania; A – naskórek, B – warstwa brodawkowa skóry, C – warstwa siateczkowa skóry, D – tkanka podskórna

danie rentgenowskie klatki piersiowej, w co najmniej dwóch projekcjach w celu poszukiwania ognisk przerzutowych w płucach, a w uzasadnionych przypadkach inne dodatkowe badania, takie jak badanie ultrasonograficzne. Na tej podstawie ustala się stadium zaawansowania klinicznego czerniaka złośliwego w oparciu o klasyfikację TNM. Klasyfikacja ta uwzględnia ocenę guza pierwotnego (T – primary tumor), regionalnych węzłów chłonnych (N – regional lymph nodes) oraz przerzutów odległych (M – distant metastasis; 1).

Leczenie

Plamy soczewicowe i znamiona barwnikowe nie reagują na postępowanie terapeutyczne, które zresztą w przypadku zwierząt nie jest konieczne (7). Plamy soczewicowe, szczególnie stwierdzone w miejscach nietypowych, często wycina się z uwagi na diagnostykę różnicową czerniaków skóry.

Najbardziej polecanym sposobem postępowania w przypadku zarówno **melanocytom**, jak i **czerniaków złośliwych** u psów i kotów jest zabieg doszczętnego ich usunięcia. Przy zastosowaniu rutynowych technik chirurgicznych usuwania omawianych zmian wymagane jest wycięcie odpowiedniego fragmentu niezmienionej makroskopowo skóry. W badaniach obejmujących 535 ludzkich czerniaków skóry ustalono, że dla guzów zlokalizowanych na tułowiu i bliższych odcinkach kończyn, o średnicy mniejszej niż 2 cm, wystarczające jest wycięcie masy nowotworu

z 1 cm zapasem prawidłowo wyglądającej skóry. Z kolei w przypadku guzów o tej lokalizacji i średnicy większej niż 2 cm oraz zmian zlokalizowanych na stopach, dłoniach, szyi i głowie wymagany jest margines szerokości co najmniej 1,5 cm. Margines szerokości co najmniej 2,5 cm jest wymagany dla czerniaków o średnicy większej niż 3 cm (23). W literaturze weterynaryjnej zalecane jest pozostawienie marginesu tkanek szerokości 2 cm (1).

Chemioterapia jest metodą stosowaną dodatkowo do leczenia chirurgicznego i sama nie wydłuża okresu przeżycia u zwierząt z czerniakiem złośliwym (1). U psów karboplatyna w dawce 300–350 mg/m dożylnie, co 21 dni, prowadziła do częściowej remisji u 24% (6/25) psów z czerniakiem złośliwym, a średni okres przeżycia tych zwierząt wyniósł 163 dni. Całkowitą remisję i 950-dniowy okres przeżycia uzyskano u 1 psa, a ustabilizowanie się choroby u 36% (9/25) zwierząt (17). Melafan podawany dożylnie wywołał częściową, trwającą średnio 4 miesiące odpowiedź, jedynie u 3 na 11 leczonych psów, podobnie niezadowalające efekty przyniosło zastosowanie dekarbazyny i doksorubicyny (1, cyt. za 17). Lepsze wyniki uzyskano poprzez miejscowe zastosowanie połączenia epinefryny z cisplatiną, metotreksatem i karmustyną, a postępowanie takie jednocześnie ograniczyło występowanie ubocznych efektów działania leków (cyt. za 1). Zastosowanie żelowych implantów z cisplatiną w przypadku czerniaków jamy ustnej u psów pozwoliło uzyskać re-

misję u dużego odsetka zwierząt ze średnim czasem przeżycia wynoszącym 54 tygodnie (24).

Radioterapia nie była stosowana do leczenia złośliwych czerniaków skóry u zwierząt, jednakże okazała się przydatna w miejscowym kontrolowaniu choroby jako metoda dodatkowa po mandibulektomii i maksylektomii w przypadkach czerniaków złośliwych jamy ustnej u psów (1, 17). Wydaje się, że może mieć ona korzystne działanie w miejscowym kontrolowaniu nieoperacyjnych czerniaków złośliwych w obrębie skóry (8), niestety jest to jednak metoda niedostępna w onkologii weterynaryjnej nie tylko w naszym kraju.

Do innych metod terapeutycznych, które stosowano w przypadkach dobrze ograniczonych czerniaków skóry u zwierząt, należy miejscowe podanie do mięszu guza cisplatinę w połączeniu z hipertermią oraz terapią fotodynamiczną, jednakże takie postępowanie okazało się niezadowalające (8). W związku z niską skutecznością leczenia nieoperacyjnych czy rozsianych przypadków czerniaków złośliwych zarówno u ludzi, jak i zwierząt prowadzone są intensywne badania nad opracowaniem nowych metod terapeutycznych. Pewną nadzieję, daje zastosowanie szczepionek, pobudzanie immunologicznych mechanizmów zabijania komórek nowotworowych (cyt. za 8).

Rokowanie

Rokowanie dla całkowicie usuniętych chirurgicznie melanocytom jest bardzo dobre, z kolei nawet doszczętnie wycięte zmiany złośliwych niesie ze sobą rokowanie od ostrożnego do niekorzystnego. Średni okres przeżycia pooperacyjnego dla „nie-wielkich” i „dużych” czerniaków złośliwych u psów wynosi odpowiednio 4 i 12 miesięcy; u kotów okres ten wynosi 4,5 miesiąca (1). Występowanie przerzutów po leczeniu chirurgicznym stwierdzano w 30–75% przypadków u psów i 5–25% u kotów (cyt za 8). W przypadku własnym dotyczącym złośliwego czerniaka palca kończyny piersiowej u rottweilera, okres przeżycia (eutanazja z powodu obecności mnogich przerzutów) po amputacji palca w stawie śródrečno-paliczkowym wyniósł 16 miesięcy (18). W jednym z badań przeglądowych obejmujących nowotwory palców, w tym 19 czerniaków złośliwych występowanie przerzutów w płucach potwierdzone przedoperacyjnym badaniem rentgenowskim klatki piersiowej stwierdzono w 32% przypadków (6 na 19 psów); po zabiegu operacyjnym przerzuty do płuc rozwinęły się u kolejnych 5 psów (15).

Do czynników prognostycznych pozwalających ocenić biologiczne zachowanie guza należy aktywność proliferacyjna czerniaków złośliwych (25). Parametr ten mierzony przy

Tabela 2. Kliniczne i histopatologiczne czynniki pozwalające na prognozowanie przebiegu czerniaków skóry u psów

Czynnik rokowniczy	Uwagi
Lokalizacja guza	czerniaki wywodzące się ze skóry owłosionej są na ogół niezłośliwe; guzy zlokalizowane na połączeniu skóry i błon śluzowych (z wyjątkiem powiek), łożyska pazura oraz w jamie ustnej są zazwyczaj czerniakami złośliwymi
Opis zwierzęcia	guzy złośliwe występują częściej u zwierząt starszych oraz u szkockich terierów i czarnych pudli miniaturowych; u samców sznaucerów miniaturowych częściej niż u samic stwierdza się czerniaki złośliwe na owłosionej skórze, zwłaszcza zlokalizowane na kończynach piersiowych
Badanie histopatologiczne	czerniaki uznane w badaniu histopatologicznym za zmiany złośliwe wykazują tendencję do dawania przerzutów i wznowy; ocena stopnia złośliwości odbywa się głównie poprzez określenie wartości indeksów mitotycznych komórek nowotworu; obecność atypowych figur podziałowych, stwierdzanie naciekania naczyń limfatycznych, krwionośnych oraz górnych warstw naskórka pogarsza rokowanie

użyciu barwienia immunohistochemicznego z użyciem przeciwciała MIB-1 (pozwala na wykazanie ekspresji antygenu Ki-67 typowego dla podziału komórki) wykazywał ścisłą korelację z obecnością naciekania naczyń limfatycznych przez komórki nowotworowe (26). Naciekanie naczyń limfatycznych i okolicznych tkanek oraz wielkość guza koreluje z prawdopodobieństwem pojawienia się wznowy i przerzutów odległych. Lokalizacja czerniaka złośliwego w obrębie skóry też jest bardzo ważnym czynnikiem dla rokowania, bardziej złośliwy przebieg i możliwość powstania wznowy oraz przerzutów odległych stwierdza się w przypadku czerniaków zlokalizowanych w okolicach połączenia błon śluzowych i skóry (z wyjątkiem powiek) oraz wywodzących się z łożyska pazura. Około połowa przypadków czerniaków zlokalizowanych w okolicach pazurów jest guzami złośliwymi, a w 1/3 przypadków zmian o takiej lokalizacji stwierdza się występowanie przerzutów odległych do czasu postawienia ostatecznego rozpoznania (1, 8). Czynniki prognostyczne dostępne w czasie rutynowych badań pozwalające prognozować zachowanie się czerniaków skóry u psów zostały zsumowane w **tabeli 2**.

Piśmiennictwo

- Stokking L.B.: Melanocytic neoplasms. W: *Small Animal Dermatology Secrets*. Campbell K.L. (edit.) Hanley&Bel-fus. Philadelphia 2004, s. 443–453.
- Pulley L.T., Stannard A.A.: Tumors of the skin and soft tissues. W: *Tumors in Domestic Animals*. Moulton J.E. (edit). University of California Press. 3rd ed., Los Angeles 1990, s. 23–87.
- Walder E.J., Gross T.L.: Neoplastic diseases of the skin. W: Gross T.L., Ihrke J.L., Walder E.J. (edit.) *Veterinary Dermatopathology. A macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease*. Mosby Year Book, St. Louis 1992, s. 327–484.
- Sulaimon S.S., Kitchell B.E.: The biology of melanocytes. *Vet. Dermatopathol.* 2003, **14**, 57–65.
- Krawiec M., Czumińska K.: Zmiany barwnikowe u psów. *Magazyn Wet.* 2003, **12**, 30–32.
- Kruś S., Babiuch M.: Nowotwory. W: *Patomorfologia kliniczna*. Kruś, S., Skrzypek-Fakhoury E. (red.). Wydawnictwo PZWL, Warszawa 1996, s. 161–220.
- Nash S., Paulsen D.: Generalized lentigenes in a silver cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1990, **196**, 1500–1501.
- Vail D.M., Withrow S.J.: Tumors of the skin and cutaneous tissues. W: Withrow S.J., McEwen E.G. (red.) *Small Animal Clinical Oncology*. 3 ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia 2001, 233–260.
- Kaldrymidou H., Leontides L., Koutinas A.F., Saridomichelakis M.N., Karayannopoulou M.: Prevalence, distribution and factors associated with the presence and the potential for malignancy of cutaneous neoplasms in 174 dogs admitted to a clinic in northern Greece. *J. Vet. Med. A* 2002, **49**, 87–91.
- Malicka E., Czumińska K., Krawiec M.: Proliferative activity and DNA ploidy in melanomas in dogs. *Pahology in Nowadays*. Olsztyn-Poland 2004, s. 135.
- Day M.J., Lucke V.M.: Melanocytic neoplasia in the cat. *J. Small Anim. Pract.* 1995, **36**, 207–213.
- Miller M.A., Nelson S.L., Turk J.R., Pace L.W., Brown T.P., Shaw D.P., Fischer J.R., Gosser H.S.: Cutaneous neoplasia in 340 cats. *Vet. Pathol.* 1991, **28**, 389–395.
- Conroy J.D.: Melanocytic tumors of domestic animals. *Arch. Dermatol.* 1967, **96**, 372–380.
- Macy D.W., Reynolds H.A.: The incidence, characteristics and clinical management of skin tumors of cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1981, **17**, 1026–1034.
- Marino D.J., Matthiensen D.T., Stefanacci J.D., Moroff S.D.: Evaluation of dogs with digit masses: 117 cases (1981–1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1995, **204**, 1095–1098.
- Keller E.T., Madewell B.R.: Location and types of neoplasms in immature dogs: 69 cases (1964–1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992, **200**, 1530–1532.
- Rassanick K.M., Ruslander D.M., Cotter S.M., Al-Saraf R., Bruyette D.S., Gamblin R.M., Meleo K.A., Moore A.S.: Use of carboplatin for treatment of dogs with malignant melanoma: 27 cases (1989–2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001, **218**, 1444–1448.
- Sapierzynski R.: Nowotwory palców u psów. *Magazyn Wet.* 2005, **14**, 28–31.
- Woźniak L., Gyrn I.: *Atlas histopatologii skóry*. PZWL, Warszawa 1987, s. 141–151.
- Baker R., Lumsden J.: The skin. W: *Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat*. Baker R., Lumsden J. (edit.), Mosby, St. Louis 2000, s. 39–70.
- Levene A., MacKie R.M.: Diagnostyka patomorfologiczna czerniaka skóry. WHO Melanoma Programme, 1992. *Pat. Pol.* 1993, **4**, 101–108.
- Sulaimon S. S., Kitchell B. E., Ehrhart E.: Immunohistochemical detection of melanoma specific antigens in spontaneous canine melanoma. *J. Comp. Pathol.* 2002, **127**, 162–168.
- Zitelli J.A., Brown C.D., Hanusa B.H.: Surgical margins for excision of primary cutaneous melanoma. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1997, **37**, 422–429.
- Kitchell B.E., Brown D.M.: Intralesional implant for treatment of primary oral malignant melanoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1994, **204**, 229–236.
- Laprie C., Abadie J., Amardeilh M.F., Net J.L., Lagadic M., Delverdier M.: MIB-1 immunoreactivity correlates with biologic behaviour in canine cutaneous melanoma. *Vet. Dermatol.* (abstr.) 2001, **12**, 139–147.
- Millanta F., Fratini F., Corazza M., Costagnaro M., Zepulli V., Poli A.: Proliferation activity in oral and cutaneous melanocytic tumours: correlation with histological parameters, location, and clinical behaviour. *Res. Vet. Sci.* 2002, **73**, 45–51.

Dr R. Sapierzynski, Katedra Nauk Klinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159C, 43-976 Warszawa, e-mail: sapieh@onet.poczta.pl