

Błoniak ziarnisty jako przyczyna zaburzeń płodności u klaczy

ROLAND KUSY, WOJCIECH ŁOPUSZYŃSKI*, TOMASZ PIECH

Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, *Katedra Anatomii Patologicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR,
ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Kusy R., Łopuszyński W., Piech T.

Granulosa cell tumors as a cause of infertility in mares

Summary

The paper describes two cases of ovarian tumors in mares diagnosed by clinical examinations. The treatment consisted in the surgical removal of tumors. On the basis of morphological appearance, neoplasms were defined as granulosa cell tumors (GCT). During the three months after surgery the mares did not display either heat symptoms or cyclic activity of ovaries. Hormonal therapy with the depot form of analog GnRH was applied. When the ovary cycle had been activated, mares were inseminated. Only one of them became pregnant, but on the 19th day after conception an early embryonic death was diagnosed. Observations have shown the possibility of using the depot form of analog GnRH in the induction of the ovary cycle in mares after a single-side surgical removal of granulosa cell tumor.

Keywords: mares, ovary tumors, GCT, infertility

Pierwotne nowotwory jajnika diagnozowane u samicy zwierząt domowych stanowią heterogenną grupę zmian rozrostowych o zróżnicowanej budowie makro- i mikroskopowej. Objawy kliniczne towarzyszące poszczególnym typom guzów jajnika u zwierząt są mało charakterystyczne. Powoduje to trudności w postawieniu właściwego rozpoznania w oparciu o badanie kliniczne i testy laboratoryjne. Najczęściej występującym guzem jajników jest błoniak ziarnisty (*folliculoma*, granulosa cell tumor – GCT), należący do grupy guzów gonadostromalnych (6). Granulosa cell tumor zbudowany jest z komórek przypominających komórki ziarniste pęcherzyka jajnikowego. Błoniak ziarnisty jest guzem najczęściej występującym u krów i klaczy, rzadziej jest diagnozowany u suk, a sporadycznie u kotek (6). Dotknięte schorzeniem samice mogą wykazywać zaburzenia cyklu jajnikowego, będące następstwem aktywności hormonalnej guza. Aktywność hormonalna błoniaka ziarnistego może być powiązana ze steroidogenezą zarówno estrogenów, jak i androgenów. U klaczy GCT bardzo często wytwarza inhibinę i powoduje zanik drugiego, nie dotkniętego schorzeniem jajnika (6, 11). Błoniak ziarnisty u zwierząt bardzo rzadko daje przerzuty, w porównaniu z tego typu nowotworami u kobiet. Przypadki przerzutów GCT zdarzają się u suk i krów, a prawie nigdy nie występują u klaczy (6). Zaleconym postępowaniem przy zdiagnozowanym guzie jajnika u klaczy jest jego chirurgiczne usunięcie.

Opis przypadków

W latach 2000-2002 w Katedrze Anatomii Patologicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie rozpoznano 3 guzy jajników u klaczy. Były to: rozrodczak (*dysgerminoma*) i dwa przypadki błoniaka ziarnistego (*folliculoma*).

Rozrodczaka stwierdzono u klaczy wieloródki (czystej krwi arabskiej, w wieku 12 lat), która była w trzecim miesiącu ciąży. Rozpoznanie postawiono na podstawie badania sekcyjnego, gdyż guz jajnika spowodował niedrożność przewodu pokarmowego i śmierć klaczy (7). Zmianami objęte były w tym przypadku obydwaj jajniki i sieć. Natomiast u dwóch klaczy (szlachetnej półkrwi, jedna w wieku 6 lat, druga 8 lat) stwierdzono jednostronnie umiejscowione błoniaki ziarniste jajnika. Parametry hematologiczne i biochemiczne krwi badanych klaczy nie odbiegały od norm fizjologicznych. Pierwsza z klaczy została przyjęta do Katedry i Kliniki Rozrodu Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie w listopadzie 2001 r. w celu ustalenia przyczyny niepłodności. Z zebranego wywiadu wynikało, że od trzech sezonów hodowlanych klacz była bezskutecznie zażrebiana. Zaobserwowano u niej nieregularne, długie ruje. Była trudna w obsłudze i agresywna w stosunku do innych koni. Badaniem palpacyjnym przez prostnicę stwierdzono powiększony lewy jajnik, nisko podwieszony na napiętej krezce. Zmieniony jajnik miał gładką, płatowatą powierzchnię i tęgą konsystencję. Przy rektalnym omacywaniu klacz wykazywała wyraźne objawy bólowe. W obrazie ultrasonograficznym jajnik ten miał torbielowatą strukturę i wymiary ok. 10 × 10 cm (ryc. 1a). Drugi jajnik, o wymiarach 2 × 3 cm, w kilkakrotnych badaniach ultrasonograficznych nie wykazywał cyklicznej aktywności (ryc. 1b). Z uwagi na agresywne zachowanie klaczy zaproponowano określenie poziomu testosteronu w krwi obwodowej. Testosteron oznaczono dwukrotnie w odstępie 12 godzin, w surowicy krwi obwodowej metodą RIA. Niski poziom testosteronu (wartości < 25 pg/ml.) nie tłumaczył samczego zachowania klaczy. Na podstawie wyników powyższych badań postawiono wstępne rozpoznanie: guz lewego jajnika i zaproponowano chirurgiczne usunięcie zmienionego jajnika. Po uzyskaniu zgody właściciela zwierzęcia wykonano zabieg owariektomii z małego cięcia bocznego. Klacz w ciągu 3 miesięcy po usunięciu guza uspokoiła się znacznie, nie wykazywała jednak zewnętrznych



Ryc. 1. a) Obraz ultrasonograficzny zmienionego lewego jajnika (z lewej); b) Niezmieniony prawy jajnik (z prawej)



Ryc. 2. Pęcherzyk zarodkowy w 14. dniu po owulacji w obrazie ultrasonograficznym



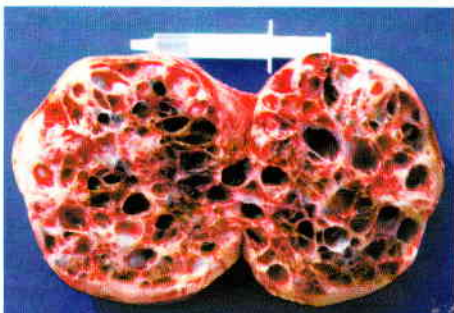
Ryc. 3. Wczesna zamieralność zarodkowa w obrazie USG

objawów rujowych. Badaniem ultrasonograficznym nie stwierdzono aktywności pozostawionego jajnika. Klacz poddano terapii hormonalnej, podając dinoprost (Dinolytic), 5 mg/zwierzę i.m. Następnie po 3 dniach zaaplikowano 3-krotnie, co 2 dni analog GnRH (dalarelinę w formie depot – seria próbna, Biocheffa), 50 µg/zwierzę i.m. W efekcie zastosowanego leczenia został aktywowany cykl jajnikowy i klacz została zainseminowana nasieniem świeżym, rozrzedzonym (owulacja z pęcherzyka o średnicy 4,5 cm). Badaniem ultrasonograficznym 14. dnia po owulacji stwierdzono obecność pęcherzyka zarodkowego (ryc. 2). Kolejne badanie wykonane po 5 dniach wykazało obumieranie zarodka (ryc. 3). Klacz po resorpcji zarodka nie wykazywała objawów rui, a właściciel nie zgodził się na ponowną stymulację hormonalną.

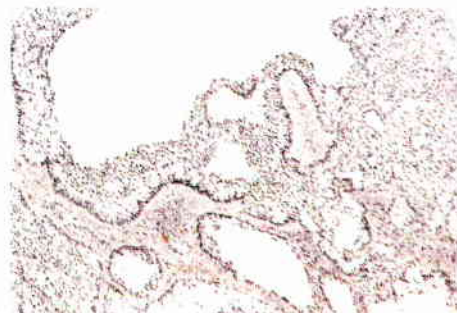
Z kolei u drugiej klaczy z błoniakiem ziarnistym jajnika od 2 lat niewidoczne były objawy rui i klacz w obecności ogiera zachowywała się obojętnie. Badaniem rektalnym stwierdzono u niej znacznie powiększony lewy jajnik (średnicy ok. 15 cm), natomiast prawy jajnik był bardzo mały (średnicy ok. 2 cm). W odróżnieniu od poprzedniego przypadku, przy omacywaniu zmienionego jajnika nie stwierdzono bolesności i reakcji obronnych ze strony klaczy. Zabieg owariektomii i okres pooperacyjny przebiegały bez powikłań. Ponieważ ruja nie pojawiła się w okresie 3 miesięcy po zabiegu, klacz poddano stymulacji hormonalnej. Pomimo indukcji cyklu jajnikowego i pokrycia, klacz nie została zażrebiona. Kolejny cykl jajnikowy samoistnie nie powtórzył się i właściciel zrezygnował z eksploatacji klaczy pod kątem hodowlanym.

Wyniki i omówienie

Przesłane do badania patomorfologicznego zmienione nowotworowo jajniki miały kształt owalny i wymiary 9 × 10,5 cm i 12 × 14 cm. Masa guzów wynosiła odpowiednio 880 g i 1020 g. Oba jajniki otoczone były wyraźnie wykształconą torebką łącznotkankową. Na powierzchni przekroju pierwszego guza stwierdzono liczne torbielowate przestrzenie o średnicy od kilku milimetrów do ok. 2 cm, wypełnione surowiczym, klarownym, opalizującym płynem. Poprzedzielane one były pasmami tkanki łącznej o różnej grubości (ryc. 4). Drugi guz miał litą budowę, a na kremowobiałej powierzchni przekroju znajdowały się nieliczne torbiele, wypełnione płynem surowiczym. W części centralnej odnotowano obecność rozległego wynaczynienia krwi. Wycinki guzów po 24-godzinnym utrwaleniu w 10% obojętnej formalinie przeprowadzono do bloczków parafinowych. Preparaty mikroskopowe zabarwiono hematoksyliną i eozyną, a następnie oceniono, opierając się o klasyfikację WHO. Dodatkowo przeprowadzono badanie immunohistochemiczne metodą ABCComplex/HRP z wykorzystaniem przeciwciała antywimentynowego clon V-9 (Dako). W obrazie mikroskopowym oba guzy zbudowane były z komórek nowotworowych wywodzących się z warstwy ziarnistej pęcherzyka jajnikowego. Było to podstawą do zakwalifikowania obu rozrostów jako błoniaków ziarnistych



Ryc. 4. Torbielowata struktura powierzchni przekroju błoniaka ziarnistego klaczy



Ryc. 5. Obraz mikroskopowy *folliculoma macrofolliculare cysticum*. Barw. met. H i E. Pow. ok. 80 ×



Ryc. 6. Dodatnia reakcja na obecność wimentyny w cytoplazmie komórek nowotworowych. Barw. met. ABCComplex/HRP. Pow. ok. 160 ×

(*folliculoma*). W pierwszym przypadku komórki nowotworowe o owalnym jądrze i ze słabo barwiącą się cytoplazmą układały się w lite pasma, pomiędzy którymi obecne były różnej wielkości przestrzenie przypominające swym wyglądem jamę dojrzałego pęcherzyka Graafa. Liczne przestrzenie osiągały znaczne rozmiary, co było podstawą do określenia rozrostu jako postaci makrofolikularnej torbielowatej (*folliculoma macrofolliculare cysticum*) (ryc. 5). Pomiedzy komórkami ziarnistymi występowały nieliczne komórki tekalne. Struktura mikroskopowa guza w drugim przypadku zbliżona była do opisanej powyżej, z tym że nowotworowe komórki ziarniste formowały drobniejsze przestrzenie pęcherzykowe, które poprzedzielane były pasmami tkanki łącznej. Jedynie nieliczne pęcherzyki tworzyły struktury torbielowate. W obydwu przypadkach badaniem immunohistochemicznym stwierdzono dodatnią reakcję na obecność wimentyny. Manifestowała się ona nasilonym ziarnisto-rozlanym odczynem w cytoplazmie komórek ziarnistych (ryc. 6). Podobna reakcja na obecność wimentyny stwierdzana jest w błoniakach ziarnistych u kobiet (9).

Dane piśmiennictwa i obserwacje własne wskazują, że objawy wirylizmu i agresywnego zachowania klaczy ustępują stosunkowo szybko po usunięciu błoniaka ziarnistego jajnika (2, 3). Natomiast rokowanie co do płodności jest niepewne i w dużym stopniu zależy od czasu trwania schorzenia (2, 11). Greet i wsp. (3) wykonując zabieg u 10 klaczy w 9 przypadkach stwierdzili powrót normalnego cyklu jajnikowego (w jednym przypadku już w czasie 1 miesiąca po zabiegu). Natomiast Meinecke i wsp. (8) nie udało się zażrebić większości spośród 23 klaczy w ciągu 2 lat po usunięciu tego nowotworu jajnika. Spostrzeżenia własne wskazują na możliwość zastosowania analogu GnRH (dalarelina w formie depot) w celu aktywacji cyklu jajnikowego u klaczy po jednostronnym usunięciu guza. Przed przeprowadzeniem operacji należy wykonać badanie ultrasonograficzne w celu określenia ilości płynu w guzie. Podczas zabiegu można bowiem zaaspirować płyn w celu zmniejszenia jego rozmiarów. Tradycyjne metody ovariectomii to kolpotomia i laparotomia (boczna, przypośrodkowa lub pośrodkowa) (12). Odcięcie zmienionego jajnika od krezki można uzyskać poprzez użycie ekrazera. Najczęściej jednak usuwa się zmieniony jajnik po założeniu pojedynczej lub kilku ligatur na kreskę jajnika (2, 12). Można także w tym celu użyć staplera liniowego (3). W ostatnich latach w medycynie weterynaryjnej rośnie liczba zabiegów laparoskopowych wykonywanych w celu zdiagnozowania i leczenia guzów jajnika u klaczy (10). Po insuflacji jamy brzusznej dwutlenkiem węgla i wykonaniu wejść dla optyki oraz narzędzi należy odnaleźć zmieniony jajnik i jego kreskę. Odcięcie zmienionego jajnika wykonuje się przy użyciu nożyczek laparoskopowych z przyłączeniem do diatermii. W celu zabezpieczenia naczyń krezki jajnika można dodatkowo podwiązać naczynia lub założyć klipsy naczynio-

we. Następnie należy wypłukać jamę otrzewnową z wynaczynionej krwi i ewentualnych skrzepów przy użyciu pompy ssąco-płuczającej. Przy laparoskopowym zabiegu konieczne jest jednak wykonanie celiotomii w celu wyjęcia zmienionego jajnika (w zależności od wielkości guza długość nacięcia powłok brzusznych wynosi od 5 do 15 cm). W przypadku guzów jajnika o niewielkich rozmiarach zabieg laparoskopowej ovariectomii można wykonać na stojącej klaczy (5). Technika ta eliminuje potencjalne komplikacje związane z tradycyjnymi metodami chirurgicznymi oraz zapobiega ryzyku związanemu ze znieczuleniem ogólnym. Pacjentka poddana jest sedacji i znieczuleniu miejscowemu w dole okołolędźwiowym. Przed usunięciem jajnika należy znieczulić nasiękowo kreskę jajnika, kreskę jajowodu i więzadło własne jajnika. Po podwiązaniu naczyń krezki jajnika (LigaSure, Endoloop ligatures) przecina się *mesoovarium* między przewiązkami (1, 4). Do przecięcia krezki jajnika można z powodzeniem zastosować także instrumentarium elektrochirurgiczne (11).

Technika wykonania zabiegu i rodzaj zastosowanego znieczulenia zależą od tego, czy zajęte zmianami nowotworowymi są dwa jajniki, czy jeden, od wielkości guza, temperamentu i wielkości klaczy, wyposażenia chirurgicznego oraz upodobań i umiejętności lekarza wykonującego zabieg operacyjny. Po zabiegu z reguły dochodzi do wznowienia czynności drugiego jajnika, a klacz unasienniona/pokryta z powodzeniem może zostać zażrebiiona i donosić ciążę (3). Z własnych obserwacji, dotyczących wprawdzie tylko dwóch przypadków klinicznych wynika jednak, że należy się liczyć z problemami związanymi zarówno z aktywacją cyklu jajnikowego, jak też z utrzymaniem ciąży u zażrebionej klaczy po usunięciu błoniaka ziarnistego.

Piśmiennictwo

1. Boure L., Marcoux M., Laverty S.: Paralumbra fossa laparoscopic ovariectomy in horses with use of Endoloop ligatures. *Vet. Surg.* 1997, 26, 478-483.
2. Fessler J. F., Brobst D. F.: Granulosa cell tumor. *Cornell Vet.* 1972, 62, 110-123.
3. Greet T. R. C., Bathe A. P.: Use of stapling device to aid in the ovariectomy of nine mares with granulosa thecal cell tumour. *Vet. Rec.* 1993, 133, 442-445.
4. Hand R., Rakesrow P., Taylor T.: Evaluation of vessel-sealing device for use in laparoscopic ovariectomy in mares. *Vet. Surg.* 2002, 31, 240-244.
5. Hanson C. A., Galuppo L. O.: Bilateral laparoscopic ovariectomy in standing mares: 22 cases. *Vet. Surg.* 1999, 28, 106-112.
6. Kennedy P. C., Cullen J. M., Edwards J. F., Goldschmidt M. H., Larsen S., Munson L., Nielsen S.: *Histological Classification of Tumors of the Genital System of Domestic Animals*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D. C. 1998, t. IV, s. 13.
7. Listos P., Silmanowicz P.: Rozrodczak (dysgerminoma) u klaczy. *Magazyn Wet.* 2001, 10, 36-37.
8. Meinecke B.: Clinical aspects of ovary tumors in mares. *Tierärztl. Praxis* 1986, 14, 501-508.
9. Mettinen M., Lehto V. P., Virtanen J.: Expression of intermediate filaments in normal ovaries and ovarian epithelial, sex cord-stromal, and germinal tumors. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 1983, 2, 64-71.
10. Ragle C. A., Southwood L. L., Hopper S. A., Buote P. L.: Laparoscopic ovariectomy in two horses with granulosa cell tumors. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 1996, 209, 1121-1124.
11. Rodgers D. H., Belknap K. J., Wilson A. D.: Laparoscopic ovariectomy using sequential electrocoagulation and sharp transection of the equine mesoovarium. *Vet. Surg.* 2001, 30, 572-579.
12. Walker D. F., Vaughan J. T.: *Bovine and Equine Urogenital Surgery*. Lea & Febiger, Philadelphia 1980, 241-253.

Adres autora: lek. wet. Roland Kusy, ul. Piękna 29, 21-040 Świdnik; e-mail: rokus@hortus.ar.lublin.pl.