



Tumor testicular misto em um cão: relato de caso

[Mixed testicular tumor in dog: case report]

“Relato de Caso/Case Report”

Ana Clara Mendes Ribeiro **Bernardo**^{1*}, João Paulo Gomes da **Silva**¹, Telma de Sousa **Lima**²,
Maria Luiza Sá de Lyra **Frota**¹, Elizandra Teixeira **Melo**¹, José Rodrigo Pontes dos **Santos**¹,
Francisco Charles dos **Santos**³, Ricardo Barbosa de **Lucena**⁴

¹Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil.

²Laboratório de Diagnóstico Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil.

³Médico-veterinário autônomo, Recife-PE, Brasil.

⁴Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia-PB, Brasil.

*Autora para correspondência/Corresponding author: E-mail: anaclara.bernardo@ufrpe.br

Resumo

Tumores testiculares são comumente descritos em caninos, nos quais destacam-se o sertolioma, seminoma e tumor das células de Leydig. Tumores mistos são menos frequentes, mas podem surgir como uma associação entre células germinativas ou entre células germinativas e intersticiais. O objetivo deste trabalho é descrever um caso de tumor testicular misto unilateral em canino, destacando-se os aspectos patológicos e imuno-histoquímicos. O caso refere-se a um cão de dez anos de idade atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba, Areia, Brasil, com histórico de sangramento peniano durante dez dias. No atendimento foi constatado aumento de volume no testículo esquerdo associado a moderada hematúria, o que motivou solicitação de exames hematológicos, ultrassonografia abdominal e citologia testicular. Achados significativos foram observados apenas na citologia do testículo, que foram consistentes com sertolioma. Diante do quadro, o animal foi encaminhado para cirurgia, sendo realizada a ablação de ambos os testículos os quais foram enviados ao Laboratório de Patologia da referida instituição para avaliação histopatológica. Fragmentos dos testículos foram fixados em formol 10%, processados rotineiramente para confecção de blocos de parafina, cortados a 3µm e corados com hematoxilina e eosina (HE). Os achados histopatológicos revelaram túbulos seminíferos contorcidos constituídos por uma proliferação de células grandes, situadas perpendicularmente à membrana basal dos túbulos (Sertoli), possuindo amplo citoplasma, levemente granular, de limites distintos, e núcleo com cromatina frouxa e nucléolos únicos e evidentes. Uma segunda população era caracterizada por proliferação de células intersticiais pleomórficas, exibindo amplo citoplasma vacuolizado e núcleo discretamente excêntrico (células de Leydig), apresentavam anisocitose e anisocariose moderadas. Diante disso, considerou-se a ocorrência de um tumor testicular misto. Para a confirmação da linhagem celular foi solicitado estudo imuno-histoquímico do tumor, nos quais GATA-4, Melan A e alfa-inibina se mostraram positivos para células de Leydig e o PGP9.5 foi positivo para células de Leydig e germinativas. Através dos achados imuno-histoquímicos pode-se constatar tumor misto de células germinativas e do cordão estromal, o que diferiu do diagnóstico com a coloração usual de HE. Tumores testiculares são neoplasmas comuns na espécie canina, no entanto podem ocorrer com padrões morfológicos atípicos, constituindo desafio no diagnóstico patológico.

Palavras-chave: Tumor testicular; imuno-histoquímica; cães.

Abstract

Testicular tumors are commonly described in canines, in which the sertolioma, seminoma and Leydig cell tumor stand out. Mixed tumors are less frequent but may arise as an association among germ cells or between germ cells and interstitial cells. The aim of this paper is to describe a case of canine unilateral mixed testicular tumor, highlighting the pathological and immunohistochemical aspects. The case refers to a ten-year-old dog treated at Veterinary Hospital of the Federal University of Paraíba, Areia, Brazil, with a penile

Recebido 14 de fevereiro de 2023. Aceito 24 de julho de 2023.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v17n3-5530>



bleeding history for ten days. During clinical consultation, a volume increase in the left testis was observed, associated with moderate hematuria, which required the request for hematological examinations, abdominal ultrasonography and testicular cytology. Significant findings were observed only in testicular cytology, which were consistent with sertolioma. Given this condition, the animal was referred for surgery and both testicles were ablated and referred to the services of the Pathology Laboratory of the same institution for histopathological evaluation. Testicular fragments were fixed in 10% formaldehyde, routinely processed for paraffin blocks, cut in 3µm and stained with hematoxylin and eosin (HE). Histopathological findings revealed contorted seminiferous tubules consisting of a proliferation of large cells, located perpendicular to the basal membrane of the tubules (Sertoli), with a broad and slightly granular cytoplasm of distinct boundaries, and nucleus with loose chromatin and unique and evident nucleoli. A second population was characterized pleomorphic interstitial cells proliferation, exhibiting large vacuolated cytoplasm and slightly eccentric nucleus (Leydig cells), with moderate anisocytosis and anisokaryosis. Given this, the occurrence of a mixed testicular tumor was considered. For cell lineage confirmation, a tumor immunohistochemical study was requested, in which GATA-4, Melan A and alpha-inhibin were positive for Leydig cells and PGP9.5 was positive for Leydig and germ cells. Through immunohistochemical findings, mixed germ cell and stromal cord tumor was diagnosed, which differed from usual HE staining diagnosis. Testicular tumors are common neoplasms in canine species; however, they may occur with atypical morphological patterns, challenging the pathological diagnosis.

Keywords: Testicular tumor; immunohistochemistry; dogs

Introdução

Os tumores testiculares constam como um dos principais grupos de neoplasmas diagnosticados em caninos, correspondendo a 60% dos tumores da espécie (Peters et al., 2003), o que torna os testículos o segundo sítio mais afetado nesses animais (Ciaputa et al., 2012). A idade e o criptorquidismo são os principais fatores associados à sua ocorrência (Ortega e Avalos, 2000), sendo a maioria dos casos diagnosticados entre os oito e dez anos de idade (Eslava e Torres, 2008).

De um modo geral, a identificação de tumores testiculares é feita durante o exame clínico, acompanhado de exame citológico e, ocasionalmente, através da avaliação ultrassonográfica (Verma, 1989; Lucas et al., 2012). No entanto, apenas a avaliação histopatológica, associada ou não a exame imuno-histoquímico, pode confirmar esse diagnóstico, permitindo, ainda, informar a classificação e o comportamento tumoral (Eslava e Torres, 2008).

Quanto à morfologia dos tumores testiculares, destaca-se o tumor de células de Leydig, seguido do seminoma e do sertolioma. Tumores menos comumente encontrados e constituídos por mais de um tipo celular são denominados tumores mistos, e podem conter células do cordão germinativo associadas a células do cordão estromal ou intersticiais (Masserdotti, 2000). Tumores testiculares mistos podem ocorrer como uma mistura de diferentes tipos de células

tumorais, incluindo elementos do estroma dos cordões sexuais (células de Sertoli e células de Leydig) e das células germinativas (Agnew e MacLachlan, 2016). Além de incomum, o diagnóstico desses tumores torna-se um desafio do ponto de vista patológico, sendo importante o uso da imuno-histoquímica. Dessa forma, objetiva-se com este trabalho descrever um caso de tumor testicular misto unilateral em canino, destacando-se os aspectos patológicos e imuno-histoquímicos.

Descrição do Caso

Um cão, sem raça definida (SRD), de dez anos de idade foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba. Durante a anamnese a queixa principal do tutor era o histórico de sangramento peniano há dez dias. Na realização do exame clínico as alterações encontradas foram linfonodos poplíteos e submandibulares reativos, aumento de volume no testículo esquerdo, aumento prostático à palpação e moderada hematuria. Diante do quadro clínico, o animal foi submetido a exames laboratoriais e de imagem, incluindo hemograma, bioquímica sérica renal e hepática para avaliação de proteínas plasmáticas totais (PPT), albumina, ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), e para urinálise foram coletados 20 ml de urina através de cistocentese. O animal também foi submetido à ultrassonografia abdominal, além de um exame

citológico pelo método de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) em seu testículo esquerdo.

Os exames laboratoriais revelaram uma discreta anemia normocítica normocrômica regenerativa, neutrofilia, linfopenia e monocitopenia relativas e uma diminuição no índice de PPT, os demais índices bioquímicos se encontraram dentro dos padrões de normalidade. Na urinálise foi observada presença moderada de sangue e proteínas, os demais parâmetros não apresentaram alterações. O exame ultrassonográfico indicou um quadro de cistite moderada, aumento nas dimensões da próstata (medindo altura: 6,08 cm; comprimento: 6,79 cm; largura: 7,63 cm), testículo esquerdo com dimensões aumentadas (medindo 4,90 cm), aspecto nodular, hiperecoico, com áreas heterogêneas e de ecogenicidade mista, perda de visualização de mediastino e positivo ao exame de Color Doppler. O testículo direito apresentava aspectos dentro da normalidade. Na citologia

verificou-se células pleomórficas com núcleos arredondados a ovais, cromatina nuclear discretamente grosseira e moderada proporção entre núcleo e citoplasma. Presença de nucléolos pequenos e variavelmente proeminentes, citoplasma ligeiramente basofílico, bordos celulares indistintos e presença de vacúolos citoplasmáticos de tamanhos variáveis sugerindo-se sertolioma. Diante disso o animal foi encaminhado à cirurgia para ablação dos testículos, os quais posteriormente foram enviados ao Laboratório de Patologia da referida instituição para avaliação histopatológica.

Na avaliação macroscópica notou-se que ambos os testículos se encontravam envoltos em saco escrotal, sendo o testículo esquerdo com maiores dimensões (medindo 7 x 5 x 2,5 cm de comprimento) que o direito (5 x 3,5 x 1 cm de comprimento) e firme. A superfície de corte era macia, com centro hemorrágico e fluía conteúdo branco-avermelhado (Figura 1).

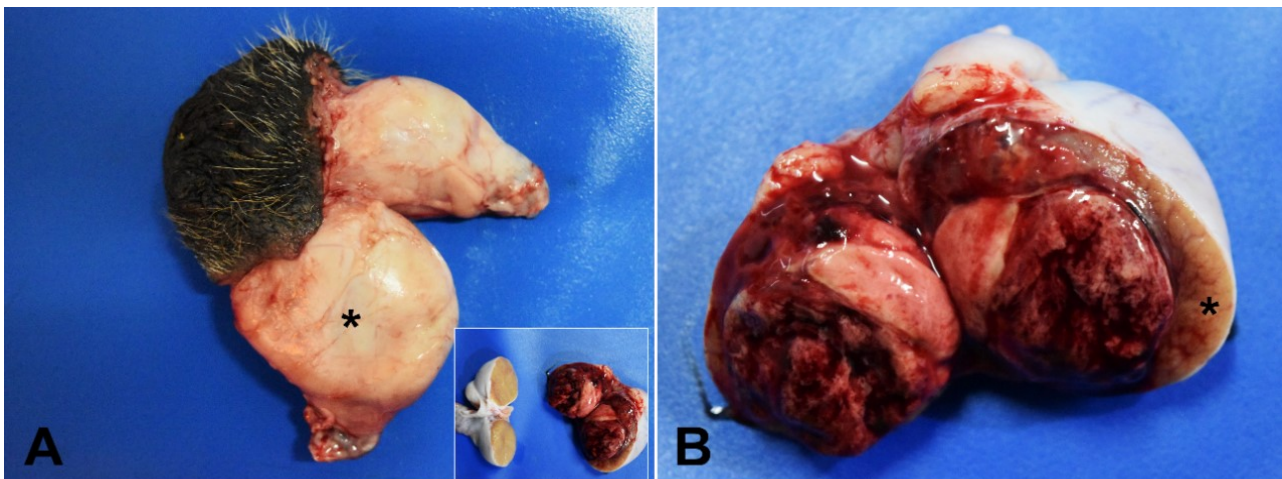


Figura 1. Tumor testicular em canino. A - Testículo esquerdo (asterisco) com contornos arredondados e aumentado de volume em relação ao direito. Inserção demonstra a superfície de corte de ambos os testículos, comparando o aspecto do órgão afetado com o normal. B - Notar o aspecto nodular e hemorrágico substituindo o parênquima testicular, restrito a uma borda delgada e pálida (asterisco).

Fragmentos dos testículos foram fixados em formol 10%, processados rotineiramente para confecção de blocos de parafina, cortados a 3µm e corados com hematoxilina e eosina. À avaliação histopatológica do testículo esquerdo foram evidenciadas duas populações celulares distintas sustentadas por moderado estroma fibrovascular. A primeira população é caracterizada por túbulos seminíferos contorcidos constituídos por uma proliferação de células grandes, situadas perpendiculares à membrana basal dos túbulos (Sertoli). Essas células possuem amplo citoplasma, levemente granular, de limites

distintos, e núcleo com cromatina frouxa e nucléolos únicos e evidentes. Uma a três mitoses são vistas em campo de maior aumento. Além disso, pode-se verificar extensa área de hemorragia e necrose associado ao tumor. A segunda população é caracterizada por proliferação de células intersticiais pleomórficas, exibindo amplo citoplasma vacuolizado e núcleo discretamente excêntrico (células de Leydig). Anisocitose e anisocariose moderadas (Figuras 2A e 2B). Diante desses achados considerou-se a ocorrência de um tumor testicular misto.

Para confirmação da linhagem celular, foi solicitado estudo imuno-histoquímico do tumor (Tabela 1). As micrografias referentes à imunomarcagem podem ser observadas na Figura 2.

Discussão

Neste estudo, o diagnóstico do tumor testicular misto, a partir da proliferação neoplásica

de células de Sertoli e de Leydig, foi estabelecido a partir dos achados histopatológicos e imuno-histoquímicos. Tumores testiculares mistos compõem um grupo morfológico particular dentre os tumores testiculares e sua ocorrência é incomum quando comparado aos tumores provenientes das células de Sertoli, de Leydig ou da linhagem germinativa (Agnew e MacLachlan, 2016).

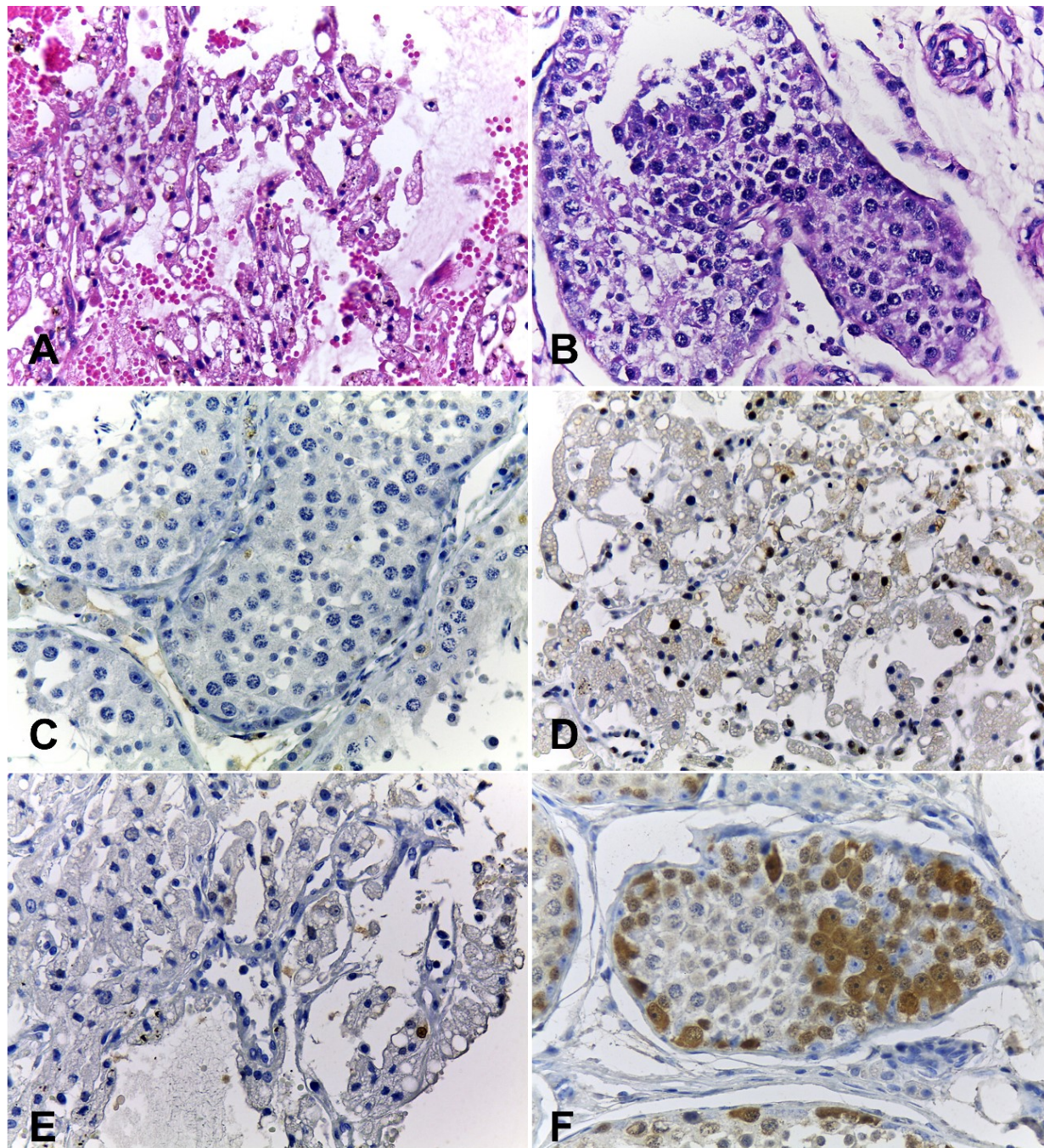


Figura 2. Tumor testicular misto em canino. (A) Padrão do tumor de células de Leydig. Hematoxilina-Eosina, Objetiva de 20X. (B) Padrão do seminoma. HE, Obj. 20X. (C) IHQ do seminoma, negativo para GATA-4. (D) IHQ do tumor de células de Leydig, positivo para GATA-4, fator de transcrição, marcador de tumores produtores de esteroides, policlonal, contracorado com hematoxilina de Harris. (E, F) IHQ para GP-95 positivo nas células neoplásicas (raras células no tumor de Leydig (E) e esparsamente no seminoma (F)). *Protein gene product 9.5*, policlonal, contracorado com hematoxilina de Harris.

Tabela 1. Estudo imuno-histoquímico com resultados individuais para os marcadores utilizados

	Anticorpos	Clone	Resultados
Melan A	Antígeno do melanoma	A103	Positivo nas células neoplásicas (tumor de células de Leydig)
GATA-4	Fator de transcrição, marcador de tumores produtores de esteroides	Policlonal	Positivo nas células neoplásicas (tumor de células de Leydig)
Alfa-inibina	Marcador de testiculares	R1	Positivo nas células neoplásicas (tumor de células de Leydig)
CD117	Proto-oncogene C-KIT ou proteína tirosina quinase c-kit	Policlonal	Negativo nas células neoplásicas
PGP9.5	<i>Protein gene product 9.5</i>	Policlonal	Positivo nas células neoplásicas (raras células no tumor de células de Leydig e esparsamente no seminoma)

Os tumores testiculares são comumente diagnosticados na espécie canina e representam cerca de 60% dos tumores nessa espécie (Peters et al., 2003). Dentre os neoplasmas primários destacam-se o seminoma, sertolioma e leydigoma, que se caracterizam, respectivamente, por uma proliferação de células germinativas, células de Sertoli e de Leydig. No entanto, embora menos relatados, tumores mistos e gonadais também podem afetar os testículos de cães (Owston e Ramos-Vara, 2007). De um modo geral, esses tumores afetam cães com idade a partir de 10 anos, sendo o criptorquidismo um fator importante para sua ocorrência, particularmente para seminomas, enquanto o tumor de células de Leydig e sertolioma se encontram associados a um testículo extraescrotal (Domingos e Salomão, 2011). No presente trabalho, o tumor foi observado em um cão SRD de 10 anos não criptorquida, demonstrando que o tipo morfológico em questão pode ocorrer em animais com testículos decíduos e corroborando o descrito na literatura quanto aos tumores testiculares (Manuali et al., 2020).

Esses tumores podem ocorrer como massas unilaterais ou bilaterais, que geram alterações palpáveis do contorno e consistência testicular, caracterizando-se clinicamente por um aumento indolor do órgão, associado à assimetria e presença de pequeno nódulo (Ciaputa et al., 2012). Como possuem características benignas e que raramente metastatizam (Dalek et al. 2008), a ablação testicular tende a ser curativa. Além disso, os neoplasmas testiculares são geralmente assintomáticos, sendo um achado incidental no momento do exame físico, ou

verificado através de exames complementares (Argenta et al., 2016). No presente caso, a ocorrência do tumor misto caracterizou-se como uma massa unilateral, expansiva e hemorrágica e não foram observadas alterações clínicas significativas associadas à sua ocorrência, sendo a hematúria um achado comum em quadros de hiperplasia prostática, a qual foi diagnosticada no animal em questão. Além disso, é importante ressaltar que não foram relatadas alterações comportamentais ou síndromes paraneoplásicas no presente caso. Hiperestrogenismo, que resulta em sinais como a feminização, estão mais associadas ao sertolioma sendo raramente relatadas em seminomas e tumor de células de Leydig (Foster, 2013; Argenta et al., 2016).

Apesar de possuírem características particulares do ponto de vista clínico e patológico, a diferenciação destes tumores só pode ser feita após a avaliação histopatológica (Henrique et al., 2016). Vários tumores testiculares podem ocorrer nos testículos ao mesmo tempo, sendo a combinação mais frequente o seminoma com o tumor de células intersticiais de Leydig (Argenta et al., 2016). Tumores testiculares mistos verdadeiros, entretanto, caracterizam-se por populações celulares distintas em um único tumor, que pode conter uma combinação de células neoplásicas de origem germinativas ou de células germinativas e intersticiais (Agnew e MacLachlan, 2016). Neste trabalho, os padrões celulares foram condizentes com células de Leydig e germinativas, sugerindo tratar-se de tumor misto de células germinativas e do cordão estromal. Esses tumores já foram descritos em

cães e em garanhões (Agnew e MacLachlan, 2016).

O exame citológico aliado à histopatologia com coloração rotineira de hematoxilina-eosina, geralmente, é suficiente para diagnóstico de tumores testiculares simples, onde apenas um padrão celular exibe características neoplásicas. No entanto, é importante salientar que embora a citologia seja uma importante ferramenta clínica, fatores como método de coleta e experiência do clínico, bem como características tumorais, como tipo celular predominante, inflamação e/ou necrose, podem interferir na amostra e diagnóstico final (Henrique et al., 2016), tornando a histopatologia o método de escolha para esse fim. Entretanto, em casos de tumores mistos, choques tumorais ou quando a origem celular do neoplasma é indefinida, torna-se necessária a utilização de imunomarcadores, cujos tipos variam entre os tumores.

Diversos marcadores podem ser utilizados para identificação da linhagem celular neoplásica em tumores testiculares, destacando-se a enolase neurônio-específica (NSE), desmina e a vimentina para células de Sertoli, calretinina, KIT e PGP 9.5 principalmente de células germinativas, e Melan A, expresso particularmente nas células de Leydig (Agnew e MacLachlan, 2016). Em casos de tumores mistos, é importante a utilização de marcadores variados, tendo em vista que as células podem sofrer marcação discreta em alguns casos. Apesar da variação de marcadores frente aos relatos na literatura, foram utilizados cinco marcadores neste trabalho, cuja marcação foi positiva para células de Leydig (GATA-4, Melan A e alfa-inibina) e germinativas (PGP9.5), descartando a presença do sertolioma, diante da ausência de imunomarcagem.

Conclusão

Apesar de comumente diagnosticados, os tumores testiculares exibem variação de morfologia do ponto de vista patológico, sendo importante a diferenciação desses padrões. A imuno-histoquímica deve ser empregada nesses casos bem como naqueles onde a linhagem celular é indefinida, podendo utilizar-se GATA-4, Melan A, alfa-inibina, PGP9.5 e CD117.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Pesquisa da Paraíba (FAPESQ).

Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

Referências

- Agnew, D.W.; MacLachlan, N.J. Tumor of the genital systems. In: Meuten, D.J. (Ed.) **Tumors in domestic animals**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2016. p. 689-722.
- Argenta, F.F. et al. Neoplasmas testiculares em cães no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, 44: 1413, 2016.
- Ciaputa, R. et al. Seminoma, sertolioma and leydigocitoma in dogs: clinical and morphological correlations. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, 56: 361-367, 2012.
- Dalek, C.R.; Nardi, A.B.; Rodaski, S. Neoplasias do Sistema Reprodutivo Masculino. In: Dalek, C.R.; Castro, J.H.T.; De Nardi, A.B. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2008. p.122-364.
- Domingos, T.C.S; Salomão, M.C. Meios de diagnóstico das principais afecções testiculares em cães: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 35(4): 393-399, 2011.
- Eslava, P.; Torres, G.V. Neoplasias testiculares en caninos: un caso de tumor de células de sertoli. **Revista de Medicina Veterinária y Zootecnia de Córdoba**, 13(1): 1215-1225, 2008.
- Foster, R.A. Sistema reprodutor do macho. In: McGavin, M.D.; Zachary, J.F. **Bases da patologia em veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 1130-1155.
- Henrique, F.V. et al. Tumor de células de Sertoli e seminoma difuso em cão com criptorquidismo bilateral-Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 38(3): 217-221, 2016.
- Lucas, X. et al. Unusual systemic metastases of malignant seminoma in a Dog. **Reproduction in Domestic Animals**, 47: 59-61, 2012.
- Manuali, E. et al. A five-year cohort study on testicular tumors from a population-based canine cancer registry in central Italy (Umbria). **Preventive Veterinary Medicine**, 185:105201, 2020.

- Masserdotti, C. Tumori testicolari del cane: diagnostica citológica e correlazioni istopatologiche. **Veterinaria**, 14(1): 57-63, 2000.
- Ortega, P.A.; Avalos, B.E.A. Hiperestrogenismo, alopecia y metaplasia escamosa de próstata asociados a un tumor de células de Sertoli en un perro. **Revista Biomedica**, 11(1): 33-38, 2000.
- Owston, M.A.; Ramos-Vara, J.A. Histologic and immunohistochemical characterization of a testicular mixed germ cell sex cord-stromal tumor and a leydig cell tumor in a dog. **Veterinary Pathology**, 44: 936-943, 2007.
- Peters, M.A.J. et al. Expression of the insulin-like Growth Factor (IGF) System and steroidogenic enzymes in canine testis tumor. **Reproductive Biology and Endocrinology**, 1: 22, 2003.
- Verma, K. Value of fine needle aspiration cytology in the diagnosis of testicular neoplasms. **Acta Cytologica**, 33(5): 631- 634, 1989.