

# Análise citogenética de cães criptorquidas

## Cytogenetics analysis of cryptorchids dogs

Ludmila Amifrano M. Corria,\* Beatriz Goldschmidt,\*\* Eulógio Carlos Q. Carvalho,\*\*\* Vera Lucia S. Moura\*\*\*\*

### Resumo

Foram analisados citogeneticamente dez cães criptorquidas na busca de alterações do complemento cromossômico. Registraram-se as alterações clínicas do animal e procedeu-se a avaliação histopatológica da gônada. Oito animais apresentaram cariótipo 78,XY e dois mosaicismos 78,XY/79,XXY. Células aneuplóides/poliploides foram encontradas tanto no testículo (em sete casos) como no sangue (em dois casos). Apesar da ocorrência destas células estarem ocasionalmente relacionadas a um evento inicial no processo da oncogênese, a análise histopatológica das gônadas não detectou a presença de tumores. Os resultados obtidos através deste estudo sugerem que o criptorquidismo possa estar associado a anomalias no complemento cromossômico. A chance do desenvolvimento de tumores no testículo retido pode aumentar em presença destes precursores.

*Palavras-chave:* criptorquidismo, citogenética, cães.

### Abstract

It was cytogenetically studied, 10 cryptorchid dogs, with the purpose of associate this pathology with karyotype alterations. The clinical alterations of the animal and histopathological features of testis are related in each case, reinforcing the literature reports. All the 10 animals presented a 78,XY karyotype, but in two of them, it was found 79,XXY metaphases. The gonads histopathologically studied didn't reveal tumors. The presence of aneuploid cells in the testis (7 cases) and in blood (2 cases) suggest the occurrence of polyploidy followed by gain and loss of chromosomes. An initial event in oncogenesis is the occurrence of aneuploid cells. Our results indicate that cryptorchidism can be associated with chromosome anomalies, and the chance of tumor development in the holded testis can increase with the presence of these precursors

*Keywords:* cryptorchidism, cytogenetic, dog.

### Introdução

Em cães, o filhote que não apresentar os testículos na bolsa escrotal com 12 semanas, segundo Romagnoli (1991), ou oito semanas, segundo Meyers-Wallen e Patterson (1989), deve ser monitorado até a idade de seis meses, quando poderá ser dado o diagnóstico definitivo de criptorquidismo. Caso ocorra a descida testicular após este período, ela é considerada tardia (Romagnoli, 1991).

O criptorquidismo interfere na reprodução, comprometendo a fertilidade e está associado a possíveis seqüelas como: degeneração, neoplasia e torção testicular, feminização, alterações de pele, mudanças no comportamento (Romagnoli, 1991), e hiperplasia prostática (Nieto et al., 1996).

A ocorrência do criptorquidismo canino tem sido associada a outras anomalias congênitas, com alta frequência de incidência, como: subluxação patelar, displasia coxofemoral, defeito de prepúcio-pênis e hérnia umbilical/inguinal (Pendergrass et al., 1975; Ruble et al., 1993).

O criptorquidismo é descrito como uma anomalia congênita de origem hereditária e o seu tipo de herança ainda não está bem definido em animais domésticos (Romagnoli, 1991), sendo considerado na maioria das espécies devido a um gene autossômico recessivo limitado pelo sexo (Blanchard et al., 1990; Millis et al., 1992).

Alterações no cariótipo têm sido relacionadas a descida incompleta do testículo. Goldschmidt et al. (2001) descreveram sobre um canino da raça Poodle, criptorquida bilateral, possuidor de um cariótipo 78,XY/79,XXY (mosaicismo encontrado tanto no sangue periférico como no tecido gonadal), Marshall et al. (1982) sobre um cão criptorquida pseudohermafrodita masculino, da raça Miniatura Schnauzer com o cariótipo 79,XXY e Constant et al. (1994) sobre um cavalo criptorquida bilateral inguinal, com cariótipo 64,XX.

Em cães, o risco de neoplasia no testículo retido é 9.6 a 13.6 vezes maior do que no testículo localizado na bolsa escrotal (Peña et al., 1998) e em 40% das neoplasias de testículos retidos, o contralateral na bolsa escrotal apresenta o mesmo tipo de lesão (Romagnoli, 1991).

\* Niterói, RJ – e-mail: ludmila@nitnet.com.br

\*\* Faculdade de Veterinária – Universidade Federal Fluminense – UFF – Niterói, RJ – e-mail: bibigold@vm.uff.br

\*\*\* Faculdade de Veterinária – Setor de Patologia Veterinária – UFF – Niterói, RJ – e-mail: eulogio@censa.com.br

\*\*\*\* Instituto Fernandes Figueira – Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro, RJ – e-mail: verasmoura@bol.com.br

## Material e métodos

Foram analisados dez machos da espécie canina, criados no estado do Rio de Janeiro, sem determinação prévia da raça, que atenderam aos seguintes requisitos: ausência de um ou ambos os testículos na bolsa escrotal (que não foram orquiectomizados).

Os dez animais foram examinados clinicamente e o sangue periférico coletado para análise citogenética. Oito animais foram submetidos a orquiectomia bilateral e ambos os testículos foram avaliados histologicamente. Em cinco destes animais foi possível realizar o estudo citogenético de ambas as gônadas; nos outros três, foi possível apenas de uma das gônadas.

A cultura de linfócitos para análise citogenética do sangue periférico foi realizada segundo a técnica descrita por Moorhead et al. (1960) e a cultura de fibroblasto segundo o método de Grouchy et al. (1970).

## Resultados e discussão

### Exame clínico

O padrão esperado para gônadas retidas que não estejam comprometidas com cistos nem com neoplasias é a redução em seu tamanho (Basrur, 1980). Em seis animais a consistência e o tamanho dos testículos retidos estavam reduzidos. Nos casos 6 e 10, os testículos estavam aumentados e

### Exame citogenético

**Quadro 2** – Resultados da análise citogenética realizada em linfócitos do sangue periférico e fibroblastos testiculares de 10 cães criptorquidas

CASO	CRIPTORQUIDISMO	SANGUE		TESTÍCULO DIREITO		TESTÍCULO ESQUERDO	
		nº células	resultado	nº células	resultado	nº células	resultado
1	inguinal direito	30	78,XY	0	0	0	0
2	bilateral inguinal	30	78,XY	30	78,XY	11 5	78,XY ane/pol
3	bilateral inguinal	30	78,XY	24 6	78,XY ane/pol	29	78,XY
4	inguinal direito	30	78,XY	16	78,XY	24 1	78,XY 79,XXY
5	bilateral inguinal	29	78,XY	#	#	17 13	78,XY ane/pol
6	inguinal direito	44 3	78,XY ane/pol	#	#	18 13	78,XY ane/pol
7	inguinal esquerdo	30	78,XY	38	78,XY	75 5 6	78,XY 79,XXY ane/pol
8	inguinal esquerdo	30	78,XY	22 6	78,XY ane/pol	27 3	78,XY ane/pol
9	inguinal esquerdo	34 2	78,XY ane/pol	0	0	0	0
10	abdominal esquerdo	30	78,XY	27 13	78,XY ane/pol	#	#

# -sem resultado citogenético    0-não foi realizada a cultura    ane/pol-metáfases aneuplóides/poliploides

**Quadro 1** – Raça, idade e classificação dos dez cães criptorquidas

CASO	RAÇA	IDADE	CRIPTORQUIDIA
1	Pinscher	7 anos	inguinal direito
2	Pinscher	15 meses	bilateral inguinal
3	Poodle	7 anos	bilateral inguinal
4	Pinscher	4 anos	inguinal direito
5	Lulu da Pomerânia	12 meses	bilateral inguinal
6	SRD (porte médio)	9 anos	inguinal direito
7	Boxer	17 meses	inguinal esquerdo
8	Poodle	10 meses	inguinal esquerdo
9	Poodle	4 anos	inguinal direito
10	Pastor Alemão	5 anos	abdominal esquerdo

SRD – sem raça definida.

mais consistentes e nos casos 8 e 9 os parâmetros estavam semelhantes ao de um testículo localizado na bolsa escrotal.

Na análise clínica foram diagnosticadas as seguintes anomalias: subluxação patelar (casos 1, 2, 4 e 5, sendo que neste último animal também foi percebido um baixo tônus muscular); displasia coxofemural (caso 10, sendo que é um animal da raça Pastor Alemão, considerada de alto risco para esta patologia); prepúcio curto com permanente exposição da glândula (caso 2); pênis reduzido (caso 9) e sopro cardíaco (casos 1 e 4).

Na análise citogenética de linfócitos do sangue periférico, todos animais apresentaram o cariótipo 78,XY, sendo que nos casos 6 e 9 foram encontradas metáfases com o número de cromossomos aumentado, inclusive os sexuais (metáfases aneuplóides/poliplóides). Este número era superior a 78 e não era padronizado.

Na análise citogenética do material obtido pela cultura de fibroblastos testiculares, em todos os casos foram observados cariótipo 78,XY sendo que em pelo menos um dos testículos de cada animal, à exceção do caso 4, foram encontradas metáfases com o número de cromossomos superior a 78, com o mesmo comportamento das metáfases aneuplóides/poliplóides dos linfócitos. Nos casos 4 e 7 foram encontradas metáfases 79,XXY.

O fato do complemento XXY ter sido encontrado apenas no tecido gonadal indica uma não-disjunção mitótica durante o desenvolvimento embrionário, de forma que apenas este tecido foi comprometido.

Estes dois casos apresentaram linhagem XXY na gônada, como já relatado por Goldschmidt et al. (2001) e Marshall et al. (1982). É sabido que indivíduos portadores deste mosaicismos possuem graus diferentes de secreção de andrógenos, o que não pode ser desconsiderado no presente estudo.

Paulsen et al. (1968), estudando a Síndrome de Klinefelter e suas variações em seres humanos, consideram que as características clínicas desta síndrome podem estar atenuadas quando existe um mosaico, e que é possível encontrar uma linhagem XXY apenas nos testículos, sem ser encontrada na pele e no sangue periférico.

As metáfases aneuplóides/poliplóides encontradas nas gônadas, até o presente momento, não foram relatadas como uma possível causa de criptorquidismo. Nos estudos realizados em neoplasias testiculares, de seres humanos, Jong et al. (1997) e Echten et al. (1999) descrevem a ocorrência de clones provenientes de uma célula aneuplóides/poliplóides como sendo precursores de um tumor primário, ou de uma célula metastática.

Se o aparecimento destas células aneuplóides/poliplóides ocorrer no período embrionário, a população celular que delas derivar possivelmente apresentará um desenvolvimento anômalo. Esta alteração no desenvolvimento pode prejudicar a secreção de fatores testiculares androgênicos e não-androgênicos, afetando a descida dos testículos e, em parte, justifica a ocorrência simultânea de tumor no testículo retido e em seu contralateral localizado na bolsa escrotal em 40% dos casos (Romagnoli, 1991).

## Referências

- BASRUR, P. K. Tópicos avançados em reprodução animal. *Anais do 1º Simpósio Nacional – Jaboticabal*, maio/1980, p. 115-126.
- BLANCHARD, T. L., SCHUMACHER, J., TAYLOR, T. S., VARNER, D. D. detecting unilateral and bilateral cryptorchidism in large animal. *Veterinary Medicine*, v. 85, n. 4, p. 395-403, 1990.
- CONSTANT, S. B., LARSEN, R. E., ASBURY, A. C., BUOEN, L. C., MAYO, M. XX Male Syndrome in a cryptorchid stallion. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 205, n. 1, p. 83-85, 1994.

## Exame histopatológico

Na análise histopatológica dos testículos inguinais, foi diagnosticado um processo degenerativo das células da linhagem seminal que eram extremamente escassas e, às vezes, necróticas. A rede testicular e os túbulos epididimários se apresentaram normais, assim como as células de Leydig e Sertoli que não variaram no número nem na morfologia.

Os testículos retidos dos casos 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 eram azoospermicos, com ausência de espermatogônias viáveis, à exceção do caso 3, onde foram evidenciadas algumas aparentemente normais.

No testículo retido do caso 6, além de degeneração, foram evidenciadas extensas áreas de necrose com calcificação distrófica multicêntrica, hemorragia e uma reação inflamatória periférica por neutrófilos/mononucleares, e granulação.

Na análise histopatológica da gônada abdominal (caso 10) foi evidenciada necrose de coagulação (isquêmica). Associando-se às lesões na pele, o estado de magreza do animal, o tamanho da gônada e o fato de que após a orquiectomia houve regressão do quadro, foi sugerido que houvesse um tumor neste testículo retido. Um relato bastante semelhante foi descrito por Koch et al. (1997).

Quatro dos cinco testículos localizados na bolsa escrotal se apresentaram normais. O do caso 6, além da degeneração testicular com raras espermatogônias, estando algumas picnóticas (necrose), havia associado uma reação inflamatória neutrofílica, derrame e granulação. Os achados, similares em ambas as gônadas deste caso, refletem uma inflamação de origem infecciosa possivelmente por via ascendente.

Assim, concordando com outros autores, nossos dados indicam a associação do criptorquidismo canino com outras anomalias congênitas como subluxação patelar, alterações cardíacas e de prepúcio e pênis.

A presença de células com alterações numéricas nos cromossomos encontradas tanto no sangue como no tecido gonadal de cães criptorquidias, levanta a possibilidade de que um fator predisponente para esta patologia esteja presente.

A ocorrência de criptorquidismo associado com a linhagem XXY é uma situação rara, mas não deve ser encarada como uma coincidência (Marshall et al., 1982). Paulsen et al. (1978), descreveram três casos de humanos portadores da Síndrome de Klinefelter, onde o mosaicismos XY/XXY, foi encontrado apenas no tecido gonadal.

Estudos citogenéticos em cães criptorquidias deve ser ampliada para que esta correlação seja confirmada, pois são poucos os trabalhos neste sentido.

- ECHTEN, J.; TIMMER, B.; DAM, A.; SLEIJER, D. TH.; KOOPS, H. S.; JONG, B. Citogenetic analysis of a mature teratoma and yolk sac tumor component of a late relapse of a disseminated testicular nonseminoma. *Cancer Genet Cytogenet*, v. 111, n. 1, p. 49-54, 1999.
- GOLDSCHMIDT, B., El-Jaick, K. B., SOUZA, L. M., CARVALHO E. C. Q.; MOURA, V. L. S.; BENEVIDES FILHO, I. M. Cryptorchidism associated with 78,XY/79,XXY mosaicism in dog. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, v. 56, n. 2, 2001.
- JONG, B., ECHTEN, J., LOOIJENGA, L. H. J., KESSEL, G., OOSTERHUIS, J. W. Citogenetics of the progression of adult testicular germ cell tumors. *Cancer Genet Cytogenet*, v. 95, p. 88-95, 1997.

- KOCH, H., SOHNS, A., SCHEMMELE, U., DOERING, K. Testicular torsion in an abdominal testis in a pit bull terrier dog. *Kleintierpraxis*, v. 42, n. 2, p. 151-152, 1997.
- MARSHALL, L. S., OEHLERT, M. L., HASKINS, M. E., et al. Persistent Müllerian Duct Syndrome in Miniature Schnauzers. *JAVMA*, v. 181, n. 8, p. 798-801, 1982.
- MEYERS-WALLEN, V. N. & PATTERSON, D. F. Sexual differentiation and inherited disorders of sexual development in the dog. *J. Reprod. Fert., Suppl.*, v. 39, p. 57-64, 1989.
- MILLIS, D. L., HAUPTMAN, J. G., JOHNSON, C. A., Cryptorchidism and monorchidism in cats: 25 cases (1980-1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 200, n. 8, p. 1128-1130, 1992.
- NIETO, J. M.; PIZZARRO, M.; BALAGUER, L. M.; ROMANO, J. Canine testicular tumors in descended and cryptorchid testes. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* v. 96, p. 186-189, 1989.
- PAULSEN, C. A., GORDON, D. L., CARPENTER, R. W. et al. Klinefelter's Syndrome and its variants: a hormonal and chromosomal study. *Recent Prog. Horm. Res.*, v. 24, p. 321-363, 1968.
- PEÑA, F. J., ANEL, L., DOMÍNGUEZ, J. C., ALEGRE, B. et al. Laparoscopic surgery in a clinical case of seminoma in a cryptorchid dog. *Veterinary Record*, v. 142, n. 24, p. 671-672, 1998.
- PENDERGRASS, T. W., HAYES JR., H. M. Cryptorchids and related defects in dog: epidemiologic comparison with man. *Teratology*, v. 12, p. 51-56, 1975.
- ROMAGNOLI, S. E. Canine cryptorchidism. *Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice. Canine Reproduction*. v. 21, n. 3, p. 533-544, 1991.
- RUBLE, R. P., HIRD, D. W., Congenital abnormalities in immature dogs from a pet store: 253 cases (1987-1988). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 202, n. 4, p. 633-636, 1993.