 DOI: 10.51161/convesp/7351

CARACTERÍSTICAS CITOPATOLÓGICAS E HISTOPATOLÓGICAS DE UM MELANOMA ORAL EM CÃO - RELATO DE CASO

Bruna Samara Alves-Ribeiro[1], Ana Vitória Alves-Sobrinho[1], Fabio Fernandes Bruno Filho[2], Dirceu Guilherme de Souza Ramos[1], Klaus Casaro Saturnino[1]

[1] – Laboratório de Patologia e Parasitologia Veterinária, Unidade Acadêmica Especial de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Jataí.
[2] – Programa de Residência em Área Profissional de Saúde em Clínica Médica, Cirúrgica e Anestesiologia em Animais de Companhia, Universidade Federal de Jataí

RESUMO

O melanoma canino é uma neoplasia oriunda da proliferação exacerbada de melanócitos. A classificação desses tumores depende da sua localização, sendo divididos em cutâneo e oral. Melanomas orais são, geralmente, malignos e, portanto, possuem um prognóstico desfavorável. Os métodos empregados no diagnóstico do melanoma oral são citopatologia, histopatologia e imuno-histoquímica. O presente estudo tem como objetivo a caracterização morfológica citológica e histopatológica de um melanoma oral amelanótico, diagnosticado em um cão da raça Chow-Chow, os exames foram realizados junto ao Laboratório de Patologia e Parasitologia Veterinária da Universidade Federal de Jataí, Goiás, Brasil (LPPV-UFJ). Um canino, fêmea, não castrado, da raça Chow-Chow, com oito anos de idade e de pelagem preta, foi atendido em uma clínica veterinária apresentando sialorréia e disfagia. Na base da língua foi identificada uma massa irregular medindo aproximadamente 10 cm de diâmetro em seus maiores eixos. Para o exame citopatológico realizou-se a coleta por punção aspirativa por agulha fina do nódulo e coloração com panóptico rápido. Posteriormente, foram feitas biópsias incisionais em duas regiões distintas do nódulo, para confirmação do diagnóstico citológico. As amostras foram fixadas em formol 10%, tamponado e encaminhadas para o LPPV-UFJ. Macroscopicamente observou-se que as amostras possuíam tamanho aproximado de 1,0x1,0 cm, de aspecto maciço e esbranquiçado. Os achados citopatológicos demonstraram alta celularidade, células individualizadas, núcleos arredondados a alongados, com cromatina frouxa. Foram observados macrocariose, anisiocariose, elevada relação núcleo:citoplasma, polinucleolise e macronucleolise. Presença de figuras de mitose típicas e atípicas e, em algumas células, a presença de material compatível com melanina em discreta quantidade. Os achados foram sugestivos de neoplasia maligna de melanócitos e a confirmação foi realizada com o histopatológico. Histologicamente observou-se alta celularidade de aspecto infiltrativo com células de margem definidas, formando cordões envoltos por finas trabéculas conjuntivas irregulares. As células neoplásicas apresentaram-se pleomórficas com cromática deslocada perifericamente, observou-se a presença de figuras de mitose, além da presença de entose celular. Apesar de não ter sido observada a presença de deposição de melanina, os achados clínicos, citopatológicos e histopatológicos demonstraram-se característicos de um melanoma oral amelanótico.

Palavras-chave: Citopatologia; Histopatológico; Melanócitos; Neoplasia; Tumor.

1 INTRODUÇÃO

 DOI: 10.51161/convesp/7351

O melanoma canino é uma neoplasia oriunda da proliferação exacerbada de melanócitos, células produtoras de melanina (SCHMIDT *et al*., 2019). A classificação desses tumores depende da sua localização (cutâneo e oral). Melanomas orais são, geralmente, malignos e, portanto, possuem um prognóstico desfavorável (BERGMAN, 2007; SANTOS & ALESSI, 2016). Gillard *et al*. (2014), avaliaram 2.350 casos de tumores melanocíticos, obtidos na plataforma Cani-DNA, percebendo que 70% foram classificados histologicamente como malignos, e 30% como benignos.

O melanoma oral é comumente diagnosticado em raças como Sheepdog, Cocker Spaniel, Gordon Setter, Chow Chow, Golden Retriever, cruzamento Pequinês/Poodle e Poodle Miniatura (RAMOS-VARA *et al*., 2000; YASUMARU *et al*., 2021). Não há uma predisposição sexual relatada (VAIL *et al*., 2019; GILLARD *et al*., 2014) e, em um estudo realizado por Yasumaru *et al*. (2021), a idade média dos cães acometidos foi de 12,5 anos. Embora existam muitos estudos sobre melanoma oral, a sua etiopatogenia ainda é desconhecida, uma vez que estudos anteriores focaram, principalmente, no melanoma cutâneo (PROUTEAU & ANDRÉ, 2019; GILLARD *et al*., 2014). A falta de exposição à luz ultravioleta, descarta a possibilidade de este ser o fator causal do melanoma oral. Em contrapartida, cães que possuem as mucosas orais fortemente pigmentadas são mais predispostos (RAMOS-VARA *et al.*, 2000; TACASTACAS *et al*., 2014; GIULIANO, 2021). Entretanto, sabe-se que essa neoplasia possui alta agressividade, com alta taxa de metástases, principalmente para linfonodos e pulmões (GIULIANO, 2021; PROUTEAU & ANDRÉ, 2019).

O melanoma oral ocorre com maior frequência em cães quando comparado ao melanoma cutâneo, sendo diagnosticados, respectivamente, em 62% e 27% dos casos (GILLARD *et al*., 2014). Geralmente são encontrados em gengiva, lábios, língua e palato duro. A maioria dos melanomas são pigmentados, entretanto, pode haver a ocorrência de melanomas orais amelanóticos (CHOI *et al*., 2003). O tratamento preconizado é a extirpação cirúrgica do tumor, todavia, a radioterapia é utilizada como tratamento adjuvante, podendo ser utilizada antes da cirurgia ou indicada em casos em que o tumor não é ressecável cirurgicamente, ou foi retirado com margem cirúrgica incompleta e/ou metastizou para os linfonodos (BERGMAN, 2007; VAIL *et al.,* 2019; TOLLET *et al.,* 2016). No entanto, apesar de sua radiossenbilidade, não existe um tratamento padrão que indique números de frações e a dose por fração para o melanoma oral (PROUTEAU & ANDRÉ, 2019). O prognóstico dependerá da localização do tumor, onde estudos comprovaram que o subtipo oral possui um prognóstico pior, com um tempo médio de sobrevida de três a 24 meses de acordo com o estágio em que este se encontra (SPUGNINI *et al.,* 2005; TUOHY *et al.,* 2014; SIMPSON *et al.,* 2014; GILLARD *et al.,* 2014; TOLLET *et al.,* 2016; VINAYAK *et al.,* 2017; PROUTEAU & ANDRÉ, 2019). Os métodos mais comumente empregados no diagnóstico do melanoma oral são citopatologia, histopatologia e imuno-histoquímica (SMITH *et al.,* 2002; SCHMID *et al.,* 2019; YASUMARU *et al.,* 2021). O diagnóstico de melanomas orais pode ser complexo, devido a uma variação de pigmentação, além da possibilidade de serem totalmente despigmentados (RAMOS-VARA *et al.,* 2000).

O presente estudo tem como objetivo realizar a caracterização morfológica citológica e histopatológica de um melanoma oral amelanótico, diagnosticado em um cão da raça Chow-Chow. Os exames de citopatologia e histopatologia foram realizados no Laboratório de Patologia e Parasitologia Veterinária da Universidade Federal de Jataí, Goiás, Brasil (LPPV-UFJ).

 DOI: 10.51161/convesp/7351

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Um canino, fêmea, não castrado, da raça Chow-Chow, com oito anos de idade e de pelagem preta, foi atendido em uma clínica veterinária apresentando sialorréia e disfagia. Na base da língua foi identificada uma massa irregular com cerca de 10 cm de diâmetro em seus maiores eixos. Amostra citológica por agulha fina foi colhida, com encaminhamento para o LPPV-UFJ. As lâminas foram coradas com panóptico rápido e observadas à microscopia de campo claro. A citologia sugeriu neoplasia maligna de melanócitos (melanoma). Para confirmação diagnóstica, realizou-se uma biópsia incisional da massa, em duas regiões distintas. As amostras foram fixadas em formol 10%, tamponado, e possuíam tamanho aproximado de 1,0x1,0 cm, eram maciças e de coloração branca. Foram processadas rotineiramente com inclusão de parafina, corte em cinco micras e coloração com hematoxilina e eosina (HE). As lâminas foram analisadas em microscopia de campo claro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os achados citopatológicos revelaram uma discreta contaminação sanguínea, fundo azurofílico, com alta celularidade. Predominantemente foram observadas células individualizadas com discreto a moderado citoplasma variando entre claro e levemente basofílico. Pleomorfismo nuclear foi observado, os quais variavam de arredondados a alongados, com cromatina frouxa, apresentando, muitas vezes, irregularidade de distribuição. Foram observados macrocariose, anisocariose, elevada relação núcleo:citoplasma, polinucleolise e macronucleolise. Presença de figuras de mitose, sendo, algumas, atípicas também foram encontradas. Em algumas células, no seu citoplasma, foi observada a presença de material granuloso fino, compatível com melanina, em discreta quantidade (Figura 1A).

Os achados histopatológicos, também, demonstraram alta celularidade de aspecto infiltrativo com células de margem definidas (sobreposição), citoplasma moderado, eosinofílico e vesiculoso, formando “folhas” ou “cordões”, envoltos por finas trabéculas conjuntivas irregulares. As células neoplásicas apresentavam-se com moderado a intenso pleomorfismo, cromática deslocada perifericamente, nucléolos proeminentes, com macronucleolise e polinucleolise. Presença de figuras de mitose, inclusive atípicas foram identificadas também, além da presença de entose celular, uma forma de “canibalismo” (Figura 1B).

Com base nos achados morfológicos encontrados nos exames de citopatologia e histopatologia, o diagnóstico foi definido como neoplasia maligna de melanócitos, apesar de não terem sido observadas pigmentações melânicas nas células neoplásicas. Além disso, as características morfológicas e de arquitetura tecidual são características deste tipo de neoplasia, sendo, portanto, a condição característica de um melanoma amelanótico.

DOI: 10.51161/convesp/7351

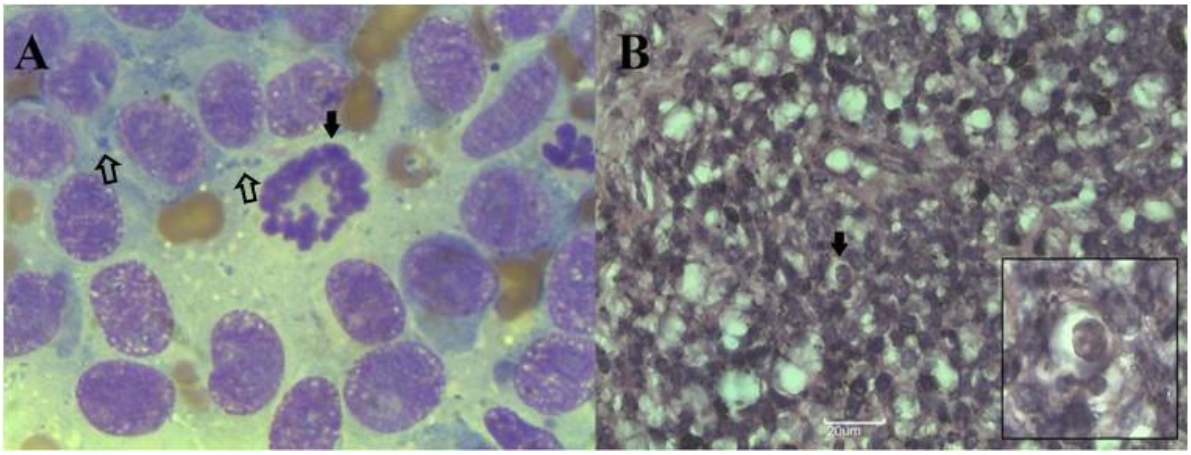

Figura 1 – Imagens microscópicas de citologia e histopatologia de melanoma oral canino. (A) Exame citológico de grande aumento demonstrando uma figura de mitose típica (seta). Notar importante pleomorfismo nuclear, com formatos arredondados, alongados e riniformes. Os citoplasmas variam de claros a levemente basofílicos. Notar presença de discreta quantidade de melanina em uma célula (seta vazada). Panótico rápido, 100x. (B) Histologia de melanoma oral. Notar intensa celularidade, finas e escassas trabéculas conjuntivas e aspecto vesiculoso das células. Notas presença de "canibalismo" celular (seta e no detalhe maior). HE, 400x.

O melanoma oral é a neoplasia maligna de maior ocorrência na cavidade oral de cães, sendo muito comum em animais idosos, ocorrendo principalmente na gengiva, mas, também, há relatos de ocorrência nos lábios, língua, amígdalas, palato e orofaringe (MODIANO *et al*., 1999; RAMOS-VARA *et al.,* 2000; SMITH *et al.,* 2002; SCHULTHEISS *et al*., 2006; VAIL *et al*. 2013; GILLARD *et al*., 2014; YASUMARU *et al*., 2021). Além disso, existe um alto grau de semelhança celular entre o melanoma oral canino e o melanoma de mucosas em humanos, podendo ser utilizado como base para pesquisas diagnósticas e terapêuticas (SHELLY *et al*., 2005; SCHMIDT *et al*., 2019). O melanoma canino pode sofrer variações quanto à forma de apresentação clínica, bem como dos sinais clínicos apresentados pelo animal. A apresentação clínica pode consistir em pequenas a grandes massas/nódulos de coloração marrom escuro ou levemente pigmentadas a despigmentadas, planas a enrugadas de consistência maciça. Os sinais clínicos do melanoma oral mais comumente relatados são disfagia, halitose, ptialismo, sangramento e, ocasionalmente, fratura de mandíbula, em casos de invasão óssea (SMITH *et al.,* 2002; VAIL *et al.,* 2019; PROUTEAU & ANDRÉ, 2019). Ao que se refere a apresentação clínica do nódulo, o presente estudo está de acordo com a literatura, uma vez que este apresentou-se de forma pequena, maciça de coloração esbranquiçada (despigmentado), assim como, o sinal clínico de disfagia. Diferente dos melanomas altamente pigmentados, tumores hipomelanóticos ou amelanóticos podem assemelhar-se a outras lesões, tornando o seu diagnóstico desafiador (BERGMANN, 2007).

Os aspectos citológicos de melanomas orais consistem na demonstração de células redondas com nucléolos centrais a pequenas células fusiformes contendo vários nucléolos pequenos, podendo ser pigmentadas, hipoamelanóticas ou amelanóticas e, por vezes são relatadas a presença de um elevado índice mitótico (GILLARD *et al.,* 2014). Microscopicamente, o melanoma oral canino é representado pela variação celular, como células epitelióides, fusiformes ou tipos mistos contendo ambos os padrões (SPANGLER *et al*., 2006; SMEDLEY *et al*., 2011; PALMA *et al*., 2021). Um estudo conduzido por Ramos-Vara *et al*. (2000), determinou a classificação microscópica dos tipos celular encontrados em

melanomas, sendo 20,9% dos tumores compostos por células poligonais (epitelióides), 34,1% por células fusiformes e 41,9% por ambos os tipos (misto). Os achados do presente relato concordam com os referidos estudos, com a caracterização de melanoma oral amelanótico, com padrão celular misto.

Histologicamente, esta enfermidade em cães apresenta-se de forma semelhante em humanos, onde a neoplasia se entende nos tecidos crescendo em forma de lençóis, ninhos, feixes ou cordões, assim como o observado no presente estudo. Algumas características são prognósticas para o melanoma oral canino, como por exemplo a atipia nuclear, contagem mitótica e a presença da invasão linfática (MILLANTA *et al*., 2002; PATEL *et al*., 2002; PENEL *et al*., 2006; SPANGLER *et al*., 2006; SHUMAN *et al*., 2011; BIRKELAND *et al*., 2018). Entretanto, devido a baixa quantia de levantamentos epidemiológicos sobre o melanoma oral canino, ainda não existe um biomarcador prognóstico histológico totalmente validado (PALMA *et al*., 2021). Schmidt *et al*. (2019) realizaram um estudo no Hospital Universitário de Pequenos Animais em Viena, Áustria, com pacientes que possuíam melanoma oral. Ao exame histopatológico foram observados padrões amelanóticos pouco diferenciados e altamente pleomórficos, além da presença de melanócitos neoplásicos envolvendo outras células, processo conhecido como entose ou canibalismo celular, corroborando com os achados deste relato (Figura 1B).

4 CONCLUSÃO

O melanoma oral é um tumor maligno de melanócitos que acomete, principalmente, cães idosos, não havendo predisposição sexual. A etiopatogenia da doença ainda é desconhecida, uma vez que o enfoque maior dos estudos está relacionado ao melanoma cutâneo. O grau de malignidade é definido quanto a quantificação de figuras de mitose por campo, atipia nuclear e presença de invasão linfática, onde essas características vão definir o prognóstico. O presente relato demonstrou, microscopicamente, alta celularidade, além de marcantes critérios de malignidade, tanto no exame de citopatologia, quanto no histopatológico. A confirmação histopatológica é importante, principalmente, para definição do curso clínico da doença, uma vez que, o tempo médio de sobrevida do paciente é dependente do estágio em que a neoplasia se encontra.

REFERÊNCIAS

BERGMAN P.J. Canine oral melanoma. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 22, p. 55-60, 2007.

BIRKELAND E.; ZHANG S.; PODUVAL D.; GEISLER J.; NAKKEN S.; VODAK D.; MEZA-ZEPEDA L.A.; HOVIG E.; MYKLEBOST O.; KNAPPSKOG S.; LØNNING P.E. Patterns of genomic evolution in advanced melanoma. **Nature Communications**, v. 9, p. e2665, 2018.

GIULIANO A. Companion Animal Model in Translational Oncology; Feline Oral Squamous Cell Carcinoma and Canine Oral Melanoma. **Biology**, v. 11, p. e54, 2021.

GILLARD M.; CADIEU E.; DE BRITO C.; ABADIE J.; VERGIER B.; DEVAUCHELLE P.; DEGORCE F.; DRÉANO S.; PRIMOT A.; DORSO L.; LAGADIC M.; GALIBERT F.;

HÉDAN B.; GALIBERT M.D.; ANDRÉ C. Naturally occurring melanomas in dogs as models for non-UV pathways of human melanomas. **Pigment Cell & Melanoma Research**, v. 27, p. 90-102, 2014.

SCHMID F.; BRODESSER D.; REIFINGER M.; FORTE S.; SEMP P.; EBERSPÄCHER-SCHWEDA M.C.; WOLSCHEK M.; BRANDT S.; KLEITER M.; PRATSCHER B. Canine oral primary melanoma cells exhibit shift to mesenchymal phenotype and phagocytic behaviour. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 17, p. 211-220, 2019.

MILLANTA F.; FRATINI F.; CORAZZA M. Proliferation activity in oral and cutaneous canine melanocytic tumours: correlation with histological parameters, location, and clinical behaviour. **Research in Veterinary Science**, v. 73, p. 45–51, 2002.

MODIANO J.F.; RITT M.G.; WOJCIESZYN J. The Molecular Basis of Canine Melanoma: Pathogenesis and Trends in Diagnosis and Therapy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 13, p. 163–174, 1999.

RAMOS-VARA J.A.; BEISSENHERZ M.E.; MILLER M.A.; JOHNSON G.C.; PACE L.W.; FARD A.; KOTTLER S.J. Retrospective study of 338 canine oral melanomas with clinical, histologic, and immunohistochemical review of 129 cases. **Veterinary Pathology**, v. 37, p. 597-608, 2000.

SANTOS R.L.; ALESSI A.C. **Patologia Veterinária**, 2 ed., Rio de Janeiro: ROCA, 842p., 2016.

SIMPSON R.M.; BASTIAN B.C.; MICHAEL H.T.; WEBSTER J.D.; PRASAD M.L.; CONWA, C.M.; PRIETO V.M.; GARY J.M.; GOLDSCHMIDT M.H.; ESPLIN D.G.;. Sporadic naturally occurring melanoma in dogs as a preclinical model for human melanoma. **Pigment Cell & Melanoma Research**, v. 27, p. 37–47, 2014.

SCHULTHEISS P.C. Histologic features and clinical outcomes of melanomas of lip, haired skin, and nail bed locations of dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, p. 422–425, 2006.

SHELLY S.; CHIEN M.B.; YIP B.; KENT M.S.; THEON A.P.; MCCALLAN J.L.; LONDON C.A. Exon 15 BRAF mutations are uncommon in canine oral malignant melanomas. **Mammalian Genome**, v. 16, p. 211-217, 2005.

SHUMAN A.G.; LIGHT E.; OLSEN S.H.; PYNNONEN M.A.; TAYLOR J.M.; JOHNSON T.M.; BRADFORD C.R. Mucosal melanoma of the head and neck: predictors of prognosis. **Archives of Otorhinolaryngology-Head & Neck Surgery**, v. 137, p. 331-337, 2011.

SMEDLEY, R.C.; SPANGLER, W.L.; ESPLIN, D.G.; KITCHELL, B.E.; BERGMAN, P.J.; HO, H.-Y.; BERGIN, I.L.; KIUPEL, M. Prognostic markers for canine melanocytic neoplasms: A comparative review of the literature and goals for future investigation. **Veterinary Pathology**, v. 48, p. 54-72, 2011.

SMITH S.H.; GOLDSCHMIDT M.H.; MCMANUS P.M. A comparative review of melanocytic neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 39, p. 651-678, 2002.

SPANGLER W.L.; KASS P.H. The histologic and epidemiologic bases for prognostic considerations in canine melanocytic neoplasia. **Veterinary Pathology**, v. 43, p. 136–149, 2006.

SPUGNINI E.P.; DRAGONETTI E.; MURACE R.; CASSANDRO R.; GROEGER A.M.; MARINO M.D.; BALDI A. Spontaneous Intestinal Melanoma in Dogs. **In Vivo**, v. 19, p. 1051–1054, 2005.

TACASTACAS J.D; BRAY J.; COHEN Y.K.; ARBESMAN J.; KIM J.; KOON H.B.; HONDA K.; COOPER K.D.; GERSTENBLITH M.R. Update on primary mucosal melanoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 71, p. 366-375, 2014.

TOLLETT M.A.; DUDA L.; BROWN D.C.; KRICK E.L. Palliative radiation therapy for solid tumors in dogs: 103 cases (2007-2011). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 248, p. 72-82, 2016.

TUOHY J.L.; SELMIC L.E.; WORLEY D.R.; EHRHART N.P.; WITHROW S.J. Outcome following curative-intent surgery for oral melanoma in dogs: 70 cases (1998–2011). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 245, p. 1266–1273, 2014.

VAIL D.M.; THAMM D.; LIPTAK, J. **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 6 ed., St Louis: Elsevier Health Sciences, 842p., 2019.

VINAYAK A.; FRANK C.B.; GARDINER D.W.; THIEMAN-MANKIN K.M.; WORLEY D.R. Malignant anal sac melanoma in dogs: Eleven cases (2000 to 2015). **Journal of Small Animal Practice**, v. 58, p. 231–237, 2017.

YASUMARU C.C.; XAVIER J.G.;, STREFEZZI R.F.; SALLES-GOMES C.O.M. Intratumoral T-Lymphocyte Subsets in Canine Oral Melanoma and Their Association With Clinical and Histopathological Parameters. **Veterinary Pathology**, v. 58, p. 491-502, 2021.