Ciência Animal Brasileira
Brazilian Animal Science

DOI: 10.1590/1809-6891v27e-82557P

e-ISSN 1809-6891
Medicina veterinária | Artigo científico

Alterações testiculares de cães adultos submetidos ao tratamento quimioterápico por sulfato de vincristina

[Testicular changes in adult dogs undergoing chemotherapy treatment with vincristine sulfate]

Tarciane Sousa Reis*[1], Paula Páglia Braga Araújo[1], Angélica Beatriz Araújo de Andrade Freitas[1], Bruno Henrique Rodrigues do Nascimento[1], Otávio Brilhante de Sousa[1], Gabriela Noronha de Toledo[1]

1 Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, Paraíba, Brasil

*autor correspondente: tarciane.reis@hotmail.com

Recebido: 06 de maio de 2025. Aceito: 15 de abril de 2026. Publicado: 27 de maio de 2026.
Editor: Luiz Augusto B. Brito

Resumo: O sulfato de vincristina é um fármaco antineoplásico de primeira escolha para o tratamento do tumor venéreo transmissível canino (TVTc). No entanto, pode causar efeitos adversos como anorexia e mielossupressão. Em humanos, sua utilização está associada a distúrbios gonadais, afetando a fertilidade. Em cães, pode causar degeneração testicular e impactar na qualidade e contagem de espermatozoides. Objetivou-se avaliar os efeitos do sulfato de vincristina sobre o parênquima testicular de cães, abrangendo os potenciais efeitos e a extensão de danos causados à espermatogênese. Foram utilizados seis animais controle e seis tratados com sulfato de vincristina, na dose 0,6 mg/m2 a cada sete dias. Após o término da quimioterapia, os animais tratados foram submetidos a orquiectomia, momento em que foram realizadas medidas biométricas (peso corpóreo, testiculares, eixos e volumes testiculares). Amostras de testículos foram coletadas, fixadas e processadas para análise das medidas morfométricas testiculares (diâmetro e lúmen tubulares, eixos tubulares maiores e menores, altura do epitélio seminífero e área do lúmen tubular) e estereológicas (volumes tubulares e as densidades de volume do tecido tubular e do tecido intersticial testicular). A estereologia foi realizada em 200 túbulos seminíferos. A administração do sulfato de vincristina em cães resultou na redução das variáveis morfométricas e estereológicas altura do epitélio, diâmetro do lúmen, área do lúmen tubular e volume dos túbulos seminíferos; além de desorganização estrutural e vacúolos intraepiteliais. Conclui-se que o sulfato de vincristina pode provocar alterações no parênquima testicular de cães submetidos a quimioterapia com esse fármaco.

Palavras-chave: epitélio seminífero; gônadas masculinas; morfologia; oncologia; quimioterapia.

Abstract: Vincristine sulfate is a first-line antineoplastic drug for the treatment of canine transmissible venereal tumor (tvCT). However, it can cause adverse effects such as anorexia and myelosuppression. In humans, its use is associated with gonadal disorders, affecting fertility. In dogs, it can cause testicular degeneration and impact sperm quality and count. The aim of this study was to evaluate the effects of vincristine sulfate on the testicular parenchyma of dogs, encompassing the potential effects and extent of damage caused to spermatogenesis. Six control animals and six treated with vincristine sulfate were used. After the end of chemotherapy, the treated animals underwent orchiectomy, at which time biometric measurements (body weight and testicular weights, axes, and

Copyright ©. Este é um artigo em acesso aberto distribuído nos termos da Creative Commons Attribution License que permite o uso irrestrito, a distribuição e reprodução em qualquer meio desde que o artigo original seja devidamente citado.

volumes) were performed. Testicular samples were collected, fixed, and processed for analysis of testicular morphometric measurements (tubular diameter and lumen, major and minor tubular axes, seminiferous epithelium height, and tubular lumen area) and stereological measurements (tubular volumes and volume densities of tubular and interstitial testicular tissue). Stereology was performed on 200 seminiferous tubules. Administration of vincristine sulfate in dogs resulted in a reduction of the morphometric and stereological variables epithelial height, lumen diameter, tubular lumen area, and seminiferous tubule volume; in addition to structural disorganization and intraepithelial vacuoles. It is concluded that vincristine sulfate can cause alterations in the testicular parenchyma of dogs undergoing chemotherapy treatment with this drug.

Keywords: seminiferous epithelium; male gonads; morphology; oncology; chemotherapy.

1. Introdução

O uso de fármacos antineoplásicos tem se tornado cada vez mais frequente na medicina humana e veterinária, atuando principalmente na inibição da síntese de DNA, RNA e da replicação celular, com o objetivo de controlar a proliferação de células neoplásicas. No entanto, esses agentes citotóxicos também afetam células normais com alta taxa proliferativa, como as da medula óssea, tecidos epiteliais, gônadas e folículos pilosos [1, 2].

O sulfato de vincristina, um alcaloide da vinca derivado de *Vinca rosea*, exerce seu efeito antimitótico pela inibição da polimerização dos microtúbulos, promovendo bloqueio da divisão celular na metáfase. Na medicina veterinária, destaca-se como agente de escolha no tratamento do tumor venéreo transmissível canino (TVTc), devido às elevadas taxas de remissão. Apesar de sua eficácia terapêutica, está associado a efeitos adversos sistêmicos e potenciais alterações gonadais [2].

O sulfato de vincristina é amplamente empregado na medicina veterinária no tratamento de neoplasias, destacando-se como agente de escolha para o tumor venéreo transmissível canino (TVTc), em razão das elevadas taxas de remissão. Sendo também amplamente empregado na medicina humana no tratamento de diversas neoplasias malignas, incluindo câncer de pulmão, leucemia linfocítica aguda, doença de Hodgkin, leucemia mieloide aguda e neuroblastoma [7].

Os impactos dos fármacos antineoplásicos e os efeitos em longo prazo dessa terapia em humanos são bem documentados, com destaque para os distúrbios da função gonadal em ambos os sexos, associados à toxicidade da quimioterapia contendo sulfato de vincristina [9, 10].

Fármacos antineoplásicos danificam o epitélio germinativo, resultando em oligozoospermia ou azoospermia em humanos e prejuízos à fertilidade em ratos [17-20]. O sulfato de vincristina em cães induz alterações no parênquima testicular, incluindo vacuolização, descamação e redução da qualidade espermática por efeito direto no epidídimo e canal deferente [21, 22].

Nesse contexto, a análise morfológica e estereológica do tecido testicular constitui abordagem robusta para avaliação da função reprodutiva, permitindo inferir alterações estruturais associadas à atividade espermatogênica [24-26]

O estudo objetivou investigar e compreender as mudanças morfológicas e estereológicas no parênquima testicular, abrangendo os potenciais efeitos e extensão de danos causados à espermatogênese após a quimioterapia antineoplásica com sulfato de vincristina. Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos do sulfato de vincristina sobre a fertilidade e a saúde reprodutiva de cães submetidos ao tratamento do tumor venéreo transmissível canino (TVTc), considerando possíveis alterações testiculares induzidas pela quimioterapia. Os

resultados contribuem para o aprimoramento de protocolos terapêuticos que minimizem impactos reprodutivos e fornecem subsídios para a compreensão dos efeitos gonadais de agentes quimioterápicos antineoplásicos em estudos comparativos entre espécies, incluindo a humana.

2. Material e métodos

A pesquisa foi conduzida de acordo com as normas éticas e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o protocolo n.º 13/2024, no Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Patos-PB, Brasil.

2.1 Animais

Foram selecionados 12 cães não castrados, sem raça definida (SRD), com idade entre dois e três anos, sendo seis clinicamente hígidos e seis portadores de TVTc, os quais incluídos no estudo mediante consentimento dos responsáveis, conforme Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

2.2 Delineamento experimental

Os cães foram distribuídos em dois grupos experimentais, previamente denominados grupo controle (GC) e grupo vincristina (GV), com seis animais cada (n=12). O GC foi constituído por cães clinicamente hígidos, não portadores de TVTc, provenientes da rotina de atendimentos do Hospital Veterinário Universitário, submetidos à orquiectomia eletiva, com idade entre dois e três anos, com peso variando entre 16 e 23 kg, em condição clínica e ausência de histórico de tratamento quimioterápico. No GC, foram realizadas avaliações clínicas, exames hematológicos e bioquímicos séricos previamente ao procedimento cirúrgico, seguindo a rotina pré-operatória do hospital. Esses animais não receberam placebo, sendo utilizados como referência comparativa para a avaliação das alterações testiculares observadas no grupo tratado.

No grupo vincristina (GV) foram selecionados animais na mesma faixa etária, não castrados, sem raça definida, variação de peso entre 7,5 e 24 kg, diagnosticados com TVTc. Os cães do GV receberam sulfato de vincristina por via intravenosa, na dose 0,6 mg/m² (Viana, 2019), a cada sete dias, com o mínimo de quatro e o máximo de sete sessões. A orquiectomia foi realizada após a confirmação clínica da remissão tumoral, imediatamente após o término do protocolo quimioterápico individual de cada animal. Foram realizadas avaliações clínicas e laboratoriais antes do início do protocolo quimioterápico e durante todo o tratamento. O hemograma foi realizado previamente a cada aplicação do sulfato de vincristina, com o objetivo de monitorar possíveis alterações hematológicas associadas à quimioterapia. As avaliações bioquímicas séricas, incluindo alanina aminotransferase- ALT, aspartato aminotransferase- AST, ureia e creatinina, foram realizadas a cada 15 dias ao longo do protocolo quimioterápico.

2.3 Coleta e processamento das amostras

Após a orquiectomia, os testículos foram imediatamente dissecados e avaliados macroscopicamente quanto à integridade, coloração e aspecto geral. Em seguida, realizou-se a avaliação biométrica dos órgãos, incluindo peso testicular absoluto, peso testicular relativo, medidas dos eixos maior e menor e cálculo do volume testicular, conforme descrito no item 2.4.

Posteriormente, os testículos foram seccionados transversalmente por hemissecção, abrangendo os pólos proximal e distal e a região intermediária, a fim de garantir adequada penetração do fixador e preservação das estruturas internas. As amostras obtidas foram então fixadas por imersão em solução de bouin por um período total de 24 horas.

Após a fixação, os fragmentos foram lavados em água corrente para remoção do excesso de fixador e, em seguida, transferidos para álcool etílico a 70 %, onde permaneceram até o processamento histológico.

2.4 Biometria, morfometria e estereologia

A biometria testicular foi realizada imediatamente após a orquiectomia e antes do processamento histológico das amostras. Os animais foram pesados para determinação do peso corporal total e o peso testicular absoluto (em gramas) foi mensurado utilizando-se uma balança semi-analítica AD500 Marte®. O peso testicular relativo foi determinado utilizando a fórmula (peso testicular absoluto x 100g/peso corpóreo) descrita por Brilhante et al. [19]. Além disso, foram mensurados os eixos testiculares maiores e menores (em milímetros), os quais foram medidos com auxílio de um paquímetro digital. A mensuração do volume testicular foi obtida segundo o método de Scherle (40). O volume testicular total foi obtido a partir da seguinte fórmula: VOLUME = Densidade X Massa, a gravidade específica é a razão entre a densidade do órgão avaliado e a densidade da substância de referência (água) [31]. A média do volume testicular total de cada grupo foi obtida por meio do cálculo das médias aritméticas dos volumes dos dois testículos de cada animal, nos seus respectivos grupos controles e experimental.

A análise morfométrica foi realizada com uso do software Image-Pro Express 6.0 em computador acoplado ao microscópio binocular de luz Olympus BX40 com objetiva de 10x. Foram mensurados, de forma aleatória, 200 túbulos seminíferos por animal. Mediu-se 25 túbulos seminíferos por cada corte de testículo, realizou-se varredura completa e sequencial. Foram mensurados diâmetro dos túbulos seminíferos, diâmetro do lúmen tubular, altura do epitélio seminífero, área dos túbulos, área do lúmen e eixo menor dos túbulos seminíferos. Todas as variáveis foram mensuradas individualmente e em seguida calculada a média ponderada de cada grupo.

A estereologia foi realizada microscópicamente em cortes dos testículos direito e esquerdo. Foram submetidos à análise da densidade de volume (Vv) tubular e do tecido intersticial do parênquima testicular. As variáveis estereológicas de densidade de volume (Vv) foram obtidas por meio da contagem dos pontos por alocação sistemática e aleatória das imagens obtidas através do software Image-pro express 6.0 em computador acoplado em microscópio trinocular de luz Olympus bx40 no aumento de 10x e posteriormente empregada no software Imagej para a contagem de pontos, com grid de 190 pontos, totalizando 16.000 pontos por testículo.

A densidade dos tecidos intersticiais e dos túbulos seminíferos em mm^3 foram calculadas a partir do percentual obtido na densidade de volume (Vv) de cada tecido segundo Miraglia e Hayashi [41]. A fórmula utilizada para a densidade de volume foi V%= ΣP (estrutura)/ ΣP (tecido) x 100. Onde V% é o volume final em percentagem, ΣP (estrutura) é o somatório de pontos que cai em determinada estrutura e ΣP (tecido) é o número de pontos que cai no tecido visível.

Os volumes tubulares e intersticiais médios por animal também foram obtidos através do cálculo com os dados obtidos para o volume total dos testículos direito e esquerdo. A fórmula utilizada para calcular o volume foi Vv = T. a/p. $\Sigma P_{i,}$ onde T é a espessura do corte, a/p é a área associada aos pontos e ΣP_i é o somatório dos pontos.

As análises biométricas, morfométricas e estereológicas não foram realizadas de forma cega, uma vez que o pesquisador responsável pelas mensurações tinha conhecimento da alocação dos animais nos grupos experimentais, em função do acompanhamento clínico e do protocolo terapêutico aplicado.

2.5 Análise estatística

Os dados foram avaliados pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk, quando o valor p>0,05 os dados foram considerados paramétricos e p<0,05 foi considerado não paramétrico. Foi utilizado o teste paramétrico "t" de Student, que requer uma distribuição normal dos valores avaliados. Os resultados que não atenderam aos critérios de normalidade e variância foram submetidos ao teste não paramétrico "U" de Mann Whitney. Utilizaram-se letras iguais para valores não significantes quando p>0,05; letras diferentes para valores considerados significantes (p≤0,05). A análise estatística foi realizada com o auxílio do software Bioestat 5.0.

3. Resultados e discussão

A avaliação do histórico de saúde dos animais e a anamnese prévia aos procedimentos foram estabelecidos por norma. Os animais do GC apresentaram características histológicas dentro do padrão de normalidade para a espécie (Figura 1). Na tabela 1, foram demonstradas as variáveis biométricas incluindo peso corpóreo, peso testicular absoluto e relativo, volume testicular total, eixo testicular maior e menor.

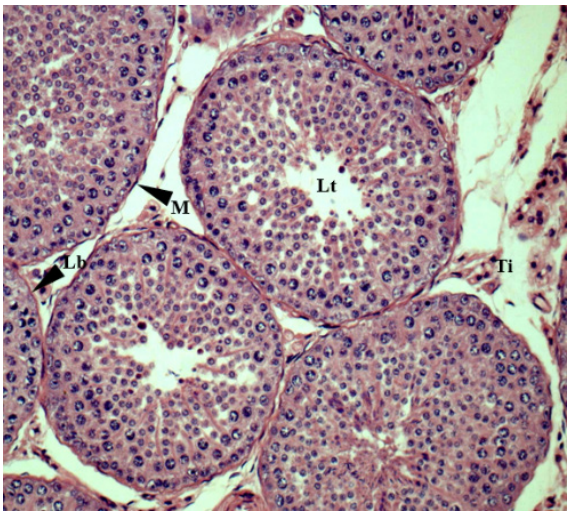

Figura 1. Fotomicrografia do testículo de cão do grupo. Coloração hematoxilina e eosina, realizada no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Dr. Ivon Macedo Tabosa, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos-PB, Brasil. Aumento de 20x. Observa-se a arquitetura testicular típica, com túbulos seminíferos bem organizados, epitélio germinativo estruturado, lúmen tubular evidente (Lt), lâmina basal íntegra (Lb), células mióides organizadas (M) e tecido intersticial preservado (Ti).

Tabela 1. Médias e desvio padrão das variáveis biométricas dos cães controle (GC) e tratados com sulfato de vincristina (GV) atendidos no Hospital Veterinário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa da UFCG.

GRUPOS	VARIÁVEIS BIOMÉTRICAS					
	PC (kg)	PTA (g)	PTR (%)	ETMA (mm)	ETME (mm)	VTT (mm³)
GC	19.71±2.80ª	12.0±2.35ª	0.05±0.02ª	31.35±6.79ª	23.10±5.92ª	11.57±2.26ª
GV	16.48±5.46ª	10.93±3.25ª	0.06±0.01ª	28.47±6.43ª	22.87±5.37ª	10.48±3.14ª

Peso corpóreo (PC), peso testicular absoluto (PTA), peso testicular relativo (PTR), eixo testicular maior (ETMA), eixo testicular menor (ETME) e volume testicular total (VTT). Letras diferentes-Médias diferiram entre si pelo teste "t de Student" (p≤0,05). Letras iguais-Médias não diferiram entre si pelo teste "t de Student" (p>0,05).

A média do peso corpóreo do GV não apresentou diferença (p>0,05) em comparação ao GC. Nesse experimento os animais do grupo GV durante o tratamento apresentaram peso corporal e peso testicular absoluto com oscilações menores em relação ao grupo controle. Estudo de Veloso et al. [27] também demonstrou que não houve alteração no peso de ratos tratados com

sulfato de vincristina, e eutanasiados aos 64 e 127 dias de vida. Os autores sugeriram que, apesar do fármaco atuar inibindo a renovação celular do epitélio gastrintestinal, a recuperação do aparelho digestivo ocorreu entre a aplicação da quimioterapia e a idade da eutanásia. Outros estudos observaram oscilações do peso em ratos tratados, não apenas com sulfato de vincristina, mas com outros fármacos antineoplásicos [28, 29].

Uma das hipóteses levantadas para as oscilações dos pesos corpóreos do GV, pode ser atribuída a toxicidade geral da vincristina, provocando anorexia e náusea. Contudo, observou-se no presente estudo, que os cães selecionados apresentaram variações no porte, o que pode ter influenciado tanto o peso corpóreo, como o peso testicular, já que há uma relação direta dessas variáveis [30, 31].

O peso testicular absoluto e relativo do GV não diferiu significativamente ($p>0,05$) do GC. Lirdi et al. [32] não observaram variação no peso testicular absoluto e relativo em ratos tratados com cisplatina, justificando isso provavelmente devido a edema linfático e/ou intersticial. No estudo de Jagetia et al. [33], o uso de vimblastina nas doses de 0,01 a 0,5 mg/kg não mencionou alterações no peso testicular, embora, ao aumentar a dose, tenha ocorrido um declínio nessa variável após 14 dias. Já Veloso et al. [20] relataram que os pesos testiculares absolutos e relativos de ratos tratados com sulfato de vincristina apresentaram reduções significativas, atribuindo esses achados à dose do fármaco antineoplásico.

Os efeitos cumulativos dos alcaloides da vinca, demonstrados por Jagetia et al. [33], especialmente com o aumento da dose, não devem ser descartados ao se considerar a capacidade de recuperação do peso testicular, levando em conta o intervalo entre a última aplicação do quimioterápico e a realização da orquiectomia. Silva et al. [34] relataram que as alterações no parênquima testicular dependem do fármaco antineoplásico, da dose (única ou fracionada) e da idade do paciente.

Os eixos testiculares maiores e menores do GV não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) em comparação ao grupo controle, em concordância com Gobello e Corrada [35], que concluíram que cães tratados com sulfato de vincristina na dose de 0,7 mg/m² não apresentaram alteração nesta variável. Observou-se, neste estudo, a possibilidade de uma compensação no volume intersticial, o que pode ter contribuído para a manutenção dos eixos testiculares. Sales [36] afirma que a alteração no tamanho dos eixos maiores e menores (diâmetro) está principalmente relacionada ao volume testicular total.

O grupo GV não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) no volume testicular total em comparação ao GC, sugerindo uma compensação entre os elementos estruturais dos testículos. Corroborando os achados de Amann e Schanbacher [37], a ausência de variações no volume testicular não implica necessariamente a ausência de efeitos deletérios sobre as células germinativas, uma vez que o volume total do testículo resulta da soma do volume dos túbulos seminíferos e do tecido intersticial, ambos suscetíveis a variações.

A exposição a antineoplásicos pode aumentar o volume intersticial, de modo que a perda de células germinativas não esteja necessariamente associada à redução do volume testicular ou de outras variáveis relacionadas. A manutenção do volume testicular pode ser consequência do aumento do compartimento intertubular, que compensa a perda de células germinativas, influenciando também o peso do órgão e os eixos testiculares [29, 32], justificando a preservação dos eixos testiculares maiores e menores.

Os parâmetros biométricos não apresentaram alterações no grupo tratado, corroborando estudos realizados em ratos sexualmente maduros tratados com doxorrubicina, que não demonstraram diferenças no peso corporal, peso testicular absoluto, peso testicular relativo e volume total em comparação ao grupo controle [34, 38].

A Tabela 2 apresenta os resultados das variáveis morfométricas, incluindo o diâmetro dos túbulos seminíferos, a altura do epitélio seminífero, o diâmetro do lúmen tubular, o eixo menor do túbulo seminífero, a área do túbulo seminífero e a área do lúmen.

Tabela 2. Médias e desvio padrão dos cães controle e tratados com sulfato de vincristina atendidos no Hospital Veterinário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa da UFCG.

	MEDIDAS MORFOMÉTRICAS					
GRUPOS	**DT (µm)**	**ALES (µm)**	**DL (µm)**	**EMTS (µm²)**	**ART (µm²)**	**ARL (µm²)**
GC	192.92±8.67^{a}	72.69±3.93 ^{a}	58.54±7.92^{a}	184.53±5.64^{a}	634.04±19.42 ^{a}	213.26±28.89 ^{a}
GV	190.88±9.82^{a}	30.14±5.58^{b}	138.82±21.60^{b}	183.84±7.34 ^{a}	647.79±42.42^{a}	466.99±64.73^{b}

Diâmetro do túbulo seminífero (DT), altura do epitélio seminífero (ALES), diâmetro do lúmen tubular (DL), eixo menor do túbulo seminífero (EMTS), área do túbulo seminífero (ART) e área do lúmen tubular (ARL) de testículos dos cães controle (GC) e tratados com sulfato de vincristina (GV). Letras diferentes-Médias diferiram entre si pelo teste “t de Student” ($p \leq 0,05$). Letras iguais-Médias não diferiram entre si pelo teste “t de Student” ($p > 0,05$).

As médias do diâmetro dos túbulos seminíferos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em comparação ao grupo controle. O estudo de Martins [39] com ratos tratados com 5-fluorouracil também não observou diminuição no diâmetro dos túbulos, embora tenha identificado redução na altura do epitélio seminífero e um notável grau de degeneração tubular, resultados semelhantes aos encontrados neste estudo. Por outro lado, Silva et al. [34] observaram diminuição do diâmetro tubular em ratos tratados com doxorrubicina, atribuída à perda massiva de células germinativas. Alteração semelhante foi descrita por Veloso et al. [20], que relataram atrofia dos túbulos seminíferos decorrentes da ação deletéria do sulfato de vincristina.

Considerando que o diâmetro dos túbulos pode permanecer inalterado, mesmo apresentando alterações em variáveis como a altura do epitélio e a área do lúmen, uma hipótese é que o sulfato de vincristina em cães tenha danificado apenas as células do epitélio seminífero, sem necessariamente alterar o diâmetro e o eixo menor, provavelmente por não causar atrofia nos túbulos. Com base nas variações de tamanho dos túbulos observadas neste experimento, França e Russel [31] afirmam que o número e as dimensões dos túbulos seminíferos podem variar entre raças de uma mesma espécie, medindo entre 180 µm e 300 µm em mamíferos adultos.

A altura do epitélio seminífero diferiu significativamente do grupo controle ($p \leq 0,05$), apresentando uma redução de 58,53 % no grupo tratado. Esse efeito é atribuído à ação do sulfato de vincristina sobre o epitélio seminífero, possivelmente devido à interrupção do processo de multiplicação das células espermatogônias e ao seu desprendimento. Veloso et al. [20] corrobora esses achados, descrevendo os efeitos do sulfato de vincristina em ratos, especialmente nas células dos túbulos seminíferos, atribuindo o efeito deletério principalmente às espermatogônias do tipo A. Observou-se, ainda, a ausência de recuperação do epitélio a longo prazo, sugerindo um dano permanente.

Em estudo *in vitro*, foi demonstrado que o sulfato de vincristina induz a parada do ciclo celular e a morte das células germinativas sem causar impacto genotóxico, reduzindo a viabilidade celular e ativando a apoptose de forma dependente da dose e do tempo de administração [40]. Sabe-se que a maioria dos fármacos antineoplásicos atua na divisão das células germinativas masculinas [17], sendo as células diploides em proliferação os principais alvos dessa classe de fármacos, o que explica a alta sensibilidade das células germinativas [41].

Estudos realizados com fármacos antineoplásicos, como adriamicina, 1-β-d-arabinofuranosilcitosina, bleomicina, ciclofosfamida, hidroxiureia, vimblastina, sulfato de vincristina e doxorrubicina, mostraram que esses medicamentos afetam as células germinativas, principalmente as espermatogônias tipo A, além de reduzir as espermatogônias intermediárias, espermatogônias tipo B, espermatócitos primários, espermátides redondas e células de Sertoli, resultando na depleção do epitélio seminífero [42-44]. O comprometimento do epitélio seminífero em animais tratados com sulfato de vincristina pode ocorrer no início do tratamento e se estender de forma crônica em animais adultos [45].

O diâmetro do lúmen tubular apresentou uma diferença significativa em comparação ao grupo controle, com um aumento de 137,13 %. Esse resultado decorreu da redução da densidade celular do epitélio seminífero. Como consequência, observou-se um aumento de 118,97 % na área do lúmen tubular, também significativamente diferente do grupo controle ($p \leq 0,05$), refletindo a depleção celular causada pelos efeitos do sulfato de vincristina, em concordância com os achados de Veloso et al. [20] e Lucena [45].

As variáveis relacionadas ao eixo menor do túbulo seminífero e à área do túbulo não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$). Em estudo de Nasrabadi, Mohammadnejad e Nikpour [46], é citado que alterações nos eixos testiculares (menor e maior) ocorrem devido à atrofia dos túbulos seminíferos provocada pela ação deletéria do sulfato de vincristina. A hipótese neste estudo é que o sulfato de vincristina afetou seletivamente apenas as células germinativas, poupando outras estruturas. Observa-se que a área dos túbulos e os eixos foram menos sensíveis às mudanças induzidas pelo sulfato de vincristina em comparação com outros parâmetros da morfologia testicular, como as células germinativas, que apresentaram maior comprometimento, levando à redução do epitélio seminífero e ao aumento do diâmetro do lúmen tubular.

É fundamental determinar se os efeitos deletérios ocorrem por ação direta ou indireta nas células de Sertoli durante o desenvolvimento, ou se decorrem de efeitos diretos ou indiretos nas células germinativas. Na maioria dos estudos, realizados em ratos pré-púberes que receberam dose única do fármaco quimioterápico, os mecanismos dos efeitos deletérios sobre as células germinativas podem diferir daqueles encontrados em animais adultos, o que explica as diferenças nas variáveis analisadas.

As alterações morfológicas observadas nos testículos do grupo tratado incluíram depleção celular, perda da estrutura das camadas de células germinativas, descamação do epitélio seminífero com presença de restos celulares no lúmen (Figura 2) e vacuolizações intraepiteliais (Figura 3). Esses achados foram mais severos nos túbulos em que o epitélio estava mais danificado. É possível que as vacuolizações sejam espaços deixados por células germinativas que sofreram apoptose ou degeneração, ou ainda pelo desprendimento dessas células para o lúmen tubular [45]. Tais achados estão em consonância com estudos realizados em ratos tratados com fármacos antineoplásicos, como doxorrubicina e sulfato de vincristina [19, 20, 45, 47], e em cães, conforme estudo de Daleck et al. [21] com sulfato de vincristina. Essas alterações estão diretamente relacionadas à ação citotóxica do sulfato de vincristina sobre as células do epitélio seminífero [20].

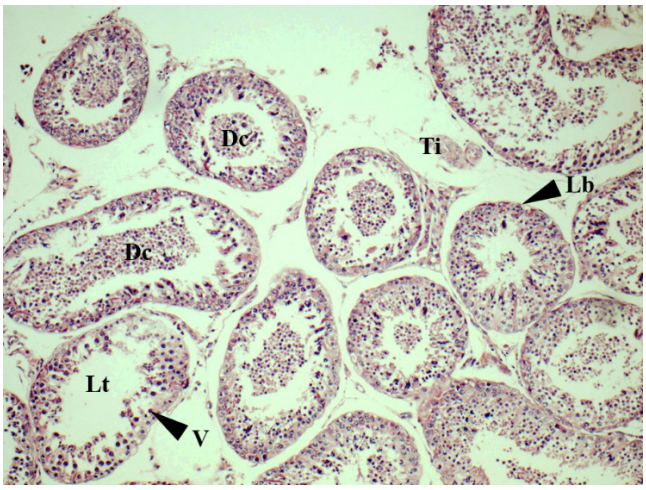

Figura 2. Fotomicrografia do testículo de cão do grupo tratado com sulfato de vincristina. Coloração Hematoxilina e Eosina, realizada no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Dr. Ivon Macedo Tabosa, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos-PB, Brasil. Aumento de 10x. Barra=50µm. Evidencia-se desorganização, descamação celular (Dc), vacúolo (V). Lúmen tubular (Lt), lâmina basal (Lb) e tecido intersticial (Ti).

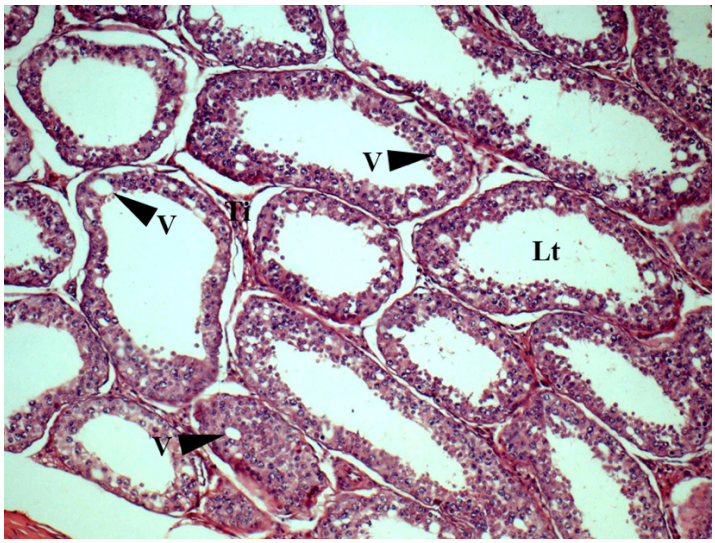

Figura 3. Fotomicrografia do testículo de cães do grupo tratado com sulfato de vincristina. Coloração Hematoxilina e Eosina, realizada no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Dr. Ivon Macedo Tabosa, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos-PB, Brasil. Aumento de 10x. Evidencia-se desorganização e vacuolizações (V) no parênquima testicular. Lúmen tubular (Lt) e tecido intersticial (Ti).

Sugeriu-se que a descamação celular seja resultado da perda das conexões citoplasmáticas entre as células germinativas e as células de Sertoli no epitélio seminífero, levando à redução da comunicação entre essas células [48]. O presente estudo evidenciou uma diferença estatística ($p \leq 0,05$) na densidade volumétrica dos túbulos seminíferos do grupo tratado, em comparação ao controle, com uma redução de 44,61 %, conforme descrito na Tabela 3. Esse achado indica uma diminuição no número de perfis de túbulos seminíferos por área de teste, sugerindo comprometimento do parênquima testicular e redução da população de células germinativas, corroborando o estudo de Veloso et al. [27].

Tabela 3. Médias e desvio padrão das variáveis estereológicas densidades de volume dos túbulos seminíferos (DVT), densidade de volume do tecido intersticial (DVI), volume dos túbulos seminíferos (VT) e volume tecido intersticial (VI) de testículos dos cães controle (GC) e tratados com sulfato de vincristina (GV) atendidos no Hospital Veterinário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa da UFCG.

	MEDIDAS ESTEREOLÓGICA			
GRUPOS	**DVT (%)**	**DVI (%)**	**VT (mm³)**	**VI (mm³)**
GC	63,21±2,40[a]	36,79±2,40[a]	6,45±0,24[a]	4,95±0,24[a]
GV	35,01±5,54[b]	64,99±5,54[b]	3,75±0,56[b]	6,63±0,56[b]

Letras diferentes-Médias diferiram entre si pelo teste “t de Student” (p≤0,05). Letras iguais-Médias não diferiram entre si pelo teste “t de Student” (p>0,05).

A densidade volumétrica do tecido intersticial testicular (Tabela 3) do grupo tratado também diferiu do controle (p≤0,05), com um aumento de 76,65 %. Esse aumento pode ser uma resposta compensatória entre o tecido intersticial e o parênquima testicular, visto que ambos constituem as principais partes dos testículos. Observou-se que a densidade volumétrica dos túbulos seminíferos e a do tecido intersticial testicular exibiram uma relação inversa, conforme descrito por outros autores [27, 34, 36].

Os dados referentes ao volume dos túbulos seminíferos do grupo tratado (Tabela 3) também diferiram do grupo controle, com uma redução de 41,86 %. No estudo de Brilhante et al. [19], a administração de doxorrubicina resultou na diminuição do volume testicular, como consequência da morte das células germinativas. Como esses fármacos afetam direta ou indiretamente o epitélio seminífero, sugere-se que essa redução ocorreu devido à depleção celular.

Por outro lado, o volume do interstício testicular (Tabela 3) aumentou em 33,94 % em relação ao grupo controle (p≤0,05), sugerindo uma redução compensatória dos túbulos seminíferos, o que levou ao aumento dos espaços entre os perfis desses túbulos. Esses dados estão em consonância com os achados de Veloso et al. [27], que relataram essa dispersão dos túbulos seminíferos em animais tratados.

4. Conclusão

A administração de doses terapêuticas de sulfato de vincristina em cães adultos promove alterações estruturais no epitélio seminífero, com impacto sobre as células germinativas. No entanto, não foram avaliados parâmetros funcionais da reprodução, de modo que não é possível inferir, a partir dos dados obtidos, o comprometimento da capacidade reprodutiva. Estudos adicionais são necessários para determinar se as alterações observadas apresentam caráter reversível e se repercutem sobre a função reprodutiva.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses. Os patrocinadores fundadores não tiveram nenhum papel no desenho do estudo; na coleta, análise ou interpretação dos dados; na redação do manuscrito e na decisão de publicar os resultados.

Declaração de disponibilidade de dados

O conjunto completo de dados que suporta os resultados deste estudo está disponível mediante solicitação ao autor correspondente.

Contribuições do autor

Conceitualização: Reis, T. S. Análise formal: Reis, T. S. Pesquisa: Nascimento, B.H. R.; Freitas, A. B. A. A.; Reis, T. S. Curadoria de dados: Reis, T. S. Análise de dados: Reis, T. S. Elaboração (esboço original): Reis, T. S.; Toledo, G. N. Redação: Reis, T. S. Administração do projeto: Toledo, G. N. Recursos: Brilhante, O. S.; Araújo, P. P. B.

Declaração de uso de IA generativa

Os autores não utilizaram ferramentas ou tecnologias de Inteligência Artificial generativa na criação ou edição de qualquer parte deste manuscrito.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), fundação do Ministério da Educação (MEC), Brasil.

Referências

1.De Nardi AB, et al. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães, atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. Arch Vet Sci. 2002;7(2). Disponível em: http://dx.doi.org/10.5380/avs.v7i2.3977. doi: https://doi.org/10.5380/avs.v7i2.3977

2. Dagli MLZ, Lucas SRR. Agentes Antineoplásicos. In: Spinosa HS, Górniak SL, Bernardi MM, editores. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017. p. 1085.

3.Viana FAB. Guia Terapêutico Veterinário. 4ª ed. Lagoa Santa-MG: Cem; 2019. 405p.

4.Jark PC, et al. Estudo nosológico e retrospectivo de casos de tumor venéreo transmissível extragenital em cães. Res Soc Dev. 2020;9(10):e2419108359. Disponível em: https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8359

5.Lee JJ, Kim JH, Kim MS, et al. Asparaginase, doxorubicin, vincristine, and prednisolone (LHOP) chemotherapy as a first-line treatment for dogs with multicentric lymphoma. Animals. 2021;11(8):2199. doi: https://doi.org/10.3390/ani11082199

6.Souza JVA, Araújo AS, Campos DR, et al. Influência do tratamento com sulfato de vincristina na função renal de cadelas com tumor venéreo transmissível. Rev Bras Pesq Vet Zootec. 2022;59:e192646. doi: https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2022.192646

7.Skubník J, Pavlíčková V, Ruml T, et al. Vincristine in combination therapy of cancer: emerging trends in clinics. Biology. 2021;10(9):849. doi: https://doi.org/10.3390/biology10090849

8.Laquaglia KA, et al. Neutropenia in dogs receiving vincristine for treatment of presumptive immunemediated thrombocytopenia. J Vet Intern Med. 2021;35(1):226–33. Disponível em: https://doi.org/10.1111/jvim.16029

9.Winship AL, Stringer JM, Hutt KJ. Vincristine chemotherapy induces atresia of growing ovarian follicles in mice. Toxicol Sci. 2019;169(1):43–53. doi: https://doi.org/10.1093/toxsci/kfz022

10.Santaballa A, De la Fuente A, Rosas MJ, et al. Multidisciplinary consensus on the criteria for fertility preservation in cancer patients. Clin Transl Oncol. 2022;24:227–243. doi: https://doi.org/10.1007/s12094-021-02699-2

11.Liu J, Li J, Wang Y, et al. Efficacy and safety of drug-eluting bead bronchial arterial chemoembolization plus anlotinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Front Cell Dev Biol. 2021. doi: https://doi.org/10.3389/fcell.2021.768943

12. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.

13. Nardi AB, Reis F, Nazilton P, Viéra RB. Quimioterapia antineoplásica: antibióticos antitumorais. In: Daleck CR, Nardi AB, eds. Oncologia em Cães e Gatos. 2ª ed. Rio de Janeiro: Roca; 2016. p. 362–364.

14. Russell LD, França LR. Building a testis. Tissue Cell. 1995;27(1):129–47. doi: https://doi.org/10.1016/S0040-8166(95)80016-6

15. Liu Z, Shen W, Zhang Y, et al. Stereological measurement of rat's seminiferous tubule. Chin Med J (Engl). 2009;122(21):2643–6. doi: https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2009.21.022

16.Yumura Y, Kondoh N, Saito K, et al. Long-term fertility function sequelae in young male cancer survivors. World J Men's Health. 2023;41(2):255–255. doi: https://doi.org/10.5534/wjmh.220102

17.Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. Fertil Steril. 2013;100:1180. doi: https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.08.010

18. Freitas FEL, et al. Alterations of spermatogenesis in etoposide-treated rats: a stereological study. Rev Interciencia. 2002;27(5):227–35. Disponível em: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0378-18442002000500003&lng=e&nrm=iso&tlng=pt

19. Brilhante O, et al. Long-term testicular toxicity caused by doxorubicin treatment during pre-pubertal phase. Int J Med Med Sci. 2011;3:52-60. Disponível em: https://doi.org/10.5897/IJMMS.9000148

20.Veloso EVL, Silva DN, Alves LC, et al. Efeitos de sulfato de vincristine sobre os testículos de ratos albinos, tratados na fase pré-púbere. Pesq Vet Bras. 2018;38(6):1217–1224. doi: https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4782

21. Daleck RC, et al. Alterações produzidas a nível de testículo e sêmen de cães submetidos à administração de sulfato de vincristina. Braz J Vet Res Anim Sci. 1995;32(1):51–56. Disponível em: https://revistas.usp.br/bjvras/pt_BR/article/view/52090/56140

22.Saratsis PH, Kustritz MVR, Strömbeck DR, et al. Semen quality during vincristine treatment in dogs with transmissible venereal tumor. Theriogenology. 2000;53(5):1185–1192. doi: https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00263-6

23.Ferreira VDF, et al. Descriptive morphometry and stereology in accessing the testis structure and function of the marsupial *Philander frenatus* (Olfers, 1818) (Didelphimorphia: Didelphidae). Anat Histol Embryol. 2021;50(2):379–86. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ahe.12642. doi: https://doi.org/10.1111/ahe.12642

24. De Melo FCSA, et al. Descriptive morphometry and stereology of the tubular compartment in the wild rodent *Hylaeamys megacephalus* (Rodentia: Cricetidae) from Central Brazil. Anim Reprod Sci. 2013;138(1–2):110–117. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.01.013

25.Morais DB, Oliveira LC, Sousa FC, et al. Organization and seasonal quantification of the intertubular compartment in the bat *Molossus molossus* (Pallas, 1776) testis. Microsc Res Tech. 2013;76(1):94–101. doi: https://doi.org/10.1002/jemt.22141

26. Caldeira BC, et al. Morphometry of testis and seminiferous tubules of the adult crab-eating fox (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766). Rev Ceres. 2010;57:569–575. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0034-737X2010000500001

27.Veloso EVL, Silva DN, Alves LC, et al. Cytoprotective effects of L-carnitine on testicular biometry and stereology of albino rats treated with vincristine sulfate in the prepubertal phase. Res Soc Dev. 2022;11(3):e2011326121. doi: https://doi.org/10.33448/rsd-v11i3.26121

28. Coskun N, Karayigit MO, Turgut NH, Yüce A, Özen OA. The protective effects of acetyl L-carnitine on testis gonadotoxicity induced by cisplatin in rats. Balkan Med J. 2013;30:235-41. Available from: https://doi.org/10.5152/balkanmedj.2013.7340

29.Vendramini V, Sasso-Cerri E, Miraglia SM. Amifostine reduces the seminiferous epithelium damage in doxorubicin-treated prepubertal rats without improving the fertility status. Reprod Biol Endocrinol. 2010;8(1). doi: https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-3

30.Foote RH, et al. Espermatogênese no cão. Anat Rec. 1972;175:341–51. Disponível em: doi: https://doi.org/10.1002/ar.1091730309

31.França LR, Russell LD. Os testículos dos animais domésticos. In: Martínez F, Regadera J, eds. Reprodução Masculina: Uma visão geral multidisciplinar. Madri: Churchill Livingstone; 1998.

32.Lirdi LC, Stumpp T, Sasso-Cerri E, et al. Amifostine protective effect on cisplatin-treated rat testis. Anat Rec. 2008;291(7):797–808. doi: https://doi.org/10.1002/ar.20693

33.Jagetia GC, et al. Evaluation of cytotoxic effects of different doses of vinblastine on mouse spermatogenesis by flow cytometry. Toxicology. 1996;112:227–36. Disponível em: doi: https://doi.org/10.1016/0300-483X(96)03402-6

34.Silva RC, Cavalcanti JF, Silva ACP, et al. Effect of short- and medium-term toxicity of doxorubicin on spermatogenesis in adult Wistar rats. Reprod Biol. 2018;18(2):169–176. doi: https://doi.org/10.1016/j.repbio.2018.03.002

35.Gobello C, Corrada Y. Effects of vincristine treatment on semen quality in a dog with a transmissible venereal tumour. J Small Anim Pract. 2002;43(9):416–7. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00094.x

36.Sales JES. Efeitos de pregabalina sobre os tecidos e órgãos endócrinos do aparelho reprodutor masculino [Dissertação de Mestrado]. Universidade Federal de Campina Grande; 2022. Disponível em: https://dspace.sti.ufcg.edu.br/handle/riufcg/33908

37. Amann RP, Schanbacher BD. Physiology of male reproduction. J Anim Sci. 1983 Jul;57 Suppl 2:380-403. Disponível em: https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1770&context=usdaarsfacpub

38. Cabral REL, et al. Carnitine partially protects the rat testis against the late damage produced by doxorubicin administered during pre-puberty. Andrology. 2014 Oct;2(6):931–942. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/andr.279

39.Martins LGP. Ação da suplementação prévia de vitamina C e L-arginina em ratos Wistar submetidos ao quimioterápico 5-fluorouracil: aspectos moleculares e morfológicos nos testículos [Tese de Doutorado]. Presidente Prudente: Unoeste; 2023. Disponível em: http://bdtd.unoeste.br:8080/jspui/handle/jspui/1555

40. Scherle W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. Mikroskopie. 1970;26:57–60.

41.Miraglia SM, Hayashi H. Histomorphometry of immature rat testis after heating. J Morphol. 1993;217(1):65–74. https://doi.org/10.1002/jmor.1052170106

42.Lu CC, Meistrich ML. Cytotoxic effects of chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. Cancer Res. 1979;39(9):3575-3582.

43.Vendramini V, Sasso-Cerri E, Miraglia SM. Amifostine reduces the seminiferous epithelium damage in doxorubicin-treated prepubertal rats without improving the fertility status. Reprod Biol Endocrinol. 2010;8(1). doi: https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-3

45.Lucena WKB. Efeito do sulfato de vincristina sobre epitélio intestinal e seminífero de ratos [Trabalho de Conclusão de Curso]. Patos: Universidade Federal de Campina Grande; 2016. Disponível em: https://dspace.sti.ufcg.edu.br/handle/riufcg/24159

46.Nasrabadi TH, Kargar A, Shafiee M, et al. Protective role of GnRH antagonist (cetrorelix) on side effect of vincristine on diameter of seminiferous tubules of mice. Int J Fertil Steril. 2012;6(suppl 1):75-75.

47.Bordallo MAN, et al. Função gonadal de sobreviventes de doença de Hodgkin tratados na infância e adolescência com quimioterapia. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2001;45:87-95. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0004-27302001000100012

48.Hafez ESE. Anatomia da Reprodução Masculina. In: Hafez ESE, Hafez B. Reprodução Animal. 7ª ed. Barueri, SP: Manole; 2004. p. 1-513.

40. Beaud H, et al. Doxorubicin and vincristine affect undifferentiated rat spermatogonia. Reproduction. 2017 Jun;153(6):725–735. Disponível em: https://doi.org/10.1530/REP-17-0005

42.Lu CC, Meistrich ML. Cytotoxic effects of chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. Cancer Res. 1979;39(9):3575-3582.

43.Vendramini V, Sasso-Cerri E, Miraglia SM. Amifostine reduces the seminiferous epithelium damage in doxorubicin-treated prepubertal rats without improving the fertility status. Reprod Biol Endocrinol. 2010;8(1). doi: https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-3

45.Lucena WKB. Efeito do sulfato de vincristina sobre epitélio intestinal e seminífero de ratos [Trabalho de Conclusão de Curso]. Patos: Universidade Federal de Campina Grande; 2016. Disponível em: https://dspace.sti.ufcg.edu.br/handle/riufcg/24159

46.Nasrabadi TH, Kargar A, Shafiee M, et al. Protective role of GnRH antagonist (cetrorelix) on side effect of vincristine on diameter of seminiferous tubules of mice. Int J Fertil Steril. 2012;6(suppl 1):75-75.

47.Bordallo MAN, et al. Função gonadal de sobreviventes de doença de Hodgkin tratados na infância e adolescência com quimioterapia. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2001;45:87-95. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0004-27302001000100012

48.Hafez ESE. Anatomia da Reprodução Masculina. In: Hafez ESE, Hafez B. Reprodução Animal. 7ª ed. Barueri, SP: Manole; 2004. p. 1-513.