

Le cisti stromali dell'ovaio di cagna: prevalenza, diagnosi e risvolti clinici

RIASSUNTO

Introduzione e scopo del lavoro - Nella cagna, la patologia cistica dell'ovaio comprende cisti ovariche, epiteliali e stromali, e cisti paraovariche. Quelle stromali, classicamente distinte in follicolari e luteiniche, anche se poco frequenti sono clinicamente più rilevanti a causa della loro potenziale ormonoattività. Attraverso uno studio retrospettivo su organi genitali di cagna si intende fornire un contributo casistico sulla patologia cistica dell'ovaio ed in particolare sulla cisti stromale.

Materiali e metodi - Sono stati esaminati 462 apparati genitali di cagna, registrandone per ognuno i dati clinici, i reperti macro e microscopici delle ovaie e dell'utero. Sono state considerate cisti stromali le formazioni cavitare con diametro oltre gli 8 mm, prive di cellula uovo, delimitate da cellule della granulosa e/o luteiniche. Su queste veniva valutato un *panel* immunostochimico al fine di una maggiore caratterizzazione.

Risultati e discussioni - 95 cagne presentavano cisti ovariche, 36 cisti paraovariche e 32 entrambe. La prevalenza delle cisti ovariche cresceva linearmente con l'età dei pazienti (patologia dell'*aging*). La maggior parte delle cisti ovariche era asintomatica, in quanto rappresentata soprattutto da cisti epiteliali. Le cisti stromali (n=17) interessavano soggetti giovani (<2 anni) con una prevalenza del 4% e soggetti adulti (8-12 anni) con una prevalenza del 6-7%. Nel 53% delle cisti stromali, il ciclo era decisamente alterato con disfunzioni ormonodipendenti di altri organi, mentre nel restante 47%, le cisti erano associate a corpi lutei diestrali. Il 70% delle cisti stromali presentava una parziale o totale luteinizzazione della parete. Le cisti stromali erano sempre positive per l' α -inibina e negative per le citocheratine. In considerazione della bassa prevalenza della patologia ma soprattutto della luteinizzazione preovulatoria, tipica della cagna, la distinzione tra cisti follicolare e cisti luteinica non è sempre possibile in questa specie, dove è preferibile riferirsi a cisti stromale, minimizzandone il significato patologico, se associata a corpi lutei diestrali. Tali aspetti dovrebbero essere meglio attenzionati per un più corretto approccio clinico-diagnostico e per un'eventuale scelta terapeutica.

INTRODUZIONE

Nel linguaggio comune il termine ovaio cistico lascia intendere la presenza di cisti follicolari; nella cagna, tuttavia, tra le formazioni cistiche che interessano le ovaie e le strutture annesse, tali cisti non sono le più comuni¹. Distinguiamo, infatti, cisti paraovariche e cisti ovariche, quest'ultime differenziate in cisti epiteliali e stromali¹.

Le cisti ovariche si rinvencono frequentemente nell'ovaio di cagna, in soggetti con più di 6 anni di età e sono in genere asintomatiche²⁻⁴. Gli esami radiografico ed ecografico possono identificare le cisti più grandi, ma non sono in grado di differenziare le varie tipologie⁵⁻⁷, come pure l'esame macroscopico³. Solo l'esame istologico consente di differenziare le cisti epiteliali, che possono originare dalla *rete ovarii* o dai tubuli corticali dell'epitelio di superficie, i cosiddetti SES (*Sub-Epithelial Structures*) e le cisti stromali, classicamente distinte in cisti follicolari e luteiniche¹. Tuttavia, l'epitelio che delimita le cisti a volte diviene metaplasico o degenera e la diagnosi istologica diventa complicata⁸. In tal caso, l'immunostochimica può offrire un valido supporto, consentendo di ricostruire l'immunofenotipo delle cellule⁹.

Le cisti stromali vanno differenziate, inoltre, da alcune strutture fisiologiche e para-fisiologiche (follicolo preovulatorio, follicolo atretico, follicolo anovulatorio luteinizzato, corpo luteo cavitario) e alcune neoplasie di aspetto cistico.

Gabriele Marino, Alessandra Barna,
Cornelia Mannarino, Maria Letizia Di Prima,
Antonina Zanghi

Dip. di Sanità Pubblica Veterinaria,
Università degli Studi di Messina

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 17/03/2009 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 17/09/2009”.

Nella cagna i follicoli preovulatori, visibili alla fine del proestro, raggiungono un diametro di 5-10 mm¹⁰⁻¹¹. Istologicamente hanno una parete che presenta tipici ripiegamenti, la teca interna è ben differenziata, le cellule della granulosa sono organizzate in più strati e l'ovocita è presente¹. I follicoli antrali che non ovulano vanno incontro ad un processo di atresia con degenerazione sequenziale dell'ovocita e delle cellule della granulosa¹²; ne risultano formazioni cavitari di diametro inferiore a 6-8 mm, rivestite da cellule della granulosa in parte degenerate, disposte in pochi strati o a volte del tutto assenti. Occasionalmente, a seguito della liberazione di LH, la parete dei follicoli anovulatori luteinizza focalmente, in analogia a quanto osservato in altre specie¹³. I corpi lutei cavitari, infine, sono strutture endocrinologicamente normali in cui persiste una cavità centrale anche grande, tra l'altro spesso apprezzabile durante le prime fasi del diestro¹⁴. Tra le neoplasie, il tumore a cellule della granulosa (TCG), specie nella sua forma macrofollicolare, può essere confuso con la cisti follicolare. Clinicamente si riscontra in cagne anziane con ciclo alterato a causa della produzione tumorale di estrogeni (E₂), ma anche di progesterone (P₄) e testosterone (T)¹⁵. La disendocrinia, generalmente presente, tende tuttavia ad essere più grave e persistente rispetto a quella riportata per le cisti follicolari e, a differenza di queste, non risponde a terapia medica⁸. Ecograficamente è possibile registrare la presenza di cavità anecogene, multiple e irregolari¹⁴. Macroscopicamente il tumore può essere multicistico e occasionalmente costituito da una formazione cistica unica, ma anche solido^{1,16}. L'esame istologico rivela la natura neoplastica delle cellule della granulosa che rivestono le cavità simil-follicolari.

La cisti follicolare ha origine da un follicolo anovulatorio, pertanto il suo diametro è superiore a quello del follicolo preovulatorio¹; tuttavia si può parlare di cisti follicolare anche in presenza di strutture follicolari più piccole, se riscontrate durante il diestro o l'anaestro⁸. Ciò spiega, in parte, come il diametro delle cisti follicolari riportato in letteratura sia compreso tra 0,5 e 19 cm^{2,17-21}. Tali cisti sono considerate infrequenti, con una prevalenza del 3-4%^{3,4,15,22-23}. Tra le cisti ovariche, quelle follicolari rappresentano il 24-33%^{3,23} o il 52-60%^{2,9}. L'età media della cagna, alla diagnosi, è 8 anni^{2,7,17-21,24-25}. La cisti follicolare può essere asintomatica^{2,22} o causare una sintomatologia dipendente dalla aumentata e irregolare produzione di estrogeni^{6-7,18,20,26}. In questi casi si hanno cicli estrali irregolari con allungamento del proestro-estro, edema vulvare, scolo vulvare sieroso-ematico, cheratinizzazione dell'epitelio vaginale; le cagne attraggono i cani maschi ma non permettono la monta^{1,4-5,17-18,20-21,24-25}. Cagne con cisti molto voluminose possono presentare distensione addominale¹⁹. L'incremento degli estrogeni contribuisce al de-

terminismo di altre patologie come: complesso iperplasia endometriale cistica (IEC)/piometra, neoplasie vaginali, neoplasie uterine, neoplasie ovariche epiteliali, neoplasie mammarie, alopecia simmetrica non pruriginosa del tronco, lichenificazione, ipercheratosi^{2,5,7,18,20-21,25}. Le cisti follicolari possono essere singole o multiple, unilaterali o bilaterali^{2,15,17-18,20,23-24,27}. Istologicamente le cisti follicolari presentano una parete con una teca interna degenerata o tendenzialmente sostituita da tessuto fibroso, più strati di cellule della granulosa più o meno degenerate, spesso luteinizzate, un ovocita mai presente^{1-2,18,23}. L'immunoistochimica rivela una positività per l' α -inibina e non per le citocheratine e la desmina, entrambe espresse nelle cisti epiteliali; questo *panel* consente quindi di differenziare le cisti follicolari nei casi dubbi⁹.

La cisti luteinica è considerata una patologia marginale nella cagna¹. La si ritiene responsabile di anaestro secondario, ma le segnalazioni sono alquanto frammentarie^{2-3,5,28}. L'età media alla diagnosi è 8,6 anni, il diametro della cisti varia da 1,5 a 5 cm, la parete è più spessa ed opaca di quella delle cisti follicolari a causa della parziale o totale luteinizzazione². È spesso associata a corpi lutei²⁻³.

Attraverso uno studio retrospettivo su organi genitali di cagna viene fornito un contributo casistico sulla patologia cistica dell'ovaio ed in particolare sulla cisti stromale. L'approfondimento di alcuni aspetti patologici e le considerazioni di tipo clinico-diagnostico potranno supportare il medico veterinario in un approccio clinico ottimale verso tale patologia nella cagna.

MATERIALI E METODI

In questo studio sono stati considerati gli apparati genitali di cagna registrati negli anni 1977-2007 nell'archivio della Sezione di Riproduzione Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria di Messina. Tali organi provenivano da interventi chirurgici effettuati, previo consenso del proprietario, per la diagnosi di una patologia a carico dell'apparato riproduttivo, ma anche per la semplice ovariectomia/ovarioisterectomia a fini anticoncezionali. Di ciascun caso sono stati annotati i dati clinici. Sono state inoltre valutate entrambe le ovaie e l'utero sia da un punto di vista macroscopico che microscopico. La tecnica istologica utilizzata comprendeva generalmente la fissazione in formalina tamponata al 10% e l'inclusione in paraffina. Le sezioni di 4-5 μ m di spessore venivano colorate con ematossilina-eosina.

La valutazione della fase del ciclo estrale veniva effettuata tramite: anamnesi riproduttiva, esame clinico, colpocitologia e dosaggio del progesterone plasmatico. Tuttavia, anche in assenza parziale di tali dati, la fase veniva confermata dall'esame istologico delle ovaie e dell'utero^{8,29}.

Venivano registrati: il numero totale di cagne esaminate, il numero e il tipo di cisti ovariche e paraovariche rinvenute. Si consideravano cisti stromali le formazioni cavitari con diametro sopra gli 8 mm, prive di cellula uovo e delimitate da cellule della granulosa, anche se luteinizzate.

Sezioni di ovaie con cisti stromali, raccolte su vetrini silanati, venivano processate per l'immunohistochimica, che prevedeva una rivelazione antigenica al forno a microonde e l'applicazione della tecnica del complesso avidina biotina perossidasi (Vector Laboratories, Burlingame, CA). Si utilizzavano anticorpi monoclonali da topo per la subunità α dell'inibina (Serotec, Oxford, UK, diluizione 1:50), per le citocheratine (CK) 8/18 (Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK, diluizione 1:100) e per l'actina del muscolo liscio (ASA) (Novocastra, diluizione 1:100). Le reazioni positive venivano rivelate con il cromogeno Vector VIP (Vector Laboratories) e successiva colorazione nucleare di contrasto, mediante il verde di metile. L'immunocolorezione era registrata convenzionalmente come di intensità debole, moderata e marcata. Ovaie di cagna cicliche venivano utilizzate come controllo positivo, mentre i controlli negativi erano allestiti sulle stesse sezioni mettendo del tampone fosfato all'uopo dell'anticorpo primario.

RISULTATI

Venivano valutate 462 cagne, preliminarmente suddivise per classi di età di 2 anni (da 0 a 2 anni; da 2 anni e 1 mese a 4 anni; da 4 anni e 1 mese a 6 anni; etc.) (Fig. 1A). Considerando la fase del ciclo estrale, l'11% dei casi si trovava in proestro, il 3% in estro, il 64% in diestro, il 15% in anaestro, mentre il 6% presentava anomalie del ciclo estrale.

Tra tutti i soggetti, 163 erano affetti da patologia cistica a carico delle ovaie, di cui 95 avevano cisti ovariche (epiteliali e stromali), 36 cisti paraovariche e 32 presentavano entrambe le tipologie. Analizzando la distribuzione dei soggetti con cisti ovariche nelle classi di età e rapportandole alla numerosità del campione nelle medesime classi, si costruiva un istogramma di prevalenza relativo (Fig. 1B). La prevalenza delle cisti ovariche cresceva linearmente con l'età del soggetto, interessando anche soggetti giovani, ma superando il 40% dopo gli 8 anni. L'età media dei soggetti era di 8 anni. In relazione alla fase del ciclo estrale, le cisti ovariche si rinvenivano dal proestro all'anaestro, mentre solo il 10% dei soggetti presentava ciclo alterato.

Tra le cisti ovariche (n=127) si rinvenivano 10 casi di cisti stromali, 110 di cisti epiteliali e 7 casi con le due tipologie associate. La prevalenza delle cisti stromali evidenziava un andamento bimodale con due picchi: uno tra 0 e 2 anni, con bassa prevalenza (4%), un secondo tra gli 8 e i 12 anni, con pre-

valenza maggiore (6-7%) (Fig. 1C). L'età media era di 7 anni. Relativamente alla fase del ciclo estrale il 47% dei soggetti era in diestro, di cui un caso in gravidanza, mentre il 53% presentava alterazioni del ciclo estrale, rappresentate da: anaestro secondario (3 casi), estro ricorrente (2 casi), estro persistente (4 casi). Tra questi ultimi, in un caso, era presente una grave sindrome iperestrogenica, caratterizzata da anoressia, alopecia e iperpigmentazione. Nel 71% dei casi di cisti stromali veniva diagnosticata clinicamente e poi confermata istologicamente l'IEC/piometra, la cui prevalenza nel campione (n=462) si assestava invece al 38% (176/462). Le cisti stromali erano multiple e bilaterali nel 47% dei casi. Macroscopicamente (Figg. 2-4), le dimensioni superavano gli 8 mm, la parete era da trasparente a decisamente opaca, il liquido cistico chiaro, a volte emorragico. Nel 47% dei casi erano compresenti corpi lutei diestrali, caratterizzati da cellule luteiniche ben differenziate e privi di caratteristiche involutive (fibrosi, vacuolizzazioni citoplasmatiche, etc.). In un caso era concomitante un prolusso vaginale, in un secondo un leiomioma vaginale. Microscopicamente, la cisti stromale era delimitata da più strati di cellule della granulosa (29,5%), frequentemente interrotte da bottoni di cellule luteiniche (41%) (Fig. 5) oppure da più strati di cellule

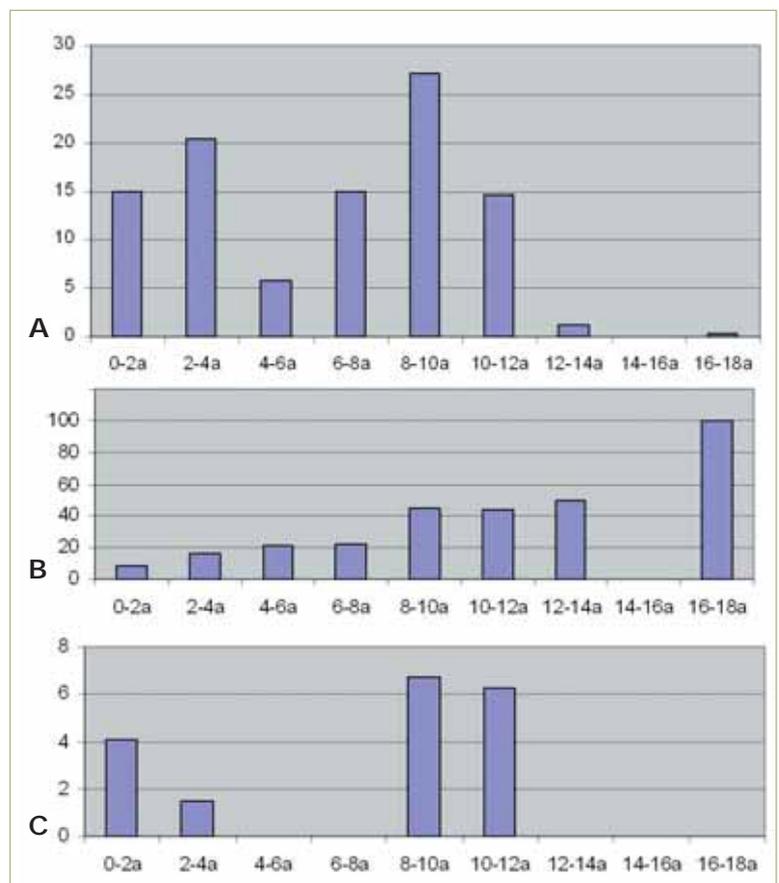


FIGURA 1 - A) Distribuzione della prevalenza del campione per classi di età. B) Distribuzione relativa della prevalenza dei soggetti con cisti ovariche. C) Distribuzione relativa della prevalenza dei soggetti con cisti stromali.



FIGURA 2 - Grande cisti stromale luteinizzata in soggetto con estri ricorrenti, metrorragia e leiomioma vaginale.



FIGURA 3 - Cisti stromale monolaterale in sezione. Ben evidente lo spessore della parete, indice di avanzata luteinizzazione.



FIGURA 4 - Grossa cisti stromale associata ad iperplasia cistica endometriale all'utero.

luteiniche (29,5%) (Fig. 7). Le cisti più grandi erano spesso parzialmente disepitelizzate o con epitelio frequentemente ridotto ad un singolo strato di cellule della granulosa, cubiche o pavimentose (Fig. 8), che le rendeva molto simili alle cisti epiteliali. L'assenza di uno strato di natura muscolare, all'esterno, le differenziava facilmente dalle cisti paraovariche. In associazione alle cisti stromali si rinvenivano inoltre le seguenti lesioni microscopiche utero-ovariche: iperplasie e neoplasie epiteliali ovariche (3 casi), atrofia dell'ovaio controlaterale (1 caso); adenomiosi uterina (2 casi), metaplasia squamosa endometriale (1 caso).

Da un punto di vista immunohistochimico la parete delle cisti stromali era positiva all' α -inibina in tutti i casi, tuttavia la reazione era sempre debole e limitata a cellule isolate, compresi i bottoni luteinici (Figg. 6, 9). Le cellule della parete cistica non esprimevano le CK 8/18, mentre la positività per l'ASA era debole e limitata ad alcune cellule teicali.

DISCUSSIONE

La disponibilità di un campione consistente (462 casi) ci consente alcune riflessioni preliminari sulla reale prevalenza della patologia cistica delle ovaie nella cagna. Il campione è alquanto disomogeneo a causa delle modalità di reperimento dei casi, che da un lato influenzano la distribuzione dei soggetti nelle varie classi di età (Fig. 1A), dall'altro possono sovrastimare la prevalenza della patologia. Il 35% dei casi studiati era affetto da patologia cistica a carico delle ovaie, il 27% da cisti ovariche, valori ben oltre i *range* noti in letteratura²⁻⁴. Riteniamo, tuttavia, che questa divergenza sia in gran parte dovuta al fatto che tutte le ovaie sono state valutate anche microscopicamente e ciò ha consentito di identificare anche piccole cisti epiteliali, non apprezzabili all'esame macroscopico. Nella cagna, le cisti ovariche costituiscono una patologia dell'invecchiamento (*aging*) (Fig. 1B), il cui rischio cresce proporzionalmente all'età del paziente e che in genere non influenzano la normale ciclicità³. Infatti queste sono per lo più rappresentate da cisti di natura epiteliale. Solo il 4% dei soggetti (n=462) presentava cisti stromali; si tratta dunque di una patologia infrequente in questa specie come osservato da alcuni AA^{3-4,15,22-23}; nella nostra casistica, la tipologia più rara in assoluto. Anche in considerazione di ciò, ci è sembrato opportuno evitare la suddivisione in cisti follicolari e luteiniche, fermandoci alla categoria di ordine superiore (cisti stromale). La prevalenza per classi di età delle cisti stromali ha rivelato un andamento bimodale (Fig. 1C), con picchi tra 0 e 2 anni e tra 8 e 12 anni. Tali dati non sembrano giustificati dalla maggiore numerosità del campione in queste classi (Fig. 1A), ma probabilmente riflettono una stretta correlazione con i difetti dell'ovulazione, peraltro

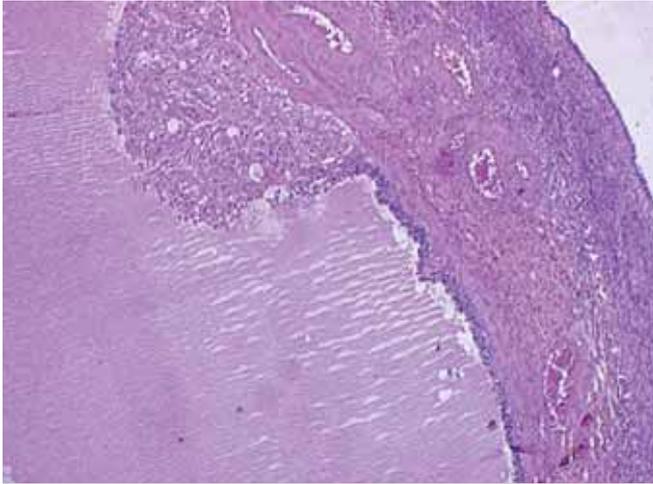


FIGURA 5 - Bottone luteinico in una cisti stromale. Ematossilina-eosina.

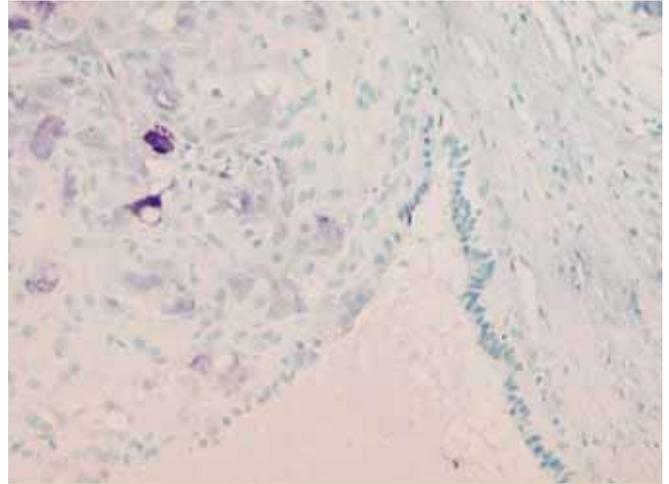


FIGURA 6 - Particolare della parete cistica della Fig. 5, completamente negativa all' α -inibina ad eccezione di alcune cellule del bottone luteinico. Vector Vip-verde di metile.

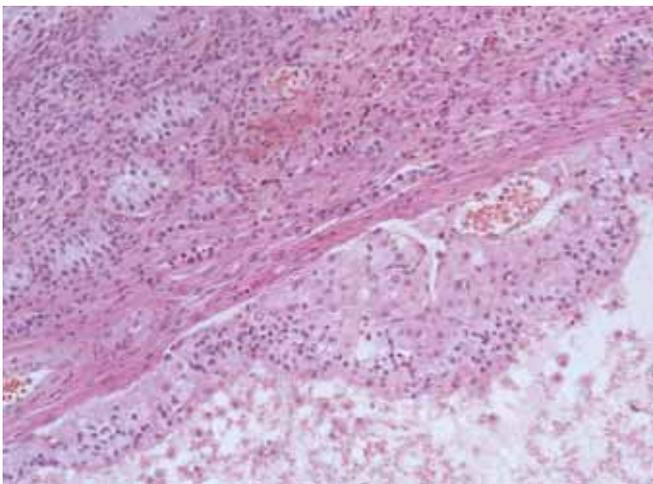


FIGURA 7 - Parete parzialmente luteinizzata di una cisti stromale. Ematossilina-eosina.

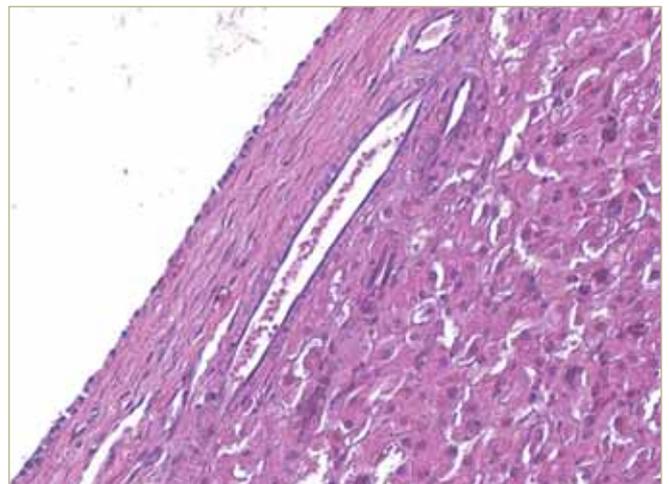


FIGURA 8 - Corpo luteo adiacente ad una cisti stromale con un solo strato di cellule della granulosa. Ematossilina-eosina.

frequenti in queste fasce di età⁸. Tali patologie sembrano invece non incidere durante la piena età riproduttiva (2-8 anni).

La metà circa delle cisti stromali non sembra avere alcuna rilevanza clinica, riscontrandosi durante una normale fase diestrale. Parimenti, nella specie bovina la cisti follicolare non è considerata rilevante da un punto di vista clinico, quando associata a corpi lutei; la presenza di una normale fase diestrale, infatti, indica l'assenza o la non significativa ormonoattività della cisti³⁰. La restante parte delle cisti stromali (53%) era associata ad alterazioni del ciclo quali: anaestro secondario, estri persistenti o ricorrenti. Le cisti ormonoattive producono estrogeni, progesterone, inibina con ripercussioni sul ciclo estrale e su vari organi genitali e non, come ampiamente descritto in letteratura^{1-7,17-21,23-26,28}. In particolare la cisti stromale partecipa al determinismo del complesso IEC/piometra, la cui patogenesi è comunemente più complessa³¹.

Un elemento diagnostico che non deve essere trascurato è il diametro della cisti stromale, già evidenziabile all'esame ecografico¹⁴ e poi all'esame macroscopico, che deve essere superiore alle di-

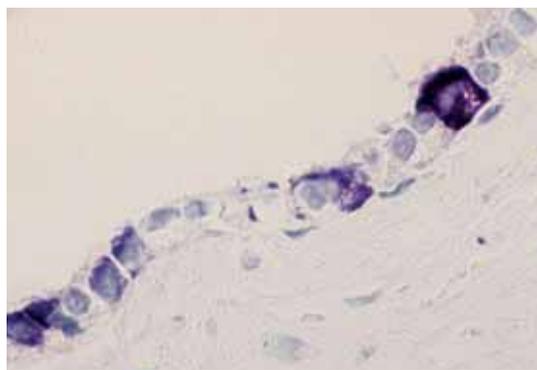


FIGURA 9 - Positività focale all' α -inibina delle cellule della granulosa della cisti stromale della Fig. 8. Vector Vip-verde di metile.

mensioni del follicolo ovulatorio della specie¹. Senza questa precisazione rischieremmo di considerare strutture fisiologiche, quali follicoli antrali, anovulatori o atretici, come cisti stromali. Sia in letteratura che nella pratica, questa tendenza sembra purtroppo abbastanza diffusa. L'esame ecografico deve essere supportato dalla sintomatologia per poter formulare un sospetto diagnostico di cisti stromale ed applicare anche un'eventuale terapia medica. In assenza di sintomatologia, qualsiasi formazione cavitaria dell'ovaio anche grande, in base ai nostri dati, nel 95% dei casi deve intendersi come cisti epiteliale. Con tale reperto la terapia chirurgica può tuttavia trovare motivazioni in quanto una patologia cistica, al di là della sua natura, può avere ripercussioni sulla funzionalità del parenchima residuo (atrofia da compressione) e sulla funzionalità tubarica.

L'esame ecografico e persino quello macroscopico non consentono di identificare con certezza la cisti stromale e la diagnosi definitiva rimane istologica. L'esame istologico ha evidenziato che il 41% delle cisti stromali presenta almeno una parziale luteinizzazione, il 29% una luteinizzazione completa. Nella specie canina, secondo la WHO la cisti follicolare contiene anche cellule luteiniche¹⁵, anche perché in questa specie la luteinizzazione è preovulatoria²⁸. La vera cisti luteinica nella cagna dovrebbe comprendere solo quelle completamente luteinizzate. In letteratura, tuttavia, la differenziazione con la cisti follicolare non è spesso definita^{2,3,5}. Il fatto che tutte le cisti luteiniche (n=9) della casistica più ampia riportata da Dow² e 3/5 nella nostra casistica siano associate a corpi lutei compatti, lascia ipotizzare che queste formazioni possano essere corpi lutei cavitari con grandi cavità e che quindi non rappresentino una condizione patologica³². Il sito di ovulazione, nella cagna, è visibile solo nelle primissime fasi come una punteggiatura emorragica o una piccola papilla fungiforme, la cui identificazione in sede macroscopica consentirebbe la differenziazione tra cisti luteinica e corpo luteo cavitario, per il resto indistinguibili anche istologicamente. Per tutti questi motivi abbiamo preferito utilizzare il termine di cisti stromale, minimizzandone il significato patologico quando riscontrata in associazione a corpi lutei diestrali. Significativo in tal senso è il riscontro di una grande cisti stromale in corso di gravidanza. L'immunoistochimica ha confermato i risultati di Akihara et al.⁹ e la validità del *panel* usato per caratterizzare le cisti stromali. Interessante ci è sembrata l'applicazione di questa tecnica quando la cisti è delimitata da un epitelio a tratti assente o comunque monostratificato, istologicamente non sempre identificabile con certezza. La positività per l' α -inibina è risultata complessivamente piuttosto debole e focale, come osservato nel 50% dei casi da Akihara et al.⁹. Ciò potrebbe essere in relazione all'assenza di immunocolorazio-

ne nel follicolo preovulatorio della cagna, ma anche all'incostante espressione del peptide nel follicolo atretico³³. L' α -inibina rimane comunque un marker affidabile per la differenziazione tra cisti ovariche stromali ed epiteliali⁹, parimenti a quanto osservato per le neoplasie ovariche stromali ed epiteliali³⁴.

NOTE CONCLUSIVE

Questo studio ha contribuito a chiarire alcuni aspetti patologici della cisti stromale dell'ovaio di cagna, fornendo interessanti risvolti clinico-diagnostici. La cisti stromale in questa specie è estremamente rara e colpisce prevalentemente cani sotto i 4 anni e tra gli 8 e i 12 anni. Anche se l'ecografia consente di svelare formazioni cistiche alle ovaie¹⁴, i risultati di questo studio ci suggeriscono di prendere con cautela tale reperto. Esse, infatti, in assenza di sintomatologia specifica e di un diametro adeguato, non possono essere differenziate dalle cisti epiteliali di gran lunga più frequenti e non trattabili farmacologicamente. La diagnosi definitiva rimane istologica in alcuni casi supportata da indagini immunoistochimiche. Non è sempre possibile, ma soprattutto utile, la distinzione tra cisti follicolare e luteinica nella cagna.

Ringraziamenti

Si ringrazia l'Università degli Studi di Messina per il finanziamento della ricerca.

Parole chiave

Cane, ovaio, cisti stromale, immunoistochimica.

■ Stromal cysts of the canine ovary: prevalence, diagnosis and clinical implications

Summary

Introduction and aim - Ovarian cystic disease of the bitch includes ovarian and paraovarian cysts, epithelial and stromal cysts. Stromal cysts, including follicular and luteal cysts, although uncommon, are clinically relevant for their potential hormone secretion. The aim of this paper was to investigate some anamnestic, gross and microscopic features of these cysts. Through a retrospective study of bitch genital organs, we want to contribute to the knowledge of the cystic ovarian disease, with special consideration towards the stromal cysts.

Materials and methods - The study was based on 462 bitch genital tracts; clinical data, gross and microscopic features of ovaries and uterus were registered for each. Cavitary structures over 8 mm, without egg cells, lined by granulosa and/or luteinic cells were considered to be stromal cysts.

An immunohistochemical panel was applied in order to better characterize the cysts.

Results and discussions - 95 bitches presented ovarian cysts, 36 paraovarian and 32 both. Prevalence of ovarian cysts had a linear relation to the age of the bitch (aging disease). Most ovarian cysts were asymptomatic, as they were epithelial. Stromal cysts (n=17) were found in young bitches (<2 years), with a prevalence of 4% and in adult bitches (8-12 years) with a prevalence of 6-7%. In 53% of stromal cysts, an irregular oestrous cycle with hormone-dependent lesions to other organs was evident, while in the remaining 47% the cysts were associated to functional corpora lutea. 70% of stromal cysts showed a partial to complete

luteinization of the wall. Stromal cysts were always positive to α -inhibin and negative to cytokeratins. Considering the low prevalence of the disease and, especially, the preovulatory luteinization, specific to the bitch, a distinction between follicular and luteal cysts is not always possible in this species, for which the term stromal cyst seems more appropriate, reducing the pathologic significance when associated to functional corpora lutea. These findings should be kept in mind during the clinico-diagnostic approach and the eventual therapeutic choose.

Key words

Dog, ovary, stromal cyst, immunohistochemistry.

BIBLIOGRAFIA

1. McEntee K: Reproductive Pathology of Domestic Animals. Academic Press, San Diego, 1990.
2. Dow C: Ovarian abnormalities in the bitch. *J Comp Pathol* 70:59-69, 1960.
3. Zambelli D, Cunto M, Sarli G, Brunetti B: Le cisti ovariche nella cagna: Aspetti diagnostici. *Atti della Società Italiana di Riproduzione Animale* 4:46-48, 2006.
4. Ortega-Pacheco A, Segura-Correa JC, Jimenez Coello M, Linde Forsberg C: Reproductive patterns and reproductive pathologies of stray bitches in the tropics. *Theriogenology* 67: 382-390, 2007.
5. Poffenbarger EM, Feeney DA: Use of gray-scale ultrasonography in the diagnosis of reproductive disease in the bitch: 18 cases (1981-1984). *J Am Vet Med Assoc* 189:90-95, 1986.
6. Olson PN, Wrigley RH, Husted PH: Persistent estrus in the bitch. In Ettinger SJ, Feldman EC (eds): *Textbook of Veterinary internal Medicine*, 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders, 1989, pp 1792-1796.
7. Nemzek JA, Homco LD, Wheaton LG, Grman GL: Cystic ovaries and hyperestrogenism in a canine female pseudohermaphrodite. *J Am Anim Hosp Assoc* 28:402-406, 1992.
8. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS: Canine and feline theriogenology. WB Saunders Co, Philadelphia, 2001.
9. Akihara Y, Shimoyama Y, Kawasaki K, Komine M, Hirayama K, Kagawa Y, Omachi T, Matsuda K, Okamoto M, Kadosawa T, Taniyama H: Immunohistochemical evaluation of canine ovarian cysts. *J Vet Med Sci* 69:1033-1037, 2007.
10. Concannon PW, Hansel W, McEntee K: Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinisation in the bitch. *Biol Reprod* 17:604-613, 1977.
11. Wallace SS, Mahafey MB, Miller DM, Thompson FN, Prabirke KC: Ultrasonographic appearance of ovary of the dog during the follicular and luteal phases of the estrus cycle. *Am J Vet Res* 53:209-215, 1992.
12. Spaniel-Borowski K: Morphological investigation on follicular atresia in canine ovaries. *Cell Tissue Res* 214:155-168, 1981.
13. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H: *Veterinary reproduction and obstetrics*. Sixth edition. Baillière Tindall, London, 1989.
14. Poulsen Naustrup C, Tobias R: *Testo atlante ecografia del cane e del gatto*. Principi, metodiche, interpretazione delle immagini. UTET, Torino, 2000.
15. Kennedy PC, Cullen JM, Edwards JF, Goldschmidt MH, Larsen S, Munson L, Nielsen S: *Histological classification of tumors of the genital system of domestic animals*. Second Series, Vol. IV. WHO. AFIP, Washington DC, 1998.
16. Barna A, Marino G, Quartuccio M, Zanghi A: Forme iniziali del tumore a cellule della granulosa nella cagna. *Atti della Società Italiana di Riproduzione Animale* 4:58-60, 2006.
17. Rowley J: Cystic ovary in a dog: a case report *Vet Med/Small Anim Clin* 75:1888, 1980.
18. Shille VM, Calderwood-Mays MB, Thatcher MG: Infertility in a bitch associated with short interestrus intervals and cystic follicles: a case report. *J Am Anim Hosp Assoc* 20:171-176, 1984.
19. Ervin E, Homans P: Gigant ovarian cyst in a bitch. *Compend Contin Educ Pract Vet* 8:698-699, 1986.
20. Fayer-Hosken RA, Durham DH, Allen S, Miller Liebl DM, Caudle AB: Follicular cystic ovaries and cystic endometrial hyperplasia in a bitch. *J Am Vet Med Assoc* 201:107-108, 1992.
21. Ranganath L, Ranganath BN, Jayagopala Reddy NR, Jayadevappa SM: Ovarian cyst in a bitch. A report. *Indian Vet J* 70:1062-1063, 1993.
22. Andersen AC, Simpson ME: The ovary and the reproductive cycle of the dog: Beagle. *Gerontol*, Los Altos, California, 1973.
23. Marchevsky RS, Nascimento EF, Chquiloff M: Morphological abnormalities of the ovaries and uterine horns of bitches. I. Ovarian cyst. *Arq Bras Med Vet Zootec* 35:381-390, 1983.
24. Vaden P: Surgical treatment of polycystic ovaries in the dog (a case report). *Vet/Small Anim Clin* 73:1160, 1978.
25. Fiorito DA: hyperestrogenism in bitches. *Compend Contin Educ Pract Vet* 14:727-729, 1992.
26. Wallace MS: The ovarian remnant syndrome in the bitch and queen. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 21:501-507, 1991.
27. Faulkner RT, Johnson SE: An ovarian cyst in a West Highland White Terrier. *Vet Med/Small Anim Clin* 75:1375-1377, 1980.
28. Feldman EC, Nelson RW: *Endocrinologia e riproduzione del cane e del gatto*. UTET, Torino, 1998.
29. Sokolowski JH, Zimbelman RG, Goyings LS: Canine reproduction: reproductive organs and related structure in the nonparous, parous, and postpartum bitch. *Am J Vet Res* 34:1001-1013, 1973.
30. Kesler DJ, Garverick HA: Ovarian cysts in dairy cattle: a review. *J Anim Sci* 55:1147-1159, 1982.
31. De Cock H, Ducatelle R, Tilmant K, De Schepper J: Possible role for insulin-like growth factor-I in the pathogenesis of cystic endometrial hyperplasia pyometra complex in the bitch. *Theriogenology* 57:2271-2287, 2002.
32. Perez-Marin C: Formation of corpora lutea and central luteal cavities and their relationship with plasma progesterone levels and other metabolic parameters in dairy cattle. *Reprod Domest Anim* (2008), doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.01021.x.
33. Marino G, Zanghi A, Catone G, Bontempo RA, Nicotina PA: Expression of inhibin/activin alpha, betaA and betaB subunits in the ovary of the bitch. *Vet Res Commun* 27 Suppl. 1: 611-614, 2003.
34. Marino G, Nicotina PA, Catone G, Bontempo RA, Zanghi A: Alpha-inhibin expression in canine ovarian neoplasm: preliminary results. *Vet Res Commun* 27 Suppl. 1: 237-240, 2003.