

OSTEOSSARCOMA EM CHOW-CHOW: RELATO DE CASO

LEITE, Guilherme de Brito¹
BATTISTI, Michelly Kheidy Borges²
VILLANOVA JUNIOR, Ademar José³
CARNIATTO, Caio Henrique de Oliveira⁴

RESUMO

O osteossarcoma (OSA) é uma forma agressiva de sarcoma ósseo primário que afeta tanto humanos quanto cães de maneira significativa. A semelhança biológica entre essas espécies sugere que a comparação entre elas pode ser de grande auxílio no entendimento dessa neoplasia. Neste estudo, é relatado um caso de osteossarcoma osteoblástico moderadamente produtivo em um cão da raça Chow-Chow, macho, nove anos. O OSA foi sugerido por meio de exame radiográfico, que sugeriu inicialmente a possibilidade de um processo neoplásico com envolvimento de tecidos moles. Após a realização do procedimento cirúrgico, a amostra foi submetida à análise histopatológica, revelando uma proliferação neoplásica composta por células fusiformes com marcante anisocitose e anisocariose, além de um alto grau de pleomorfismo. Essas células estavam intercaladas com focos filamentares e ilhas irregulares opacas e eosinófilicas, caracterizando a presença de matriz osteoide.

PALAVRAS-CHAVE: cão. diagnóstico oncológico. histopatologia. neoplasia óssea. osteossarcoma.

OSTEOSSARCOMA IN CHOW-CHOW: CASE REPORT

ABSTRACT

Osteosarcoma (OSA) is an aggressive form of primary bone sarcoma that significantly affects both humans and dogs. The biological similarity between these species suggests that comparing them can greatly aid in understanding this neoplasia. In this study, a case of moderately productive osteoblastic osteosarcoma in a nine-year-old male Chow-Chow dog is reported. OSA was initially suggested through radiographic examination, indicating the possibility of a neoplastic process involving soft tissues. After the surgical procedure, the sample underwent histopathological analysis, revealing a neoplastic proliferation composed of spindle-shaped cells with marked anisocytosis and anisocariosis, along with a high degree of pleomorphism. These cells were interspersed with filamentous foci and irregular opaque eosinophilic islands, characterizing the presence of osteoid matrix.

KEYWORDS: dog. oncological diagnosis. histopathology. bone neoplasia. osteosarcoma

1. INTRODUÇÃO

O osteossarcoma (OSA) é uma neoplasia óssea primária de comportamento biológico maligno e agressivo, definido como uma neoplasia produtora de matriz osteoide que tem origem a partir de células mesenquimatosas primitivas que são diferenciadas em osteoblastos e frequentemente resultando em intensa lise óssea e proliferação de um novo osso (TOGUCHIDA *et al.*, 1992;

¹ Graduando de Medicina Veterinária, Escola de Ciências da Saúde, UniBrasil. E-mail: guibritoleite@outlook.com

² Doutoranda do Programa de Ciência Animal, PUCPR. Docente e Coordenadora do curso de Medicina Veterinária – Uniopet. Autora correspondente. E-mail: michellybattisti@opet.com.br

³ Doutor em Ciências Veterinárias, UFPR. Docente do curso de Medicina Veterinária e Professor Orientador do Programa de Ciência Animal – *Stricto Sensu*, PUCPR. E-mail: villanova@pucpr.br

⁴ Doutorando em ciências veterinárias, UFPR. Professor de Patologia geral veterinária no Centro Universitário Uniopet. E-mail: caiocarniatto@gmail.com

DALECK; NARDI, 2016). Além da produção da matriz óssea, essa neoplasia também pode produzir matriz fibroblástica ou cartilaginosa (LOUKOPOULOS; ROBINSON, 2007).

A grande maioria dos osteossarcomas se desenvolve no esqueleto apendicular, especialmente na região metafisária dos ossos longos, próxima às placas de crescimento. Nos seres humanos, os locais mais comumente afetados são o fêmur distal e a tíbia proximal (CAVALCANTI *et al.*, 2004; TEMMIN *et al.*, 2017; MIRABELLO *et al.*, 2011).

Não é surpreendente que as variantes histológicas do OSA incluam diversas formas mesenquimais, como subtipos condroblásticos, fibroblásticos, osteoblasticos, telangioectásicos, indiferenciado ou pouco diferenciado (KLEIN; SIEGAL, 2006; WOLFE *et al.*, 2011; THOMPSON; DITMER, 2017). Das variantes histológicas, o OSA fibroblástico têm prognóstico mais favorável comparado com os demais subtipos em cães (LOUKOPOULOS; ROBINSON, 2007; THOMPSON; DITMER, 2017). Entretanto, o OSA condroblástico tem maior propensão à metástase. A metástase pulmonar é mais frequente, mas não exclusiva, podendo estender-se para outros órgãos e ossos, incluindo gânglios linfáticos (MIALOU *et al.*, 2005; DERNELL *et al.*, 2007; ISAKOFF *et al.*, 2015; NEJAD *et al.*, 2019).

O OSA representa em torno de 85% dos tumores ósseos malignos em cães e 70% em gatos (THOMPSON; DITMER, 2017). Em seres humanos, é considerado uma doença de maior incidência após o pico de crescimento na adolescência (MANISCALCO *et al.*, 2013). Em cães, animais de meia vida a idosos e as raças grandes e gigantes são mais afetadas (OTTAVIANI; JAFFE, 2009; MIRABELLO *et al.*, 2011) e tem sido associado à desregulação do eixo do fator de crescimento 1 (IGF-I-GH) (KIRPENSTEIJN *et al.*, 2002; EHRHART *et al.*, 2013).

Os sinais clínicos das neoplasias ósseas podem variar de acordo com o local afetado (SERAKIDES, 2016). No entanto, eles geralmente incluem dor, edema, atrofia muscular, perda de peso e ocorrência de fraturas patológicas (DALECK; NARDI, 2016). Nos exames de bioquímica sérica, são observadas hipercalcemia e elevação da fosfatase alcalina (CARLSON; WEISBRODE, 2013).

Para os pacientes com osteossarcoma existem diversas abordagens cirúrgicas eficazes que permitem o controle do tumor primário. No entanto, apesar desse controle completo, a disseminação metastática para os pulmões continua a ser um desafio significativo. A fim de mitigar a progressão das metástases, a quimioterapia adjuvante tem sido utilizada; no entanto, mesmo assim, uma proporção importante de pacientes ainda experimenta recorrência de metástases à distância. De forma geral, a combinação dessas abordagens demonstrou melhorias na sobrevida a longo prazo em pacientes pediátricos, aumentando de aproximadamente 20% com a cirurgia isolada para mais de

60% quando a cirurgia é acompanhada de quimioterapia adjuvante. (BACCI *et al.*, 2003; FERRARI; PALMERINI, 2007).

Embora o osteossarcoma apresente características clínicas e radiológicas semelhantes em todos os casos, o diagnóstico deve ser sempre baseado em exame patológico mediante biópsia óssea, biópsia cirúrgica aberta e biópsia por aspiração com agulha fina (PAAF) (MANKIN *et al.*, 1982). Em contraste com a análise histológica, a citologia pode ser realizada rapidamente, embora possa não ser o suficiente para fornecer informações arquitetônicas para diagnóstico de triagem (REINHARDT *et al.*, 2005).

Em seres humanos, a PAAF é utilizada frequentemente para o diagnóstico de tumores ósseos e apresenta uma alta taxa de sucesso no diagnóstico (REINHARDT *et al.*, 2005). Essa técnica tem a vantagem de ser minimamente invasiva, não exigindo anestesia (EL-KHOURY *et al.*, 1983; TEIXEIRA *et al.*, 2010). Entretanto, em animais de companhia, a distinção entre proliferações mesenquimatosas benignas e malignas pode ser desafiadora (JORDA *et al.*, 2000; DITTMER; PEMBERTON, 2021).

Apesar dos avanços em vários tipos de tratamentos (incluindo amputação, quimioterapia e radioterapia paliativa), o prognóstico continua a ser reservado, com uma sobrevida média de três meses a um ano (NEJAD *et al.*, 2019).

Considerando os avanços na medicina veterinária, assim como no aperfeiçoamento de fármacos quimioterápicos, visando melhorar o bem-estar e a qualidade de vida de animais domésticos. O presente estudo teve como objetivo relatar um caso de osteossarcoma em cão da raça Chow-Chow enfatizando a importância do detalhamento da avaliação histopatológica aliada ao diagnóstico radiográfico para o melhor plano de eleição terapêutica ao paciente.

2. METODOLOGIA

2.1 RELATO DE CASO

Um cão da raça Chow-Chow, macho, nove anos, foi atendido em um hospital veterinário particular em Curitiba-PR, apresentando sinais clínicos de dor e claudicação no membro pélvico direito. Durante o exame físico, o paciente apresentou frequência cardíaca normal, porém com padrão levemente forçado de respiração, linfonodo poplíteo direito aumentado e pústulas multifocais nas faces dorsais dos membros torácicos e pélvicos esquerdos. O paciente apoiava o membro pélvico direito apenas com a ponta dos dedos, demonstrando sensibilidade ao toque leve na região. Ao

palpar, foi notado aumento de volume, de cerca de 10 cm, no terço médio do fêmur. Durante a consulta, tutor também relatou que o paciente apresentava episódios de êmese após a alimentação.

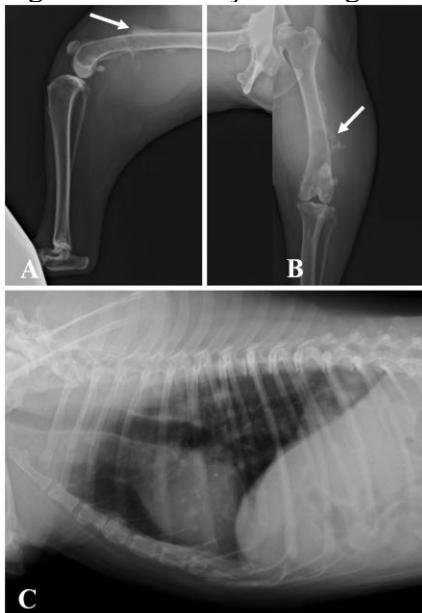
Foram solicitados exames laboratoriais, radiográficos e citológicos. Os valores hematológicos revelaram anemia, e a contagem diferencial leucocitária revelou leucocitose por neutrofilia ($39.100/\mu\text{L}$), monocitose ($3.910/\mu\text{L}$) e eosinofilia ($1.955/\mu\text{L}$), além de um discreto desvio à esquerda regenerativo ($782/\mu\text{L}$), com alterações morfológicas nas células dos neutrófilos bastonetes, como intensa basofilia citoplasmática. A análise bioquímica do soro indicou uma hipoalbuminemia (2,4 g/dL) e aumento da fosfatase alcalina (186 UI/L).

A citologia não forneceu informações suficientes para um diagnóstico específico, tornando necessário realizar avaliação histopatológica da lesão para uma determinação mais precisa.

Os resultados do exame radiográfico sugeriram processo neoplásico/metastático com provável envolvimento de tecidos moles adjacentes, observando reação periosteal em aspecto expansivo e proliferativo por toda a diáfise femoral (Figuras 1A e 1B).

Na radiografia torácica foram observadas alterações nos campos pulmonares indicativas de um possível processo neoplásico/metastático. Essas alterações consistiam em opacidades de padrão intersticial estruturado, acompanhadas por áreas nodulares distribuídas no parênquima pulmonar, com radiopacidade semelhante à de tecidos moles (Figura 1C).

Figura 1 – Avaliação radiográfica de paciente da raça Chow-Chow.



Fonte: Imagem da pesquisa.

Nota: A) Membro pélvico direito, vista lateral. Notar reação periosteal no fêmur (seta). B) Membro pélvico direito, vista cranial. Notar reação periosteal no fêmur (seta). C) Tórax, vista lateral direita. Notar áreas nodulares distribuídas no parênquima pulmonar.

As dimensões das áreas nodulares foram medidas em diferentes locais: 1,32 x 1,07 cm; 1,27 cm x 1,05 cm (lobo cranial esquerdo); 1,22 cm x 1,08 cm, visualizada na projeção lateral esquerda, sobrepondo a silhueta cardíaca; 1,48 cm x 1,45 cm; 1,08 cm x 1,05 cm (lobo cranial direito); 1,65 cm x 1,47 cm (lobo caudal direito); e 1,23 cm x 1,07 cm, visto na projeção lateral direita, também sobrepondo a silhueta cardíaca.

Com base nos achados laboratoriais e radiográficos, optou-se pela amputação do membro afetado, visando tanto o bem-estar do animal quanto a obtenção de um diagnóstico histopatológico. No ambiente cirúrgico, foi realizada a tricotomia do membro pélvico direito até a região lombossacra dorsal. A antisepsia foi conduzida utilizando clorexidina e álcool a 70%. A abordagem cirúrgica começou com a incisão da pele, realizada nas faces lateral e medial do membro pélvico, circundando a região adjacente ao fêmur proximal. Após a incisão da pele, a dissecção do tecido subcutâneo foi executada para melhor exposição dos grupos musculares.

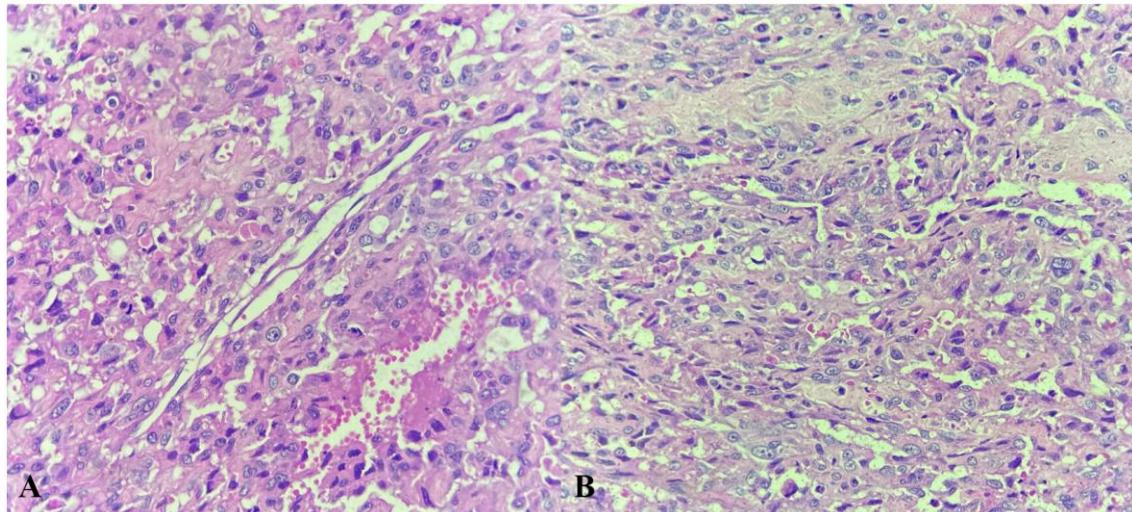
A seguir, a miotomia foi realizada com o auxílio de bisturi elétrico, e a hemostasia foi assegurada por meio de ligadura dupla dos vasos sanguíneos de maior calibre, utilizando fio de sutura poliglicólico 1, e os grupos musculares foram então liberados sequencialmente.

Posteriormente, a ligadura dos nervos e vasos sanguíneos foi realizada com fio de sutura poliglicólico 0, e o processo de desarticulação da articulação coxofemoral direita foi iniciado através de curetagem e cauterização da superfície articular do acetáculo. A sutura dos grupos musculares foi efetuada utilizando fio de sutura poliglicólico 1, seguindo padrão de sutura tipo sultan como primeira camada. A segunda camada de sutura foi aplicada na musculatura, utilizando o mesmo padrão, e uma sutura contínua simples com fio de sutura poliglicólico 1 foi realizada em seguida. O fechamento do subcutâneo foi realizado com fio de sutura poliglicólico 0, seguindo um padrão contínuo simples, com a inclusão da sutura em zigue-zague para reforço. O procedimento foi concluído com a sutura da pele usando fio de sutura nylon 2-0, empregando um padrão simples separado.

Após a conclusão da intervenção cirúrgica, procedeu-se ao envio do fragmento patológico proveniente do membro pélvico direito para análise histopatológica. Na avaliação microscópica foi identificada proliferação neoplásica caracterizada por células fusiformes que exibiam marcante anisocitose e anisocariose, além de um elevado grau de pleomorfismo. Estas células organizavam-se em feixes multidirecionais que se entrelaçavam, frequentemente delimitados por focos filamentares e ilhas irregulares eosinofílicas (osteoides). As células neoplásicas apresentavam um citoplasma escasso a moderado, com contornos angulares e coloração eosinofílica, enquanto os núcleos eram amplos, variando de redondos a alongados, com cromatina finamente distribuída e podendo conter até dois nucléolos. Macronucléolos e cariomegalia eram observados de forma recorrente. Nos arredores dos focos neoplásicos, foram notadas trabéculas ósseas maduras e extensas áreas compostas

por hemorragia disseminada, fibrina e detritos celulares. Ocasionalmente, células gigantes multinucleadas foram detectadas ao longo da neoplasia. Diante destas características, identificou-se um processo neoplásico originado a partir do tecido ósseo de natureza mesenquimal, com comportamento biológico maligno (figura 2A/B).

Figura 2 – Fotomicrografia de secção histológica de paciente canino com osteossarcoma.



Fonte: Imagem da pesquisa.

Nota: Neoformação óssea na extensão de ambas as lâminas (A e B), demonstrando crescimento neoplásico constituído por células fusiformes organizadas em fascículos multidirecionais, por vezes, entrelaçados por material filamentar e ilhas irregulares eosinofílicas (matriz osteoide.) HE, 400x.

Devido ao desfecho fatal do paciente, a descrição da consulta clínica não apresentou complexidades adicionais relacionadas ao curso da doença ou aos desdobramentos terapêuticos, ou seja, não foram incluídas doses ou medicamentos utilizados. Apesar da cicatrização ter sido vista antes do óbito do paciente, não foi relatada em consulta.

3. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O osteossarcoma é considerado o tipo de câncer ósseo mais frequentemente diagnosticado em cães. Estudos têm evidenciado que essa neoplasia apresenta muitas semelhanças com o OSA humano (DE MARIA *et al.*, 2009; MORELLO *et al.*, 2011), que, por sua vez, é uma das formas tumorais mais comuns em crianças e adolescentes. A despeito dos tratamentos agressivos empregados, tais como quimioterapia adjuvante e ressecção cirúrgica ampla do tumor, o OSA continua a ser uma causa significativa de mortalidade em ambas as espécies (KEMPF-BIELACK *et al.*, 2005; OTTAVIANI; JAFFE, 2009).

No estudo realizado por Cavalti *et al.*, (2004), a maioria dos casos de osteossarcoma ocorreu em fêmeas (62%), o que diverge do caso presente, que afetou um indivíduo macho. Em consonância com os estudos conduzidos por Daleck *et al.*, (2006), que identificaram o Pastor Alemão, Rottweiler, Dogue Alemão, Dobermann, São Bernardo, Setter Irlandês e Golden Retriever como as raças mais afetadas pelo osteossarcoma, o presente relato destoa dessa observação ao relatar um caso em cão da raça Chow-Chow.

Guim *et al.*, (2020) constatou que a localização mais comum dos osteossarcomas ocorreu no esqueleto apendicular, abrangendo 81,8% dos casos analisados, corroborando com o presente relato cuja massa neoplásica foi identificada no membro pélvico direito.

As células mesenquimais malignas do tipo condroblástico exibem a notável capacidade de produzir tanto matriz osteoide quanto matriz condroide, conforme documentado por Serakides (2016) e Thompson and Dimter (2017), observação essa também corroborada pelo presente relato. De acordo com os resultados do estudo conduzido por Guim *et al.*, (2020), o subtipo mais prevalente de osteossarcoma foi o osteossarcoma osteoblástico, tanto produtivo como não produtivo, o que está em concordância com o caso apresentado no presente relato.

O aumento da atividade da fosfatase alcalina pode ser considerado um indicador prognóstico relevante para neoplasias ósseas, conforme destacado por Garzotto *et al.*, (2000) e Kirpensteijn *et al.*, (2002), concordando com os achados bioquímicos séricos do presente relato. No estudo conduzido por Silveira *et al.*, (2021), assim como neste relato, o diagnóstico presuntivo foi estabelecido com base na história clínica, no exame físico e nos achados de exames de imagem.

O diagnóstico do caso apresentado foi confirmado por meio da técnica padrão-ouro para neoplasias, baseada na análise histopatológica (Silveira *et al.*, 2021). Contudo, o mais importante a ser destacado é a associação de duas técnicas complementares para o diagnóstico de neoplasias ósseas, que são o diagnóstico de imagem associado ao diagnóstico histopatológico. Para Dittmer e

Pemterbon (2021), essas duas técnicas são altamente complementares e devem ser amplamente utilizadas para o planejamento terapêutico dos pacientes. Para as autoras, a interpretação de exames como esfregaços citológicos e biópsias ósseas ficam mais fáceis quando o patologista tem acesso às radiografias e/ou aos laudos radiográficos.

A avaliação das imagens, somada à avaliação histopatológica comporão uma ferramenta mais eficaz para auxiliar na tomada da decisão clínica, ou seja, para a abordagem terapêutica mais adequado ao paciente em questão (HOCH, 2011; DITTMER; PEMTERBON, 2021).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

cães, o osteossarcoma é uma neoplasia óssea altamente agressiva, com altas taxas de metástase e recorrência. O diagnóstico diferencial pode ser desafiador devido à capacidade das células mesenquimais malignas em produzir tanto matriz osteoide quanto matriz condroide. A associação das técnicas de imagem e histopatologia são fundamentais para o bom planejamento da conduta terapêutica a ser adotada. O tratamento padrão envolve cirurgia e quimioterapia, porém, pesquisas adicionais são necessárias para desenvolver terapias mais eficazes e aumentar a sobrevida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

- BACCI, G.; BRICCOLI, A.; ROCCA, M.; FERRARI, S.; DONATI, D.; LONGHI, A.; BERTONI, F.; BACCHINI, P.; GIACOMINI, S.; FORNI, C.; MANFRINI, M.; GALLETTI, S. Neoadjuvant chemotherapy for nonmetastatic osteosarcoma of the extremities: The recent experience at the Rizzoli Institute in 57 patients treated with cisplatin, doxorubicin, and a high dose of methotrexate and ifosfamide. *Annals of Oncology*, v. 14, n. 7, p. 1126-34, 2003. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdg286>
- CARLSON, C. S.; WEISBRODE, S. E. Ossos, articulações, tendões e ligamentos. In: ZACHARY, J. F.; McGAVIN, M. D. **Bases da Patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
- CAVALCANTI, J. N.; AMSTALDEN, E. M. I.; GUERRA, J. L.; MAGNA, L. C. Osteosarcoma in dogs: clinical-morphological study and prognostic correlation. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 5, p. 299-305, 2004. <https://doi.org/10.1590/S1413-95962004000500002>
- DALECK, C. R.; CANOLA, J. C.; STEFANES, S. A.; SCHOCKEN, P. F. L.; NARDI, A. B. Estudo retrospectivo de osteossarcoma primário dos ossos da pelve em cães em um período de 14 meses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 1, p. 125-131, 2006. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2006.26527>
- DALECK, C. R.; NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.
- DE MARIA, R.; MIRETTI, S.; IUSSICH, S.; OLIVERO, M.; MORELLO, E.; BERTOTTI, A.; CHRISTENSEN, J. G.; BIOLATTI, B.; LEVINE, R. A.; BURACCO, P.; DI RENZO, M. F. Metoncogene activation qualifies spontaneous canine osteosarcoma as a suitable pre-clinical model of human osteosarcoma. **The Journal of Pathology**, v. 218, n. 3, p. 399-408, 2009. <https://doi.org/10.1002/path.2549>
- DERNELL, W. S.; EHRHART, N. P.; STRAW, R. C.; VAIL, D. M. Tumors of the skeletal system. p. 540-567. In: WITHROW, S. J. **Small Animal Clinical Oncology**. 4. ed. Philadelphia: Saunders, 2007.

DITTER, K. E.; PEMBERTON, S. A Holistic Approach to Bone Tumors in Dogs and Cats: Radiographic and Histologic Correlation. **Veterinary Pathology**. v. 58, n. 5, p. 841-857, 2021. doi: [10.1177/0300985821999832](https://doi.org/10.1177/0300985821999832)

EHRHART, N. P.; RYAN, S. D.; FAN, T. M. Tumors of the skeletal system. In: WITHROW, S.; VAIL, D.; PAGE, R. (Ed.) **Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**. 5. ed. St. Louis: Saunders, 2013.

EL-KHOURY, G. Y.; TEREPKA, R. H.; MICKELSON, M. R.; RAINVILLE, K. L.; ZALESKI, M. S. Fine-needle aspiration biopsy of bone. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 65, n. 4, p. 522-525, 1983.

FERRARI, S.; PALMERINI, E. Adjuvant and neoadjuvant combination chemotherapy for osteogenic sarcoma. **Current Opinion in Oncology**, v. 19, n. 4, p. 341-346, 2007. <https://doi.org/10.1097/cco.0b013e328122d73f>

GARZOTTO, C. K.; BERG, J.; HOFFMANN, W. E.; RAND, W. M. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase activity in canine appendicular osteosarcoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 6, p. 587-592, 2000. [https://doi.org/10.1891-6640\(2000\)014%3C0587:psosap%3E2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2000)014%3C0587:psosap%3E2.3.co;2)

GUIM, T. N.; BIANCHI, M. V.; LORENZO, C.; GOUVÊA, A. S.; GERARDI, D. G.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S. P.; SONNE, L. Relationship between clinicopathological features and prognosis in appendicular osteosarcoma in dogs. **Journal of Comparative Pathology**, v. 180, p. 91-99, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2020.09.003>

HOCH, B.; MONTAG, A. Reactive bone lesions mimicking neoplasms. **Seminars Diagnostic Pathology Journal**. v. 28, n. 1, p. 102-112, 2011.

ISAKOFF, M. S.; BIELACK, S. S.; MELTZER, P.; GORLICK, R. Osteosarcoma: Current treatment and a collaborative pathway to success. **Journal of Clinical Oncology**, v. 33, n. 27, p. 3029-3035, 2015. <https://doi.org/10.1200/jco.2014.59.4895>

JORDA, M.; REY, L.; HANLY, A.; GANJEI-AZAR, P. Fine-needle aspiration cytology of bone: Accuracy and pitfalls of cytodiagnosis. **Cancer**, v. 90, n. 1, p. 47-54, 2000.

KEMPF-BIELACK, B.; BIELACK, S. S.; JÜRGENS, H.; BRANSCHEID, D.; BERDEL, W. E.; EXNER, G. U.; GÖBEL, U.; HELMKE, K.; JUNDT, G.; KABISCH, H.; KEVRIC, M.; KLINGEBIEL, T.; KOTZ, R.; MAAS, R.; SCHWARZ, R.; SEMIK, M.; TREUNER, J.; ZOUBEK, A.; WINKLER, K. Osteosarcoma relapse after combined modality therapy: an analysis of unselected patients in the cooperative osteosarcoma study group (COSS). **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, n. 3, p. 559-568, 2005. <https://doi.org/10.1200/jco.2005.04.063>

KIRPENSTEIJN, J.; KIK, M.; RUTTEMAN, G. R.; TESKE, E. Prognostic significance of a new histologic grading system for canine osteosarcoma. **Veterinary Pathology**, v. 39, n. 2, p. 240-246, 2002. <https://doi.org/10.1354/vp.39-2-240>

KLEIN, M. J.; SIEGAL, G. P. Osteosarcoma: anatomic and histologic variants. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 125, n. 4, p. 555-581, 2006. <https://doi.org/10.1309/uc6k-qhld-9lv2-kenn>

LOUKOPOULOS, P.; ROBINSON, W. F. Clinicopathological relevance of tumour grading in canine osteosarcoma. **Journal of Comparative Pathology**, v. 136, n. 1, p. 65-73, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2006.11.005>

MANISCALCO, L.; IUSSICH, S.; MORELLO, E.; MARTANO, M.; BIOLATTI, B.; RIONDATO, F.; SALDA, L. D.; ROMANUCCI, M.; MALATESTA, D.; BONGIOVANNI, L.; TIRRITO, F.; GATTINO, F.; BURACCO, P.; DE MARIA, R. PDGFs and PDGFRs in canine osteosarcoma: New targets for innovative therapeutic strategies in comparative oncology. **The Veterinary Journal**, v. 195, n. 1, p. 41-47, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.05.003>

MANKIN, H. J.; LANGE, T. A.; SPANIER, S. S. The hazards of biopsy in patients with malignant primary bone and soft-tissue tumors. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 64, n. 8, p. 1121-1127, 1982.

MIALOU, V.; PHILIP, T.; KALIFA, C.; PEROL, D.; GENTET, J.-C.; MAREC-BERARD, P.; PACQUEMENT, H.; CHASTAGNER, P.; DEFASCHELLES, A.-S.; HARTMANN, O. Metastatic osteosarcoma at diagnosis: prognostic factors and long-term outcome--the French pediatric experience. **Cancer**, v. 104, n. 5, p. 1100-1109, 2005. <https://doi.org/10.1002/cncr.21263>

MIRABELLO, L.; PFEIFFER, R.; MURPHY, G.; DAW, N. C.; PATIÑO-GARCIA, A.; TROISI, R. J.; HOOVER, R. N.; DOUGLASS, C.; SCHÜZ, J.; CRAFT, A. W.; SAVAGE, S. A. Height at diagnosis and birth-weight as risk factors for osteosarcoma. **Cancer Causes & Control**, v. 22, n. 6, p. 899-908, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10552-011-9763-2>

MORELLO, E.; MARTANO, M.; BURACCO, P. Biology, diagnosis and treatment of canine appendicular osteosarcoma: Similarities and differences with human osteosarcoma. **The Veterinary Journal**, v. 189, n. 3, p. 268-277, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.08.014>

NEJAD, M. R. E.; VAFAEI, R.; MASOUDIFARD, M.; NASSIRI, S. M.; SALIMI, A. Aggressive chondroblastic osteosarcoma in a dog: A case report. **Veterinary Research Forum**, v. 10, n. 4, p. 361-364, 2019. <https://doi.org/10.30466%2Fvrf.2019.100779.2402>

OTTAVIANI, G.; JAFFE, N. The epidemiology of osteosarcoma. **Cancer Treatment and Research**, v. 152, p. 3-13, 2009. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0284-9_1

REINHARDT, S.; STOCKHAUS, C.; TESKE, E.; RUDOLPH, R.; BRUNNBERG, L. Assessment of cytological criteria for diagnosing osteosarcoma in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 46, n. 2, p. 65-70, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2005.tb00294.x>

SERAKIDES, R. Ossos e articulações. p. 1007-1067. In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

SILVEIRA, B.; CASSALI, G.; LOPES, T. Osteosarcoma of the hard palate in a dog - case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 73, n. 1, p. 207-213, 2021. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12085>

TEIXEIRA, L. V.; LOPES, S. T. A.; MARTINS, D. B.; FRANÇA, R. T.; FIGHERA, R. A. Punção aspirativa por agulha fina como método de coleta de material para a histopatologia no osteossarcoma

canino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 145-148, 2010.
<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000200008>

TEMMING, P.; ARENDT, M.; VIEHMANN, A.; EISELE, L.; LE GUIN, C. H.; SCHÜNDELN, M. M.; BIEWALD, E.; ASTRAHANTSEFF, K.; WIELAND, R.; BORNFELD, N.; SAUERWEIN, W.; EGGERT, A.; JÖCKEL, K. H.; LOHMANN, D. R. Incidence of second cancers after radiotherapy and systemic chemotherapy in heritable retinoblastoma survivors: A report from the German reference center. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 64, n. 1, p. 71-80, 2017.
<https://doi.org/10.1002/pbc.26193>

THOMPSON, K. G.; DITTMER, K. E. Tumors of the bones. p. 246-317. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 5. ed. Iowa: John Wiley and Sons, 2017.

TOGUCHIDA, J.; YAMAGUCHI, T.; RITCHIE, B.; BEAUCHAMP, R. L.; DAYTON, S. H.; HERRERA, G. E.; YAMAMURO, T.; KOTOURA, Y.; SASAKI, M. S.; LITTLE, J. B. Mutation spectrum of the p53 gene in bone and soft tissue sarcomas. **Cancer Research**, v. 52, n. 22, p. 6194-6199, 1992.

WOLFE, T. D.; PILLAI, S. P. S.; HILDRETH 3rd, B. E.; LANIGAN, L. G.; MARTIN, C. K.; WERBECK, J. L.; ROSOL, T. J. Effect of zoledronic acid and amputation on bone invasion and lung metastasis of canine osteosarcoma in nude mice. **Clinical & Experimental Metastasis**, v. 28, n. 4, p. 377-389, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10585-011-9377-9>