



## CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DOS SUBTIPOS DO OSTEOSSARCOMA CANINO CENTRAL

Vanessa de Sousa Cruz Pimenta<sup>1</sup>, Greiciele Souza Brito<sup>2</sup>, Danilo Rezende e Silva<sup>3</sup>, Karla Márcia da Silva Braga<sup>4</sup>, Yandra Cassia Lobato do Prado<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

<sup>2</sup>Graduanda em Medicina Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

<sup>3</sup>Mestrando, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

<sup>4</sup>Graduanda em Medicina Veterinária, Faculdade Anhanguera Educacional, Unidade Anápolis, Anápolis, Brasil

<sup>5</sup>Pesquisadora Doutora, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil (yandrprado@yahoo.com.br)

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

### RESUMO

Osteossarcoma é uma neoplasia óssea primária maligna, heterogênea quanto ao padrão histológico. O tipo central é a forma mais comum. A classificação histológica é feita de acordo com o tipo e a quantidade de matriz óssea e pelas características celulares. Dezesesseis amostras de osteossarcoma canino centrais foram selecionadas, processadas histologicamente, classificadas e documentadas. Os casos de osteossarcoma do subtipo osteoblástico prevaleceram (46,70%), seguido pelos condroblásticos (26,70%), fibroblásticos (20%) e misto (6,60%).

**PALAVRAS-CHAVE:** Cão, histomorfologia, sarcoma, tumor ósseo

### HISTOPATHOLOGICAL CLASSIFICATION OF THE SUBTYPES OF CENTRAL CANINE OSTEOSARCOMA

### ABSTRACT

Osteosarcoma is a primary malignant bone neoplasm, heterogeneous regarding histological pattern. The central type is the most common form. The histopathological classification is performed according with the type and amount of ossea matrix and the cell characteristics. Sixteen samples of central canine osteosarcoma were selected, histologically processed, classified and documented. The cases of subtype of osteoblastic osteosarcoma have prevailed (46.70%), followed by chondroblastic (26.70%), fibroblast (20%) and mixed (6.60%).

**KEYWORDS:** Bone tumor, dog, histomorphological, sarcoma

## INTRODUÇÃO

O osteossarcoma canino é um tumor heterogêneo (MUFF et al., 2012), com padrões histológicos diversificados, constituído por vários tipos celulares que, provavelmente, são originados de uma única célula mesenquimal pluripotente ou de osteoblastos imaturos, que sofrem diferenciação diversificada (CAVALCANTI, 2007). É uma das mais frequentes neoplasias ósseas malignas, pertencendo ao grupo de tumores primitivos que produzem tecido ósseo e podendo, também, ser conhecido como sarcoma osteogênico ou sarcoma osteoblástico (PRÓSPERO, 2001).

Dentre as neoplasias ósseas primárias malignas comuns em cães, os osteossarcomas representam as mais prevalentes (NELSON & COUTO, 2006). É localmente invasivo, altamente metastático e torna-se progressivamente mais doloroso à medida que vai crescendo e promovendo destruição óssea (KRAJARNG et al., 2012). Por ser, também, o tumor ósseo primário mais comum em humanos e apresentar características similares às dos cães, a incidência em cães faz com que o estudo nesta espécie proporcione melhor entendimento da neoplasia no ser humano (MEHL et al., 2001).

A metástase pulmonar ocorre em 30% a 90% dos pacientes e é a principal responsável pela mortalidade. A sobrevida em pacientes com osteossarcoma tem melhorado com o advento da poliquimioterapia e o avanço das técnicas cirúrgicas. No entanto, ainda existe a necessidade de validar melhores marcadores de prognóstico, e agentes terapêuticos (SANTOS, 2009; ANGSTADT et al., 2011; ZHANG et al., 2011; FLORES et al., 2012; OSBORNE & KHANNA, 2012; RAO-BINDAL et al., 2012; OUYANG et al., 2013). Na última década, as plantas e outras fontes naturais tornaram-se alvo de estudos na tentativa do desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos (ZHANG et al., 2013). Além disso, sistemas de modelo têm sido utilizados a partir do tumor primário, submetidos à cultura ou interações com hospedeiros de espécies diferentes, para estudar e testar novas substâncias terapêuticas (KUIJER et al., 2011). Terapia fotodinâmica também mostrou-se eficaz em linhagem de células de osteossarcoma humano (REIDY et al., 2012).

O tumor foi classificado, quanto ao tipo de matriz, por CARLTON & MCGAVIN (1998) em simples: quando o tecido ósseo é formado numa matriz cartilaginosa; composto: quando osso e cartilagem estão presentes; e pleomórfico: anaplásico com apenas algumas ilhas de osteóide presente. Os casos com grau avançado apresentam cariótipo complexo e numerosas aberrações genéticas. As aberrações cromossômicas dificultam a identificação das características desta neoplasia (NAMLØS et al., 2012). No entanto, o sistema mais utilizado é baseado na Classificação Histológica de Tumores Ósseos e das Articulações dos Animais Domésticos, proposto pela Organização Mundial de Saúde, que divide o osteossarcoma em Forma Periférica e Forma Central (MORRIS & DOBSON, 2001; PRÓSPERO, 2001; MEUTEN, 2002; THOMPSON & POOL, 2002).

A Forma Periférica é a menos frequente, com características clínicas, evolutivas e anatomopatológicas distintas da forma central. Cresce na superfície óssea e é classificada, levando em consideração o aspecto predominante, nos subtipos: periosteal e parosteal. O periosteal cresce na cortical óssea sob o periosteio e não invade o canal medular. O parosteal cresce na superfície óssea sobre a cortical (MORRIS & DOBSON, 2001; PRÓSPERO, 2001; MEUTEN, 2002).

A Forma Central é a mais comum, com aspectos clínicos, radiográficos e anatomopatológicos bem definidos. Cresce no interior do osso, rompe a barreira

cortical e periostal, comprimindo as partes moles adjacentes, tornando-se tumor extracompartmental. Possui uma variabilidade de aspectos histológicos e é classificada nos subtipos: osteoblástico, condroblástico, fibroblástico, teleangectásico, indiferenciado ou pobremente diferenciado e do tipo de células gigantes (PALMER, 1992; DOIGE & WEISBRODE, 1998; MORRIS & DOBSON, 2001; PRÓSPERO, 2001; MEUTEN, 2002; THOMPSON & POOL, 2002; WOLFE et al., 2011).

As características histológicas dos diversos subtipos são descritas isoladamente. No osteoblástico predomina a produção de traves osteóides mineralizadas, circundadas por osteoblastos atípicos. A maioria, 60% a 70%, dos pacientes apresenta este subtipo (MUFF et al., 2012). Já no condroblástico prevalece tecido cartilaginoso com matriz hialina ou aspecto mixóide, com osteogênese escassa. No fibroblástico sobressaem células fusiformes, fibroblastos atípicos, com escasso osteóide e no telangectásico predominam capilares ou lacunas sanguíneas irregulares, com traves osteóides neoplásicas. O indiferenciado é caracterizado por pequenas células indiferenciadas com raras traves osteóides. No tipo de células gigantes há predomínio de áreas contendo células gigantes neoplásicas multinucleadas. MORRIS & DOBSON (2001); PRÓSPERO (2001); MEUTEN (2002); THOMPSON E POOL, 2002.

A classificação histológica é feita de acordo com o tipo e a quantidade de matriz e pelas características celulares (NEUWALD et al., 2006). Segundo THOMPSON (2007), os subtipos são adaptações do sistema desenvolvido para osteossarcomas humanos e são utilizados pelos patologistas veterinários. O cão possui apresentação clínica e biológica, histologia do tumor primário e padrão de propagação de metástases semelhantes ao osteossarcoma humano. Outra relação diz respeito às anomalias citogenéticas do osteossarcoma, que são conservadas entre estas espécies. Além disso, a oncologia comparativa integra o estudo da ocorrência natural, biologia e terapia de neoplasias em animais e humanos. (ANGSTADT et al., 2011; STEIN et al., 2011; ROWELL et al., 2011; WOLFE et al., 2011; LANGDON, 2012; OSBORNE & KHANNA, 2012).

Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo classificar os subtipos da forma central de casos de osteossarcoma canino, provenientes do Setor de Patologia Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram revisadas fichas de exames histopatológicos obtidos dos arquivos do Laboratório de Patologia Animal/EVZ/UFG, do período de janeiro de 2007 a dezembro de 2012. Neste estudo, foram considerados todos os diagnósticos histopatológicos de fragmentos de tecido originados de biopsias. Após análise dos protocolos, foram selecionadas 15 amostras, previamente incluídas em parafina, dentre os casos com diagnóstico de osteossarcoma canino de forma central. Em se tratando de material de arquivo do Setor de Patologia Animal, não houve acesso aos protocolos de avaliação clínico/cirúrgico dos casos estudados.

Os fragmentos foram reemblocados em parafina, seguindo o protocolo de rotina do Laboratório. Cortes de 5 µm foram obtidos dos fragmentos de osteossarcoma canino em micrótomo automático e distendidos em lâminas histológicas. Os protocolos de rotina do Laboratório de Histopatologia, do Serviço de Patologia da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG, foram utilizados para as

colorações Hematoxilina – Eosina (LUNA, 1968). As lâminas foram montadas com Entellan (Merck) e lamínulas histológicas. A análise foi feita em microscópio de luz comum, inicialmente em menor aumento (32x), seguindo-se aos aumentos subsequentes (100x, 250x e 400x).

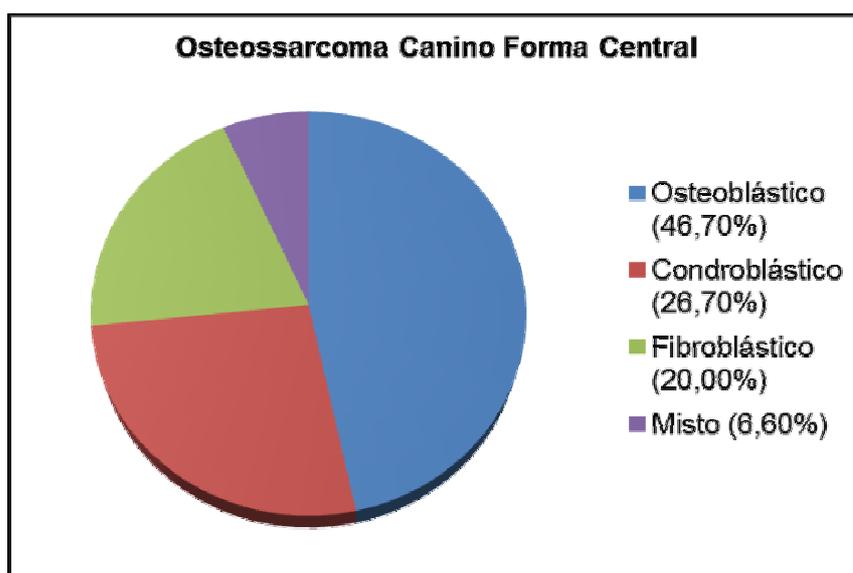
A classificação histológica foi realizada com base na análise das células malignas da matriz, seguindo a Classificação Histológica de Tumores Ósseos e das Articulações dos Animais Domésticos, proposta pela Organização Mundial de Saúde (THOMPSON & POOL, 2002).

As análises foram documentadas por meio de fotomicrografias utilizando-se de um microscópio de luz acoplado a um computador com software de captura de imagens (Leica Application Suite).

Para a análise estatística, foi utilizado o teste não paramétrico  $\chi^2$ .

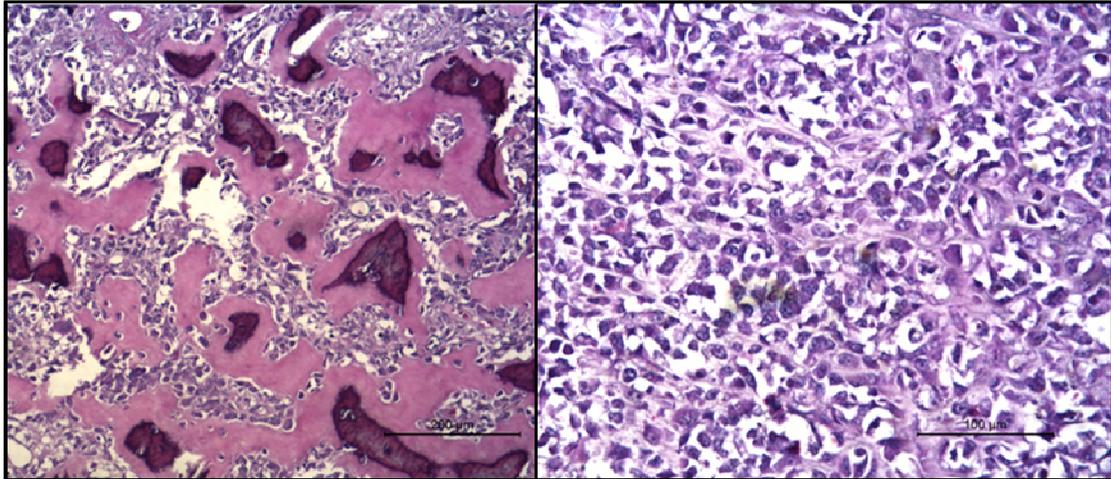
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de registros avaliados, foram reclassificados 15 casos de osteossarcoma de forma central. Destes, sete casos (46,70%) de osteoblástico, quatro casos (26,70%) de condroblástico, três casos (20%) de fibroblástico e um caso (6,60%) apresentando características de forma mista (Figura 1).



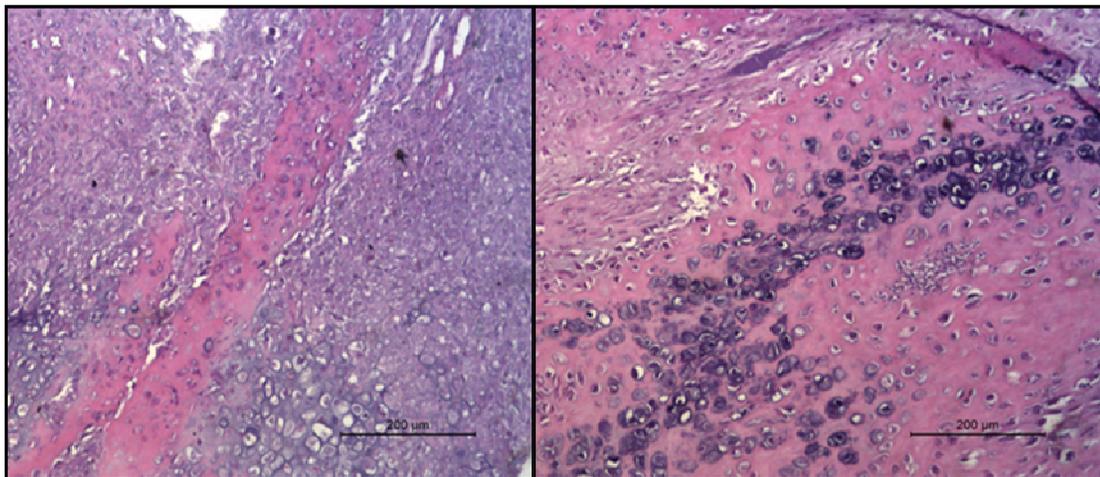
**FIGURA 1** - Total de Osteossarcomas de Forma Central encontrados durante a análise dos arquivos do Laboratório de Patologia Animal/EVZ/UFG

Nas ocorrências de osteossarcoma osteoblástico (Figura 2), foram observadas alterações microscópicas como proliferação de células blásticas, com núcleo de formato oval a alongado, cromatina densa, anisocariose, nucléolo evidente e raras figuras de mitose. O citoplasma dessas células apresentava-se levemente basofílico, com bordas indistintas. A proliferação celular estava separada por uma matriz óssea madura e, por vezes, foram vistas áreas basofílicas intensas, condizentes com matriz óssea neoformada.



**FIGURA 2** - Fotomicrografias de osteossarcoma osteoblástico canino. Notam-se células blásticas, com núcleo de formato oval a alongado, cromatina densa, anisocariose, nucléolo evidente, associado a uma matriz óssea madura. Por vezes foram observadas áreas basofílicas intensas, condizentes com matriz óssea neoformada. HE, 100x e 200x, respectivamente.

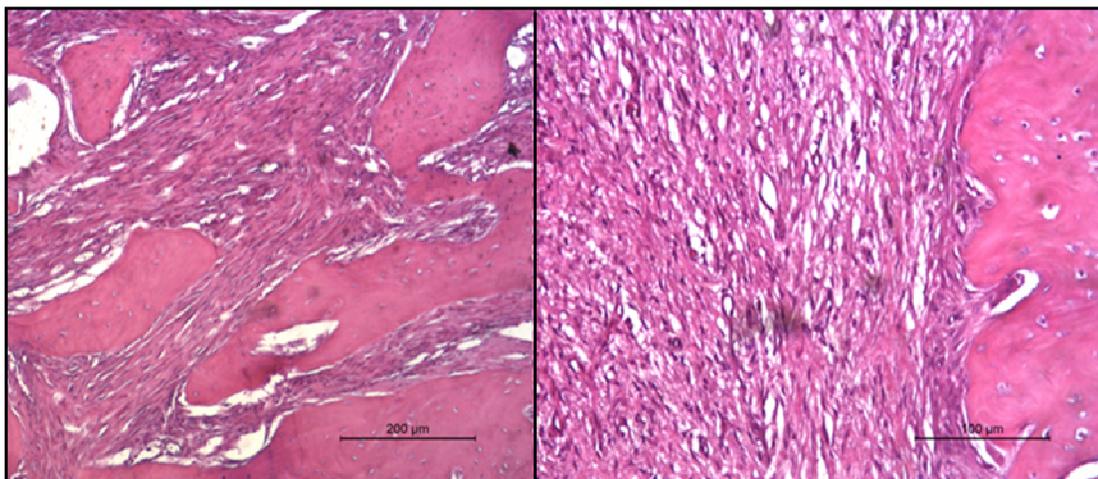
No subtipo condroblástico (Figura 3) havia uma intensa diferenciação das células mesenquimais blásticas em condrócitos neoplásicos, com citoplasma moderado à acentuadamente basofílico, núcleo excêntrico e levemente basofílico com halo claro perinuclear. Os condroblastos estavam separados por uma matriz cartilaginosa, por vezes com aspecto mixóide e, raramente, foram vistas áreas de osteogênese.



**FIGURA 3** – Fotomicrografias de osteossarcoma condroblástico canino com intensa diferenciação das células mesenquimais blásticas em condrócitos neoplásicos, citoplasma moderado a acentuadamente basofílico, núcleo excêntrico e levemente basofílico com halo claro perinuclear. HE, 100x.

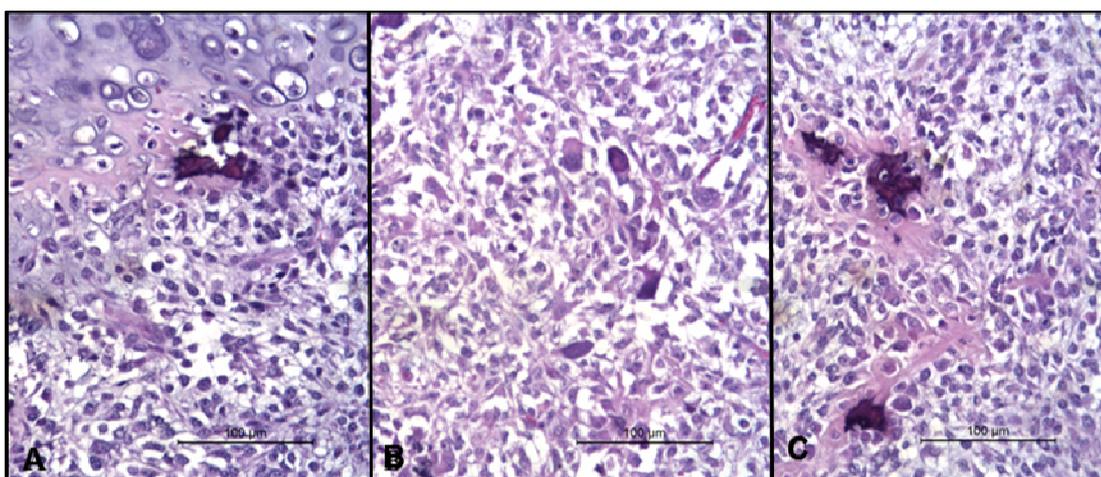
Nos casos de osteossarcoma fibroblástico (Figura 4), as alterações histopatológicas observadas foram de intensa proliferação de células fusiformes, em forma de feixes, com núcleo alongado, cromatina densa, nucléolo evidente, raras figuras de mitose e moderada produção de estroma conjuntivo. Esses feixes

celulares estavam delimitados por trabéculas de tecido ósseo maduro.



**FIGURA 4** – Fotomicrografias de osteossarcoma fibroblástico canino, intensa proliferação de células fusiformes, em forma de feixes, com núcleo alongado, cromatina densa, nucléolo evidente, raras figuras de mitose e moderada produção de estroma conjuntivo. HE, 100x e 200x, respectivamente.

Houve um caso de osteossarcoma misto (Figura 5), onde foi visualizada intensa proliferação de células neoplásicas, com moderado pleomorfismo e anisocariose, nucléolo evidente, citoplasma levemente basofílico e raras figuras de mitoses. Essas células formavam, em todos os campos observados, estruturas multinucleadas, denominadas de células gigantes. Não foi observada formação de tecido ósseo.



**FIGURA 5** – Fotomicrografias de osteossarcoma misto canino, com três subtipos diferentes. A) Padrão condroblástico: com intensa diferenciação das células mesenquimais blásticas em condrócitos neoplásicos. HE, 200x. B) Padrão de células gigantes: com intensa proliferação de células neoplásicas, moderado pleomorfismo e anisocariose, formando estruturas multinucleadas, denominadas de células gigantes. HE, 200x. C) Padrão de osteoblástico: com proliferação de células blásticas, com núcleo de formato oval a alongado. HE, 200x.

A predominância dos casos de osteossarcoma osteoblástico (46,70%) corrobora com os achados de PATNAIK (1990); HAMMER et al. (1995); KIRPENSTEIJN et al. (2002); THOMPSON & POOL (2002); CAVALCANTI et al. (2004) e CUTILLI et al., 2011. Quanto às características observadas destacaram-se a anisocariose e cromatina densa, e de acordo com GOLDSCHMIDT & THRALL (1985) o grau de pleomorfismo celular é variável, podendo-se encontrar células gigantes multinucleadas espalhadas por todo tumor.

O segundo tipo mais encontrado foi o condroblástico (26,70 %). Dos 52 casos avaliados por CAVALCANTI et al. (2004) 22,2% foram classificados como condroblástico, CUTILLI et al. (2011) relataram 15,8%, enquanto HAMMER et al. (1995) encontraram 2% em 45 casos, e KIRPENSTEIJN et al. (2002) 5% de 166 casos de osteossarcoma canino. O aspecto histopatológico de condroblastos separados por uma matriz cartilaginosa estão de acordo com as descrições de PALMER (1992).

Neste estudo, 20% dos osteossarcomas eram fibroblásticos, o que difere do valor de 3,4% relatado por CUTILLI et al. (2011). THOMPSON & POOL (2002) afirmaram que o tipo fibroblástico normalmente apresenta lesões ósseas líticas que geralmente evoluem para forma mista, enquanto suas células fusiformes neoplásicas aumentam sua capacidade de formar matriz óssea mineralizada. A observação das células fusiformes formando feixes e do tecido ósseo maduro nos três casos (20%) analisados confirma essa capacidade do tecido neoplásico. Segundo MISDORP & HART (1979), cães com osteossarcoma fibroblástico têm melhor prognóstico que os outros subtipos. DUMPALA et al. (2012) descreveram os osteossarcomas condroblásticos e fibroblásticos com a mesma probabilidade de ocorrência.

Nenhum caso foi classificado como telangectásico, mas segundo THOMPSON & POOL, 2002 esse tipo é caracteristicamente muito agressivo e pode ser confundido com metástase de hemangiossarcoma. Algumas áreas estão preenchidas por sangue circundado por células neoplásicas e não por células endoteliais (MAHAFFEY & GREENE, 1985; PALMER, 1992; DOIGE & WEISBRODE, 1998). Achados de HAMMER et al. (1995) foram os mesmos em número (9%) para os tipos fibroblástico e telangectásico. No presente estudo foram encontrados padrões condroblásticos, osteoblásticos e de células gigantes no osteossarcoma misto. Dos casos de osteossarcomas centrais mistos, a combinação celular mais relatada é a dos subtipos osteoblástico e condroblástico (KIRPENSTEIJN et al., 2005; CAVALCANTI et al., 2004). HAMMER et al. (1995) encontraram 16% em 45 casos de subtipo misto, o que supera nossos resultados.

## CONCLUSÃO

Diante da metodologia aplicada e os resultados obtidos, pode-se concluir que os casos de osteossarcoma do subtipo osteoblástico são os mais comuns, seguidos pelos condroblásticos, fibroblásticos e misto, o que está de acordo com a literatura consultada.

## REFERÊNCIAS

ANGSTADT, A. Y.; MOTSINGER-REIF, A.; THOMAS, R.; WILLIAM C. KISSEBERTH, W. C.; COUTO, C. G.; DUVAL, D. L.; NIELSEN, D. M.; MODIANO, J. F.; BREEN, M. Characterization of Canine Osteosarcoma by Array Comparative

Genomic Hybridization and RT-qPCR: Signatures of Genomic Imbalance in Canine Osteosarcoma Parallel the Human Counterpart. **Genes, Chromosomes & Cancer**. v.50, p.859–874, 2011.

CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed Editora S/A, 1998, 672p.

CAVALCANTI, J.N. **Osteossarcoma canino: estudo histopatológico, imunoistoquímico e da atividade proliferativa**. 2007. 96f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

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, p.299-305; ISSN printed: 1413-9596; ISSN on-line: 1678-4456, 2004.

CUTILLI, T.; SCARSELLA, S.; DI FABIO, D.; OLIVA, A.; CARGINI, P. High-grade chondroblastic and fibroblastic osteosarcoma of the upper jaw. **Annals of Maxillofacial Surgery**. v.1, p.176–180, 2011.

DOIGE, C. E.; WEISBRODE, S. E. Doenças dos ossos e das articulações. In: CARLTON, W. W.; McGAVIN, M. D. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2ed. Porto Alegre: ArtMed, 1998. p.448-485.

DUMPALA, R. K.; GUTTIKONDA, V. R.; YELURI, S.; MADALA, J. Oral metastasis of chondroblastic osteosarcoma. **Contemporary Clinical Dentistry**. v.3, p.367-369, 2012.

FLORES, R. J.; LI, Y.; YU, A.; SHEN, J.; RAO, P. H.; LAU, S. S.; VANNUCCI, M.; LAU, C. C.; MAN, T. K. **A systems biology approach reveals common metastatic pathways in osteosarcoma**. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1752-0509/6/50>. 2012. Acesso em: 24.01.2013.

GOLDSCHMIDT, M. H.; THRALL, D. E. **Malignant Bone Tumors in the Dog**. Disponível em: [http://www.ivis.org/special\\_books/ortho/chapter\\_74/74mast.asp#osteossarcoma](http://www.ivis.org/special_books/ortho/chapter_74/74mast.asp#osteossarcoma). 1985. Acesso em: 31 de maio de 2006.

HAMMER, A. S.; WEEREN, F. R.; WEISBRODE, S.E.; PADGETT, S. L. Prognostic factors in dogs with osteosarcomas of the flat or irregular bones. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.31, n.12, p.321–326, 1995.

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.

KRAJARNG, A.; NILWARANKOON, S.; SUKSAMRARN, S.; WATANAPOKASIN, R. Antiproliferative effect of a-mangostin on canine osteosarcoma cells. **Research in Veterinary Science**. v.93, p.788-794, 2012.

KUIJER, M. L.; NAMLØS, H. M.; HAUBEN, E. I.; MACHADO, I.; KRESSE, S. H.; SERRA, M.; LLOMBART-BOSCH, A.; HOGENDOORN, P. C. W.; MEZA-ZEPEDA, L. A.; MYKLEBOST, O.; CLETON-JANSEN, A. M. mRNA expression profiles of primary high-grade central osteosarcoma are preserved in cell lines and xenografts. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1755-8794/4/66>. 2011. Acesso em: 13.09.2013.

LANGDON, S. P. Animal Modeling of Cancer Pathology and Studying Tumor Response to Therapy. **Current Drug Targets**. v.13, p.1535-1547, 2012.

LUNA, L.G. **Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3.ed. New York: Mcgrawhill, 1968, 258p.

MAHAFFEY, E. A.; GREENE, E. Hemotorax associated with telangiectatic osteosarcoma in dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 187, n.3, p. 270-272, 1985.

MEHL, M. L.; WITHROW S. J.; SEGUIN, B.; POWERS B. E.; DERNELL W. S.; PARDO, A. D. Spontaneous regression of osteosarcoma in four dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.219, p.614-617, 2001.

MEUTEN, D.J. **Tumors in Domestic Animals**. 4.ed., Iowa: Iowa State Press, 2002, 778p.

MISDORP, W.; HART, A. A. M. Some prognostic and epidemiologic factors in canine osteosarcoma. **Journal National Cancer Institute**, v.62, n.3, p.537-545, 1979.

MORRIS, J.; DOBSON, J. **Small animal Oncology**. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2001, 306p.

MUFF, R.; KUMAR, R. M. R.; BOTTER, S. M.; BORN, W.; FUCHS, B. Genes Regulated in Metastatic Osteosarcoma: Evaluation by Microarray Analysis in Four Human and Two Mouse Cell Line Systems. Disponível em: <http://dx.doi:10.1155/2012/937506>. 2012. Acesso em: 24.01.2013.

NAMLØS, H. M.; KRESSE, S. H.; MÜLLER, C. R.; HENRIKSEN, J.; HOLDHUS, R.; SÆTER, G.; BRULAND, O. S.; BJERKEHAGEN, B.; STEEN, V. M.; MYKLEBOST, O. Global Gene Expression Profiling of Human Osteosarcomas Reveals Metastasis-Associated Chemokine Pattern. Disponível em: <http://dx.doi:10.1155/2012/639038>. 2012. Acesso em: 24.01.2013.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. In: COUTO, C. G. Neoplasias selecionadas em cães e gatos. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. cap. 84, p.1105-1117.

NEUWALD, E.B.; VELGA, D.C.; OLIVEIRA, E.C.; CONTESINI, E. A. Osteossarcoma craniano em um cão. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.34, p.215-219, 2006.

OSBORNE, T. S.; KHANNA, C. A Review of the Association between Osteosarcoma Metastasis and Protein Translation. **Journal of Comparative Pathology**. v.146,

p.132-142, 2012.

OUYANG, L.; LIU, P.; YANG, S.; YE, S.; XU, W.; LIU, X. A three-plasma miRNA signature serves as novel biomarkers for osteosarcoma. **Medical Oncology**. v.30, p.340, 2013.

PALMER, N. Diseases of bones. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**. 4th ed. New York: Academic Press Inc. 1992. v. 1, p. 1-137.

PATNAIK, A. K. Canine extraskelatal osteosarcoma and Chondrosarcomas: a clinicopathologic study of 14 cases. **Veterinary Pathology**. v.27, n.1, p.46-55, 1990.

PRÓSPERO, J.D. **Tumores ósseos**. São Paulo: Editora Roca Ltda., 2001, 280p.

RAO-BINDAL, K.; RAO, C. K.; YU, L.; KLEINERMAN, E. S. **Expression of c-FLIP in Pulmonary Metastases in Osteosarcoma Patients and Human Xenografts**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/pbc.24412>. 2012. Acesso em: 24.01.2013.

REIDY, K.; CAMPANILE, C.; MUFF, R.; BORN, W.; FUCHS, B. mTHPC-Mediated Photodynamic Therapy is Effective in the Metastatic Human 143B Osteosarcoma Cells. **Photochemistry and Photobiology**. v.88, p.721–727, 2012.

ROWELL, J. L.; MCCARTHY, D. O.; ALVAREZ, C. E. Dog models of naturally occurring cancer. **Trends in Molecular Medicine**. v. 17, P.380-388, 2011.

SANTOS, S.O. **Osteossarcoma canino: Relato de casos**. 2009. 48f. TCC (Especialista em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais) – Universidade Castelo Branco.

STEIN, T. J.; HOLMES, K. E.; MUTHUSWAMY, A.; THOMPSON, V.; HUELSMEYER, M. K. Characterization of  $\beta$ -catenin expression in canine osteosarcoma. **Veterinary and Comparative Oncology**. v.9, p.65–73, 2011.

THOMPSON, K. G. Bones and joints. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Phatology of Domestic Animals**. British, 2007. 5ª Ed, p. 01-184.

THOMPSON, K. G.; POOL, R. R. Tumors of bones. In MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 4th ed. EUA: Iowa State Press, 2002, p.245-317.

WOLFE, T. D.; PILLAI, S. P. S.; HILDRETH, 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 and Experimental Metastasis**. v.28, p.377–389, 2011.

ZHANG, G.; LI, M.; JIN, J.; BAI, Y.; YANG, C. Knockdown of S100A4 Decreases Tumorigenesis and Metastasis in Osteosarcoma Cells by Repression of Matrix Metalloproteinase-9. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**. v.12, p.2075-2080, 2011.

ZHANG, Y.; SONG, L.; CAI, L.; WEI, R.; HU, H.; JIN, W. Effects of baicalein on apoptosis, cell cycle arrest, migration and invasion of osteosarcoma cells. **Food and Chemical Toxicology**. v.53, p.325–333, 2013.

ZHAO, H.; GUO, M.; ZHAO, G.; MA, Q.; MA, B.; QIU, X.; FAN, Q. miR-183 inhibits the metastasis of osteosarcoma via downregulation of the expression of Ezrin in F5M2 cells. **International Journal of Molecular Medicine**. v.30, p.1013-1020, 2012.