



Correlação citológica e histopatológica do osteossarcoma rico em células gigantes em felino

Cytological and Histopathological Correlation of Feline Giant Cell-Rich Osteosarcoma

Tâmara de Almeida Jaretta¹, Maria Carolina Marcarini Paganini¹, Ana Carolina de Jesus Pinto¹, Halana do Carmo Silva¹, Mayra Cunha Flecher¹ & Rodrigo dos Santos Horta²

ABSTRACT

Background: Primary bone tumours are uncommon and poorly reported in cats but osteosarcoma (OSA) is the most frequent, mostly in elderly animals. Giant cell-rich OSA is considered rare in the literature representing 3% of all OSA in humans. The mitotic index seems to have a significant effect on the survival time of cats affected by OSA as well as the tumour histopathological grade. The objective of this study was to report the cytological and histopathological findings of a giant cell rich OSA in a 4-year-old cat with persistent feline leukaemia virus (FeLV) antigenaemia.

Case: A 4-year-old male neutered cat was referred with a history of persistent FeLV viraemia and pelvic limb lameness with a firm swelling. Previous radiographs of the affected limb revealed bone lysis in the third and fourth metatarsals and increased soft tissue radiopacity in the tarsal region. The referral veterinary assumed it to be osteomyelitis and initiated clinical treatment with antibiotic and anti-inflammatory. The cat was referred after there was no response to medical treatment. The cat was presented with a 5cm diameter ulcerated mass, with putrid odor in the pelvic limb. Complementary exams were performed, and abnormalities were found, including increased urea, creatinine, calcium and potassium, and decreased sodium and phosphorus. A new radiograph showed exuberant bone proliferation, with increased radiopacity involving tarsal, metatarsal, distal third of tarsal I and II, and distal diaphysis of metatarsal V, without compromising the metaphyseal region of distal diaphysis of metatarsal IV. Chest radiographs and abdominal ultrasound were unremarkable. Fine-needle aspiration was performed for cytological analysis and revealed a moderate amount of pleomorphic mesenchymal cells with moderate adhesion, cytoplasm with a format ranging from fusiform to stellate, pronounced anisocytosis and cellular pleomorphism, and elevated nucleus:cytoplasm ratio. Nucleus was oval and presented loose chromatin, single to double large and evident nucleolus, frequent karyomegaly, along with marked anisocariosis and nuclear pleomorphism. Multinucleated giant cells were common and there was a single mitotic figure in 12 high power fields (0.196 mm² FN20/400x). Therefore, it was suggestive of malignant mesenchymal neoplasia with possibility of OSA, fibrosarcoma or undifferentiated sarcoma. Limb amputation with femoral disarticulation was performed uneventfully. The material was conserved in 10% formalin, submitted to macroscopic and microscopic evaluation, which showed a large number of fusiform and stellate cells, with indistinct edges, scarce eosinophilic cytoplasm, high nucleus:cytoplasm ratio and oval nucleus, presenting moderate to marked anisocariosis, loose chromatin, with unique and evident nucleoli, besides of bone trabeculae. Nuclear pleomorphism was moderate and there was four mitotic figures in three random high-power fields (400x). It was observed areas of vascular ectasia, and neoplastic embolization in lymphatic and blood vessels. Among the cells, collagenous stroma was predominant but in some areas there was an eosinophilic amorphous material with the possibility of osteoid matrix or collagen. There was also a large numbers of multinucleated giant cells. The histopathological result was compatible with a grade III giant cell rich OSA.

Discussion: Although bone tumours are uncommon in cats, OSA is the most frequent, affecting mainly middle-aged to elderly cats, with a mean age of 10 years, which is different from the present report in a 4-year-old cat, with FeLV persistent viraemia. Retroviral status may have influenced the development of the disease at an early onset. FeLV induces uncontrolled cell proliferation through insertional mutagenesis (usually near MYC) inducing malignant neoplasias, mainly lymphoma, but also multiple cartilaginous exostosis, which, along with osteomyelitis and bone cyst were included in this patient's list of differential diagnoses. Despite the macroscopic and radiographical aggressiveness there was no metastasis identified through chest radiographs or abdominal ultrasound, and feline OSA is associated with a lower metastatic rate, if compared to canine OSA. Cytological analysis was compatible with malignant mesenchymal neoplasia, being suggestive of giant cell rich OSA. There is no cytological classification for OSA, however cytological findings of malignancy may be correlated with the patient's clinical course. Cytological features were in agreement with the histopathological findings, compatible with a grade III giant cell rich OSA. Therefore, it is concluded that the characteristics of malignancy presented by cytology were sufficient for the recommendation of amputation of the affected limb, once there was no imaging sign of metastases in the chest or abdomen.

Keywords: cat, neoplasm, bone tumour, mitosis, grade.

Descritores: gato, neoplasia, tumor ósseo, mitose, graduação.

DOI: 10.22456/1679-9216.101080

Received: 9 November 2019

Accepted: 24 March 2020

Published: 30 April 2020

¹Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha (UVV), Vila Velha, ES, Brazil. ²Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil. .CORRESPONDENCE: R.S. Horta [rodrigohvet@gmail.com]. Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio Carlos n. 6627. CEP 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil.

INTRODUÇÃO

O osteossarcoma (OSA) é o tumor ósseo primário mais comum nos gatos [6,15], entretanto corresponde a apenas 1% dos processos malignos nessa espécie [14]. Podem ser classificados em medular, parosteal, associado a fraturas e extraesquelético, porém o OSA de origem medular é o mais comum [12]. O acometimento apendicular é mais frequente, porém pode ocorrer no esqueleto axial como pelve, mandíbula e maxila [16]. Metástases distantes são reportadas em 8 a 16% dos gatos [2,22]. O diagnóstico é obtido pela união de sinais clínicos, localização tumoral, exames de imagem, citologia e histopatologia [8,20]. Dentre os sinais clínicos destacam-se, no caso de acometimento do esqueleto apendicular, claudicação, apoio em pinça, dor relacionada à microfraturas ou interrupção do periósteo pela osteólise, tumefação local e mobilidade articular diminuída [4,16] podendo ocorrer fratura patológica secundária ao tumor ósseo [4]. A cirurgia é o tratamento de escolha para o OSA apendicular [10,22], e a amputação é recomendada para prolongar o tempo de vida destes pacientes [12]. Para o OSA axial a combinação de cirurgia e quimioterapia possibilita o aumento do tempo de sobrevivência [6,19]. O prognóstico dos gatos acometidos é avaliado a partir do estadiamento clínico e características histopatológicas [6]. Gatos com tumores de alto índice mitótico e invasão de células tumorais para vasos sanguíneos apresentam pior prognóstico [6]. O objetivo deste estudo foi relatar as alterações citológicas e histopatológicas de um caso de OSA rico em células gigantes em um gato de quatro anos de idade, com antigenemia persistente pelo vírus da leucemia felina (FeLV).

CASO

Um gato doméstico, sem raça definida, macho, castrado, de quatro anos de idade, foi encaminhado com histórico de viremia persistente pelo FeLV (diagnosticado pelo SNAP teste Combo FIV/FeLV IDEXX)¹ e claudicação do membro pélvico esquerdo com um aumento de volume firme medindo aproximadamente 2 cm de diâmetro, com um tempo de evolução estimado em 45 dias. O paciente já tinha realizado um exame radiográfico do membro acometido (Figura 1A), apresentando lise óssea em terceiro e quarto metatarso e aumento de volume tecido mole na região de tarso, cujo diagnóstico presuntivo foi osteomielite. Havia sido prescrito meloxicam (Maxicam[®])², 0,05 mg/kg a

cada 24 h, durante cinco dias, sem melhora, seguido de tratamento com cefalexina (PetSporin[®])³, 20 mg/kg, a cada 12 h, durante 30 dias.

À inspeção observou-se aumento de volume de aproximadamente 5,0 cm de diâmetro, com ulceração e odor pútrido. Realizou-se coleta de sangue, mas não foram observadas alterações no hemograma, enquanto, na bioquímica sérica observou-se aumento de uréia (81,8 mg/dL; Ref= 42,8-64,2 mg/dL), creatinina (2,2 mg/dL; Ref= 0,8-1,8 mg/dL), cálcio (19,7 mg/dL; Ref= 6,2-10 mg/dL) e potássio (4,9 mEq/L; Ref= 4,0-4,5 mEq/L), além de diminuição de sódio (141 mEq/L; Ref= 147-156 mEq/L) e fósforo (4,2 mg/dL; Ref= 4,5-8,1 mg/dL). As enzimas alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e gama glutamil transferase apresentaram-se dentro dos respectivos intervalos de referência.

O paciente foi submetido a uma nova radiografia do membro pélvico esquerdo (Figura 1B), que permitiu a observação de proliferação óssea exuberante, com aumento da radiopacidade envolvendo tarso, metatarso, terço distal de tarso I e II, e diáfise distal do metatarso V, sem comprometer a região de diáfise distal de metatarso IV, apesar do acentuado aumento de volume dos tecidos moles ao redor do tarso e metatarso. A radiografia torácica em três projeções (lateral esquerda e direita, ventro-dorsal) e ultrassonografia abdominal para pesquisa de metástase estavam sem alterações. As suspeitas clínicas incluíram neoplasia óssea, exostose múltipla cartilaginosa, cisto ósseo e osteomielite.



Figura 1. Imagem radiográfica do membro pélvico esquerdo. A- Primeira radiografia (oblíqua esquerda), no início do quadro clínico. Lise óssea em terceiro e quarto metatarso e aumento de volume tecido mole em tarso. B- Segunda radiografia (crânio-caudal), após 45 dias do início do quadro clínico. Proliferação óssea exuberante, com aumento da radiopacidade envolvendo tarso, metatarso, terço distal de tarso I e II, e diáfise distal do metatarso V e acentuado aumento de volume dos tecidos moles ao redor do tarso e metatarso.

Realizou-se a punção aspirativa por agulha fina, guiada pela imagem radiográfica, para obtenção de amostra para análise citológica, que revelou moderada a acentuada quantidade de células mesenquimais pleomórficas com leve a moderada adesividade, citoplasma com formato fusiforme a estrelado, anisocitose e pleomorfismo celular acentuados e alta relação núcleo:citoplasma. O núcleo era oval e apresentava cromatina frouxa, nucléolo variando de único a duplo, grande e aberrante, cariomegalia frequente, anisocariose e pleomorfismo nuclear acentuados. Células gigantes multinucleadas foram frequentes ao longo da lâmina e uma figura de mitose foi observada em 12 campos de maior aumento (0,196 mm² FN20/400x). O resultado foi sugestivo de neoplasia mesenquimal maligna com possibilidade de OSA, fibrossarcoma ou sarcoma indiferenciado (Figura 2A e B).

Após o diagnóstico citológico recomendou-se a cirurgia para amputação do membro. A medicação pré-anestésica foi realizada com metadona (0,3 mg/kg, pela via intramuscular) e a indução anestésica com propofol (Provive 1%®)⁴, 8 mg/kg, pela via intravenosa. Foi realizada anestesia epidural com morfina (Dimorf®)⁵, 0,1 mg/kg e bupivacaína (Neocaína®)⁵, 1 mg/kg. O gato foi intubado e mantido em anestesia inalatória com isoflurano (Isoforine®)⁵ dose-efeito. A técnica cirúrgica realizada foi a desarticulação coxo-femoral, realizada a partir de uma incisão na pele ao redor do membro posterior ao nível do terço médio do fêmur e estendida para a parte distal. Realizou-se a separação individual e secção dos grupos musculares e ligaduras das veias e artérias com fio de poliglatina-910 calibre 3-0. Em seguida realizou-se a incisão na cápsula articular e secção do ligamento da cabeça do fêmur.

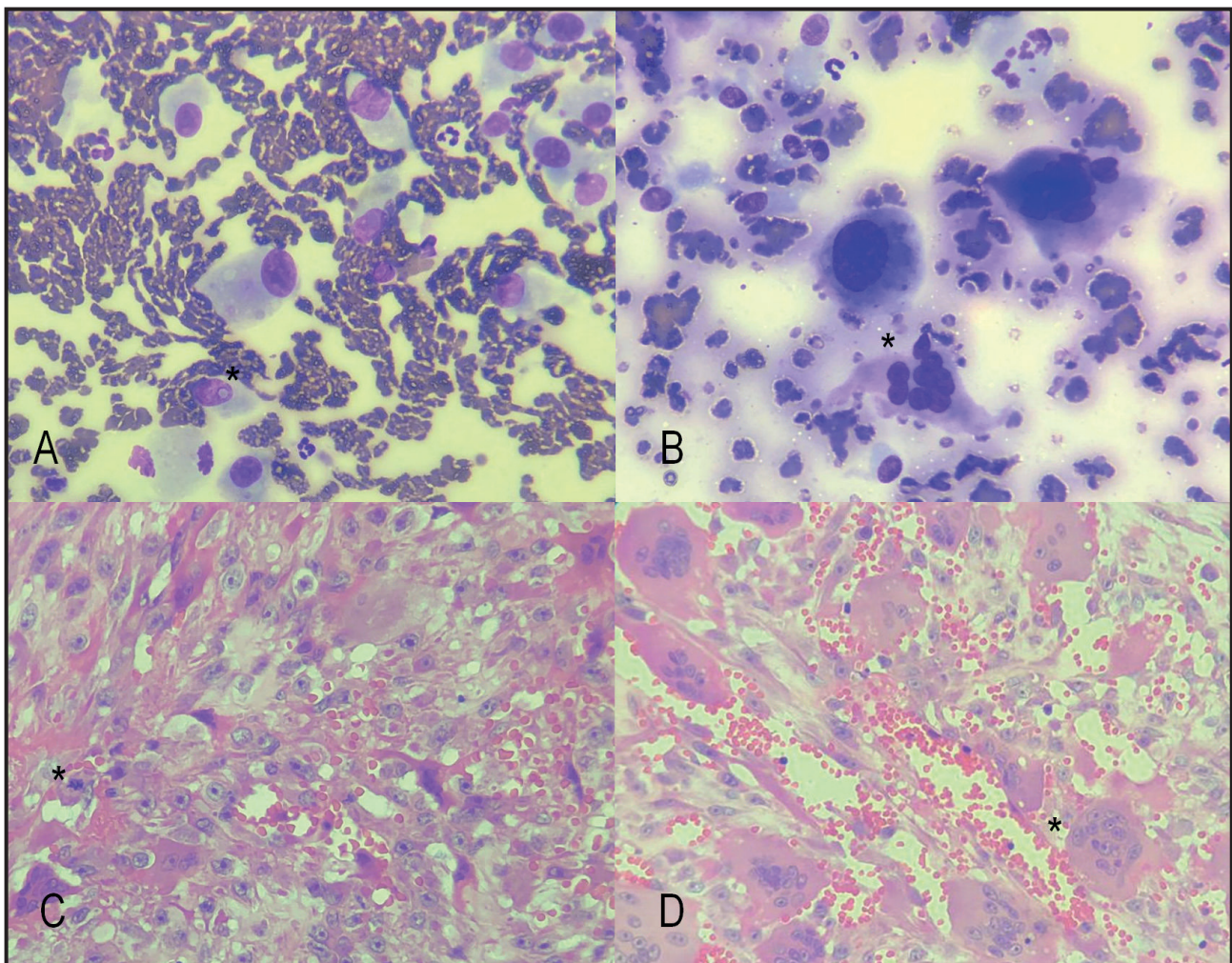


Figura 2. Osteossarcoma rico em células gigantes de grau III em um gato doméstico. A- Citologia revelando células fusiformes a estreladas com elevada relação núcleo:citoplasma, cromatina grosseira e nucléolo proeminente (*) [Diff-Quick; 100x]. B- Citologia com células gigantes multinucleadas (*) [Diff-Quick; 100x]. C- Histopatologia evidenciando células fusiformes a estreladas com elevada relação núcleo:citoplasma, nucléolo proeminente e figura de mitose (*) [HE; 400x]. D- Histopatologia com células gigantes multinucleadas (*) [HE; 400x].

O nervo ciático foi exposto e seccionado. A cápsula articular foi seccionada em toda sua circunferência e o membro foi removido. O fechamento da ferida foi realizado em três planos: musculatura e subcutâneo com fio de poliglatina-910 calibre 3-0 e pele com sutura de colchoeiro horizontal interrompida (Wolff) com fio de nylon calibre 3-0. O material retirado foi fixado em formalina 10%, submetido à avaliação macroscópica e submetido ao processamento de rotina e coloração com Hematoxilina e Eosina (HE) para avaliação microscópica.

Na macroscopia a lesão foi caracterizada por aumento de volume focalmente extenso envolvendo desde o calcâneo aos metatarsos, causando deformidade das falanges. Observou-se área com ulceração superficial bem delimitada medindo aproximadamente 5,0 cm de diâmetro, irregular em região de maior proeminência da massa que apresentava, ainda, superfície regular e consistência fibroelástica firme. À análise submacroscópica foi observado uma neoformação pouco delimitada, não encapsulada, que se estendia da epiderme aos tecidos profundos. Microscopicamente observou-se grande quantidade de células estreladas a fusiformes, com bordos indistintos, citoplasma escasso, eosinofílico, alta relação núcleo:citoplasma, núcleo ovalado, apresentando anisocariose moderada a acentuada, cromatina frouxa, nucléolo predominantemente único e evidente, além da presença de trabéculas ósseas. O pleomorfismo nuclear foi moderado e foram observadas quatro figuras de mitose em três campos aleatórios de grande aumento (400x). Foram observadas áreas com ectasia vascular, e embolização neoplásica em vasos linfáticos e sanguíneos. Entre as células predominava-se estroma colagenoso e em algumas áreas foi observado material amorfo eosinofílico com possibilidade de matriz osteóide ou colágeno. Frequentes células gigantes multinucleadas foram observadas ao longo da amostra. Resultado foi compatível com OSA rico em células gigantes de grau III (Figura 2C e D).

O paciente se recuperou bem da cirurgia, e, após a retirada da sutura de pele, iniciou tratamento quimioterápico com carboplatina (B-Platin[®]), 250 mg/m², intravenoso, a cada 21 dias. Entretanto, 10 dias após a segunda sessão, o paciente deu entrada no hospital com um quadro grave de icterícia e inapetência. Foi internado e iniciou tratamento com metronidazol (Metronidazol[®]), 7,5 mg/kg, pela via intravenosa, a cada

12 h, amoxicilina com ácido clavulânico (Doclaxin[®]), 22 mg/kg, pela via intravenosa, a cada 8 h, ondansetrona (Nause-dron[®]), 1 mg/kg, pela via intravenosa, a cada 8 h, silimarina (Legalon[®]), 50 mg/kg, pela via oral, a cada 12 h, ácido Ursodesoxicólico (Ursacol[®]), 5 mg/kg, pela via oral, a cada 8 h, junto com a alimentação. Entretanto, houve rápida deterioração do quadro e óbito após cinco dias. A autópsia não foi autorizada, mas as suspeitas clínicas incluíram anemia hemolítica imunomediada e tríade felina.

DISCUSSÃO

Apesar dos tumores ósseos serem incomuns nos gatos, o OSA é o mais frequente, acometendo principalmente gatos de meia idade a idosos, com idade média de 10 anos [8,16]. Porém, no presente relato o gato apresentou o tumor com quatro anos de idade, não correspondendo a idade média proposta pela literatura, porém de acordo com Farjanikish [9] que descreve um caso de OSA, também rico em células gigantes, em um felino de quatro anos, sem informação sobre infecção retroviral [9].

O status retroviral do paciente no presente relato, pode ter contribuído para o desenvolvimento da doença em idade precoce. Após a infecção pelo FeLV, aproximadamente 30% dos gatos tornam-se persistentemente virêmicos, com aumento do risco do desenvolvimento de neoplasias malignas, particularmente linfomas, tendo em vista que ocorre a inserção do seu genoma celular próximo a um oncogene celular (geralmente o MYC) que resulta em ativação e hiperexpressão gênica, induzindo à proliferação celular descontrolada e formação de neoplasias malignas, com destaque para neoplasias hematopoiéticas, a exemplo dos linfomas e leucemias linfóides agudas, mas também outros processos proliferativos, como a exostose múltipla cartilaginosa, que, juntamente com a osteomielite e o cisto ósseo, foram incluídos na lista de diagnósticos diferenciais desse paciente [7,11].

Os exames radiográficos e a avaliação citológica podem auxiliar no diagnóstico, conforme demonstrado neste estudo, porém o diagnóstico definitivo é obtido através da histopatologia [7]. No primeiro exame radiográfico haviam evidências de lise óssea, o que permite incluir o OSA na lista de diagnósticos diferenciais, como descrito por Thrall [21], que relata uma lesão óssea predominantemente metafisária e lítica. Thompson & Dittmer [20] apontam que o comportamento agressivo da lesão óssea pode ser melhor

identificado na radiografia, até mesmo se comparado com a histopatologia, com acentuada destruição óssea, calcificação tumoral e reação periosteal. O animal foi submetido à radiografia torácica e ultrassonografia para pesquisa de metástases, mas não foram observadas lesões compatíveis, o que entra em acordo com a literatura que enfatiza o fato do OSA felino apresentar baixo potencial metastático para sítios distantes, com taxas de 5-10%, enquanto cães apresentam 90-98% de chance de desenvolvimento de metástases [7]. Nos gatos, da mesma forma que nos cães, as metástases ocorrem preferencialmente para o pulmão [2,22].

Heldmann, Anderson & Wagner-Mann [12] relatam que há uma maior frequência no acometimento de membros pélvicos pelo OSA em gatos, como observado neste relato. Fêmur e tíbia são os ossos mais acometidos, mas o paciente deste relato teve acometimento dos ossos do tarso e metatarso.

De acordo com North & Banks [18], poderia ser observada elevação dos níveis séricos de fosfatase alcalina, entretanto, não houveram alterações no presente relato. A isoforma óssea da fosfatase alcalina está presente na membrana plasmática de osteoblastos (normais e malignos), nos quais participa do início da mineralização esquelética. O aumento de sua atividade pode estar relacionada à maior expressão de endotelina-1 do receptor de endotelina-A, que também promove a proliferação, sobrevivência e migração celular, correlacionando-se, nos cães, a um prognóstico desfavorável para o OSA [3,17].

A análise citológica realizada foi compatível com neoplasia mesenquimal maligna, sendo sugestiva de OSA rico em células gigantes. Dentre as características de malignidade observou-se a moderada celularidade, anisocitose e pleomorfismo celular acentuados, elevada relação núcleo:citoplasma, cromatina frouxa, nucléolo proeminente e cariomegalia freqüente [1], permitindo o direcionamento cirúrgico, conforme proposto por diversas pesquisas [10,19,22]. Não existe uma classificação citológica para o OSA, entretanto os achados citológicos de malignidade podem estar correlacionados com a evolução clínica do paciente [7]. A citologia realizada em um caso de OSA extraesquelético [1] revelou, ainda, um infiltrado eosinofílico, porém na análise citológica do presente relato não foi observado infiltrado inflamatório.

Na histopatologia, o OSA felino compreende uma massa neoplásica heterogênea de células que

produzem matriz osteóide [9,12]. Podem ser subclassificados como pouco diferenciado, osteoblástico, condroblástico, fibroblástico, telangiectásico, rico em células gigantes e misto, entretanto, essa classificação não tem relação com o prognóstico em seres humanos, cães e gatos com OSA [5,6,8,9,20]. A subclassificação foi baseada no que foi descrito por Thompson & Dittmer [20], e os achados foram semelhantes ainda ao observado no OSA rico em células gigantes [9]. O OSA rico em células gigantes foi descrito pela primeira vez em seres humanos sendo considerado raro pela literatura, correspondendo a 3% de todos os casos de OSA [9]. O OSA osteoblástico e misto foram os mais frequentes em gatos em estudo anterior [6]. O aumento do índice mitótico encontra-se associado à redução do intervalo livre de doença, entretanto, nenhum ponto de corte foi proposto na espécie felina [6].

A graduação histopatológica parece influenciar no prognóstico de seres humanos, cães e gatos com OSA [6,13]. A classificação de Kirpensteijn *et al.* [13] foi adaptada para utilização em gatos, por Dimopoulou *et al.* [6] (Tabela 1), e também neste estudo, considerando invasão vascular, pleomorfismo celular, número de mitoses, percentual de matriz tumoral, necrose e número de células gigantes multinucleadas. A graduação elevada (grau III) foi atribuída, mesmo que intervalos de escores não tenham sido definidos na literatura consultada para cada graduação, considerando a invasão tumoral para vasos sanguíneos e linfáticos (considerada por Kirpensteijn *et al.* [13] como um fator isolado para a classificação como grau III), mas também o elevado número de mitoses (quatro figuras em três campos de maior aumento), moderado pleomorfismo celular e presença de trabéculas ósseas.

Apesar das áreas de embolização vascular e linfática, não havia metástase para o linfonodo regional, corroborando o fato de haver um baixo potencial metastático [7], mas que sugeriu a importância de complementação com quimioterapia sistêmica optando-se pela utilização da carboplatina que tem seu uso recomendado nos casos de OSA, bem como a doxorubicina e a cisplatina [22], sendo esse último não recomendado para a espécie felina devido a sua toxicidade, potencialmente fatal [15].

Dessa forma conclui-se que as características de malignidade apresentadas pela citologia, foram suficientes para a recomendação de amputação do membro acometido, diante do estadiamento clínico

Tabela 1. Critérios para graduação histopatológica do osteossarcoma em gatos*.

Característica histológica/escore	0	1	2	3
Matriz tumoral	-	>50%	25-50%	<25%
Densidade tumoral	-	<25%	25-50%	>50%
Necrose	-	<25%	25-50%	>50%
Pleomorfismo celular	-	<25%	25-50%	>50%
Mitoses (em três campos aleatórios de 400x)	0	-	1	>1
Células tumorais em vasos sanguíneas	Não	-	-	Sim
Células gigantes multinucleadas	Ausente	Mínima	Moderada	Elevada
Formação trabecular	Ausente	Mínima	Moderada	Elevada

*Adaptado de Kirpensteijn *et al.* 2002 [13] e Dimopoulou *et al.* 2008 [6].

que não demonstrou metástases no tórax ou abdômen. O status retroviral deste paciente pode ter influenciado no desenvolvimento do OSA em idade precoce, mas novos estudos são necessários para investigação dessa associação.

MANUFACTURERS

¹IDEXX Brasil Laboratórios Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

²Ouro Fino Saúde Animal. Cravinhos, SP, Brazil.

³Mundo Animal. Pindamonhangaba, SP, Brazil.

⁴União Química Farm. Nacional S.A. Embu-Guaçu, SP, Brazil.

⁵Cristália Prod. Quím. Farm. Ltda. Itapira, SP, Brazil.

⁶Blau Farmacêutica S.A. Cotia, SP, Brazil.

⁷Isofarma Industria Farmacêutica Ltda. Eusébio, CE, Brazil.

⁸Takeda Pharma Ltda. Jaguariúna, SP, Brazil.

⁹Zambon Laboratórios Farmacêuticos Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this paper.

REFERENCES

- 1 Almela R., Von Bomhard W., Ansón A. & Mayer U. 2017.** Subcutaneous extraskelletal osteosarcoma in a metatarsal footpad in a cat. *Veterinary Dermatology*. 28(5): 524-e129.
- 2 Baum J.I., Skinner O.T. & Boston S.E. 2018.** Fracture-associated osteosarcoma of the femur in a cat. *Canadian Veterinary Journal*. 59: 1096-1098.
- 3 Boerman I., Selvarajah G.T., Nielen M. & Kirpensteijn J. 2012.** Prognostic factors in canine appendicular osteosarcoma- a meta- analysis. *BMC Veterinary Research*. 56(8): 1-12.
- 4 Breitreiter K. 2019.** Late-onset osteosarcoma after onychectomy in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*. 5(1). [Fonte: <<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2055116919842394>>] [Accessed online in August 2019].
- 5 Dernell W.S. 2011.** Tumours of the skeletal system. In: Dobson J. & Lascelles D. (Eds). *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*. 3rd edn. London: BSAVA, 376p.
- 6 Dimopoulou M., Kirpensteijn J., Moens H. & Kik M. 2008.** Histologic Prognosticators in Feline Osteosarcoma: A Comparison with Phenotypically Similar Canine Osteosarcoma. *Veterinary Surgery*. 37: 466-471.
- 7 Ehrhart N.P., Ryan S.D. & Fan T.M. 2013.** Tumors of the skeletal system. In: Withrow S.J., Vail D.M. & Page R.L. (Eds). *Small Animal Clinical Oncology*. 5th edn. St. Louis: Elsevier, 463p.
- 8 Ens M.T.B., Stocco M.B., Gomes L.G.G., Soares L.M.C., Dower N.M.B., Menegassi C.C., Guimarães L.D., Colodel E.M. & Souza R.L. 2017.** Hemipelvectomy total em um gato com osteossarcoma osteoblástico. *Acta Scientiae Veterinariae*. 45(1): 190.
- 9 Farjanikish G.H., Dezfoulian O. & Mohammadi H. 2018.** Metastatic giant cell osteosarcoma in a cat. *Veterinary Research Forum*. 9(3): 289-292.
- 10 Fry P.D. & Jukes H.F. 1995.** Fracture associated a sarcoma in the cat. *Journal of Small Animal Practice*. 36(3): 124-126.

- 11 **Hartmann K. 2012.** Infecções pelo vírus da leucemia felina In: Greene C.E. (Ed). *Doenças Infeciosas em Cães e Gatos*. 4.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp.113-142.
- 12 **Heldmann E., Anderson M.A. & Wagner-Mann C. 2000.** Feline Osteosarcoma: 145 Cases (1990–1995). *Journal of the American Animal Hospital Association*. 36(6): 518-521.
- 13 **Kirpensteijn J., Kik M., Rutteman G.R. & Teske E. 2002.** Prognostic significance of a new histologic grading system for canine osteosarcoma. *Veterinary Pathology*. 39: 240-246.
- 14 **Little S.E. 2015.** Oncologia. In: *O Gato - Medicina Interna*. Cap.28. 2.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp.1097-1149.
- 15 **Nelson R.W. & Couto C.G. 2015.** Neoplasias selecionadas em cães e gatos. Osteossarcoma. In: *Medicina Interna de Pequenos Animais*. Cap.79. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.3447-3453
- 16 **Neto J.M.C., Estrela-Lima A.S., Ribeiro L.G.R., Carneiro R.S., Martins Filho E.F., Moraes V.J., Silva W.M. & Oriá A.P. 2011.** Osteossarcoma mandibular em gato: relato de Caso. *Medicina Veterinária*. 5(4): 26-33.
- 17 **Neumann Z.L., Pondenis H.C., Masyr A., Byrum M.L., Wyclo K.L. & Fan T.M. 2015** The association of endothelin-1 signaling with bone alkaline phosphatase expression and protumorigenic activities in canine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 29(6): 1584-1594.
- 18 **North S. & Banks T. 2009.** In: *Introduction to Small Animal Oncology*. Chap.3. St. Louis: Elsevier, pp.11-15
- 19 **Sonnenschein B., Dickomeit M.J. & Bali M.S. 2012.** Late-onset fracture-associated osteosarcoma in a cat. *Veterinary Comparative Orthopedics Traumatology*. 25: 418-420.
- 20 **Thompson K.G. & Dittmer K.E. 2017.** Tumors of bone. In: *Tumors in Domestic Animals*. 5th edn. Online: John Wiley & Sons, pp.356-359.
- 21 **Thrall D. 2014.** *Diagnóstico de Radiologia Veterinária*. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 864p.
- 22 **Wolfesberger B., Fuchs-Baumgartinger A., Hlavaty J., Meyer F.R., Hofer M., Steinborn R., Gebhard C. & Walter I. 2016.** Stem cell growth factor receptor in canine vs. feline osteosarcomas. *Oncology Letters*. 12: 2485-2492.