

Osteossarcoma osteoblástico nasal em um bovino Wagyu

Osteoblastic Nasal Osteosarcoma in a Wagyu Bovine

Alex dos Santos¹, Cláudia Cerutti Dazzi¹, Tanise Policarpo Machado¹, Eraldo Lourenso Zanella²,
Ricardo Zanella², Marcio Machado Costa², Rubens Rodriguez³ & Adriana Costa da Motta¹

ABSTRACT

Background: Osteosarcoma is a malignant mesenchymal tumor with a wide variety of histological patterns. It is the primary bone neoplasia diagnosed in most domestic animal clinic, but rare in farm animals. The tumor develops both the appendicular skeleton as the axial skeleton, the latter being less affected. Generally it has a fast, painful and infiltrative grow, being observed metastasis. This study aims to report a case of metastatic osteoblastic osteosarcoma in the nasal bone of a bovine, diagnosed at the Animal Pathology Laboratory at the University of Passo Fundo (UPF), featuring its pathological and immunohistochemical aspects.

Case: A 5 year old Wagyu female beef cattle, was treated at the Veterinary Hospital of the University of Passo Fundo. The animal had swelling in the left nasal plan, dyspnoea and anorexia. It was held cytology and biopsy which revealed malignant mesenchymal neoplasm compatible with osteosarcoma. The clinical picture has worsened and the animal died. At necropsy, the left nasal plane, had ulcerated tumor mass measuring 15x12.5x7.5 cm, hard and firm consistency with whitish color that seeped up to the turbinates and sinuses. In the lung, there were numerous nodules of tumor appearance, adhered to the parietal pleura, similar to bone tissue. In the histopathological analysis, proliferation of neoplastic cells located in the deep dermis was observed, cell thick, well-defined and infiltrative, arranged in bundles, loosely grouped with rounded shape, sometimes oval, with distinct boundaries. There were areas with formation of osteoid matrix calcification and tumor necrosis. It was observed lung and regional lymph nodes metastasis. Tissue samples were subjected to immunohistochemistry (IHC), was performed using the polymer method with horseradish peroxidase (HRP), with positive control, using a panel of antibodies. Neoplastic cells were immunoreactive for vimentin and negative for other antibodies. Thus, confirmed the case of mesenchymal origin and bone tumor.

Discussion: Osteosarcoma developing in the axial skeleton, more precisely in the nasal bone, in animals of this age group, is not found frequently in the literature. However, when they occur, they have unilateral injury, remarkable facial deformities, dyspnea and infiltration of adjacent tissues. During necropsy there was observed a mass of hard consistency suggesting bone tissue in the nasal plane, there was also observed whitish spots on the lung and lymph nodes. Through microscopic analysis was obtained the classification of osteoblastic osteosarcoma. Being a malignant tumor it has a fast and infiltrative growth, there was visualized metastasis in lung and mediastinal lymph nodes. The samples submitted to immunohistochemistry were positive for vimentin and negative for other antibodies. No treatment with chemotherapy, radiation therapy or surgical intervention to remove the tumor was possible to be performed. Due to the severity of the clinical condition, the mass location, which couldn't be obtained a safe surgical margin and it was financially unviable. The presumptive diagnosis of osteosarcoma was based on clinical history, anamnesis and cytological examination. However, the histopathological examination was essential to confirm the diagnosis. Through immunohistochemical examination, it was found the histogenesis, allowing to exclude other neoplasias. This technic was essential to characterize osteosarcoma due to the shortage reports of this neoplasia in farm animals, therefore, very important in veterinary medicine diagnosis.

Keywords: neoplasia, bone, axial skeleton, ruminant, immunohistochemical and anatomopathological aspects.

INTRODUÇÃO

Osteossarcoma é a principal neoplasia óssea diagnosticada na clínica de animais domésticos [6], porém, em grandes animais, sua ocorrência é rara [14,18]. Pode ser classificado como simples, composto ou pleomórfico [3]. Ou ainda, ser classificado segundo o tipo celular presente, como osteoblástico, fibroblástico, condroblástico, telangiectásico, pouco diferenciado e do tipo células gigantes [17].

A incidência é maior em animais adultos, ocorrendo, geralmente, metástase para linfonodos e pulmão [18]. Rotineiramente, a neoplasia afeta o esqueleto apendicular, embora, com menor frequência, possa desenvolver-se no esqueleto axial [14]. Os poucos relatos encontrados em grandes animais envolvendo a face indicam um prognóstico desfavorável [13,17]. O tratamento cirúrgico nestes casos é complicado, pois devido à localização, se torna difícil obter margem de segurança [11].

Os sinais clínicos decorrentes de tumores nasais são dispneia, secreção nasal, estridor, epistaxe, respiração oral forçada e distorção dos ossos faciais [18]. O diagnóstico presuntivo baseia-se no histórico clínico, exame clínico, radiográfico e citológico. Contudo, o diagnóstico definitivo é obtido através do exame histopatológico [12]. O presente trabalho tem por objetivo relatar um caso de osteossarcoma osteoblástico nasal metastático em um bovino, diagnosticado no Laboratório de Patologia Animal da Universidade de Passo Fundo (LPA-UPF), caracterizando seus aspectos anatomopatológicos e imuno-histoquímicos.

CASO

Um bovino da raça Wagyu, fêmea, de cinco anos de idade, proveniente de uma propriedade localizada na região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, foi recebido para atendimento no Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo (HV-UPF). O animal apresentava aumento de volume no plano nasal esquerdo, dispneia e anorexia. Foi realizado coleta de sangue para realização de exames bioquímicos e exame citológico da lesão. O exame bioquímico não apresentou alterações, os valores observados apresentavam-se dentro dos parâmetros normais para a espécie. O exame citológico revelou população de células mesenquimais de aspecto arredondado a fusiforme, apresentando anisocitose, basofilia, vacuolização citoplasmática, anisocariose, nucléolos evidentes, multinucleação e figuras de mitose atípicas, compatível com osteossarcoma. Posteriormente, foram

realizadas duas biópsias incisionais, uma de pele e outra intranasal, e encaminhadas para exame histopatológico no LPA-UPF. O fragmento de pele media, aproximadamente, 2 cm e possuía coloração brancacenta, por vezes com áreas acastanhadas. O fragmento intranasal media entre, 0,5 a 1,5 cm e apresentava coloração brancacenta, por vezes com áreas pardacentas. Ambas as amostras eram de consistência firme. À avaliação histopatológica foi observada proliferação de células neoplásicas estendendo-se além das bordas de clivagem, densamente celular e infiltrativa. As células estavam dispostas em feixes, frouxamente agrupadas, com formato arredondado, por vezes ovaladas, com limites distintos e citoplasma escasso, de aspecto fibrilar. O núcleo era central, hiper-cromático, com cromatina grosseiramente pontilhada e com nucléolo evidente. Havia áreas com formação de matriz osteoide, calcificação e necrose tumoral (Figuras 1 & 2). Estes achados foram compatíveis com osteossarcoma osteoblástico. O animal permaneceu internado, porém o quadro clínico se agravou devido à dispneia. Assim, foi realizado traqueostomia, contudo, não houve melhora. Logo, o bovino veio a óbito e foi encaminhado para exame anatomopatológico. À necropsia, durante o exame externo, observou-se no plano nasal esquerdo, a presença de uma massa tumoral ulcerada medindo 15x12,5x7,5 cm, de consistência firme e coloração brancacenta. Na porção que ocupava os cornetos, possuía consistência dura e aspecto ósseo. Foi realizado corte sagital da cabeça, onde foi constatado que a massa ocupava porções do osso nasal e maxilar superior e infiltrava-se para os cornetos e seios nasais, ocluindo a totalidade do espaço respiratório (Figura 3). Em sua maioria, o tumor localizava-se na região rostral, no lado esquerdo da face, entre os olhos e focinho. À abertura da cavidade torácica havia numerosos nódulos pulmonares, de aspecto tumoral, que variavam de 3 a 5 cm de comprimento, aderidos à pleura parietal. Os nódulos eram brancacentos a acinzentados, com eventuais áreas centrais amareladas de consistência dura, sugerindo tecido ósseo. Os linfonodos mediastínicos apresentavam linfadenomegalia devido à presença de massa anormal de tecido. Amostras de todos os órgãos foram coletadas e fixadas em formalina tamponada a 10%, processadas rotineiramente para exame histopatológico e coradas pela Hematoxilina-Eosina (HE). O exame histopatológico do plano nasal revelou os mesmos achados das biópsias, além de confirmar metástase pulmonar (Figura 4) e nos linfonodos mediastínicos (Figura 5). Amostras do plano nasal e do

pulmão foram submetidas à imuno-histoquímica (IHQ), empregando-se o método polímero com a peroxidase de rábano (HRP), com controles positivos, para confirmar a histogênese tumoral, utilizando um painel de anticorpos

apresentados na Tabela 1. As células neoplásicas foram imunorreativas para vimentina (Figura 6) e negativas para os demais anticorpos. Assim, foi confirmado tratar-se de tumor de origem mesenquimal e ósseo.

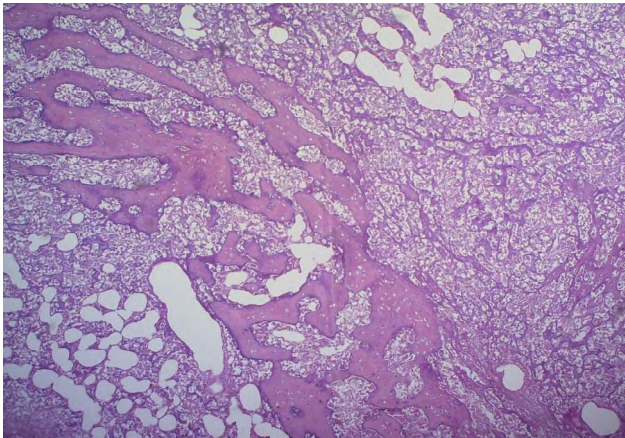


Figura 1. Osso nasal com proliferação de células mesenquimais malignas infiltrando o tecido ósseo. Observam-se ainda múltiplos focos de formação de matriz osteoide [HE. Obj. 5x].

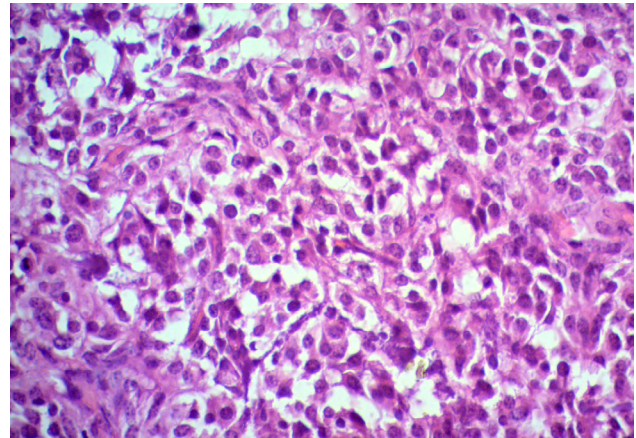


Figura 2. Osso nasal com células neoplásicas dispostas em feixes, frouxamente agrupadas, com formato arredondado, por vezes ovaladas, com limites distintos e citoplasma escasso, de aspecto fibrilar. O núcleo é central e hiper cromático [HE. Obj. 400x].

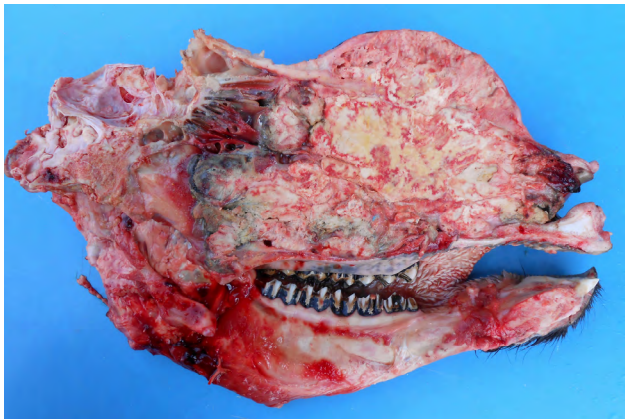


Figura 3. Corte sagital da face apresentando massa de coloração branca-centa ocupando as porções dos ossos nasal e maxilar superior, infiltrando-se nos cornetos e seios nasais, ocluindo o espaço respiratório. A massa possuía consistência dura sugerindo tecido ósseo.

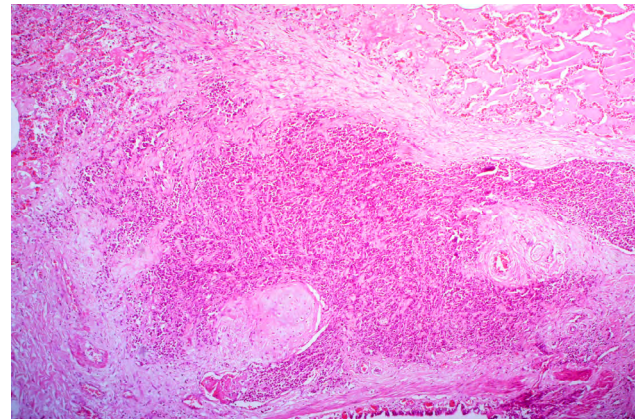


Figura 4. Metástase pulmonar com perda da arquitetura do parênquima [HE. Obj. 50x].

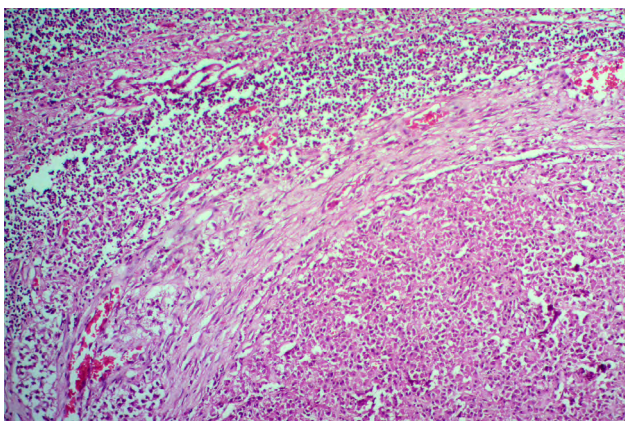


Figura 5. Metástase em linfonodo mediastínico apresentando perda da arquitetura [HE. Obj. 100x].

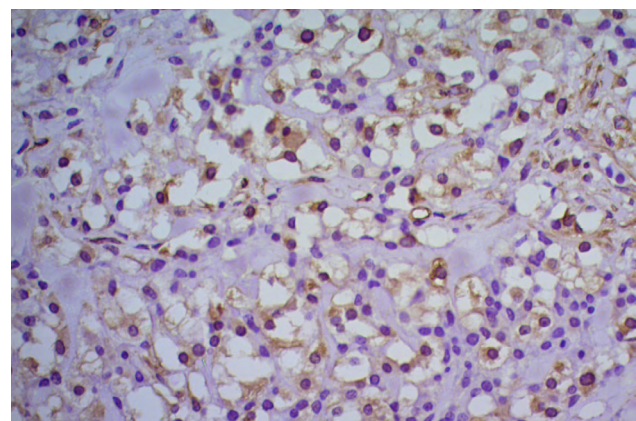


Figura 6. Osso nasal com células neoplásicas apresentando imunomarcacão para vimentina, confirmando tratar-se de tumor de origem mesenquimal [IHQ. Obj. 400x].

Tabela 1. Anticorpos com suas respectivas diluições, tampão de recuperação antigênica, clone, controle positivo e reação positiva neste estudo.

Anticorpo	Diluição	Tampão Recuperação Antigênica	Clone	Controle Positivo	Reação Positiva**
Anti - Vimentina* (rato)	1:100	Citrate pH 6.0 / 40'	V9	+	+
Anti - Desmina* humana (rato)	1:100	Citrate pH 6.0 / 40'	D33	+	-
Anti - Actina* humana (rato)	1:300	Citrate pH 6.0 / 40'	1A4	+	-
Anti - EMA* humana (rato)	1:100	Citrate pH 6.0 / 40'	E29	+	-
Anti - CD34* humana (rato)	1:100	Citrate pH 6.0 / 40'	aBend/10	+	-
Anti - CD99* humana (rato)	1:100	Citrate pH 6.0 / 40'	H036-1-1	+	-
Anti - S100* (coelho)	1:100	Citrate pH 6.0 / 40'	4C4-9	+	-
Anti - Pancitoqueratina* humana	1:100	Citrate pH 6.0 / 40'	AE1/AE3	+	-

*DakoCytomation®, **+ marcação positiva, - marcação negativa.

DISCUSSÃO

Osteossarcomas acometendo bovinos de cinco anos de idade são infrequentes [13,18]. Segundo a literatura, tem maior prevalência em ossos do esqueleto apendicular, sendo rara a ocorrência em ossos do esqueleto axial, principalmente no osso nasal [14,18]. No presente caso, a massa desenvolveu-se na região do plano nasal esquerdo, apresentando lesão unilateral [18]. Além disso, devido ao tamanho, ocasionou deformidade facial notável que se projetou para o meato, interferindo no fluxo de ar, causando dispneia [3]. Os sinais clínicos observados são similares aos descritos em casos de osteossarcoma [14,17]. A respiração oral forçada consistiu de uma tentativa de amenizar a dispneia decorrente da compressão causada pela massa tumoral [17]. Outros sinais clínicos como secreção nasal, epistaxe e estridor são descritos em casos de tumores nasais [18], contudo não foram observados no presente caso.

Os níveis séricos de fosfatase alcalina em casos de osteossarcoma tendem a estar elevados. Contudo, em 50% dos casos, essa enzima apresenta-se dentro dos parâmetros normais [4] como apresentado aqui. A avaliação citológica foi compatível com neoplasia mesenquimal maligna. Além disso, pôde-se observar outros achados associados à osteossarcomas, como a presença de matriz osteóides e osteoclastos [1,5].

Ao exame *post mortem*, foi constatado massa tumoral, de consistência dura, que aos cortes possuía coloração brancocenta e aspecto de tecido ósseo, corroborando com os achados da literatura [17]. Além disso, foram visualizados no pulmão e nos linfonodos mediastínicos múltiplos nódulos distribuídos pelo parênquima, sugerindo tratar-se de metástases [18].

À análise histológica constatou-se proliferação de células mesenquimais malignas, dispostas em

feixes, frouxamente agrupadas, com formato arredondado, com presença de osteócitos malignos, com produção de matriz óssea, tratando-se de osteossarcoma osteoblástico [15,16,17]. Assim, foi descartada a possibilidade de osteossarcoma composto [10], pois não foram observadas áreas de cartilagem e/ou fibroblastos tumorais [3,7-9,15]. Foram constatados nos linfonodos mediastínicos e pulmão, metástases de osteossarcoma [17,18]. Destacando o potencial metastático dos osteossarcomas, independente da classificação, em 43 animais necropsiados, 26 desenvolveram metástase, sendo o pulmão o órgão mais atingido [16].

As células neoplásicas foram imunorreativas para vimentina e negativas para os demais anticorpos, confirmando a origem mesenquimal e permitindo descartar a possibilidade de linfoma, carcinoma, rhabdomyosarcoma e condrossarcoma [1,2]. Esta imunorreatividade corrobora com Cavalcanti [4], que observou 98,2% de imunomarcação em osteossarcomas com a utilização da vimentina. Verificou-se ainda, que alguns osteossarcomas reagiram com o anticorpo actina de músculo liso (1A4), também expresso em rhabdomyosarcomas, negativo em nosso caso, e foram negativos para AE1/AE3, CD31 e CD34, como observado neste relato. Com a utilização da imuno-histoquímica, pode-se descartar a possibilidade de osteossarcoma condroblástico, pois nestes haveria imunomarcação para a proteína S-100 [4].

Na clínica de pequenos animais e na medicina humana é realizado rotineiramente procedimento cirúrgico ou tratamento com radioterapia ou quimioterapia em casos de osteossarcomas. Contudo, neste caso, não foi possível utilizar estas ferramentas, pois devido à localização do tumor e a gravidade do quadro clínico, essas técnicas são frequentemente impraticáveis e relativamente inviáveis financeiramente em animais de produção [13].

Sabe-se que existem muitas classificações para o osteossarcoma, sendo a análise histopatológica essencial para sua caracterização e classificação [10]. A utilização da imuno-histoquímica tem por objetivo descartar outras neoplasias ósseas ou neoplasias indiferenciadas [4]. Cabe destacar a importância deste trabalho para

a medicina veterinária, pois caracteriza os aspectos anatomopatológicos e imuno-histoquímicos do osteossarcoma osteoblástico nasal em um bovino, já que são escassos relatos desta neoplasia em animais de produção.

Declaration of interest. The authors are responsible for the content of this article and declare no conflict of interest.

REFERENCES

- 1 **Barger A.M. 2011.** Musculoskeletal System. In: Raskin R.E. & Meyer D.J. (Eds). *Citologia de Cães e Gatos: Atlas Colorido e Guia de Interpretação*. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.309-324.
- 2 **Barra M.B. 2006.** O uso da imunoistoquímica no diagnóstico: indicações e limitações. *Associação Médica do Rio Grande do Sul*. 50(2): 173-184.
- 3 **Cathy C.S. & Steven W.E. 2013.** Ossos, Articulações, Tendões e Ligamentos. In: Zachary J.F. & McGavin M.D. (Eds). *Bases da Patologia em Veterinária*. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.923-975.
- 4 **Cavalcanti J.N. 2007.** Osteossarcoma Canino: estudo histopatológico, imunoistoquímico e da atividade proliferativa. 97f. Campinas, SP. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.
- 5 **Felder S.E. 2013.** The Musculoskeletal System. In: Cowell R.L. & Valenciano A.C. (Eds). *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 4th edn. St. Louis: Elsevier. pp.216-221.
- 6 **Fracasso G.H.A. 2012.** Osteossarcoma apendicular canino. 24f. Ribeirão Preto, SP. Monografia (Especialização *Lato sensu* em Clínica Médica de Pequenos Animais) - Universidade Castelo Branco.
- 7 **Gonçalves M.A., Corrêa L.F.D., Quevedo L.S., Schreiner T. & Anjos B.L. 2012.** Condrossarcoma primário de cavidade nasal em um cão. *Acta Scientiae Veterinariae*. 40(2): 1042.
- 8 **Guim T.N., Cartana .G., Fernandes C.G., Guim T.N. & Gaspar L.F.J. 2014.** Condrossarcoma mesenquimal extraesquelético em um gato: relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 66(2): 355-359.
- 9 **Martelli A., Teixeira L.B.C. & Santos Junior A.R. 2007.** Aspectos histopatológicos e histoquímico de osteossarcoma em cães. *Estudos de Biologia*. 67: 179-189.
- 10 **Moreira R.D., Riveira G.L.C., Calderón C.H., Huppés R. & Ramirez R.U. 2013.** Osteossarcoma de tipo composto: Relato de caso. *Revista Colombiana Ciência Animal*. 5(2): 538-546.
- 11 **Neuwald E.B., Veiga D.C., Gomes C., Oliveira E.C. & Contesini E.A. 2006.** Osteossarcoma craniano em um cão. *Acta Scientiae Veterinariae*. 34(2): 215-219.
- 12 **Oliveira F. & Silveira P.R. 2008.** Osteossarcoma em cães (revisão de literatura). *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. [Fonte:<http://www.faeef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/x0P2H4L0KPC-CjRe_2013-6-13-15-47-42.pdf>]. [Accessed July 2015].
- 13 **Prins D.G., Wittek T. & Barrett D.C. 2012.** Maxillary osteosarcoma in a beef suckler cow. *Irish Veterinary Journal*. 65: 15.
- 14 **Silva D.N., Madureira K.M., Farias S.S., Requião L.G.T. & Nascimento N.A. 2013.** Osteossarcoma condroblástico mandibular em bovino. In: *XVI Encontro Nacional de Patologia Veterinária* (Curitiba, Brazil). pp.148-149.
- 15 **Thompson K.G. & Pool R.R. 2002.** Tumors of bones. In: Meuten D.J. (Ed). *Tumors in Domestic Animals*. 4th edn. Ames: Iowa State Press, pp.266-267.
- 16 **Trost M.E., Kommers G.D., Brown C.C., Barros C.S.L., Irigoyen L.F., Figuera R.A., Inkelmann M.A. & Silva T.M.D. 2012.** Primary bone neoplasms in dogs: 90 cases. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32(12): 1329-1335.
- 17 **Viera C.R., Fredo G., Boabaid F.M., Wouters A.T.B., Correa G.L.F., Melo L.C., Driemeier D. & Sonne L. 2014.** Osteossarcoma osteoblástico na cavidade nasal de um equino. In: *VIII Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário*. (Cuiabá, Brazil). 1 CD-ROM.
- 18 **Wilkins P.A., Baker, J.C. & Ames T.R. 2006.** Doenças do Sistema Respiratório. In: Smith B.P. (Ed). *Medicina Interna de Grandes Animais*. 3.ed. Barueri: Editora Manole, pp.542-543.

