

## **ABORDAGEM INTRA E EXTRAORAL PARA EXÉRESE DE OSTEOSSARCOMA MAXILOFACIAL CANINO: RELATO DE CASO**

### *INTRA AND EXTRAORAL APPROACH FOR EXERESIS OF CANINE MAXILLOFACIAL OSTEOSARCOMA: CASE REPORT*

**R. R. HUPPES<sup>1</sup>; A. A. F. ALMEIDA<sup>1</sup>; A. L. PASCOLI<sup>2</sup>; L. B. P. PEREIRA<sup>1</sup>; E. R. GOMES<sup>1</sup>;  
A. B. DE NARDI<sup>3</sup>; J. L. C. CASTRO<sup>4</sup>**

#### **RESUMO**

O osteossarcoma é uma neoplasia mesenquimal comum em cães e humanos. Pode ser classificado como apendicular, axial ou extra esquelético, dependendo do tipo de osso ou tecido envolvido. Predomina nos ossos apendiculares como rádio, úmero e fêmur, podendo fazer metástase no tórax, sendo raro a sua ocorrência em maxilar. Comum em cães de grande porte, fêmea e idosos, representando 2 a 5% das neoplasias malignas. Este artigo teve como objetivo relatar um caso em cão Blue Heeler de 10 anos, queixa de espirro com eliminação de sangue após regressão de edema no maxilar rostral. Na tomografia computadorizada foi verificado lise óssea agressiva com aspecto lítico e expansivo, que acometia osso incisivo esquerdo, porção lateral esquerda do terço rostral do osso maxilar, estendendo-se até o canino esquerdo e acometendo também a cavidade nasal. Realizou-se biópsia incisiva com agulha Punch óssea, com resultado histopatológico de osteossarcoma oral inicial. Radiografias de tórax em três projeções não revelaram metástases. O paciente foi encaminhado para hemimaxilectomia esquerda com rinotomia lateral para a remoção da neoplasia e da parte óssea acometida. O exame histopatológico confirmou margens livres, entretanto foi optado por realização de quimioterapia adjuvante com carboplatina 250 mg/m<sup>2</sup> a cada 21 dias durante cinco sessões e ciclofosfamida metronômica 15 mg/m<sup>2</sup> em dias alternados durante seis meses. A retirada do linfonodo mandibular e ausência de células neoplásicas confirmam a lenta metastatização do osteossarcoma maxilofacial. O paciente apresentou sobrevida de 11 meses, sendo eutanasiado devido a metástase pulmonar. A combinação de cirurgia radical, quimioterapia e consideração dos marcadores de prognóstico podem melhorar o resultado do tratamento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Maxilectomia; Neoplasia; Quimioterapia; Tumor ósseo.

#### **SUMMARY**

Osteosarcoma is a common mesenchymal neoplasm in dogs and humans. It can be classified as appendicular, axial or extra skeletal, depending on the type of bone or tissue involved. It predominates in appendicular bones such as the radius, humerus and femur, and can metastasize to the thorax, with rare occurrence in the jaw. Common in large, female and elderly dogs, representing 2 to 5% of malignant neoplasms. This article aimed to report a case in a 10-year-old Blue Heeler dog, complaining of sneezing with blood elimination after regression of edema in the rostral jaw. The computed tomography selected harmful bone lysis with a lytic and expansive appearance, which affected the left incisor bone, the left lateral position of the rostral third of the maxillary bone, extending to the left canine and also affecting the nasal cavity. An incisional biopsy was performed with a bone punch needle, with histopathological results of initial oral osteosarcoma. Chest radiographs in three projections revealed no metastases. The patient was referred for left hemimaxillectomy with lateral rhinotomy to remove the neoplasm and the affected bone part. The histopathological examination with free margins, however, was chosen to carry out adjuvant chemotherapy with carboplatin 250 mg/m<sup>2</sup> every 21 days for five sessions and metronomic cyclophosphamide 15 mg/m<sup>2</sup> every other day for six months. The removal of the mandibular lymph node and the absence of neoplastic cells confirm the slow metastasis of maxillofacial osteosarcoma. The patient survived 11 months, being euthanized due to lung metastasis. The combination of radical surgery, chemotherapy and control of prognostic markers can improve treatment results.

**KEY-WORDS:** Maxillectomy; Neoplasm; Chemotherapy; Bone tumor.

---

<sup>1</sup> Médico veterinário autônomo.

<sup>2</sup> Universidade Regional de Blumenau, FURB.

<sup>3</sup> Universidade Estadual Paulista – UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

<sup>4</sup> Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba.

## INTRODUÇÃO

O osteossarcoma é uma neoplasia mesenquimal de osteoblastos caracterizado pela produção de osteóide por osteoblastos malignos (THOMPSON; DITTMER, 2016). É o subtipo histológico mais comum de tumor ósseo primário em humanos e em cães (ANFINSEN et al., 2011), sendo mais frequente em cães idosos, fêmeas e em raças de grande porte (WALLACK et al., 2002). Representa 2 a 5% de todas as neoplasias malignas caninas e 85 a 98% das ósseas primárias em cães (FARCAS; ARZI; VERSTRAETE, 2012).

O osteossarcoma pode ser classificado como subtipos apendiculares, axial ou extra esquelético dependendo do tipo de osso ou tecido envolvido. O osteossarcoma apendicular é o mais predominante, atingindo áreas como rádio distal, úmero proximal, fêmur distal e tibia proximal (DERNEL et al., 2004). As metástases ocorrem principalmente no pulmão, mas também podem ser observadas em outros ossos ou tecidos moles. Já os axiais são incomuns e frequentemente malignos, podendo originar em tecido ósseo, ser metástase de neoplasias epiteliais ou mesenquimais ou por disseminação de neoplasias adjacentes em tecido mole, sendo mais comuns em mandíbula e maxila, mas também descritos em vértebras, crânio, costelas, cavidade nasal, seios paranasais e pelve (DALECK et al., 2016).

Os osteossarcomas maxilofaciais representam um subtipo distinto e são classificados em uma categoria mais ampla, pois envolvem ossos planos ou axiais (HAMMER; WEEREN, 1995; LANG; SULZBACHER, 2001). O osteossarcoma mandibular é a neoplasia mais comum em crânio e mandíbula, possui crescimento ósseo invasivo, causando osteólise local, mas apresenta baixa metástase à distância. Juntos, os osteossarcomas maxilofacial e oral representam 12,4% de todos os osteossarcomas em cães (DERNEL et al., 2004). Diferente do osteossarcoma apendicular, o osteossarcoma oral e maxilofacial possuem progressão mais lenta apresenta menor tendência para metástase, este comportamento metastático diferencial entre os subtipos de osteossarcoma resulta numa diferença no prognóstico, bem como na resposta ao tratamento (DALECK et al., 2016).

A etiologia do osteossarcoma permanece desconhecida tanto em cães quanto em humanos, mas existe uma associação com radiação ionizante em osteossarcomas orais e maxilofaciais, além de fator genético, doença óssea pré-existente, trauma, vírus ósseos e implantes ósseos metálicos (FARCAS; ARZI; VERSTRAETE, 2012). Outra teoria, baseia-se na evidência de que tende a ocorrer com maior frequência em ossos que sustentam os maiores pesos, principalmente em cães de grande porte (DALECK et al., 2016).

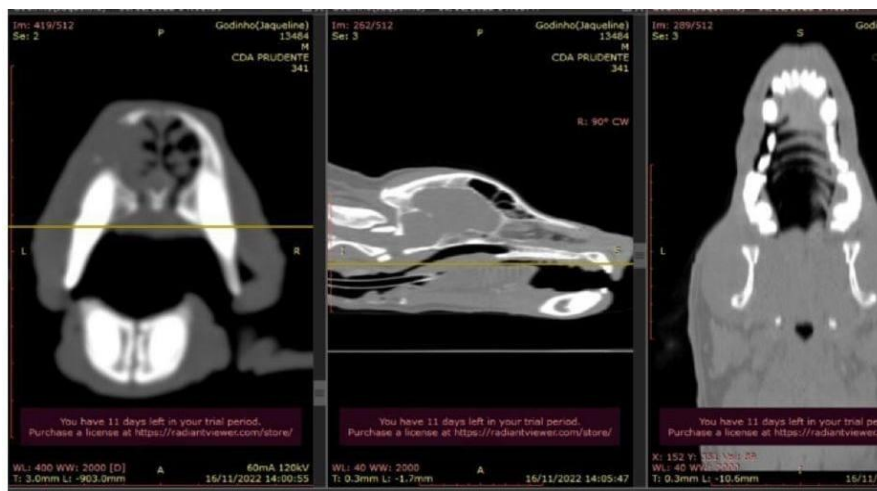
A apresentação clínica e várias modalidades de imagem podem levar a um diagnóstico presuntivo de osteossarcoma, pois, radiograficamente o osteossarcoma apresenta uma variação de padrões líticos, mistos ou produtivos, mas as lesões não são patognômicas, podendo ocorrer padrões similares à outras neoplasias ósseas, sendo, portanto, o exame histopatológico fundamental para o diagnóstico final (THOMPSON; DITTMER, 2016).

O objetivo desse trabalho foi relatar o caso de um osteossarcoma inicial em maxilar de um cão macho da raça Blue Heeler de 10 anos, que foi submetido a hemimaxilectomia com rinotomia lateral para a remoção da neoplasia e da parte óssea acometida.

## RELATO DE CASO

Foi atendido um cão da raça Blue Heeler de 10 anos, com queixa de espirro com eliminação de sangue, e aumento de volume em região da maxila rostral lateral esquerda. Após exame clínico geral e exames laboratoriais, o paciente foi encaminhado para tomografia computadorizada (TC). Os exames bioquímicos e hemograma apresentaram resultados dentro da normalidade.

Na TC foi observado lise óssea agressiva com aspecto lítico e expansivo, onde acometia osso incisivo esquerdo, porção lateral esquerda do terço rostral do osso maxilar, estendendo-se até o canino esquerdo e acometendo também a cavidade nasal. Realizou-se biopsia incisional com agulha Punch ósseo, com resultado histopatológico de osteossarcoma oral inicial (Figura 1).



**Figura 1** - Imagens da tomografia de crânio, mostrando osteólise em incisivo e maxilar esquerdo, com invasão da cavidade nasal de cão.

Foi também solicitado radiografia de tórax em três projeções para pesquisa de metástase, porém, nada que indicasse essa enfermidade foi observado.

Paciente foi então encaminhado para tratamento cirúrgico de hemimaxilectomia lateral esquerda e rostral associado a rinotomia lateral para a remoção da neoplasia e da parte óssea acometida.

Após preparo asséptico da região, o paciente foi posicionado em decúbito lateral com a boca aberta para expor os tecidos. A extensão da ressecção foi determinada com base no tamanho da lesão dos tecidos moles e no grau

de envolvimento ósseo da tomografia. Para a maxilectomia foi realizado duplo acesso com incisão dorsal do lábio e incisão intraoral dos tecidos moles da mucosa oral. Com auxílio de serra, osteótomo e martelo foi realizado a secção da janela óssea, seguida da exérese do tumor. Para a síntese da lesão foi realizada a liberação da mucosa labial, que foi aproximada da mucosa palatina e suturada em padrão simples contínuo com fio poliglecaprone 25 (Figura 2). Ao término, foi realizado uma faringostomia com colocação de sonda (Levine® 14) para alimentação e medicação do paciente durante 15 dias.



**Figura 2** - Procedimento cirúrgico de hemimandibulectomia esquerda com acesso intraoral e externo, em cão com tumor. A. Imagem do pós-operatório imediato. B. Segmento ósseo comprometido e neoplasia removido.

No pós-operatório foi prescrito como antibiótico a cefalexina (30 mg/kg/BID durante 15 dias), carprofeno de anti-inflamatório (4,4 mg/kg/SID durante 5 dias), dipirona (30 mg/kg/TID durante 5 dias) e tramadol (5 mg/kg/BID durante 5 dias) para analgesia. Durante pós-operatório ocorreu deiscência de dois pontos de sutura

rostrais após 5 dias, sendo novamente suturado. Quatorze dias após segunda intervenção, o paciente teve alta cirúrgica (Figura 3). Entretanto, foi acompanhado para quimioterapia adjuvante. Paciente está sendo acompanhado há seis meses, sem sinal de recidiva.



**Figura 3** - Dia da alta médica. A. visão frontal. B. visão lateral demonstrando estética preservada.

O exame histopatológico confirmou margens livres da neoplasia, indicando um bom prognóstico. Mesmo com o resultado satisfatório de histopatológico foi decidido tratar o paciente com carboplatina 250 mg/m<sup>2</sup> a cada 21 dias durante cinco sessões e ciclofosfamida metronômica 15 mg/m<sup>2</sup> em dias alternados durante seis meses. O paciente apresentou sobrevida de 11 meses, sendo eutanasiado devido a metástase pulmonar.

## DISCUSSÃO

O paciente desse relato era um cão, 10 anos de idade, da raça Blue Heeler, raça de médio-grande porte, o que vai ao encontro com a literatura que menciona que o osteossarcoma é identificado de forma mais frequente em cães mais velhos e de raças maiores (FARCAS; ARZI; VERSTRAETE, 2012), entretanto era macho, discordando da literatura que afirma que as fêmeas são mais acometidas (WALLACK et al., 2002).

O osteossarcoma apendicular é uma doença com rápida progressão local e mortalidade devido a metástases pulmonares, entretanto o osteossarcoma oral e maxilofacial progride mais lentamente e apresenta menor tendência para metástase, resultando numa diferença no prognóstico, e na resposta ao tratamento (HAMMER; WEEREN, 1995; DERNEL et al., 2004). Tal fato corrobora o caso relatado nesse estudo, onde foi observado crescimento neoplásico lento e não foi evidenciado metástase em tórax no estadiamento através de radiografia torácica em três projeções. Também foi verificado no exame histopatológico que o tumor foi removido com margens cirúrgicas limpas, o que indica um melhor prognóstico. Após seis meses de tratamento e acompanhamento até o momento nosso paciente não apresenta recidiva local e tampouco metástase à distância.

O diagnóstico de osteossarcoma é complexo e baseado na anamnese e exame clínico detalhado, além de exames complementares, como radiografia (RX), tomografia computadorizada (TC), ressonância magnética e cintilografia óssea, realizados para avaliar a extensão local do tumor. A análise histopatológica é necessária para diagnóstico definitivo podendo e imuno-histoquímica auxiliar enormemente (LANG; SULZBACHER, 2001). De acordo com a literatura, no caso relatado, foi realizado exames complementares como a TC e RX avaliar o aspecto e extensão da lesão, biopsia incisional com *punch* ósseo e busca de metástase em tórax.

No caso do osteossarcoma oral e maxilofacial, as margens cirúrgicas são cruciais na determinação do prognóstico. Em geral, a localização do tumor, tipo histológico e grau são elementos com importância prognóstica nos casos de osteossarcomas (HAMMER; WEEREN, 1995; THOMPSON; DITTMER, 2016). A ressecção cirúrgica ampla para controle local é o tratamento recomendado para osteossarcoma oral e maxilofacial em cães (PATEL et al., 2002; GUADAGNOLO et al., 2009), além da radioterapia e a quimioterapia que também são indicadas para graus menores com resultados variáveis (GREEN; ADAMS; FORRESTS, 2002; SPUGNINI et al., 2019). De acordo com o descrito, o paciente deste relato foi submetido à

exérese da neoplasia com margens amplas e radicais associada a quimioterapia foi o tratamento de escolha para diminuir chance de recidiva e aumentar a sobrevida, o que aparentou ser um acerto na conduta médica, visto que o paciente já tem seis meses de sobrevida sem sinais de recidiva e/ou metástase.

As características proliferativas do tumor podem ser analisadas através de vários métodos, incluindo contagem de figuras de mitoses e pela avaliação da fase do ciclo celular pela análise do DNA. A imuno-expressão do Ki-67 (proteína codificada pelo gene MKI67) se dá em todas as fases do ciclo celular (G1 crescimento, S crescimento e duplicação de DNA, G2 crescimento e preparação final para divisão celular, e M mitose), mas não é encontrado em células quiescentes (G0 células que não estão se dividindo), com isso, a Ki-67 avalia a proliferação celular de neoplasias (MARINHO et al., 2005). Pesquisas recentes têm apontado a superexpressão de HER-2 em osteossarcomas humanos e caninos (MASON et al., 2016), além de ser um receptor de tirosina quinase, faz parte da família de fator de crescimento epidérmico (EGFR), apresenta superexpressão em carcinomas de mama, próstata, pâncreas e trato gastrointestinal, e é relacionado a um prognóstico desfavorável, devido à alta taxa de metástase quando há sua expressão. Em osteossarcoma caninos esse receptor também pode ser associado à baixa resposta quimioterápica e menor sobrevida global (RAINUSSO et al., 2012).

Estudos também têm mostrado que processos inflamatórios relacionados a presença da COX-2 (Ciclo-oxigenase-2), desempenham papel fundamental no desenvolvimento e progressão de tumores em várias espécies, incluindo a proliferação, transformação celular, crescimento, invasão e metástases (GASPARINI et al., 2003). Essa enzima tem papel importante na sinalização para divisão celular e progressão de neoplasias, induzindo estímulos mitóticos, mediados por fatores de crescimento (endodermal, endotelial vascular, fibroblasto e necrose tumoral alpha). A COX-2 é também a enzima que está envolvida em fenômenos como a apoptose, imunovigilância, angiogênese e tem sido implicada na produção de prostaglandinas para 35 diversos tipos de tumores, um deles sendo o osteossarcoma (MOHAMMED et al., 2004). Tanto a COX-2 como o Ki-67 têm grande importância na avaliação prognóstica dos pacientes quando avaliadas individualmente, como demonstram alguns autores, pois a partir da interpretação destes resultados é possível inferir no prognóstico e conduta terapêutica do paciente (MARINHO et al., 2005; RUBIO et al., 2005). Sendo assim, a imuno-histoquímica seria de grande valia para o prognóstico do paciente relatado como indicador prognóstico, indicando maior proliferação celular e com isso maior possibilidade de metástase, portanto um pior prognóstico. Entretanto esses exames de imuno-histoquímica para avaliação do KI-67, HER-2 (ErbB2 é um oncogene localizado no cromossomo 17) e COX-2 não foram realizados por opção do tutor.

Vários mecanismos foram propostos na tentativa de explicar a relação entre a expressão de COX-2 e consequentemente a superprodução de prostaglandinas nas células tumorais e o processo de formação do tumor. A diminuição da apoptose devido à expressão de COX-2 nas

células neoplásicas, faz com que aumente o tempo de sobrevida das células e consequentemente favoreça o acúmulo de mutações genéticas sucessivas, contribuindo para a progressão do tumor. A superexpressão de COX-2 também está relacionada com o aumento na expressão de fatores de crescimento vascular, consequentemente com o processo de angiogênese, que é considerado um mecanismo fundamental para o desenvolvimento tumoral, pois contribui para a nutrição das células neoplásicas, sendo uma via importante para disseminação das mesmas durante o processo de metástase (SPECTOR et al., 2005).

Considerando a importância do HER-2 e COX-2 no osteossarcoma canino, o lapatinibe e inibidores de COX-2 também poderiam ter sido uma possibilidade de tratamento, pois o lapatinibe inibe a via de sinalização e fosforilação do HER-2 (SPECTOR et al., 2005), com consequente inibição da proliferação das células cancerígenas em humanos (KALOUS et al., 2012).

A sobrevida média tem sido relacionada com a localização na cavidade oral, com sobrevida média de 30 meses para rostrais, oito meses para centrais e cinco meses para orais caudais enfatizando a importância da ressecção ampla (LASCELLES et al., 2003). Esse resultado provavelmente está relacionado à capacidade de ressecção com margens completas. O paciente desse relato apresentou massa lateral e rostral, sendo teoricamente mais fácil a ressecção cirúrgica com ampla margem, entretanto é preciso equiponderar a necessidade de uma ressecção ampla sem remoção excessiva de tecido que prejudique a síntese da ferida cirúrgica.

No caso reportado detalhamos um procedimento cirúrgico para remover neoplasias na região facial, em que uma abordagem intraoral (acima da gengiva), é combinada com uma incisão extraoral horizontal ao longo do focinho dorsolateral. O potencial metastático do osteossarcoma maxilofacial nos cães pode variar com a localização. Os osteossarcomas de mandíbula e maxila em cães são conhecidos por ter um menor potencial metastático do que outras localizações de osteossarcoma axial (LASCELLES et al., 2003). Mesmo com essa informação entendeu-se ser importante fazer a linfadenectomia, retirando o linfonodo mandibular, que se apresentou negativo para células neoplásicas. Confirmando a afirmação de que o osteossarcoma maxilofacial metastatiza lentamente, e reafirmando que a conduta da exérese radical, junto à quimioterapia, foi uma excelente conduta.

## CONCLUSÃO

A ressecção do osteossarcoma maxilar lateral e rostral com abordagem intraoral, combinada com incisão extraoral horizontal ao longo do focinho dorsolateral foi efetivo pois proporcionou margens livres, resultado funcional e cosmético aceitável e prognóstico bom, entretanto com metástase após 11 meses.

Uma boa anamnese, exames laboratoriais e de imagem são fundamentais para planejamento do tratamento e busca de metástase. Exame histopatológico é indispensável para diagnóstico definitivo, sendo os testes imuno histoquímicos importantes para avaliar marcadores de prognóstico como Ki-67, HER-2 e COX-2, em pacientes com osteossarcoma, a fim de determinar melhor tratamento e prognóstico. Importante destacar que o

diagnóstico precoce e tratamento adequado são fundamentais para aumentar sobrevida e consequentemente qualidade de vida.

## REFERÊNCIAS

ANFINSEN, K. P.; GROTMOL, T.; BRULAND, O. S.; JONASDOTTIR, T. J. Breed-specific incidence rates of canine primary bone tumors – A population-based survey of dogs in Norway. **Canadian Journal Veterinary Research**, v.75, p.209-215, 2011.

DALECK, C. R.; REPETTI, C. S. F.; MINTO, B. W.; COSTA NETO, J. M. da. Tumores ósseos In: DALECK, C. R.; DENARDI, A. B. **Oncologia em cães e gatos**, 2.ed., Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 45.

DERNEL, W. S.; EHRHART, N. P. et al. **Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology**, v.4, Vail Eds., St. Louis, Saunders Elsevier., p.540–573, 2004.

FARCAS, N.; ARZI, B.; VERSTRAETE, F. J. M. Oral and maxillofacial osteosarcoma in dogs: a review. **Veterinary and Comparative Oncology**, v.12, n.3, p.169-180, 2012.

GASPARINI, G.; LONGO, R.; SARMIENTO, R.; MORABITO, A. Inhibitors of cyclo-oxygenase 2: a new class of anticancer agents? **The Lancet Oncology**, v.4, p.605-615, 2003.

GREEN, E. M.; ADAMS, W. M.; FORRESTS, L. J. Four fraction palliative radiotherapy for osteosarcoma in 24 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.38, p.445-451, 2002.

GUADAGNOLO, B. A.; ZARGAZ, G. K.; RAYMOND, A. K. et al. Osteosarcoma of the jaw/craniofacial region: outcomes after multimodality treatment. **Cancer**, v.115, p.3262-3270, 2009.

KALOUS, O.; CONKLIN, D.; DESAI, A. J. et al. Dacomitinib (PF00299804), an irreversible Pan-HER inhibitor, inhibits proliferation of HER2-amplified breast cancer cell lines resistant to trastuzumab and lapatinib. **Molecular Cancer Therapeutics**, v.11, n.9, p.1978-1987, 2012.

LANG, S.; SULZBACHER, I. Differential diagnostic problems in assessment of benign bone tumors. **Radiologe**, v.41, n.7, p.533-539, 2001.

LASCELLES, B. D. X.; THOMSON, M. J.; DERNELL, W. S. et al. Combined dorsolateral and intraoral approach for the excision of tumors of the maxilla in the dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.39, p.294–305, 2003.

MARINHO, L. C.; PATRÍCIO, F. R. S.; JESUS-GARCIA, R. F. et al. Clinicopathologic study and Ki-67 proliferative marker evaluation in human osteosarcomas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.41, n.6, p. 419-424, 2005.

MASON, N. J.; GNANANDARAJAH, J. S.; ENGILES, J. B. et al. Immunotherapy with a HER2-Targeting listeria induces HER2-Specific immunity and demonstrates potential therapeutic effects in a phase I trial in canine osteosarcoma. **Clinical Cancer Research**, v.22, n.17, p.4380-4390, 2016.

MOHAMMED, S. I.; KHAN, K. N. M.; SELLERS, R. S. et al. Expression of cyclooxygenase-1 and 2 in naturally-occurring canine cancer. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.70, p.479-483, 2004.

PATEL, S. G.; MEYERS, P.; HUVOS, A. G. et al. Improved outcomes in patients with osteogenic sarcoma of the head and neck. **Cancer**, v.95, p.1495-1503, 2002.

RAINUSSO, N.; BRAWLEY, V. S.; GHAZI, A. et al. Immunotherapy targeting HER2 with genetically modified T cells eliminates tumor-initiating cells in osteosarcoma. **Cancer Gene Therapy**, v.19, n.3, p.212-217, 2012.

RUBIO, J.; RAMOS, D.; LOPEZ-GUERRERO, J. A. et al. Immunohistochemical expression of ki-67 antigen, Cox-2 and bax/bcl-2 in prostate cancer; prognostic value in biopsies and radical prostatectomy specimens. **European Urology**, v.48, p.745-775, 2005.

SPECTOR, N. L.; XIA, W.; BURRIS, H.; HURWITZ, H. et al. Study of the biologic effects of lapatinib, a reversible inhibitor of ErbB1 and ErbB2 tyrosine kinases, on tumor growth and survival pathways in patients with advanced malignancies. **Journal of Clinical Oncology**, v.23, n.11, p.2502-2512, 2005.

SPUGNINI, E. P.; VICENTE, B.; AMADIO, B.; BALDI, A. Adjuvant electrochemotherapy with bleomycin and cisplatin combination for canine soft tissue sarcomas: A study of 30 cases. **Open Veterinary Journal**, v.9, n.1, p.88-93, 2019.

THOMPSON, K. G.; DITTMER, K. E. Tumors of bone. In: Meuten, D. J. (ed.) **Tumors in Domestic Animals**. 5nd. Ames, Iowa State Press, 2016. p.356-424.

WALLACK, S. T. et al. Accuracy of magnetic resonance imaging for estimating intramedullary osteosarcoma extent in pre-operative planning of canine limb-salvage procedures. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.43, n.5, p. 432-444, 2002.