

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Dissertação

**Aspectos Epidemiológicos e Patológicos dos Osteossarcomas**

**Isadora Losekann Marcon**

Pelotas, 2023

**Isadora Losekann Marcon**

**Aspectos Epidemiológicos e Patológicos dos Osteossarcomas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Reprodução e Patologia Veterinária).

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristina Gevehr Fernandes

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação da Publicação

M321a Marcon, Isadora Losekann

Aspectos epidemiológicos e patológicos dos osteossarcomas [recurso eletrônico] / Isadora Losekann Marcon ; Cristina Gevehr Fernandes, orientadora ; Fabiane Borelli Grecco, coorientadora. — Pelotas, 2023.  
46 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Câncer. 2. Ossos. 3. Prognóstico. 4. Predisposição. 5. Metástase. I. Fernandes, Cristina Gevehr, orient. II. Grecco, Fabiane Borelli, coorient. III. Título.

CDD 636.089699471

Isadora Losekann Marcon

Aspectos Epidemiológicos e Patológicos dos Osteossarcomas

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 20/04/2023

Banca examinadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cristina Gevehr Fernandes (Orientadora)  
Doutora em Patologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Márcia de Oliveira Nobre  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carolina da Fonseca Sapin  
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Dr.<sup>a</sup> Clarissa Caetano de Castro  
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

## **Dedicatória**

Dedico essa dissertação à minha família e minhas “meninas” felinas.

## **Agradecimentos**

Agradeço aos meus pais, Cristine e Euclides, por me dar apoio sempre, por me ensinarem e estimularem meus estudos. À Helena, que, como toda irmã mais velha, é exemplo, é minha referência em muitos quesitos sobretudo é ela quem me acalma em momentos difíceis. Eles, que sempre que eu voltasse para casa me recebiam alegres com braços abertos e muito conforto e que sempre desejaram tudo de melhor para que eu conseguisse até aqui. Espero poder recompensar tudo isso com muito orgulho. Amo vocês para sempre. Por falar nisso, não posso deixar de lembrar das minhas meninas felinas, Alice, Aurora (em memória) e Fleur, que, além de amorzinhos, foram minhas companheiras de escrita de artigos, das noites de descanso e colegas de veterinária. E à Teca que me introduziu de certa forma na veterinária, possibilitando aprendizado sobre carinho incondicional e cuidados de enfermagem. Amiga Daniela Cearon, obrigada por me dar forças e compreender a minha ausência nesses anos. Reconheço os momentos felizes em família, em especial à vó, aos dindos, aos tios e aos primos, obrigada. Lembro com saudades daqueles que partiram recentemente.

Agradeço aos meus amigos patologistas, Carolina Sapin, Clarissa Castro, Felipe Lemos, Júlia Miranda, Luísa Grecco, Luísa Mariano e Vitória Maggi com quem conviveram comigo nesse período de crescimento e fizeram do grupo um lugar divertido e leve. Quero dizer que o SOVet-UFPel foi uma virada de chave na minha vida profissional e, portanto, sou muito grata. Às professoras doutoras Fabiane Grecco e, minha orientadora, Cristina Gevehr em especial pela paciência e ensinamentos que vou levar para minha vida.

Da mesma forma que agradeço a todos envolvidos citados, agradeço a Universidade Federal de Pelotas e a CAPES que me proporcionou a bolsa de mestrado.

*“Es ist nicht genug, zu wissen, man muss auch anwenden.  
Es ist nicht genug, zu wollen, man muss auch tun. “  
 (“Saber não é o suficiente, devemos aplicar. Querer não é o  
suficiente, devemos também fazer.”)  
Johann Wolfgang von Goethe*

## Resumo

LOSEKANN-MARCON, Isadora. **Aspectos Epidemiológicos e Patológicos dos Osteossarcomas**. 2023. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

O osteossarcoma é o principal tumor maligno de ossos. Acomete, em sua maioria, cães de porte grande a gigante e de raça definida. Esse câncer, bastante agressivo e de evolução rápida, causa metástases tão cedo quanto o aparecimento de seus sinais clínicos, que incluem: aumento de volume, dor, deambulação alterada e podem ocorrer fraturas patológicas. A sobrevida de cães com OSA é reduzida, o que suscita a necessidade de estudos. Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar os fatores predisponentes para o desenvolvimento e sobrevida de cães com osteossarcoma acompanhados pelo Serviço de Oncologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (SOVet-UFPel). O produto dessa dissertação foi o artigo denominado "Avaliação dos fatores predisponentes para osteossarcomas em cães". Foram analisados 47 cães do sul do Rio Grande do Sul entre janeiro de 2016 a dezembro de 2022 por meio de um estudo retrospectivo do banco de dados. Além de reunir informações sobre cada cão acerca de suas características como porte, raça, escore e condição corporal, gênero, *status* reprodutivo, idade, local de acometimento e tipo de osteossarcoma. Houve a reavaliação de lâminas histológicas dos respectivos casos e entrevistas com tutores com a finalidade acompanhar a qualidade de sobrevida, sinais clínicos, conhecer a idade a castração e, em casos de óbito, o tempo de sobrevida. A prevalência de OSA foi maior em machos, inteiros, com raça definida e de grande porte com escore e condição ideal com média de 10 anos. Os osteossarcomas do esqueleto apendicular e osteoblástico produtivo foram os mais comuns, seguidos pelos condroblásticos e fibroblásticos. Cães castrados e superalimentados tiveram um melhor prognóstico. Os animais estudados tiveram um tempo médio de sobrevivência de nove meses. Assim, os dados obtidos são prósperos em relação a estudos de prognóstico, visto que englobam características além das estudadas ordinariamente e fornecem materiais que permitem comparações, indagações e mais estudos em relação ao osteossarcoma canino.

**Palavras-chave:** câncer; ossos; prognóstico; predisposição; metástase.



## Abstract

LOSEKANN-MARCON, Isadora. **Epidemiological and pathological aspects of osteosarcomas**. 2023. 45f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

Osteosarcoma is the main malignant tumor of bones. It affects, in its majority, dogs of large to giant size and of defined breed. This cancer, quite aggressive and of rapid evolution, causes metastases as early as the appearance of its clinical signs, which include: increase in volume, pain, altered ambulation and pathological fractures may occur. The survival rate of dogs with OSA is reduced, which raises the need for studies. Thus, the objective of this study was to evaluate the predisposing factors for the development and survival of dogs with osteosarcoma followed by the Veterinary Oncology Service of the Federal University of Pelotas (SOVet-UFPel). The product of this dissertation was the article entitled "Evaluation of predisposing factors for osteosarcomas in dogs". We analyzed 47 dogs from the south of Rio Grande do Sul between January 2016 and December 2022 through a retrospective study of the database. In addition to gathering information about each dog about its characteristics such as size, breed, score and body condition, gender, reproductive status, age, site of involvement and type of osteosarcoma. There was a reassessment of histological slides of the respective cases and interviews with tutors in order to monitor the quality of survival, clinical signs, to know the age at castration and, in cases of death, the survival time. The prevalence of OSA was higher in males, whole, with defined race and large size with score and ideal condition with a mean of 10 years. Osteosarcomas of the appendicular skeleton and productive osteoblastic were the most common, followed by chondroblastic and fibroblastic osteosarcomas. Neutered and overfed dogs had a better prognosis. The animals studied had an average survival time of nine months. Thus, the data obtained are prosperous in relation to prognostic studies, since they encompass characteristics beyond those ordinarily studied and provide materials that allow comparisons, inquiries and more studies in relation to canine osteosarcoma.

**Keywords:** prognosis; OSA; predisposition; Dogs; metastasis.

## Lista de Figuras

Figura 1	Representação da localização corporal dos Osteossarcomas diagnosticados no SOVET-UFPeI no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2022.....	39
Figura 2	Sobrevida de cães com osteossarcoma no SOVET-UFPeI no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2022 submetidos ou não à quimioterapia.....	40
Figura 3	Osteossarcomas diagnosticados em cães no SOVet – UFPeI de janeiro de 2016 a dezembro de 2022: (A) OSA osteoblástico produtivo; (B) OSA osteoblástico não produtivo; (C) OSA fibroblástico; (D) OSA periosteal; (E) OSA telangiectásico; e (A) OSA rico em células gigantes.....	40

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Osteossarcomas diagnosticados no SOVet – UFPel de janeiro de 2016 a dezembro de 2022, classificados quanto ao tipo histológico e as características desses cães.....	41
----------	--	----

## **Lista de Abreviaturas e Siglas**

CRD	Com Raça Definida
ECC	Escore e Condição Corporal
OSA	Osteossarcoma
SRD	Sem Raça Definida
SOVet	Serviço de Oncologia Veterinária
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>12</b>
<b>2 Revisão de Literatura.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Epidemiologia.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 Etiologia e Clínica.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3 Classificação e Graduação Histológica.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.1 Microscopia do Tecido Ósseo.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.2 Tecido Ósseo Neoplásico.....</b>	<b>19</b>
<b>2.3.2.1 Osteossarcoma Pouco Diferenciado.....</b>	<b>20</b>
<b>2.3.2.2 Osteossarcomas Osteoblásticos.....</b>	<b>20</b>
<b>2.3.2.3 Osteossarcoma Condroblásticos.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.2.4 Osteossarcoma Fibroblástico.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.2.5 Osteossarcoma Telangiectásico.....</b>	<b>22</b>
<b>2.3.2.6 Osteossarcoma Rico em Células Gigantes.....</b>	<b>22</b>
<b>2.3.3 Graduação Histopatológica.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4 Sobrevida.....</b>	<b>23</b>
<b>3 Artigo - Avaliação dos fatores predisponentes para osteossarcomas em cães no sul do Rio Grande do Sul.....</b>	<b>25</b>
<b>4 Considerações Finais.....</b>	<b>42</b>
<b>Referências.....</b>	<b>43</b>

## 1 Introdução

Há mais de 15.000 anos, a relação do homem com o cão é beneficiada por suas funções. Os cães ajudaram os humanos a sobreviver, com auxílio na caça e proteção, inclusive nos milênios seguintes. Na época da revolução industrial, os seres humanos começaram a criar cães pela forma além da função, popularizando as raças. O aumento da expectativa de vida do cão está relacionado à elevação da ocorrência de cânceres (SCHIFFMAN; BREEN, 2015). Necessitando cada vez mais de estudos para compreensão desta doença.

O osteossarcoma (OSA) é um tumor maligno primário de ossos que se origina do mesoderma. Comum de ossos apendiculares, mas também pode afetar o esqueleto axial, cartilagens, tecidos conectivos e até outros órgãos (CARLSON; WEISBRODE, 2013; SERAKIDES, 2016; SIMPSON et al., 2017; THOMPSON; DITTMER, 2017; PARACHINI-WINTER et al., 2019; POON et al., 2020). Corresponde a cerca de 85% dos tumores ósseos, portanto, trata-se do câncer mais comum de ossos (THOMPSON; DITTMER, 2017; SIMPSON et al., 2017). Ocorre pela deposição de osteóides ou tecido mineralizado por osteoblastos malignos (CARLSON; WEISBRODE, 2013; GREEN; MILLS, 2014; SERAKIDES, 2016). Tem como característica ser rápida, invasiva, agressiva e dolorida (CARLSON; WEISBRODE, 2013). O OSA é uma doença com pouca terapia eficaz. Devido às dificuldades de processamento e os raros exames ósseos durante as necropsias, muitas desordens esqueléticas acabam por não serem frequentemente diagnosticadas (CRAIG et al., 2016).

Desta forma, fez-se necessário determinar a predisposição para OSA e possíveis prevenções para cada causa. Portanto, os objetivos foram estabelecer a prevalência e caracterizar de osteossarcoma dentre as neoplasias diagnosticadas no Serviço de Oncologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (SOVet-UFPel); avaliar os fatores predisponentes para o desenvolvimento e sobrevida do osteossarcoma em cães e analisar a possível relação do desenvolvimento de osteossarcoma com o porte com a idade e a condição reprodutiva.

## **2 Revisão de Literatura**

O esqueleto tem a função de sustentar e proteger o corpo contra impactos, além de promover o movimento (CARLSON; WEISBRODE, 2013) e a homeostase do cálcio (CRAIG et al., 2016). O osso é um tecido conjuntivo extremamente especializado devido a propriedades únicas de sua matriz extracelular (CRAIG et al., 2016). Apesar de parecerem órgãos inertes, estão em constante remodelação (CRAIG et al., 2016). Exemplos disso são as contínuas reabsorções e reposições em razão do equilíbrio e forças mecânicas, além do reparo de lesões (CRAIG et al., 2016).

A maioria dos ossos se formam a partir da ossificação endocondral, a qual a cartilagem se mineraliza. Já os ossos planos são criados por meio da ossificação intramembranosa, cujas células mesenquimais se diferenciam em osteoblastos e produzem a matriz sem a cartilagem (CARLSON; WEISBRODE, 2013). O osso subcondral é organizado por sistemas Harvesianos, ou seja, em rolos, que envolvem nervos e vasos de camadas lamelares concêntricas paralelas ao eixo longitudinal. O osso medular é composto de osso trabecular ou esponjoso, seu arranjo depende das pressões aplicadas pela mecânica (CARLSON; WEISBRODE, 2013).

### **2.1 Epidemiologia**

A prevalência de OSA em cães de grande porte (25–45 kg) a gigantes (>45 kg) é alta (5,5 casos / 10.000 cães-ano) e varia conforme a raça (POON et al., 2020) e família (SERAKIDES, 2016). Esses cães têm maior risco em comparação com cães menores (MAKIELSKI, 2019; EDMUNDS et al., 2021). Há um acréscimo na chance de desenvolver OSA devido ao aumento de peso e altura (MAKIELSKI, 2019). Porém o maior tamanho é necessário, mas não suficiente ou exclusivo para produzir o risco (EDMUNDS et al., 2021). Sivacolundhu e colaboradores (2013) relataram a parcela de Rottweilers e Labradores, com 14 de 30 cães com a neoplasia em ulna. Edmunds e colaboradores (2021) constataram que a maioria do

animais com osteossarcoma eram com raça definida, correspondendo a 77,40%, e que 21,10% eram mestiços. Mas, com uma diversidade maior de raças, Labrador Retriever (60;14,8%), Rottweiler (139; 7,9%), Galgo (103; 5,9%), Pastor Alemão (65; 3,7%) e Golden Retriever (65; 3,7%). Neste mesmo trabalho em questão, 6,0% (106) eram braquicefálicos, 19,4% (341) eram dolicocefálos e 55,9% (982) eram mesocefálicos (EDMUNDS et al., 2021). Assim, em relação a conformação cranial, faltam mais estudos sobre a possibilidade de haver a prevalência nos cães acometidos.

Em geral, os machos têm maior risco de osteossarcoma em comparação com as fêmeas (SCHOTT, 2008; SIVACOLUNDHU et al., 2013; SIMPSON, 2017; PARACHINI-WINTER et al., 2019; POON et al., 2020). Embora a predisposição de gênero não tenha sido documentada de forma reprodutível em caninos como em humanos com osteossarcoma ocorrendo mais comumente em adolescentes do gênero masculino (relação homem:mulher de 1,34:1) (MAKIELSKI, 2019). Porém alguns trabalhos reportam maior casuística em fêmeas (LOUKOPOULOS; ROBINSON, 2007; GUIM et al., 2018; AL KHAN et al., 2020).

Entretanto, Kruse (2012) analisou 46 cães em que 23 (50%) eram fêmeas castradas, três (7%) fêmeas inteiras, 14 (30%) machos castrados e seis (13%) machos inteiros (KRUSE, 2012). Animais castrados de ambos os sexos correm mais risco de osteossarcoma em comparação com os inteiros (EDMUNDS et al., 2021). Apenas dois cães eram inteiros no trabalho de Sivakolundu e colaboradores (2013) dentre os 30 caninos com OSA. Assim como, no estudo de Edmunds e colaboradores (2021) em que a maioria dos casos eram machos castrados (574 cães, 32,7%).

Em relação a idade, estudos apontam que esta neoplasia afeta animais jovens adultos (SIMPSON et al., 2017), com início do desenvolvimento entre os cinco e nove anos (SERAKIDES, 2016). Isso se deve pela ação dos hormônios sexuais, pois estes comprometem a densidade e crescimento ósseo (MAKIELSKI et al., 2019). Pesquisas relatam média de idade de nove anos (KRUSE, 2012; SELMIC et al., 2014; GUIM et al., 2018). Guim e colaboradores (2018) detectaram idades entre um e 15 anos. No trabalho de Makielski e colaboradores (2019), 80% dos casos ocorreram em animais maiores de sete anos de idade. Cães com idade entre



nove e 12 anos apresentaram maior chance de osteossarcoma do que aqueles com mais de 12 anos (EDMUNDS et al., 2021).

Os membros anteriores são duas vezes mais afetados que os posteriores (MAKIELSKI et al., 2019), mas o local de surgimento pode variar conforme a raça (THOMPSON; DITTMER, 2017). Somando todos os casos de Edmunds e colaboradores (2021), 45,50% dos OSA eram apendiculares (799), 16,00% axiais (282), 8,37% extraesqueléticos (147) e 30,06% de localização não registrada (528 casos). Os membros torácicos também foram mais acometidos no trabalho de Guim e colaboradores (2018) com 83 de 152 casos. Isso provavelmente ocorra devido aos cães terem a maior parte de seu peso corporal concentrado nos membros torácicos, o que pode aumentar a incidência de lesões e até de neoplasias (DALECK et al., 2016).

No trabalho de Edmunds e colaboradores (2021) apenas 5% dos osteossarcomas são de raças pequenas e estão localizados no esqueleto axial em 65% dos casos. No esqueleto axial, as localizações que são associadas a um pior prognóstico são as costelas e escápula (SIVACOLUNDHU et al., 2013).

Apesar da frequência do osteossarcoma extraesquelético ser desconhecida em cães segundo Makielski (2019). Patnaik (1990) relata 11 casos para cada 1000 tipos esqueléticos, sendo mais comum no trato gastrointestinal e glândulas mamárias (MAKIELSKI, 2019), Edmunds e colaboradores (2021) relatam a glândula mamária é o mais assíduo.

## **2.2 Etiologia, aspectos clínicos e diagnóstico**

A fisiopatologia do osteossarcoma não é bem compreendida, mas acredita-se que o início seja multifatorial (HAMMER, 1995). Em termos genéticos, os cães que possuem os genes Rb e p53 podem desenvolver o OSA (LOUKOPOULOS; ROBINSON, 2007; EHRHART et al., 2013). O OSA surge de mutações replicativas causadas pelos processos normais de divisão celular necessários para criar ossos mais longos (MAKIELSKI, 2019). Origina-se de células-tronco/estromais mesenquimais e/ou de precursores osteoblásticos (CORRE et al., 2020; YANG et al., 2020).

Os sinais clínicos dependem da localização da neoplasia, sendo os mais comuns: deambulação alterada pela fratura patológica, o edema, pela drenagem linfática obstruída (THOMPSON; DITTMER, 2017), dor, hipercalcemia e aumento de fosfatase sérica (CARLSON; WEISBRODE, 2013). Mas esses sinais dependem do local de acometimento (SERAKIDES, 2016).

Sempre é necessário realizar o exame radiográfico, o qual pode evidenciar lesões osteolíticas (mais comuns), esclerosas (osteoplásica ou produtiva) ou mistas (SIMPSON et al., 2017; THOMPSON; DITTMER, 2017). Outra característica apresentada no exame é Triângulo de Codman e o padrão “*sunburst*” (explosão) com espículas de osso tumoral, ou até algumas camadas formadas ao redor do osso, que indica progressão lenta do tumor (THOMPSON; DITTMER, 2017).

O exame histopatológico é o diagnóstico definitivo, que é baseado na presença de osteóide, matriz mineralizada, células mesenquimais malignas e geralmente tem alta celularidade (SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITTMER, 2017). O tumor pode ser classificado como osteoblástico (mais comum), condroblástico, fibroblástico, teleangiectásico, pobremente diferenciado ou com células gigantes (CARLSON; WEISBRODE, 2013; SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITTMER, 2017).

De acordo com o local de origem, o OSA pode ser central, que cresce em direção ao córtex ao passo que se expande para a medula e é o mais comum (SERAKIDES, 2016; SIMPSON et al., 2017); justacortical ou periosteal, que circunda o córtex, sem adentrar a medula, é mais lento, portanto, o quadro é mais favorável (CARLSON; WEISBRODE, 2013; SERAKIDES, 2016); e multicêntricos, quando há mais de um osso acometido sem presença de metástases em tecidos moles (SERAKIDES, 2016).

A aparência macroscópica do OSA apresenta-se com aumento de volume branco a acinzentada com osso mineralizado e arenoso. O tumor cresce no interior do osso preenche a medula distal e proximalmente, além de destruir o perióstio, mas não atinge a área articular (CARLSON; WEISBRODE, 2013). Quando há o crescimento rápido, resulta em áreas de infarto e hemorragia (CARLSON; WEISBRODE, 2013). Todavia, quando a expansão é lenta, o osso forma uma fina camada, que é comparada por Thompson e Dittmer (2017) a uma concha na superfície do osso.

## 2.3 Classificação e graduação histopatológica

### 2.3.1 Microscopia do Tecido Ósseo

Existem quatro tipos de células no tecido ósseo: osteoblastos, osteócitos, células de revestimento e osteoclastos. A matriz osteóide é composta por componentes orgânicos e inorgânicos formado por cristais de hidroxiapatita (CRAIG et al., 2016). Cerca de 90% da matriz osteóide é formada por colágeno tipo I. Também estão presentes as osteonectinas, uma fosfoproteína que interage com colágeno e os cristais, que podem ser importantes na formação óssea intramembranosa, principalmente em casos de fratura (CRAIG et al., 2016). A osteocalcina é uma proteína não colágena volumosa na matriz, sua síntese é dependente das vitaminas K e D. Outras proteínas não colágenas presentes na matriz são a osteopontina e a sialoproteína óssea (CRAIG et al., 2016). Os proteoglicanos são menos comuns na matriz cartilaginosa e estão envolvidos na mineralização dos tecidos moles e estão implicados na patogênese da osteoporose (CRAIG et al., 2016). Essa matriz também possui fator de crescimento, cálcio, fosfato, carbonato, magnésio, sódio e zinco. Comparada ao tecido conjuntivo, a matriz osteóide possui menos fibras e é mais amorfa (CRAIG et al., 2016; THOMPSON; DITMER, 2017).

Os osteoblastos se originam de células tronco. Estão presentes nas superfícies trabecular, endosteal e periosteal do tecido ósseo (CARLSON; WEISBRODE, 2013; SERAKIDES, 2016). Produzem matriz osteóide através do conteúdo colagenoso, de duas formas: endocondral, quando ocorre na matriz de colágeno, e intramembranosa, quando ocorre a condensação do colágeno (SERAKIDES, 2016). Além disso, estão envolvidos na mineralização e até mesmo na sua reabsorção quando os osteoclastos são acionados, que por sua vez, atuam por meio de estímulos fisiológicos (CARLSON; WEISBRODE, 2013; CRAIG et al., 2016; SERAKIDES, 2016). Os osteoblastos variam grandemente, sendo pleomórficos com formas fusiformes com citoplasma basofílico excêntrico, núcleo hipercromático frequentemente polarizado, possuem abundante retículo endoplasmático rugoso e aparelho de Golgi (CARLSON; WEISBRODE, 2013; CRAIG et al., 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). Essas células podem ser

reativadas pelo paratormônio, permitindo a formação óssea. Quando essas células ativas estão rodeadas por matriz osteóide, são chamadas de osteócitos (CARLSON; WEISBRODE, 2013; CRAIG et al., 2016).

Os osteócitos são as células mais numerosas neste tecido (CRAIG et al., 2016). Quando recém-formados, há características morfológicas e funcionais de osteoblastos (CRAIG et al., 2016). À medida que amadurecem e se tornam mais circundados pela matriz, o retículo endoplasmático rugoso encolhe e eles desenvolvem mais propriedades celulares fagocíticas. Eles detectam forças aplicadas ao osso e sinalizam sobre a produção e reabsorção óssea (CARLSON; WEISBRODE, 2013). Dessa forma, são responsáveis por manter a homeostase do cálcio extracelular (SERAKIDES, 2016). Mantém contato com outros osteócitos e células de revestimento por meio de canálculos (CARLSON; WEISBRODE, 2013; CRAIG et al., 2016).

Os osteoclastos são derivados de linhagens hematopoiéticas de monocítica-macrofágica (CARLSON; WEISBRODE, 2013; CRAIG et al., 2016; SERAKIDES, 2016). São responsáveis pela reabsorção da matriz óssea mineralizada (CRAIG et al., 2016; SERAKIDES, 2016). Portanto, são ricos em lisossomos e enzimas (CRAIG et al., 2016). São células grandes, multinucleadas, com citoplasma volumoso e eosinofílico, geralmente encontradas na superfície óssea nas lacunas de Howship dos canais de Havers (CARLSON; WEISBRODE, 2013; CRAIG et al., 2016; SERAKIDES, 2016). Em geral, a reabsorção é mais rápida que a formação óssea, assim, essa remodelação ocorre ainda mais rapidamente frente aos desequilíbrios (CRAIG et al., 2016).

Tanto as diferentes características macroscópicas (SERAKIDES, 2016) quanto a microscopia de muitas estruturas – osso, cartilagem, tecido conjuntivo, tecido adiposo, tecido hematopoiético e vasos sanguíneos (SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITMER, 2017) – tornam o diagnóstico um desafio para patologistas (THOMPSON; DITMER, 2017). Por exemplo, os OSA's podem produzir tecido cartilaginoso e podem ser confundidos com condrossarcoma, ou, se há a presença de células fusiformes, é necessário para diferenciá-lo do fibrossarcoma (SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). Além disso, muitas vezes é difícil para o patologista distinguir entre processos reparativos e neoplásicos no osso (GREEN; MILLS, 2014). No entanto, deve-se ter cuidado, um diagnóstico incorreto

do tumor pode levar a terapias errôneas, amputação desnecessária, quimioterapia inadequada ou até mesmo a eutanásia do paciente. A imuno-histoquímica pode auxiliar no diagnóstico, mas é subutilizada em comparação com a aplicação em tecidos moles (THOMPSON; DITMER, 2017).

### 2.3.2 Tecido ósseo neoplásico

A neoplasia pode causar inflamação e outras reações periosteais. Portanto, quando uma pequena amostra é retirada da lesão e enviada para análise, pode não ser representativa da neoplasia (SERAKIDES, 2016). A comunicação entre patologistas veterinários, atendimento clínico completo e exames de imagem são necessários para o diagnóstico das lesões (CARLSON; WEISBRODE, 2013; GREEN; MILLS, 2014; CRAIG et al., 2016; SERAKIDES, 2016). As radiografias podem fornecer uma indicação do comportamento e extensão do tumor (CRAIG et al., 2016), que podem-se apresentar líticas, escleróticas ou mistas (CARLSON; WEISBRODE, 2013; SERAKIDES, 2016). A destruição óssea pode ocorrer por osteoclastos, que pode ser visto na microscopia, mas também por prostaglandinas, citocinas, subprodutos ácidos e enzimas líticas (CARLSON; WEISBRODE, 2013). Figuras mitóticas são comuns e podem ser atípicas (THOMPSON; DITMER, 2017)

Quanto a localização, podem ser centrais, justacorticais e periosteais (CARLSON; WEISBRODE, 2013; CRAIG et al., 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). Em geral, os tipos histológicos dos OSAs, são os tipos osteoblástico, condroblástico, fibroblástico, teleangiectásico, pobremente diferenciado e de células gigantes (CARLSON; WEISBRODE, 2013; SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). Porém, a *World Health Organization* (WHO) classifica os tipos histológicos de osteossarcoma em oito grupos: convencional, secundário, teleangiectásico, de pequenas células, alto grau central, parosteal, periosteal alta e superficial de alto grau. No convencional é incluído os tipos osteoblástico, fibroblástico e condroblástico.

No estágio inicial de formação, o osso reativo consiste em células mesenquimais imaturas que proliferam rapidamente, produzindo osteóide não mineralizado (CRAIG et al., 2016). A natureza e a quantidade deste produto são altamente variáveis em alguns casos, consiste em material eosinofílico de hialina,

dispostos em fitas estreitas entre as células malignas, produzindo um padrão semelhante a renda, formando ilhas irregulares ou espículas semelhantes a tecido fibroso colagenoso contornados pelos osteoblastos malignos (CRAIG et al., 2016, THOMPSON; DITMER, 2017). Eles podem estar presentes isoladamente ou em grupos e às vezes associados a cordões eosinofílicos ou ilhas de matriz (CRAIG et al., 2016). O citoplasma pode apresentar pequenos vacúolos claros e grânulos rosas intracitoplasmáticos (CRAIG et al., 2016).

### **2.3.2.1 Osteossarcoma Pouco Diferenciado**

Inclui células mesenquimais anaplásicas que formam pequenas quantidades de osteóides e espículas ósseas (SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). É constituído por células tumorais que vão desde pequenas e semelhantes às células estromais da medula óssea até grandes células pleomórficas do sarcoma indiferenciado, assim, podem ter anisocariose marcada, múltiplos núcleos grandes e irregulares. É altamente agressivo e forma lesões líticas, geralmente com fratura patológica como primeiro sinal clínico (CRAIG et al., 2016).

### **2.3.2.2 Osteossarcomas Osteoblásticos**

São reconhecíveis pela presença de osteoblastos anaplásicos em grande parte do tumor. São redondos a fusiformes tem citoplasma basofílico e núcleo hipercromáticos excêntricos (CRAIG et al., 2016; THOMPSON; DITMER, 2017), ainda, os bordos são muitas vezes angulares, e pode haver uma zona pálida de Golgi adjacente ao núcleo (CRAIG et al., 2016). Com base na quantidade de osso tumoral produzido na matriz, pode ser subclassificados como não produtivo, moderadamente produtivo ou produtivo (CRAIG et al., 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). O OSA osteoblástico moderadamente produtivo é o subtipo mais comum de osteossarcoma em cães (CRAIG et al., 2016). A maior produção osteóide por parte dos osteoblastos moderadamente produtivos e dos produtivos formam ilhas irregulares a depósitos extensos separados por osteoblastos malignos (THOMPSON; DITMER, 2017). O tipo não produtivo tem finos cordões osteóides espalhados entre as células tumorais, portanto, produz pouca matriz (THOMPSON;

DITMER, 2017). Assim como no pouco diferenciado, é muito agressivo, havendo fratura patológica quão cedo inicia a destruição óssea, também apresenta leões líticas e tende a ter reações periosteais (THOMPSON; DITMER, 2017). Radiograficamente, há um padrão misto de destruição e produção óssea (CRAIG et al., 2016). A mineralização torna o padrão mais denso e esclerótico (THOMPSON; DITMER, 2017). Deve-se atentar para a diferenciação de osteblastoma, um tumor benigno (THOMPSON; DITMER, 2017). Em alguns casos, com a abundante formação óssea tumoral, a diferenciação do osso tumoral do osso reativo pode ser difícil ou impossível (CRAIG et al., 2016). O tipo osteoblástico pode ser responsável por metástases precoces (KIRPENSTEIJN et al., 2002).

### **2.3.2.3 Osteossarcoma Condroblástico**

As células mesenquimais malignas produzem tanto matriz osteóide quanto matriz condróide (SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITMER, 2017), deste modo pode levar a um diagnóstico errôneo. Deve ser diferencial de condrossarcoma (THOMPSON; DITMER, 2017).

### **2.3.2.4 Osteossarcoma Fibroblástico**

Produzem leões líticas com presença de células neoplásicas fusiformes, semelhantes a fibrossarcoma, com formação osteóide. À medida que a lesão progride, ocorre a mineralização da matriz. (CRAIG et al., 2016; SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). As espículas de osso podem ser menos frequentes nas lesões iniciais (CRAIG et al., 2016). Deve ser necessário diferenciar de calos ósseos em formação (GREEN; MILLS, 2014). É a forma menos agressiva dentre os subtipos de osteossarcoma (HAMMER et al., 1995; STRAW, 1996; AL KHAN et al., 2002; LOUKOPOULOS; ROBINSON, 2007; THOMPSON; DITMER, 2017).

### **2.3.2.5 Osteossarcoma Teleangiectásico**

Causa uma lesão osteolítica agressiva na radiografia. Na macroscopia é observada áreas friáveis e avermelhadas com sangue coagulado ou cistos hemorrágicos que devem ser diferenciados de hemangiossarcomas e cistos ósseos aneurismáticos (CARLSON; WEISBRODE, 2013; GREEN; MILLS, 2014; CRAIG et al., 2016; SERAKIDES, 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). Mas, difere-se pela produção de espículas osteóides formadas por células mesenquimais malignas pleomórficas, além de alterações nucleares, alto índice mitótico (CRAIG et al., 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). Comparados a todos os tipos de osteossarcomas, esta é a forma menos favorável de prognóstico (SIVACOLUNDHU et al., 2013; THOMPSON; DITMER, 2017).

### **2.3.2.6 Osteossarcoma rico em Células Gigantes**

Há menor produção de matriz, mas contém muitas células multinucleadas (SERAKIDES, 2016), por isso, assemelham-se ao osteossarcoma osteoblástico não produtivo, porém com áreas com predominância de células gigantes (CRAIG et al., 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). Células gigantes multinucleadas são comuns em OSA e podem mascarar os osteoblastos malignos levando o diagnóstico errôneo de tumor de células gigantes, de melhor prognóstico por ser de caráter benigno (CRAIG et al., 2016; THOMPSON; DITMER, 2017). Ambos são semelhantes na radiografia, gerando uma lesão lítica e expansiva, porém o tumor maligno leva a reação periosteal e aparência mais agressiva (THOMPSON; DITMER, 2017). Na microscopia, caso as células mononucleares apresentem atipia, alto índice mitótico, entre outras características malignas, leva-se ao diagnóstico de osteossarcoma (THOMPSON; DITMER, 2017).

### **2.3.3 Graduação histopatológica**

A primeira graduação foi gerada por Straw (1996) utilizando para OSA mandibular, pelo escore de pleomorfismo, contagem mitótica em 10 campos e percentual de necrose pode resultar em três diferentes graus tabulados (AVALLONE



et al., 2021). Então, Kirpensteijn e colaboradores (2002) aplicou uma nova graduação para aplicação no esqueleto axial e apendicular determinando a contagem mitótica com três campos aleatórios, a quantidade de matriz tumoral, a celularidade e a porcentagem de necrose. A presença de invasão linfovascular ou metástase linfonodal supera qualquer um dos atributos acima e é imediatamente classificada como grau III (AVALLONE et al., 2021). Mas, Avallone e colaboradores (2021) argumenta que esses sistemas são contraditórios e que faltam estudos para esclarecer essas diferenças porque esse tumor tem critérios diversos. Os OSAs de crânio tendem a ser de menor grau comparados aos de esqueleto apendicular (THOMPSON; DITMER, 2017). Os osteossarcomas do tipo osteossarcoma osteoblástico não produtivo tendem a ser de mais alto grau e o de menor grau envolvem os fibroblásticos (THOMPSON; DITMER, 2017). Porém, a classificação não tem sido utilizada como prognóstico em OSA caninos (STRAW, 1996; KIRPENSTEIJN et al., 2002; KRUSE, 2012). Devido a heterogenicidade do tumor e a sua natureza subjetiva que leva à variação dos observadores que levam a uma avaliação imprecisa de pequenas amostras (KRUSE, 2012) e a ausência de prognósticos definitivos para esse tumor.

## **2.4 Sobrevida**

A metástase ocorre geralmente cedo por via hematogena para os pulmões, mas pode acometer tecidos moles ou até outros ossos (CARLSON; WEISBRODE, 2013). Raramente faz metástase para órgãos abdominais (SIMPSON et al., 2017).

O prognóstico para cães com OSA metastático é ruim, com sobrevida média de 76 dias (PARACHINI-WINTER et al., 2018). As metástases pulmonares são recorrentes com prognóstico negativo (SIVACOLUNDHU et al., 2013; GUIM et al., 2018). Micrometástases indetectáveis ocorrem mais cedo na maioria dos pacientes, e as metástases podem ser vistas dentro de um ano após o diagnóstico (POON et al., 2020). Normalmente, o tempo de sobrevida é de 284 dias a quase um ano em comparação com um tempo de sobrevida livre de quimioterapia de cinco meses (POON et al., 2020). A amputação isolada como tratamento para cães com osteossarcoma apendicular teve um prognóstico negativo com um tempo médio de sobrevida de 170 dias (GUIM et al., 2018). A neoplasia localizada em ossos longos

tem sobrevida de um a seis meses, porém, quando ocorre em ossos chatos, essa pode ser maior (SERAKIDES; 2016). A localização do tumor na escápula foi significativamente associada à diminuição dos tempos de sobrevida (KRUSE, 2012). Extremidades proximais tiveram tendência a pior prognóstico (GUIM et al., 2018). Nos casos de OSA ulnar em cães tratados com vários tipos de tratamento, incluindo o cirúrgico juntamente com a quimioterapia, o tempo de sobrevida foi de 463 dias (SIVACOLUNDHU et al., 2013). OSA primário proximal ao úmero tem menos dias (90 dias) de sobrevida comparado com outros ossos (244 dias) (PARACHINI-WINTER et al., 2018).

O tempo médio de sobrevivência para 17,0% da população com osteossarcomas axiais foi de 12 semanas com uma taxa de sobrevivência de um ano (KRUSE, 2012). A sobrevida média para cães com metástases cutâneas tratados com cirurgia e quimioterapia foi de 94 dias (56-336 dias) ou apenas com quimioterapia, foi de 64 dias (29-171 dias), ambos mais longos do que cães não tratados (11 dias; intervalo de 5 a 48 dias) (PARACHINI-WINTER et al., 2018). Fosfatase alcalina sérica elevada, proteinúria pré-operatória e localização proximal do úmero são considerados negativos (KRUSE, 2012; SIMPSON, 2017). Nem o grau do tumor nem nenhum dos parâmetros histológicos foram associados ao tempo de sobrevida (KRUSE, 2012).

Os órgãos mais comuns de metástase de OSA são: pulmão, rins, fígado, cérebro e linfonodo, além disso, a metástase pulmonar pode ser diagnosticada antes mesmo do óbito (SCHOTT, 2008; PARACHINI-WINTER et al., 2018). Sivacolundhu e colaboradores (2013) reportaram um caso com metástase pulmonar no momento da primeira consulta, dentre os 30 casos, e foi associado significativo como indicador negativo. O prognóstico para cães com OSA metastático é ruim, com média 76 dias de sobrevivência (PARACHINI-WINTER et al., 2018).

### 3 Artigo

#### **Avaliação dos fatores predisponentes para osteossarcomas em cães**

MARCON, I. L.; SAPIN, C. F.; DA SILVA, L. M. C.; CORREA, L. G.; MIRANDA, J. V.;  
MAGGI, V. B.; LEMOS, F. M.; NORONHA, M. G.; BRUHN, F. R. P. FERNANDES,  
C.G.

Submetido à revista Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science

9 Full article

## 10 **Evaluation of predisposing factors for osteosarcomas in dogs**

### 11 **Avaliação dos fatores predisponentes para osteossarcomas em cães**

12

#### 13 **Abstract**

14 Osteosarcoma is a highly aggressive type of cancer that metastasizes as early as the onset of clinical  
15 signs. The study's objective is to evaluate the factors that influence the survival of dogs diagnosed  
16 with osteosarcomas. This study analyzed 47 dogs from the south of Rio Grande do Sul, from  
17 January 2016 to December 2022. A retrospective study was conducted using the database of the  
18 Veterinary Oncology Service from the Federal University of Pelotas (SOVet-UFPel), interviews  
19 with owners to determine quality of survival, and finally, statistical analyses. There was a higher  
20 occurrence in unneutered males of defined large size breeds with ideal score and body condition,  
21 and 10 years old in average. The appendicular skeleton and the productive osteoblastic  
22 osteosarcoma, followed by chondroblastic and fibroblastic, were the more frequent types. Neutered  
23 and overfed dogs had a better prognosis. The studied animals had an average survival time of nine  
24 months. It is necessary to know more about the causes, treatments, and ways to improve these  
25 animals' life quality.

26 **Keywords:** Neoplasia. Neutered. Overfed. Survival time. Rottweiler.

27

#### 28 **Resumo**

29 O osteossarcoma é um tipo de câncer muito agressivo que faz metástases quão cedo ao  
30 aparecimento dos sinais clínicos. O objetivo é avaliar influência dos fatores na sobrevivência dos cães  
31 diagnosticados com osteosarcomas. Este trabalho analisou 47 cães portadores de osteossarcoma,  
32 diagnosticados no sul do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2022.  
33 Foi realizado um estudo retrospectivo a partir da base de dados do Serviço de Oncologia Veterinária  
34 da Universidade Federal de Pelotas (SOVet-UFPel) e de entrevistas com tutores para determinar  
35 qualidade de sobrevivência, e por fim, realizadas as análises estatísticas. Houve maior ocorrência em  
36 machos inteiros, com raça definida de porte grande com escore e condição corporal ideal e a média  
37 de 10 anos de idade. O esqueleto apendicular, e o tipo de osteossarcoma osteoblástico produtivo,  
38 seguido de condroblástico e fibroblástico foram mais frequentes. Os cães castrados e  
39 superalimentados tiveram melhor prognóstico. Os animais estudados apresentaram tempo de  
40 sobrevivência de nove meses em média. É necessário maior conhecimento quanto as causas, tratamento  
41 e melhoria da qualidade de vida desses animais.

42 **Palavras-chave:** Neoplasia. Castrado. Superalimentado. Sobrevida. Rottweiler.

## 43 **Introduction**

44 Osteosarcoma (OSA) is the most common primary bone cancer (Braga, 2022), and represents  
45 85% of all bone tumors in dogs (Poon, 2020; Alves, 2022). It develops in the metaphysis of long  
46 bones (Corre, 2020; Poon, 2020; Yang 2020), more precisely near the growth plates (Alves, 2022;  
47 Makielski, 2019). Rapid bone growth causes increased bone remodeling, cell renewal, and  
48 consequently the proliferation of osteoblasts, which produce osteoid matrix (Corre, 2020; Yang,  
49 2020). OSA arises from replicative mutations caused by normal cell division processes necessary to  
50 create longer bones (Makielski, 2019). It is suggested that OSA originates in mesenchymal  
51 stem/stromal cells and/or osteoblastic precursors. The bone microenvironment is very specialized,  
52 complex and highly dynamic, composed of bone cells (osteoclasts, osteoblasts, osteocytes), stromal  
53 cells (MSCs, fibroblasts), vascular cells (endothelial cells and pericytes), immune cells  
54 (macrophages, lymphocytes), and a mineralized extracellular matrix (ECMM) (Corre, 2020; Yang,  
55 2020).

56 OSA can be subdivided into osteoblastic (productive and non-productive), fibroblastic,  
57 chondroblastic, giant cell rich, telangiectatic (Yang, 2020), and poorly differentiated. These are very  
58 heterogeneous neoplasms at the intratumoral level and also between individuals. Therefore, the  
59 genomic initiating biological processes responsible for osteosarcoma have not yet been identified,  
60 so employing new therapies is difficult (Corre, 2020; Yang, 2020). Clinical signs include lameness  
61 or pain associated with increased volume, either from a bone or a soft tissue mass, or swelling  
62 (Poon, 2020). Pathologic fracture may occur in 38% of the dogs affected. OSA is aggressive and  
63 can present lytic, proliferative, or mixed bone lesions (Edmunds, 2021).

64 As for epidemiology, female dogs are at lower risk compared to males. Large and giant breed  
65 dogs (> 25 kg) are at higher propensity (Alves, 2022). Prognostic factors are important for each  
66 patient and depend on a combination of data such as age, body weight, breed, surgical excision,  
67 tumor size and volume, tumor classification, vascular density, and apparent metastasis  
68 (Loukopoulos, 2007). In addition, elevated serum alkaline phosphatase, preoperative proteinuria,  
69 and proximal location of the humerus are considered negative prognostic factors (Simpson, 2017).  
70 Thus, amputation is appropriately performed as palliative surgery to alleviate pain, but it is  
71 ineffective to prevent metastatic spread. Only 10% of canine osteosarcoma cases have macroscopic  
72 metastasis (Edmunds, 2021), meaning that most dogs will have undetectable micrometastatic  
73 disease (Poon, 2020). Therefore, this study aims to evaluate factors influencing the survival of dogs  
74 diagnosed with osteosarcomas.

75

76

## 77 **Materials and Methods**

78 A retrospective study was conducted based on the anatomopathological diagnosis records of  
79 SOVET - UFPel, from January 2016 to December 2022, in which dogs diagnosed with OSA were  
80 selected. The samples obtained from both biopsies and necropsies were analyzed by macroscopy,  
81 being properly sectioned for evaluation of bone and joint involvement. Recent cases were sectioned  
82 into smaller fragments, some of which were decalcified (7% acetic acid and 7% hydrochloric acid -  
83 1:1). Then they were cleaved and processed for paraffin embedding and histological slides stained  
84 with hematoxylin and eosin. Old cases had their slides reevaluated.

85 Information was collected on patients diagnosed with different types of OSA. Later,  
86 interviews were conducted with the owners to collect information not included in the registry, such  
87 as whether they were neutered, age at neutering, survival time, possible clinical signs associated  
88 with the disease, and weight changes with the progression of the diseases and in cases of death. For  
89 this, the project was submitted and approved by the university's ethics committee (CCEA UFPel  
90 7003-2016). Survival was determined by recording the time from amputation to death.  
91 Subsequently, the collected data were evaluated

### 92 *Breed, size and cranial conformation*

93 It was analyzed whether the dogs were pure breed or mixed-breed and they were summarized  
94 in subcategories associated with size. This was determined by the breed characteristic. Among  
95 mixed-breed dogs, it was determined by the weight in conjunction with the body condition score  
96 (BCS). In general, dogs with up to 10 kg were considered small size; medium size, between 11 kg  
97 and 20 kg; and large size, with weight higher than 21 kg. Cranial conformation was also defined by  
98 each breed's peculiarity, such as dolichocephalic, mesocephalic, brachycephalic, and not informed  
99 (NI).

### 100 *Body Condition Score*

101 The BCS was defined as underfed, ideal, or overfed. A scale of 0 - 9 was used. The dogs with  
102 scores between 1 – 3 were considered underfed; in ideal score, those between 4 - 6; and overfed,  
103 those between 7 - 9. For statistical purposes, these dogs' weights were organized as 0-15kg, 16-  
104 30kg, 31-45kg, greater than 46kg, and NI. In the period between the disease diagnosis and the  
105 death, owners or veterinarians were asked if there was a change in BCS.

### 106 *Gender and reproductive status*

107 Animals were classified by sex as male or female, and by reproductive status as neutered or  
108 unneutered. In the cases of neutered animals, age at neutering was grouped as young (between six  
109 and 24 months), adult (three years or older), or NI.

110

111

112 *Age*

113 They were characterized as puppies (dogs up to one year old), young adults (one to four years  
114 old), adults (five to ten years old), and elderly (over ten years old); a classification adapted from  
115 Figuera and collaborators (2008). Then, to apply statistical calculations, they were grouped into two  
116 age groups as adults and elderly dogs; in this case, young adults were grouped into the adult class  
117 (3-9 years old).

118 *Affected location*

119 According to the anatomical classification, the cases were divided into appendicular skeleton,  
120 which covers the thoracic and pelvic limbs; axial skeleton, composed of the skull, vertebrae, rib,  
121 and sternum; and extraskeletal (Serakides, 2016). The presence of the neoplasm was also analyzed  
122 regarding the affected area: head, ribs, breast, proximal portion or distal portion of the limbs.

123 *Tumor*

124 The types of osteosarcomas diagnosed and their site of appearance were checked. The  
125 different types of osteosarcoma were grouped as chondroblastic, fibroblastic, breast, productive  
126 osteoblastic OSAs, and the others were grouped in the category "other". Survival time was  
127 organized into up to three months, four to six months, more than six months, or NI.

128 **Results**

129 Between January 2016 and December 2022, there were a total of 3,292 materials for analysis  
130 at SOVet-UFPel, 2,722 of these coming from canines. The service obtained 536 necropsies and  
131 2,755 biopsies. Among those, 47 (1.73%) dogs were diagnosed with one of the different types of  
132 OSA (Table 1). Of these, 61 diagnoses of OSA were made, since the same dog may have had more  
133 than one diagnosis, especially because metastases are included.

134 *Breed, size, and cranial conformation*

135 Among the dogs studied, there were 28 (59.57%) with defined breed (CRD) and 19 (40.44%)  
136 dogs without a defined breed (SRD). Among those with defined breeds, 28.58% were Rottweilers  
137 (8/28); 21.43% Labrador Retrievers (6/28); Saint-Bernards, Ovelheiros Gaúchos, and Poodles  
138 (7.14%; 2/28 each); the other breeds had individual specimens (3.57%; 1/28 each) and were Akita,  
139 Dobermann, Cimarron, Fila Brasileiro, German Shepherd, Bull Terrier, French Bulldog, and  
140 Yorkshire Terrier. Large dogs were 59.57% (28/47) of the specimens diagnosed, 25.54% (12/47)  
141 were medium-sized, and 12.76% (6/47) were small-sized; the size of one dog could not be  
142 identified. The Mann-Whitney test rejected the hypothesis about survival when comparing CRD  
143 and SRD. Regarding cranial conformation, 44.68% (21/47) were mesocephalic, 12.76% (6/47) were  
144 dolichocephalic, and 10.64% (5/47) were brachycephalic. Facial biotype could not be identified in  
145 15 animals. The Kruskal-Wallis test rejected the difference in survival regarding different sizes and  
146 cranial conformations.

147 *Body Condition Score*

148 The weights of the dogs studied were well distributed: 8 dogs weighed over 40kg; 12 animals  
 149 were in the range between 20 and 30kg, and 12 between 30 and 40kg; 10 animals were between 10  
 150 and 20kg, and only four dogs weighed up to 10kg. Based on the Kruskal-Wallis test comparing the  
 151 weight ranges, the hypothesis about the survival was rejected. As for the body score of canines with  
 152 bone tumors, 28 dogs (59.57%) were at ideal weight, 10 (21.28%) were overfed (ECC 6-9), and  
 153 nine (19.15%) were underfed. During the development of the disease until death, 18 (38.30%) of  
 154 the dogs with tumor lost weight, eight maintained their weight (17.02%), and only four gained  
 155 weight (8.51%). It was not possible to establish the evolution of the ECC of 17 animals. When  
 156 verified the relation between survival and ECC, there was a significant result presenting  $p=0.01$ ,  
 157 thus the overfed dogs had a survival rate longer than three months.

158 *Gender and reproductive status*

159 Most of these dogs were male, more specifically 57.45% (27/47), and 42.55% were female  
 160 (20/47). The Mann-Whitney comparison rejected the hypothesis about survival in relation to the  
 161 gender of these animals. In all, 19 (40.43%) were not neutered, being seven females and 12 males,  
 162 and 20 (42.55%) animals were neutered, being 12 females and 8 males. It was not possible to  
 163 determine the neutering status of eight dogs. Neutered dogs had a three-month survival rate while  
 164 the unneutered dogs had a one-month survival rate ( $p = 0.07$ ). Regarding the age at neutering, five  
 165 animals (10.64%) were neutered as puppies, three (6.38%) as young adults, and six (12.77%) as  
 166 adults. These animals' neutering interval was from six months to six years. We could not determine  
 167 the age at neutering of 14 dogs. The Mann-Whitney test on the contrast between ages at neutering  
 168 rejected the hypothesis about survival.

169 *Age*

170 Among all animals diagnosed, there were ages ranging between three and 15 years old; the  
 171 average age was ten years old. About the age range, 29 (61.70%) dogs were elderly, the average  
 172 within that age range being 11.5 years. It was followed by adults with 13 animals (27.66%), and  
 173 two young adults (4.25%). No dog diagnosed was a puppy. However, we could not determine the  
 174 age of three dogs. Mann-Whitney comparison rejected the hypothesis about survival comparing  
 175 these dogs' age groups.

176 *Affected location*

177 Regarding tumor location (Figure 1), 65.98% (31/47) of the diagnoses were located in the  
 178 appendicular skeleton, 21.26% (10/47) osteosarcomas occurred in the axial skeleton, and 12.76%  
 179 (6/47) were extraskelatal. As for the distribution in the appendicular skeleton, they occurred in the  
 180 following decreasing order of frequency: 12 (38.71%) in the left thoracic limb, 10 (32.26%) in the  
 181 right thoracic limb, eight (25.80%) in the right pelvic limb, one (3.23%) in the left pelvic limb; one



182 case was only reported as "thoracic limb". There were six properly in the radius and other five  
183 extending between radius and ulna, eight in the humerus, four in the tibia, three in the scapula, two  
184 in the femur, and one in phalanx of IV digit. In the axial skeleton, one diagnosis was in the rib and  
185 nine in the face, five in the mandible, three in the maxilla, and one in the nasal cavity. Seven cases  
186 were diagnosed as extraskeletal OSA, among them there were six mammary, three occurring in  
187 right M5, and one in left M5. In one female dog, three caudal teats were affected (right M4 and M5  
188 and left M5). Another extraskeletal case was in the facial skin. Five of the biopsies with lymph  
189 nodes had nodal metastasis. Among the 13 animals necropsied, five animals presented metastasis,  
190 all of them in the lungs. The other organs with metastasis were liver (3/5), kidneys (2/5), heart (2/5),  
191 spleen (1/5), and gall bladder (1/5). Other cases metastasized from one bone to others such as from  
192 the mandible to the femur and rib, and another primary case in the scapula and rib that extended  
193 between the lung and the rib. Comparing the affects locations, the Kruskal-Wallis test rejected the  
194 hypothesis of influence on survival.

#### 195 *Tumor classification*

196 Most of the OSA were productive osteoblastic, which represented 24 of the 47 cases  
197 (51.07%), followed by chondroblastic (9/47; 19.15%), fibroblastic (4/47; 8.51%), mammary (4/47;  
198 8.51%), giant cell-rich (3/47; 6.38%), periosteal (2/47; 4.25%). One case was mixed representing  
199 one of the fibroblastic and one of the telangiectatic cases (1/47; 2.13%). The different histological  
200 patterns are shown in figure 2.

#### 201 *Adjuvant Therapy*

202 The variables castration and body condition and score were the only variables with statistical  
203 significance by the Mann-Whitney and Kruskal-Wallis non-parametric bivariate analyses. In  
204 relation to the Kaplan-Meier survival curve analysis (Figure 3), the mean survival time for those  
205 who had the therapy was higher, 9.556, while for those who did not have it was 8.273. However, the  
206 confidence intervals overlapped, presenting the confidence intervals of 4.6 to 11.946 and 3.382 to  
207 15.729 months, respectively. Despite the advantage given by the numerical difference of those who  
208 were treated with chemotherapy, there was no statistical significance in these data.

209

## 210 **Discussion**

### 211 *Breed, size and cranial conformation*

212 In our experience, there was a higher prevalence in CRD dogs than SRD, as expected  
213 according to the literature (Edmunds, 2021). It was also possible to show that Rottweilers and  
214 Labradors accounted for more than 50% of the affected breeds. These breeds were significant in  
215 other studies (Sivacolundu et al., 2013). Large (25-45 kg) and giant (>45 kg) dogs have a higher  
216 risk compared to smaller sizes (Edmunds, 2021; Makielski, 2019). However, the larger size is

217 necessary, but not sufficient or exclusive to produce the risk. The dogs described were primarily  
218 mesocephalic dogs (Edmunds, 2021). Regarding head conformation, there is a lack of further  
219 studies about the possibility of this prevalence in affected dogs.

#### 220 *Body Condition Score*

221 There was a significant difference in the survival of overfed dogs compared to underfed dogs.  
222 Underweight dogs had significantly shorter survival times than ideal weight or overweight dogs  
223 (Poon, 2020). For appendicular OSA in Rottweilers, weight and height were not significant  
224 osteosarcoma risk factors in the work of Cooley (2002).

#### 225 *Gender and Reproductive Status*

226 As in this study, where male dogs were prevalent (57.45%; n = 27/47) compared to females,  
227 the literature cites that male animals have a higher risk of osteosarcoma compared to females  
228 (Parachini-Winter, 2019; Sivacolundu et al., 2013; Schott, 2008), as female dogs may be at a lower  
229 risk of developing OSA (Poon, 2020; Simpson, 2017). A gender predisposition has been  
230 documented in humans, with osteosarcoma occurring more commonly in adolescent males  
231 (male:female ratio of 1.34:1). Despite this, gender predisposition has not been reproducibly  
232 documented in dogs (Makielski, 2019). Still, some papers reported higher casuistry in females  
233 compared to males (Guim, 2018; Al Khan et al., 2013; Kruse, 2012; Loukopoulos, 2007).

234 Unneutered male dogs were the majority in the study (40.43%), unlike other studies  
235 (Edmunds, 2021; Sivacolundu Et al., 2013), which suggest that neutered animals of both genders  
236 are at higher risk of developing osteosarcoma compared to their unneutered counterparts. There is  
237 evidence suggesting that reduced levels of circulating gonadal hormones may be associated with  
238 increased risk of osteosarcoma (Edmunds, 2021). Cooley (2002) reports that the risk of OSA is  
239 significantly influenced by neutering in Rottweilers due to the exposure of gonadal hormones. The  
240 author proposes that steroid hormones (testosterone and estrogen) act as inhibitors of malignant  
241 transformation of osteoblasts. However, the factor neutering, as well as the influence of dogs with  
242 or without a defined breed, depends on socioeconomic factors; in this case, the wealthier population  
243 (Edmunds, 2021; Sánchez-Vizcaíno et al., 2017). For example, in the culture of developed countries  
244 such as the United States and in much of Europe, the practice of neutering male and female dogs  
245 has become routine and is increasingly performed at six months of age or even earlier (Hart, 2020).  
246 In this study, no neutering occurred at this life stage. However, Hart (2020) argues that joint  
247 disorders and cancers are not affected by these diseases due to the age of neutering, but by body  
248 size. That is, it may be confounded by other variables, such as the tendency for increased fat tissue  
249 and body condition in gonadectomized dogs (Makielski, 2019).

250

251

252 *Age*

253 In the present study, 4.5% of the dogs were young adults and 61.70% were elderly, with only  
254 four animals being between 13 and 14 years old. Hence, the mean age was ten years old with  
255 animals between three and 15 years old. This fact revalidates the higher prevalence in younger  
256 animals compared to other neoplasms. Current studies suggest that, like most neoplasms, its  
257 incidence increases with age, which may be a result of cellular aging and mutational accumulation  
258 (Edmunds, 2021). The average age is nine years old (Guim, 2018; Selmic et al., 2014; Kruse, 2013).  
259 All older age groups had higher chances of osteosarcoma compared to dogs with less than three  
260 years old. However, dogs older than 12 years had a lower chance of osteosarcoma than those  
261 between nine and 12 years of age (Edmunds, 2021).

262 In humans, the rapid growth is suggested as a risk factor, such as adolescents who complete  
263 their final height earlier than individuals of the same age. High concentrations of estrogens play the  
264 predominant role in growth plate closure, in this way testosterone may also act, as well as  
265 increasing longitudinal bone growth and stimulating cell differentiation into osteoblasts (Makielski,  
266 2019).

267 *Affected location*

268 Our cases were most frequent as appendicular tumors, followed by axial and extraskelatal,  
269 with 65.98%, 21.26%, and 12.76%, respectively. However, there were many cases of unreported  
270 location which may have influenced the concentration of these affected sites. Among the  
271 appendicular skeleton cases at SOVet-UFPel, 23 occurred in the thoracic limb, 12 (38.70%) in the  
272 left limb, and 10 (32.26%) in the right limb; one case did not identify the laterality of the limb. Of  
273 the pelvic limb totality, all of the eight cases occurred in the right limb. The appendicular skeleton  
274 is the most affected (Edmunds, 2021). The thoracic limbs are more affected (Guim, 2018). This  
275 probably occurs because dogs have most of their body weight concentrated in the thoracic limbs,  
276 which can increase the incidence of injuries and even neoplasms (Daleck et al., 2016). In humans,  
277 74.6% of adolescent osteosarcomas manifest in the weight-bearing bones of the lower limbs,  
278 compared to only 11.2% in the bones of the upper limb (Makielski, 2019).

279 In our study, most OSAs were in the left thoracic limb. One paper reports that proximal  
280 extremities tended to have worse prognosis (Guim, 2018). More precisely, primary OSA proximal  
281 to the humerus has fewer days (90 days) of survival compared to other bones (244 days) (Parachini-  
282 Winter, 2019). However, the location of the tumor in the scapula had been significantly associated  
283 with decreased survival times (Kruse, 2013). In the present study, small-breed dogs comprise  
284 12.76% and, among them, 50% of OSAs were extraskelatal, followed by appendicular (33.33%)  
285 and axial with only one case (16.66%). On the other hand, Edmunds (2021) reports that only 5% of  
286 osteosarcomas were diagnosed in small breed animals and 65% of these cases were located in the

287 axial skeleton. The locations of the axial skeleton that are associated with a worse prognosis are the  
288 ribs and the scapula (Sivacolundu et al., 2013). Although the frequency of extraskkeletal  
289 osteosarcoma is unknown in dogs according to Makielski (2019), Platnaik (1990) reports 11 cases  
290 for every 1000 skeletal types, being most common in the gastrointestinal tract and mammary glands  
291 (Makielski, 2019). This number is much lower than in the present work and in Edmunds (2021), but  
292 the mammary gland is the most assiduous. The majority (75%) of mammary OSA cases occurred in  
293 small size and one case in medium size. Among small size dogs, mammary OSA accounted for 50%  
294 in that size range.

#### 295 *Tumor Classification*

296 In addition to the affected location, OSA can be classified according to the histologic features,  
297 cell type, or tumor grade. However, the classification has not been used as prognostic in canine  
298 OSA (Kruse, 2013; Kirpensteijn & Teske, 2002; Straw, 1996). Osteoblastic OSA was the most  
299 common occurrence in our work, as reported in other studies (Al Khan, 2013; Sivakolundu, 2013;  
300 Kruse, 2012). It was followed by chondroblastic, and telangiectatic was the third most common  
301 subtype identified in this study, which is consistent with previous investigations (Guim, 2018;  
302 Loukopoulos, 2007). The fibroblastic histological subtype obtained longer survival rates in  
303 comparison to the other subtypes in different works (Al Khan et al., 2002; Straw, 2000; Hammer et  
304 al., 1995) and the lowest scoring grade (Loukopoulos & Robinson, 2007). On the other hand,  
305 telangiectatic or mixed-telangiectaticis were considered negative for both disease-free interval and  
306 days survival (Sivakolundu, 2013), as well as the chondroblastic (Al Khan, 2002). The osteoblastic  
307 type may be responsible for early metastases (Kirpensteijn et al., 2002). Relating tumor grade to  
308 histological types, the osteoblastic and chondroblastic obtained the highest grades compared to the  
309 other types (Loukopoulos, 2007). Unlike the work on appendicular skeleton by Loukopoulos  
310 (2007), Kruse (2013) observed no difference between the types of OSA in flat and irregular bones.

#### 311 *Metastasis and Prognosis*

312 According to the literature, the most common organs of OSA metastasis are: lung, kidney,  
313 liver, brain, and lymph node; organs also found in our study. Lung metastasis can be diagnosed  
314 even before death (Parachini-Winter, 2018, Schott, 2008). Between the period of tumor  
315 development and death, we asked about the clinical signs presented by the dogs, which include:  
316 evident difficulty in locomotion and pain associated with the skeleton (14/30), signs of alteration of  
317 the respiratory system (including cough, breathing difficulty) (11/30), and alterations of the  
318 gastrointestinal tract (11/30), mainly, loss of appetite (9/30), among other occasional alterations;  
319 clinical signs attributed to metastatic disease (SCHOTT, 2008) The prognosis for dogs with  
320 metastatic OSA is poor, with an average of 76-day survival (Parachini-Winter, 2018). Metastasis in  
321 the lung in our work was more recurrent, as in Guim (2018). The development of lung metastasis in

322 the work of Silvacolundu (2013) was found to be significant as a negative prognosis, reporting 1 of  
323 30 cases with lung metastasis at the time of the first visit. Undetectable micrometastasis occurs  
324 extremely early in most patients, and metastasis can be detected within one year of diagnosis (Poon,  
325 2020).

326 Only amputation, as a treatment for dogs with appendicular osteosarcoma, was a negative  
327 prognosis with a median survival time of 170 days (Guim, 2018). The typical survival time is  
328 between 284 days (Alves, 2022; Poon, 2020; Selmic et al., 2014) and close to one year (Guim,  
329 2018) compared to three to five months without chemotherapy (Poon, 2020). In cases of ulnar OSA  
330 in dogs treated with different types of surgical treatment together with chemotherapy, Kaplan-Meier  
331 survival time was 463 days. The mean survival time of 17.0% of the population with axial  
332 osteosarcomas in the work of Kruse (2013) was 12 weeks with the survival rate of one year. The  
333 mean survival time for dogs with skin metastases treated with surgery and chemotherapy was 94  
334 days (56-336 days) or 64 days (29-171 days) with chemotherapy alone, both longer than dogs with  
335 no treatment (11 days; range 5-48 days) ( $P = 0.002$  and  $0.03$ , respectively) (Parachini-Winter,  
336 2018). Elevated serum alkaline phosphatase, preoperative proteinuria, and proximal humeral  
337 location are considered negative (Simpson, 2017). Despite this, no difference in survival time was  
338 identified based on other factors investigated, such as tumor type, tumor location, size, race, facial  
339 conformation, age and gender. Kruse (2013) reported that neither tumor grade nor any of the  
340 histological parameters was associated with survival time. In contrast, increased FA levels were  
341 significantly related to shorter survival. Our study had difficulties contacting the owners and  
342 obtaining precise information. Thus, there was a selection for the statistical analyses and a smaller  
343 number of dogs in the study. Also, prognostic studies in dogs with OSA are scarce, which limited  
344 the discussion about the subject.

345

## 346 **Conclusion**

347 OSAs predominated in large size dogs with defined breed and mesocephalic cranial  
348 conformation, especially Rottweilers or Labrador Retrievers with approximately 10 years of age,  
349 unneutered males or that were neutered after adulthood with optimal ECC, and lost weight.  
350 Productive osteoblastic osteosarcoma in the left thoracic limb was the most frequent. The mean  
351 survival time was nine months with the lungs as the main site of metastasis. Neutered and/or  
352 overfed dogs had longer survival.

353

## 354 **Conflict of Interest**

355 In this research, we declare that none of the authors have any conflict of interest related to the  
356 topic under discussion, nor any financial or personal affiliations that influence the results presented

357 in the paper. These studies were conducted with the utmost ethical standards and following the rules  
358 and regulations applied to scientific research.

359

### 360 **Acknowledgements**

361 We thank the collaborators and professors of SOVet - UFPel who routinely helped us so that  
362 the research could be carried out, and CAPES, the funding agency during the period of the studies.

363

### 364 **References**

365 Al-Khan AA, Nimmo JS, Day MJ, Tayebi M, Ryan SD, Kuntz CA, Simcock JO, Tarzi R, Saad ES,  
366 Richardson SJ, Danks JA. Fibroblastic Subtype has a Favourable Prognosis in Appendicular  
367 Osteosarcoma of Dogs. *J Comp Pathol.* 2020;176:133-144.

368

369 Alves MN, Cruz VS, Nepomuceno LL, Soares PN, Arnhold E, Graziani D, Gonçalves AMP, Badan  
370 GHS, Santos AM, Araújo EG. Extrato etanólico de açafrão (*Curcuma longa* L.) reduz apoptose e  
371 promove proliferação de células de osteossarcoma canino. *Cienc Anim Bras.* 2022;23(1):1-10.  
372 Available from: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/72715>.

373

374 Avallone G, Rasotto R, Chambers JK, Miller AD, Behling-Kelly E, Monti P, Berlato D, Valenti P,  
375 Roccabianca P. Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. *VetPathol.*  
376 2021;58(5):809-828. Available from: doi:10.1177/0300985821999831

377

378 Carlson CS, Weisbrode SE. Ossos, Articulações, Tendões e Ligamentos. In: Zachary JF, McGavin  
379 MD. *Bases da patologia em Veterinária.* 5nd ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2013. Capítulo 16, p. 923-  
380 975.

381

382 Cooley DM, Beranek BC, Schlittler DL, Glickman NW, Glickman LT, Waters DJ. Endogenous  
383 gonadal hormone exposure and bone sarcoma risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*  
384 2002;11(11), 1434–1440.

385

386 Corre I, Verrecchia F, Crenn V, Redini F, Trichet V. The Osteosarcoma Microenvironment: A  
387 Complex But Targetable Ecosystem. *Cells.* 2020;9(4),976. Available from:  
388 <https://doi.org/10.3390/cells9040976>

389

390 Craig LE, Dittmer KE, Thompson KG. Bones and Joints. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer NC.  
391 *Pathology of Domestic Animals.* Missouri: Elsevier, 2016. v.1, chapter 2, p. 16 – 163.

- 392 Daleck CR, De Nardi AB. *Oncologia em cães e gatos*. 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. 746 p.  
393
- 394 Edmunds GL, Smalley MJ, Beck S, et al. Dog breeds and body conformations with predisposition  
395 to osteosarcoma in the UK: a case-control study. *Canine Genet. Epidemiol.*, 2021;8(1):2. Available  
396 from: <https://doi.org/10.1186/s40575-021-00100-7>  
397
- 398 Fighera RA, Souza TM, Silva MC, Brum JS, Graça DL, Kommers GD, Irigoyen LF, Barros CSL.  
399 (2008). Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-  
400 Grandense (1965-2004). *Pesq. Vet. Bras.*, 2008;28(4)223-230. Available from:  
401 <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2008000400005>  
402
- 403 Green JT, Mills AM. Osteogenic tumors of bone. *Semin DiagnPathol.* 2014;31(1):21–29.  
404 doi: 10.1053/j.semmp.2014.01.001  
405
- 406 Guim TN, Bianchi MV, De Lorenzo C, Gouvêa AS, Gerardi DG, Driemeier D, Pavarini SP, Sonne  
407 L. Relationship Between Clinicopathological Features and Prognosis in Appendicular  
408 Osteosarcoma in Dogs. *J Comp Pathol.* 2020;180,91–99. Available from:  
409 <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2020.09.003>  
410
- 411 Hammer AS, Weeren FR, Weisbrode SE, Padgett S L. Prognostic factors in dogs with  
412 osteosarcomas of the flat or irregular bones. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1995;31(12):321–326.  
413
- 414 Hart BL, Hart LA, Thigpen AP, Willits NH. Assisting Decision-Making on Age of Neutering for 35  
415 Breeds of Dogs: Associated Joint Disorders, Cancers, and Urinary Incontinence. *Front Vet Sci.*  
416 2020;7:388. Available from: doi:10.3389/fvets.2020.00388  
417
- 418 Kirpensteijn J, Kik M, Rutteman GR, Teske E. Prognostic significance of a new histologic grading  
419 system for canine osteosarcoma. *Vet Pathol.* 2002;39(2),240–246. Available from:  
420 <https://doi.org/10.1354/vp.39-2-240>  
421
- 422 Kruse MA, Holmes ES, Balko JA, Fernandez S, Brown DC, Goldschmidt MH. Evaluation of  
423 Clinical and Histopathologic Prognostic Factors for Survival in Canine Osteosarcoma of the  
424 Extracranial Flat and Irregular Bones. *Vet Pathol.* 2013;50(4):704-708. Available from:  
425 doi:10.1177/0300985812471542

- 426 Loukopoulos P, Robinson WF. Clinicopathological relevance of tumour grading in canine  
427 osteosarcoma. *J Comp Pathol.* 2007;136(1):65–73.  
428
- 429 Makielski KM, Mills LJ, Sarver AL, Henson MS, Spector LG, Naik S, Modiano JF. Risk Factors  
430 for Development of Canine and Human Osteosarcoma: A Comparative Review. *Vet Sci*, 2019;6(2),  
431 48. Available from: [doi.org/10.3390/vetsci6020048](https://doi.org/10.3390/vetsci6020048)  
432
- 433 Parachini-Winter C, Curran KM, Pellin M, Laver T, Hanot C, Vernier TH, Séguin, B. Cutaneous  
434 and subcutaneous metastasis of appendicular osteosarcoma in dogs: 20 cases. *J Vet Intern  
435 Med*, 2019;33(5), 2200–2208. Available from: [doi.org/10.1111/jvim.15557](https://doi.org/10.1111/jvim.15557)  
436
- 437 Patnaik AK. Canine extraskeletal osteosarcoma and chondrosarcoma: A clinicopathologic study of  
438 14 cases. *Vet. Pathol.* 1990;27,46–55.  
439
- 440 Poon AC, Matsuyama A, Mutsaers AJ. Recent and current clinical trials in canine appendicular  
441 osteosarcoma. *Can Vet J.* 2020;61(3),301–308.  
442
- 443 Sánchez-Vizcaíno F, Noble PM, Jones PH, Menacere T, Buchan I, Reynolds S, Dawson S, Gaskell  
444 RM, Everitt S, Radford AD. Demographics of dogs, cats, and rabbits attending veterinary practices  
445 in Great Britain as recorded in their electronic health records. *BMC Vet Res.* 2017;13,218 Available  
446 from: [doi.org/10.1186/s12917-017-1138-9](https://doi.org/10.1186/s12917-017-1138-9)  
447
- 448 Schott CR, Tatiensky LJ, Foster RA, Wood GA. Histologic Grade Does Not Predict Outcome in  
449 Dogs with Appendicular Osteosarcoma Receiving the Standard of Care. *Vet. Pathol.* 2018;55(2),  
450 202–211. Available from: <https://doi.org/10.1177/0300985817747329>  
451
- 452 Selmic LE, Burton JH, Thamm DH, Withrow SJ, Lana SE. Comparison of carboplatin and  
453 doxorubicin-based chemotherapy protocols in 470 dogs after amputation for treatment of  
454 appendicular osteosarcoma. *J Vet Intern Med.* 2014;28:554–563.  
455
- 456 Serakides R. Ossos e Articulações In: Santos RL, Alessi AC. *Patologia Veterinária*. Rio de Janeiro:  
457 Roca, 2016. Capítulo 11, p.1007-1067.  
458



459 Simpson S, Dunning, MD, De Brot S, Grau-Roma L, Mongan NP, Rutland CS. Comparative review  
 460 of human and canine osteosarcoma: morphology, epidemiology, prognosis, treatment and  
 461 genetics. *Acta Vet Scand.* 2017;59(1), 71. Available from: doi.org/10.1186/s13028-017-0341-9

462

463 Sivacolundhu RK, Runge JJ, Donovan TA, Barber LG, Saba CF, Clifford CA, De Lorimier LP,  
 464 Atwater SW, Dibernardi L, Freeman KP, Bergman PJ. Ulnar osteosarcoma in dogs: 30 cases (1992-  
 465 2008). *J Am Vet Med Assoc.* 2013;243(1),96–101. Available from: doi.org/10.2460/javma.243.1.96

466

467 Straw R, Powers B, Klausner J, et al. Canine mandibular osteosarcoma: 51 cases (1980–1992). *J*  
 468 *Am Anim Hosp Assoc.* 1996;32(3):257–262

469

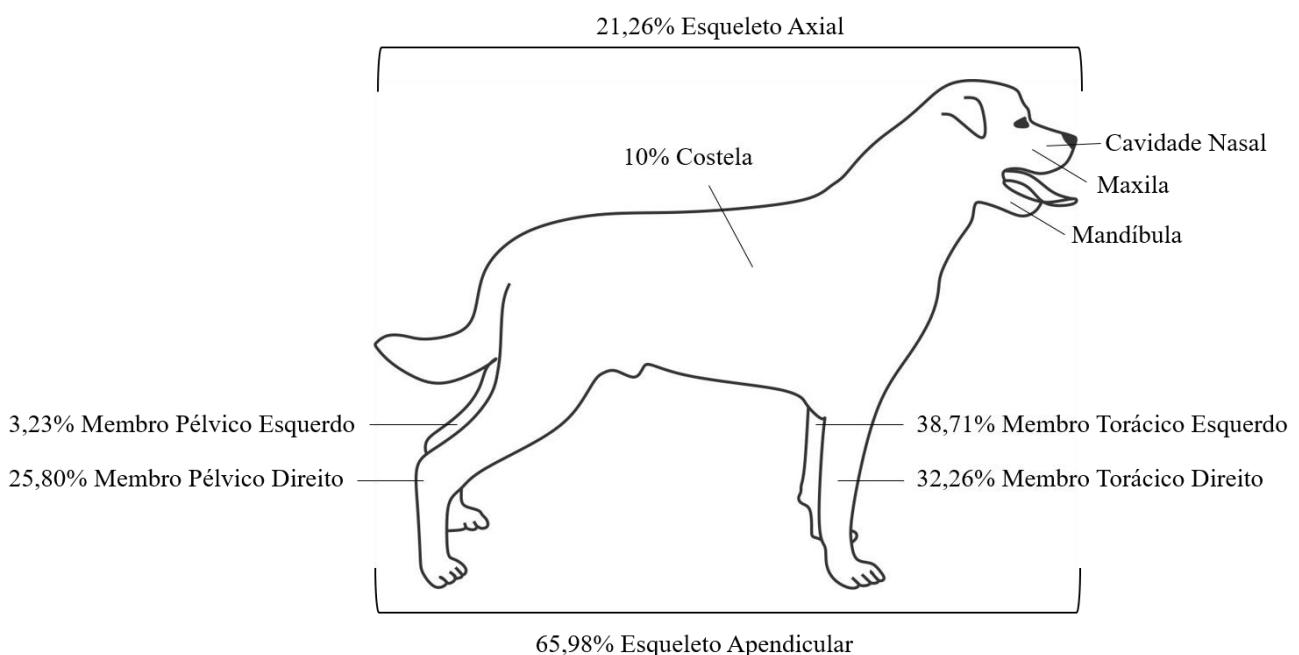
470 Thompson KG, Dittmer EK. Tumors of Bone. In: Meuten DJ. *Tumors in Domestic Animals.* 5th ed.  
 471 Iowa: John Wiley & Sons Inc. 2017; Capitulo 10, p. 356-392

472

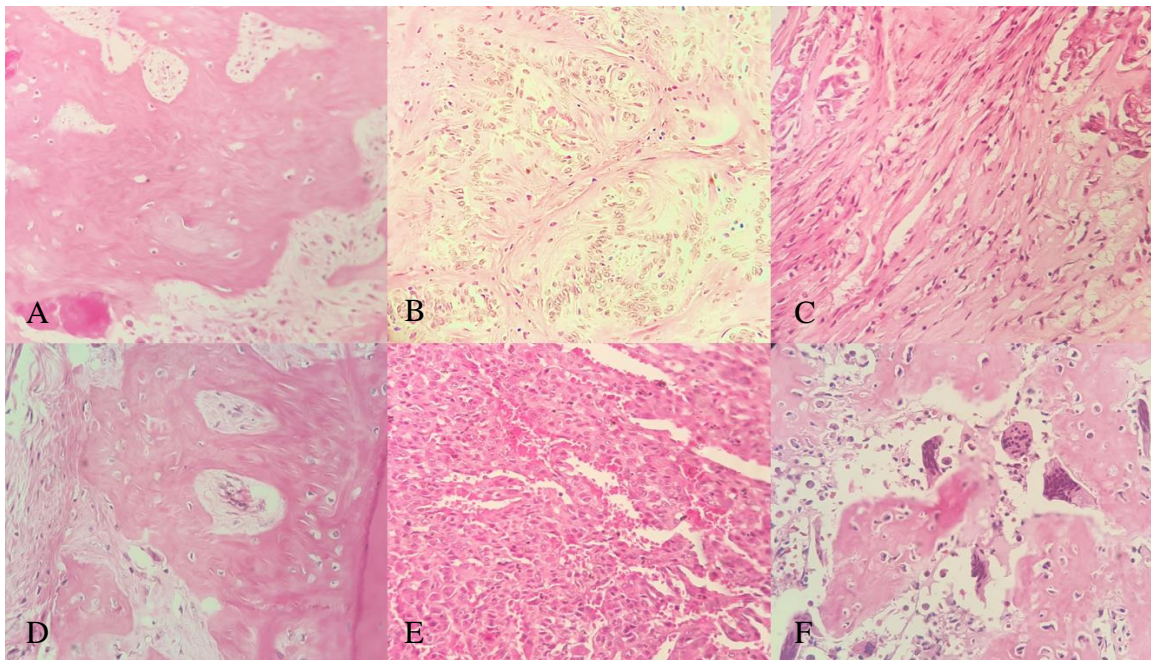
473 Yang C, Tian Y, Zhao F, Chen Z, Su P, Li Y, Qian A. Bone Microenvironment and Osteosarcoma  
 474 Metastasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(19),6985. Available from: doi.org/10.3390/ijms21196985

475

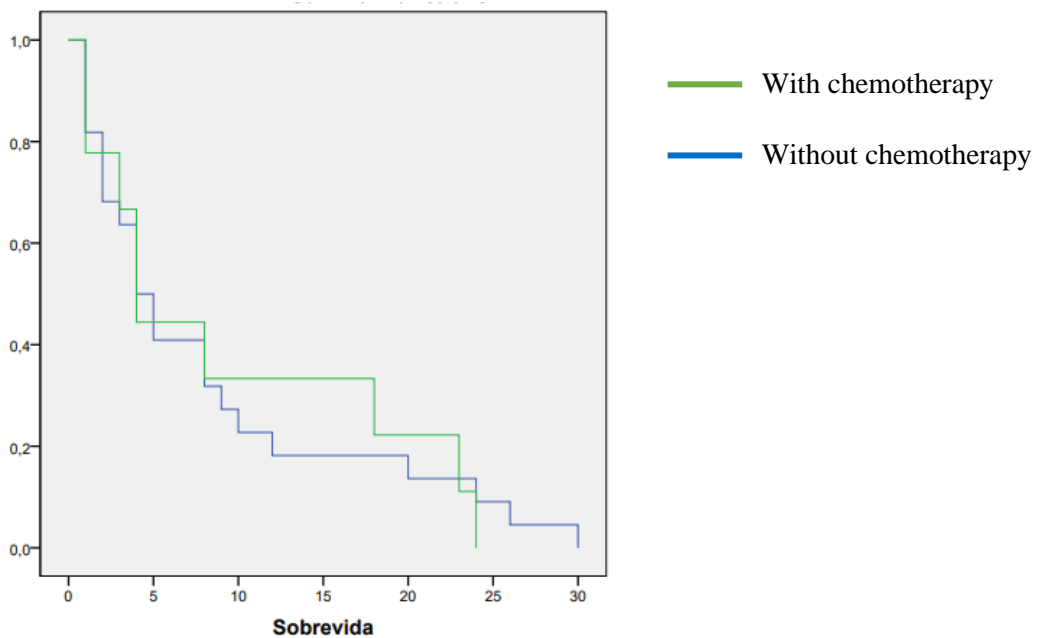
476 Figure 1 - Representation of the body location of Osteosarcomas diagnosed at SOVET-UFPel in the  
 477 period from January 2016 to December 2022. Pelotas, April 2023.



478 Figure 2 - Osteosarcomas diagnosed in dogs at SOVet - UFPel from January 2016 to December  
479 2022: (A) productive osteoblastic OSA; (B) non-productive osteoblastic OSA; (C) fibroblastic  
480 OSA; (D) periosteal OSA; (E) telangiectatic OSA; and (A) giant cell-rich OSA. Pelotas, April 2023.



494 Figure 3 - Survival of dogs with osteosarcoma at SOVET-UFPel in the period from January 2016 to  
495 December 2022 subjected or not to chemotherapy. Pelotas, April 2023.



496 Table 1 - Osteosarcomas diagnosed at SOVet - UFPel from January 2016 to December 2022,  
 497 classified according to the histological type and the characteristics of these dogs. Pelotas, April  
 498 2023.

Total de animais:	OBP		OBN		OC		OF		OTM		RCG		OP		OM	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
	24	51,06	1	2,13	9	19,16	3	6,38	1	2,13	3	6,38	2	4,25	4	8,51
<i>Raça</i>																
CRD	16	66,66	1	100	4	44,44	3	100	-	-	2	66,67	1	50	1	25
SRD	8	33,33	-	-	5	55,56	-	-	1	100	1	33,33	1	50	3	75
<i>Porte</i>																
Pequeno	-	-	-	-	-	-	2	66,67	-	-	1	33,33	-	-	3	75
Médio	5	20,83	1	100	3	33,33	-	-	1	100	1	33,33	-	-	1	25
Grande/Gigante	18	75	-	-	6	66,67	1	33,33	-	-	1	33,33	2	100	-	-
NI	1	4,17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Blotipo Facial</i>																
Braquicefálico	3	12,5	-	-	-	-	1	33,33	-	-	-	-	-	-	1	25
Mesocefálico	13	54,17	-	-	3	33,33	2	66,67	-	-	2	66,67	1	50	-	-
Dolicocefálico	3	12,5	1	100	2	22,22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NI	5	20,83	-	-	4	44,44	-	-	1	100	1	33,33	1	50	3	75
<i>Gênero</i>																
Fêmea	6	25	-	-	7	77,78	1	33,33	-	-	2	66,67	-	-	4	100
Macho	18	75	1	100	2	22,22	2	66,67	1	100	1	33,33	2	100	-	-
<i>Castração</i>																
Sim	11	45,83	-	-	3	33,33	-	-	-	-	2	66,67	1	50	3	75
Não	9	37,5	1	100	4	44,44	2	66,67	-	-	1	33,33	1	50	1	25
NI	4	16,67	-	-	2	22,22	1	33,33	1	100	-	-	-	-	-	-
<i>Faixa Etária</i>																
Jovem Adulto	1	4,17	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	1	50	-	-
Adulto	8	33,33	-	-	3	33,33	1	33,33	-	-	1	33,33	-	-	1	25
Idoso	14	58,33	-	-	6	66,67	2	66,67	-	-	2	66,67	1	50	3	75
NI	1	4,17	1	100	-	-	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-
<i>Na Idade (média)</i>																
	9,52		NI		10,11		11,00		NI		10,66		8,00		11,75	
<i>ECC</i>																
Subalimentado	6	25	-	-	1	11,11	1	33,33	1	100	-	-	-	-	-	-
Ideal	12	50	1	100	5	55,56	2	66,67	-	-	2	66,67	2	100	4	100
Superalimentado	6	25	-	-	3	33,33	-	-	-	-	1	33,33	-	-	-	-
NI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Local</i>																
Apendicular	18	75	1	100	5	55,56	3	100	-	-	2	66,67	2	100	-	-
Axial	5	20,83	-	-	3	33,33	-	-	1	100	1	33,33	-	-	-	-
Extraesquelético	1	4,17	-	-	1	11,11	-	-	-	-	-	-	-	-	4	100
<i>Sobrevida (meses)</i>																
até 3 meses	5	20,83	-	-	2	22,22	2	66,67	-	-	-	-	1	50	1	25
4 a 6 meses	4	16,67	-	-	1	11,11	-	-	-	-	2	66,67	-	-	-	-
7 a 11 meses	4	16,67	-	-	1	11,11	-	-	-	-	-	-	1	50	1	25
mais de 12 meses	5	20,83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
NI	6	25	1	100	5	55,56	1	33,33	1	100	1	33,33	-	-	1	25
<b>Total de animais: 47</b>																

Osteossarcoma Osteoblástico Produtivo = OBP; Osteoblástico Não Produtivo = OBN; Osteossarcoma Condrolástico = OC; Osteossarcoma Fibrolástico = OF; Osteossarcoma Telangiectásico Misto = OTM; Osteossarcoma Rico em Células Gigantes = RCG; Osteossarcoma Periosteal = OP; Osteossarcoma Mamário = OM; Com Raça Definida = CRD; Sem Raça Definida = SRD; Não Informado = NI

#### **4 Considerações Finais**

Assim, o padrão de cães com OSA foi definido como cães de raça de grande porte e conformação craniana mesocefálica, com raça definida, com idade aproximada de 10 anos, machos inteiros ou castrados após a idade adulta com ECC ideal e que apresentam osteossarcoma osteoblástico produtivo no membro anterior esquerdo e com a evolução da doença, a perda de peso. Com sobrevida mediana de nove meses, sendo o pulmão o principal local de metástase. Os cães castrados tiveram um tempo de sobrevida maior, cerca de três meses em relação aos cães não castrados (sobrevida reduzida para um mês). Assim como os cães superalimentados, que tiveram mais tempo em relação aos desnutridos. Mais estudos são necessários sobre as causas do OSA, principalmente no que diz respeito à genética, devido à ocorrência precoce de micrometástases já presentes em cães. Dessa forma, diferentes formas de terapia podem ser mais viáveis. Além disso, a inclusão de uma variável de tratamento estava além do escopo deste estudo. Entre as dificuldades do estudo, notadamente no que diz respeito ao contato com os tutores e à obtenção de informações precisas. Essas limitações resultaram na seleção de um número reduzido de cães para análise estatística. Além disso, é importante ressaltar a escassez de estudos prognósticos em cães com OSA o que limita as discussões e a estatística sobre o assunto.

## Referências

AL-KHAN, A. A.; NIMMO, J. S.; DAY, M. J.; TAYEBI, M.; RYAN, S. D.; KUNTZ, C. A.; SIMCOCK, J. O.; TARZI, R.; SAAD, E. S.; RICHARDSON, S. J.; DANKS, J. A. Fibroblastic Subtype has a Favourable Prognosis in Appendicular Osteosarcoma of Dogs. **Journal of comparative pathology**, v. 176, p. 133–144, 2020.

ALVES, M. N.; CRUZ, V. S.; NEPOMUCENO, L. L.; SOARES, P. N.; ARNHOLD, E.; GRAZIANI, D.; GONÇALVES, A. M P.; BADAN, G. H. S.; SANTOS, A. M.; ARAÚJO, E. G. de. Extrato etanólico de açafrão (*Curcuma longa L.*) reduz apoptose e promove proliferação de células de osteossarcoma canino. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 23, n. 1, 2022.

AVALLONE, G., RASOTTO, R., CHAMBERS, J. K., MILLER, A. D., BEHLING-KELLY, E., MONTI, P., BERLATO, D., VALENTI, P., ROCCABIANCA, P. Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. **Veterinary pathology**, v. 58, n. 5, p.809–828, 2021.

CARLSON, C. S.; WEISBRODE, S. E. Ossos, Articulações, Tendões e Ligamentos. In: ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. **Bases da patologia em Veterinária**. 5. ed. Elsevier. cap. 16, 2013. p. 923- 975.

CRAIG, L. E.; DITTMER, K. E.; THOMPSON, K. G. Bones and Joints. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. C. **Pathology of Domestic Animals**. Missouri: Elsevier, v. 1, cap. 2, 2016. p. 16-163.

COOLEY, D. M.; BERANEK, B. C.; SCHLITTLER, D. L.; GLICKMAN, N. W.; GLICKMAN, L. T.; WATERS, D. J. Endogenous gonadal hormone exposure and bone sarcoma risk. **Cancer epidemiology, biomarkers & prevention**, v. 11, n. 11, p. 1434–1440, 2002.

CORRE, I.; VERRECCHIA, F.; CRENN, V.; REDINI, F.; TRICHET, V. The Osteosarcoma Microenvironment: A Complex But Targetable Ecosystem. **Cells**, v. 9, n. 4, p. 976, 2020.

DALECK, C. R.; NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos** 2º ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

EDMUNDS, G. L.; SMALLEY, M. J.; BECK, S.; ERRINGTON, R. J.; GOULD, S.; WINTER, H.; BRODBELT, D. C.; O'NEILL, D. G. Dog breeds and body conformations with predisposition to osteosarcoma in the UK: a case-control study. **Canine medicine and genetics**, v. 8, n. 1, p. 2, 2020.

EHRHART, N. P.; RYAN, S. D.; FAN, T. M. Tumors of the skeletal system. In: WITHROW, S. J.; PAGE, R.; VAIL, D. M.; WITHROW, M.; MACEWEN'S. **Small animal clinical oncology**. 5th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2013. p. 463-503.

FIGHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; SILVA, M. C.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 223-230, 2008.

GREEN, J. T.; MILLS, A. M. Osteogenic tumors of bone. **Seminars in diagnostic pathology**, v. 31, n.1, p. 21–29, 2014.

GUIM, T. N.; BIANCHI, M. V.; De LORENZO, C.; GOUVÊA, A. S.; GERARDI, D. G.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S. P.; SONNE, L. Relationship Between Clinicopathological Features and Prognosis in Appendicular Osteosarcoma in Dogs. **Journal of comparative pathology**, v. 180, p. 91–99, 2020.

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.

HART, L. B.; HART, A. L.; THIGPEN, P. A.; WILLITS, H. N. Assisting Decision-Making on Age of Neutering for 35 Breeds of Dogs: Associated Joint Disorders, Cancers, and Urinary Incontinence. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, 2020.

KIRPENSTEIJN, J.; KIK, M.; RUTTEMAN, G. R.; TESKE, E. Prognostic significance of a new histologic grading system for canine osteosarcoma. **Veterinary pathology**, n. 39, v. 2, p. 240–246, 2002.

KRUSE, M. A.; HOLMES, E. S.; BALKO, J. A.; FERNANDEZ, S.; BROWN, D. C.; GOLDSCHMIDT, M. H. Evaluation of clinical and histopathologic prognostic factors for survival in canine osteosarcoma of the extracranial flat and irregular bones. **Veterinary pathology**, v. 50, n. 4, p. 704–708, 2013.

LOUKOPOULOS, P.; ROBINSON, W. F. Clinicopathological relevance of tumour grading in canine osteosarcoma. **Journal of comparative pathology**, v. 136, n. 1, p. 65–73, 2007.

MAKIELSKI, K. M.; MILLS, L. J.; SARVER, A. L.; HENSON, M. S.; SPECTOR, L. G.; NAIK, S.; MODIANO, J. F. Risk Factors for Development of Canine and Human Osteosarcoma: A Comparative Review. **Veterinary Sciences**, v. 6, n. 48, p. 1-19, 2019.

PARACHINI-WINTER, C.; CURRAN, K. M.; PELLIN, M.; LAVER, T.; HANOT, C.; VERNIER, T. H.; SÉGUIN, B. Cutaneous and subcutaneous metastasis of appendicular osteosarcoma in dogs: 20 cases. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 33, n. 5, p. 2200–2208, 2019.

PATNAIK, A. K. Canine extraskelletal osteosarcoma and chondrosarcoma: A clinicopathologic study of 14 cases. **Veterinary Pathology**, v. 27, p. 46–55, 1990.



- POON, A. C.; MATSUYAMA, A.; MUTSAERS, A. J. Recent and current clinical trials in canine appendicular osteosarcoma. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 61, p. 301-308, 2020.
- SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, F.; NOBLE, P.J.M.; JONES, P.H.; MENACERE, T.; BUCHAN, I.; REYNOLDS, S.; DAWSON, S.; GASKELL, R. M.; EVERITT, S.; RADFORD, A. D. Demographics of dogs, cats, and rabbits attending veterinary practices in Great Britain as recorded in their electronic health records. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 218, 2017.
- SCHIFFMAN, J. D.; BREEN, M. Comparative oncology: what dogs and other species can teach us about humans with cancer. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, v. 370, p. 1673, 2015.
- SCHOTT, C. R.; TATIERSKY, L. J.; FOSTER, R. A.; WOOD, G. A. Histologic Grade Does Not Predict Outcome in Dogs with Appendicular Osteosarcoma Receiving the Standard of Care. **Veterinary pathology**, v. 55, n. 2, p. 202–211, 2018.
- SELMIC, L. E.; BURTON, J. H.; THAMM, D. H.; WITHROW, S. J.; LANA, S. E. Comparison of carboplatin and doxorubicin-based chemotherapy protocols in 470 dogs after amputation for treatment of appendicular osteosarcoma. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 28, n. 2, 554–563, 2014.
- SERAKIDES, R. Ossos e Articulações In: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária** 2ed. Roca, cap. 11, 2016. p. 1007-1067.
- SIMPSON, S.; DUNNING, M. D.; BROTH, S.; GRAU-ROMA, L.; MONGAN, N. P.; RUTLAND, C. S. Comparative review of human and canine osteosarcoma: morphology, epidemiology, prognosis, treatment and genetics. **Acta Veterinaria Scandinavica**. p. 59-71, 2017.
- SIVACOLUNDHU, R. K.; RUNGE, J. J.; DONOVAN, T. A.; BARBER, L. G.; SABA, C. F.; CLIFFORD, C. A.; DE LORIMIER, L. P.; ATWATER, S. W.; DIBERNARDI, L.; FREEMAN, K. P.; BERGMAN, P. J. Ulnar osteosarcoma in dogs: 30 cases (1992-2008). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 1, p. 96–101, 2013.
- STRAW, R. C. Tumor of the skeletal system. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996. p.287-315.
- THOMPSON, K. G.; DITTMER, E. K. Tumors of Bone. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**, 5 ed, cap. 10, 2017. p. 356-392.
- YANG, C.; TIAN, Y.; ZHAO, F.; CHEN, Z.; SU, P.; LI, Y.; QIAN, A. Bone Microenvironment and Osteosarcoma Metastasis. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 19, p. 6985, 2020.